UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DE LOS ALIMENTOS

Aplicación de oleogeles en formulaciones alimenticias

Anabella S. Giacomozzi

BAHIA BLANCA ARGENTINA

2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DE LOS ALIMENTOS

Aplicación de oleogeles en formulaciones alimenticias

Anabella S. Giacomozzi

BAHIA BLANCA ARGENTINA

2020

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Ingeniería Química durante el período comprendido entre el 1 de abril de 2015 y 31 de marzo de 2020, bajo la dirección de la Dra. María Elena Carrín y la co-dirección de la Dra. Camila Palla.

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el 0 6 / 03/ 2020, mereciendo la calificación de 10 (diez) sobresaliente.

A mi mamá

A mi gran amor Mati

AGRADECIMIENTOS

Cuando miro hacia atrás me parece increíble haber estado acompañada por tantas personas en este camino, por eso quiero agradecerles…

En primer lugar, a mis directoras Camila Palla y María Elena Carrín por haberme recibido para trabajar con ellas, por guiarme, y ayudarme en la realización de este trabajo de tesis. A Camila por su gran compromiso y dedicación, por estar siempre dispuesta a recibirme con sus ganas de trabajar y transmitirme su experiencia y conocimientos. A María Elena por confiar en mí, por darme libertad para formarme y experimentar, siempre con una mirada crítica y la palabra justa, y por haberme demostrado su excelente calidad humana en incontables momentos.

A Noe, mi gran amiga, con quien compartí la gran mayoría de mis alegrías y tristezas en el transitar de estos años. A Agus, Fer, Lu, Flor y Mely, por regalarme tan lindos momentos en PLAPIQUI. Gracias por las risas, por escucharme y sostenerme siempre.

A todas mis amigas, las que están cerca (Juli, Agus, Meme) y las que me acompañan desde hace años a la distancia (Anto, Lucre, Candi, Meli, Lau, Mari). Gracias por las palabras de aliento y por el apoyo constante.

Agradezco también a todo el grupo de Alimentos de PLAPIQUI por ayudarme siempre que lo necesité y hacer tan amena mi estadía en PLAPIQUI. Al Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Sur (UNS) por permitirme continuar con mi formación y darme la posibilidad de ejercer la docencia. A Diego Bertín y Juliana Piña por haberme acompañado en mis actividades docentes con gran apoyo y comprensión.

A la Planta Piloto de Ingeniería Química, a la Universidad Nacional del Sur, al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, y a la Comisión Fullbright. Gracias por apostar a mí y a mis procesos. Por haberme dado tanto: amigos, profesión, academia y, sobre todo, varios lentes para mirar el mundo y todos sus matices.

A Silvana Martini por recibirme en su laboratorio “Nutrition, Dietetics, and Food Sciences” (Utah State University – Logan, Estados Unidos). Por confiar en mí y permitirme vivir una experiencia única muy lejos de mi casa. A los amigos maravillosos que me dio Logan, sin los cuales nada hubiese sido lo mismo allí: Zac y Tara, y sus familias, que hicieron que mi estadía en esa maravillosa ciudad sea realmente increíble. Formarán parte de los recuerdos más hermosos de mi vida.

A mi mamá por enseñarme que la palabra vale, y que siempre hay otra oportunidad. Por ser mi ejemplo de vida y sostén, por estar dispuesta a darlo todo. Por enseñarme a nunca bajar los brazos, aún en los momentos más difíciles. Por demostrarme que la dedicación, el esfuerzo, la humildad y el respeto son las mejores herramientas para lograr nuestras metas. A mis hermanos por haberme apoyado durante estos años. A mis tíos y abuela por ser incondicional y compartir cada uno de mis logros. A mi familia política por acompañarme en cada paso y estar dispuestos a ayudarme siempre.

A Matías, mi compañero de vida, por hacer que hoy esté escribiendo estas líneas. Por su inmenso amor, su amistad, su infinita paciencia, y su compañía. Por caminar a mi lado, por darme tanto y no soltarme jamás la mano. Por haber construido junto con Rufina el hogar de mis sueños. Por regalarme tantos momentos de felicidad y sostenerme en los momentos más duros donde la tristeza parecía invadirme. Esta tesis también le pertenece; su amor y compañía fueron pilares fundamentales desde el comienzo y, especialmente, en los últimos tramos de este camino.

A todos ustedes, MUCHAS GRACIAS!!

RESUMEN

Las grasas son componentes esenciales de muchos productos alimenticios, ya que ayudan a proporcionar el color, sabor, textura y vida útil deseados. Actualmente es bien sabido que el consumo elevado de ácidos grasos saturados y *trans* tiene efectos negativos en la salud humana, lo que obliga a la industria alimentaria a buscar alternativas tecnológicas que permitan obtener productos con características físicas y organolépticas similares a los tradicionalmente comercializados, pero saludables para los consumidores. En la búsqueda de soluciones factibles, la estructuración de aceites se ha convertido en un área de investigación de creciente interés en los últimos años. Los oleogeles, definidos como sistemas semisólidos compuestos por aceite líquido atrapado en una red de moléculas de agente estructurante, se encuentran entre algunas de las alternativas más prometedoras para reemplazar a este tipo de grasas.

La presente tesis estudia el desarrollo de oleogeles a partir de monoglicéridos y aceites vegetales, desde su formulación y caracterización fisicoquímica, hasta la evaluación de su aplicación como sustitutos de grasas sólidas en magdalenas.

En el Capítulo 1 se presenta una introducción general al tema de estudio, describiendo la funcionalidad de los aceites y las grasas en alimentos, y la problemática existente en relación al consumo de grasas saturadas y *trans*. Además, se incluye una revisión bibliográfica sobre las características de los oleogeles, como así también sobre su aplicación en alimentos.

Los materiales y los métodos analíticos utilizados en el trabajo de tesis se describen en el Capítulo 2. Además, se detalla la caracterización de los principales materiales utilizados.

En el Capítulo 3 se analiza, a través de dos diseños experimentales de tipo factorial fraccionario, el efecto que tienen las variables de procesamiento, y sus interacciones, sobre las propiedades de los oleogeles. Se lleva a cabo, además, optimizaciones multirespuesta,

utilizando los modelos matemáticos desarrollados luego del análisis estadístico de los resultados de los diseños experimentales, de manera de definir las condiciones de procesamiento que permiten obtener oleogeles con características similares a una materia grasa comercial, la cual fue seleccionada como modelo. Las mismas pudieron ser corroboradas experimentalmente.

En base a los resultados obtenidos en el capítulo anterior, en el Capítulo 4 se estudia la aplicación potencial de los oleogeles optimizados como sustitutos de una materia grasa sólida empleada en una formulación base o tradicional de magdalenas. Dicha sustitución se evalúa con el fin de compararlas con aquellas producidas con una materia grasa comercial, o solo con aceite, respecto a sus propiedades fisicoquímicas y sus características organolépticas. Además, se cuantifica la migración de aceite en las magdalenas a través del tiempo con el fin de evaluar su estabilidad.

El Capítulo 5 se centra en el estudio de estabilidad de los oleogeles previamente optimizados, de manera tal de analizar el efecto del tiempo de almacenamiento en las características fisicoquímicas de estos potenciales sustitutos grasos.

En el Capítulo 6 se evalúa la aplicación de ultrasonido de alta intensidad, en combinación con cambios en la velocidad de enfriamiento y en la formulación como técnica alternativa de procesamiento y obtención de sustitutos de grasas sólidas empleando menor concentración de estructurante.

Por último, en el Capítulo 7 se presentan las conclusiones generales derivadas del estudio desarrollado en la presente tesis y las propuestas futuras de trabajo.

ABSTRACT

Fats are essential ingredients of many food products, as they help to provide the desired flavor, color, texture and shelf life. Nowadays it is well known that high intake of saturated and *trans* fatty acids have negative effects on human's health, compelling the food industry to search for technological alternatives that allow the obtention of products with similar physical and organoleptic characteristics to those traditionally commercialized but healthy for consumers. Thus, structuring liquid oils has become an interesting area of research in the last years. Oleogels, soft matter systems comprising of liquid oil entrapped in a network of gelator molecules, are among some of the most promising alternatives for replacing these types of fats.

The present thesis studies the formulation of oleogels from monoglycerides and vegetable oils from their physicochemical characterization to the evaluation of their application as solid fat replacers in muffins.

In Chapter 1 a general introduction to the subject of study is presented, describing the functionality of fats and oils in foods, as well as showing the existing problem related to the consumption of saturated and *trans* fats. In addition, a bibliographic review of the characteristics of oleogels is included, as well as its application in food products.

The materials and methods used in the experimental studies carried out in the thesis are described in Chapter 2. Moreover, the characterization of the main materials used is detailed.

Chapter 3 focuses on the study of the effect of the processing variables, and their interactions, on the final properties of oleogels by applying two fractional factorial experimental designs. A multi-response optimization is also carried out by using the mathematical models developed after the statistical analysis of the experimental design results, in order to obtain oleogels with similar characteristics to a commercial fat. These optimizations were experimentally validated.

Taking into account the results obtained in the previous study, in Chapter 4 the potential application of the optimized oleogels as replacers for a solid fat used in a base or traditional muffin formulation is studied. This substitution allows to compare muffins elaborated with oleogels with those produced with a commercial fat, or only with oil, with respect to their physicochemical properties and organoleptic characteristics. In addition, oil migration in muffins is quantified over time in order to assess its stability.

Chapter 5 focuses on the study of the stability of previously optimized oleogels, in order to analyze the effect of storage time on the physicochemical characteristics of these potential fat replacers.

Chapter 6 assesses the application of high intensity ultrasound in combination with changes in the cooling rate and the oleogels formulation, as an alternative technique for processing and obtention of these fat replacers by minimizing the agent structurant concentration.

Finally, Chapter 7 presents the general conclusions obtained through the development of this thesis and future work proposals.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL 1
1.1 FUNCIONALIDAD DE ACEITES Y GRASAS EN ALIMENTOS 1
1.2. PROBLEMÁTICA MUNDIAL: CONSUMO DE GRASAS SATURADAS Y TRANS 5
1.2.1 Regulaciones a nivel mundial 6
1.2.2 Alternativas a las grasas trans: estructuración de lípidos 8
1.2.2.1 Oleogeles 10
1.2.2.2 Aplicación de oleogeles en alimentos 16
1.3 OBJETIVOS 17
1.4 REFERENCIAS 19

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS 24
2.1 INTRODUCCIÓN 24
2.2 MATERIALES 24
2.2.1 Aceites vegetales 24
2.2.2 Monoglicéridos 25
2.2.3 Materia grasa comercial 26
2.3 MÉTODOS 27
2.3.1 Determinación de la composición de ácidos grasos en glicéridos 27
2.3.2 Determinación del punto de fusión 28
2.3.3 Preparación de los oleogeles 29
2.3.4 Determinación de las propiedades de los oleogeles 30
2.3.4.1 Capacidad de retención de aceite 30
2.3.4.2 Propiedades viscoelásticas 30
2.3.4.3 Propiedades de textura 32
2.3.4.4 Microestructura 34
2.3.4.5 Comportamiento térmico durante el proceso de calentamiento 35
2.3.4.6 Difracción de rayos X 35
2.3.5 Análisis estadístico 37
2.4 REFERENCIAS 38

CAPÍTULO 3: OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PREPARACIÓN DE OLEOGELES 40
3.1 INTRODUCCIÓN 40
3.2 ENSAYOS PRELIMINARES 43
3.2.1 Determinación de la concentración mínima de monoglicéridos 43
3.2.2 Evaluación de variables de procesamiento en la preparación de oleogeles 44
3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL 1 (DE1) 52
3.3.1 Metodología 52
3.3.1.1 Optimización multirespuesta 55
3.3.2 Resultados correspondientes al DE1 56
3.3.2.1 Capacidad de retención de aceite 60
3.3.2.2 Propiedades de textura 62
3.3.2.2.1 Dureza 62

3.3.2.2.2 Cohesividad 64
3.3.2.2.3 Adhesividad 66
3.3.2.2.4 Fracturabilidad 67
3.3.2.3 Módulo elástico 69
3.3.2.4 Viscosidad compleja 73
3.3.2.5 Optimización multirespuesta y verificación de los modelos matemáticos 76
3.3.2.5.1 Determinación de los perfiles de enfriamiento 78
3.3.2.5.2 Microestructura 81
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL 2 (DE2) 83
3.4.1 Metodología 84
3.4.1.1 Optimización multirespuesta 86
3.4.2 Resultados correspondientes al DE2 86
3.4.2.1 Módulo elástico 88
3.4.2.2 Capacidad de retención de aceite 90
3.4.2.3 Propiedades de textura 90
3.4.2.4 Optimización multirespuesta (Diseño Experimental 2) 91
3.5 CONCLUSIONES 92
3.6 REFERENCIAS 94

CAPÍTULO 4: FORMULACIÓN DE MAGDALENAS CON OLEOGELES 98
4.1 INTRODUCCIÓN 98
4.2 FORMULACIÓN DE MAGDALENAS 102
4.3 ANÁLISIS DE LAS MAGDALENAS FORMULADAS 104
4.3.1 Textura 105
4.3.2 Migración de aceite 105
4.3.3. Color 105
4.3.4 Peso y dimensiones 106
4.3.5 Contenido de Humedad 107
4.3.6 Volumen específico 107
4.3.7 Análisis de imágenes digitales de la estructura de la miga 108
4.3.8 Análisis Sensorial 108
4.4 RESULTADOS 110
4.4.1 Propiedades de las magdalenas 111
4.4.1.1 Migración de aceite 111
4.4.1.2 Textura 113
4.4.1.3 Color 115
4.4.1.4 Peso y dimensiones 116
4.4.1.5. Contenido de Humedad 117
4.4.1.6 Volumen específico 117
4.4.1.7 Estructura de la miga 118
4.4.1.8 Análisis sensorial 121
4.5 CONCLUSIONES 123
4.6 REFERENCIAS 125

CAPÍTULO 5: ESTABILIDAD DE OLEOGELES 129
5.1 INTRODUCCIÓN 129
5.2 METODOLOGÍA 131
5.2.1 Materiales 131
5.2.2 Métodos 132
5.2.2.1 Módulo elástico 132
5.2.2.2 Propiedades de textura 132
5.2.2.3 Capacidad de retención de aceite 132
5.2.2.4 Comportamiento térmico 132
5.2.2.5 Microestructura 133
5.2.2.6 Polimorfismo 133
5.2.2.7 Color 134
5.2.2.8 Índice de peróxidos 134
5.2.2.9 Análisis estadístico 134
5.3 RESULTADOS 135
5.3.1 Módulo elástico 135
5.3.2 Propiedades de textura 136
5.3.3 Capacidad de retención de aceite 138
5.3.4 Comportamiento térmico 139
5.3.5 Microestructura 141
5.3.6 Polimorfismo 143
5.3.7 Color 144
5.3.8 Índice de peróxidos 145
5.4 CONCLUSIONES 146
5.5 REFERENCIAS 147

CAPÍTULO 6: APLICACIÓN DE ULTRASONIDO EN LA OBTENCIÓN DE OLEOGELES 151
6.1 INTRODUCCIÓN 151
6.2 MATERIALES Y MÉTODOS 153
6.2.1 Materiales 153
6.2.2 Métodos 153
6.2.2.1 Preparación de oleogeles mediante aplicación de ultrasonido 153
6.2.2.2 Propiedades de oleogeles 157
6.2.2.2.1 Capacidad de retención de aceite 157
6.2.2.2.2 Propiedades viscoelásticas 158
6.2.2.2.3 Comportamiento térmico durante el proceso de calentamiento 158
6.2.2.2.4 Contenido de sólidos 158
6.2.2.2.5 Análisis del perfil de textura 159
6.2.2.2.6 Microestructura 159
6.2.2.3 Análisis estadístico 159
6.3 RESULTADOS 160
6.3.1 Capacidad de retención de aceite 160
6.3.2 Propiedades viscoelásticas 162
6.3.3 Comportamiento térmico de los oleogeles durante el calentamiento 165
6.3.4 Contenido de sólidos 170
6.3.5 Propiedades de textura 173
6.3.6 Propiedades microscópicas 179
6.4 APLICACIÓN DE ULTRASONIDO EN LA OBTENCIÓN DE OLEOGELES EMPLEANDO UN MÉTODO ALTERNATIVO 183

6.4.1 Preparación de oleogeles *184*
6.4.2 Medición de las propiedades de los oleogeles *186*
6.4.2.1 Punto de fusión (PF) y temperatura de cristalización (T_c) 186
6.4.2.2 Polimorfismo 187
6.4.3 Resultados *187*
6.4.3.1 Punto de fusión (PF) y temperatura de cristalización (T_c) 187
6.4.3.2 Comportamiento térmico durante el calentamiento 188
6.4.3.3 Microestructura y apariencia visual 191
6.4.3.4 Contenido de sólidos 194
6.4.3.5 Polimorfismo 196
6.4.3.6 Propiedades de textura 198
6.4.3.7 Módulo elástico 202
6.4.3.8 Capacidad de retención de aceite 204
6.5 CONCLUSIONES 206
6.6 REFERENCIAS 208

CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES GENERALES Y TRABAJO FUTURO 213

ÍNDICE DE TABLAS 219

ÍNDICE DE FIGURAS 221

NOMENCLATURA 226

Capítulo

1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Funcionalidad de aceites y grasas en alimentos

Los acilglicéridos constituyen el componente mayoritario de los lípidos de reserva energética, siendo muy abundantes en el tejido adiposo animal y en las semillas y frutos de las plantas oleaginosas. Químicamente se definen como ésteres de ácidos grasos (FA) y glicerol. El glicerol es un alcohol con tres grupos hidroxilos (-OH), mientras que los ácidos grasos se encuentran conformados por un grupo carboxilo unido a una cadena hidrocarbonada (generalmente de 12 a 22 átomos de carbono). Los grupos hidroxilos del glicerol se puede combinar con uno, dos o tres ácidos grasos para formar monoglicéridos (MG): 1-MG, 2-MG o 3-MG, diglicéridos (DG): 1,2-DG o 1,3-DG, y triglicéridos (TG), respectivamente (Figura 1.1).

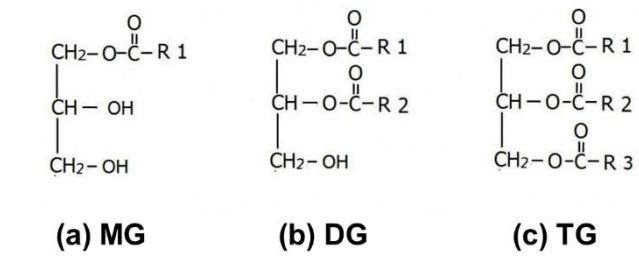


Figura 1.1. Representación esquemática de la estructura de (a) monoglicéridos (MG), (b) diglicéridos (DG) y (c) triglicéridos (TG) conformados por una molécula de glicerol unida a distintos radicales (R) de ácidos grasos.

Los DG surgen como compuestos intermedios en el proceso de la digestión y absorción de los TG. Son ampliamente ingeridos en nuestra dieta diaria y se han demostrado los efectos nutricionales beneficiosos de los DG ricos en los isómeros 1,3, en comparación con los TG, ante la prevención y tratamiento de la obesidad y de la digestión de los lípidos. Los DG, generalmente en una mezcla con monoglicéridos, son empleados como aditivos alimentarios y se utilizan en gran medida como emulsionantes. Sin embargo, son los MG quienes ofrecen mayor interés comercial, ya que son los surfactantes alimenticios más empleados. Ejemplo de ellos son los monoglicéridos del ácido esteárico, oleico y ricinoleico (Sikorski y Kolakowska, 2010).

En general, los aceites y las grasas empleados para alimentación están constituidos mayoritariamente por TG. Estos presentan principalmente tres clases de ácidos grasos: los saturados (SFA) (como ácidos palmítico, C16:0, y esteárico, C18:0), monoinsaturados (MUFA) (como ácido oleico, C18:1) y poliinsaturados (PUFA) (como ácidos linoleico-omega 6, C18:2, y linolénico-omega 3, C18:3) (Figura 1.2). Las tres posiciones de esterificación en los TG pueden aparecer con tres FA iguales, dos iguales y uno distinto, o los tres diferentes. Para diferenciar estas posiciones se utiliza el sistema de numeración estereoespecífica (sn-1, sn-2 y sn-3). En las grasas y aceites naturales, los ácidos grasos saturados se distribuyen mayoritariamente en las posiciones sn-1 y sn-3 del glicerol y, por lo tanto, la posición sn-2 queda preferentemente ocupada por ácidos grasos insaturados. Las posiciones sn-1, sn-2 y sn-3 en los TG determinan el destino metabólico de la grasa en la dieta durante los procesos de digestión y absorción. La hidrólisis enzimática de los TG representa la principal actividad de digestión. La hidrólisis preferencial por lipasas pancreáticas y de lipoproteínas se dirige a los ácidos grasos en sn-1 y sn-3, dando como resultado ácidos grasos libres (FFA) y monoacilgliceroles sn-2. El tipo de ácido graso y su estereoespecificidad en las moléculas de TG determina en gran medida su funcionalidad, así como su punto de fusión. Por ejemplo, el punto de fusión del chocolate, justo por debajo de la temperatura del cuerpo humano, puede atribuirse a la presencia de C18:0 y C16:0 exclusivamente en posiciones sn-1 y -3, y a la presencia de C18:1 en la posición sn-2 (Karupaiah y Sundram, 2007).

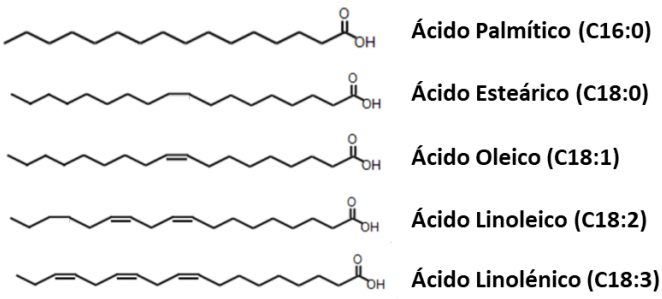


Figura 1.2. Ejemplos de distintas clases de ácidos grasos: saturados (esteárico y palmítico), monoinsaturado (oleico), y poliinsaturados (linoleico y linolénico).

La denominación que reciben los lípidos, mayoritariamente conformados por TG, "aceite" y "grasa", se debe al estado físico de los mismos a temperatura ambiente. Los aceites se presentan líquidos, mientras que las grasas se encuentran en estado sólido a dicha temperatura. En general, las grasas contienen mayor proporción de ácidos grasos saturados, los cuales poseen una estructura tridimensional lineal (Figura 1.3) que les permite acomodarse "ordenadamente" en el espacio, presentando así un punto de fusión elevado (O'brien, 2008). Por otro lado, los aceites presentan por lo general mayor proporción de ácidos grasos insaturados. Los ácidos grasos insaturados poseen dobles enlaces C=C, y en algunos casos muy particulares pueden presentar también triples enlaces, y pueden tener una o más insaturaciones a lo largo de la cadena carbonada. Los dobles enlaces están generalmente separados por un grupo metileno (-CH_2-), por lo que no son conjugados. Dependiendo de la ubicación de los átomos de hidrógeno (H) de los carbonos involucrados en los dobles enlaces, estos pueden presentar configuración *cis* o *trans*, según se encuentren ambos hidrógenos del mismo lado o en lados opuestos de la cadena carbonada, respectivamente. La configuración *cis* le confiere a la estructura de la molécula una cierta torsión, dificultando así que puedan ajustarse a una red cristalina y por ende, caracterizándose las mismas por poseer bajos puntos de fusión. La configuración *trans* es más simétrica, confiriéndole puntos de fusión intermedios entre los de los ácidos grasos saturados y los insaturados *cis* (Kodali y List, 2005).

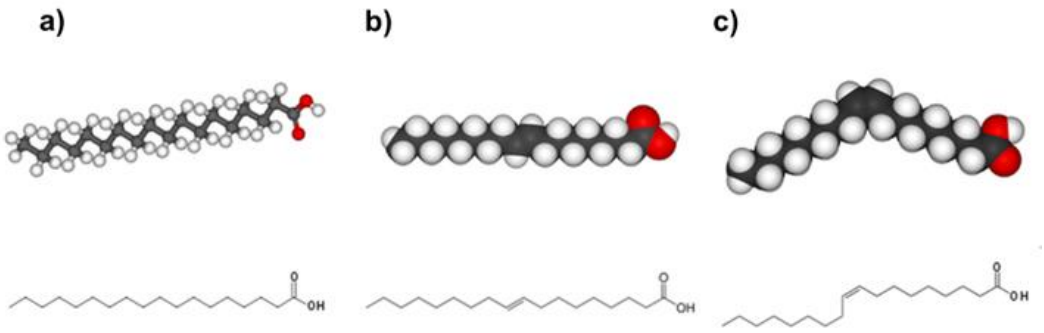


Figura 1.3. Estructuras tridimensionales de los ácidos grasos (a) saturado, (b) insaturado *trans* y (c) insaturado *cis*.

En la naturaleza, la mayoría de los isómeros presentes en los aceites y grasas pertenecen a la conformación *cis*. Los ácidos grasos *cis* pueden sufrir isomerización, dando lugar a ácidos grasos *trans*. Esta conversión de *cis* a *trans* requiere mucha energía, por lo cual suele ocurrir en procesos industriales donde se utilizan altas temperaturas y en presencia de catalizadores. La principal fuente de ácidos grasos *trans* (AGT) en los alimentos es el proceso de hidrogenación parcial de los aceites vegetales. En este proceso, parte de los dobles enlaces se convierten en enlaces simples por incorporación de hidrógeno. El producto principal que se obtiene son TG formados por ácidos grasos saturados (de mayor punto de fusión que los TG originales) y como subproducto se obtiene una cierta proporción de TG con ácidos grasos insaturados convertidos al isómero *trans* (Herrera y Rodríguez, 2006).

Además de actuar como fuente de energía para la mayoría de las células del organismo, los aceites y grasas son ingredientes fundamentales en la industria de los productos de panadería y confitería. En particular, en este ámbito se emplea el termino shortening para referir a las materias grasas plásticas comestibles que se utilizan en la elaboración. Las grasas en los productos de panadería confieren una textura más suave, contribuyen a resaltar el sabor y dan una sensación bucal húmeda, aportándoles además estructura, lubricación e incorporación de aire. Las propiedades que determinan la capacidad de una materia grasa para llevar a cabo estas funciones son:

- La relación entre las fases sólida y líquida de la grasa.

- La plasticidad de la materia sólida de la grasa.
- La estabilidad oxidativa de la grasa o aceite.

La porción sólida de una materia grasa contribuye a la estructura de la masa y a la del producto final y retiene las burbujas de aire durante el amasado. Estas dos funciones son claves en la selección de una materia grasa adecuada para una aplicación específica (Padley y col., 1986). Otra característica importante en aceites y grasas, que determina su funcionalidad y posterior aplicación en alimentos, es el polimorfismo. Los aceites y grasas generalmente cristalizan en tres (α, β', β) o más formas cristalinas. El polimorfismo permite la existencia de múltiples puntos de fusión y está asociado con diferentes tipos de empaquetamiento de las cadenas de carbonos de los ácidos grasos o con diferentes ángulos de inclinación (d'Souza y col., 1990).

1.2. Problemática mundial: consumo de grasas saturadas y *trans*

En las últimas décadas ha quedado ampliamente documentado el efecto negativo que presenta el consumo de grasas *trans* y saturadas sobre la salud humana (Gunstone, 2001). Los ácidos grasos saturados que ocupan las posiciones sn-1 y sn-3 de los triglicéridos y tienen puntos de fusión elevados presentan dificultad para ser absorbidos a la temperatura corporal. Se ha demostrado que los ácidos grasos saturados de cadena larga (14:0-24:0), como el ácido palmítico, contribuyen a incrementar los niveles de colesterol en sangre, siendo perjudicial para la salud humana; una excepción a este efecto se ha reportado para el ácido esteárico, al que se le atribuye un efecto neutro (Akoh y Lai, 2005). Por otro lado, diversos estudios clínicos han demostrado que los AGT tienen un efecto adverso sobre el perfil lipídico similar al de las grasas saturadas, ya que elevan las concentraciones séricas de los triglicéridos de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y disminuyen la concentración sérica de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Ballesteros-Vásquez y col., 2012). Esto se debe a que los AGT pueden modificar la composición de los fosfolípidos de las HDL, alterando sus funciones antiinflamatorias en el sistema sanguíneo. De esta manera, la ingesta excesiva de

este tipo de grasa (>1% de la ingesta calórica diaria total) contribuye al incremento de los niveles de colesterol en sangre y, por lo tanto, al aumento del riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares e incluso padecer muerte súbita. Además, se ha reportado que el consumo de AGT se asocia a enfermedades como la diabetes, ciertos tipos de cáncer y obesidad (Rogers, 2009). Asimismo, se ha demostrado que el consumo elevado de grasas *trans* y saturadas, e incluso el consumo de bajas cantidades a largo plazo, produce la disminución del tamaño de las LDL, lo cual se asocia al proceso de formación de ateroesclerosis y afecta el perfil lipídico ((Ballesteros-Vásquez y col., 2012). Con base en estos estudios, algunos países han impuesto prohibiciones a nivel nacional para los aceites parcialmente hidrogenados, que son la principal fuente de grasas *trans* de producción industrial.

1.2.1 Regulaciones a nivel mundial

Durante los últimos años, varios países han aplicado diversas regulaciones con el objetivo de limitar el contenido de AGT en los alimentos y reducir la ingesta de grasas saturadas en sus poblaciones. A modo de ejemplo, en el año 2006 en Canadá se estableció que los productos alimenticios no solo debían contener menos de 0,2 g de grasas *trans* por porción, sino también menos de 2 g de grasas saturadas. En ese mismo año, la Agencia de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés-Food and Drug Administration) estableció la obligatoriedad de especificar el contenido de grasas *trans* de manera separada del contenido de grasas saturadas en la información nutricional provista en la etiqueta. De esta manera, la FDA reconoció que, entre 2003 y 2012, el uso de grasas *trans* se redujo aproximadamente un 80% en ese país. Además, en 2015, la FDA estableció un plazo de tres años para eliminar las grasas *trans* de los alimentos procesados, instando a los productores de alimentos a usar una cantidad mínima grasas saturadas y/o encontrar ingredientes alternativos.

En Argentina, en el año 2010, se incorporó al Código Alimentario Argentino el Artículo 155 tris, donde se especificó que el contenido de AGT de producción industrial en los alimentos no debía ser mayor a 2% del total de grasas en aceites vegetales y margarinas destinadas al consumo directo y a 5% del total de grasas en el resto de los alimentos.

Actualmente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que la ingesta total de grasas *trans* se limite a menos del 1% de la ingesta energética total. Más aún, eliminar los AGT de los alimentos de producción industrial es una de las metas prioritarias especificadas en el 13º programa general de trabajo, que orientará las actividades de la OMS de 2019 a 2023. El conjunto de medidas propuesto (denominado REPLACE por su acrónimo en inglés: Review, Promote, Legislate, Assess, Create, Enforce) sirve de guía para los países en la aplicación de acciones encaminadas a eliminar los AGT de producción industrial, y define seis áreas de acción estratégica de apoyo para la eliminación rápida, completa y persistente de los AGT de los alimentos de producción industrial (World Health Organization, https://www.who.int):

1. Examen de las fuentes dietéticas de AGT de producción industrial y del panorama general para la introducción de los cambios normativos necesarios.
2. Fomento de la sustitución de los AGT de producción industrial por grasas y aceites más saludables.
3. Legislación o aprobación de medidas reguladoras para eliminar los AGT de producción industrial.
4. Evaluación y seguimiento del contenido de AGT de los alimentos y del consumo de AGT por la población.
5. Concientización de los planificadores de políticas, los productores, los proveedores y la población sobre los efectos negativos de los AGT en la salud.
6. Obligación de cumplimiento de las políticas y reglamentos.

1.2.2 Alternativas a las grasas *trans*: estructuración de lípidos

Como se mencionó anteriormente, las grasas son componentes fundamentales de los productos alimenticios, ya que brindan un aporte importante a su sabor, color, textura y vida útil. Los AGT que se encuentran en los alimentos pueden ser de dos orígenes: biológico o tecnológico. Los de origen biológico se encuentran en pequeñas trazas en aceites vegetales y, además, se producen mediante una biohidrogenación parcial de los ácidos grasos insaturados por acción de microorganismos (bacterias y protozoos) presentes en el estómago de los rumiantes, los que son incorporados a los distintos tejidos del animal. Estos AGT se encuentran, fundamentalmente, en carnes, leches y derivados lácteos de animales rumiantes, y representan cantidades mucho menores que las consumidas a partir de los productos industrializados. La mayor parte de los AGT que se consumen en la dieta humana (>90%) resultan de procesos tecnológicos aplicados en la industria, principalmente de la hidrogenación parcial de aceites vegetales y/o marinos. De este modo, se encuentran mayoritariamente en alimentos de consumo masivo formulados con grasas sólidas o semisólidas, como margarinas y mantecas industriales, productos de fritura y de repostería, helados y gran variedad de snacks (Gunstone, 2001; Rogers, 2009), como se intenta reflejar en la Figura 1.4.

Figura 1.4. Ejemplos de alimentos en los que se emplean grasas conteniendo AGT para su elaboración: productos de panadería, margarinas, frituras, rellenos de galletitas, helados, snacks.

Esta problemática mundial ha impulsado la búsqueda de productos con características físicas y funcionales similares a los existentes en el mercado, pero que presenten un perfil lipídico más saludable. Las estrategias tecnológicas que se utilizan para reemplazar las grasas *trans* en alimentos son: fraccionamiento, interestificación, cambios en la formulación, modificación de la composición de ácidos grasos de la variedad vegetal por ingeniería genética o por cruzamiento convencional, y modificación del proceso de hidrogenación tradicional (Tarrago-Trani y col., 2006; Rogers 2009; Wang y col., 2016). Estas tecnologías, que pueden emplearse solas o combinadas, permiten modificar los puntos de fusión de las grasas y aceites con el fin de mejorar sus propiedades según sus aplicaciones específicas y aumentar su estabilidad (Kodali y List, 2005). A continuación se describen brevemente:

1. *Fraccionamiento*. Se refiere al proceso de cristalización y separación de las fases (fracciones de TG de un aceite o grasa) de acuerdo a sus puntos de fusión, dando lugar a dos o más productos funcionales a partir del mismo producto original (Zaliha y col., 2004).

2. *Interestificación.* Se emplea para modificar la distribución de ácidos grasos en los gliceroles de TG, lo que permite variar el punto de fusión y la funcionalidad de una grasa. Puede hacerse empleando un proceso químico o por medio de enzimas específicas (Kellens, 2000). Mediante la interesterificación enzimática es posible modificar posiciones específicas, generalmente las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 dejando relativamente intacta la posición *sn*-2, siendo ésta la de mayor absorción del organismo (Criado y col., 2007).

3. *Modificación de la composición de ácidos grasos de la variedad vegetal por ingeniería genética.* Este método permite modificar el genotipo específico en cada variedad de plantas dando como resultado una determinada composición de ácidos grasos. Por ejemplo, se han obtenido semillas de girasol y de canola conteniendo aceites con alto contenido de ácido oleico y esteárico y bajo contenido de ácido linolénico, lo que les confiere una elevación en su punto de fusión y una estabilidad oxidativa mejorada, favoreciendo su uso en algunas aplicaciones de panadería. De esta manera, el aceite de girasol alto oleico se convirtió en una alternativa con una marcada ventaja nutricional debido a su alto contenido en ácidos

grasos insaturados, pero también tecnológica, ya que presenta gran estabilidad oxidativa (Martínez-Force y col., 2004).

4. *Hidrogenación total o parcial, en condiciones de proceso distintas de las tradicionales.* Las razones principales por las que se hidrogenan los aceites vegetales son para aumentar su estabilidad oxidativa (mejorando las características organolépticas e incrementando su vida media), temperatura de fusión y contenido de sólidos (mejorando su textura y funcionalidad para aplicaciones alimenticias). Los procesos de hidrogenación parcial han evolucionado en el tiempo, habiéndose llegado a desarrollos tecnológicos que permiten producir grasas con porcentajes bajos de isómeros *trans* y con funcionalidad aceptable para elaborar algunos productos. También se emplea la hidrogenación total, que transforma todos los ácidos grasos insaturados en saturados, y la grasa sólida que se obtiene puede mezclarse con aceites vegetales para producir una grasa cero *trans* (Jang y col., 2005).

5. *Estructuración de aceites.* Esta metodología refiere a la formación de sistemas semisólidos a partir de una fase continua (aceite vegetal) y un agente estructurante que tiene la capacidad de “atrapar” físicamente al aceite formando una red tridimensional. Los materiales así obtenidos se denominan oleogeles. La capacidad de estructurar altas cantidades de aceite (> 90 %p/p) con bajas concentraciones de agente estructurante hace que esta tecnología sea considerada una herramienta muy eficaz para mejorar el perfil nutricional de alimentos, obteniendo productos “cero grasa *trans*” y bajos en grasas saturadas (Patel y Dewettinck, 2016). Tal es así, que en los últimos años el número de patentes y publicaciones respecto a la formulación y caracterización de oleogeles ha aumentado significativamente (Patel y Dewettinck, 2016).

1.2.2.1 Oleogeles

Tal como se mencionó en el apartado anterior, un oleogel puede definirse como un material semisólido que se obtiene al atrapar aceite en una red de gel tridimensional. Esta

red se forma por el ensamblaje entre moléculas (agentes estructurantes) que son añadidas generalmente en baja concentración al aceite. Los agentes estructurantes pueden ser ácidos grasos, alcoholes grasos, ceras, monoglicéridos, proteínas, lecitinas, fitoesteroles, polisacáridos modificados, ceramidas y demás compuestos que tengan la capacidad de autoensamblarse (característica dada generalmente por su carácter anfifílico), permitiendo la formación de una red que impide que el aceite fluya (Co y Marangoni, 2012; Marangoni y Garti, 2018). Los mismos pueden además ser usados solos o en mezclas, ya que en ciertas combinaciones han demostrado ser más efectivos, tal ha sido el caso de ácidos grasos/alcoholes grasos, lecitina/sorbitan triestearato y fitoesteroles/oryzanol (Hughes y col., 2009).

La eficiencia del proceso de gelificación está dada, en primer lugar, por la composición y naturaleza química del agente estructurante. En general, dependiendo del tipo de agente estructurante usado en la formulación de oleogeles, se pueden distinguir distintos mecanismos de gelificación, que incluyen la formación de redes cristalinas tridimensionales, redes fibrilares autoensambladas, emulsiones estructuradas, redes poliméricas, entre otras (Pernetti y col., 2007; Marangoni y Garti, 2018). En base al tipo de gelificación, los métodos propuestos en la literatura para el desarrollo de oleogeles se pueden clasificar en directos e indirectos. En los métodos directos el agente estructurante se incorpora directamente en la fase oleosa porque presenta la particularidad de ser miscible o inmiscible en la misma según la condición térmica del sistema. En los indirectos, el agente estructurante no posee esta propiedad por lo que debe ser sometido a un tratamiento previo para estructurarse y/o proporcionarle la capacidad para interaccionar con la fase oleosa.

Los métodos directos son los que presentan, en la actualidad, más opciones de agentes estructurantes posibles. La mayoría de los oleogeles estudiados, reportados en la literatura, son formados por compuestos poliméricos de bajo peso molecular. Estos compuestos generalmente forman estructuras supramoleculares en los oleogeles a través de interacciones no covalentes, lo que les confiere el carácter termorreversible (Co y Marangoni, 2018). En el caso de los sistemas donde el agente estructurante cristaliza, su mecanismo de

cristalización desempeña un rol fundamental en la estructura final del oleogel, como así también las interacciones entre los cristales formados, que determinan sus propiedades fisicoquímicas (Marangoni y Garti, 2011). El agente estructurante se dispersa y solubiliza en la fase líquida del aceite a temperaturas por encima de su punto de fusión, y posteriormente se enfría bajo condiciones dinámicas (agitación) o estáticas, que dan lugar a la cristalización de estas moléculas (Patel y Dewettinck, 2016). Tal como sucede en la formación de grasas sólidas, este proceso de cristalización implica nucleación, agregación y crecimiento de cristales, para lograr la formación de la red estructural. Sin embargo, el tipo y la morfología de los cristales formados, la tendencia al crecimiento unidireccional y el menor grado de agregación entre los cristales formados, diferencian la cristalización de los agentes estructurantes en aceites de los cristales de grasas sólidas convencionales. La Figura 1.5 muestra imágenes obtenidas mediante microscopía óptica de luz polarizada y microscopía electrónica de barrido, donde se identifica la morfología de cristales formados por TG de alto punto de fusión (Figuras 1.5-A y D), en comparación con las estructuras cristalinas formadas en oleogeles por MG (Figuras 1.5-B y E) y ceras de girasol (Figuras 1.5-C y F). Los cristales formados a partir de TG se forman en todas las dimensiones dando lugar al crecimiento de cristales en forma aproximadamente esférica, mientras que los cristales formados por la estructuración de aceites con MG y ceras muestran crecimiento en una y dos direcciones, respectivamente, resultando en estructuras mayoritariamente lineales que favorecen la formación de una red cristalina continua. Las grasas forman “nanoplaquetas” (Acevedo y Marangoni, 2010), mientras que los MG dan lugar a microestructuras en forma de fibras (tipo aguja) (Rocha-Amador y col., 2014), y las ceras gelifican en aceites formando estructuras bidimensionales, denominadas “microplaquetas” (Toro-Vazquez y col., 2007). De esta manera, las características de la red cristalina formada dependen de las fuerzas intermoleculares existentes entre los cristales formados, y las interacciones del agente estructurante con el aceite, los cuales están influenciados por la composición química del estructurante (Patel y Dewettinck, 2016).

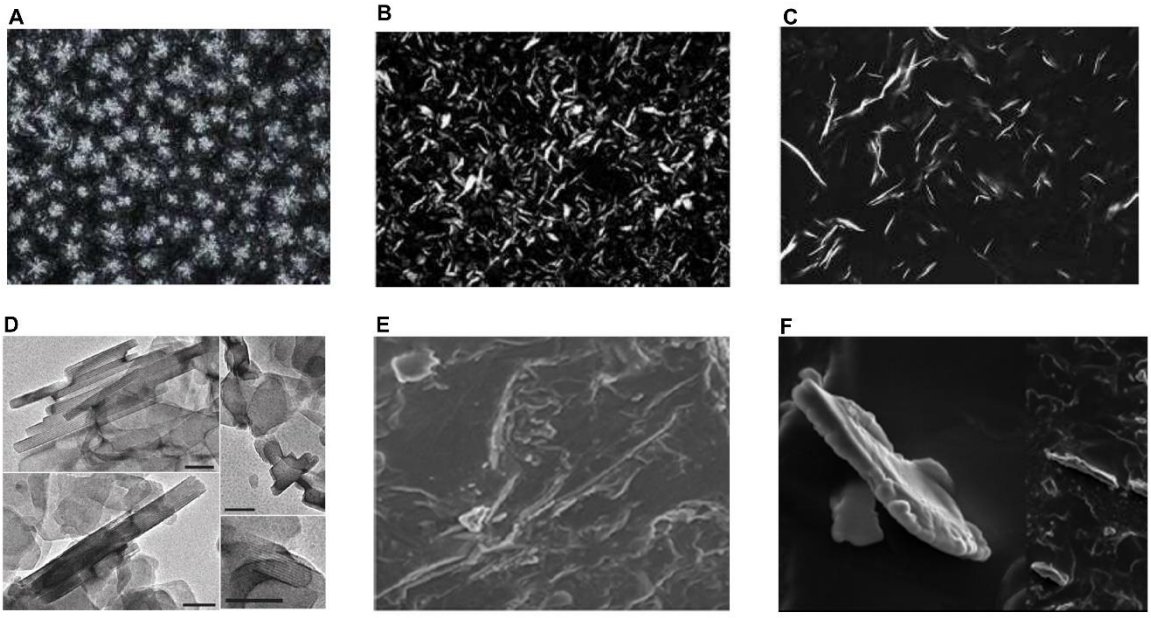


Figura 1.5. Imágenes microscópicas obtenidas mediante: microscopía óptica de luz polarizada (línea superior) y microscopía electrónica de barrido (línea inferior). Ejemplos de estructuras cristalinas presentes en **(A,D)** grasas sólidas; oleogeles formulados a partir de la estructuración de aceites con **(B,E)** monoglicéridos, y **(C,F)** ceras (Fuente: Acevedo y Marangoni, 2010; Da Pieve y col., 2010; Blake y Marangoni, 2015, Patel y Dewettinck, 2016).

Los oleogeles formulados utilizando MG saturados se vislumbran como unos de los más prometedores para reemplazar las grasas *trans* y reducir las saturadas (Co y Marangoni, 2012). Esto se debe a su excelente capacidad para autoensamblarse en dominios hidrofílicos e hidrofóbicos. En medios hidrofóbicos, los MG son capaces de autoensamblarse en bicapas que conducen a la formación de una red cristalina que impide que el aceite fluya, obteniendo así un material semisólido a partir de un medio líquido (como se describió anteriormente y se esquematiza en la Figura 1.6). El autoensamblaje se realiza a través de interacciones no covalentes. Las interacciones responsables de la gelificación incluyen enlaces de puente hidrógeno, interacciones π-π, electrostáticas y de Van der Waals (Rogers, 2009). Varios autores han reportado la obtención de oleogeles a partir de aceites vegetales y MG a través de la formación de fases laminares inversas (Ojijo y col., 2004a,b; Chen y Terentjev, 2009, 2011; Da Pieve y col., 2010; López-Martínez y col., 2014). Así, en el ambiente hidrofóbico (es decir, en el aceite vegetal) la cabeza hidrofílica correspondiente a los MG está en medio de la bicapa adoptando una estructura bidimensional (Chen y Terentjev, 2009). Dicha

conformación es estabilizada por los enlaces de hidrógeno entre los grupos −OH secundarios y primarios de los grupos de MG a través de las bicapas, siendo este autoensamblaje el responsable de la formación de la fase laminar inversa que conduce a la gelificación del aceite. Las propiedades elásticas así logradas en el sistema aceite/MG permiten la obtención de productos con propiedades mecánicas aptas para ser utilizados en la producción de sustitutos de grasas *trans* y grasas con alto contenido de ácidos grasos saturados (López-Martínez y col., 2015).

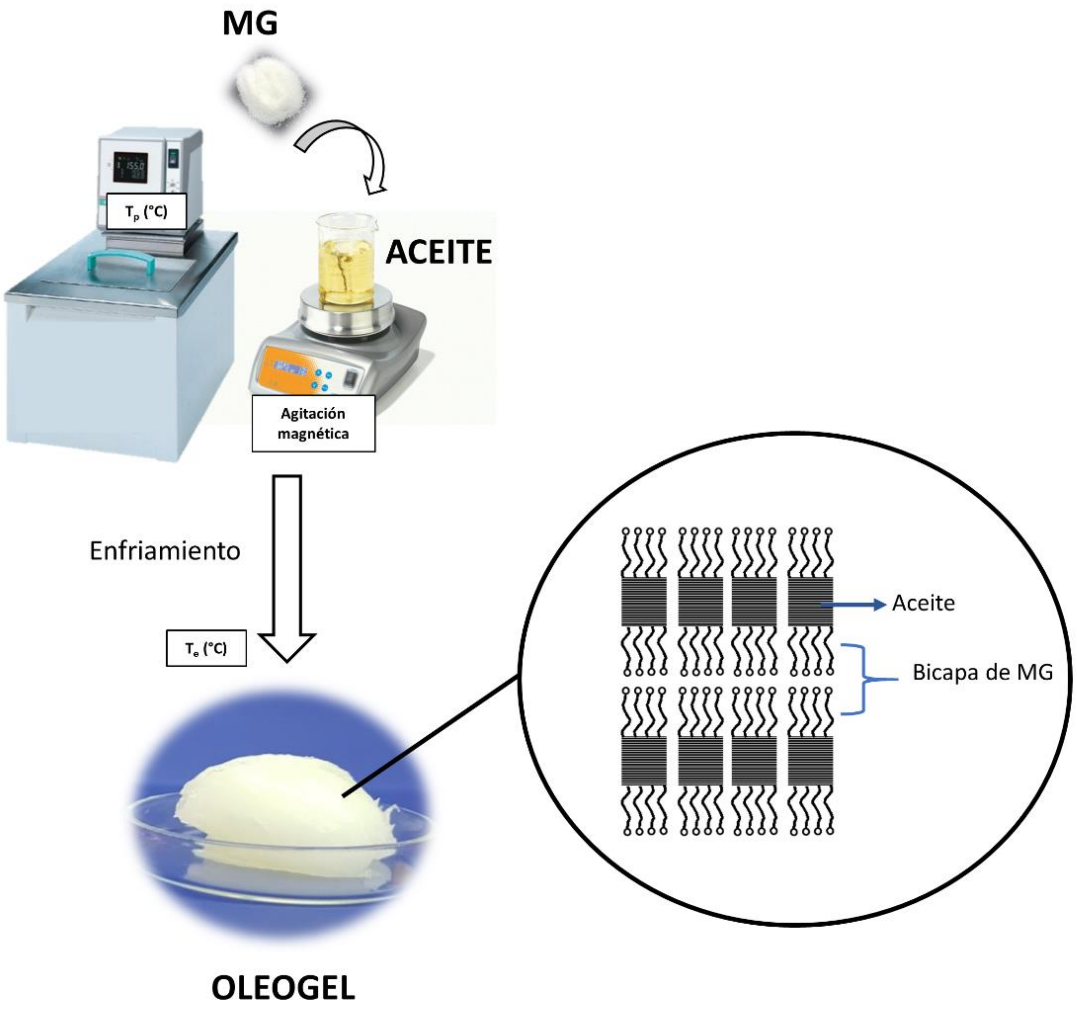


Figura 1.6. Proceso de elaboración de oleogeles a partir de aceites y monoglicéridos (MG). T_p: temperatura de preparación, T_e: temperatura de enfriamiento.

Trabajos de investigación previos han estudiado el comportamiento de la microestructura y de las propiedades reológicas de diversos sistemas constituidos por monoglicéridos en: aceite de avellanas (Garti y Satō, 2001), aceite de hígado de bacalao (Da Pieve y col., 2010), aceite de maíz (Kesselman y Shimoni, 2007) y aceite de oliva (Ojijo y col., 2004b; Kesselman y Shimoni, 2007; Da Pieve y col., 2010). Los monoglicéridos empleados en estos estudios fueron monomiristina, monopalmitina y monoestearina, como mezclas o por separado. Para la caracterización de los oleogeles se emplearon técnicas reológicas, térmicas, mecánicas y de análisis de la nano y microestructura.

Es importante notar que las características físicas y estructurales de estos sistemas no solo quedan definidas por la naturaleza del agente estructurante y del aceite, sino también por las condiciones térmicas y mecánicas establecidas durante su procesamiento (Ojijo y col., 2004b; Da Pieve y col., 2010; Co y Marangoni, 2012; Rocha-Amador y col., 2014). Estudios previos han establecido los principios que gobiernan la formación estructural de un oleogel, intentando relacionar las características micro y nanoestructurales con el comportamiento térmico y reológico (Garti y Satō, 2001; Ojijo y col., 2004b; Kesselman y Shimoni, 2007; Da Pieve y col., 2010). En estos estudios se demostró que tanto al aumentar la concentración de monoglicéridos utilizada en la formulación de oleogeles, como al disminuir la velocidad de enfriamiento aplicada durante su procesamiento, se incrementa la elasticidad de la estructura final. Además, se evidenció que el esfuerzo de corte aplicado durante el proceso de enfriamiento tiene gran influencia sobre la dureza de la red cristalina, demostrando que los procesos de gelificación bajo condiciones estáticas resultan en una estructura con mayor capacidad de retención de aceite. Sin embargo, existe poca información acerca de la relación entre todas las condiciones de preparación y las propiedades finales que presenta el oleogel. Por este motivo, uno de los objetivos de la presente tesis es la formulación y caracterización de oleogeles obtenidos a partir de monoglicéridos y aceites vegetales, incluyendo el estudio detallado de la influencia de las condiciones de procesamiento sobre la estructura y el comportamiento de estos nuevos materiales.

El ultrasonido de alta intensidad (US) es una técnica que usa ondas acústicas en niveles de baja frecuencia (20−100 kHz) y alta potencia (10−10000 W/cm^2). Se basa en la propagación de ondas acústicas inaudibles a través de un medio (generalmente líquido) a bajos niveles de frecuencia (20-100 kHz), las cuales generan variaciones de presión, dando como resultado la formación de microburbujas (cavidades) que, con los sucesivos ciclos de US, alcanzan un tamaño crítico y colapsan. Esta implosión libera la energía acumulada y ocasiona, entre otros efectos, incrementos de temperatura instantáneos y choques mecánicos (Ureta y col., 2017). El ultrasonido de alta intensidad (US) se considera una tecnología emergente dentro del campo de procesamiento de alimentos. Entre los efectos que se pueden generar por la aplicación de US se encuentra la modificación del comportamiento de cristalización o sonocristalización (Ye y Martini, 2015). Dado que durante el proceso de cristalización de lípidos se generan cambios en la estructura interna, la morfología y el ordenamiento molecular, la aplicación de US puede modificar este proceso, alterando el crecimiento y tamaño de cristales y por ende, modificando la funcionalidad de este tipo de productos (Ye y col., 2011; Jana y Martini, 2014). Hasta el momento, existen pocos trabajos, y de reciente publicación, sobre la aplicación de US en oleogeles (Sharifi y col., 2018; da Silva y col., 2019). Por lo tanto, la evaluación de la aplicación de ultrasonido de alta intensidad como herramienta de procesamiento adicional para obtener oleogeles con características fisicoquímicas similares a las de las grasas que se busca reemplazar (grasas *trans* y grasas con alto contenido de saturados) es otro de los objetivos de la presente tesis.

1.2.2.2 Aplicación de oleogeles en alimentos

Para que el oleogel producido pueda ser empleado como ingrediente graso en la elaboración de alimentos debe cumplir ciertos requerimientos: ser de grado alimenticio y económico, contener bajas concentraciones de agente estructurante (para que la composición nutricional que predomine sea la del aceite) y exhibir propiedades fisicoquímicas

similares al material graso que se intenta reemplazar (Co y Marangoni, 2012). Además, resulta necesario estudiar los efectos de la incorporación de oleogeles en la matriz alimenticia, analizando las posibles interacciones que pueden ocurrir ya sea durante su elaboración y/o en el procesamiento posterior del alimento.

Independientemente de la composición de la red, los oleogeles presentan numerosas aplicaciones potenciales en alimentos. Además de ser empleados como sustitutos de las grasas *trans* y saturadas, pueden ser usados como inhibidores de la migración de aceite en ciertos productos alimenticios, como estabilizantes de emulsiones, y para encapsulación de compuestos bioactivos (Hughes y col., 2009). Algunos estudios han reportado el efecto del reemplazo de la materia grasa convencional por oleogeles formulados con diferentes estructurantes en distintos productos: cárnicos (Zetzl y col., 2012; Toledo y col., 2016), helados (Zulim Botega y col., 2013; Moriano y col., 2017) y panificados (Calligaris y col., 2013; Patel y col., 2014; Onacik-Gür y col., 2015; Mert y Demirkesen, 2016; Lim y col., 2017), analizando los cambios en las propiedades fisicoquímicas del producto final y evaluando, también, la migración de aceite, considerada un efecto indeseable. Sin embargo, existe información limitada en la literatura sobre uso de oleogeles de monoglicéridos en la elaboración de productos panificados dulces y la aceptación sensorial por parte de los consumidores. En base a estas consideraciones, uno de los objetivos principales de la presente tesis es la incorporación de oleogeles de monoglicéridos y aceites vegetales en la elaboración de magdalenas, producto que se seleccionó como modelo, con el fin de evaluar el efecto sobre la calidad fisicoquímica y sensorial del mismo.

1.3 Objetivos

En el grupo de investigación de Ingeniería de Alimentos de PLAPIQUI se ha estudiado previamente la estructuración de lípidos mediante reacciones enzimáticas de interestificación y acidólisis (Pacheco, 2012; Palla, 2012; Salaberría, 2018) con el objetivo de lograr productos grasos con propiedades funcionales mejoradas.

Teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, la presente tesis tiene como **objetivo principal** estudiar la formulación, preparación y caracterización de oleogeles de MG y su aplicación como ingrediente graso en un producto panificado modelo, a fin de evaluar su potencial uso como sustituto de las grasas *trans* y las grasas con alto contenido de ácidos grasos saturados que se utilizan actualmente en la industria de alimentos. Los objetivos específicos son:

- Formular oleogeles, empleando monoglicéridos y diferentes aceites vegetales, con capacidad para sustituir a las grasas *trans* industriales y disminuir las saturadas.
- Estudiar la influencia de las condiciones de procesamiento en la estructura y el comportamiento físico de los oleogeles (a través de su caracterización estructural, térmica, reológica y mecánica), considerando las posibles interacciones entre distintos parámetros de procesamiento y su efecto sobre las propiedades fisicoquímicas de los materiales obtenidos.
- Obtener un material graso con características similares a los que se busca sustituir, optimizando las condiciones de preparación de los oleogeles.
- Evaluar la estabilidad de los oleogeles obtenidos bajo condiciones optimizadas analizando el efecto del tiempo de almacenamiento sobre sus propiedades fisicoquímicas.
- Incorporar los oleogeles en un producto panificado modelo, magdalenas, evaluando su potencial como sustitutos de la materia grasa convencional, y estudiar en forma detallada el efecto de dicho reemplazo en la características fisicoquímicas y sensoriales del producto. Determinar el efecto del reemplazo de materia grasa en la migración de aceite desde el producto.
- Evaluar la aplicación de ultrasonido de alta intensidad como herramienta de procesamiento adicional para la obtención de oleogeles formulados con una menor concentración de monoglicéridos, a fin de mejorar aún más el perfil nutricional de estos sustitutos de materia grasa.

1.4 Referencias

Acevedo, N. C., y Marangoni, A. G. (2010). Characterization of the nanoscale in triacylglycerol crystal networks. *Crystal growth & design, 10*(8), 3327-3333.

Akoh, C. C., y Lai, O. M. (2005). Healthful lipids. AOCS Publishing.

Alimentos Argentinos, http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Aceites%20y%20Oleaginosas/Informes/AplicacionesAceitesGrasas_2011_11Nov.pdf. Último acceso: 05/08/2019.

Ballesteros-Vásquez, M. N., Valenzuela-Calvillo, L. S., Artalejo-Ochoa, E., y Robles-Sardin, A. E. (2012). Ácidos grasos trans: un análisis del efecto de su consumo en la salud humana, regulación del contenido en alimentos y alternativas para disminuirlos. *Nutrición Hospitalaria, 27*(1), 54-64.

Blake, A. I., y Marangoni, A. G. (2015). Plant wax crystals display platelet-like morphology. *Food Structure, 3*, 30-34.

Calligaris, S., Manzocco, L., Valoppi, F., y Nicoli, M. C. (2013). Effect of palm oil replacement with monoglyceride organogel and hydrogel on sweet bread properties. *Food Research International, 51*(2), 596–602.

Chen, C. H., y Terentjev, E. M. (2009). Aging and metastability of monoglycerides in hydrophobic solutions. *Langmuir, 25*(12), 6717-6724.

Co, E. D., y Marangoni, A. G. (2012). Organogels: An alternative edible oil-structuring method. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 89*, 749–780.

Criado, M., Hernández-Martín, E., López-Hernández, A., y Otero, C. (2007). Enzymatic interesterification of extra virgin olive oil with a fully hydrogenated fat: characterization of the reaction and its products. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 84*(8), 717-726.

d'Souza, V., Deman, J. M., y Deman, L. (1990). Short spacings and polymorphic forms of natural and commercial solid fats: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 67*(11), 835-843.

Da Pieve, S., Calligaris, S., Co, E., Nicoli, M. C. y Marangoni, A. G. (2010) Shear Nanostructuring of Monoglyceride Organogels. *Food Biophysics, 5*, 211-217.

da Silva, T.L.T., Arellano, D.B., y Martini, S. (2019). Use of High-Intensity Ultrasound to Change the Physical Properties of Oleogels and Emulsion Gels. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. https://doi.org/10.1002/aocs.12215

Gallo, M., Ferrara, L., y Naviglio, D. (2018). Application of ultrasound in food science and technology: A perspective. *Foods, 7*(10), 164.

Garti, N., y Sato, K. (2001). Crystallization processes in fats and lipid systems. Marcel Dekker.

Gunstone, F. D. (2001). Structured and modified lipids. CRC Press.

Herrera, M. L., y Rodríguez, A. (2016). Soluciones para reemplazar grasas *trans* en alimentos. *Contribuciones Científicas y Tecnológicas, 41*, 21-31.

Hughes, N. E., Marangoni, A. G., Wright, A. J., Rogers, M. A., y Rush, J. W. E. (2009). Potential food applications of edible oil organogels. *Trends in Food Science & Technology, 20*, 470–480.

Jang, E. S., Jung, M. Y., y Min, D. B. (2005). Hydrogenation for low trans and high conjugated fatty acids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 4*(1), 22-30.

Karupaiah, T., y Sundram, K. (2007). Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. *Nutrition & metabolism, 4*(1), 16.

Kellens, M. (2000). Oil modification processes. Edible oil processing, 129-173.

Kesselman, E., y Shimoni, E. (2007). Imaging of Oil/Monoglyceride networks by polarizing near-field scanning optical microscopy. *Food Biophysics, 2*, 117–123.

Kodali, D. R., y List, G. R. (2005). *Trans* Fat Alternative. AOCS Press.

Lim, J., Jeong, S., Lee, J., Park, S., Lee, J., y Lee, S. (2017). Effect of shortening replacement with oleogels on the rheological and tomographic characteristics of aerated baked goods. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 97*(11), 3727–3732.

López-Martínez, A., Morales-Rueda, J. A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M. A., Marangoni, A. G., y Toro-Vazquez, J. F. (2014). Comparing the crystallization and rheological behavior of organogels developed by pure and commercial monoglycerides in vegetable oil. *Food Research International, 64*, 946–957.

Marangoni, A. G., y Garti, N. (2011). An overview of the past, present, and future of organogels. In Edible oleogels (pp. 1-17). AOCS Press.

Marangoni, A. G., y Garti, N. (Eds.). (2018). *Edible oleogels: structure and health implications*. Elsevier.

Martínez-Force, E., y Garcés Mancheño, R. (2004). Nuevos aceites de girasol: el futuro para una industria alimentaria más saludable.

Mert, B., y Demirkesen, I. (2016). Evaluation of highly unsaturated oleogels as shortening replacer in a short dough product. *LWT-Food Science and Technology, 68*, 477–484.

Moriano, M. E., y Alamprese, C. (2017). Organogels as novel ingredients for low saturated fat ice creams. *LWT-Food Science and Technology*, *86*, 371-376.

O'brien, R. D. (2008). Fats and oils: formulating and processing for applications. CRC press.

Ojijo, N. K. O., Kesselman, E., Shuster, V., Eichler, S., Eger, S., Neeman, I. y Shimoni, E. (2004a) Changes in microstructural, thermal, and rheological properties of olive oil/monoglyceride networks during storage. *Food Research International, 37*, 385-393.

Ojijo, N. K. O., Neeman, I., Eger, S. y Shimoni, E. (2004b) Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 84*, 1585-1593.

Onacik-Gür, S., Z˙ bikowska, A., y Jaroszewska, A. (2015). Effect of high-oleic sunflower oil and other pro-health ingredients on physical and sensory properties of biscuits. *CyTA-Journal of Food, 13*(4), 621–628.

Palla, C. A. (2012). Estudio de la Producción de Lípidos Estructurados en Reactores Enzimáticos Batch y de Lecho Empacado. Tesis doctoral, U.N.S., Bahía Blanca, Argentina.

Pacheco, C. (2012). Cinética de la Interesterificación Enzimática de Aceites Vegetales. Tesis doctoral, U.N.S., Bahía Blanca, Argentina.

Padley, F. B., Harwood, J. L., y Gunstone, F. D. (Eds.). (1986). *The lipid handbook*. Chapman & Hall.

Patel, A. R., Rajarethinem, P. S., Gręd owska, A., Turhan, O., Lesaffer, A., De Vos, W. H., ... y Dewettinck, K. (2014). Edible applications of shellac oleogels: spreads, chocolate paste and cakes. *Food & function, 5*(4), 645-652.

Patel, A. R., y Dewettinck, K. (2016). Edible oil structuring: an overview and recent updates. *Food & function, 7*(1), 20-29.

Pernetti, M., van Malssen, K. F., Flöter, E., y Bot, A. (2007). Structuring of edible oils by alternatives to crystalline fat. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, 12*(4-5), 221-231.

Rocha-Amador, O. G., Gallegos-Infante, J. A., Huang, Q., Rocha-Guzman, N. E., Moreno-Jimenez, M. R. y Gonzalez-Laredo, R. F. (2014) Influence of Commercial Saturated Monoglyceride, Mono-/Diglycerides Mixtures, Vegetable Oil, Stirring Speed, and Temperature on the Physical Properties of Organogels. *International Journal of Food Science, 2014*, 513641.

Rogers, M. A. (2009). Novel structuring strategies for unsaturated fats–Meeting the zero-*trans*, zero-saturated fat challenge: A review. *Food Research International, 42*(7), 747-753.

Salaberría, F. (2018). Propiedades Biocatalíticas de Lipasas de Origen Vegetal. Tesis doctoral, U.N.S., Bahía Blanca, Argentina.

Sharifi, M., Goli, S.A.H., y Fayaz, G. (2018). Exploitation of high-intensity ultrasound to modify the structure of olive oil organogel containing propolis wax. *International Journal of Food Science & Technology, 54*(2), 509-515.

Sikorski, Z. Z., y Kolakowska, A. (2010). Chemical and functional properties of food lipids. CRC press

Tarrago-Trani, M. T., Phillips, K. M., Lemar, L. E., y Holden, J. M. (2006). New and Existing Oils and Fats Used in Products with Reduced *Trans*-Fatty Acid Content. *Journal of the American Dietetic Association, 106*(6), 867–880.

Toro-Vazquez, J. F., Morales-Rueda, J. A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M., Alonzo-Macias, M., y González-Chávez, M. M. (2007). Thermal and textural properties of organogels developed by candelilla wax in safflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 84*(11), 989-1000.

Ureta, M. M., Salvadori, V. O., y Olivera, D. F. (2017). Aplicación de ultrasonido en carnes: efecto sobre la calidad tecnológica.

Wagh, A., Birkin, P. y Martini, S. (2016). High-Intensity Ultrasound to Improve Physical and Functional Properties of Lipids. *Annual review of food science and technology, 7*, 23-41.

Wang, F. C., Gravelle, A. J., Blake, A. I., y Marangoni, A. G. (2016). Novel *trans* fat replacement strategies. *Current Opinion in Food Science, 7*, 27-34.

World Health Organization, https://www.who.int. Último acceso: 05/08/2019.

Ye, Y., y Martini, S. (2014). Application of high-intensity ultrasound to palm oil in a continuous system. *Journal of agricultural and food chemistry, 63*(1), 319-327.

Zaliha, O., Chong, C. L., Cheow, C. S., Norizzah, A. R., y Kellens, M. J. (2004). Crystallization properties of palm oil by dry fractionation*. Food Chemistry, 86*(2), 245-250.

Zulim Botega, D. C., Marangoni, A. G., Smith, A. K., y Goff, H. D. (2013). The potential application of rice bran wax oleogel to replace solid fat and enhance unsaturated fat content in ice cream. *Journal of Food Science, 78*(9), C1334-C1339.

Capítulo

2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Introducción

En esta sección se incluye una descripción de los materiales y la metodología utilizados para llevar a cabo la presente tesis. Cabe destacar que los materiales y métodos específicos de cada capítulo serán detallados en cada uno de ellos.

2.2 Materiales

2.2.1 Aceites vegetales

Para comenzar con los ensayos preliminares correspondientes a la presente tesis se seleccionaron cuatro tipos distintos de aceites vegetales refinados: girasol, girasol alto oleico, maíz y soja, considerando su disponibilidad en la región y las diferencias en su composición en ácidos grasos (Tabla 2.1), determinada como ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) por cromatografía gas-líquido (metodología descripta en sección 2.3.1). Los aceites de girasol, maíz y soja son ricos en ácidos grasos poliinsaturados, como los ácidos linolénico (omega 3) y linoleico (omega 6), resultandos beneficiosos desde el punto de vista de la salud del consumidor ya que ayudan a reducir el colesterol y los triglicéridos en la sangre (Padley y col., 1986). El aceite de girasol alto oleico se caracteriza por su composición mayoritaria en ácidos grasos monoinsaturados, su gran estabilidad oxidativa y sus efectos positivos sobre

la salud, al reducir el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares (Chaves y col., 2018). Los aceites de maíz (Cañuelas), girasol (Cocinero) y girasol alto oleico (Cooperativa Obrera) fueron adquiridos en un mercado local, mientras que el aceite de soja empleado fue donado por la empresa Molinos Río de la Plata, siendo todos ellos de origen nacional.

Los valores obtenidos en el análisis de composición en ácidos grasos resultaron similares a los reportados por Zambiazi y col. (2007) y Rocha-Amador y col. (2014), teniendo en cuenta la variabilidad asociada a los productos de origen vegetal.

Tabla 2.1. Composición (%) en ácidos grasos de los aceites vegetales seleccionados para los ensayos preliminares.

	ÁCIDOS GRASOS		
Aceite Vegetal	**SFA**	**MUFA**	**PUFA**
Girasol	10,4±0,1	28,2±0,3	60,9±0,2
Girasol Alto Oleico	6,6±0,0	85,3±0,1	7,7±0,0
Maíz	13,7±0,2	33,4±0,1	52,6±0,1
Soja	16,5±0,1	22,9±0,1	59,7±0,1

Ácidos grasos: saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA).

2.2.2 Monoglicéridos

Como agente estructurante se utilizaron dos mezclas de monoglicéridos (MG), cuya nomenclatura comercial es Myverol 18-50 XL PL (Myv-1, disponible en forma de perlas) y 18-04 K SG (Myv-2, disponible en forma de polvo), respectivamente (Figura 2.1). Estas mezclas fueron provistas por la empresa Kerry (Irlanda).

Figura 2.1 Mezclas de monoglicéridos utilizados como agente estructurante: Myverol 18-50 XL PL (izquierda) y Myverol 18-04 K SG (derecha).

La composición en glicéridos y ácidos grasos libres de estas mezclas, indicada por el proveedor, se muestra en la Tabla 2.2. La composición en ácidos grasos esterificados con el glicerol fue determinada como FAME por cromatografía gas-líquido (técnica descripta en sección 2.3.1) y el punto de fusión (PF) de las mezclas se midió acorde a la metodología descripta en la sección 2.3.2. La composición de la mezcla Myverol 18-50 XL PL (PF= 54,6±0,5 °C) fue: 7,2±0,0, 61,1±0,6 y 22,1±0,7 %m/m de monoglicéridos de ácidos palmítico, esteárico y oleico, respectivamente; y la de Myverol 18-04 K SG (PF= 69,3±0,2 °C) fue: 53,6±0,1 y 43,9±0,1 %m/m de monoglicéridos de ácidos palmítico y esteárico, respectivamente.

Tabla 2.2. Composición de las mezclas comerciales utilizadas como agente estructurante.

	Concentración (% (m/m))	
Componentes	**18-50 XL PL**	**18-04 K SG**
Glicerol	2,13	1
Monoglicéridos	90,4	90*
Diglicéridos	1,45	7,5**
Ácidos grasos libres	3,22	1,5**

Valor declarado como: *mínimo, **máximo.

2.2.3 Materia grasa comercial

Como materia grasa comercial (MC) modelo se utilizó una margarina light (marca Manty), producida por la empresa Molinos Rio de la Plata S.A. (Argentina), cuya composición se encuentra detallada en la Tabla 2.3.

Asimismo, a fin de contar con un valor más preciso del contenido de materia grasa (C_g) de la margarina utilizada, el mismo se determinó mediante la norma ISO 17189- IDF 194 (ISO/IDF, 2003) siguiendo el procedimiento que se describe a continuación. En primer lugar, se lleva a cabo la extracción de la materia grasa mediante un solvente orgánico (éter de petróleo, punto de ebullición 30-60ºC): se pesa 1-2 g de muestra (p_0) en un tubo de centrífuga al cual se le agregan 20 mL de solvente de extracción. Luego se agita durante 1 min en vortex y se procede a la centrifugación (5 min, 300 g), de manera tal de obtener luego de este

proceso la fase solvente en la parte superior del tubo sobre la fase acuosa depositada en el fondo del mismo. Se colecta la fase solvente en un balón (previamente pesado, p_1) y se repite este procedimiento 3 veces. Por último, se procede a evaporar la mezcla contenida en el balón y se registra el peso final (p_2). El contenido de materia grasa se determina por gravimetría mediante la Ec. 2.1.

$$C_g\ (\%\,{}^{m}/_{m}) = \frac{(p_2 - p_1)}{p_0} x100 \qquad (2.1)$$

El C_g del producto analizado por duplicado fue 40,5±0,6 %m/m (contenido de materia grasa saturada: 51,0±0,5 %m/m).

Tabla 2.3. Composición de la margarina light (marca Manty) declarada en su envase.

Componentes	Cantidad*
Carbohidratos	0
Proteínas	0
Grasas Totales	4,0 g
Grasas Saturadas	2,3 g
Grasas Trans	0
Fibra Alimentaria	0
Sodio	65 mg
Vitamina A	90 µg
Vitamina D	0,75 µg

*Cantidad correspondiente a una porción de 10 g.

2.3 Métodos

2.3.1 Determinación de la composición de ácidos grasos en glicéridos

La composición de ácidos grasos de los aceites vegetales y los monoglicéridos fue determinada mediante la derivatización de la muestra, obteniéndose ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) de acuerdo con el Método Oficial Ce 2-66 (AOCS, 2009) mediante la

transesterificación en frío con KOH metanólico. El método consiste en preparar en un tubo de centrífuga una solución de 40 mg de muestra en hexano cromatográfico (2 mL). Luego, añadir 200 µL de solución de KOH en metanol al 20 %(m/v), agitar durante 1 min y dejar reposar 15 s. Por último, centrifugar (4000 rpm – 2 min) y recolectar la fase superior conteniendo los FAME.

Los FAME fueron analizados mediante cromatografía gas-líquido (CGL) en un cromatógrafo serie 4890D (Agilent, Hewlett-Packard) equipado con una columna capilar de sílice fundida (SP-2380, 30 m × 0,25 mm x 0.2 mm espesor de film; Supelco Inc.), un inyector split y un detector de ionización de llama (FID). Como gas portador se utilizó hidrógeno a una velocidad de 23 m/s. Se inyectó en modo split con una relación 1:100. El programa de temperatura se mantuvo a 170 °C por 15 min, luego se incrementó hasta 210 °C a una velocidad de 4°C/min, y se mantuvo a dicha temperatura por 10 min. Las temperaturas del inyector y del detector se fijaron en 220 °C. La adquisición de datos y la integración de los picos fue realizada empleando el software HP 3398A GC Chemstation (Hewlett-Packard, 1998). La identificación se realizó comparando los tiempos de retención de las especies de la muestra respecto de los estándares auténticos (Supelco 37 Component FAME mix, Supelco Inc.) y la cuantificación se realizó como porcentaje (área) respecto del total de ácidos grasos. Los resultados se reportaron como % (m/m) de ácidos grasos en los glicéridos. El análisis se llevó a cabo por triplicado.

2.3.2 Determinación del punto de fusión

El punto de fusión de las mezclas comerciales de monoglicéridos y de los oleogeles se determinó por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) con calentamiento modulado. Para ello se utilizó un calorímetro modelo Pyris 1 (Perkin-Elmer, Waltham, EEUU). La línea de base y la temperatura del equipo fueron calibradas con una muestra standard de indio. Cada muestra, aproximadamente 10-15 mg, se colocó en una cápsula de aluminio hermética, usada como elemento contenedor, la cual fue introducida en la celda del equipo para

medición. Las muestras se mantuvieron a 25 °C durante 1 min y luego fueron calentadas a 5 °C/min hasta 80 °C. El PF se determinó como la temperatura máxima correspondiente al mayor pico observado en el termograma de fusión. El análisis se llevó a cabo por duplicado.

2.3.3 Preparación de los oleogeles

En la Figura 2.2 se muestra el diagrama de flujo correspondiente al procedimiento de preparación de los oleogeles de monoglicéridos.

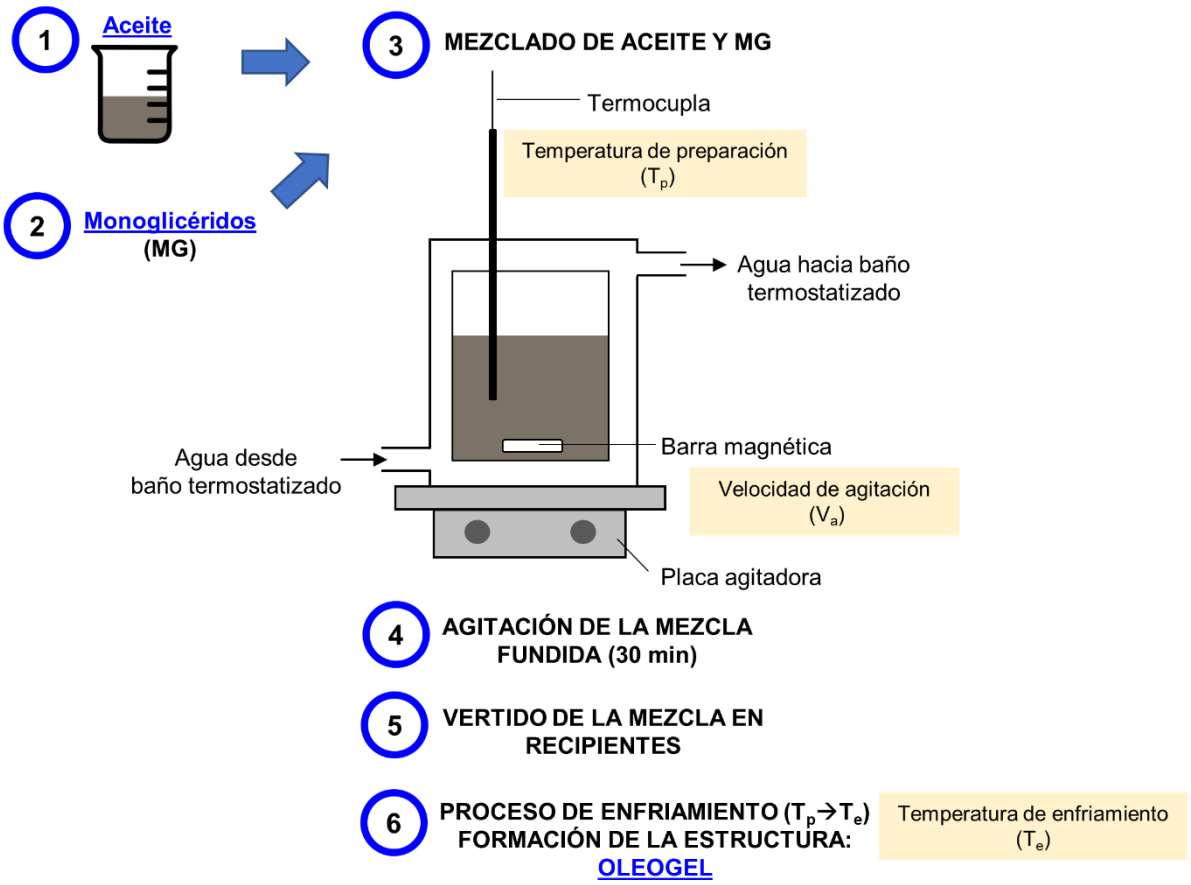


Figura 2.2. Diagrama de flujo correspondiente al procedimiento de preparación de oleogeles de aceites vegetales y monoglicéridos (MG).

Se pesó la cantidad correspondiente de aceite y se la colocó en un recipiente de vidrio, el cual fue conectado a un baño termostatizado para mantener la temperatura de preparación deseada (T_p). Una vez que el aceite alcanzó esta temperatura, se incorporó la cantidad

preestablecida de monoglicéridos. La mezcla fue sometida a agitación magnética durante 30 min. La velocidad de agitación (V_a) se cuantificó utilizando un tacómetro láser digital. Luego, la mezcla fundida se colocó en recipientes durante el tiempo necesario para permitir que gelificara de manera estática a la temperatura de enfriamiento (T_e) seleccionada.

2.3.4 Determinación de las propiedades de los oleogeles

2.3.4.1 Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite (OBC, por sus siglas en inglés – oil binding capacity) representa el porcentaje de aceite retenido por la muestra luego de la centrifugación. Esta propiedad se determinó acorde al método empleado por Yılmaz y Öğütcü (2014), con modificaciones. Cada eppendorf, conteniendo una porción de oleogel, se pesó y se centrifugó a 9000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente (~22 °C) usando una microcentrífuga (Giumelli z-127-D, Argentina). El aceite liberado del oleogel se retiró del eppendorf, drenando por inversión durante 3 min, y se pesó la cantidad de material remanente en el mismo. Se realizaron al menos tres réplicas para cada muestra. OBC se calculó como una función del porcentaje másico de aceite liberado desde la muestra luego de la centrifugación (Ec. 2.2):

$$\mathrm{OBC}(\%) = 100 - \left(\frac{\text{masa de aceite liberado}}{\text{masa de oleogel inicial}}\right) * 100 \qquad (2.2)$$

2.3.4.2 Propiedades viscoelásticas

Las propiedades viscoelásticas se determinaron mediante ensayos dinámicos oscilatorios. En general los ensayos se realizaron acorde a la metodología que se describe a continuación, salvo cuando se especifique otra. Para ello se utilizó un reómetro Paar Physica (modelo MCR 301, Anton Paar GmbH, Austria), el cual contiene un sistema de control de temperatura Peltier y un sistema de adquisición de datos computarizado (Rheoplus/32 V3.40).

Las mediciones se realizaron empleando una geometría de platos paralelos (diámetro: 50 mm).

Para evaluar la formación del material en el reómetro, se colocó una alícuota de la mezcla (MG/aceite) fundida sobre la placa inferior del reómetro, previamente acondicionada a 70 ºC. A continuación, la geometría se ajustó hasta la posición de medición correspondiente al gap seleccionado (0,4 mm). Se determinaron los módulos elástico (G') y viscoso (G'') mediante ensayos dinámico-oscilatorios de baja amplitud, en 2 etapas: enfriamiento desde 70 hasta 20 ºC a una velocidad de 2 ºC/min (deformación o strain, γ=0,5%, frecuencia angular ω=10 rad/s), y luego barrido de frecuencia angular (ω=10-100 rad/s) a 20 ºC (γ=0,5%). Durante la primera etapa se determinó la temperatura de gelificación (T_g), identificada como el punto de divergencia de G' observado durante el proceso de enfriamiento de la mezcla (Ojijo y col., 2004), mientras que en la segunda etapa se registraron G' y G'' para cada mezcla.

Para determinar el comportamiento viscoelástico del material gelificado, se colocó papel de lija (grado 360, Norton) en las superficies inferior y superior de la geometría utilizada con el fin de evitar el deslizamiento de las muestras. Los oleogeles se colocaron sobre el plato inferior del reómetro y la separación entre platos (gap) se fijó de manera de producir una fuerza normal de 10 N. Para su análisis se llevaron a cabo ensayos oscilatorios de barrido de frecuencia angular (ω=10-100 rad/s) a 20 ºC (γ=0,5%). Para cada experimento se realizaron tres réplicas. Además, para asegurar que todos los ensayos se lleven a cabo dentro de la región viscoelástica lineal, se realizaron ensayos de barrido de deformación (γ=0,01-100%) a ω=10 rad/s, lo que permitió elegir un valor de deformación adecuado para llevar a cabo las determinaciones. El comportamiento viscoelástico se evalúo registrando G', G'' y la viscosidad compleja (η^*) para cada condición analizada.

Modelado de los parámetros reológicos

El módulo elástico representa el carácter elástico de un material y está asociado con la energía almacenada en el mismo, mientras que el módulo viscoso representa la energía disipada por el material. Los geles se caracterizan por ser materiales viscoelásticos,

mostrando G' > G'', lo que indica que el carácter elástico (sólido) predomina sobre el viscoso (líquido) (Emadzadeh y col., 2013). Los valores experimentales de G' versus ω obtenidos en cada caso se ajustaron mediante una ecuación potencial (Ec.2.3):

$$log\ \mathrm{G}' = log\ G_0' + m_{\mathrm{G}'}\ \mathrm{x}\ (log\ \omega)^n \qquad (2.3)$$

Donde *log* G_0', $m_{G'}$ and *n* son constantes a determinar experimentalmente. El parámetro log G_0' representa el valor de log G' a una ω de 1 rad/s; $m_{G'}$ indica la velocidad con la cual se modifica G' con ω, y el parámetro n determina la curvatura en el gráfico log G' vs. log ω (n > 1: cóncava, n < 1: convexa y n = 1: lineal).

La viscosidad compleja es una medida de la resistencia que presenta el material frente a los esfuerzos de corte (Emadzadeh y col., 2013). De esta manera, un material con alta η* se caracteriza por su alta resistencia al flujo. Los datos experimentales correspondientes a η* vs. ω se linealizaron (aplicando logaritmo a ambas variables) y se ajustaron mediante la siguiente ecuación (Ec. 2.4):

$$log\ \eta^* = log\ \eta_0^*\ + m_{\eta^*}\ \mathrm{x}\ log\ \omega \qquad (2.4)$$

Donde $\eta^* = [(G'^2 + G''^2)^{0.5}]/\omega$ y log η_0^* y m_{η^*} son constantes a determinar experimentalmente. De manera análoga a lo descripto anteriormente, el parámetro log η_0^* representa el valor de log η* a una ω de 1 rad/s y m_{η^*} indica la velocidad con la cual se modifica η* con ω.

2.3.4.3 Propiedades de textura

Las propiedades de textura de los oleogeles contenidos en los recipientes donde fueron formados se midieron usando un Analizador de Textura TA Plus (Lloyd, Inglaterra), equipado con una celda de carga de 50 N.

El Análisis de Perfil de Textura (TPA, siglas por su denominación en inglés– Texture Profile Analysis) usado para la evaluación de las propiedades de textura de los oleogeles consistió en dos ciclos de penetración de una sonda cilíndrica (12,5 mm diámetro, 56 mm longitud) en la muestra. En cada ciclo, la muestra se penetró hasta una profundidad de 10 mm a una velocidad de 1 mm/s y, a continuación, la sonda regresó a la posición inicial a la misma velocidad. Se obtuvieron cuatro mediciones independientes para cada experimento. Por otro lado, este análisis también se realizó sobre la MC en las mismas condiciones, utilizando su envase original (4 determinaciones/envase, evaluándose 3 recipientes diferentes). Todos los análisis de textura se llevaron a cabo luego de mantener las muestras a 20 ºC durante 1 h.

Respecto a los recipientes utilizados para la medición de las propiedades de textura de los oleogeles, se tuvo en cuenta la recomendación provista por Bourne (2002) respecto a trabajar con geometrías que puedan considerarse semi-infinitas cuando se las compara con la sonda de medición, con el fin de evitar la interferencia de los bordes del recipiente con la sonda de medición (relación diámetro del recipiente/diámetro de la sonda usada ≥ 3); la misma relación se estableció entre la altura del recipiente y la profundidad de penetración de la sonda.

Las curvas obtenidas mediante los ensayos TPA, fuerza vs. tiempo, se usaron para calcular los siguientes parámetros mecánicos de las muestras: fracturabilidad (FR), dureza (DU), adhesividad (AD), y cohesividad (CO). Estos parámetros se seleccionaron de acuerdo a la literatura reportada (Emadzadeh y col., 2013; Yılmaz y Öğütcü, 2014; Garrido y col., 2015). La Figura 2.3 muestra una curva representativa del análisis TPA de oleogeles.

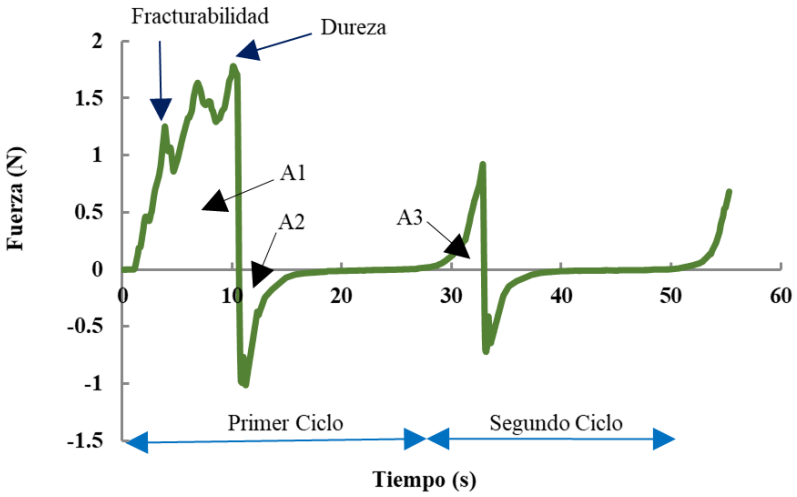


Figura 2.3. Curva del Análisis de Perfil de Textura y sus parámetros característicos para un oleogel.

La altura máxima del pico de fuerza en el primer ciclo representa la DU de la muestra. La FR corresponde a la fuerza máxima antes de la primera ruptura que experimenta el material. Este pico puede aparecer o no, dependiendo de las características del material. La relación entre el área positiva del segundo ciclo y el área positiva del primer ciclo (A3/A1) define la CO, mientras que el área negativa correspondiente al primer ciclo (A2) representa el trabajo necesario para vencer las fuerzas de atracción entre la muestra y la superficie de la sonda, y se denomina AD (Bourne, 2002).

La elasticidad, definida en el TPA como la altura recuperada por la muestra entre el fin del primer ciclo y el comienzo del segundo ciclo, representa otro parámetro mecánico para caracterizar las propiedades de textura de estos materiales. En este estudio la elasticidad no fue determinada mediante este ensayo, ya que se empleó reología para tal fin.

2.3.4.4 Microestructura

La microestructura de los oleogeles fue analizada mediante microscopía óptica de luz polarizada. Dos metodologías fueron utilizadas según se requirió. En un caso, una alícuota de la mezcla fundida (previa a la gelificación) se colocó sobre un portaobjeto, y sobre ella se colocó un cubreobjeto para eliminar el aire, permitiendo que gelificara a la temperatura de

enfriamiento correspondiente. En otro caso, se siguió la misma metodología pero partiendo del material gelificado (oleogel). Se tomaron micrografías ópticas digitales con un microscopio óptico Karl Zeiss con luz polarizada (Phomi III Pol, Alemania). Las imágenes se adquirieron utilizando un lente objetivo de 25x (Leica, Alemania) y se procesaron con el software Analysis. Se tomaron cinco imágenes de cada una de las tres réplicas preparadas.

2.3.4.5 Comportamiento térmico durante el proceso de calentamiento

El comportamiento térmico de los oleogeles fue medido usando el equipamiento y metodología descriptos en la sección 2.3.2. El software TA Universal Analysis fue usado para analizar cada termograma obtenido y así calcular la temperatura de inicio de fusión (T_o), la temperatura de pico (T_{pi}), y el cambio en la entalpía debido al proceso de fusión (ΔH_M). T_o fue estimada como la temperatura correspondiente al comienzo del pico endotérmico, mientras que T_{pi} fue considerada como la temperatura correspondiente al máximo de la curva endotérmica. ΔH_M fue calculada como el área debajo de la curva endotérmica (Toro-Vazquez y col., 2007).

2.3.4.6 Difracción de rayos X

Con el objetivo de identificar las estructuras cristalinas presentes en los oleogeles, se llevó a cabo la técnica de difracción de rayos X.

El análisis de difracción de rayos X permite determinar las formas cristalinas presentes en grasas de acuerdo al patrón de difracción propio de cada forma polimórfica, mediante la determinación de espacios cortos o largos dentro de la estructura del cristal. Los espacios largos (2θ= 16-25°) corresponden a los planos formados por los grupos metil finales, y son dependientes de la longitud de la cadena y del ángulo de inclinación de los ácidos grasos componentes de las moléculas glicéricas. Los espacios cortos (2θ=1-15°) se refieren a la sección transversal del arreglo de la cadena de carbonos y son independientes de la longitud

de la cadena; son ampliamente usados para caracterizar las diversas formas polimórficas (Pomeranz, 1991). En la Tabla 2.4 se muestran los espacios cortos identificados en el patrón de difracción de rayos x característicos para cada forma polimórfica.

Tabla 2.4. Nomenclatura e identificación de las formas polimórficas en grasas y aceites.

Forma polimórfica	Distancia interplanar característica
α	Una única distancia interplanar a 4,15 Å
β'	Generalmente dos picos a distancias de 3,80 y 4,20 Å, o 3 picos en 4,27, 3,97 y 3,71 Å
β	Una forma que no cumple con los criterios especificados para α o β', pero también generalmente muestra un pico muy intenso a una distancia de 4,60 Å
Sub-forma	
β' (sub α)	Una forma β' generalmente funde por debajo de la forma α, con distancias interplanares inusualmente altas
sub β	Una forma que no cumple con los criterios especificados para α o β', pero muestra un pico muy intenso a una distancia de 4,74 Å y varios picos de intensidad media a 4,5, 3,9 y 3,6 Å
γ	Una forma que funde por debajo de la forma α y muestra dos picos muy intensos con distancias interplanares a 4,72 y 3,88 Å
pseudo- β'	Una forma que muestra cierta desviación de la forma β' ordinaria con un pico muy intenso a 3,96, junto con picos de intensidad media a 4,15, 4,27, y un pico de intensidad débil a 4,40 Å

Fuente: Pomeranz, 1991.

En la Figura 2.4 se muestran las proyecciones por cadenas terminales de los principales empaquetamientos de las formas cristalinas en grasas: alfa (α), beta prima (β') y beta (β).

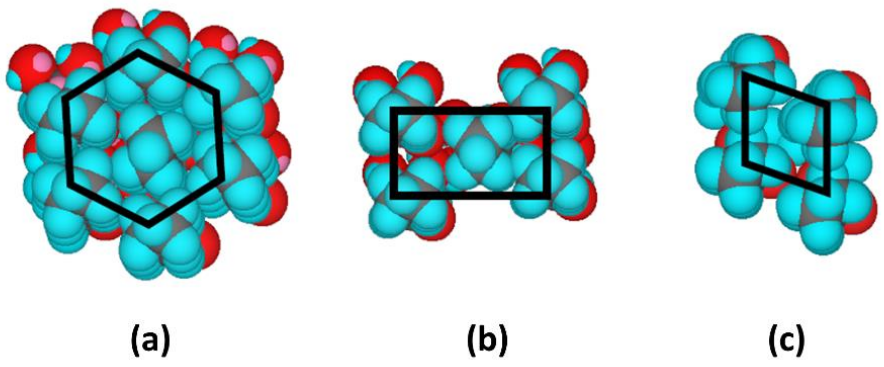


Figura 2.4. Configuración de las principales formas polimórficas en grasas: (a) α, (b) β' y (c) β.

La forma α tiene una simetría hexagonal y se forma a baja temperatura y altas velocidades de enfriamiento; las cadenas de ácidos grasos son perpendiculares al plano del grupo metilo final y oscilan debido al alto grado de libertad molecular. La forma intermedia es conocida como β', tiene una forma ortorrómbica, las cadenas están inclinadas respecto al plano del grupo metilo y las cadenas de ácidos grasos adyacentes están en diferentes planos (Pomeranz, 1991; Marangoni, 2004). Los cristales β' son reconocidos por proveer la estructura suave/lisa característica de las margarinas, y por lo tanto es la forma polimórfica deseada en los oleogeles obtenidos con el objetivo de sustituir a los shortenings (Ferro y col., 2019). La forma β es la más estable, tiene punto de fusión más alto que las otras formas, y una simetría triclínica.

Para llevar a cabo el análisis de difracción de rayos x, las muestras de oleogeles debieron ser filtradas, bajo vacío, utilizando filtro de microfibra de vidrio (Whatman CAT N° 1823-047, diámetro 47 mm), con el fin de eliminar parte del aceite ocluido y así obtener una mejor resolución en los difractogramas de rayos X. De esta manera, se logró separar el aceite líquido contenido en la muestra (se colectó en el fondo del kitasato) y se retuvieron sobre el papel de filtro los cristales de monoglicéridos que componen el oleogel. Los difractogramas de los oleogeles fueron obtenidos en un Difractómetro Rigaku Geiger Flex D Max III-C, con un detector operando a 35 kV y 15 mA, usando radiación Cu Kα y longitud de onda 1,55 Å. El alcance del escaneo para 2θ fue desde 3° hasta 60°, a temperatura ambiente (Ye y Martini, 2014).

2.3.5 Análisis estadístico

La totalidad de las determinaciones llevadas a cabo en la presente tesis se realizaron como mínimo por duplicado. Para determinar diferencias significativas en las propiedades medidas debidas a los distintos tratamientos, se usó un análisis de la varianza (ANOVA) con

un nivel de significancia del 5% usando el test de Fisher. Los análisis estadísticos fueron realizados usando el programa InfoStat (Di Rienzo y col., 2011). Todos los resultados se expresaron como el promedio±desviación estándar. Adicionalmente y cuando se lo requirió, se empleó un test de comparación de medias (Fisher o Tukey, según se especificó en cada caso).

2.4 Referencias

AACC. (2000). American Association of Cereal Chemists. Approved methods of the AACC (10th ed.). Paul S. (Ed.), MN: The Association.

Aceites y Grasas, http://www.fen.org.es/mercadoFen/pdfs/aceitegirasol.pdf. Último acceso: 06/10/2019.

AOCS. (2009). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 6th ed., AOCS Press, Champaign, EEUU.

Bourne, M. C. (2002). *Food texture and viscosity: Concept and measurement*. San Diego: Academic Press.

Chaves, K. F., Barrera-Arellano, D., y Ribeiro, A. P. B. (2018). Potential application of lipid organogels for food industry. *Food Research International, 105*, 863-872.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C. W. (2011). InfoStat version 2011 Retrieved from www.infostat.com.ar

Emadzadeh, B., Razavi, S. M., y Schleining, G. (2013). Dynamic rheological and textural characteristics of low-calorie pistachio butter. *International Journal of Food Properties, 16*(3), 512-526.

Garrido, J. I., Lozano, J. E., y Genovese, D. B. (2015). Effect of formulation variables on rheology, texture, colour, and acceptability of apple jelly: Modelling and optimization. *LWT-Food Science and Technology, 62*(1), 325-332.

ISO-IDF, “Butter, Edible Oil Emulsions and Spreadable Fats—Determination of Fat Content—(Reference Method)” Standard ISO 17189/IDF 194, International Dairy Federation, Brussels, 2003.

Marangoni, A. G. (2004). *Fat crystal networks*. CRC Press.

Ojijo, N. K., Neeman, I., Eger, S., y Shimoni, E. (2004). Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 84*(12), 1585-1593.

Padley, F. B., Harwood, J. L., y Gunstone, F. D. (Eds.). (1986). *The lipid handbook*. Chapman & Hall.

Pomeranz, Y. (1991). *Functional Properties of Food Components*. San Diego: Academic Press Inc.

Rocha-Amador, O.G., Gallegos-Infante, J.A., Huang Q., Rocha Guzman N.E., Moreno-Jimenez M.R., y Gonzalez-Laredo R.F, (2014), *International Journal of Food Science, 2014*, 1-8.

Toro-Vazquez, J. F., Morales-Rueda, J. A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M., Alonzo-Macias, M., y González-Chávez, M. M. (2007). Thermal and textural properties of organogels developed by candelilla wax in safflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 84*(11), 989-1000.

Ye, Y., y Martini, S. (2014). Application of high-intensity ultrasound to palm oil in a continuous system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63*(1), 319-327.

Yılmaz, E., y Öğütcü, M. (2014). Properties and Stability of Hazelnut Oil Organogels with Beeswax and Monoglyceride. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 91*(6), 1007-1017.

Yılmaz, E., y Öğütcü, M. (2015). The texture, sensory properties and stability of cookies prepared with wax oleogels. *Food & function, 6*(4), 1194-1204

Zambiazi, R. C., Przybylski, R., Zambiazi, M. W., y Mendonça, C. B. (2007). Fatty acid composition of vegetable oils and fats. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, 25*(1).

OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PREPARACIÓN DE OLEOGELES

Capítulo 3

3.1 Introducción

Además de la naturaleza química de los componentes de un oleogel, agente estructurante y aceite, las condiciones térmicas y mecánicas establecidas durante su procesamiento desempeñan un rol fundamental en la formación de la estructura y por ende, en la determinación de sus propiedades finales (Ojijo y col., 2004a; Da Pieve y col., 2010; Co and Marangoni 2012; López-Martínez y col., 2014; Rocha-Amador y col. 2014). Esto permite pensar en la posibilidad de diseñar materiales con propiedades "hechas a medida", mediante la modificación de las condiciones de procesamiento. Ojijo y col. (2004a) estudiaron el efecto de la velocidad de enfriamiento en la gelificación de mezclas de MG y aceite de oliva, reportando que a una velocidad suficientemente baja es posible obtener una estructura secundaria, siendo esta responsable de un comportamiento de red más elástico. Da Pieve y col. (2010) analizaron el efecto de aplicar un esfuerzo de corte durante la formación de oleogeles de MG y aceite de hígado de bacalao, encontrando que la cristalización de los MG realizada en condiciones estáticas conduce a la formación de una red más fuerte caracterizada por una alta capacidad de retención de aceite. Rocha-Amador y col. (2014) evaluaron la influencia de dos agentes estructurantes comerciales compuestos por MG y diglicéridos, tres aceites vegetales distintos con diferente composición (aceite de soja, canola y maíz), y la velocidad de agitación y temperatura de preparación, sobre el comportamiento

reológico y térmico de los oleogeles obtenidos. Cada variable se analizó independientemente de las demás (es decir, una a la vez), reportando que los cambios en todas las variables de procesamiento presentaron efectos significativos sobre la estructura y propiedades finales del oleogel. Estos autores concluyeron que aquellos aceites compuestos en mayor medida por ácidos grasos monoinsaturados podrían facilitar la obtención de estructuras más estables, en comparación con aquellos que presentan mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados.

Considerando que la estructuración de aceites tiene como fin principal obtener productos con una determinada consistencia y firmeza, se requiere la realización de estudios de baja y alta velocidad de deformación para llevar a cabo su caracterización. Mientras que los primeros son adecuados para comparar diferentes materiales, los últimos brindan información sobre la plasticidad de la estructura formada y su habilidad para reestructurarse luego del esfuerzo de corte aplicado, lo cual representa información relevante para su aplicación. En combinación, estos estudios proveen una descripción global de la estructura del oleogel obtenido (Pernetti y col., 2007). Aunque varios autores han estudiado los principios que gobiernan la formación estructural de un oleogel, intentando relacionar las características micro y nanoestructurales con el comportamiento térmico y reológico (Garti y Satō, 2001; Ojijo y col., 2004a; Kesselman y Shimoni, 2007; Da Pieve y col., 2010), existe poca información acerca de la relación entre las condiciones de preparación de los oleogeles de MG y sus propiedades finales.

El diseño de experimentos (DE) ha demostrado ser una herramienta muy útil para desarrollar, mejorar y optimizar procesos en el campo de la investigación (Montgomery, 2005). Debido a los crecientes requisitos de calidad de las agencias reguladoras, el alto costo de los reactivos y la gran cantidad de variables que afectan los procesos, el procedimiento de desarrollo y validación de métodos analíticos es considerado como una tarea fundamental. En este contexto, el DE aporta numerosas ventajas, entre las cuales se encuentran la disminución del tiempo requerido, del esfuerzo y de los recursos necesarios, además de permitir la obtención de una gran cantidad de información mientras se minimiza el número de experimentos (Candioti y col., 2014). Un DE comienza con el desarrollo de una serie de

experimentos, previamente estandarizados, en los cuales se evalúa el efecto de la variación las variables independientes (factores) sobre las variables dependientes (variables de respuesta). El arreglo, formado por los diferentes experimentos que serán realizados, incluyendo las repeticiones, recibe el nombre de matriz de diseño. El DE combinado con metodologías de superficie de respuesta permite obtener un conocimiento global del sistema dentro del dominio experimental explorado, generando modelos matemáticos que relacionan las variables de respuesta con los factores seleccionados, además de estudiar las posibles interacciones entre los factores. (Montgomery, 2005).

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, en primer lugar se realizó una serie de ensayos preliminares en los que se evaluó la formulación de oleogeles de MG y diferentes aceites vegetales, de acuerdo a su diferente composición en ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, a fin de seleccionar aquel que permitiese la formación de oleogeles con propiedades reológicas y de textura similares a una materia grasa comercial, además de presentar alta capacidad de retención de aceite, usando la menor concentración de agente estructurante posible. Luego se elaboraron oleogeles formulados con MG y el aceite seleccionado, basándose en un diseño de experimentos Box-Behnken con el fin de evaluar la influencia de las condiciones de procesamiento sobre las propiedades finales de los mismos. Este tipo de diseño, clasificado como factorial fraccionario, considera tres niveles para cada uno de los factores seleccionados y permite analizar simultáneamente varias variables con un mínimo número de ensayos, por lo cual su ejecución resulta ser menos costosa comparada con la correspondiente a los diseños factoriales completos. Además, permite estimar eficientemente los coeficientes de primer y segundo orden que representan la curvatura en el comportamiento de una dada respuesta, lo que a su vez hace posible alcanzar un entendimiento completo de cómo los factores seleccionados influyen en las variables de respuesta. Una herramienta importante asociada a este tipo de diseños es la metodología de optimización multirespuesta, la cual permite determinar cuál es la combinación de niveles de los factores que lleva a que las variables de respuesta adquieran los valores deseados. En la formulación de oleogeles, se trabajó en primer lugar con una

mezcla de monoglicéridos, y luego se continuó con otra distinta a la primera. Debido a esto, y teniendo en cuenta que la composición del agente estructurante afecta las propiedades de estos materiales, y por lo tanto modifica su funcionalidad, se aplicaron dos diseños de experimentos correspondientes a cada formulación, siguiendo la misma metodología con algunas modificaciones.

Es importante destacar que en este capítulo se plantea el estudio de la influencia de un número considerable de variables de procesamiento y de las interacciones entre ellas sobre las propiedades finales de los oleogeles obtenidos, a diferencia de los trabajos previamente publicados, en los cuales los factores considerados se modificaron de a uno por vez.

3.2 Ensayos preliminares

Durante la realización de los ensayos preliminares, la preparación de oleogeles se inició con el calentamiento de aceite y MG (T_p=70 °C), de acuerdo a la metodología descripta en la sección 2.3.3.

3.2.1 Determinación de la concentración mínima de monoglicéridos

Como parte de la caracterización se evaluó la concentración mínima (C_m) requerida de Myverol 18 XL PL para estructurar cada tipo de aceite, formulando oleogeles con distintas concentraciones de agente estructurante: 0,5, 1, 2, 3, 4 y 5 %p/p (Figura 3.1). Las mezclas fueron mantenidas a temperatura ambiente (~22 °C) durante 1 h. Luego, los tubos se invirtieron. La concentración más baja en la cual no se observó material fluido fue considerada como la C_m requerida para cada aceite (Patel y col., 2013).

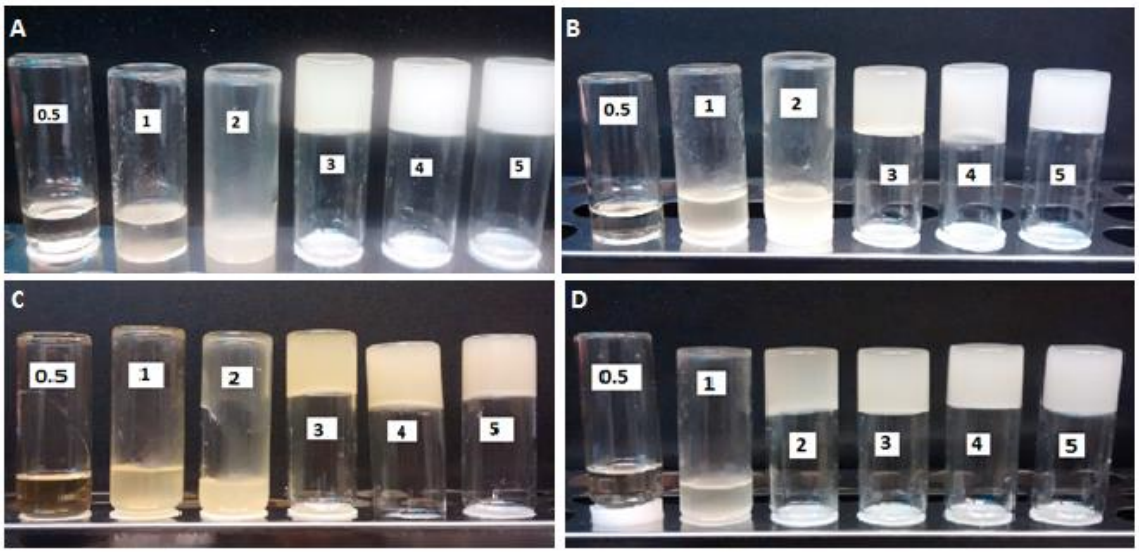


Figura 3.1. Determinación de la concentración mínima de monoglicéridos (MG) requerida para estructurar cada tipo de aceite: (A) soja, (B) girasol, (C) maíz, y (D) girasol alto oleico. Los números indican la concentración de MG (%p/p) en la mezcla.

Como puede observarse en la Figura 3.1, las mezclas preparadas con aceite de soja, girasol y maíz fueron estructuralmente inestables cuando se utilizó 2 %p/p de MG; en cambio, la mezcla MG-aceite de girasol alto oleico (GAO) mostró inestabilidad cuando se utilizó 1 %p/p de MG, pero la mezcla con 2 %p/p logró mantenerse como gel sin romperse ni fluir al invertir el tubo donde se preparó. Por lo tanto, se puede afirmar que la menor C_m fue encontrada para la mezcla MG-GAO (2 %p/p), mientras que en el resto de los aceites empleados (aceites de girasol, maíz, y soja) se requirió una concentración de 3 %p/p para lograr la formación del oleogel.

3.2.2 Evaluación de variables de procesamiento en la preparación de oleogeles

Se estableció una combinación inicial de variables de preparación, definida como condición estándar, caracterizada por:

- La *concentración de MG (C_{MG})*: 10 %p/p, seleccionada en base a un estudio similar reportado en bibliografía donde se formularon oleogeles a base de monoglicéridos y distintos tipos de aceites vegetales (Rocha-Amador y col., 2014). Se trabajó con C_{MG}

mayores a la mínima (C_m) con el objetivo de obtener oleogeles con propiedades reológicas y de textura similares a una materia grasa comercial, las cuales no pudieron obtenerse formulando estos materiales con la C_m determinada previamente.

- La *temperatura de preparación (T_p)*: 70 °C, con el fin de permitir que la mezcla de monoglicéridos utilizada como agente estructurante se funda en el medio líquido.
- La *velocidad de agitación (V_a)*: 280 rpm, en base a estudios similares reportados en la literatura (Patel y col., 2013).
- El *tiempo de agitación (t)*: 30 min. Este parámetro fue seleccionado para asegurar el correcto mezclado entre cada aceite y los monoglicéridos a la T_p.
- La *temperatura de enfriamiento (T_e)*: temperatura ambiente (20-25ºC), correspondiente a la temperatura del aire del medio donde gelifican los oleogeles. Esta se seleccionó en base a estudios previos (Da Pieve y col., 2011; Rocha-Amador y col., 2014) y también con el objetivo de evaluar la gelificación en condiciones que no requieran enfriamiento ni calentamiento, lo cual resulta atractivo desde el punto de vista energético, debido al posible ahorro en los costos.

Esta condición estándar, presentada en forma resumida en la Tabla 3.1, se utilizó para testear la formación de oleogeles utilizando los cuatro tipos de aceites seleccionados.

Tabla 3.1. Variables de procesamiento correspondientes a la condición estándar (std) definida para la preparación de oleogeles.

Variables	C_{MG} (%p/p)	T_p (ºC)	V_a (rpm)	t (min)	T_e (ºC)
Condición std	10	70	280	30	ambiente

C_{MG}, concentración de Myv-1; T_p, temperatura de preparación; V_a, velocidad de agitación; t: tiempo de agitación; T_e, temperatura de enfriamiento.

Luego, en base a los resultados de los ensayos de concentración mínima y formación de oleogeles en condición estándar, las demás condiciones probadas se llevaron a cabo empleando únicamente la mezcla de MG y aceite que arrojó los resultados más favorables. Por lo tanto, a partir de esta combinación de condiciones de preparación, se realizaron

estudios exploratorios modificando una variable a la vez, con el fin de identificar cuáles son los factores que influencian en las propiedades finales de los oleogeles formulados con MG y el aceite seleccionado. Los valores alternativos elegidos para modificar esta condición fueron:

- C_{MG} = 6 y 14 %p/p, con el objetivo de evaluar las propiedades de los oleogeles obtenidos con concentraciones menores y mayores al nivel seleccionado en la condición std, respectivamente.
- T_p = 90 °C, para analizar el efecto de la variación en este parámetro de procesamiento sobre las propiedades finales de los oleogeles y con el objetivo de generar diferentes fuerzas impulsoras para el enfriamiento (T_p – T_e), y por ende diferentes velocidades. Cabe recordar que solo se pueden seleccionar temperaturas de preparación mayores a la de fusión de los MG.
- V_a = 140 rpm, para analizar la influencia del procesamiento a velocidades de agitación menores a la seleccionada en la condición std (considerando la posibilidad de disminuir costos operativos).
- T_e = 5 °C, para evaluar los efectos del proceso de gelificación a temperaturas de refrigeración y con el objetivo de lograr velocidades de enfriamiento promedio mayores.

Las mezclas fundidas se colocaron en distintos contenedores de acuerdo a la técnica de análisis correspondiente (Tabla 3.2), dejándolas en reposo durante el período de enfriamiento. Posteriormente, todos los geles obtenidos se almacenaron en heladera a 5 ºC durante 24 h (Figura 2.3). Las características que se analizaron en los geles preparados fueron la capacidad de retención de aceite (OBC) y las propiedades viscoelásticas y de textura, según la metodología descripta en la sección 2.3.4. Estas propiedades fueron comparadas con las correspondientes a una materia grasa comercial (MC), descripta en la sección 2.2.3.

Las propiedades reológicas de la MC se determinaron tomando muestras del producto en forma de discos desde el envase original. Las propiedades de textura se analizaron directamente desde su envase.

Tabla 3.2. Envases utilizados para la gelificación de los aceites evaluados con Myverol 18 XL PL según el objetivo del análisis.

PROPIEDAD A MEDIR	METODOLOGÍA	ENVASE
OBC	2.3.4.1	Eppendorf (volumen: 1,5 mL)
Viscoelasticidad	2.3.4.2	Molde cilíndrico (60 mm diámetro)
Textura	2.3.4.3	Molde cilíndrico (33 mm altura, 33 mm diámetro)

Los resultados obtenidos en los ensayos preliminares se muestran en la Tabla 3.3 y en la Figura 3.2. Como puede observarse en la Tabla 3.3, para 10 %p/p de estructurante (MG) y en la condición estándar de preparación (std), OBC, DU, AD y CO variaron en promedio entre 36,7 y 96,6%, 0,86 y 2,04 N, 1,12 y 1,81 N.s, y 0,11 y 0,18, respectivamente. En cuanto a las diferencias encontradas en los valores de OBC y DU, se observó que el aceite GAO fue el que permitió obtener oleogeles con la mayor capacidad de retención de aceite y dureza entre todos los aceites utilizados. Esto podría explicarse en base al contenido más alto de ácidos grasos monoinsaturados en el aceite GAO (Tabla 2.1, Capítulo 2). Ferro y col. (2019) reportaron que aceites con alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados favorecen el arreglo de las moléculas de monoglicéridos que actúan como agente estructurante, aumentando la dureza y la estabilidad de la red cristalina formada.

Tabla 3.3. Capacidad de retención de aceite (OBC) y propiedades de textura: dureza (DU), adhesividad (AD) y cohesividad (CO) de oleogeles preparados en los ensayos preliminares.

Aceite – Condición de procesamiento	OBC (%p/p)	DU (N)	AD (N.s)	CO
Girasol - std	37,8 ± 0,6^{c}	1,74 ± 0,07^{b}	1,81 ± 0,11^{b}	0,12 ± 0,02^{b}
Maíz- std	36,7 ± 0,9^{c}	1,35 ± 0,09^{c}	1,12 ± 0,12^{d}	0,11 ± 0,01^{b}
Soja - std	41,6 ± 0,3^{bC}	0,86 ± 0,13^{d}	1,15 ± 0,25^{d}	0,18 ± 0,05^{b}
GAO - std	96,6 ± 0,4^{aB}	2,04 ± 0,06^{aB}	1,62 ± 0,29^{cA}	0,14 ± 0,01^{bB}
GAO -6% MG (std)	31,5± 3,3^{C}	0,38 ± 0,09^{C}	0,91 ± 0,05^{B}	0,31 ± 0,06^{A}
GAO -14% MG (std)	99,9± 0,1^{A}	2,57 ± 0,17^{A}	1,91 ± 0,31^{A}	0,12 ± 0,01^{C}
GAO -10% MG (T_p 90°C)	99,9± 0,1	0,91 ± 0,06	1,26 ± 0,23	0,17 ± 0,02
GAO -10% MG (T_e 5 °C)	34,4± 2,1	1,12±0,04	1,17 ± 0,18	0,15 ± 0,02
GAO -10% MG (V_a 140 rpm)	96,8 ± 4,1	1,33 ± 0,18	1,66 ± 0,26	0,17 ± 0,03
MC	-	2,13 ± 0,11^{a}	2,60 ± 0,03^{a}	0,47 ± 0,01^{a}

GAO: girasol alto oleico, MC: materia grasa comercial, MG: monoglicéridos, std: condición de preparación estándar (Tabla 3.1), T_e: temperatura de enfriamiento T_p: temperatura de preparación, V_a: velocidad de agitación, -: no determinado. Valor promedio ± desvío estándar (n=2). Los valores promedio en una misma columna con distinta letra son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Las letras minúsculas corresponden a la comparación entre oleogeles formulados con distinto tipo de aceite y la MC, mientras que las mayúsculas corresponden a la comparación entre distintas concentraciones de MG para el oleogel formulado con aceite GAO y MG en la condición std.

Respecto a las propiedades reológicas, como puede observarse en la Figura 3.2-A, es posible distinguir 3 regiones que describen el comportamiento de G' en función de la temperatura durante el proceso de enfriamiento: inicialmente se observa una zona donde G' permanece constante, luego un incremento abrupto en este parámetro reológico, indicando el comienzo de la gelificación, y finalmente una región donde G' se incrementa hasta alcanzar su valor de equilibrio a 20 ºC. La temperatura de gelificación, determinada acorde a la metodología descripta en la sección 2.3.4.2, fue similar para todos los oleogeles analizados (~31-35 ºC), independientemente del tipo de aceite usado. Por otro lado, los oleogeles formulados con aceite de girasol y girasol alto oleico en la misma condición, mostraron valores de G' significativamente mayores que aquellos formulados con aceite de maíz y soja ($p < 0,05$) en todo el rango de frecuencia analizado (Figura 3.2-B), quedando demostrada la influencia significativa del tipo de aceite en todas las propiedades finales del oleogel. El menor contenido de ácidos grasos saturados en los triglicéridos de los aceites de girasol y girasol

alto oleico podría favorecer el acomodamiento de las moléculas de triglicéridos (con cadenas carbonadas más flexibles y de mayor libertad conformacional) entre las estructuras formadas por los monoglicéridos, y por ende lograrse interacciones más fuertes (Sagiri y col., 2015). De esta manera, se favorece la formación de una red cristalina con mayor elasticidad (Ferro y col., 2019). Al comparar las Figuras 3.2 A y B se observan diferencias en los valores del módulo elástico, lo cual indicaría que el proceso de estructuración de los aceites continúa a temperatura constante (20 ºC).

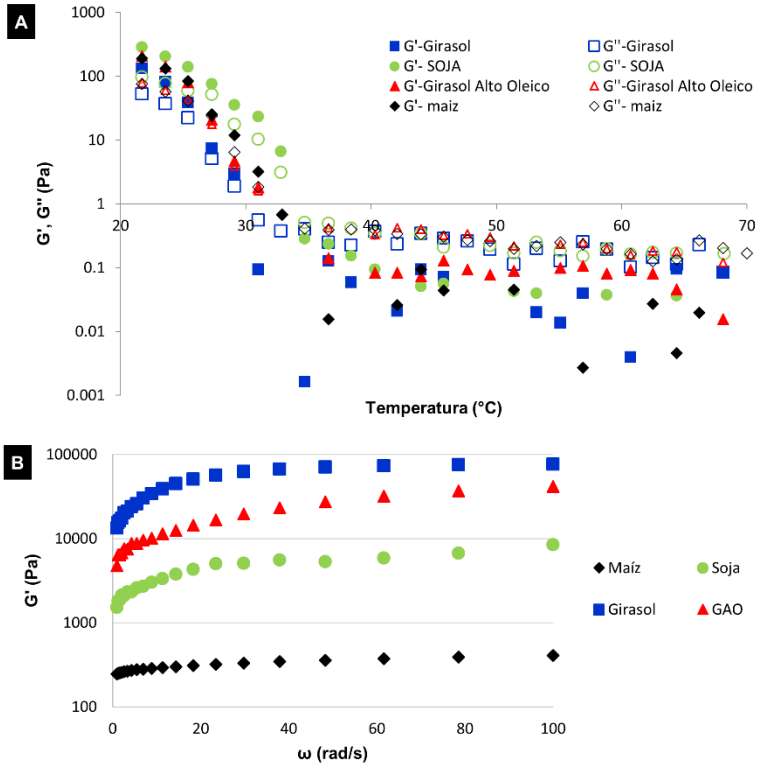


Figura 3.2. (A) Evolución del módulo elástico, G', y del módulo viscoso, G'', durante el enfriamiento desde 70 a 20°C de mezclas formuladas con distintos tipos de aceite: maíz, soja, girasol y GAO y 10 %p/p de concentración de MG (frecuencia angular: ω=10 rad/s, deformación o strain: γ=0.5%).Velocidad de enfriamiento: 2 ºC/min) **(B)** Módulo elástico vs barrido de frecuencia angular (ω) de oleogeles de distintos tipos de aceite: maíz, soja, girasol y GAO con 10 % p/p de concentración de MG, velocidad de agitación 280 rpm, tiempo 30 min (Temperatura=20 °C, γ=0.5%).

El aceite GAO permitió, entre los aceites utilizados, obtener los más altos valores en la mayoría de las propiedades analizadas. De aquí se desprende que el aceite GAO resulta ser el más apropiado para ser estructurado con MG, en las condiciones ensayadas.

Continuando con el estudio preliminar, las otras variables de preparación de oleogeles se evaluaron solo utilizando aceite GAO. En la Tabla 3.3 también puede observarse que la elevación de la concentración de MG desde 6 hasta 14 %p/p en aceite GAO, estructurado en las condiciones estándares, provocó una elevación en OBC desde 31,5 hasta 99,9 %p/p, en promedio. DU y AD también se vieron incrementadas en dicho rango (desde 0,38 a 2,57 N, y desde 0,91 a 1,91 N.s, respectivamente), mientras que CO disminuyó (desde 0,31 a 0,12). En estas propiedades, el mayor porcentaje de cambio (~80%) se observó al incrementar la concentración de MG de 6 hasta 10 %p/p. Por otro lado, también puede observarse que la elevación en la temperatura de preparación desde 70 hasta 90 °C produjo cambios significativos en OBC ($p = 0,007$) y DU ($p = 0,003$) de oleogeles GAO-10% MG, no así en AD y CO ($p >0,2$). De esta manera, OBC aumentó mientras que DU disminuyó al incrementarse T_p. Por otro lado, con la disminución de la temperatura del ambiente de enfriamiento desde 25 hasta 5 °C, estas propiedades de los oleogeles de aceite GAO y 10 %p/p MG fueron desfavorecidas, especialmente por lograr una gran disminución significativa en OBC ($p = 0,0006$) (de 96,6 a 34,4 %p/p) y DU ($p = 0,003$) (de 2,04 a 1,12 N). Manteniendo el resto de las condiciones en los valores establecidos como estándares, la variación en la velocidad de agitación mantenida durante la etapa de preparación a T_p no mostró tener efecto significativo en OBC, AD y CO ($p > 0,3$), pero sí en DU ($p = 0,03$), la cual se vio disminuida desde 2,04 hasta 1,33 N por la disminución de V_a de 280 a 140 rpm.

Tanto el módulo elástico como el viscoso aumentaron con el incremento en C_{MG} (Figuras 3.3-A y B). No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la temperatura de gelificación por efecto de la concentración de MG, siendo este valor similar al reportado anteriormente. Además, como se observa en la Figura 3.3-B, los valores de G' correspondientes a la materia grasa comercial evaluada resultaron ser comparables con los de los oleogeles, dentro del rango de concentración de MG analizado. Por otro lado, del

análisis del efecto logrado en G' por la modificación de las condiciones estándares, se observa en la Figura 3.3-C que el cambio en la temperatura de preparación (de 70 a 90°C) del oleogel formulado con aceite GAO y 10% MG no afectó su comportamiento durante el barrido de frecuencia angular, pero sí lo hizo la variación en la velocidad de agitación y en la temperatura de enfriamiento.

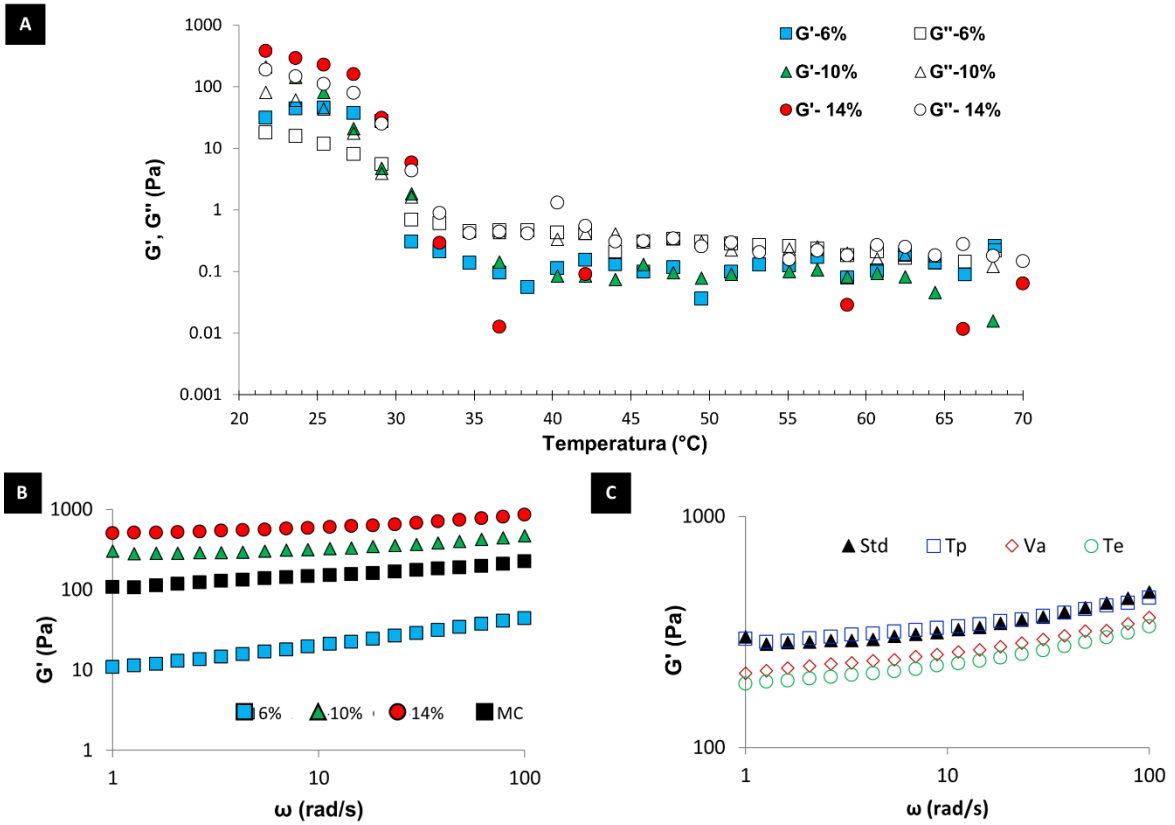


Figura 3.3. (A) Evolución del módulo elástico, G', y del módulo viscoso, G'', durante el proceso de enfriamiento de oleogeles de aceite GAO con 10 % p/p de concentración de MG (frecuencia angular: ω=10 rad/s, deformación o strain: γ=0.5%, velocidad de enfriamiento: 2 ºC/min). **(B)** Módulo elástico vs barrido de frecuencia angular (ω) de oleogeles de aceite GAO con distintas concentraciones de MG, en comparación con la materia grasa comercial (MC), a 20 °C. **(C)** Efecto de la variación de la temperatura de preparación (T_p = 90 ºC), la velocidad de agitación (V_a = 140 rpm) y la temperatura de enfriamiento (T_e=5 °C) respecto a la condición estándar (Std) en los valores de G' durante el barrido de ω, a 20 °C. Std: condición estándar (T_p= 70 ºC , V_a = 280 rpm ,T_e = 25 °C) (Deformación o strain: γ=0.5%).

Los resultados obtenidos a partir de este estudio demostraron que, no solo la concentración mínima de monoglicéridos requerida para lograr la formación del gel es

dependiente del tipo de aceite utilizado en la formulación, sino que también y en general, las propiedades de los oleogeles de aceite y MG dependen del tipo de aceite y de la concentración de agente estructurante, además de la velocidad de agitación, la temperatura de preparación y la temperatura de enfriamiento. La capacidad de retención de aceite se vió ampliamente afectada (~60%) por la concentración de monoglicéridos (principalmente al incrementar de 6 a 10 %p/p), la temperatura de enfriamiento y el tipo de aceite. Asimismo, las propiedades de textura incrementaron sus valores significativamente con el aumento de C_{MG} y disminuyeron al modificarse la temperatura de enfriamiento, la velocidad de agitación y la temperatura de preparación. Además, comparando los resultados obtenidos en los oleogeles formulados con los de la materia grasa comercial (producto modelo y que se busca reemplazar), puede observarse que tanto la dureza como el módulo elástico resultaron similares, indicando que los rangos analizados de las variables evaluadas son apropiados para llevar a cabo un análisis más exhaustivo.

En base a lo anterior, se aplicó un diseño de experimentos para evaluar el efecto simultáneo de los parámetros de preparación elegidos sobre sus propiedades, y además, intentar obtener las condiciones de preparación óptimas que permiten la producción de oleogeles con propiedades reológicas y de textura similares a las correspondientes a la materia grasa comercial seleccionada. El mismo consistió en un diseño factorial incompleto, en el cual los puntos experimentales han sido seleccionados en base a los resultados de los ensayos preliminares anteriormente descriptos.

3.3 Diseño experimental 1 (DE1)

3.3.1 Metodología

Con el fin de evaluar la influencia de las condiciones de preparación de los oleogeles formulados con MG (Myv-1) y aceite GAO sobre las respuestas seleccionadas, se utilizó un diseño de experimentos Box-Behnken de tres niveles con cuatro factores y seis repeticiones

del punto central. Los parámetros (factores) seleccionados, de acuerdo a los ensayos preliminares previamente descriptos, fueron: concentración de monoglicéridos (C_{MG}), temperatura de preparación (T_p), velocidad de agitación (V_a) y temperatura de enfriamiento (T_e). Los niveles elegidos para cada factor fueron: C_{MG} (6, 10, 14 %p/p), T_p (70, 80, 90 °C), V_a (200, 600, 1000 rpm) y T_e (5, 17,5, 30 °C). Las variables de respuesta consideradas fueron: OBC, parámetros de textura: dureza (DU), fracturabilidad (FR), cohesividad (CO) y adhesividad (AD), y parámetros reológicos: módulo elástico (G') y viscosidad compleja (η*). Estos últimos fueron evaluados empleando los parámetros de ajuste que se obtuvieron de modelos matemáticos usados para representar su comportamiento en todo el rango de frecuencia angular analizado (Ecs. 2.3 y 2.4, sección 2.3.4.2). Estos modelos se aplicaron con el objetivo de encontrar un oleogel que presentara características viscoelásticas similares a la MC en todo el rango de frecuencia estudiado. El diseño de experimentos y el análisis de sus resultados se realizaron mediante el software Design Expert 7.0. Este software realiza el análisis y ajuste de los datos experimentales en variables codificadas (-1, 0 y 1, correspondientes al nivel inferior, punto central, y nivel superior, respectivamente) y no en sus variables reales (llamadas actuales). En el análisis de variables codificadas, la magnitud de los coeficientes del modelo es directamente comparable; es decir, todos son adimensionales y miden el efecto de cambiar cada factor en un intervalo de una unidad (Montgomery, 2005). A partir de la matriz de diseño obtenida, se realizaron 30 experimentos independientes en forma aleatoria, de los cuales 6 son réplicas del punto central. Los factores y niveles se muestran en la Tabla 3.4. Las superficies de respuesta se obtienen como resultado de los modelos de regresión cuadrática correspondientes a cada respuesta, dados por la Ec. (3.1) (Ferreira y col., 2007).

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{i=1}^{4} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{4} \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{3} \sum_{j=i+1}^{4} \beta_{ij} x_i x_j \qquad \textbf{(3.1)}$$

Donde $\hat{y}$ es la variable de respuesta, β_0 el término independiente, β_i el coeficiente correspondiente al efecto lineal del factor x_i, β_{ij} el coeficiente de interacción entre los factores

x_i y x_j. La calidad de los modelos de ajuste se evaluó mediante el análisis de la varianza (ANOVA), el cual emplea coeficientes estadísticos para describir los modelos. Estos son: el coeficiente de determinación (R^2), el cual es una medida de la variación respecto de la media explicada por el modelo, el coeficiente de determinación ajustado (R^2adj), que también es una medida de la variación respecto de la media explicada por el modelo, pero ajustada por el número de términos presentes en el modelo, y el coeficiente de determinación predicho (R^2pred), que es una medida de la capacidad predictiva del modelo. La diferencia entre R^2pred y R^2adj no debería ser mayor que 20%; de lo contrario, podría ser un indicativo de la existencia de un problema con los datos o el modelo. Otros parámetros descriptivos que se emplearon son: LOF (falta de ajuste), cuyo valor no debe ser significativo; AP (precisión adecuada), que mide la relación entre los valores predichos y el error promedio de la predicción, considerándose adecuados los valores mayores a 4, en cuyo caso el modelo puede ser usado para navegar en el espacio del diseño. En base a lo anterior, se obtuvo un modelo de ajuste para cada respuesta con su correspondiente análisis estadístico. Además, los términos de cada modelo se evaluaron estadísticamente mediante el ANOVA teniendo en cuenta el valor p: aquellos que presentaron $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos, mientras que los términos con $p > 0,05$ fueron considerados estadísticamente no significativos. Aún así, en algunos casos, éstos últimos no se eliminaron del modelo correspondiente debido a que su presencia mejoró la calidad del ajuste. Como resultado se obtuvieron modelos para cada variable de respuesta en función de los factores y de sus interacciones.

Es importante destacar que este enfoque que considera las interacciones, las cuales pueden ser muy relevantes, no ha sido utilizado en estudios previos de formulación de oleogeles, por lo que representa un aspecto innovador para el ámbito científico. Otro aspecto más novedoso aún, fue el uso simultáneo de los modelos de las variables de respuesta en optimizaciones multirespuesta.

Tabla 3.4. Matriz de experimentos utilizada en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-1.

N[a]	Factores experimentales[b]			
	C_{MG} (%p/p)	T_p (°C)	V_a (rpm)	T_e (°C)
1	10	90	200	17,5
2	10	80	600	17,5
3	6	90	600	17,5
4	10	70	1000	17,5
5	10	80	600	17,5
6	14	80	1000	17,5
7	10	80	1000	30,0
8	10	90	600	5,0
9	10	70	600	5,0
10	6	80	600	5,0
11	10	70	200	17,5
12	10	80	600	17,5
13	14	80	200	17,5
14	10	70	600	30,0
15	6	80	1000	17,5
16	10	90	1000	17,5
17	14	80	600	5,0
18	10	90	600	30,0
19	10	80	200	5,0
20	10	80	600	17,5
21	14	70	600	17,5
22	10	80	600	17,5
23	6	80	600	30,0
24	14	80	600	30,0
25	6	80	200	17,5
26	14	90	600	17,5
27	10	80	600	17,5
28	10	80	1000	5,0
29	10	80	200	30,0
30	6	70	600	17,5

C_{MG}, concentración de Myv-1; T_p, temperatura de preparación; V_a, velocidad de agitación; T_e, temperatura de enfriamiento.

3.3.1.1 Optimización multirespuesta

En lo que a optimización de procesos se refiere, es común que varias variables de respuesta sean de interés. Con lo cual, la determinación de las condiciones óptimas de las variables independientes requiere la consideración simultánea de todas las respuestas, con el fin de hallar un óptimo global. La aplicación de esta metodología, denominada “optimización multirespuesta”, se basó en la función de deseabilidad (D), la cual optimiza varias respuestas simultáneamente logrando el mejor balance entre ellas. Este enfoque consiste en la transformación de los valores predichos, obtenidos de cada superficie de respuesta, a una escala adimensional y denominados deseabilidad individual, D_i. D se calcula combinando los

valores de deseabilidad individual, y el rango de valores que puede tomar varía entre D = 0 (valor inaceptable) y D = 1 (valor completamente deseable) (Ferreira y col., 2007). El valor de las variables que maximiza D fue determinado mediante el empleo del software Design Expert. Para ello se impusieron diferentes especificaciones sobre los factores y las variables de respuesta, con el objetivo de encontrar las condiciones óptimas de preparación de los oleogeles que permitieran obtener materiales con propiedades reológicas y de textura similares a las de la MC analizada, además de presentar alta OBC. Inicialmente se impuso, en simultáneo, la maximización de OBC, CO, y AD, por otro lado, los valores de DU y log G_0' se fijaron en los de la MC, 1,60 N y 4,54 Pa, respectivamente, dejando que las demás respuestas tomaran valores dentro del rango de análisis. Es importante mencionar que esta metodología de optimización permite otorgar distinto grado de prioridad a las restricciones que se imponen sobre las variables. En una primera optimización (O-1), se le dio la mayor prioridad a la restricción OBC. Luego, en base a la solución obtenida y consideraciones prácticas, se evaluaron otros criterios. De esta manera, se llevó a cabo la optimización 2 (O-2), donde los valores de log η_0* y m_{η^*} del modelo de η* se fijaron en los correspondientes a la MC, 4,53 Pa.s. y -0,96 $Pa.s^2$, respectivamente, y se agregó la restricción de minimizar C_{MG}, estableciendo el mismo nivel de importancia a todas las restricciones.

Las condiciones seleccionadas como óptimas fueron ensayadas en experimentos independientes y empleadas para verificar la precisión de los modelos de ajuste.

3.3.2 Resultados correspondientes al DE1

Como puede verse en las Tablas 3.5 y 3.6, para todas las variables de respuesta, los valores predichos (mostrados entre paréntesis) fueron muy cercanos a los valores experimentales, lo cual confirma que los comportamientos experimentales fueron correctamente ajustados por los modelos correspondientes. Respecto a la variación de los datos experimentales, el valor máximo de desvío/promedio encontrado fue del 8,8%.

Tabla 3.5. Variables de respuesta (OBC y propiedades de textura) obtenidas en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-1.

N[a]	Variables de respuesta[b,c]									
	OBC (%)		FR (N)		DU (N)		AD (N.s)		CO	
1	97,77	(98,51)	1,73	(1,58)	0,16	(0,17)	2,28	(2,20)	0,54	(0,54)
2	97,99	(97,33)	1,88	(1,84)	0,14	(0,14)	2,05	(2,03)	1,28	(1,28)
3	92,10	(92,11)	0,71	(0,86)	0,38	(0,39)	1,42	(1,43)	0,42	(0,39)
4	99,86	(99,29)	1,65	(1,60)	0,17	(0,16)	2,18	(2,10)	0,67	(0,72)
5	97,10	(97,33)	1,82	(1,84)	0,14	(0,14)	2,12	(2,03)	1,30	(1,28)
6	98,94	(99,43)	2,90	(2,85)	0,11	(0,11)	2,35	(2,36)	1,78	(1,74)
7	94,43	(94,02)	1,19	(1,18)	0,23	(0,23)	2,02	(2,06)	0,75	(0,75)
8	96,49	(96,37)	1,35	(1,15)	0,12	(0,11)	1,36	(1,36)	0,62	(0,60)
9	96,76	(97,18)	1,03	(1,12)	0,13	(0,12)	1,35	(1,35)	0,69	(0,64)
10	90,44	(90,96)	0,40	(0,14)	0,33	(0,33)	0,84	(0,93)	0,36	(0,39)
11	99,84	(99,32)	2,30	(2,05)	0,14	(0,14)	1,92	(1,75)	0,62	(0,59)
12	97,26	(97,33)	1,88	(1,84)	0,14	(0,14)	2,12	(2,03)	1,27	(1,28)
13	98,37	(98,22)	2,66	(2,80)	0,11	(0,11)	2,53	(2,71)	1,40	(1,47)
14	93,51	(93,87)	1,02	(1,14)	0,25	(0,25)	2,02	(2,20)	0,71	(0,72)
15	92,37	(92,44)	0,68	(0,87)	0,36	(0,36)	1,40	(1,41)	0,48	(0,40)
16	98,54	(98,48)	2,07	(2,12)	0,11	(0,11)	1,66	(1,67)	0,69	(0,67)
17	97,50	(96,70)	1,86	(2,13)	0,11	(0,11)	1,80	(1,78)	1,62	(1,59)
18	93,89	(93,06)	0,98	(1,17)	0,24	(0,24)	2,27	(2,21)	0,64	(0,68)
19	97,86	(97,36)	1,15	(1,11)	0,12	(0,13)	1,38	(1,30)	0,54	(0,54)
20	97,12	(97,33)	2,01	(1,84)	0,14	(0,14)	2,05	(2,03)	1,25	(1,28)
21	97,97	(98,67)	2,78	(2,81)	0,13	(0,13)	2,54	(2,63)	1,60	(1,64)
22	97,28	(97,33)	1,79	(1,84)	0,14	(0,14)	1,94	(2,03)	1,25	(1,28)
23	87,28	(87,65)	0,49	(0,16)	0,50	(0,50)	1,44	(1,42)	0,38	(0,47)
24	93,90	(93,40)	2,26	(2,15)	0,19	(0,19)	3,13	(2,99)	1,76	(1,67)
25	94,29	(93,71)	0,41	(0,82)	0,40	(0,39)	1,07	(1,24)	0,39	(0,41)
26	97,59	(97,86)	2,94	(2,84)	0,08	(0,08)	2,54	(2,64)	1,54	(1,59)
27	97,22	(97,33)	2,04	(1,84)	0,14	(0,14)	2,12	(2,03)	1,32	(1,28)
28	96,84	(97,33)	1,03	(1,16)	0,12	(0,12)	1,20	(1,21)	0,60	(0,67)
29	93,03	(94,05)	0,98	(1,13)	0,27	(0,26)	2,15	(2,15)	0,69	(0,62)
30	93,30	(92,92)	0,80	(0,83)	0,35	(0,36)	1,48	(1,42)	0,45	(0,43)
MC[d]	-[f]		nd[g]		1,60 ± 0,15		5,37 ± 0,29		0,58 ± 0,04	
O-1[e]	98,45	(98,26)	0,79	(0,79)	1,60	(1,60)	2,35	(2,36)	0,16	(0,18)
O-2[e]	95,85	(94,44)	0,86	(0,86)	1,61	(1,60)	2,82	(2,82)	0,20	(0,20)

[a]N: Número de experimento, [b]OBC, capacidad de retención de aceite; DU, dureza; CO, cohesividad; AD, adhesividad; FR, fracturabilidad, y [c]Valor experimental (valor predicho por el modelo correspondiente). Los valores experimentales son el promedio de cuatro réplicas de análisis, [d]MC, materia grasa comercial [e]O, Optimización.[f]-, No determinada. [g]nd, No detectada.

Tabla 3.6. Variables de respuesta (propiedades viscoelásticas) obtenidas en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-1.

N[a]	Variables de respuesta[b,c]									
	log G_0' (Pa)		$m_{G'}$ (Pa.s)		*n*		*log* η_0^*(Pa.s)		m_{η^*} (Pa.s^2)	
1	4,84	(4,82)	0,11	(0,11)	0,44	(0,45)	4,94	(4,95)	-0,95	(-0,96)
2	4,96	(4,94)	0,11	(0,11)	0,44	(0,45)	5,04	(5,01)	-0,95	(-0,96)
3	4,39	(4,34)	0,11	(0,10)	0,45	(0,44)	4,53	(4,47)	-0,97	(-0,97)
4	4,88	(4,90)	0,13	(0,13)	0,32	(0,32)	4,99	(5,00)	-0,96	(-0,95)
5	4,91	(4,94)	0,10	(0,11)	0,47	(0,45)	4,99	(5,01)	-0,96	(-0,96)
6	5,01	(5,00)	0,17	(0,17)	0,35	(0,31)	5,24	(5,27)	-0,95	(-0,94)
7	4,53	(4,51)	0,09	(0,09)	0,62	(0,58)	4,46	(4,47)	-0,94	(-0,94)
8	4,84	(4,86)	0,13	(0,13)	0,58	(0,55)	4,93	(4,89)	-0,93	(-0,93)
9	4,78	(4,74)	0,14	(0,13)	0,39	(0,39)	4,89	(4,88)	-0,95	(-0,95)
10	4,32	(4,35)	0,09	(0,09)	0,55	(0,58)	4,40	(4,45)	-0,96	(-0,95)
11	4,97	(4,95)	0,12	(0,12)	0,40	(0,38)	5,04	(5,00)	-0,95	(-0,96)
12	4,96	(4,94)	0,10	(0,11)	0,43	(0,45)	5,05	(5,01)	-0,96	(-0,96)
13	5,07	(5,09)	0,10	(0,11)	0,37	(0,37)	5,18	(5,21)	-0,96	(-0,96)
14	4,64	(4,65)	0,11	(0,11)	0,60	(0,61)	4,43	(4,47)	-0,93	(-0,92)
15	4,48	(4,49)	0,08	(0,07)	0,38	(0,40)	4,58	(4,56)	-0,97	(-0,98)
16	4,90	(4,91)	0,12	(0,12)	0,36	(0,39)	5,01	(5,07)	-0,96	(-0,95)
17	4,93	(4,94)	0,16	(0,16)	0,40	(0,36)	5,04	(5,07)	-0,93	(-0,93)
18	4,36	(4,42)	0,11	(0,11)	0,60	(0,58)	4,42	(4,48)	-0,94	(-0,93)
19	4,74	(4,75)	0,12	(0,10)	0,50	(0,52)	4,84	(4,82)	-0,96	(-0,95)
20	4,95	(4,94)	0,11	(0,11)	0,47	(0,45)	5,04	(5,01)	-0,95	(-0,96)
21	5,00	(5,03)	0,16	(0,15)	0,23	(0,29)	5,15	(5,17)	-0,94	(-0,95)
22	4,92	(4,94)	0,10	(0,11)	0,47	(0,45)	5,00	(5,01)	-0,95	(-0,96)
23	4,07	(4,05)	0,11	(0,10)	0,52	(0,57)	4,00	(3,95)	-0,94	(-0,94)
24	4,74	(4,71)	0,11	(0,11)	0,64	(0,62)	4,81	(4,74)	-0,93	(-0,92)
25	4,32	(4,35)	0,09	(0,11)	0,49	(0,45)	4,41	(4,50)	-0,96	(-0,97)
26	5,12	(5,10)	0,16	(0,15)	0,33	(0,36)	5,34	(5,31)	-0,93	(-0,93)
27	4,94	(4,94)	0,10	(0,11)	0,45	(0,45)	5,02	(5,01)	-0,95	(-0,96)
28	4,83	(4,82)	0,14	(0,13)	0,44	(0,46)	4,96	(4,95)	-0,94	(-0,95)
29	4,54	(4,53)	0,10	(0,10)	0,61	(0,64)	4,46	(4,47)	-0,93	(-0,94)
30	4,53	(4,53)	0,09	(0,11)	0,43	(0,38)	4,60	(4,59)	-0,96	(-0,96)
MC[d]	4,54 ± 0,01		0,06 ± 5·10^{-3}		0,65 ± 0,03		4,53 ± 0,02		-0,96 ± 4,10^{-3}	
O-1[e]	4,85	(4,84)	0,12	(0,13)	0,41	(0,41)	4,90	(4,84)	-0,94	(-0,94)
O-2[e]	4,81	(4,61)	0,09	(0,09)	0,66	(0,62)	4,86	(4,66)	-0,93	(-0,94)

[a]N: Número de experimento,.[b] log G_0', $m_{G'}$ y n, parámetros del modelo correspondiente al módulo elástico (G'), según Ec. 2.3; log η_0^* y m_{η^*}, parámetros del modelo correspondiente a la viscosidad compleja (η^*), según Ec. 2.4, y [c]Valor experimental (valor predicho por el modelo correspondiente). Los valores experimentales son el promedio de cuatro réplicas de análisis, [d]MC, materia grasa comercial [e]O, Optimización.[f]-, No determinada. [g]nd, No detectada.

En las Tablas 3.7 y 3.8 se muestran los coeficientes de cada modelo (B), indicados en sus variables actuales, y la significancia estadística de los términos de cada modelo, junto con los coeficientes estadísticos. Todas las variables de respuesta fueron ajustadas correctamente usando los modelos cuadráticos obtenidos ($p < 0,0001$), los cuales presentaron valores R^2, R^2adj y R^2pred dentro de los márgenes adecuados y valores de AP

mayores que 16,4, indicando señales adecuadas, además de valores no significativos del parámetro LOF (ver sección 3.3.1).

Tabla 3.7. Coeficientes del modelo cuadrático para variables de respuesta (OBC y propiedades de textura) del Diseño experimental 1, su significancia estadística y los coeficientes estadísticos correspondientes.

Coeficientes del Modelo[a]	Variables de respuesta[b]				
	OBC (%p/p)	FR (N)	DU (N)	AD (N.s)	CO
B_0	$1{,}12\cdot10^{2}$	$-2{,}14\cdot10^{1}$	$8{,}13\cdot10^{-1}$	-3,23	$4{,}19\cdot10^{-1}$
BC_{MG}	3,54***	$5{,}76\cdot10^{-2}$***	$2{,}48\cdot10^{-1}$***	$1{,}35\cdot10^{-1}$***	$-1{,}09\cdot10^{-1}$***
B_{Tp}	$-8{,}44\cdot10^{-1}$**	$5{,}09\cdot10^{-1}$*	$-3{,}58\cdot10^{-2}$*	$3{,}22\cdot10^{-2}$*	$7{,}93\cdot10^{-3}$***
B_{Va}	$-1{,}19\cdot10^{-2}$*	$2{,}18\cdot10^{-3}$**	$-4{,}91\cdot10^{-3}$*	$5{,}83\cdot10^{-3}$*	$3{,}08\cdot10^{-4}$***
B_{Te}	$4{,}75\cdot10^{-1}$***	$7{,}07\cdot10^{-2}$**	$1{,}56\cdot10^{-1}$*	$5{,}40\cdot10^{-2}$***	$8{,}23\cdot10^{-4}$***
BC_{MG}-V_a	$3{,}89\cdot10^{-4}$**	$4{,}48\cdot10^{-5}$**	-	$7{,}98\cdot10^{-5}$**	$-5{,}00\cdot10^{-6}$**
BC_{MG}-T_p	-	-	-	-	$-5{,}56\cdot10^{-4}$***
BC_{MG}-T_e	-	-	-	$3{,}67\cdot10^{-3}$**	$-4{,}60\cdot10^{-4}$***
BTp-V_a	-	-	$6{,}22\cdot10^{-5}$**	$-5{,}46\cdot10^{-5}$**	$-5{,}00\cdot10^{-6}$***
BVa-T_e	-	-	-	-	$-1{,}30\cdot10^{-6}$**
BTp-T_e	-	-	-	-	-
BC_{MG}^2	$-1{,}53\cdot10^{-1}$***	$3{,}29\cdot10^{-3}$**	-	-	$6{,}26\cdot10^{-3}$***
B_{Tp}^2	$5{,}02\cdot10^{-3}$**	$3{,}20\cdot10^{-3}$***	-	-	-
B_{Va}^2	$6{,}67\cdot10^{-6}$**	$-2{,}05\cdot10^{-6}$***	-	$-6{,}42\cdot10^{-7}$**	$3{,}64\cdot10^{-8}$**
B_{Te}^2	$1{,}73\cdot10^{-2}$***	$-1{,}93\cdot10^{-3}$***	$-4{,}43\cdot10^{-3}$**	$-1{,}62\cdot10^{-3}$***	$2{,}73\cdot10^{-4}$***
Estadística[c]					
R^2	0,9720	0,991	0,949	0,969	0,999
R^2adj	0,954	0,987	0,936	0,955	0,998
R^2pred	0,930	0,973	0,904	0,904	0,996
AP	34,52	43,70	29,56	32,79	149,2

[a]C_{MG}, concentración de Myv-1; V_a, velocidad de agitación; T_e, temperatura de enfriamiento. [b]lOBC, capacidad de retención de aceite; DU, dureza; AD, adhesividad; CO, cohesividad. [c]R^2, R-cuadrado; R^2adj, R-cuadrado ajustado; R^2pred, R-cuadrado predicho; AP, precisión adecuada. Significancia estadística de los términos del modelo: ***p ≤ 0,0001; **0,0001 < p ≤ 0,05; *p > 0,05.

Tabla 3.8. Coeficientes del modelo cuadrático para variables de respuesta del diseño (propiedades viscoelásticas) experimental 1, su significancia estadística y los coeficientes estadísticos correspondientes.

Coeficientes del Modelo[a]	Variables de respuesta[b]				
	log G_0' (Pa)	$m_{G'}$ (Pa.s)	n	*Log* η_0^*(Pa.s)	m_{η^*} (Pa.s^2)
B_0	3,49	1,06	-2,86	4,61	$-6{,}01\cdot10^{-1}$
BC_{MG}	$1{,}84\cdot10^{-1***}$	$-7{,}54\cdot10^{-3***}$	$2{,}03\cdot10^{-2**}$	$9{,}98\cdot10^{-2***}$	$-1{,}11\cdot10^{-2***}$
B_{Tp}	$-1{,}28\cdot10^{-2**}$	$-2{,}34\cdot10^{-2*}$	$7{,}79\cdot10^{-2**}$	$-1{,}98\cdot10^{-2*}$	$-8{,}25\cdot10^{-3*}$
B_{Va}	$-1{,}50\cdot10^{-4*}$	$-9{,}25\cdot10^{-5**}$	$1{,}31\cdot10^{-4**}$	$-3{,}92\cdot10^{-4**}$	$8{,}78\cdot10^{-7*}$
B_{Te}	$1{,}01\cdot10^{-1***}$	$-3{,}48\cdot10^{-3**}$	$-4{,}52\cdot10^{-3***}$	$5{,}27\cdot10^{-2***}$	$9{,}67\cdot10^{-4**}$
BC_{MG}-V_a	$-3{,}44\cdot10^{-5**}$	$1{,}42\cdot10^{-5**}$	-	-	$4{,}06\cdot10^{-6**}$
BC_{MG}-T_p	$1{,}64\cdot10^{-3**}$	-	-	$1{,}60\cdot10^{-3**}$	$1{,}44\cdot10^{-4**}$
BC_{MG}-T_e	-	$-3{,}25\cdot10^{-4**}$	$1{,}32\cdot10^{-3**}$	$8{,}85\cdot10^{-4*}$	-
BTp-V_a	$9{,}31\cdot10^{-6**}$	-	-	$7{,}25\cdot10^{-6*}$	-
BVa-T_e	-	$-1{,}90\cdot10^{-6*}$	-	$-6{,}50\cdot10^{-6*}$	-
BTp-T_e	$-6{,}84\cdot10^{-4**}$	-	$-3{,}88\cdot10^{-3**}$	-	$-5{,}40\cdot10^{-5**}$
BC_{MG}^2	$-1{,}08\cdot10^{-2***}$	$5{,}24\cdot10^{-4**}$	$-2{,}69\cdot10^{-3**}$	$-7{,}74\cdot10^{-3***}$	-
B_{Tp}^2	-	$1{,}45\cdot10^{-4**}$	$-4{,}24\cdot10^{-4**}$	-	$4{,}91\cdot10^{-5**}$
B_{Va}^2	$-1{,}85\cdot10^{-7**}$	-	$-1{,}68\cdot10^{-7*}$	-	$-3{,}18\cdot10^{-8**}$
B_{Te}^2	$-1{,}63\cdot10^{-3***}$	-	$7{,}79\cdot10^{-4***}$	$-2{,}12\cdot10^{-3***}$	$1{,}07\cdot10^{-4***}$
Estadística[c]					
R^2	0,989	0,880	0,924	0,985	0,896
R^2adj	0,983	0,826	0,884	0,977	0,842
R^2pred	0,963	0,623	0,757	0,952	0,663
AP	47,45	16.44	16,63	46,49	16,73

[a]C_{MG}, concentración de Myv-1; V_a, velocidad de agitación; T_e, temperatura de enfriamiento. [b]log G_0', $m_{G'}$ y n, parámetros del modelo del módulo elástico (G'); [c]R^2, R-cuadrado; R^2adj, R-cuadrado ajustado; R^2pred, R-cuadrado predicho; AP, precisión adecuada. Significancia estadística de los términos del modelo: ***p ≤ 0,0001; **0,0001 < p ≤ 0,05; *p > 0,05.

3.3.2.1 Capacidad de retención de aceite

Todos los oleogeles preparados presentaron altos valores de OBC (87,24% - 99,84%), confirmando la capacidad de estos materiales de formar una red cristalina fuerte capaz de evitar la migración de aceite, la cual es considerada un efecto indeseable ya que conduce a defectos de calidad (Co y Marangoni, 2012). Un oleogel que presente bajo valor de OBC podría liberar fácilmente el aceite dentro de la matriz alimentaria, alterando de manera negativa las propiedades sensoriales del producto (Blake y Marangoni, 2015).

Respecto al análisis de los coeficientes de este modelo (Tabla 3.7), los factores más significativos (p < 0,0001) para esta respuesta, conforme a sus valores p, fueron los correspondientes a los términos lineal y cuadrático de C_{MG} y T_e, respectivamente, Otros factores significativos fueron: T_p (p = 0,0278), T_p^2 (p = 0,0379), V_a^2 (p = 0,0001), y la

interacción C_{MG}*V_a (p = 0,0481). El término lineal correspondiente a V_a no resultó ser significativo (p > 0,1).

El efecto de algunos factores experimentales en OBC se muestra gráficamente en la Figura 3.4. La Figura 3.4-A muestra el efecto de C_{MG}, V_a y la interacción entre estos dos factores sobre OBC. Se encontró que la capacidad de retención de aceite aumentó con el incremento en C_{MG} hasta un cierto punto (~11% p/p), en el cual OBC alcanzó su máximo valor. Incrementos en la concentración de MG por encima de este punto mantuvieron el valor de OBC cerca del máximo alcanzado. A altas C_{MG}, el incremento en V_a resulta en un aumento de OBC. Este resultado se encuentra en concordancia con lo reportado por Rocha-Amador y col. (2014) en su estudio sobre las condiciones de preparación de oleogeles de monoglicéridos, quienes observaron un aumento en el nivel del orden molecular de la red cristalina como consecuencia del incremento de la velocidad de agitación. Probablemente, a partir de C_{MG}~11 %p/p, las condiciones de agitación influyen sobre la energía de las interacciones moleculares y por ende en el alineamiento molecular.

Respecto a la temperatura de preparación, el valor más alto de OBC se obtuvo usando la temperatura más baja, en concordancia con lo indicado en la Ec 3.2 debido a la prevalencia del término lineal negativo de T_p sobre el correspondiente término cuadrático (T_p^2). Para analizar el efecto de los factores más significativos, los valores de las otras variables independientes, V_a y T_p, fueron fijados en la condición que permite maximizar OBC (V_a = 1000 rpm y T_p = 70 °C) (Figura 3.4-B). Se puede observar que, cuando se formulan oleogeles con una concentración de MG superior a 10,5%, es posible realizar la etapa de enfriamiento en un rango cada vez más amplio de temperaturas para alcanzar oleogeles con máxima capacidad de retención de aceite.

La menor OBC resultó al emplear T_e mayores a 19 ºC. Esto indica que un gradiente menor de temperatura (T_p - T_e), el cual originó un perfil con velocidades de enfriamiento más bajas, produjo una estructura con baja capacidad de retención de aceite. Esto pudo deberse a la formación de una red con mayor desorden estructural o a la formación de cristales de diferentes tamaños y/o formas.

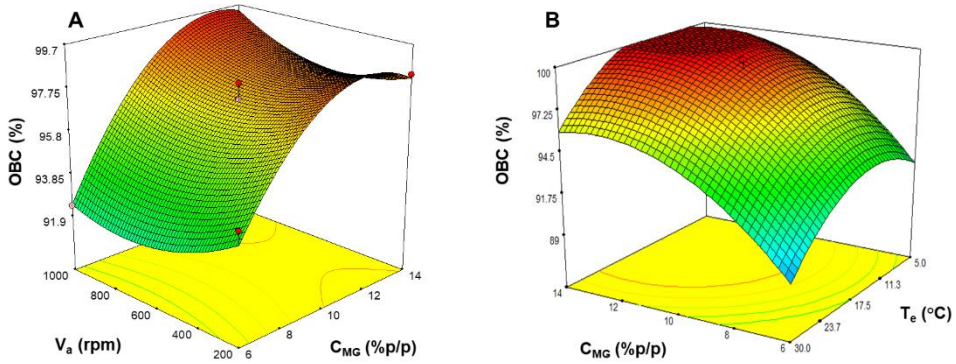


Figura 3.4. Superficies de respuesta para la capacidad de retención de aceite (OBC) de los oleogeles. Efecto de: A) velocidad de agitación (V_a) y concentración de monoglicéridos (C_{MG}) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para T_p=70 ºC y V_a=1000 rpm. Los puntos corresponden a datos experimentales.

3.3.2.2 Propiedades de textura

3.3.2.2.1 Dureza

Los valores de dureza obtenidos en los oleogeles se encontraron entre 0,40 y 2,95 N. Teniendo en cuenta que la materia grasa comercial analizada mostró un valor promedio de 1,60 N, es posible pensar en el desarrollo de un material con una DU similar bajo las condiciones evaluadas en este estudio. El modelo predictivo para la dureza en términos de los factores experimentales (Tabla 3.7) resultó cuadrático en T_e. De acuerdo al análisis estadístico, el término lineal correspondiente a la concentración de MG (C_{MG}) junto con el cuadrático de T_e (T_e^2) resultaron ser los factores más significativos ($p < 0,0001$). Los demás términos no fueron significativos, excepto la interacción T_p*V_a ($p = 0,0152$).

El efecto de la temperatura de preparación, la velocidad de agitación y su interacción en la dureza de los oleogeles se muestra en la Figura 3.5-A. Como puede observarse, en los valores más bajos de temperatura de preparación, la dureza disminuye con el aumento de la velocidad de agitación, mientras que este efecto se invierte en valores de T_p más altos, encontrándose que DU se incrementa al aumentar V_a. El valor de DU máximo se obtuvo al seleccionar los valores más altos de T_p y V_a. Resulta importante mencionar que todos los oleogeles se obtuvieron mediante calentamiento de la mezcla aceite-MG a temperaturas

superiores a la temperatura de fusión de los MG (54,6 ºC). Por lo tanto, se espera que las estructuras cristalinas hayan sido destruidas por completo en cualquiera de las T_p analizadas. Sin embargo, la preparación de oleogeles a alta V_a y alta T_p pudo haber expuesto nuevos sitios de enlace de hidrógeno, los que podrían participar en la estabilización de la red de gel mediante una distribución diferente de los MG en el aceite luego del proceso de enfriamiento. Por otro lado, a bajas velocidad de agitación y temperatura de preparación, pareciera ocurrir un fenómeno diferente, por lo que el nivel de dureza obtenido no es tan bajo como podría esperarse. Del mismo modo, este resultado podría indicar que las condiciones de agitación estarían afectando la alineación molecular, si bien la agitación fue detenida antes de enfriar. Resultados similares han sido reportados previamente por Rocha-Amador y col. (2014).

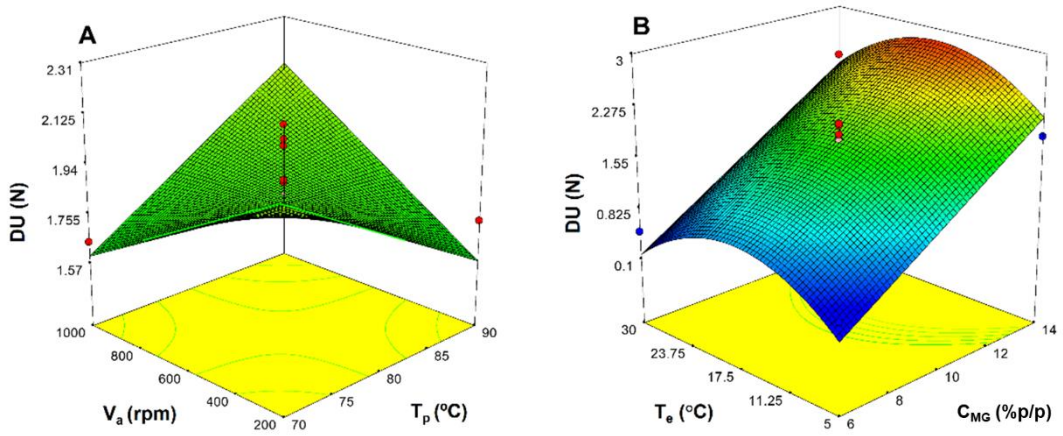


Figura 3.5. Superficies de respuesta para la dureza (DU) de los oleogeles. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y temperatura de preparación (T_p) para valores de la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para valores de T_p y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

Por otro lado, el efecto de la concentración de MG en la dureza de los oleogeles se muestra en la Figura 3.5-B. Se evidenció un incremento lineal en la dureza al aumentar la concentración del agente estructurante, dentro del rango estudiado. Además, se observó que, para todas las concentraciones de MG analizadas, DU se incrementa con el aumento de T_e hasta 17,5 ºC, pero disminuye gradualmente por encima de este valor demostrando la presencia de un óptimo en el perfil de enfriamiento.

3.3.2.2.2 Cohesividad

Los valores de CO obtenidos para los oleogeles preparados se encontraron entre 0,079 y 0,50, resultando más bajos que el correspondiente a la materia grasa comercial (0,58 ± 0,04) seleccionada para la comparación. De acuerdo al modelo obtenido (Tabla 3.7), CO presentó dependencia cuadrática respecto de los factores C_{MG}, V_a y T_e. Además, todos los términos resultaron altamente significativos ($p < 0,0001$), excepto $C_{MG}*V_a$ ($p = 0,0017$), V_a*T_e ($p = 0,0072$), y V_a^2 ($p = 0,0023$), que igualmente mostraron tener significancia estadística sobre la respuesta.

El efecto de los factores experimentales en esta propiedad se muestra en la Figura 3.6. La cohesividad relaciona el trabajo de penetración realizado en el segundo ciclo con el correspondiente al primer ciclo. Este parámetro mecánico es una medida de la fuerza de los enlaces internos del material que constituyen el cuerpo del mismo. Al comparar las Figuras 3.5-A y 3.6-A., se observa que el efecto de T_p y V_a en la cohesividad es totalmente opuesto al observado sobre la dureza. Esto puede explicarse de la siguiente manera: los valores de dureza más altos se asociaron con valores de trabajo de compresión más altos en el primer ciclo (A1), mientras que los valores de trabajo de compresión en el segundo ciclo (A3) no variaron en gran medida al cambiar las condiciones de procesamiento (A1 osciló entre 2,475 y 21,047 N.s y A3 osciló entre 0,817 y 2,268 N.s). Como consecuencia, la cohesividad (A3/A1) tiende a disminuir a medida que aumenta la dureza (proporcional a A1). Un comportamiento similar se obtuvo por efecto de la concentración de MG, ya que la cohesividad disminuyó con el incremento en C_{MG} en la formulación de oleogeles (Figura 3.6-B).

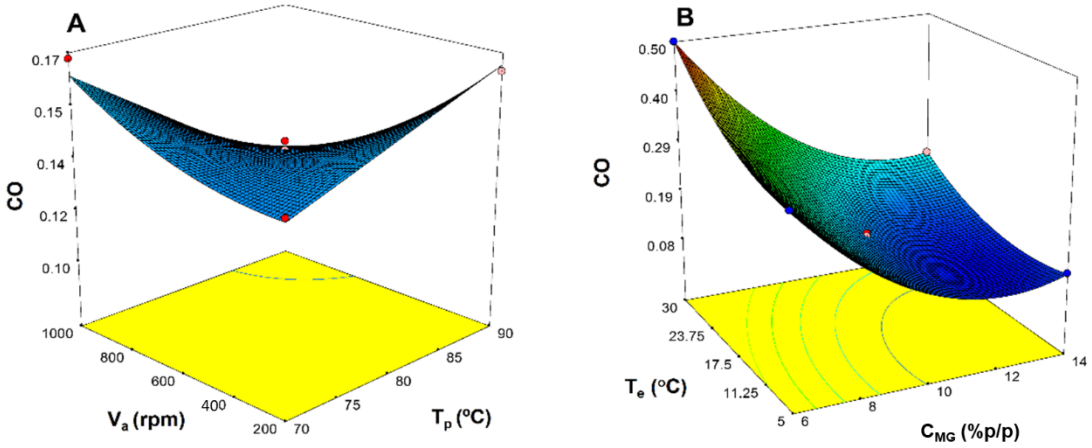


Figura 3.6 Superficies de respuesta para la cohesividad (CO) de los oleogeles. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y temperatura de preparación (T_p) para valores de la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para valores de T_p y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

Respecto al efecto de la temperatura de enfriamiento, a niveles bajos de concentración de MG el efecto es más notable que a altas C_{MG}, incrementándose significativamente la CO al aumentar los valores de este factor (Figura 3.6-B). Por lo tanto, se podría pensar que los oleogeles más firmes inicialmente presentaron estructuras más fuertes, pero una vez que fueron sometidos a una penetración, se produjo una mayor deformación no recuperable. Resulta interesante notar que el parámetro A3 proporciona información sobre las estructuras intactas después del primer ciclo de penetración y, por lo tanto, sobre la presencia de enlaces más persistentes. Con el fin de establecer una relación entre las condiciones de preparación de los oleogeles y A3, se realizó un análisis adicional de esta respuesta. Se encontró que la temperatura de enfriamiento y la concentración de MG fueron los factores más significativos ($p < 0,0001$), mostrando que, al aumentar los niveles de ambos parámetros, A3 aumentó hasta alcanzar el valor máximo. Por lo tanto, el hecho de que los materiales obtenidos a la temperatura de enfriamiento más alta hayan desarrollado los valores de A3 más altos podría sugerir la presencia de una estructura diferente en la red cristalina formada. Este concepto se retomará en la discusión de los resultados de las pruebas reológicas realizada en la Sección 3.3.2.5.1.

3.3.2.2.3 Adhesividad

Los valores del parámetro mecánico AD obtenidos para los oleogeles formulados se encontraron entre 0,84 y 3,13 N.s, resultando más bajos que el correspondiente a la materia grasa comercial (5,37 ± 0,29 N.s).

En el modelo obtenido para representar la AD (Tabla 3.7), los factores que resultaron ser más significativos ($p < 0,0001$) fueron la concentración de MG y la temperatura de enfriamiento en sus términos lineal y cuadrático, respectivamente. Otros términos significativos fueron V_a^2 ($p = 0,0206$) y las interacciones $C_{MG}*V_a$ ($p = 0,0293$), $C_{MG}*T_e$ ($p = 0,0031$), y T_p*V_a ($p = 0,0007$). El término correspondiente a la temperatura de preparación no fue significativo ($p > 0,1$).

El efecto de las condiciones de preparación de los oleogeles sobre la adhesividad se muestra en la Figura 3.7.

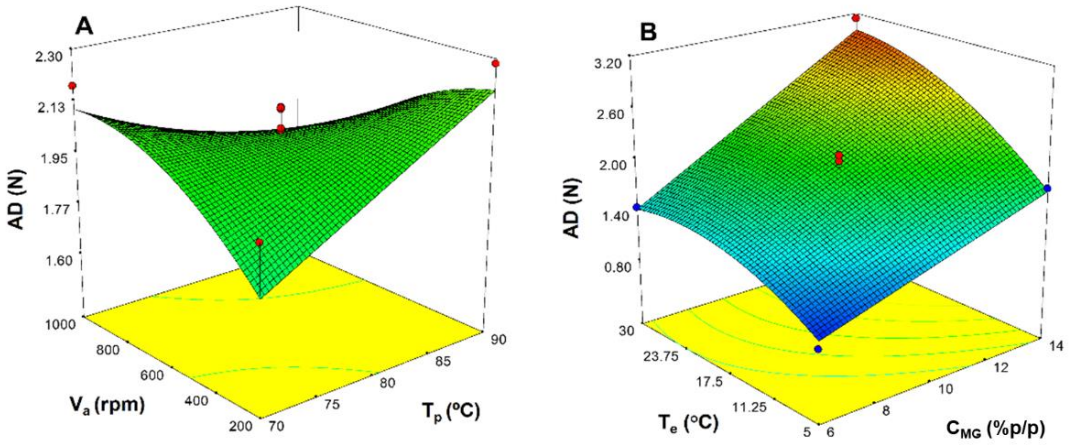


Figura 3.7. Superficies de respuesta para la adhesividad (AD) de los oleogeles. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y temperatura de preparación (T_p) para valores de la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para valores de T_p y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

La adhesividad representa el trabajo necesario para retirar el instrumento de medición de la muestra. Los valores más altos de AD, en términos de su valor absoluto, fueron obtenidos combinando un nivel bajo de temperatura de preparación con un nivel alto de

velocidad de agitación, y viceversa (Figura 3.7-A.). Por lo tanto, estos factores mostraron un efecto similar tanto en AD como en CO. Además, la interacción de los factores más significativos (Figura 3.7-B.) mostró que, incrementando tanto la concentración de MG como la temperatura de enfriamiento, la adhesividad se incrementa alcanzando un valor máximo en el extremo del rango analizado para estos factores. Resultados similares han sido previamente reportados en oleogeles formulados con MG saturados y aceite de oliva (Yilmaz y Ögütcü, 2014). Por otro lado, en el presente trabajo se encontró que la temperatura de enfriamiento representa un factor particularmente importante en esta variable de respuesta, ya que bajas velocidades de enfriamiento (altos valores de T_e) parecieran originar fuerzas atractivas mayores entre la superficie del oleogel y la superficie del instrumento de medición.

3.3.2.2.4 Fracturabilidad

Todos los oleogeles formulados mostraron fragilidad, al presentar fractura cuando se sometieron a una determinada fuerza de penetración. Los valores de FR obtenidos para los oleogeles formulados se encontraron entre 0,36 y 1,76 N, mientras que la materia grasa comercial analizada no mostró el pico correspondiente a este parámetro mecánico.

El análisis de la varianza (ANOVA) indicó que el modelo obtenido para representar la FR fue cuadrático en todos los factores (Tabla 3.7). De acuerdo a los resultados del análisis estadístico, el término lineal correspondiente a la concentración de MG (C_{MG}) junto con los términos cuadráticos T_p^2, V_a^2 y T_e^2, resultaron ser los factores de mayor influencia ($p < 0,0001$). Otros términos significativos fueron: V_a ($p = 0,0004$), T_e ($p = 0,0174$), C_{MG}^2 ($p = 0,0182$), y la interacción $C_{MG}*V_a$ ($p = 0,0146$).

Los efectos de los factores experimentales en FR de los oleogeles se muestran en la Figura 3.8.

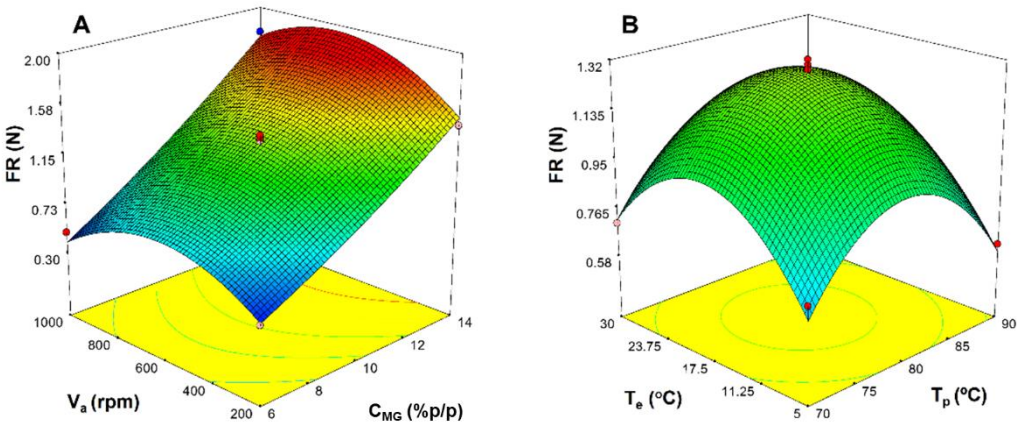


Figura 3.8. Superficies de respuesta para la fracturabilidad (FR) de los oleogeles. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y concentración de monoglicéridos (C_{MG}) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y T_p para valores de C_{MG} y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

De manera similar al resultado encontrado para el parámetro dureza, la fracturabilidad de los oleogeles mostró un aumento lineal con el incremento en la concentración de MG (Figura 3.8-A). Esto significa que, al aumentar la concentración de agente estructurante, los oleogeles se vuelven más consistentes, pero al mismo tiempo más quebradizos. Por otro lado, se observó que para todas las concentraciones de MG analizadas, la fracturabilidad se incrementó al aumentar la velocidad de agitación hasta 650 rpm, disminuyendo a partir de este valor.

Respecto al efecto de la temperatura en la fracturabilidad (Figura 3.8-B), al incrementarse la temperatura de preparación hasta 80ºC el valor de esta respuesta aumentó, pero luego disminuyó gradualmente con el incremento de este factor. La temperatura de enfriamiento mostró un efecto similar en FR, observándose un máximo en esta respuesta a 17,5 ºC. Es importante mencionar que, por lo general, aquellos productos con altos valores de dureza y bajos niveles de cohesividad son los que muestran fractura (Bourne, 2002), lo cual concuerda con los resultados encontrados en las propiedades de textura analizadas anteriormente.

3.3.2.3 Módulo elástico

Los resultados obtenidos en los ensayos de barrido de frecuencia mostraron que todos los oleogeles formulados presentaron un comportamiento de tipo gel (G' > G'') debido a la presencia de una red cristalina, lo cual coincide con lo observado previamente por Da Pieve y col. (2010) en su estudio de oleogeles de monoglicéridos y aceite de oliva.

Los puntos experimentales correspondientes al parámetro G' se transformaron matemáticamente usando la función logarítmica y se ajustaron adecuadamente mediante la Ec. 2.2 ($R^2 > 0,99$). Los parámetros del ajuste de este modelo (log G_0', $m_{G'}$ y n) obtenidos para cada condición de preparación del oleogel, se muestran en la Tabla 3.6. Los rangos obtenidos para los parámetros reológicos fueron: 4,07 – 5,12 Pa para log G_0', 0,078 – 0,17 Pa.s para m_G', y 0,32 – 0,64 para n. Teniendo en cuenta que la materia grasa comercial analizada mostró un valor promedio de log G_0' de 4,54 Pa, es posible pensar en el desarrollo de un material que presente un valor similar de este parámetro bajo las condiciones ensayadas en este estudio. Por otro lado, el valor de $m_{G'}$ obtenido para la MC fue de 0,06 Pa,s, menor que los valores correspondientes a todos los oleogeles formulados, mientras que el valor de n fue de 0,65.

El efecto de las condiciones de procesamiento de los oleogeles en los parámetros de la ecuación correspondiente a log G' (Ec. 2.2) fue modelado mediante el software Design Expert. Respecto al modelo obtenido para el parámetro log G_0' (Tabla 3.8), los términos cuadrático y lineal de C_{MG} y T_e mostraron los efectos más significativos ($p < 0,0001$). Otros términos significativos fueron: T_p ($p = 0,0114$), V_a^2 ($p = 0,0378$) y las interacciones $C_{MG}*T_p$ ($p = 0,0015$), $C_{MG}*V_a$ ($p = 0,0056$), T_p*V_a ($p = 0,0047$) y T_p*T_e ($p = 0,0001$).

La Figura 3.9-A muestra que los valores más altos de log G_0' fueron obtenidos usando la mayor C_{MG}. Dado que este parámetro reológico está asociado a la magnitud de G', se puede decir que al incrementar la concentración de agente estructurante, el carácter elástico de los oleogeles formulados aumentaría en forma prácticamente lineal, en concordancia con el resultado encontrado para la dureza de los oleogeles. Una correlación entre estas dos

propiedades ha sido previamente reportada por algunos autores (Alexa y col., 2010; Emadzadeh y col., 2013). Además, se evidenció que la velocidad de agitación no tuvo un efecto importante en esta respuesta.

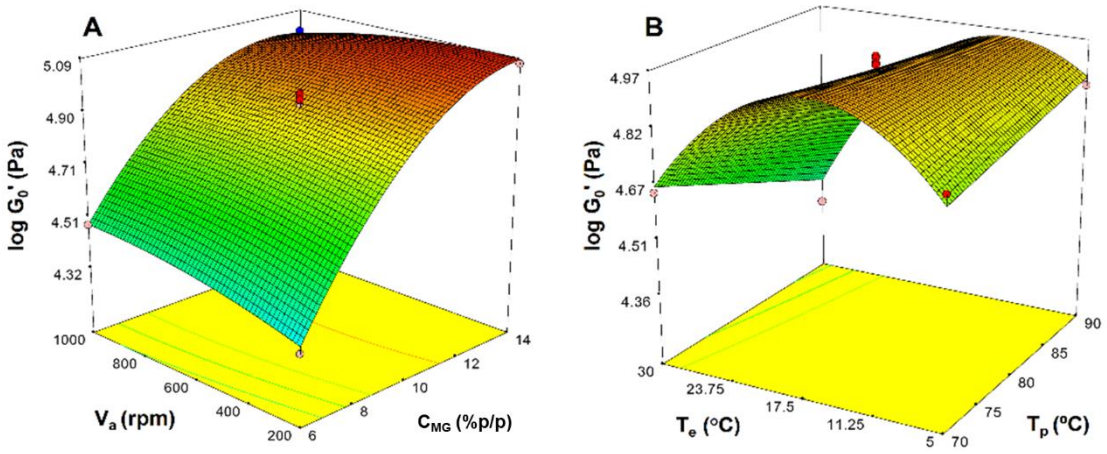


Figura 3.9. Superficies de respuesta para el parámetro log G_0' del modelo descripto por la Ec. 2.3. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y concentración de monoglicéridos (C_{MG}) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y T_p para valores de C_{MG} y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

Respecto a la Figura 3.9-B., los valores más altos de log G_0' se obtuvieron usando una temperatura de enfriamiento de alrededor de 17,5 ºC para las mezclas preparadas a 70 ºC, y entre 11,5 y 17,5 ºC para las mezclas preparadas a 90 ºC. En general, las tendencias observadas en el comportamiento del parámetro log G_0' en función de la velocidad de agitación y la temperatura de preparación, y respecto de la temperatura de enfriamiento y la concentración de MG, fueron similares a las mostradas por la dureza (Figura 3.8).

En cuanto al modelo obtenido para el parámetro $m_{G'}$ (Tabla 3.8), correspondiente al modelo log G', la concentración de MG resultó ser el factor con mayor influencia en esta respuesta ($p < 0,0001$). Otros factores significativos fueron: V_a ($p = 0,0296$), T_e ($p = 0,0007$), C_{MG}^2 ($p = 0,0325$), T_p^2 ($p = 0,0007$), y las interacciones C_{MG}*V_a ($p = 0,0001$) y C_{MG}*T_e ($p = 0,0033$).

Todos los valores obtenidos fueron positivos, indicando que G' aumenta con ω en todos los oleogeles formulados (Figura 3.10). Respecto a la magnitud de $m_{G'}$, todos los materiales presentaron valores pequeños, indicando así que los geles presentan una baja dependencia con ω y por lo tanto, una estructura elástica fuerte (Patel y col. 2014). A partir de explorar el modelo obtenido en el rango experimental estudiado, se encontró que el valor más alto de este parámetro se obtuvo, independientemente del valor de la temperatura de preparación, a partir de las siguientes condiciones: C_{MG} = 6 % p/p, V_a = 200 rpm y T_e = 30 °C, y C_{MG} =14 % p/p, V_a = 1000 y and T_e = 5 °C. Esto significa que los oleogeles obtenidos bajo estas condiciones de procesamiento presentan un comportamiento con mayor dependencia de la frecuencia angular que el resto de los materiales. Además, estos oleogeles mostraron valores bajos del parámetro log G_0'. Dado que, desde el punto de vista reológico, geles fuertes presentan valores altos del módulo elástico y éstos son independientes de la frecuencia angular, esto sugiere que los materiales obtenidos bajo las condiciones mencionadas podrían tener una estructura de red débil. En base a los resultados obtenidos en el parámetro de dureza, la condición de preparación mencionada en primer lugar fue asociada con oleogeles más blandos, mientras que la segunda se correspondió con oleogeles duros. Esta aparente discrepancia entre los resultados de las propiedades de textura y reológicas está asociada probablemente a la naturaleza diferente de cada tipo de ensayo (alta y baja deformación, respectivamente).

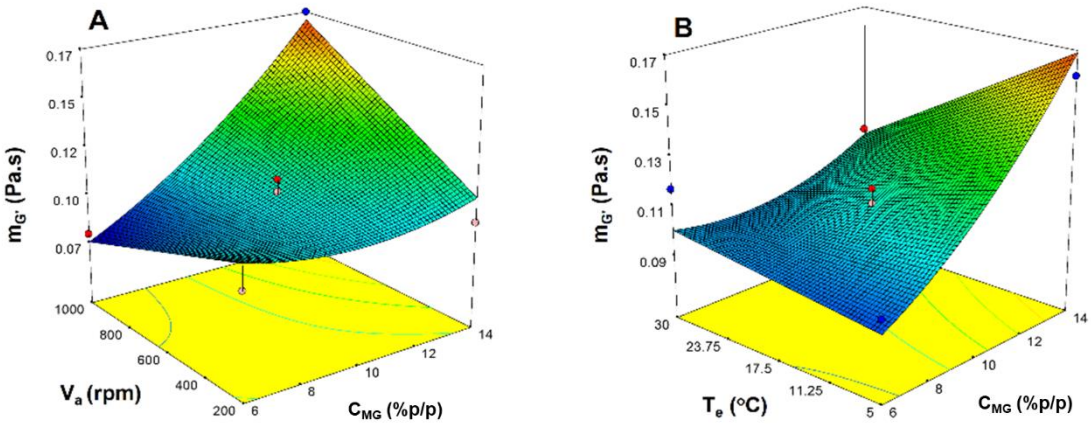


Figura 3.10. Superficies de respuesta para el parámetro $m_{G'}$ del modelo descripto por la Ec. 2.3. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y concentración de monoglicéridos (C_{MG}) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para valores de T_p y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

El modelo obtenido para el parámetro n está representado por la Figura 3.11. Como puede verse en la Tabla 3.8, los factores más significativos ($p < 0,0001$) fueron los térmicos lineal y cuadrático correspondientes a la temperatura de enfriamiento. Otros términos significativos fueron: C_{MG} ($p = 0,0005$), T_p ($p = 0,0040$), V_a ($p = 0,0094$), C_{MG}^2 ($p = 0,0038$), T_p^2 ($p = 0,0042$), y las interacciones C_{MG}*T_e ($p = 0,0010$) y T_p*T_e ($p = 0,0105$). Utilizando el modelo obtenido en el rango experimental estudiado fue posible determinar las condiciones de preparación que permiten lograr oleogeles con valores del parámetro n similares a los mostrados por la MC (0,65). Los valores más altos de este parámetro se alcanzaron bajo las siguientes condiciones de procesamiento: C_{MG} = 9,1 – 12,6 % p/p, T_P = 75 - 80 °C, V_a = 400 - 600 rpm y T_e = 30 °C. Estas condiciones de preparación fueron asociadas con valores intermedios de dureza y cohesividad, y altos valores de adhesividad.

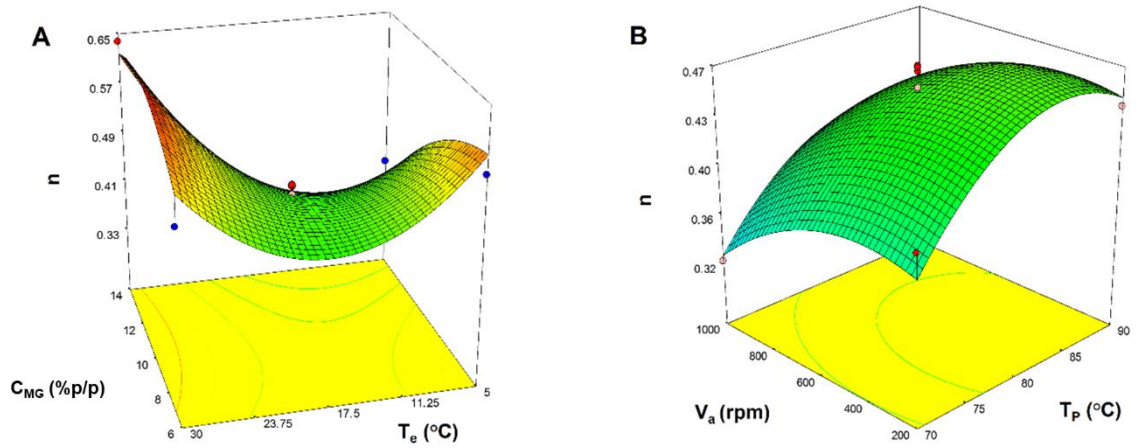


Figura 3.11. Superficies de respuesta para el parámetro n del modelo descripto por la Ec. 2.3. Efecto de: A) Concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y temperatura de enfriamiento (T_e) para valores de la velocidad de agitación (V_a) y la temperatura de preparación (T_p) en el punto central; B) V_a y T_p para valores de T_e y C_{MG} en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

3.3.2.4 Viscosidad compleja

La viscosidad compleja (η*) de un oleogel es una medida de la resistencia que presenta el material frente a los esfuerzos de corte. De esta manera, un material con alta η* se caracteriza por su alta resistencia al flujo. Para obtener un modelo adecuado de este parámetro, los datos experimentales fueron transformados matemáticamente usando la función logarítmica y se ajustaron mediante la Ecuación (2.3), donde log η_0* representa el valor de log η* para ω=1 rad/s (este valor está directamente asociado con la magnitud η*), mientras que m_{η^*} corresponde a la pendiente de la curva log η* vs, log ω (indicando la velocidad de cambio de η* con ω). El modelo matemático obtenido resultó ser adecuado, presentando valores de R^2 > 99,95%. Los valores de los parámetros log η_0* y m_{η^*} obtenidos para los oleogeles formulados en cada condición de procesamiento ensayada se muestran en la Tabla 3.6, encontrándose en un rango comprendido entre 4,00 y 5,34 Pa.s, y entre -0,93 y -0,97 $Pa.s^2$, respectivamente. Dado que los valores de log η_0* y m_{η^*} obtenidos para la materia grasa comercial analizada fueron de 4,53 Pa.s y -0,96 $Pa.s^2$, respectivamente, se puede afirmar que es posible desarrollar oleogeles de MG y aceite de girasol alto oleico que presenten valores de η* similares a este producto.

De acuerdo al modelo obtenido para *log* η_0*, se encontró que los factores que mayor influencia ($p < 0,0001$) ejercieron sobre este parámetro fueron C_{MG} y T_e, en sus términos lineal y cuadrático, respectivamente. Otros factores significativos fueron: V_a ($p = 0,0454$) y la interacción C_{MG}*Tp ($p = 0,0157$). Como puede observarse en la Figura 3.12-A, los valores más altos de log η_0* fueron obtenidos para los oleogeles formulados con la concentración de MG más alta, y en dicha situación, incrementándose levemente con el aumento de T_p. Respecto a la Figura 3.12-B, para todo el rango de V_a, el valor mayor de log η_0* encontrado fue al usarse una Te entre 11 y 17,5 ºC. Este resultado es análogo al hallado para el parámetro log G_0'. De este modo, las condiciones de preparación que generaron oleogeles con el mayor valor de G', lo cual indica mayor elasticidad, también produjeron materiales con el valor más alto de η*, es decir, oleogeles más resistentes a la deformación, al menos para ω=1 rad/s.

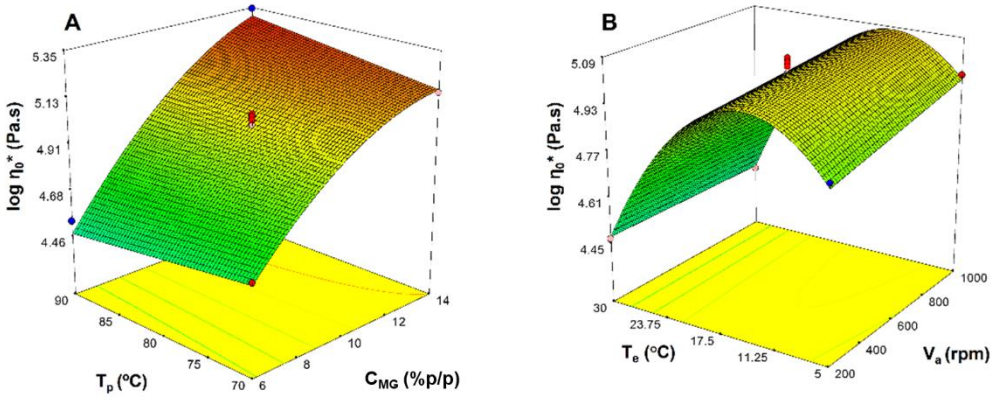


Figura 3.12. Superficies de respuesta para el parámetro *log* η_0* del modelo descripto por la Ec. 2.4. Efecto de: A) la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y la temperatura de preparación (T_p) para valores de la velocidad de agitación (V_a) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y V_a para valores de T_p y C_{MG} en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

En el modelo obtenido para m_{η^*}, los factores que mayor efecto presentaron ($p < 0,0001$) sobre este parámetro fueron, al igual que en el caso anterior, C_{MG} y T_e, en sus términos lineal y cuadrático, respectivamente. Otros factores significativos fueron: T_e ($p =$

0,0041), T_p^2 (p = 0,0263), V_a^2 (p = 0,0219) y las interacciones C_{MG}*T_p (p = 0,0462), C_{MG}*V_a (p = 0,0262) y T_p*T_e (p = 0,0216).

Debido a que todos los valores de m_{η^*} obtenidos fueron negativos (Tabla 3.5), es posible afirmar que todos los oleogeles presentaron valores de viscosidad compleja mayores cuando la fuerza de corte fue baja, y decreció cuando la fuerza de corte se incrementó. Este fenónemo es conocido en el área de estudio de reología como “shear thinning” o adelgazamiento por cizalladura (Hasenhuettl y Hartel, 2008). La Figura 3.13-A muestra el efecto de la concentración de MG, la velocidad de agitación y su interacción en esta variable de respuesta. Los valores más bajos de m_{η^*}, considerando su valor absoluto ya que este parámetro se encuentra asociado a cambios en η* al variar la frecuencia angular (Ec.2.4), fueron obtenidos usando la menor concentración de MG y la velocidad de agitación más alta, indicando cambios menores en la viscosidad en estas condiciones de procesamiento.

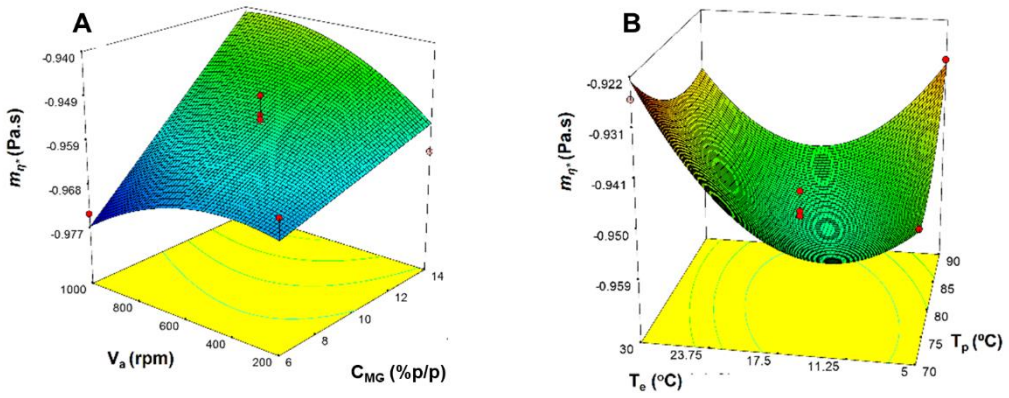


Figura 3.13. Superficies de respuesta para el parámetro m_{η^*}, Efecto de: A) la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y la velocidad de agitación (V_a) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y T_p para valores de V_a y C_{MG} en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales.

Además, la superficie de respuesta mostrada en la Figura 3.13-B sugiere que enfriando a 30 °C y aproximadamente independiente de la temperatura de preparación, así como trabajando a la más alta T_p y la más baja T_e, se obtienen los valores más bajos, en valor absoluto, de m_{η^*}. Comparando las Figuras 3.12-B y 3.13-B puede observarse que una

temperatura de enfriamiento de 17,5 °C permitió obtener oleogeles con alta viscosidad compleja a bajos niveles de frecuencia angular, con una rápida velocidad de disminución de este parámetro al incrementarse la frecuencia.

3.3.2.5 Optimización multirespuesta y verificación de los modelos matemáticos

Con el objetivo de producir un oleogel con propiedades físicas similares a la materia grasa comercial utilizada como producto modelo, los modelos matemáticos obtenidos para cada respuesta fueron usados para llevar a cabo una optimización multirespuesta, con el fin de encontrar un conjunto de condiciones adecuadas para los parámetros de procesamiento (variables independientes), que permitieran cumplir con las restricciones impuestas sobre las variables de respuesta.

En la primera optimización (O-1), los valores de DU y log G_0' se fijaron en los correspondientes a la MC, 1,60 N y 4,54 Pa, respectivamente, y se maximizaron los valores de OBC, CO y AD, dejando que las demás respuestas tomaran valores dentro del rango de análisis. En este caso, se le dio la mayor prioridad a la restricción OBC, debido a la importancia que este parámetro tiene para la formulación posterior de productos comerciales. Bajo estas restricciones, el valor máximo de la función de deseabilidad (D = 0,748) se encontró utilizando las condiciones de preparación de oleogel siguientes: C_{MG} = 10,8 % p/p, T_p = 70 °C, V_a = 1000 rpm y T_e = 24 ° C. En la segunda optimización (O-2), se sumó a los criterios de la O-1 la restricción correspondiente a los valores de log η_0^* y m_{η^*} del modelo de η^*, fijos en los correspondientes a la MC, 4,53 Pa.s. y -0,96 $Pa.s^2$, respectivamente, y se agregó la restricción de minimizar C_{MG}, estableciendo el mismo nivel de importancia a todas las restricciones. El resultado óptimo encontrado para este caso fue: C_{MG} = 12,4 %p/p, T_p = 85 °C, V_a = 200 rpm, y T_e = 30 °C, y el valor D correspondiente fue 0,752. Ambas condiciones óptimas se usaron en tres ensayos independientes para verificar la validez de los modelos predictivos. Como se puede observar en las Tablas 3.5 y 3.6, bajo ambas condiciones de preparación, O-1 y O-2, los valores experimentales de las variables de respuesta fueron muy

cercanos a los valores predichos. Al comparar las propiedades de los oleogeles obtenidos en las condiciones de preparación óptimas con las de la materia grasa comercial, se observó que los oleogeles alcanzaron el mismo valor de DU y se cumplió la restricción impuesta en AD. Sin embargo, los valores de CO fueron más bajos que el máximo posible. Las propiedades AD y CO de los oleogeles deberían mejorarse para alcanzar la funcionalidad de la materia grasa comercial en todas las propiedades analizadas, siendo una posibilidad a evaluar en el futuro la introducción de un estructurante adicional en la formulación del gel. Con respecto a los parámetros de los modelos log G' y log η*, estos fueron cercanos a los valores encontrados para el producto comercial. La Figura 3.14 muestra la evolución de los datos experimentales G' y η* en el ensayo de barrido de frecuencia angular con los correspondientes modelos de ajuste para los oleogeles obtenidos en las condiciones de preparación óptimas (O-1 y O-2). Estos oleogeles se comportaron con la misma tendencia que la MC, exhibiendo valores levemente superiores. Además, puede observarse que los modelos representaron satisfactoriamente el comportamiento de cada respuesta analizada.

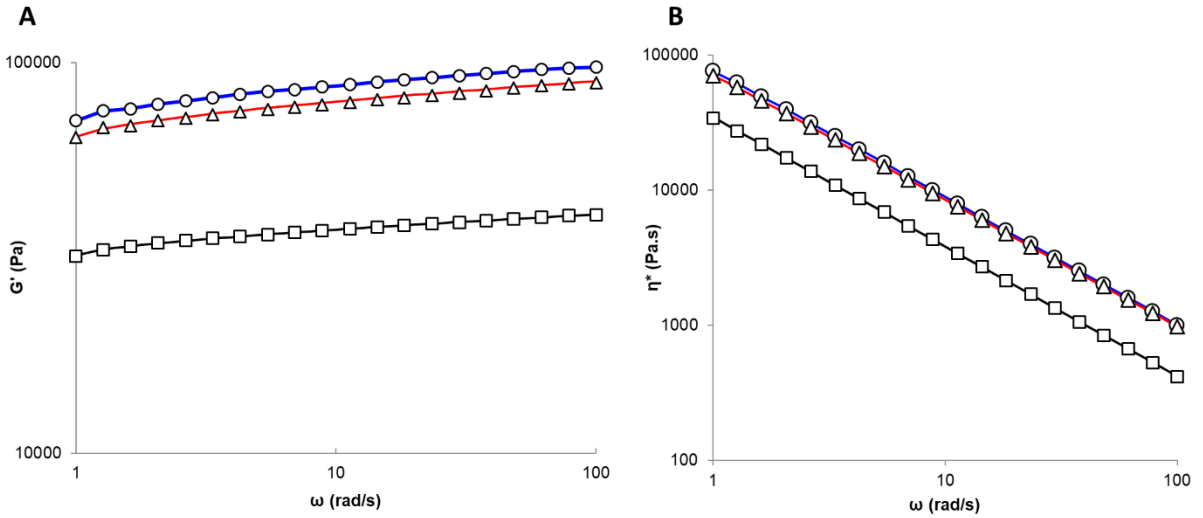


Figura 3.14. Ensayo de frecuencia angular. Evolución de **(A)** el módulo elástico (G') y **(B)** la viscosidad compleja (η*) con la frecuencia angular (ω) de oleogeles preparados en las condiciones de optimización O-1 (○) y O-2 (Δ), y la MC (□). Las líneas corresponden al ajuste de los datos experimentales por los modelos correspondientes para O-1 (—), O-2 (—) y MC (—).

En base a estos resultados, es posible afirmar que los objetivos de la optimización multirespuesta se cumplieron prácticamente en su totalidad.

Teniendo en cuenta los resultados correspondientes a OBC, se obtuvieron valores mayores de este parámetro en los oleogeles obtenidos mediante O-1, en comparación con los preparados a partir de las condiciones de O-2 (98,5 vs. 95,8 %p/p). Un oleogel con baja OBC podría exudar aceite dentro de la matriz alimentaria donde se incorpore, alterando negativamente su calidad (Blake y Marangoni, 2015). Por este motivo, y considerando que O-1 permite minimizar la cantidad de agente estructurante utilizada, beneficiando de esta manera el perfil nutricional del oleogel obtenido, las condiciones de preparación obtenidas mediante la optimización 1 resultan ser mejores que las de la optimización 2.

3.3.2.5.1 Determinación de los perfiles de enfriamiento

El proceso de enfriamiento de la mezcla fundida, que resulta en la obtención del material gelificado, tiene lugar mediante el intercambio de calor entre la mezcla y el ambiente. En los ensayos correspondientes al diseño experimental 1, el aire ambiente se encontró a tres temperaturas diferentes (T_e = 5, 17,5 y 30 °C), por lo cual las muestras experimentaron distintas velocidades de enfriamiento hasta alcanzar la temperatura final. Con el fin de estudiar el comportamiento reológico que tienen las formulaciones a medida que sucede el proceso de enfriamiento en cada caso, se debió replicar cada perfil térmico en la programación del reómetro. Para ello, se registró el perfil de temperatura de muestras preparadas bajo las condiciones de C_{MG}, T_p y V_a correspondientes a la optimización 1 (O-1), insertando una termocupla en el centro de la muestra fundida y enfriando hasta las distintas T_e (Figura 3.15-A). Cada perfil de temperatura obtenido fue descripto usando diferentes velocidades de enfriamiento en distintos intervalos de tiempo y esta descripción del proceso fue usada en la programación del reómetro para obtener la evolución del módulo elástico de las muestras en función de la temperatura (Figura 3.15-B).

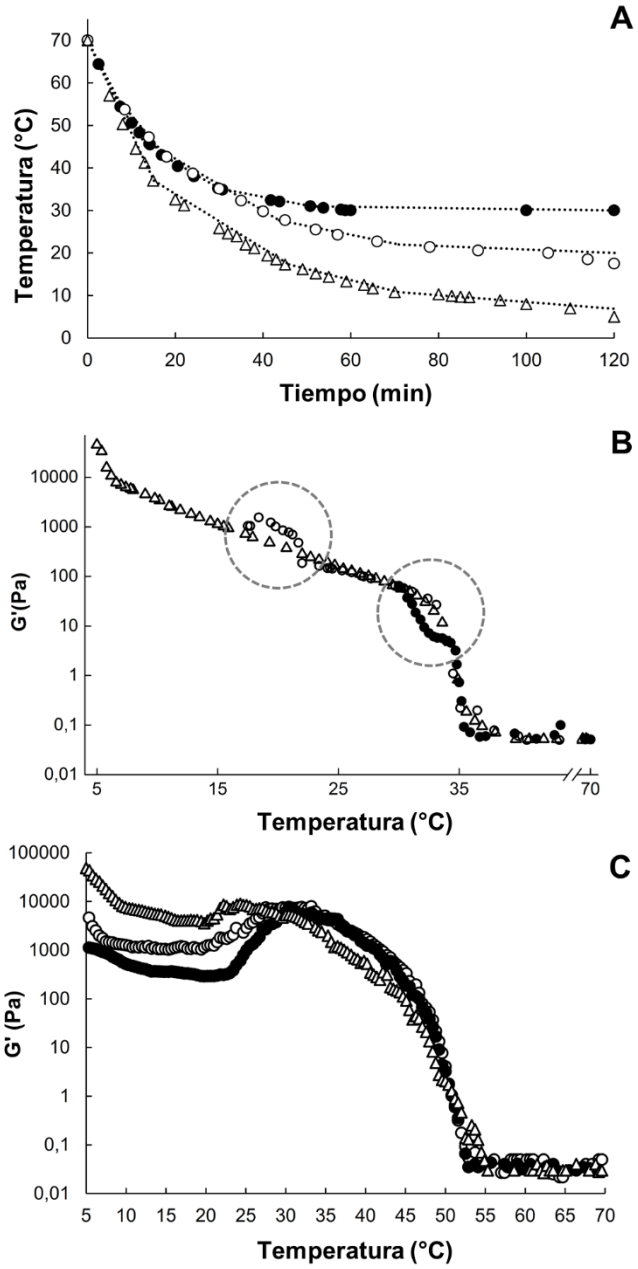


Figura 3.15. Proceso de enfriamiento de oleogeles preparados en las condiciones de optimización O-1 (C_{MG} = 10,76 %p/p, V_a = 1000 rpm, T_p = 70 °C). **(A)** Perfiles de temperatura experimentales correspondientes a T_e de 5 ºC (Δ), 17,5 ºC (○) y 30 ºC (●) y los correspondientes utilizados en la programación del reómetro, mostrados en líneas punteadas; **(B)** Evolución de G' para los perfiles de temperatura correspondientes a T_e de 5 ºC (Δ), 17,5 ºC (○) y 30 ºC (●) replicados en el reómetro; **(C)** Evolución de G' para las mezclas obtenidas previamente mediante el proceso de enfriamiento correspondiente a T_e de 5 ºC (Δ), 17,5 ºC (○) y 30 ºC (●) cuando son calentadas desde 5 hasta 70 °C a 1 °C/min.

La temperatura de gelificación, determinada como el punto de divergencia en el valor G', fue aproximadamente la misma para todas las muestras analizadas, y osciló entre 35 y 36

°C. El aumento constante en G' después del inicio de la gelificación indica la evolución de una forma estructural única, tal como se puede observar en la curva correspondiente a T_e = 5 ° C. Sin embargo, para los perfiles de temperatura correspondientes a la T_e de 30 y 17,5 °C se encontró una segunda forma estructural hacia el final del proceso de enfriamiento, indicada por la inflexión observada en las curvas (resaltadas en la Figura 3.15-B con un círculo punteado). La existencia de una segunda forma estructural también fue evidenciada por Ojijo y col. (2004a) en los ensayos reológicos de oleogeles formulados a partir de monoglicéridos de ácido esteárico y palmítico y aceite de oliva. Es posible pensar que la formación de una estructura secundaria fue la responsable del comportamiento mostrado por los oleogeles en los ensayos de TPA, afectando directamente a los resultados de los parámetros de DU y CO. Los cristales de monoglicéridos son polimórficos, es decir, pueden existir en más de una forma cristalina. A velocidades de enfriamiento muy bajas, la nucleación de monoglicéridos puede ocurrir tanto en las formas polimórficas α como β, las cuales pueden presentar diferentes características durante el proceso de gelificación. En cambio, a velocidades de enfriamiento rápidas, se ha demostrado que la cristalización de la mezcla fundida se produce solo en la forma α. De esta manera, la nucleación inicial en la forma polimórfica β durante el enfriamiento a baja velocidad puede conducir al desarrollo de la mayor parte de la dureza, con posterior evolución estructural en la forma α que contribuye levemente a la dureza de la red cristalina que compone el oleogel (Ojijo y col., 2004a).

Teniendo en cuenta que al enfriar la mezcla fundida a distintas condiciones de tiempo-temperatura se obtienen oleogeles con diferente historia térmica, y como se mencionó anteriormente, con diferente arreglo estructural, un estudio adicional se llevó a cabo para estimar el comportamiento reológico de los oleogeles cuando son sometidos a un proceso de calentamiento posterior. Para ello, se agregó un intervalo de calentamiento a 1 °C/min (correspondiente a la velocidad de enfriamiento que experimentan los oleogeles al comienzo del proceso), desde 5 hasta 70 °C, en el programa del reómetro descripto anteriormente. Para las muestras correspondientes a T_e igual a 17,5 y 30 °C, fue necesario incorporar un intervalo de enfriamiento a 1 °C/min desde T_e hasta 5 °C, con el objetivo de permitir que todas las

muestras comenzaran el test desde la misma temperatura, que corresponde a la temperatura de almacenamiento usada (5 °C). La Figura 3.15-C muestra la evolución del módulo elástico de las muestras, previamente obtenidas bajo diferentes perfiles de temperatura, y subsecuente calentamiento a la misma velocidad (1 °C/min). Si bien los valores de G' para los tres oleogeles fueron diferentes al comienzo del proceso de calentamiento (valor final del proceso de enfriamiento), todos mostraron un comportamiento general similar al incrementarse la temperatura: una disminución inicial en el valor de G', el cual pudo relacionarse con cambios en la organización de la red, seguido de un incremento en G' y posterior disminución abrupta correspondiente a la fundición del material. Es posible notar que el valor de G' es el mismo en un valor de temperatura de aproximadamente ~31 °C para las tres muestras, lo cual podría indicar que en esta condición no existen diferencias en la forma polimórfica presente en la estructura cristalina de las mismas. En este punto, parecería que las propiedades viscoelásticas de estos materiales no están influenciadas por su historia térmica. Sin embargo, los valores de G' difieren notablemente a 20 °C, temperatura en la que se usan normalmente los productos grasos que se desean sustituir, y esto es consistente con los resultados encontrados durante este trabajo. Los oleogeles se fundieron completamente cuando se alcanzó una temperatura de ~ 54 °C. Esta temperatura se correspondió con el punto de fusión del agente estructurante utilizado.

3.3.2.5.2 Microestructura

La microestructura de los oleogeles preparados en las condiciones de optimización 1 (O-1) fue estudiada utilizando las imágenes obtenidas con la técnica de microscopía óptica de luz polarizada; además, el estudio se amplió a otras condiciones de enfriamiento, utilizando los valores de C_{MG}, V_a y T_P correspondientes a O-1, con T_e de 5, 17,5 y 30 °C. Las micrografías obtenidas (Figura 3.16) muestran cristales de MG en forma de aguja agrupados de manera irregular. Las zonas más claras corresponden en algunos casos a los cristales de monoglicéridos, mientras en otros casos, éstos son identificados por las zonas más oscuras.

Resultados similares han sido reportados previamente en otras contribuciones en las que se usó Myverol como agente estructurante de otros tipos de aceites (Ojijo y col., 2004b; Rocha-Amador y col., 2014). Rocha-Amador y col. (2014) reportó la misma morfología en los cristales de MG formados en aceite de canola, maíz y soja, indicando que la microestructura de los cristales presentes en estos oleogeles no depende del tipo de aceite usado, sino más bien del tipo de agente estructurante.

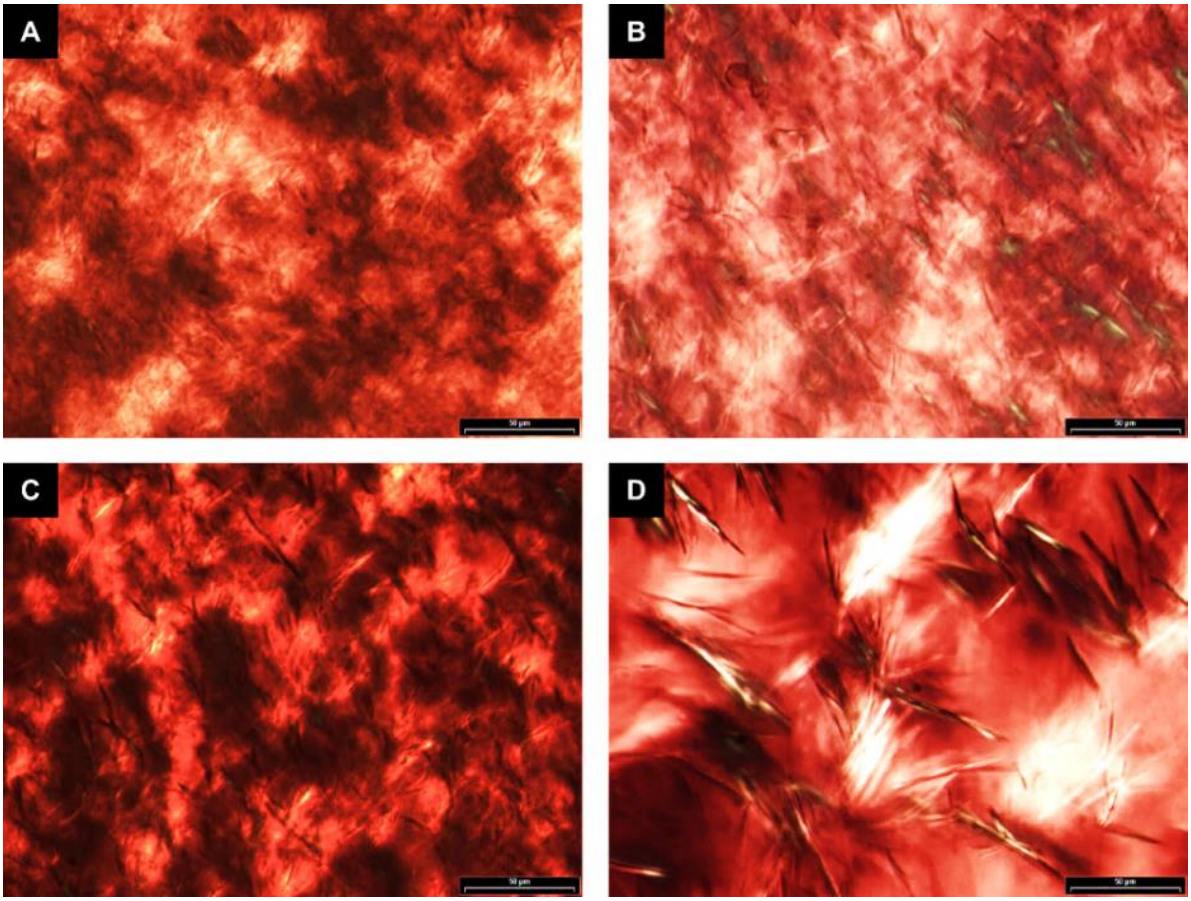


Figura 3.16. Imágenes microscópicas de oleogeles preparados en las condiciones de optimización (C_{MG} = 10 % p/p, V_a = 1000 rpm, T_p = 70 °C), para distintas temperaturas de enfriamiento (T_e): (A) 5 °C; (B) 17.5 °C; (C) 24 °C, y (D) 30 °C. La barra corresponde a 50 µm.

Es posible distinguir que en los oleogeles enfriados a la T_e más baja (Figura 3.16-A) se observan agregados de cristales más pequeños que en el resto de los oleogeles. A mayor T_e se detectó un aumento en el tamaño de los cristales y una estructura de red menos ramificada. Específicamente, en las imágenes correspondientes a T_e de 24 y 30 °C (Figuras

3.16-C y -D), las fases correspondientes a aceite y agregados de MG fueron claramente visibles debido a la mayor separación entre las mismas. Esto podría explicar el resultado encontrado en el análisis de OBC, ya que los valores más bajos de este parámetro se obtuvieron cuando el enfriamiento se llevó a cabo por encima de 19 °C, resultando la condición más desfavorable el enfriamiento a 30 °C.

En general, la mayoría de los agentes estructurantes dan lugar a oleogeles con estructuras asimétricas, es decir, estructuras que no crecen en igual grado en las tres dimensiones (Co y Marangoni, 2012). Debido a la estructura fibrilar (tipo aguja) observada en estos oleogeles, es posible afirmar que el crecimiento se restringió a una dimensión.

3.4. Diseño experimental 2 (DE2)

Al finalizar con la etapa de caracterización y optimización de oleogeles, fue necesario continuar el trabajo experimental utilizando un agente estructurante distinto (Myv-2) al utilizado hasta el momento (Myv-1), debido a la falta de disponibilidad de este último en el mercado. Dado que la composición del agente estructurante afecta las propiedades de los oleogeles, y por lo tanto modifica su funcionalidad, fue imprescindible repetir el diseño experimental para encontrar las condiciones óptimas de preparación al formular oleogeles con este nuevo estructurante.

En primer lugar, se procedió a verificar la concentración mínima de Myv-2 requerida para estructurar el aceite utilizado (GAO), de la misma manera que se explicó anteriormente (sección 3.2.1). Los resultados se muestran en la Figura 3.17. Las mezclas formuladas con concentraciones de MG de 0,5 y 1 %p/p mostraron comportamiento líquido, mientras que la concentración de 2 %p/p fue la necesaria para lograr la gelificación. Por lo tanto, la C_m determinada en esta mezcla fue de 2 %p/p.

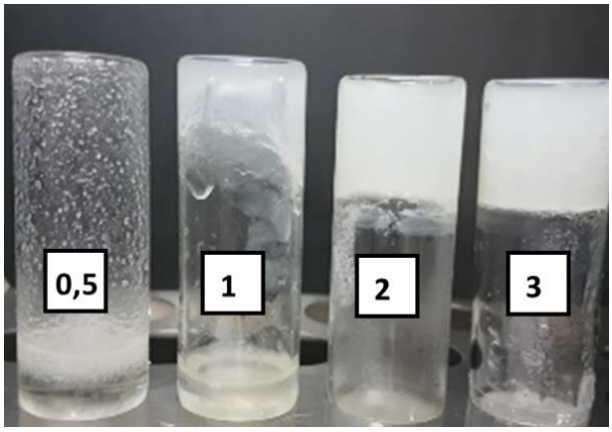


Figura 3.17. Determinación de la concentración mínima de Myv-2 requerida para estructurar aceite de girasol alto oleico. Los números indican la concentración de agente estructurante (% p/p) en la mezcla.

3.4.1 Metodología

Siguiendo con la misma metodología que en el estudio anterior (sección 3.3.1), se aplicó un diseño de experimentos Box-Behnken de tres niveles con tres factores y tres puntos centrales. Los factores seleccionados fueron los mismos que los tenidos en cuenta en el diseño anterior, a excepción de T_p que no se consideró como variable de preparación, con el objetivo de disminuir el número de factores en el DE, teniendo en cuenta que en el DE1 se observó que tanto las propiedades reológicas y de textura como la capacidad de retención de aceite de los oleogeles se modificaron levemente (< 2%) al variar este parámetro de preparación. Considerando el PF del agente estructurante usado en este DE, se fijó la T_p en un valor de 80 ºC. Los niveles de trabajo elegidos fueron: C_{MG} (4, 7, 10 %p/p), V_a (200, 600, 1000 rpm) y T_e (5, 17,5, 30 ºC). Se seleccionaron valores menores para C_{MG}, respecto al DE1, con el fin de evaluar la posibilidad de disminuir la cantidad de agente estructurante utilizada y así obtener un producto con mejor perfil nutricional. Las variables de respuesta consideradas fueron: OBC, las propiedades de textura: DU, AD y CO, y como parámetro reológico, G' (mediante el modelo de ajuste mencionado en el estudio anterior). Las diferentes combinaciones de niveles ensayados se muestran en la Tabla 3.9.

Tabla 3.9. Matriz de experimentos utilizada en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-2.

Factores Experimentales[a]	N[b]														
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
C_{MG} (%p/p)	4	4	10	7	7	7	7	7	10	7	4	7	10	4	10
V_a (rpm)	200	600	200	600	200	1000	600	1000	600	200	1000	600	1000	600	600
T_e (°C)	17,5	30,0	17,5	17,5	5,0	30,0	17,5	5,0	5,0	30,0	17,5	17,5	17,5	5,0	30,0

[a]C_{MG}: concentración de Myv-2; V_a: velocidad de agitación; T_e: temperatura de enfriamiento; [b]Número de experimento.

La preparación de los oleogeles se realizó siguiendo la metodología descripta anteriormente en la sección 2.3.3, con algunas modificaciones. Teniendo en cuenta que el proceso de gelificación del material, y por ende las propiedades finales el mismo, dependen de la velocidad de enfriamiento, la cual estará condicionada no solo por la temperatura del ambiente de enfriamiento sino también por el recipiente donde se encuentra contenido, se decidió utilizar un único recipiente para esta etapa del proceso. Por ello, las mezclas fundidas se colocaron en moldes rectangulares (largo 85 mm, ancho 54 mm, alto 35 mm), similares a los recipientes donde se envasa la MC (Figura 3.18), donde gelificaron a la T_e correspondiente en cada caso (bajo condiciones estáticas); posteriormente se almacenaron en heladera a 5 ºC durante 24 h.

Figura 3.18. Molde rectangular utilizado en la preparación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-2.

Todas las propiedades se midieron de acuerdo a la metodología explicada en las secciones anteriores, con la modificación de que el material a analizar se tomó desde el recipiente rectangular donde se formó.

3.4.1.1 Optimización multirespuesta

Con el mismo objetivo que en el DE1, se llevó a cabo una optimización multirespuesta. En la primera optimización (O-1) se procedió de la misma manera que en el DE1 (sección 3.3.1.1), mientras que en la segunda optimización (O-2) se agregó la restricción de minimizar la concentración de Myv-2. (C_{MG}).

3.4.2 Resultados correspondientes al DE2

En la Tabla 3.10 se muestran los valores promedio de las variables de respuesta obtenidos para cada experimento junto con los valores correspondientes predichos por cada modelo.

Tabla 3.10. Variables de respuesta obtenidas en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-2.

N[a]	Variables de Respuesta[b]													
	log G_0' (Pa)		$m_{G'}$ (Pa.s)		n		OBC (%p/p)		DU (N)		AD (N.s)		CO	
1	3,92	(3,91)	0,045	(0,040)	0,63	(0,64)	79,50	(78,42)	0,28	(0,57)	0,59	(1,05)	0,49	(0,45)
2	3,70	(3,71)	0,041	(0,046)	0,91	(0,89)	81,93	(80,08)	0,22	(0,16)	0,64	(0,34)	0,53	(0,55)
3	4,85	(4,84)	0,049	(0,054)	1,15	(1,15)	91,17	(90,63)	2,63	(2,48)	4,11	(3,66)	0,25	(0,26)
4	4,56	(4,60)	0,046	(0,047)	0,73	(0,74)	90,21	(90,36)	1,41	(1,52)	2,81	(2,70)	0,31	(0,34)
5	4,36	(4,38)	0,077	(0,076)	0,85	(0,84)	95,88	(97,32)	0,83	(0,82)	1,63	(1,98)	0,29	(0,28)
6	4,25	(4,23)	0,056	(0,053)	0,84	(0,85)	88,04	(88,47)	0,77	(0,80)	2,23	(1,99)	0,41	(0,39)
7	4,65	(4,60)	0,046	(0,047)	0,73	(0,74)	91,22	(90,36)	1,50	(1,52)	3,09	(2,70)	0,31	(0,34)
8	4.46	(4,46)	0,072	(0,076)	0,85	(0,85)	96,38	(94,33)	0,64	(0,83)	1,48	(1,74)	0,33	(0,30)
9	4,76	(4,75)	0,085	(0,083)	1,31	(1,33)	96,70	(98,15)	1,70	(1,78)	3,07	(2,70)	0,27	(0,26)
10	4,36	(4,36)	0,054	(0,053)	0,79	(0,79)	90,51	(91,47)	0,83	(0,79)	2,06	(2,23)	0,39	(0,37)
11	3,88	(3,89)	0,042	(0,041)	0,78	(0,78)	71,65	(75,42)	0,31	(0,57)	0,73	(0,81)	0,49	(0,47)
12	4,60	(4,60)	0,046	(0,047)	0,74	(0,74)	90,43	(90,36)	1,68	(1,52)	2,73	(2,70)	0,30	(0,34)
13	4,80	(4,81)	0,057	(0,054)	1,10	(1,08)	89,00	(87,64)	2,87	(2,48)	2,98	(3,42)	0,26	(0,28)
14	3,66	(3,64)	0,070	(0,069)	0,55	(0,55)	79,68	(78,84)	0,12	(0,13)	0,33	(0,09)	0,35	(0,38)
15	4,41	(4,43)	0,061	(0,060)	0,94	(0,93)	84,75	(85,20)	1,37	(1,75)	2,59	(2,96)	0,29	(0,28)
MC[c]	4,54 ± 0,01		0,060 ± 5·10^{-3}		0,65 ± 0,03		-[e]		1,60 ± 0,15		5,37 ± 0,29		0,58 ± 0,04	
O-1[d]	4,54	(4,55)	0,050	(0,050)	0,84	(0,84)	88,60	(90,37)	1,60	(1,60)	2,81	(2,81)	0,33	(0,28)
O-2[d]	4,54	(4,57)	0,050	(0,050)	0,73	(0,85)	90,94	(90,97)	1,39	(1,33)	2,63	(2,81)	0,34	(0,33)

[a]Número de experimento; [b]Valor experimental (valor predicho por el modelo correspondiente); [c]MC, Materia grasa comercial; [d]O, Optimización; [e] -, No determinado.

Los coeficientes de cada modelo (B), indicados en sus variables actuales, y la significancia estadística de los términos de cada modelo, junto con los coeficientes estadísticos, se presentan en la Tabla 3.11.

Tabla 3.11. Coeficientes del modelo cuadrático para cada variable de respuesta del Diseño Experimental 2, su significancia estadística y los coeficientes estadísticos correspondientes.

Coeficientes del Modelo[a]	Variables de respuesta[b]						
	OBC (%p/p)	DU (N)	CO	AD (N.s)	log G_0' (Pa)	$m_{G'}$ (Pa.s)	n
B_0	$3{,}59\cdot10^{1}$	-2,090	$5{,}22\cdot10^{-1}$	-4,261	1,442	$8{,}10\cdot10^{-2}$	$4{,}25\cdot10^{-1}$
$B_{C_{MG}}$	$1{,}59\cdot10^{1}$***	$3{,}18\cdot10^{-1}$***	$-6{,}2\cdot10^{-2}$***	1,155***	$5{,}62\cdot10^{-1}$***	$2{,}25\cdot10^{-3}$**	$-3{,}00\cdot10^{-2}$***
B_{Va}	$-3{,}75\cdot10^{-3}$*	$8{,}75\cdot10^{-6}$*	$2{,}50\cdot10^{-5}$*	$-3{,}03\cdot10^{-4}$*	$2{,}46\cdot10^{-4}$*	$6{,}25\cdot10^{-7}$*	$-9{,}58\cdot10^{-7}$**
B_{Te}	$-1{,}41\cdot10^{-1}$**	$1{,}59\cdot10^{-1}$*	$1{,}1\cdot10^{-2}$**	$1{,}69\cdot10^{-1}$*	$7{,}3\cdot10^{-2}$**	$-4{,}78\cdot10^{-3}$***	$2{,}00\cdot10^{-2}$*
$B_{C_{MG}\text{-}Va}$	-	-	-	-	$-2{,}47\cdot10^{-6}$*	-	$-4{,}42\cdot10^{-5}$**
$B_{C_{MG}\text{-}Te}$	$-9{,}50\cdot10^{-2}$**	-	$-1{,}06\cdot10^{-3}$**	-	$-2{,}62\cdot10^{-3}$**	-	$-4{,}91\cdot10^{-3}$***
$B_{C_{MG}\text{-}Te}$	-	-	-	-	$-1{,}09\cdot10^{-5}$**	-	$2{,}40\cdot10^{-6}$*
$B_{C_{MG}^2}$	$-8{,}15\cdot10^{-1}$***	-	$3{,}44\cdot10^{-3}$*	$-5{,}1\cdot10^{-2}$*	$-2{,}6\cdot10^{-2}$***	-	$1{,}5\cdot10^{-2}$***
B_{Va^2}	-	-	-	-	$-5{,}79\cdot10^{-8}$*	-	$2{,}63\cdot10^{-7}$**
B_{Te^2}	$1{,}60\cdot10^{-2}$**	$-4{,}58\cdot10^{-3}$**	-	$-4{,}55\cdot10^{-3}$**	$-1{,}52\cdot10^{-3}$***	$1{,}10\cdot10^{-4}$***	$3{,}46\cdot10^{-4}$**
Estadística[c]							
R^2	0,954	0,924	0,931	0,917	0,997	0,954	0,998
R^2adj	0,920	0,893	0,893	0,871	0,993	0,935	0,993
R^2pred	0,787	0,805	0,782	0,749	0,981	0,881	0,962
AP	16,599	16,612	15,758	13,933	44,263	21,021	57,133

[a]C_{MG}, concentración de Myv-2; V_a, velocidad de agitación; T_e, temperatura de enfriamiento. [b]log G_0', $m_{G'}$ y n, parámetros del modelo del módulo elástico (G'); OBC, capacidad de retención de aceite; DU, dureza; AD, adhesividad; CO, cohesividad. [c]R^2, R-cuadrado; R^2adj, R-cuadrado ajustado; R^2pred, R-cuadrado predicho; AP, precisión adecuada. Significancia estadística de los términos del modelo: ***p ≤ 0,0001; **0,0001 < p ≤ 0,05; *p > 0,05.

Los valores obtenidos de R^2 (> 0,91) demostraron que el comportamiento de los datos experimentales fue ajustado adecuadamente por los modelos desarrollados. Además, es posible afirmar que los modelos matemáticos obtenidos a partir del DE son herramientas adecuadas para describir el comportamiento de las variables de respuesta en todo el rango estudiado (p < 0,0001) en función de los coeficientes R^2adj y R^2pred (diferencia < 20%) y los valores de AP (> 13,9). En general, los resultados obtenidos mostraron que C_{MG} y T_e fueron los factores más significativos sobre cada respuesta analizada.

3.4.2.1 Módulo elástico

Como resultado de los ensayos de barrido de frecuencia, se encontró que todos los oleogeles formulados presentan un comportamiento de tipo gel, al igual que en el DE1 (sección 3.3.2.3). Los datos experimentales G' se ajustaron correctamente mediante la Ec. (2.2), ya que todos los ajustes presentaron valores de R^2 superiores a 0,98. Los valores para los parámetros de este modelo, log G_0', $m_{G'}$ y n, obtenidos para cada condición de preparación de oleogel, se muestran en la Tabla 3.10. Con respecto al parámetro log G_0', C_{MG} y T_e fueron los factores que mostraron mayor influencia, seguidos por las interacciones C_{MG}*T_e y V_a*T_e en menor medida (Tabla 3.11). Los valores más altos de log G_0' (materiales con mayor elasticidad) se obtuvieron usando el mayor contenido de MG y preferentemente T_e por debajo de 25 °C (Figura 3.19-A). Debido a que el parámetro log G_0' está directamente asociado a la magnitud de G', puede deducirse que esas condiciones de preparación conducen a la obtención de materiales con mayor elasticidad.

Con respecto a los parámetros $m_{G'}$ y n (correspondientes al modelo log G'), el modelo de regresión para representar $m_{G'}$ mostró que T_e fue el factor más significativo y C_{MG} en menor grado. En el caso de n, C_{MG} y C_{MG}*T_e fueron los términos más significativos, seguidos de V_a, T_e y C_{MG}*V_a. Teniendo en cuenta que ambos parámetros indican la dependencia de G' con ω, y que los valores encontrados fueron bajos, se puede afirmar que todos los oleogeles obtenidos mostraron leve dependencia con ω. En la figura 3.19-B se observa que los valores más altos de $m_{G'}$ se obtuvieron con la concentración de MG más alta y la temperatura de enfriamiento más baja, lo que coincidió con el comportamiento observado en el parámetro n. En comparación, los oleogeles obtenidos a partir de Myv-1 y aceite GAO, preparados en condiciones similares en el estudio anterior (Diseño Experimental 1), mostraron valores similares de log G_0' y valores superiores de $m_{G'}$, lo cual indica que los oleogeles obtenidos a partir de Myv-2 presentan una red cristalina más estable y fuerte. Por último, es importante destacar que, en base a los valores obtenidos en los parámetros del modelo reológico y su comparación con los correspondientes a la materia grasa comercial analizada, puede inferirse

que sería posible desarrollar un material capaz de asemejarse a este producto semisólido bajo las condiciones experimentales exploradas en este trabajo.

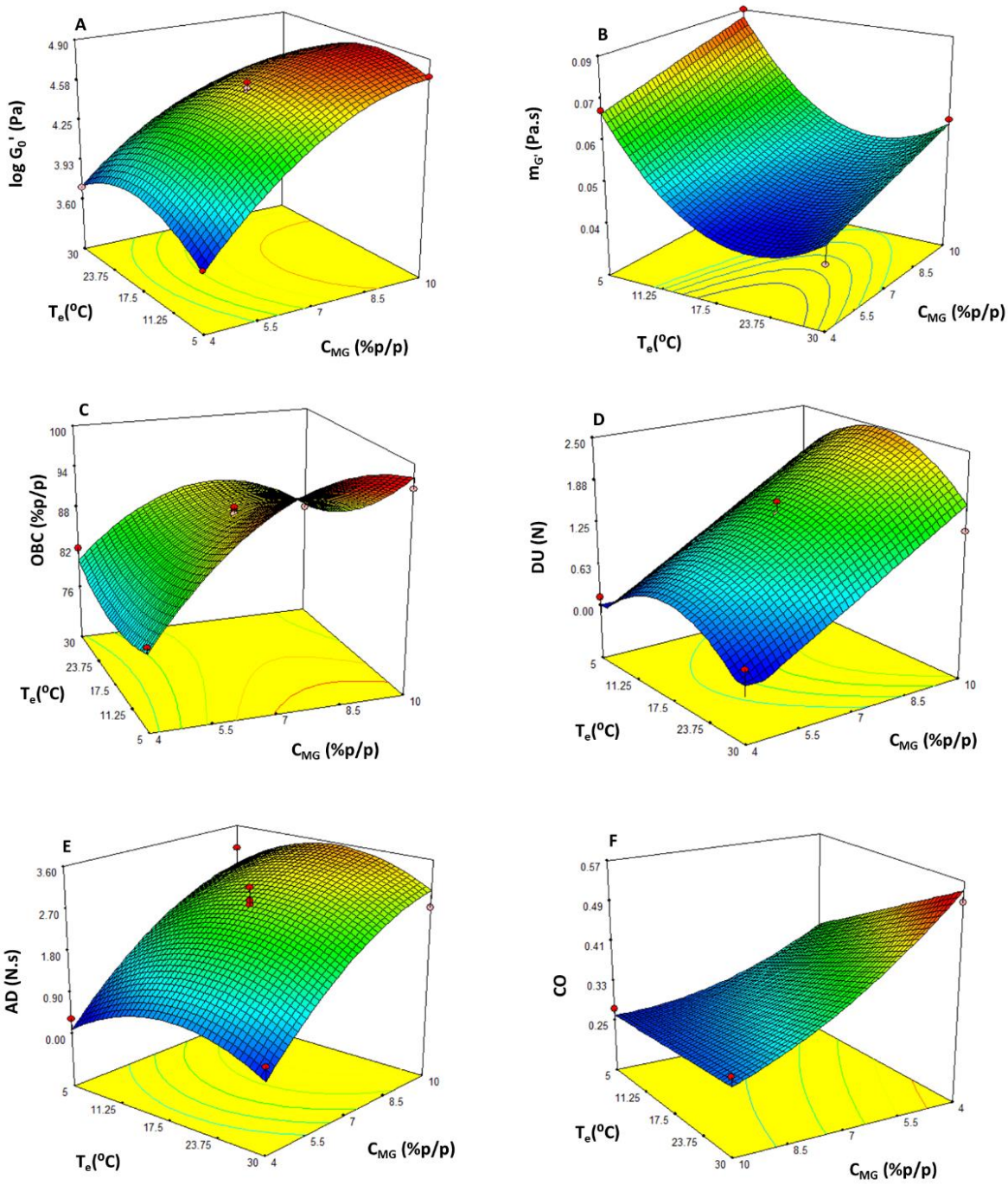


Figura 3.19. Superficies de respuesta correspondientes a (A) log G_0'; (B) $m_{G'}$; (C) OBC, capacidad de retención de aceite; (D) DU, dureza; (E) AD, adhesividad; (F) CO, cohesividad. Efecto de la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y la temperatura de enfriamiento (T_e). Velocidad de agitación fija en el punto central.

3.4.2.2 Capacidad de retención de aceite

Todos los oleogeles mostraron altos valores de OBC (71,65% - 96,70%) (Tabla 3.10), lo que demuestra que la red cristalina formada por los MG de la mezcla de Myv-2 proporciona altos niveles de estructuración y estabilización del aceite. De acuerdo al valor p, C_{MG} fue el factor más significativo en esta respuesta, seguido por T_e y la interacción C_{MG}*T_e, mientras que V_a no resultó ser un factor significativo (Tabla 3.11). El valor máximo de OBC se alcanzó usando prácticamente el valor de C_{MG} más alto (~ 9 %p/p) y la T_e más baja (Figura 3.19-C). Desde un punto de vista estructural, esto significaría que la utilización de una temperatura de enfriamiento más baja (que conduce a un enfriamiento más rápido) habría generado una red de cristales homogéneos y pequeños que resultó más efectiva a altas concentraciones de MG, proporcionando una red cristalina con mayor área que impide la migración de aceite. La influencia de la velocidad de enfriamiento se evidenció en mayor medida a altos niveles de C_{MG}. Blake y Marangoni (2015) reportaron un resultado similar en el estudio de la velocidad de enfriamiento de oleogeles de cera. En términos generales, los valores de OBC obtenidos con oleogeles de Myv-2 resultaron levemente inferiores a los encontrados usando oleogeles de Myv-1, pero no es posible atribuir esta diferencia a la composición química de la mezcla de monoglicéridos usada, ya que la técnica de preparación empleada para determinar OBC fue diferente (sección 2.2.3 y 2.3.4.1).

3.4.2.3 Propiedades de textura

En lo que se refiere a los parámetros de textura, los valores de dureza de los oleogeles oscilaron entre 0,12 y 2,87 N (Tabla 3.10), lo que significa que algunos materiales resultaron más duros que la materia grasa comercial (DU = 1,60 N). El ANOVA indicó que los factores significativos sobre DU fueron C_{MG} y T_e (Tabla 3.11). Para todo el rango de temperatura de enfriamiento analizado, se encontró que DU aumentó linealmente con el aumento de la concentración de MG (Figura 3.19-D), lo que se relacionaría con el aumento del número de

cristales que constituyen la red de gel. Además, se identificó una temperatura de enfriamiento óptima que permitió la obtención de oleogeles con mayor dureza (T_e ~ 17,5 °C). En relación con los parámetros de adhesividad y cohesividad de los oleogeles, los valores encontrados resultaron inferiores a los del producto comercial elegido para la comparación, al igual que en el estudio anterior. El parámetro AD presentó los mismos factores significativos que DU, así como una tendencia similar cuando estos parámetros cambiaron (Figura 3.19-E). Con respecto al parámetro CO, además de C_{MG} y T_e, la interacción C_{MG}*T_e demostró ser significativa. Los oleogeles preparados usando la cantidad más alta de Myv-2 mostraron valores de CO que no cambiaron significativamente con los cambios en la temperatura de enfriamiento usada (Figura 3.19-F). Por otra parte, esta respuesta se maximizó usando la temperatura de enfriamiento más alta y la concentración de MG más baja. Este efecto opuesto generado por la concentración de MG en la cohesividad y en la dureza también se encontró en los oleogeles de Myv-1 y aceite GAO. Sobre cada respuesta de textura, la velocidad de agitación no fue un factor significativo.

3.4.2.4 Optimización multirespuesta (Diseño Experimental 2)

Las condiciones óptimas de preparación obtenidas mediante la optimización multirespuesta implementada en el DE2 fueron C_{MG} = 8,06 %p/p, V_a = 1000 rpm y T_e = 25 ºC para O-1, y C_{MG} = 6,60 %p/p, V_a = 200 rpm y T_e = 17,5 ºC, para O-2. Las propiedades de los oleogeles preparados en estas condiciones se muestran en la Tabla 3.10. Dado que los valores experimentales, obtenidos de ensayos independientes, concuerdan con los valores predichos, es posible asegurar la validez de los modelos desarrollados en el rango bajo estudio. Al comparar las propiedades de estos materiales con las de la materia grasa comercial analizada, puede observarse que a partir de O-1 es posible alcanzar el mismo valor de DU y log G_0', mientras que empleando las condiciones de O-2 se tiene un valor de DU levemente menor, pero permite obtener un material con una capacidad de retención de aceite mayor. Debido a que tanto O-1 como O-2 presentan características atractivas desde distintos

puntos de vista, O-1 permite trabajar con temperatura de enfriamiento ambiente mientras que O-2 posibilita el uso de menor concentración de MG, ambas se consideraron para evaluar la incorporación de los oleogeles en las magdalenas (Capítulo 4).

Resulta importante mencionar que los oleogeles obtenidos mediante las correspondientes optimizaciones presentaron una reducción en su contenido de grasa saturada de aproximadamente 37% en comparación con el determinado en la materia grasa comercial, cumpliendo con uno de los principales objetivos propuestos en este trabajo: el desarrollo de productos con funcionalidad similar a las grasas saturadas y *trans* que sean beneficiosos desde el punto de vista nutricional.

3.5 Conclusiones

En el presente trabajo se formularon oleogeles a partir de distintos aceites vegetales y monoglicéridos con el objetivo de estudiar la influencia del tipo de aceite empleado en la formulación en las propiedades reológicas y de textura de los oleogeles obtenidos, además de la capacidad de retención de aceite. El aceite de girasol alto oleico fue el que requirió la menor concentración de monoglicéridos para lograr la gelificación, además de lograr el valor de dureza y la capacidad de retención de aceite mayores.

Los diseños de experimentos aplicados, uno por cada estructurante utilizado, permitieron analizar la influencia de las condiciones de preparación de los oleogeles de aceite de girasol alto oleico y monoglicéridos sobre su capacidad de retención de aceite y sus principales parámetros reológicos y de textura. Además, en ambos casos se determinó, mediante una metodología de optimización multirespuesta, las condiciones que permiten obtener un material con características similares a la materia grasa comercial seleccionada.

En ambos diseños experimentales, los resultados obtenidos indican que la concentración de agente estructurante y la temperatura de enfriamiento son los parámetros de preparación que mayor influencia presentan sobre las propiedades finales de los

oleogeles. Por lo tanto, modificando dichos parámetros dentro del dominio experimental estudiado es posible obtener materiales con distinta funcionalidad.

Al incrementarse la concentración de monoglicéridos, se observó un aumento en el valor absoluto de todas las propiedades mecánicas, a excepción de la cohesividad. Respecto de la temperatura de enfriamiento, las propiedades de textura mostraron en general los valores más bajos al seleccionarse el menor valor, lo cual se asocia a una mayor velocidad de enfriamiento. Las condiciones de preparación que generaron oleogeles con el valor más alto de G', es decir, materiales que presentaron la mayor elasticidad, también produjeron oleogeles con la mayor η* encontrada (mayor resistencia a la deformación). Además, todas las formulaciones realizadas presentaron una alta capacidad de retención de aceite. Los oleogeles que presentaron esta propiedad en su mayor valor fueron obtenidos usando concentraciones de monoglicéridos de aproximadamente 10 % p/p y temperaturas de enfriamiento moderadas. Contrariamente, una baja velocidad de enfriamiento causada por un menor gradiente de temperatura produjo una red cristalina con una retención de aceite más baja.

En cuanto a la evaluación del potencial de los oleogeles como sustitutos de las materias grasas comerciales altas en saturados y/o *trans*, se observó que es posible obtener, mediante condiciones optimizadas, un valor de dureza muy similar al del producto comercial seleccionado, además de presentar alta retención de aceite. Sin embargo, los valores de adhesividad y cohesividad resultaron ser más bajos. Por lo tanto, se puede concluir que los objetivos de la optimización multirespuesta fueron cumplidos casi en su totalidad. Los oleogeles producidos empleando los 2 conjuntos de condiciones de preparación, obtenidos del proceso de optimización, mostraron propiedades atractivas desde distintos puntos de vista, permitiendo en un caso, reducir la cantidad de agente estructurante utilizada, minimizando así la proporción de grasa saturada contenida en la formulación, y posibilitando, en el otro caso, el procesamiento a temperaturas cercanas a la ambiente, y su consecuente reducción en el consumo energético. Por lo tanto, ambos oleogeles optimizados se

consideraron para su evaluación como como sustitutos de la materia grasa comercial, en un producto testigo, presentada en el próximo capítulo de esta tesis.

Resulta importante destacar que los oleogeles obtenidos mediante las correspondientes optimizaciones presentaron una reducción en su contenido de grasa saturada de al menos 29% en comparación con la materia grasa comercial, cumpliendo con uno de los principales objetivos propuestos en este trabajo: el desarrollo de productos sustitutos a las grasas de origen industrial que sean beneficiosos desde el punto de vista nutricional.

El trabajo que se detalla en este capítulo fue divulgado a través de las siguientes publicaciones científicas:

- Palla, C., Giacomozzi, A., Genovese, D. B., y Carrín, M. E. (2017). Multi–objective optimization of high oleic sunflower oil and monoglycerides oleogels: Searching for rheological and textural properties similar to margarine. *Food structure, 12*, 1-14.
- Giacomozzi, A. S., Carrín, M. E., y Palla, C. A. (2018). Muffins Elaborated with Optimized Monoglycerides Oleogels: From Solid Fat Replacer Obtention to Product Quality Evaluation. *Journal of food science, 83*(6), 1505-1515.

3.6 Referencias

Alexa, R. I., Mounsey, J.S., O'Kennedy, B.T. y Jacquier, J. (2010). Effect of κ-carrageenan on rheological properties, microstructure, texture and oxidative stability of water-in-oil spreads. *LWT-Food Science and Technology, 43*, 843-848.

Blake, A. I. y Marangoni, A. G. (2015). The Use of Cooling Rate to Engineer the Microstructure and Oil Binding Capacity of Wax Crystal Networks. *Food Biophysics, 10*, 456-465.

Bourne, M. C. (2002). Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. Academic Press, San Diego.

Candioti, L. V., De Zan, M. M., Camara, M. S., y Goicoechea, H. C. (2014). Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta, 124*, 123-138.

Co, E. D. y Marangoni, A. G. (2012). Organogels: An Alternative Edible Oil-Structuring Method. Journal of the American Oil Chemists' Society, 89, 749-780.

Da Pieve, S., Calligaris, S., Co, E., Nicoli, M. C. y Marangoni, A. G. (2010). Shear Nanostructuring of Monoglyceride Organogels. *Food Biophysics, 5*, 211-217.

Da Pieve, S., Calligaris, S., Panozzo, A., Arrighetti, G., y Nicoli, M. C. (2011). Effect of monoglyceride organogel structure on cod liver oil stability*. Food Research International, 44*(9), 2978-2983.

Emadzadeh, B., Razavi, S. M. y Schleining, G. (2013). Dynamic rheological and textural characteristics of low-calorie pistachio butter. *International Journal of Food Properties, 16*, 512-526.

Ferreira, S. C., Bruns, R. E., Ferreira, H. S., Matos, G. D., David, J. M., Brandao, G. C., ... y Dos Santos, W. N. L. (2007). Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica chimica acta, 597*(2), 179-186.

Ferro, A. C., Okuro, P. K., Badan, A. P., y Cunha, R. L. (2019). Role of the oil on glyceryl monostearate based oleogels. *Food Research International, 120*, 610-619.

Garti, N. y Satō, K. (2001). Crystallization processes in fats and lipid systems. Marcel Dekker.

Hasenhuettl, G. L., y Hartel, R. W. (2008). Food emulsifiers and their applications (Vol. 19). New York: Springer.

Kesselman, E. y Shimoni, E. (2007). Imaging of Oil/Monoglyceride Networks by Polarizing Near-Field Scanning Optical Microscopy. *Food Biophysics, 2*, 117-123.

López-Martínez, A., Morales-Rueda, J. A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M. A., Marangoni, A. G. y Toro-Vazquez, J. F. (2014). Comparing the crystallization and rheological

behavior of organogels developed by pure and commercial monoglycerides in vegetable oil. *Food Research International, 64*, 946-957.

Montgomery, D. C. (2005). Design and Analysis of Experiments. EEUU, John Wiley & Sons, Inc.

Ojijo, N. K. O., Neeman, I., Eger, S. y Shimoni, E. (2004a). Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 84*, 1585-1593.

Ojijo, N. K. O., Kesselman, E., Shuster, V., Eichler, S., Eger, S., Neeman, I. y Shimoni, E. (2004b). Changes in microstructural, thermal, and rheological properties of olive oil/monoglyceride networks during storage. *Food Research International, 37*, 385-393.

Patel, A. R., Schatteman, D., De Vos, W. H., Lesaffer, A., y Dewettinck, K. (2013). Preparation and rheological characterization of shellac oleogels and oleogel-based emulsions. *Journal of colloid and interface science, 411*, 114-121.

Pernetti, M., van Malssen, K. F., Flöter, E. y Bot, A. (2007). Structuring of edible oils by alternatives to crystalline fat. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, 12*, 221-231.

Rocha-Amador, O. G., Gallegos-Infante, J. A., Huang, Q., Rocha-Guzman, N. E., Moreno-Jimenez, M. R. y Gonzalez-Laredo, R. F. (2014). Influence of Commercial Saturated Monoglyceride, Mono-/Diglycerides Mixtures, Vegetable Oil, Stirring Speed, and Temperature on the Physical Properties of Organogels. *International Journal of Food Science, 2014*, 513641.

Sagiri, S. S., Singh, V. K., Pal, K., Banerjee, I., y Basak, P. (2015). Stearic acid based oleogels: a study on the molecular, thermal and mechanical properties. *Materials Science and Engineering: C, 48*, 688-699.

Toro-Vazquez, J. F., Morales-Rueda, J. A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M., Alonzo-Macias, M., y González-Chávez, M. M. (2007). Thermal and textural properties of organogels developed by candelilla wax in safflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 84*(11), 989-1000.

Yilmaz, E., y Ögütcü, M. (2014). Properties and Stability of Hazelnut Oil Organogels with Beeswax and Monoglyceride. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 91*, 1007-1017.

Capítulo

4

FORMULACIÓN DE MAGDALENAS CON OLEOGELES

4.1 Introducción

Los shortenings son grasas comestibles que desempeñan un rol fundamental en la textura de productos de panadería (Jang y col., 2015). Son ingredientes que colaboran en la formación de la estructura y geometría de los productos finales, como así también en la incorporación de aire, transferencia de calor y aumento de la vida útil (Ghotra y col., 2002). Si bien los shortenings son las grasas de preferencia en las formulaciones de productos de repostería, estos generalmente tienen cantidades significativas de grasas saturadas y *trans*. Como se mencionó en el Cap. 1, en los últimos años, la ingesta de este tipo de grasas ha sido asociada con efectos negativos en la salud, impulsando a la industria alimentaria a buscar nuevos productos con características físicas y funcionales similares pero que resulten saludables (Dhaka y col., 2011; Co y Marangoni, 2012). Además, la creciente conciencia sobre el vínculo entre la dieta y la salud ha conducido a incrementar la demanda por parte de los consumidores de alimentos con niveles reducidos de grasa. El desarrollo de formulaciones de oleogeles, elaborados a partir de aceites vegetales en conjunto con otros componentes o aditivos naturales, podría generar alimentos reducidos en grasas saturadas. Estos oleogeles no solo permiten tener menor cantidad de estas grasas, sino que también pueden cumplir con la función de mejorar propiedades texturales en los productos donde se utilicen, cumpliendo así con la funcionalidad de las grasas que se desean reemplazar. Además, como se mencionó

anteriormente, estos materiales han sido propuestos como posibles inhibidores de la migración de aceite en productos alimenticios (Hughes y col., 2009; Co y Marangoni, 2012). El estudio de su aplicación como sustitutos de la materia grasa comúnmente utilizada en productos que requieren tratamientos térmicos para su elaboración, como lo son los productos de panadería, resulta de especial interés debido a que la elaboración de oleogeles, en particular los formulados con monoglicéridos, implica la combinación de procesos de calentamiento y enfriamiento para la formación de una red cristalina, por lo cual su comportamiento durante el proceso de cocción de dichos productos podría generar cambios en su estructura y funcionalidad.

Durante los últimos años, la aplicación de oleogeles, principalmente a base de ceras, ha sido estudiada en productos de panadería dulces (Patel y col., 2014; Jang y col., 2015; Yilmaz y Öğütcü, 2015a; Mert y Demirkesen, 2016; Lim y col., 2017). En menor medida, algunos autores han evaluado la incorporación de oleogeles compuestos por monoglicéridos y distintos aceites vegetales en productos de panadería (Manzocco y col., 2012; Calligaris y col., 2013). Manzocco y col. (2012) evaluaron la incorporación de oleogeles a base de monoglicéridos y aceite de girasol en pan lactal, como sustitutos del aceite de palma. En base a los resultados obtenidos en ese trabajo, concluyeron que la formulación de pan lactal con oleogeles de monoglicéridos favoreció la formación de una matriz estructural que presentó mejor distribución de la materia grasa con los demás ingredientes, mejorando además la estabilidad oxidativa del producto final. Calligaris y col. (2013) analizaron la aplicación de hidrogeles y oleogeles de monoglicéridos y aceite de girasol como una alternativa al aceite de palma en la elaboración de pan dulce, con el objetivo de reducir el contenido total de grasa saturada. En el caso de la incorporación del hidrogel, se logró la obtención de un producto con una reducción del contenido de grasa saturada total de aproximadamente 81 % p/p que presentó características comparables al producto de referencia. Este resultado fue atribuido a la capacidad de los cristales de monoglicéridos, en presencia de agua, para favorecer la dispersión del aceite sobre la harina, reemplazando así la funcionalidad típica de las redes cristalinas de triglicéridos con alto nivel de saturación. Por el contrario, al incorporar el oleogel

en la formulación, se obtuvo un producto con menor capacidad leudante y mayor dureza, en comparación con el pan dulce formulado con aceite de palma. En este caso, los autores sugirieron que los monoglicéridos probablemente estuvieron involucrados mayoritariamente en la formación de la red cristalina que “atrapa” el aceite y, por lo tanto, mostraron menor disponibilidad para interactuar con otros ingredientes y ejercer así sus propiedades emulsificantes.

Una alternativa saludable en la elaboración de productos panificados es la sustitución de la grasa saturada por aceites vegetales ricos en ácidos grasos poliinsaturados. Sin embargo, esta sustitución puede dar lugar a productos con aspecto excesivamente oleoso y baja estabilidad debido a la oxidación (Jang y col., 2015). Onacik-Gür y col. (2015) evaluaron el reemplazo de la materia grasa comercial (control) utilizada en la formulación de galletas por aceite de girasol alto oleico y, por otro lado, por este aceite más la incorporación de aditivos (inulina, β-glucano, lecitina). Los aditivos tuvieron un impacto positivo en el crecimiento del volumen del producto en comparación con las galletas elaboradas solo con aceite, si bien el volumen fue menor al logrado en las galletas con materia grasa comercial. La dureza de las galletas con aceite fue mayor que la de las galletas correspondientes al Control, excepto con los productos donde se había añadido lecitina. Al reemplazar la grasa con aceite el color oscureció y la diferencia total de color (ΔE*) fue significativamente diferente en comparación con la muestra Control. La mayor migración de grasa fue en los productos en los cuales se utilizó aceite sin aditivos. En base a la evaluación sensorial, la muestra que presentó mayor similitud con la Control resultó ser la correspondiente a las galletas formuladas con aceite, inulina y lecitina. En conclusión, la adición de lecitina tuvo un efecto positivo en la calidad del producto, principalmente disminuyendo su dureza y aumentando su volumen. Las galletas formuladas con inulina y lecitina (sin β-glucano) mostraron propiedades similares, en general, a las correspondientes a las galletas elaboradas con la materia grasa comercial, excepto en su dureza, por lo cual los autores indicaron que se necesitan estudios adicionales para obtener galletas formuladas con aceite y aditivos como sustitutos de materia grasa que permitan mejorar la calidad y las propiedades nutricionales de este producto.

En la literatura existe información limitada acerca del uso de oleogeles de MG como sustitutos de las grasas sólidas en productos de panadería, y de su efecto en los atributos de calidad de estos productos. En particular, el reemplazo de la materia grasa tradicionalmente usada en la elaboración de magdalenas resulta de gran interés ya que estos productos se caracterizan por presentar alto contenido de grasa sólida; son productos de panadería dulces altamente valorados por los consumidores debido a su estructura esponjosa y buen sabor, en los cuales la naturaleza y cantidad de los ingredientes usados en su formulación determinan su calidad (Martínez-Cervera y col., 2013).

Uno de los desafíos más importantes en el reemplazo de la materia grasa de un alimento es la obtención de alternativas con características organolépticas aceptables por parte de los consumidores (Jang y col., 2015). El análisis sensorial es la evaluación de las propiedades organolépticas (apariencia, olor, sabor y textura) de un alimento llevado a cabo con los sentidos humanos. Es decir, intenta aislar las propiedades sensoriales u organolépticas de los alimentos o productos en sí mismos y aporta información muy útil para su desarrollo o mejora, aspectos claves para el diseño de nuevos productos o la introducción de alternativas a productos ya existentes. Si se realiza desde la etapa del diseño del producto, permite determinar las especificaciones de acuerdo a las expectativas y necesidades del mercado y, por consiguiente, detectar factores críticos para lograr la aceptación del consumidor (van Kleef y col., 2005). Por otro lado, además de obtener información acerca de la valoración de un producto por parte de los consumidores, es posible conocer cuáles son las características que tienen mayor influencia en la selección de un producto sobre otro en el mercado. Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, el análisis sensorial de las magdalenas formuladas con oleogeles como sutitutos grasos es de suma importancia ya que incorpora la opinión del consumidor respecto a la calidad del producto. De este modo, el análisis sensorial de magdalenas resulta tan importante como sus correspondientes análisis fisicoquímicos y microbiológicos. El conjunto de todos estos análisis define la calidad de este producto alimenticio (Picallo, 2009).

En base a lo expuesto anteriormente, resulta de interés evaluar la sustitución de la materia grasa sólida que suele emplearse en la formulación de magdalenas con oleogeles de monoglicéridos y aceite de girasol alto oleico, como estrategia para obtener un producto con un perfil nutricional mejorado. Es por ello que el objetivo de este capítulo fue la incorporación de los oleogeles (previamente optimizados) en una formulación tradicional de magdalenas con el fin de compararlas con aquellas producidas con una materia grasa comercial (Control), o solo con aceite, respecto a sus propiedades fisicoquímicas y sus características organolépticas. Además, se cuantificó la cantidad de aceite liberada por las magdalenas a través del tiempo con el fin de evaluar su estabilidad, ya que este parámetro afecta la calidad de estos productos. Cabe destacar que, hasta el momento, no se ha estudiado la aplicación de oleogeles de MG en magdalenas, lo que representa una contribución novedosa del presente estudio. Además, es importante señalar que la influencia de la incorporación de oleogeles en la matriz alimenticia con el objetivo de evaluar la migración de aceite a lo largo del tiempo, aspecto que no se ha considerado en estudios similares.

4.2 Formulación de magdalenas

La formulación de una magdalena contiene originalmente un 26% de manteca (~20% de materia grasa total por ser una emulsión de agua en aceite), huevo, harina y azúcar como ingredientes principales. El producto final se caracteriza por tener una estructura porosa y un volumen elevado, lo cual le confiere una textura esponjosa (Martínez-Cervera y col. 2013).

Con el fin de evaluar la capacidad de los oleogeles optimizados para reemplazar la materia grasa, se utilizó una receta tradicional de magdalenas. Se realizaron cuatro formulaciones de magdalenas, utilizando los ingredientes en las proporciones indicadas en la Tabla 4.1 y mostrados en la Figura 4.1. La formulación Control se llevó a cabo utilizando la margarina, es decir la materia grasa comercial (MC) antes seleccionada como producto graso modelo (en la proporción correspondiente a la manteca, 26%, acorde en la receta original). Considerando que el contenido en materia grasa de la margarina es del 40% (p/p), se

formularon magdalenas control con un contenido efectivo de materia grasa total de ~10,4% (p/p). La sustitución de MC por oleogel u aceite se llevó a cabo considerando que la margarina está compuesta principalmente por materia grasa y agua, por lo cual se tuvieron en cuenta ambos contenidos. De ahí que las demás formulaciones de magdalenas se realizaron reemplazando el contenido efectivo de materia grasa total por el oleogel obtenido a partir de O-1 (M1) y O-2 (M2), ambos desarrollados en el Capítulo 3, y aceite GAO (Mac).

Tabla 4.1. Receta utilizada en la elaboración de las distintas formulaciones de magdalenas.

	Ingredientes % (p/p)[a]				
	MC[b]	**GAO[c]**	**O1[d]**	**O2[d]**	**Agua**
Control	26,08	-	-	-	-
Mac	-	10,43	-	-	15,65
M1	-	-	10,43		15,65
M2	-	-	-	10,43	15,65

[a]Ingredientes restantes: harina 26,09% (p/p), azúcar 26,09% (p/p), huevos 18,84% (p/p), esencia de vainilla 1,45% (p/p), y polvo de hornear 1,45% (p/p). [b]MC, materia grasa comercial; [c]GAO, aceite de girasol alto oleico. [d]Oleogel obtenido a partir de las condiciones de preparación O-1 (O1) y O-2 (O2).

Figura 4.1. Proceso de elaboración de magdalenas: reemplazo de la materia grasa comercial.

La masa se preparó incorporando en un mezclador mecánico (modelo BP8755E, ATMA, China) las cantidades correspondientes para cada formulación: en primer lugar, se agregaron los huevos, mezclando durante 2 minutos a la velocidad máxima. El ingrediente graso, margarina o aceite/oleogel junto con agua, se añadió y se mezcló durante 3 minutos a velocidad intermedia. Luego, se agregaron la harina y el polvo de hornear y la mezcla se batió

durante otros 3 minutos a velocidad intermedia. Por último, se incorporó esencia de vainilla y la velocidad de mezclado se incrementó hasta la máxima. Posteriormente, se pesó una cantidad exacta de masa (30 g) y se la dispuso sobre moldes de silicona (diámetro 43 mm, altura 35 mm). Cada lote de preparación se utilizó para rellenar 12 moldes individuales de silicona que se dispusieron en tres filas de cuatro columnas en una bandeja metálica recubierta de teflón, utilizada para la cocción. La cocción se llevó a cabo en un horno eléctrico (modelo HG5010E, ATMA, China) a 200 ºC por 20 minutos (Figura 4.2). Las magdalenas se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 1 hora, y luego se almacenaron en recipientes de plástico a 25 ºC por 24 horas antes de su análisis. En orden aleatorio, cada formulación de magdalena se procesó por duplicado.

Figura 4.2. Cocción de magdalenas en el horno.

4.3 Análisis de las magdalenas formuladas

Las propiedades fisicoquímicas y sensoriales se determinaron en todos los productos obtenidos, acorde a la metodología descripta en las secciones siguientes.

4.3.1 Textura

Las magdalenas se cortaron horizontalmente, a una altura de 2,5 cm desde la base. La porción superior se descartó, mientras que la inferior se usó para realizar el Análisis de Perfil de Textura acorde a la metodología descripta en la sección 2.3.4.3. Se realizaron cuatro mediciones para cada formulación. A partir de cada curva fuerza-tiempo (Figura 2.6), se calcularon los parámetros dureza (DU) y cohesividad (CO). Estos parámetros fueron seleccionados para caracterizar las propiedades de textura de las magdalenas en base a estudios previos (Martínez-Cervera y col.,2012; Yilmaz y Öğütcü, 2015a).

4.3.2 Migración de aceite

Para caracterizar la migración de aceite, se determinó la cantidad de aceite liberado por cada magdalena colocándola sobre papel de filtro (tipo Whatman #4, diámetro 110 mm) en contenedores cilíndricos huecos (diámetro 60 mm) (Dibildox-Alvarado y col., 2004). La cantidad de aceite liberado por cada muestra se determinó por la diferencia en el peso del papel de filtro antes y después de colocar la magdalena sobre el mismo. Este parámetro se evaluó a 20 ºC para distintos tiempos: 1, 7 y 10 días luego de la preparación, realizando cuatro réplicas para cada formulación. La pérdida de aceite (OL por sus siglas en inglés) se expresó como % ((g aceite/g magdalena)*100).

4.3.3. Color

La medición del color fue realizada en un colorímetro triestímulo HunterLab UltraScan XE (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA), donde se determinó el color reflejado por la corteza y por la miga de cada una de las magdalenas. Los resultados se expresaron en términos de la escala CIELAB, que define el color a partir de las coordenadas L^*, a^* y b^*. El parámetro L^* representa la luminosidad y varía entre 0 (negro) y 100 (blanco). Los valores

a* y b* representan la variación entre la coloración verdosa (-)/rojiza (+), y azulada (-)/amarillenta (+), respectivamente (Mathias-Rettig y Ah-Hen, 2014). Las mediciones se realizaron en cuatro magdalenas de cada formulación en tres puntos distintos, incluyendo el centro superior y los laterales para la corteza, y puntos aleatorios situados en la parte superior, central, e inferior para la miga de cada magdalena. La diferencia de color (∆E*) entre las magdalenas formuladas con aceite o con oleogeles y el Control se calculó a partir de la diferencia entre los parámetros de color correspondientes, a partir de la Ec. 4.1 (Francis y Clydesdale, 1975).

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (4.1)$$

4.3.4 Peso y dimensiones

Las magdalenas fueron removidas del horno al finalizar la cocción y sus dimensiones se determinaron luego de mantenerlas en un ambiente controlado (20-24 ºC) durante 1 h. El diámetro (d) y la altura (A) se midieron con un calibre digital (327-06-0, ASIMETO, Alemania). Se tomaron mediciones del diámetro superior en distintas direcciones y de la altura máxima del producto. Los valores obtenidos para cada parámetro se promediaron. El peso (P) se registró en una balanza analítica (CP 2245, Legibilidad 0,1 mg, Sartorius, Alemania). Para ello, se utilizaron cuatro magdalenas seleccionadas al azar, para cada formulación. La capacidad de expansión (SR por sus siglas en inglés, spread ratio) se calculó dividiendo el diámetro promedio por la altura promedio de las magdalenas. Este parámetro es una medida de la calidad del proceso de cocción y está relacionado con la capacidad de expansión de la masa durante el mismo. Para lograr productos de panadería considerados de alta calidad se requieren valores de SR altos (Hussein y col., 2011).

4.3.5 Contenido de Humedad

El contenido de humedad (H) se determinó empleando una balanza con analizador de humedad (MB 35, Ohaus, Suiza) acorde al método 44-15A (AACC, 2000). Esta metodología se basa en el principio de termogravimetría, el cual consiste en calcular la pérdida de peso de una cierta cantidad de muestra mientras la misma se somete a calentamiento a una temperatura controlada (130±1 ºC). Las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en % (p/p) en base húmeda.

4.3.6 Volumen específico

El volumen específico (V_e) se calculó como el cociente entre el volumen y el peso de cada magdalena. El volumen se midió empleando el método de desplazamiento de semillas de chía en un recipiente cilíndrico de acuerdo al Método 10-05 (AACC, 2000). Este método consiste en determinar el volumen ocupado en un recipiente cilíndrico por una dada cantidad de semillas, en ausencia y en presencia de una magdalena previamente pesada, a través de la determinación de la altura del lecho de semillas en cada caso y posteriormente calculando la distancia desplazada (diferencia entre ambas alturas). El volumen específico de la magdalena (V_e) se calculó aplicando la siguiente ecuación.

$$V_e(cm^3/g) = \frac{\pi * r^2 * DD}{P} \quad (4.2)$$

Donde: r= radio del cilindro (cm), DD= distancia desplazada (cm), P= peso de la magdalena (g). Se realizaron tres mediciones por cada formulación.

4.3.7 Análisis de imágenes digitales de la estructura de la miga

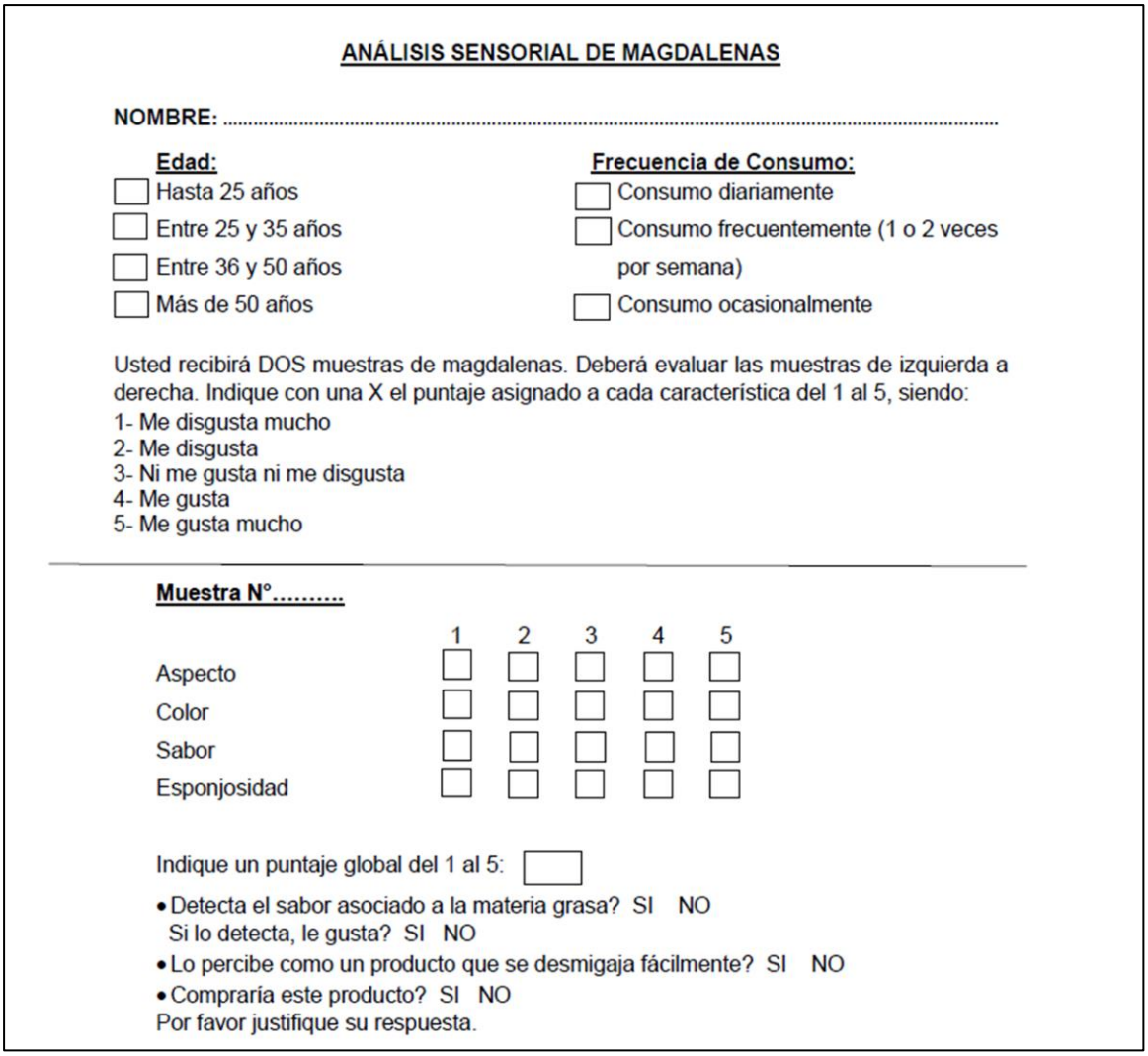
Para analizar la estructura de la miga, las magdalenas se cortaron de manera horizontal a una distancia de 2,5 cm de la base y la parte inferior se colocó en una caja iluminada. Las imágenes en color se capturaron con una cámara digital Nikon D3400 (55 mm, f/3.5-5.6, ISO 100), con un aumento de 24x y se analizaron mediante el uso del software ImageJ 1,47v (Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, MD, EEUU). Del centro de cada imagen, correspondiente a la sección transversal interna de una magdalena, se recortó una sección de 30 mm x 30 mm y se convirtió a 8 bits considerando 255 niveles de grises. Estas imágenes fueron binarizadas (convertidas desde la escala de grises a la escala blanco y negro) usando un método de medida de umbralización difusa automatizada. De esta manera, todos los pixeles con un nivel de gris por encima del valor umbral fueron convertidos al blanco (matriz del producto) y por debajo de este valor se convirtió en negro (celdas de aire). De las imágenes binarizadas se extrajeron distintas características de la miga y las siguientes se seleccionaron para el análisis: distribución de tamaño de celdas de aire y número total de celdas de aire/cm^2 (Sapirstein y col., 1994).

4.3.7 Análisis Sensorial

Para llevar a cabo el análisis sensorial de las magdalenas se utilizó un ensayo de prueba hedónica, en la cual se le pide al consumidor que valore el grado de satisfacción general que le produce el producto utilizando una escala determinada. Este tipo de prueba representa una herramienta muy efectiva en el diseño de productos y cada vez se utilizan con mayor frecuencia en la industria debido a que son los consumidores quienes, en última instancia, convierten un producto en éxito o fracaso.

En base a lo expuesto anteriormente, y teniendo en cuenta los resultados obtenidos a partir de las propiedades fisicoquímicas determinadas, se realizó el análisis sensorial de 2 formulaciones de magdalenas, Control y una formulación con oleogel, con el fin de determinar el grado de aceptación de cada producto por parte de los consumidores y comparar los

atributos sensoriales de los mismos. En el estudio participaron un total de 130 panelistas, entre ellos estudiantes y personal de los institutos de investigación correspondientes a CONICET-CCT-Bahía Blanca, y estudiantes de la Universidad de Buenos Aires. Las muestras fueron preparadas 1 día antes del análisis y almacenadas a 20°C. Cada panelista evaluó en una única sesión las 2 muestras mencionadas, presentadas ante los panelistas con una codificación constituida con un número de 3 dígitos seleccionados al azar. A cada panelista se le proporcionó dos magdalenas enteras, cada una correspondiente a una formulación, ordenadas de manera aleatoria de izquierda a derecha; además de agua potable para limpiar sus paladares entre la degustación de cada magdalena. Se solicitó a los panelistas que evalúen cada muestra en cuanto a los siguientes atributos sensoriales: aspecto, color, sabor, y esponjosidad. Basándose en estos atributos se les pidió que determinaran la aceptabilidad global de cada muestra en una escala hedónica de 5 puntos (1 = me disgusta mucho, 2 = me disgusta, 3 = ni me gusta ni me disgusta, 4 = me gusta, 5 = me gusta mucho) (Yilmaz y Öğütcü, 2015b). En la Figura 4.3 puede verse la planilla que se le entregó a cada consumidor.



ANÁLISIS SENSORIAL DE MAGDALENAS

NOMBRE: .....

Edad:
- ☐ Hasta 25 años
- ☐ Entre 25 y 35 años
- ☐ Entre 36 y 50 años
- ☐ Más de 50 años

Frecuencia de Consumo:
- ☐ Consumo diariamente
- ☐ Consumo frecuentemente (1 o 2 veces por semana)
- ☐ Consumo ocasionalmente

Usted recibirá DOS muestras de magdalenas. Deberá evaluar las muestras de izquierda a derecha. Indique con una X el puntaje asignado a cada característica del 1 al 5, siendo:
1- Me disgusta mucho
2- Me disgusta
3- Ni me gusta ni me disgusta
4- Me gusta
5- Me gusta mucho

Muestra N°.....

	1	2	3	4	5
Aspecto	☐	☐	☐	☐	☐
Color	☐	☐	☐	☐	☐
Sabor	☐	☐	☐	☐	☐
Esponjosidad	☐	☐	☐	☐	☐

Indique un puntaje global del 1 al 5: ☐

- Detecta el sabor asociado a la materia grasa? SI NO
  Si lo detecta, le gusta? SI NO
- Lo percibe como un producto que se desmigaja fácilmente? SI NO
- Compraría este producto? SI NO

Por favor justifique su respuesta.

Figura 4.3. Formulario presentado a cada consumidor para el análisis sensorial de las magdalenas.

4.4 Resultados

Imágenes de magdalenas preparadas con los dos oleogeles optimizados (M1 y M2 elaboradas a partir de O-1 y O-2, respectivamente), aceite (Mac) y materia grasa comercial (Control) se muestran en la Figura 4.4. El contenido resultante de grasa saturada de estos productos fue 1,29, 2,1, y 1,9% (p/p) en Mac, M1, y M2, respectivamente, todos significativamente inferiores respecto al 5,3% (p/p) en el Control. Es decir, se logró reducir el contenido de grasa saturada en 80, 68, y 71% (p/p) en Mac, M1, y M2, respectivamente.

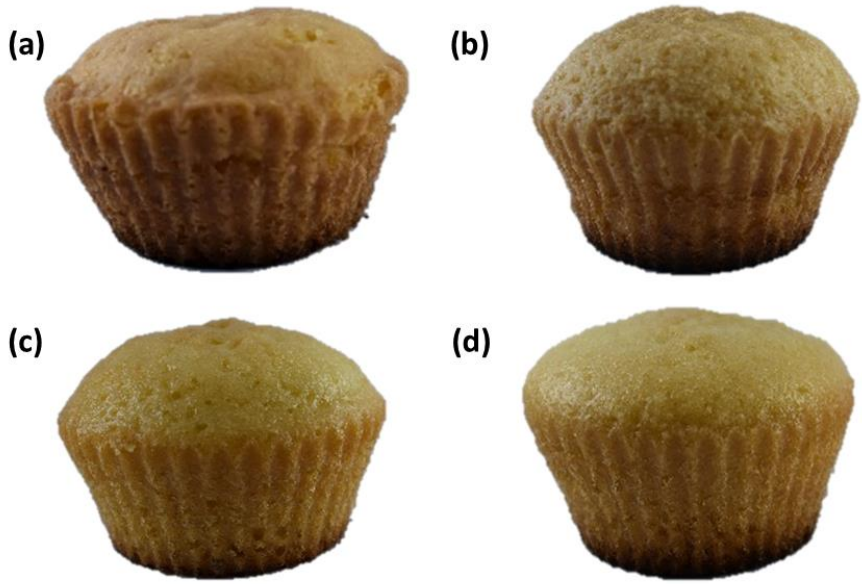


Figura 4.4. Imágenes de las magdalenas formuladas con (a) materia grasa comercial (Control), (b) aceite de girasol alto oleico (Mac), y oleogeles obtenidos a partir de la optimización (c) O-1 (M1), y (d) O-2 (M2).

4.4.1 Propiedades de las magdalenas

4.4.1.1 Migración de aceite

Un problema importante que surge de la sustitución de grasa saturada en los productos alimenticios es la migración de aceite, que tiene como consecuencia la alteración de propiedades estructurales y sensoriales del producto, causando efectos indeseables en la calidad del mismo (Blake y Marangoni, 2015). Teniendo en cuenta que los dos oleogeles optimizados mostraron valores altos de OBC, se planteó la hipótesis de que la incorporación de estos materiales en la formulación de magdalenas podría reducir su pérdida de aceite. La pérdida de aceite (OL) de magdalenas elaboradas a partir de las cuatro formulaciones y evaluadas en función de un período de tiempo de almacenamiento corto (1, 7 y 10 días) se muestra en la Figura 4.5.

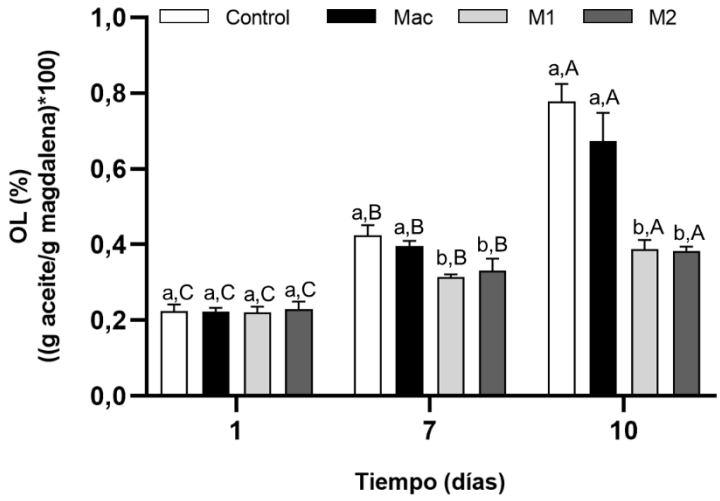


Figura 4.5. Porcentaje de pérdida de aceite (OL, %) en las distintas formulaciones de magdalenas luego de 1, 7 y 10 días de almacenamiento. Los valores de OL se representan mediante el valor promedio y desvío estándar de 3 réplicas. Letras minúsculas diferentes en un mismo día indican diferencias significativas entre muestras para un dado tiempo ($p < 0,05$). Letras mayúsculas diferentes para una misma formulación indican diferencias significativas a lo largo del tiempo ($p < 0,05$).

La migración de aceite entre las distintas muestras no mostró diferencias significativas en el día 1 ($p > 0,90$). Después de 7 días de almacenamiento, los valores de OL de M1 y M2 fueron significativamente más bajos que los mostrados por Mac y Control ($p < 0,03$). Al final del período de tiempo evaluado, las magdalenas Control mostraron el valor de OL más alto, seguido por los productos formulados con aceite, mientras que las magdalenas preparadas con oleogeles liberaron la menor cantidad de aceite ($p < 0,0001$), sin evidenciar diferencias significativas entre ellas ($p = 0,99$). Por lo cual se puede afirmar que la incorporación de oleogeles optimizados en magdalenas redujo aproximadamente el 50% de la pérdida de aceite observada en las magdalenas Control después de 10 días de almacenamiento. Esto indica que los materiales desarrollados pueden usarse efectivamente como inhibidores de la migración del aceite, verificándose de esta manera la hipótesis antes mencionada. Además, esto podría revelar que, aunque los oleogeles se mezclaron con los ingredientes restantes durante la preparación de la masa, sus componentes permanecieron unidos por interacciones fuertes entre la red cristalina y el aceite. Si bien es de esperarse que el proceso de cocción

genere la fusión de los monoglicéridos, también lo es que los mismos recristalicen por el enfriamiento posterior, permitiendo que el aceite circundante quede nuevamente atrapado por los cristales de monoglicéridos y evitando su liberación a la matriz del alimento. Un aspecto destacado es que, aunque todas las muestras exhibieron un incremento en OL a lo largo del tiempo ($p < 0,0001$), M1 y M2 presentaron menor variación respecto a las magdalenas Control y Mac. Esto implica que las magdalenas elaboradas con oleogeles optimizados presentan mejor estabilidad a corto plazo, en comparación con la formulación Control.

4.4.1.2 Textura

En la Figura 4.6 se muestran los valores de dureza y cohesividad obtenidos para las cuatro formulaciones de magdalenas ensayadas. Todas las formulaciones alternativas de magdalenas, Mac, M1 y M2, mostraron valores promedio de DU que no difieren significativamente del Control. Estudios previos han demostrado que la dureza de un producto puede ser afectada significativamente al reemplazar la materia grasa en productos horneados, lo que la convierte en uno de los atributos más estudiados (Onacik-Gür y col., 2015; Tarancón y col., 2013; Yılmaz y Öğütcü, 2015a). Yılmaz y Öğütcü (2015a) reportaron una reducción en los valores de DU cuando evaluaron el reemplazo de una materia grasa comercial con oleogeles de aceite de avellana y ceras de girasol en una formulación de bizcochos. Onacik-Gür y col. (2015) encontraron una reducción significativa en la dureza de bizcochos preparados con aceite de girasol alto oleico y aditivos (inulina y lecitina), comparados con aquellos preparados con un tipo de materia grasa comercial. Los oleogeles utilizados en este trabajo dieron como resultado magdalenas con DU similar al producto Control, lo cual podría ser un resultado esperado teniendo en cuenta que la formulación de estos materiales fue optimizada de manera de alcanzar la misma dureza que la MC utilizada para la preparación del producto Control. Por otra parte, las magdalenas elaboradas sólo con aceite también mostraron DU comparable. Esto podría sugerir que las diferentes materias grasas evaluadas utilizadas en una proporción de aproximadamente 10% con respecto a la

cantidad total de ingredientes no serían un factor determinante sobre la DU en este tipo de productos de textura esponjosa. En relación con el parámetro de cohesividad, no se encontraron diferencias significativas cuando la MC se reemplazó con aceite GAO. Sin embargo, los valores de CO disminuyeron significativamente cuando se usaron los oleogeles optimizados en la formulación, dando lugar a una estructura de miga más fácilmente deformable. Es importante mencionar que, aunque los oleogeles optimizados mostraron valores de CO alrededor de un 43% más bajos que la MC (Tabla 3.10), esta diferencia no se mantuvo en la misma proporción en la CO del producto final (diferencia promedio del 13%).

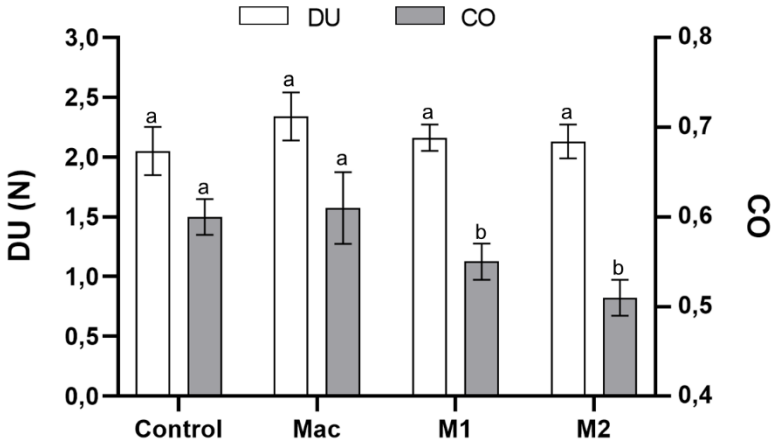


Figura 4.6. Parámetros de textura: dureza (DU, N) (izquierda) y cohesividad (CO) (derecha) en las magdalenas formuladas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac), y oleogeles obtenidos a partir de la optimización O-1 (M1) y O-2 (M2). Los valores de DU y CO se representan mediante el valor promedio y desvío estándar de 3 réplicas. Letras minúsculas diferentes en un mismo parámetro de textura indican diferencias significativas entre muestras para un dado tiempo ($p < 0,05$).

En base al análisis de las propiedades de textura, puede pensarse que el uso de aceite de girasol alto oleico como sustituto de la materia grasa comercial sería más efectivo que la incorporación de oleogel ya que Mac mostró valores de cohesividad y dureza comparables a los de Control. Sin embargo, la ventaja de estructurar aceite GAO con monoglicéridos fue el desarrollo de un producto con la menor migración de aceite a lo largo del tiempo.

4.4.1.3 Color

El color es un factor importante en la determinación de la calidad final de los productos de panadería, ya que influye en su aceptabilidad por parte de los consumidores. La Tabla 4.2 muestra las medidas del color de la corteza y la miga de las magdalenas elaboradas. No se observaron diferencias significativas en los valores de L* entre las cortezas de todas las muestras, lo que significa que las materias grasas evaluadas como sustitutos de la MC no modificaron la luminosidad de la miga del producto final. Por el contrario, los valores de los parámetros a* y b* de las cortezas de magdalenas preparadas con oleogeles fueron significativamente menores que los del producto Control, lo que indica que las cortezas de M1 y M2 mostraron un color amarillo menos anaranjado y más saturado (en general, un tono menos amarronado). Por otro lado, las magdalenas formuladas con aceite condujeron a cortezas con un tono menos anaranjado respecto del Control. Para determinar si las diferencias de color encontradas entre los productos podrían ser identificadas por el consumidor se calculó el ΔE*. Un valor de $\Delta E^* < 3$ implica que las diferencias no son visibles al ojo humano (Francis y Clydesdale, 1975). Dado que este parámetro fue superior a 3 solo en la comparación de M1 con el Control, el ojo humano apreciaría únicamente las diferencias de color entre la corteza de estas magdalenas, pudiendo afectar o no la aceptabilidad de M1 por parte de los consumidores. Su aspecto general se puede ver en la Figura 4.4. En la miga, los resultados hallados exhibieron tendencias análogas. La miga de M1 no mostró diferencias significativas con la correspondiente a la formulación Control, mientras que M2 presentó valores de L* y b* significativamente menores, resultando en una coloración de miga amarillenta, más pálida comparada con el Control. Para M1, se obtuvo $\Delta E^* < 3$, contrariamente al resultado encontrado para M2, donde las diferencias de color entre la miga de M1 y Control no serían identificadas por los consumidores.

Tabla 4.2. Parámetros de color correspondientes a la corteza y a la miga de las magdalenas formuladas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac), y oleogeles obtenidos a partir de la optimización O-1 (M1) y O-2 (M2).

	Muestra	L*$^{\alpha}$	a*$^{\alpha}$	b*$^{\alpha}$	ΔE*$^{\alpha}$
Corteza	**Control**	49,19(0,77)^{a}	9,14(0,59)^{a}	32,14(0,24)^{a}	0,00
	Mac	49,78(0,78)^{a}	9,66(0,86)^{a}	30,56(0,39)^{b}	1,76
	M1	50,40(1,41)^{a}	6,13(0,65)^{b}	31,20(0,37)^{b}	3,38
	M2	48,39(1,72)^{a}	6,94(0,79)^{b}	31,06(0,55)^{b}	2,58
Miga	**Control**	53,39(0,45)^{a}	2,91(0,13)^{a}	27,18(0,99)^{a}	
	Mac	46,54(0,95)^{b}	1,58(0,46)^{b}	23,70(0,70)^{b}	7,8
	M1	52,21(0,46)^{a}	2,73(0,27)^{a}	26,91(0,38)^{a}	1,2
	M2	46,15(0,86)^{b}	2,45(0,21)^{a}	24,80(0,13)^{b}	7,6

$^{\alpha}$L*, a*, b*, parámetros de color correspondientes a la escala CIELAB; ΔE*, diferencia de color total entre las muestras y el Control. Valores promedio (desviación estándar) de 3 réplicas. Los valores en una misma columna con distinto superíndice son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

4.4.1.4 Peso y dimensiones

Como se observa en la Tabla 4.3, no se encontraron diferencias significativas en el peso del producto final al reemplazar la materia grasa comercial por aceite u oleogel.

Las dimensiones de las magdalenas se midieron con el fin de investigar el efecto de los oleogeles sobre las características de expansibilidad. Las muestras Control y Mac mostraron menor diámetro y mayor altura que las magdalenas que contenían oleogeles. Como resultado, los valores del parámetro SR de las magdalenas preparadas con oleogeles fueron mayores en comparación con los elaborados con aceite GAO y MC. Dado que uno de los desafíos críticos para reemplazar las grasas tradicionales utilizadas en productos horneados ha sido superar la disminución del SR (Jang y col., 2015), este resultado significa una mejora en este parámetro de calidad de las magdalenas debido al uso de oleogeles optimizados como sustitutos de la materia grasa comercial en esta formulación alimenticia.

Tabla 4.3. Peso, dimensiones, capacidad de expansión, contenido de humedad y volumen específico de las magdalenas formuladas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac), y oleogeles obtenidos a partir de la optimización: O-1 (M1), y O-2 (M2).

Muestra	P (g)[α]	d (cm)[α]	A (cm)[α]	SR [α]	H (%p/p)[α]	V_e (cm^3/g)[α]
Control	25,31(0,41)[a]	5,42(0,02)[b]	3,55(0,02)[a]	1,53	22,11(0,56)[ab]	0,35(0,01)[b]
Mac	25,05(0,20)[a]	5,47(0,04)[b]	3,56(0,04)[a]	1,54	22,49(0,33)[a]	0,35(0,01)[b]
M1	24,99(0,03)[a]	5,67(0,01)[a]	3,41(0,04)[b]	1,66	21,51(0,47)[ac]	0,38(0,01)[a]
M2	25,15(0,05)[a]	5,60(0,03)[a]	3,35(0,02)[b]	1,67	20,72(0,38)[c]	0,39(0,01)[a]

[α]P, peso; d, diámetro; A, altura; SR, capacidad de expansión, H, humedad; V_e, volumen específico. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. Los valores promedio en una misma columna con distinto superíndice son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

4.4.1.5. Contenido de Humedad

Como puede observarse en la Tabla 4.3, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de humedad (H) de las magdalenas Mac y M1 respecto al producto Control, mientras que M2 presentó un valor levemente menor (reducción promedio de 6,3%). La retención de agua es el resultado de diferentes interacciones entre el agua y los demás ingredientes que conforman la masa. Dado que todas las magdalenas se formularon usando la misma cantidad de masa y no se encontraron diferencias significativas entre los pesos determinados después de la cocción, era de esperarse que los diferentes tipos de magdalenas presentaran valor de H comparables. El hecho de que la técnica utilizada para determinar la humedad de magdalenas presentó resultados significativamente diferentes, podría atribuirse a la eliminación de un menor contenido de agua en M2 (respecto al Control) durante el ensayo debido a una posible retención de agua superior en la estructura de magdalenas elaboradas con estos oleogeles (O-2).

4.4.1.6 Volumen específico

Al reemplazar la materia grasa comercial con los oleogeles en la formulación de magdalenas, el volumen específico (V_e) se incrementó, mientras que no se detectaron diferencias significativas entre los valores correspondientes al producto Control y Mac (Tabla

4.3). Este resultado concordó con el obtenido en la evaluación de las dimensiones del producto. Teniendo en cuenta que el peso de las diferentes magdalenas fue similar, el efecto sobre el volumen específico estuvo determinado por las dimensiones de las magdalenas (V_e es proporcional a d^2A). Por lo tanto, el aumento en el diámetro mostrado por las magdalenas M1 y M2 respecto del Control (aproximadamente 4,0%) tuvo una mayor influencia en el volumen específico que la disminución en la altura experimentada por estas muestras (aproximadamente 4,8%). En estos productos de panadería, el volumen es uno de los atributos de calidad críticos ya que influye significativamente en la aceptabilidad por parte de los consumidores. Por este motivo, evitar la disminución del volumen del producto representa todo un desafío al momento de reemplazar las grasas sólidas (Kim y col., 2017). En este estudio, la sustitución de la materia grasa comercial con oleogeles de monoglicéridos contribuyó a mejorar el volumen específico de las magdalenas formuladas.

4.4.1.7 Estructura de la miga

Las imágenes de las secciones transversales del interior de las magdalenas se muestran en la Figura 4.7-A, donde se puede ver que las estructuras de la miga presentaron diferencias en su apariencia. La Figura 4.7-B presenta las correspondientes imágenes binarizadas utilizadas para los análisis.

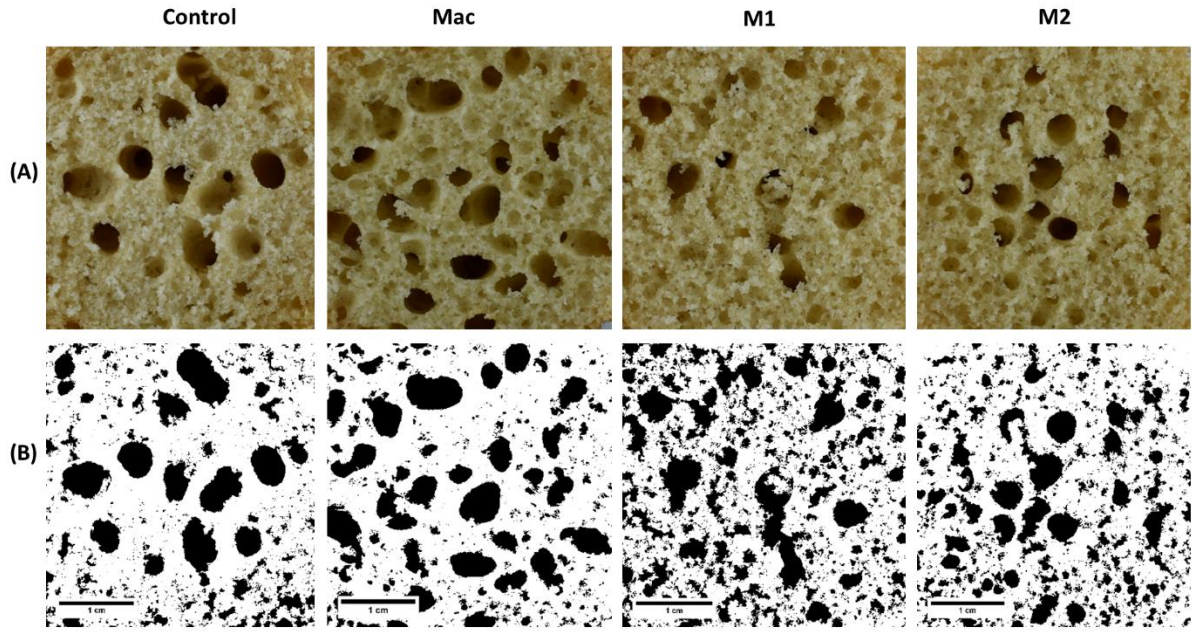


Figura 4.7. Imágenes de migas de magdalenas elaboradas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac) y los oleogeles obtenidos a partir de las optimizaciones O-1 (M1) y O-2 (M2). (A) Sección transversal seleccionada para el análisis de imágenes. (B) Imágenes correspondientes binarizadas.

La Tabla 4.4 muestra, por unidad de área, el número total de celdas de aire y el número de celdas de aire agrupadas por rangos de tamaño determinados en la miga de las magdalenas elaboradas. Se observó una disminución significativa en el número total de celdas de aire en las magdalenas formuladas con oleogeles en comparación con las producidas con materia grasa comercial y aceite. Esta disminución generó una estructura más conectada, en concordancia con los resultados encontrados en el análisis de cohesividad. Respecto al parámetro SR, cuanto mayor es este, menor es la aireación en la mezcla. Por lo tanto, estos resultados fueron consistentes con los encontrados en el análisis de las dimensiones de magdalenas formuladas con oleogeles, y con los reportados en un estudio similar (Yilmaz y Öğütcü, 2015a) donde se evaluó la incorporación de oleogeles de ceras en una formulación de galletitas, como sustitutos de un shortening comercial. Los resultados indicaron que la aireación fue menor en las galletitas preparadas con los oleogeles.

Tabla 4.4. Número y distribución de celdas de aire en magdalenas preparadas con diferentes tipos de material grasa.

Muestra	Número de celdas de aire/cm^2			Número total/cm^2
	Rango de área de celda (cm^2)$^{\alpha}$			
	10^{-5} - 5 10^{-4}	5,1 10^{-4} - 10^{-3}	1,1 10^{-3} - 5 10^{-1}	
Control	1119,0 (35,6)^{a}	103,1 (14,3)^{a}	15,2 (3,1)^{a}	1237,8 (24,4)^{a}
Mac	1098,2 (42,1)^{ab}	88,8 (1,1)^{a}	14,2 (3,0)^{a}	1201,3 (46,2)^{a}
M1	967,1 (82,9)^{bc}	67,1 (1,9)^{b}	8,2 (0,6)^{b}	1042,4 (81,7)^{b}
M2	944,9 (4,2)^{c}	60,5 (0,7)^{b}	8,1 (0,0)^{b}	1013,5 (4,9)^{b}

Muestras de magdalenas formuladas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac) y los oleogeles obtenidos a partir de las optimizaciones O-1 (M1) y O-2 (M2). $^{\alpha}$Área de la imagen analizada. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. Los valores promedio en una misma columna con distinto superíndice son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

El tamaño de las celdas de aire es un parámetro importante ya que puede influir en la textura del producto final. A pesar de que tanto el producto Control como Mac mostraron un número significativamente mayor de las celdas de aire de mayor tamaño, en comparación con M1 y M2, lo que podría conducir a una estructura interna más débil, este efecto no se evidenció en el análisis de la dureza de las magdalenas. Sin embargo, el aumento del tamaño de las celdas de aire en la estructura de la miga podría generar un producto fácilmente desmenuzable y la pérdida de su forma típica, afectando negativamente la calidad. Además, estructuras de miga con estas características facilitarían la migración de aceite hacia la superficie del producto, o al menos hacia las celdas de aire. Este resultado estuvo en concordancia con la evaluación de migración de aceite (sección 4.4.1.1), la cual indicó que las magdalenas formuladas con materia grasa comercial y aceite exudan mayor cantidad de aceite en comparación con aquellas formuladas con los oleogeles de monoglicéridos. Una mayor proporción de celdas de aire de tamaño pequeño, que contribuyen a una estructura interna más homogénea, también fue reportado en pan dulce formulado con oleogeles de monoglicéridos y aceite de girasol en reemplazo del aceite de palma, en un estudio llevado a cabo por Calligaris y col. (2013). Estos resultados sugieren que los monoglicéridos facilitarían la formación de celdas de aire de tamaño pequeño, dando lugar a migas con estructura uniforme y características de textura deseables (Zhou y col. 2011).

4.4.1.8 Análisis sensorial

Luego de analizar las propiedades descriptas en los ítems anteriores, y con el fin de evaluar la aceptabilidad por parte de los consumidores de las magdalenas elaboradas con oleogeles, se decidió realizar el análisis sensorial únicamente a 2 formulaciones (Control y M2), preparando un total de 260 magdalenas. Las magdalenas Control se seleccionaron debido a que contienen margarina como fuente de materia grasa comercial, similar a las magdalenas disponibles en el mercado; y las magdalenas M2 se seleccionaron como formulación alternativa, ya que implica la utilización del oleogel formulado con la menor concentración de agente estructurante, lo cual implica menor contenido de materia grasa saturada.

Del total de individuos que participaron del análisis sensorial, 63% fueron mujeres y 37% fueron hombres. Del total de panelistas (mujeres y hombres) el 51% se encontró dentro del rango de edad entre 26 a 35 años. A pesar de que el porcentaje de mujeres fue mayor, se sabe que la categoría sexual no interfiere en la agudeza del análisis sensorial y que este rango de edad es preferido ya que los individuos normalmente presentan hábitos de consumo bien definidos y buena salud (Ramcharitar y col., 2005). En cuanto a la frecuencia de consumo informada por los panelistas, todos ellos se identificaron como consumidores de magdalenas, entre los cuales la mayoría indicó consumir estos productos de manera ocasional (93%), y solo algunos de manera frecuente (7%).

En la Figura 4.8 se muestran los valores promedio obtenidos para la evaluación de cada atributo y el puntaje global para ambas formulaciones. Como puede observarse todos los atributos resultaron aceptables (valoración media~4) según la apreciación de los panelistas. No se encontraron diferencias significativas entre las muestras Control y M2 respecto al sabor y la esponjosidad, mientras que las magdalenas formuladas con oleogeles presentaron mayor valoración en su aspecto y color que aquellas formuladas con materia grasa comercial. Además, M2 fue mejor valorada en su puntaje global respecto a la muestra Control.

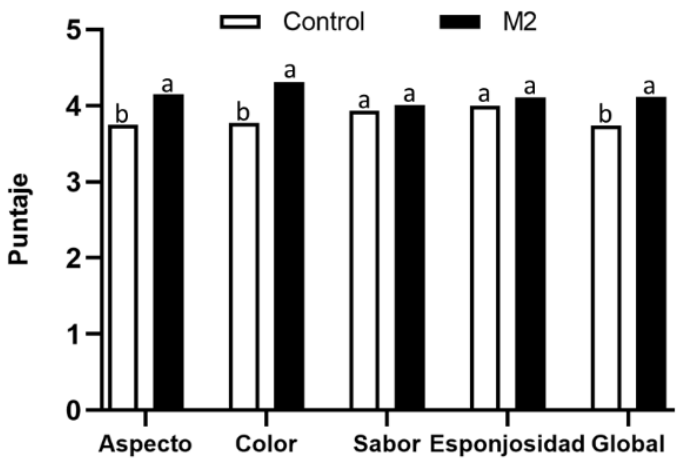


Figura 4.8. Efecto del reemplazo de materia grasa en la formulación de magdalenas sobre sus características sensoriales: aspecto, color, sabor, esponjosidad, y puntaje global. Los valores medios en un mismo atributo indicados con distinta letra son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En cuanto a la pregunta realizada sobre la detección del sabor asociado a la materia grasa, se encontró que la mayoría de los panelistas no lo detectaron, siendo mayor este porcentaje en las muestras M2 (Figura 4.9). Un porcentaje menor fue capaz de detectar este sabor en las magdalenas, indicando mayoritariamente el gusto agradable de la misma. Y por último, sólo un porcentaje pequeño detectó un sabor no agradable asociado a la materia grasa contenida en las magdalenas, siendo mayor en el caso de las muestras Control. Por otro lado, la mayoría de los panelistas consideraron que ni Control ni M2 se presentan como productos que se desmigajan fácilmente, indicando que ambas muestras presentaron buenos niveles de compactación (cohesividad). Por último, la mayoría de los participantes en la evaluación indicó que estaría dispuesto a comprar estos productos debido a su aspecto aceptable y textura atractiva, siendo este porcentaje mayor en las muestras M2. En comparación con la muestra Control, los panelistas indicaron que la muestra M2 resultó tener sabor más liviano, aunque artificial, permitiendo una sensación de mayor humedad y suavidad en el paladar, presentándose con un color más claro respecto a la coloración amarronada observada en las magdalenas formuladas con la materia grasa comercial. La mayoría de los panelistas detectaron la diferencia de color entre la muestra Control y M2, siendo la coloración más clara,

correspondiente a M2, mejor valorada respecto a la coloración amarronada de la muestra Control. Este resultado coincide con lo obtenido en el análisis de ΔE* para el color de las migas.

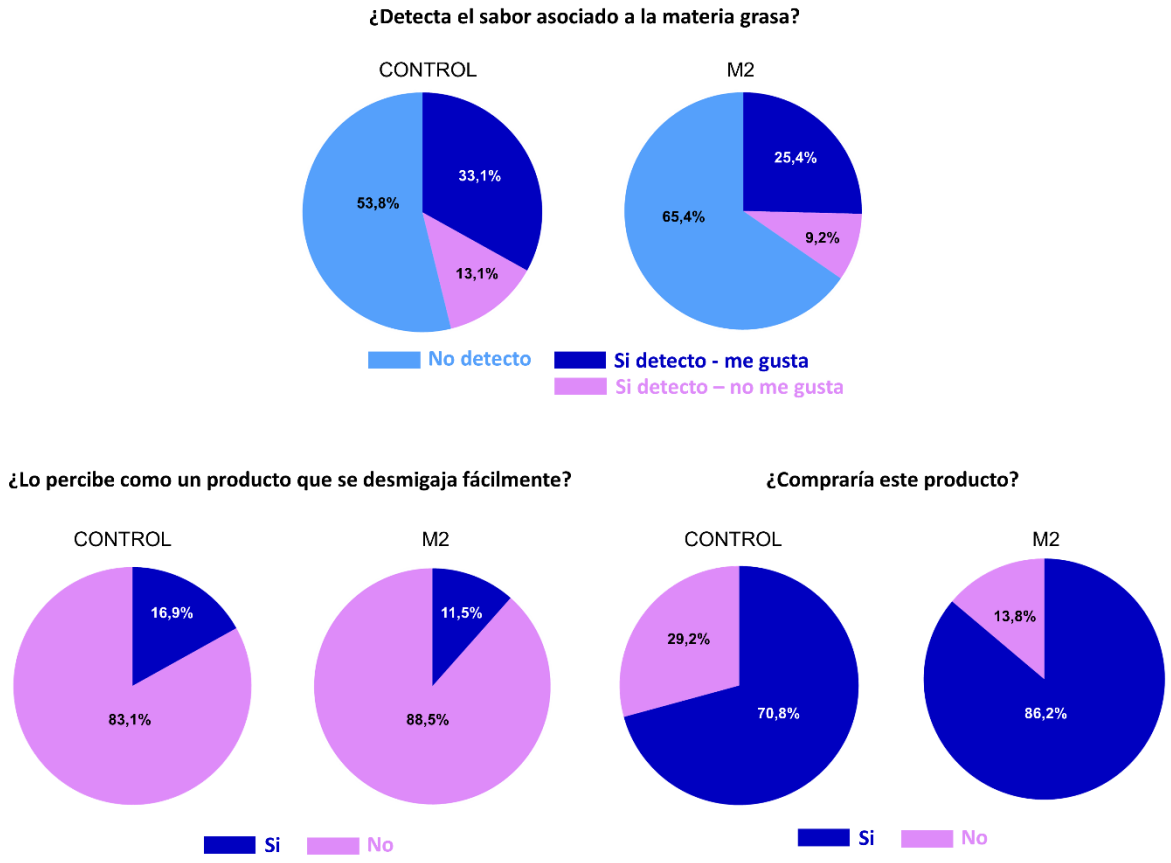


Figura 4.9. Resultados de la encuesta realizada durante el análisis sensorial de las magdalenas Control y M2.

4.5 Conclusiones

En este Capítulo se demostró que es posible obtener magdalenas con propiedades fisicoquímicas similares a las de las magdalenas formuladas con la materia grasa comercial, independientemente del oleogel utilizado (O1 u O2). Esto implica que la preferencia de seleccionar un oleogel sobre otro estará dada únicamente por consideraciones prácticas. Asimismo, quedó demostrado que los oleogeles desarrollados poseen un gran potencial para reemplazar la materia grasa comercial que se utilizó en la formulación de magdalenas.

El reemplazo de la materia grasa comercial con los oleogeles optimizados en la formulación de magdalenas llevó a la obtención de productos con una mayor expansibilidad y un mayor volumen específico, evidenciando una estructura menos compacta, lo que representa aspectos deseados desde un punto de vista industrial y comercial. Además, se alcanzaron valores de dureza similares y estructuras de migas más conectadas y homogéneas. Asimismo, y no menos importante, estos productos mostraron una reducción de la migración de aceite de alrededor del 50% con respecto a las magdalenas Control después de 10 días de almacenamiento, lo que indicó que estos oleogeles se pueden usar satisfactoriamente para disminuir la pérdida de aceite en este producto dulce horneado. En general, el reemplazo de grasa con los oleogeles de monoglicéridos optimizados tuvo un impacto positivo en la calidad y el perfil nutricional de las magdalenas elaboradas.

Por otro lado, se evidenció que la incorporación de los oleogeles en magdalenas dio lugar a cortezas y migas con coloraciones menos rojizas y menos amarillentas que las obtenidas empleando materia grasa comercial, mientras que la dureza del producto final no se modificó. Además, se observó mediante el análisis de estabilidad, que a 7 y 10 días de almacenamiento se reduce el porcentaje de migración del aceite respecto a las magdalenas formuladas con materia grasa comercial y con aceite.

A partir de la evaluación sensorial, se puede afirmar que los consumidores consideran aceptable tanto las magdalenas formuladas con materia grasa comercial como aquellas obtenidas a partir de oleogeles, obteniendo estas últimas mayor nivel de aceptabilidad respecto de su aspecto, color y puntaje global en comparación con las primeras, sin percibir diferencias significativas entre las mismas en su sabor. Es importante destacar que los oleogeles utilizados en este trabajo sólo contienen aceite y agente estructurante, es decir, no poseen aditivos (colorantes, resaltadores del sabor, etc.). Por lo que su incorporación permite pensar en la posibilidad de mejorar aún más las características organolépticas de las magdalenas formuladas con estos sustitutos grasos.

La mejora en el perfil nutricional debido al uso de oleogeles como sustitutos de grasa comercial fue significativa, evidenciando una reducción en el contenido de materia grasa

saturada de al menos 68% (p/p), lo cual cumple con uno de los objetivos planteados en la tesis referido a la obtención de productos con características nutricionales mejoradas.

En base a los resultados mencionados, se ha demostrado que los oleogeles desarrollados poseen un gran potencial para reemplazar la materia grasa que habitualmente se utiliza en la formulación de magdalenas, permitiendo la obtención de productos con un perfil nutricional mejorado respecto a los disponibles comercialmente.

El trabajo que se detalla en este capítulo fue divulgado a través de la siguiente publicación científica:

- Giacomozzi, A. S., Carrín, M. E., y Palla, C. A. (2018). Muffins Elaborated with Optimized Monoglycerides Oleogels: From Solid Fat Replacer Obtention to Product Quality Evaluation. *Journal of Food Science, 83*(6), 1505-1515.

4.6 Referencias

AACC. (2000). *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists*. S. Paul (EEUU): The Association.

Blake, A. I., y Marangoni, A. G. (2015). The Use of Cooling Rate to Engineer the Microstructure and Oil Binding Capacity of Wax Crystal Networks. *Food Biophysics, 10*(4), 456-465.

Calligaris, S., Manzocco, L., Valoppi, F., y Nicoli, M. C. (2013). Effect of palm oil replacement with monoglyceride organogel and hydrogel on sweet bread properties. *Food Research International, 51*(2), 596-602.

Co, E. D y Marangoni, A. G. (2012). Organogels: An Alternative Edible Oil-Structuring Method. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 89*(5), 749-780.

Dhaka, V., Gulia, N., Ahlawat, K. S., y Khatkar, B. S. (2011). Trans fats—sources, health risks and alternative approach-A review. *Journal of Food Science and Technology, 48*(5), 534-541.

Dibildox-Alvarado, E., Rodrigues, J. N., Gioielli, L. A., Toro-Vazquez, J. F., y Marangoni, A. G. (2004). Effects of crystalline microstructure on oil migration in a semisolid fat matrix. *Crystal growth & design, 4*(4), 731-736.

Francis, F. J., y Clydesdale, F. M. (1975). Food colorimetry: theory and applications: AVI Publishing Co. Inc.

Ghotra, B. S., Dyal, S. D., y Narine, S. S. (2002). Lipid shortenings: a review. *Food Research International, 35*(10), 1015-1048.

Hughes, N. E., Marangoni, A. G., Wright, A. J., Rogers, M. A., y Rush, J. W. E. (2009). Potential food applications of edible oil organogels. *Trends in Food Science & Technology, 20*(10), 470-480.

Hussein, A. M. S., Amal, S., Amany, M. H., Abeer, A. A., y Gamal, H. R. (2011). Physiochemical, sensory and nutritional properties of corn-fenugreek flour composite biscuits. *Australian journal of basic and applied sciences, 5*(4), 84-95.

Jang, A., Bae, W., Hwang, H.-S., Lee, H. G., y Lee, S. (2015). Evaluation of canola oil oleogels with candelilla wax as an alternative to shortening in baked goods. *Food chemistry, 187*, 525-529.

Kim, J. Y., Lim, J., Lee, J., Hwang, H. S., y Lee, S. (2017). Utilization of Oleogels as a Replacement for Solid Fat in Aerated Baked Goods: Physicochemical, Rheological, and Tomographic Characterization. *Journal of Food Science, 82*(2), 445-452.

Lim, J., Jeong, S., Lee, J., Park, S., Lee, J., y Lee, S. (2017). Effect of shortening replacement with oleogels on the rheological and tomographic characteristics of aerated baked goods. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 97*(11), 3727-3732.

Manzocco, L., Calligaris, S., Da Pieve, S., Marzona, S., y Nicoli, M. C. (2012). Effect of monoglyceride-oil–water gels on white bread properties. *Food Research International, 49*(2), 778-782.

Martínez-Cervera, S., Sanz, T., Salvador, A., y Fiszman, S. M. (2012). Rheological, textural and sensorial properties of low-sucrose muffins reformulated with sucralose/polydextrose. *LWT-Food Science and Technology, 45*(2), 213-220.

Martínez-Cervera, S., de la Hera, E., Sanz, T., Gómez, M., y Salvador, A. (2013). Effect of nutriose on rheological, textural and sensorial characteristics of Spanish muffins. *Food and Bioprocess Technology, 6*(8), 1990-1999.

Mathias-Rettig, K., y Ah-Hen, K. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro sur, 42*(2), 57-66.

Mert, B., y Demirkesen, I. (2016). Evaluation of highly unsaturated oleogels as shortening replacer in a short dough product. *LWT-Food Science and Technology, 68*, 477-484.

Onacik-Gür, S., Żbikowska, A., y Jaroszewska, A. (2015). Effect of high-oleic sunflower oil and other pro-health ingredients on physical and sensory properties of biscuits. *CyTA-Journal of Food, 13*(4), 621-628.

Patel, A. R., Rajarethinem, P. S., Gręd owska, A., Turhan, O., Lesaffer, A., De Vos, W. H., ... y Dewettinck, K. (2014). Edible applications of shellac oleogels: spreads, chocolate paste and cakes. *Food & function, 5*(4), 645-652.

Picallo, A. (2009). Análisis sensorial de los alimentos: El imperio de los sentidos. *Universidad de Buenos Aires*. http://repositoriouba.sisbi.uba.ar/gsdl/collect/encruci/index/assoc/HWA_257.dir/257.PDF. Último acceso: 07/08/2019.

Ramcharitar, A., Badrie, N., Mattfeldt-Beman, M., Matsuo, H., y Ridley, C. (2005). Consumer acceptability of muffins with flaxseed (Linum usitatissimum). *Journal of Food Science, 70*(7), s504-s507.

Sapirstein, H. D., Roller, R., y Bushuk, W. (1994). Instrumental measurement of bread crumb grain by digital image analysis. *Cereal Chemistry, 71*(4), 383-391.

Tarancón, P., Salvador, A., y Sanz, T. (2013). Sunflower oil–water–cellulose ether emulsions as trans-fatty acid-free fat replacers in biscuits: texture and acceptability study. *Food and Bioprocess Technology, 6*(9), 2389-2398.

Yilmaz, E., y Öğütcü, M. (2015a). The texture, sensory properties and stability of cookies prepared with wax oleogels. *Food & function, 6*(4), 1194-1204.

Yilmaz, E., y Öğütcü, M. (2015b). Oleogels as spreadable fat and butter alternatives: sensory description and consumer perception. *RSC Advances, 5*(62), 50259–50267.

Zhou, J., Faubion, J. M., y Walker, C. E. (2011). Evaluation of different types of fats for use in high-ratio layer cakes. *LWT-Food Science and Technology, 44*(8), 1802-1808.

van Kleef, E., van Trijp, H.C.M., y Luning, P. 2005. Consumer research in the early stages of new product development: a critical review of methods and techniques. *Food Quality and Preference,16*, 181–201.

Capítulo

5

ESTABILIDAD DE OLEOGELES

5.1 Introducción

La red cristalina en materiales grasos es una entidad dinámica, ya que experimenta muchos cambios durante el almacenamiento (Dassanayake y col., 2011). Si bien se han realizado muchos estudios con el fin de entender la nano, micro y macro estructura de los oleogeles compuestos por monoglicéridos (MG) y aceites vegetales, son limitados los estudios en los que se ha analizado la estabilidad de estos materiales. Ojijo y col. (2004) estudiaron los cambios producidos en las propiedades microestructurales, térmicas y reológicas de oleogeles de MG y aceite de oliva durante un período de 8 semanas de almacenamiento a 25 °C. En este estudio se reportó que luego del almacenamiento, las redes de MG mostraron una disminución en el tamaño de sus elementos microestructurales y, como consecuencia de ello, un incremento en su dureza. Da Pieve y col. (2011) investigaron la influencia de la estructura de oleogeles de MG en la estabilidad oxidativa de aceite de hígado de bacalao en un período de tiempo de 40 días. Se concluyó que la estructuración de aceite lograda por la adición de MG puede ser una estrategia prometedora para extender la vida útil del aceite de hígado de bacalao mediante la disminución de la velocidad de formación de productos de oxidación secundarios. Yılmaz y Ögütcü (2014) estudiaron oleogeles formados por aceite de avellanas estructurados con MG y cera de abeja. Estos materiales fueron caracterizados y se midieron sus propiedades cada un mes durante 90 días de

almacenamiento. Debido a que no hubo cambios significativos en las propiedades de textura de los oleogeles y, además, estos materiales fueron muy estables frente a la oxidación, se pudo probar la gran estabilidad de estos oleogeles durante el almacenamiento.

Como se ha especificado en los capítulos previos, el aceite de girasol alto oleico es considerado una fuente de lípidos de alta calidad para obtener oleogeles con aplicaciones alimentarias debido a su composición química y por ende su gran estabilidad oxidativa, disponibilidad y costo (Chaves y col., 2018). Estudios reportados en literatura sugieren que los procesos de preparación y formación de los oleogeles no producirían cambios en la composición acídica ni en los isómeros de los aceites. Sin embargo, la preparación de estos oleogeles consiste básicamente en el calentamiento y agitación de mezclas del aceite vegetal y el agente estructurante, por lo cual ambas condiciones podrían representar factores negativos en el proceso de deterioro de los componentes de estos materiales (Lim, Hwang, y Lee, 2017). Una de las reacciones de deterioro más importantes en grasas y aceites es la oxidación lipídica. Su ocurrencia puede modificar significativamente la calidad del producto a través de cambios no solo químicos, sino también de las características organolépticas (sabor, olor, color) y de textura. Por ende, la reacción de oxidación lipídica conlleva a la disminución de la vida útil del producto (Gunstone y col., 2007).

Teniendo en cuenta que los cambios en las propiedades fisicoquímicas de los oleogeles podrían afectar en gran medida a las propiedades de los alimentos elaborados con ellos, el estudio de sus propiedades durante el almacenamiento resulta de interés particular en la evaluación de la aplicación de oleogeles como potenciales alternativas de las materias grasas que se buscan reemplazar (Almeida y Bahia, 2006).

Como se ha mencionado previamente en esta tesis, las propiedades reológicas macroscópicas de las redes estructurales que componen a las grasas son de extrema importancia en los productos alimenticios que contienen cantidades significativas de grasas, tales como mantecas, margarinas, chocolate, y otros productos para untar. Muchos de los atributos sensoriales, como elasticidad, sensación en la boca y textura, dependen directamente de las propiedades reológicas. En este sentido, es importante recordar que la

estructura de las redes cristalinas se compone de elementos nanoestructurales que conforman a la vez la microestructura. La microestructura formada surge como resultado de interacciones de diferentes tipos, en general, fuerzas no covalentes de tipo van der Waals, puente hidrógeno, etc. (Narine y Marangoni, 2002).

En base a estas consideraciones, el objetivo del trabajo presentado en este capítulo fue estudiar la estabilidad fisicoquímica de oleogeles formulados a partir de aceite de girasol alto oleico y MG saturados, durante su almacenamiento a 5 °C durante un período de tiempo (t) de 8 semanas. Teniendo en cuenta que para la elaboración de las magdalenas el oleogel obtenido bajo las condiciones de optimización 2 dio lugar a un producto con mejores propiedades respecto del correspondiente a la optimización 1 (Capítulo 4), se seleccionó este oleogel para llevar a cabo el análisis de estabilidad. De este modo, se evaluaron las siguientes características fisicoquímicas: capacidad de retención de aceite (OBC), propiedades de textura, tales como dureza (DU), adhesividad (AD) y cohesividad (CO), módulo elástico, comportamiento térmico, color, índice de peróxidos (IP), microestructura y polimorfismo.

Cabe destacar que no existen trabajos en la literatura referidos a la estabilidad de estos materiales en particular, por lo cual este estudio es innovador y aporta información útil y necesaria para evaluar la aplicabilidad de estas alternativas potenciales de materia grasa.

5.2 Metodología

5.2.1 Materiales

Para la formulación de oleogeles se utilizó aceite de girasol alto oleico (GAO) y monoglicéridos (Myv-2), cuya composición se encuentra descripta en las secciones 2.2.1 y 2.2.2, respectivamente.

5.2.2 Métodos

La preparación de los oleogeles de aceite de GAO y MG se realizó acorde a la técnica descripta en la sección 2.3.3, bajo las condiciones de procesamiento correspondientes al oleogel optimizado 2 (sección 3.4.1). Para la evaluación de las propiedades de los oleogeles en el tiempo (evaluación semanal, tiempo total= 8 semanas) se siguió la metodología descripta en las siguientes secciones.

5.2.2.1 Módulo elástico

La evaluación del módulo elástico (G') durante el período de almacenamiento estudiado se realizó mediante el modelo matemático planteado en la sección 2.3.5.2 del Capítulo 2, analizando los parámetros log G_0', $m_{G'}$ y n.

5.2.2.2 Propiedades de textura

Las propiedades de textura de los oleogeles se midieron de acuerdo a la metodología descripta en la sección 2.3.4.3. Se determinaron los parámetros: dureza (DU), adhesividad (AD) y cohesividad (CO).

5.2.2.3 Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite (OBC) se midió siguiendo la metodología descripta en la sección 2.3.4.1.

5.2.2.4 Comportamiento térmico

Le evolución del comportamiento térmico de los oleogeles se realizó acorde a la metodología detallada en la sección 2.3.4.5. A partir de los termogramas obtenidos para cada tiempo analizado, se calcularon los parámetros que caracterizan el comportamiento térmico

de los oleogeles: la temperatura de inicio de fusión (T_o), la temperatura de pico (T_{pk}), y el cambio en la entalpía debido al proceso de fusión (ΔH_M).

5.2.2.5 Microestructura

El análisis de la microestructura se llevó a cabo siguiendo la metodología descripta en la sección 2.3.4.4. Para cada muestra obtenida de forma independiente se tomaron cuatro fotos. La longitud de los cristales (L_c) se determinó para cada tiempo usando el software Image Pro-Plus software 7.0 (National Institutes of Health, Estados Unidos). Para cada imagen se tomaron al menos diez mediciones, sumando un total de 120 mediciones para cada condición. A partir de estos datos, la distribución de tamaño de cristales se obtuvo a partir de un histograma de frecuencias mediante la herramienta Histogramas del programa Excel (Microsoft Office 2019). La longitud de cristales promedio fue reportada a través del parámetro D_{50}, el cual se define como el tamaño de partícula promedio debajo del cual se ubica la mitad de la población. La dispersión de la distribución de tamaños fue reportada a través del parámetro Span, S, que se calcula como $(D_{90}-D_{10})/D_{50}$, siendo D_{90} y D_{10} el tamaño de partícula debajo del cual se ubica el 90% y 10% de la población, respectivamente (Palla y col., 2019).

5.2.2.6 Polimorfismo

Con el objetivo de determinar las formas polimórficas presentes en los oleogeles, se llevó a cabo la técnica de difracción de rayos X luego del almacenamiento a 25 y 5 °C durante 24 h. El análisis y la interpretación de los resultados se llevó a cabo siguiendo la metodología indicada en la sección 2.3.4.6 (Capítulo 2). En este caso, los difractogramas de los oleogeles fueron obtenidos en un Difractómetro de rayos X Philips X'Pert 3040 MPD (PANalytical, Holanda), con un detector PW3050/00 ($\theta/2 - \theta$) operando con alcance de escaneo para 2θ desde 3° hasta 30°, longitud de onda 1,55 Å, a temperatura ambiente. De los difractogramas

obtenidos, se extrajo la información de la distancia entre los planos de la red cristalina (d, Å) para las señales que se observaron con mayor intensidad. Las formas polimórficas de los cristales fueron identificadas de acuerdo a la Tabla 2.4 (Capítulo 2) (Pomeranz, 1991).

5.2.2.7 Color

El color de los oleogeles fue medido acorde a la técnica descripta en la sección 4.3.3. Las mediciones de los parámetros de color (L*, a*, b*) se realizaron en tres puntos distintos correspondientes a la superficie del material, y se calculó la diferencia de color (ΔE^*, Ec. 4.1) entre los oleogeles evaluados el mismo día de su preparación, tiempo inicial (t= 0) , y aquellos evaluados a distintos tiempos de almacenamiento.

5.2.2.8 Índice de peróxidos

Con el objetivo de evaluar la estabilidad oxidativa de los oleogeles, se midió el índice de peróxidos (IP) mediante el Método Cd 8-53 (AOCS, 1997). De acuerdo a este método, la muestra a analizar, disuelta en ácido acético y cloroformo, se trata con solución de yoduro potásico y, por último, se agrega una solución indicadora de almidón. El yodo liberado se valora con solución valorada de tiosulfato sódico hasta el viraje del almidón. El IP permite cuantificar el estado de oxidación de un producto y se expresa en miliequivalentes de oxígeno activo por kg de producto (meq O_2/kg).

5.2.2.9 Análisis estadístico

Todos los resultados se expresaron como el promedio ± desviación estándar. Las determinaciones llevadas a cabo en este capítulo se realizaron por triplicado. Para determinar diferencias debidas a las distintas formulaciones ensayadas, se usó un análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5% usando el test de Fisher. Los análisis estadísticos fueron realizados usando el programa InfoStat (Di Rienzo y col., 2011).

5.3 Resultados

5.3.1 Módulo elástico

En la Tabla 5.1 se presentan los valores de los parámetros del modelo correspondiente al módulo elástico (Ec. 2.3, Capítulo 2).

Tabla 5.1. Parámetros correspondientes al modelo propuesto para describir el comportamiento del módulo elástico (log G_0', $m_{G'}$, n) de los oleogeles almacenados durante 8 semanas a 5 ºC.

Tiempo (semanas)	log G_0'	$m_{G'}$	n
0	4,56±0,03^{a}	0,044±0,001^{a}	0,90±0,05^{cd}
1	4,56±0,04^{a}	0,046±0,001^{a}	0,82±0,01^{d}
2	4,57±0,02^{a}	0,046±0,001^{a}	0,88±0,05^{cd}
3	4,53±0,00^{ab}	0,055±0,002^{a}	0,88±0,05^{b}
4	4,55±0,02^{a}	0,053±0,004^{a}	0,96±0,07^{ab}
5	4,38±0,06^{c}	0,042±0,001^{b}	0,91±0,01^{ab}
6	4,43±0,02^{bc}	0,052±0,001^{a}	0,95±0,03^{a}
7	4,34±0,02^{c}	0,053±0,004^{a}	0,96±0,01^{a}
8	4,38±0,03^{c}	0,057±0,005^{a}	0,88±0,02^{bc}

Valores promedio ± desviación estándar representados con una letra en común dentro de una columna no son significativamente diferentes (p > 0,05).

El parámetro log G_0' no mostró diferencias significativas durante el primer mes de almacenamiento, evidenciando una leve disminución a partir de este punto. Sin embargo, esta disminución no continuó, ya que no se observaron diferencias significativas en los valores de log G_0' durante el segundo mes de almacenamiento. La disminución observada en la semana 5 podría estar asociada a una disminución en la fuerza de los enlaces que mantienen la microestructura de la red cristalina a través del tiempo (Doan y col., 2015), aunque es importante resaltar que desde t=0 hasta t=8 semanas, la variación en log G_0' fue muy leve (~4 %). Por otro lado, los parámetros que definen la estabilidad de la estructura, $m_{G'}$, y n, si bien mostraron algunos cambios significativos a lo largo del tiempo de almacenamiento estudiado, en conjunto estos cambios no significaron cambios importantes

en log G'. Estos resultados permiten asegurar la estabilidad en el carácter elástico de los oleogeles durante el período de almacenamiento estudiado.

5.3.2 Propiedades de textura

Como puede verse en la Figura 5.1, luego de 8 semanas de almacenamiento la dureza de los oleogeles disminuyó significativamente desde un valor de 1,58±0,03 N a 0,83±0,02 N, sin mostrar cambios significativos en los valores de DU durante las primeras 3 semanas de almacenamiento.

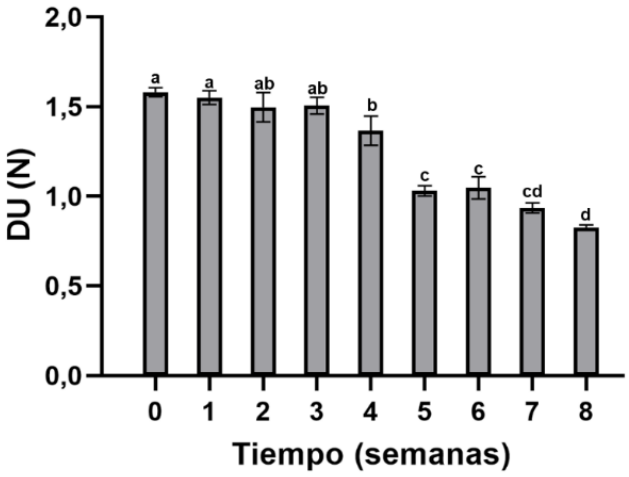


Figura 5.1. Dureza (DU) de los oleogeles a lo largo del tiempo durante un período de almacenamiento de 8 semanas a 5 ºC. Valores promedio representados con una letra en común no son significativamente diferentes (p > 0,05).

Como ya se ha mencionado, la estabilización de la estructura de un oleogel está dada mediante enlaces no covalentes, como por ejemplo, enlaces de puente hidrógeno, interacciones Van der Waals, entre otras (Co y Marangoni, 2012). Teniendo en cuenta esto y los resultados mostrados en la Figura 5.1, se podría pensar que los enlaces entre estructuras cristalinas de diferente nivel podrían haber comenzado a sufrir cambios significativos luego de t= 3 semanas, originando una disminución en la fuerza total que mantiene la estructura de la red que compone a los oleogeles, y como resultado, la evolución hacia una red cristalina

más débil. Ögütcü y Yılmaz (2014) reportaron resultados similares al analizar la dureza de oleogeles compuestos por MG y aceite de oliva almacenados durante 90 días a 4 y 20 ºC.

Los resultados del ensayo de perfil de textura proporcionan una interpretación diferente acerca de la consistencia macroscópica de la red de oleogel en comparación con lo informado previamente por el análisis de reología. Como pudo observarse, el carácter elástico de los oleogeles disminuyó levemente durante el período de almacenamiento analizado, mientras que la dureza decreció aproximadamente un 50 %. Los estudios mecánicos de alta deformación (ensayos de perfil de textura) proporcionan información sobre todos los niveles de estructura que conforman la red, mientras que las mediciones de reología a bajos niveles de deformación se relacionan principalmente con el nivel microestructural, por lo que solo los enlaces entre las microestructuras se verían afectados cuando la red se somete a un esfuerzo de este tipo (Narine y Marangoni, 1999).

En cuanto a la adhesividad (AD) (Figura 5.2), no se observaron cambios significativos en este parámetro de textura, excepto en t=3 y t=4 semanas, en los cuales la AD mostró valores significativamente mayores. Este incremento podría estar parcialmente asociado a la disminución en la capacidad de retención de aceite (efecto que, a mayor tiempo de almacenamiento, podría verse contrarrestado por otros factores no percibidos, que causarían la disminución del valor de AD hacia su valor inicial aunque OBC haya disminuido).

Respecto a la cohesividad, este parámetro de textura se incrementó con el tiempo de almacenamiento. La cohesividad está relacionada con la fuerza de los enlaces internos que componen los oleogeles, y por lo tanto caracteriza la integridad global del producto. A partir de un análisis de A1 y A3 (a partir de los cuales se define la CO, sección 2.3.4.3), se pudo observar que A1 disminuyó significativamente desde t=0 hasta t=8 semanas, mientras que A3 no cambió significativamente, variando desde 8,20±0,26 hasta 5,38±0,35 N.s, y desde 2,85±0,22 hasta 2,89±0,13 N.s, A1 y A3, respectivamente. Como consecuencia, la cohesividad (A3 / A1) aumentó a medida A1 disminuyó. Por lo tanto, se puede asegurar que esto tiene relación con los resultados encontrados para DU, lo que también concuerda con la

alta correlación existente entre estos dos atributos reportada por por Glibowski y col. (2008) en su estudio sobre las propiedades reológicas y de textura de mantecas y margarinas.

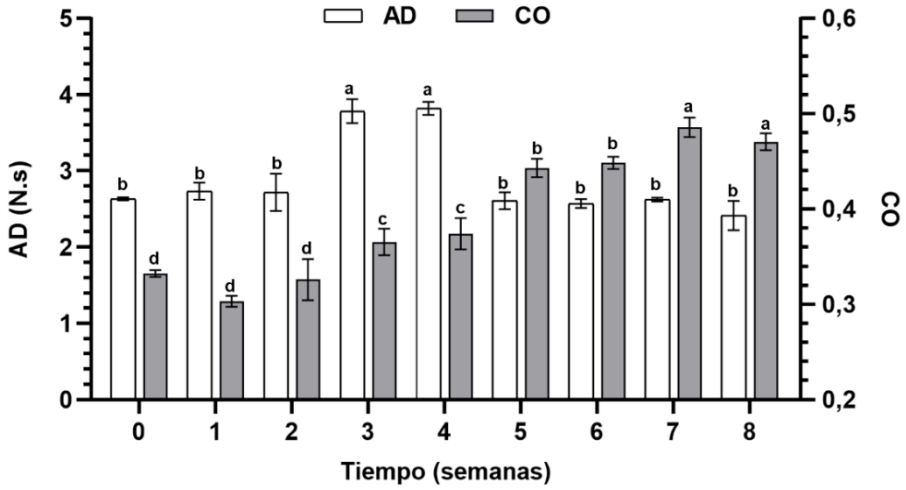


Figura 5.2. Adhesividad (AD) y cohesividad (CO) de los oleogeles a lo largo del tiempo durante un período de almacenamiento de 8 semanas a 5 ºC. Para cada propiedad, valores promedio representados con una letra en común no son significativamente diferentes (p > 0,05).

5.3.3 Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite (OBC) de los oleogeles es una de las propiedades que define su estabilidad. Dado que estos materiales se proponen como alternativas a las materias grasas semisólidas altas en grasas saturadas y/o conteniendo *trans*, deben tener una funcionalidad similar, con una estructura sólida que imparta elasticidad e impida la migración de aceite a través de la matriz alimentaria (Co y Marangoni, 2012).

En la Figura 5.3 se muestran los resultados de OBC obtenidos durante el período de tiempo analizado. Como puede verse, los valores de OBC de los oleogeles almacenados durante las primeras 3 semanas no mostraron diferencias significativas (valor promedio 90,5 %), evidenciando que los oleogeles presentaron una estructura de red estable que impide la migración de aceite en el tiempo. A partir de la cuarta semana de almacenamiento evaluada se observó una leve disminución (~3%) en este parámetro, manteniéndose en un valor promedio de 88,2 %. Estos resultados concuerdan parcialmente con los encontrados para la

dureza de los oleogeles: luego del primer mes de almacenamiento (t= 4 semanas), una posible disminución en la fuerza de los enlaces que mantienen la red cristalina (en distintos niveles estructurales) podría ser la causante de una menor estabilidad de la estructura conduciendo a una mayor migración de aceite.

Teniendo en cuenta que los valores iniciales de OBC fueron altos (~ 90 %) y no se presentaron diferencias durante las primeras tres semanas de almacenamiento, y considerando que este parámetro es uno de los factores clave que determina la efectividad de una nueva formulación de un sustituto graso (Doan y col., 2016), puede decirse que los oleogeles formulados con MG y aceite de girasol alto oleico y almacenados hasta un período de tiempo de 3 semanas se presentan como alternativas prometedoras a la materia grasa convencional utilizada en la industria alimentaria.

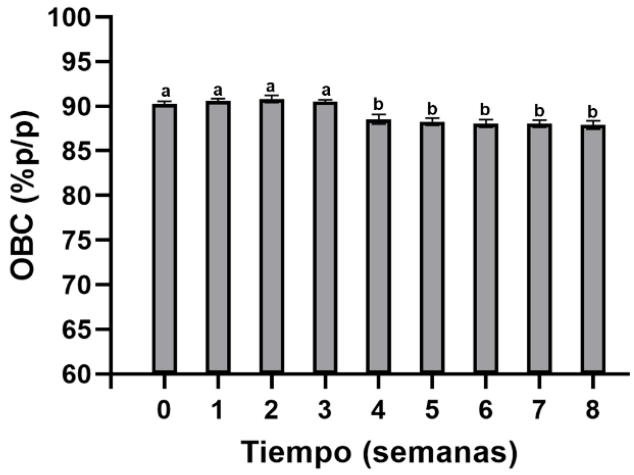


Figura 5.3. Capacidad de retención de aceite (OBC, %p/p) de oleogeles almacenados durante un período de tiempo de 8 semanas a 5 ºC. Valores promedio representados con una letra en común no son significativamente diferentes (p > 0,05).

5.3.4 Comportamiento térmico

El comportamiento térmico de los oleogeles almacenados a distintos tiempos se muestra en la Figura 5.4. Como puede observarse, se detectó sólo un pico, correspondiente a la temperatura de fusión de los monoglicéridos.

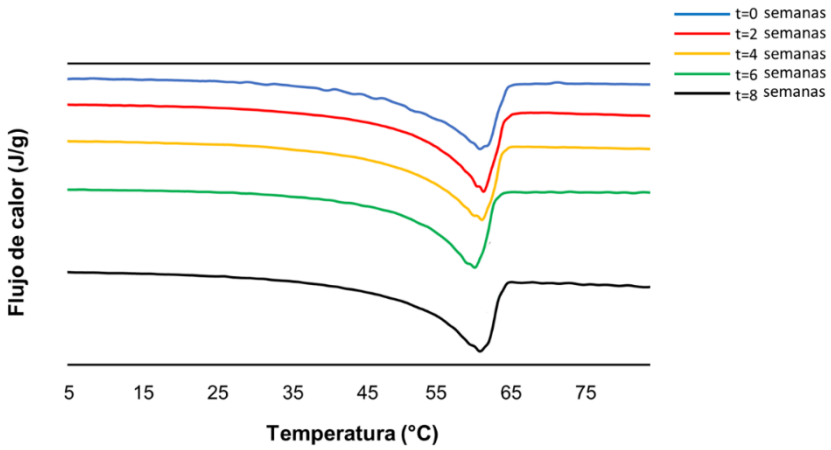


Figura 5.4. Evolución del comportamiento térmico de los oleogeles en un período de tiempo de almacenamiento de 8 semanas (t= semanas) a 5 ºC.

A partir de la Tabla 5.2 puede verse que no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros que caracterizan el comportamiento térmico de los oleogeles (T_o, T_{pk}, y ΔH_M). De esta manera, se puede inferir que la cantidad de material cristalizado no se modificó durante el tiempo de almacenamiento. Resultados similares han sido reportados previamente por Ojijo y col. (2004) en un estudio de estabilidad de oleogeles de MG y aceite de oliva durante un período de almacenamiento de 8 semanas a 25 ºC.

Tabla 5.2. Parámetros de comportamiento térmico (ΔH, T_i, T_{pi}) de los oleogeles almacenados durante un período de tiempo de 8 semanas a 5 ºC.

Tiempo (semanas)	ΔH (J/g)	T_o (ºC)	T_{pk} (ºC)
0	9,69±0,27^a	54,68±0,95^a	60,42±1,23^a
1	10,42±0,84^a	55,60±0,21^a	60,90±0,88^a
2	10,27±0,46^a	54,25±1,20^a	61,53±0,42^a
3	9,59±0,27^a	52,94±0,82^a	61,29±0,15^a
4	10,65±0,97^a	52,99±0,21^a	61,59±0,76^a
5	10,30±1,32^a	54,38±0,48^a	62,38±0,10^a
6	10,32±1,49^a	55,09±2,05^a	60,87±2,18^a
7	10,45±1,19^a	54,18±0,59^a	61,96±0,70^a
8	9,97±0,08^a	54,35±0,99^a	61,56±0,42^a

Valores promedio representados con una letra en común dentro de una columna no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

5.3.5 Microestructura

Las imágenes de la microestructura de los oleogeles almacenados durante un período de tiempo de 8 semanas puede verse en la Figura 5.5, mientras que en la Figura 5.6 se muestra la distribución del tamaño de cristales (específicamente en la longitud de cristales, L_c). Como puede observarse, los cristales de monoglicéridos se identifican en forma de aguja, constituyendo microestructuras con heterogeneidad en el tamaño de los cristales, evidenciado por el grado de polidispersión mostrado en L_c en las distribuciones de tamaño de cristales a cada tiempo de almacenamiento analizado.

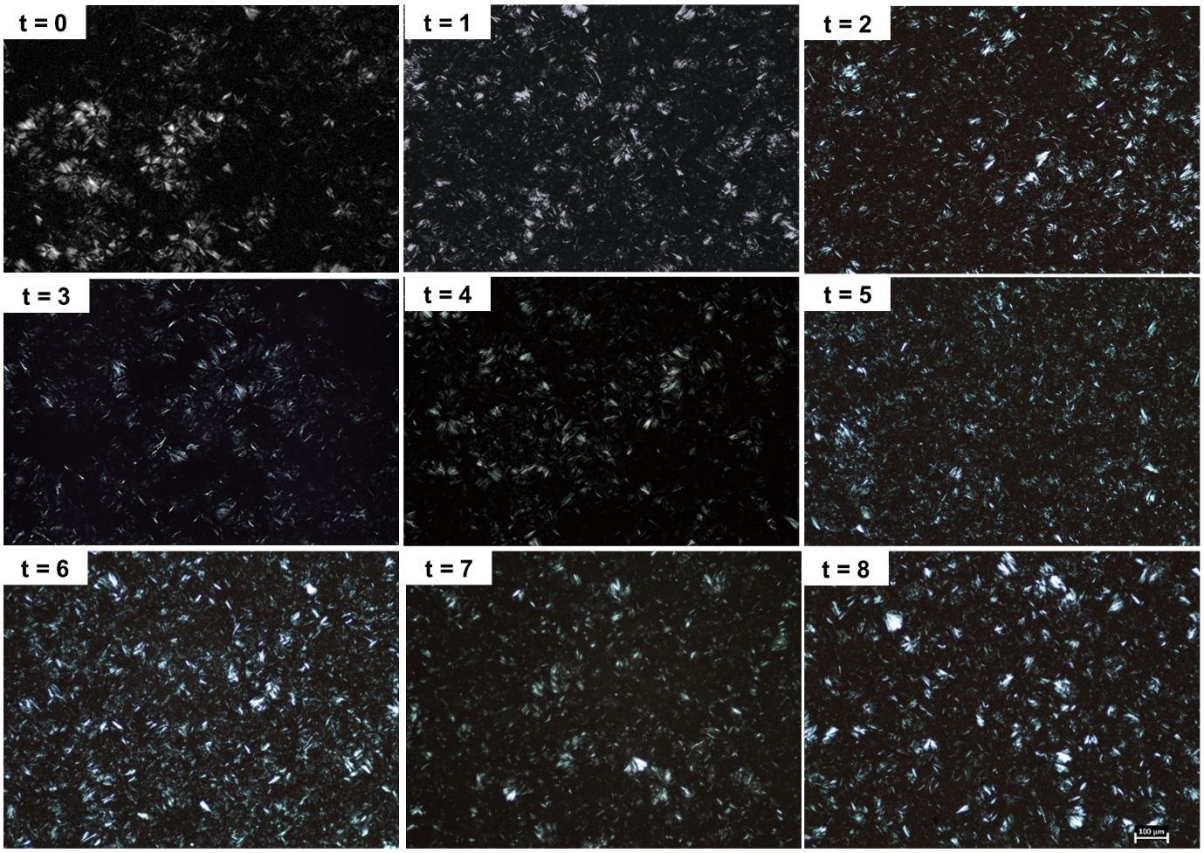


Figura 5.5. Microestructura de oleogeles de monoglicéridos y aceite de girasol alto oleico durante el almacenamiento en un período de 8 semanas (t= semanas) a 5 ºC. La barra corresponde a 100 µm.

.

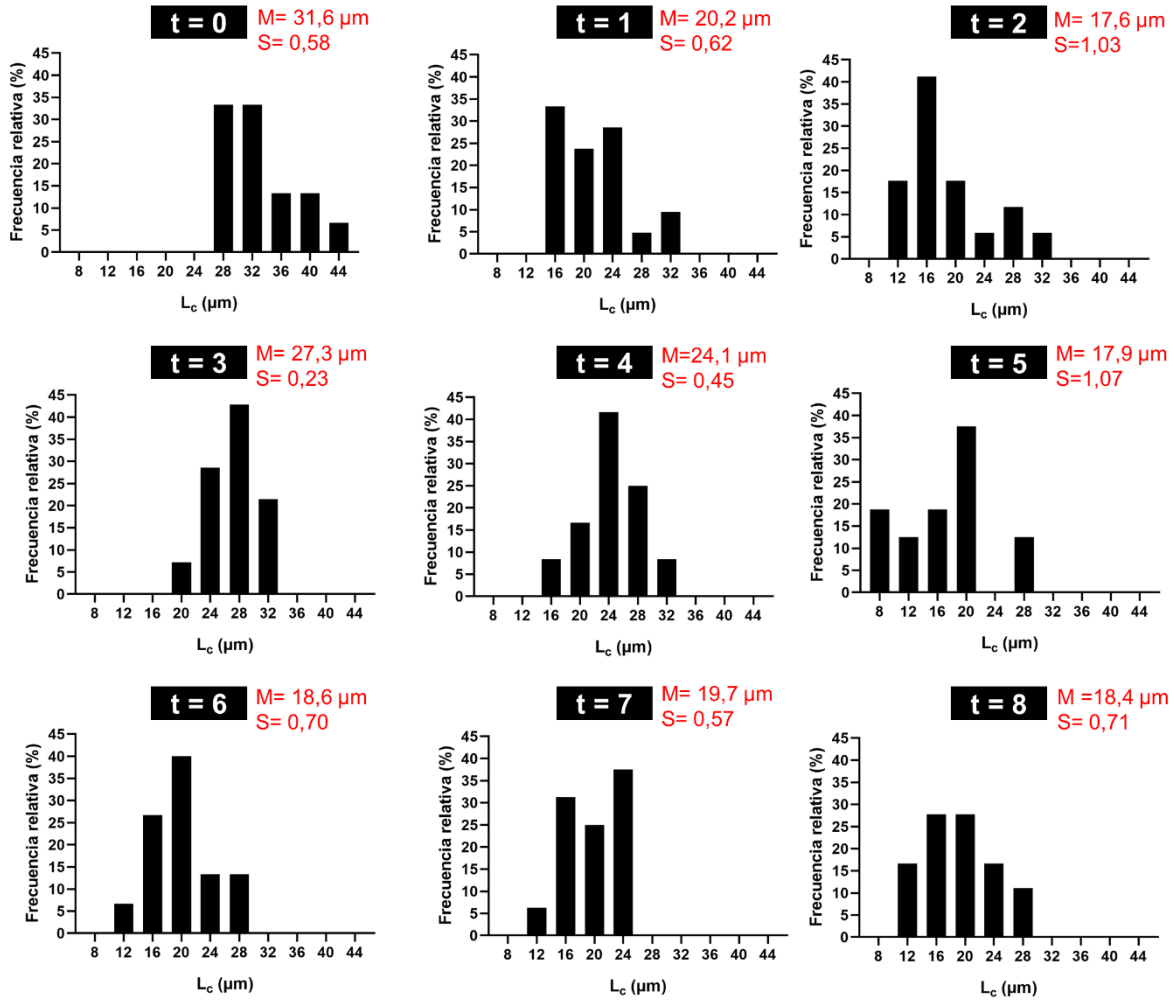


Figura 5.6. Distribución de tamaño de los cristales de monoglicéridos que componen la estructura de los oleogeles almacenados en distintos tiempos (t, semanas) a 5 ºC, en base a la longitud de cristal (L_c). Los valores indicados en rojo corresponden a la mediana (M) y el span (S) de cada población.

Durante el período de almacenamiento analizado, L_c disminuyó desde 31,6 µm (t=0) hasta 18,4 µm (t=8 semanas), lo que evidenció una disminución en el tamaño de cristales de ~40%; sin embargo, se observaron algunas variaciones a este comportamiento durante el período de tiempo estudiado. En su estudio de oleogeles a base de ceras de girasol, Blake y Marangoni (2015) reportaron la influencia de la longitud de cristales que conforman la red cristalina en la migración de aceite a través de dicha red. Estos autores concluyeron que al disminuir L_c, aumenta OBC como consecuencia del incremento del área superficial disponible para atrapar mayor cantidad de aceite. Esta relación no se verificó en la evaluación del efecto del almacenamiento de los oleogeles reportada en este capítulo. Por otro lado, la disminución

en L_c no se reflejó en el aumento esperado para la dureza. Probablemente, el debilitamiento de los enlaces que mantienen los elementos microestructurales unidos, evidenciado por la disminución en la dureza, estaría dado por cambios en las interacciones a otro nivel estructural de la red cristalina.

5.3.6 Polimorfismo

Con el propósito de observar los cambios que podrían ocurrir en la estructura cristalina de los oleogeles como consecuencia del tiempo de almacenamiento, se utilizó la técnica de difracción de rayos X (sección 2.3.4.6). Un difractograma típico de las estructuras cristalinas correspondiente a estos oleogeles se muestra en la Figura 5.7.

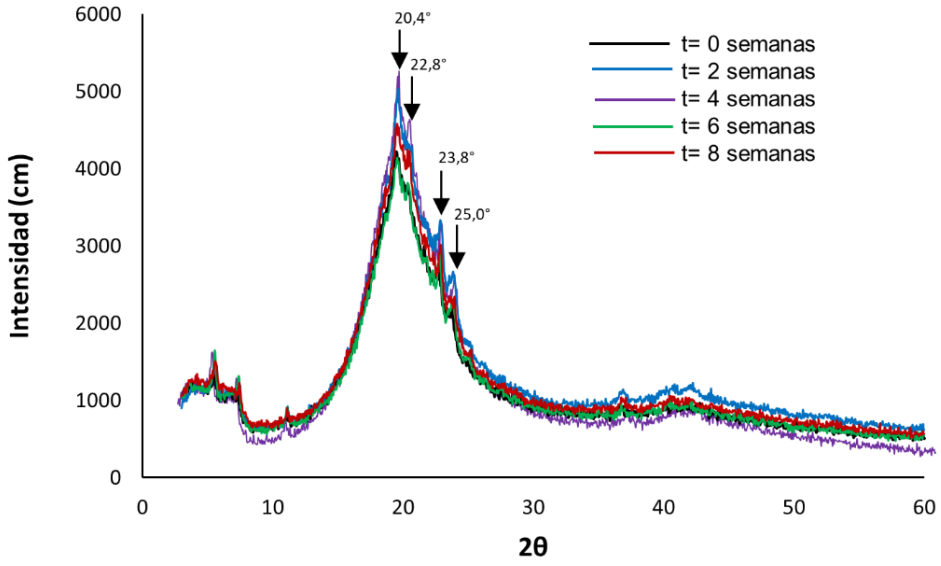


Figura 5.7. Difractogramas correspondientes a oleogeles de monoglicéridos y aceite de girasol alto oleico almacenados durante su almacenamiento (t= semanas) a 5 °C. Las flechas indican los picos característicos de los monoglicéridos.

Como puede verse, se detectaron cuatro picos característicos, correspondientes a los monoglicéridos en su estado cristalino (Da Pieve y col., 2011, Goldstein y col., 2012). A partir del análisis de los difractogramas obtenidos, puede verificarse la presencia de cuatro picos,

en el rango 2θ= 25,0-23,8-22,8-20,4° correspondientes a d= 3,6-3,8-3.9-4,3 Å, característicos de la forma polimórfica β', no detectándose las formas α (2θ= 21,4°, d=4,15 Å) ni β (2θ= 19,3°, d=4,60 Å) (Szydłowska-Czerniak y col., 2005). Además, no se observaron cambios en la morfología de la red cristalina, verificando de esta manera la estabilidad en la estructura de los oleogeles. Resultados similares fueron encontrados por Ferro y col. (2019) en su estudio de aceite de girasol estructurado con 5 %p/p de monoestearato de glicerol. La presencia de esta forma cristalina proporciona a las materias grasas la funcionalidad deseada para ser incorporadas en alimentos, especialmente en productos aireados donde se requiere de una textura esponjosa y homogénea (Ferro y col., 2019). De este modo, la forma β' presente en los oleogeles de MG permite obtener una estructura similar a la de margarinas y productos para untar, lo que incrementa el potencial que presentan los oleogeles como sustitutos efectivos de dichos productos grasos.

5.3.7 Color

Generalmente, el color de los oleogeles depende en gran medida del aceite utilizado en su formulación (Yılmaz y Ögütcü, 2014). En la Tabla 5.3 se observa la evolución en el color de los oleogeles durante las 8 semanas de almacenamiento, expresado a través de los parámetros L*, a* y b* de acuerdo a la escala CIELAB y de la diferencia de color respecto al estado inicial, ΔE.

Con respecto a la luminosidad (L*), se observó una disminución en este parámetro de color a partir de la cuarta semana de almacenamiento. Este cambio podría estar relacionado con el incremento observado en el índice de peróxidos desde t=0 hasta t=8 semanas (sección 5.3.8). Como se mencionó previamente, la oxidación lipídica produce deterioro del material pudiendo alterar el color del mismo, entre otras características organolépticas. El valor de a* no mostró diferencias significativas en las primeras semanas, incrementándose significativamente en su valor negativo a partir de t= 6 semanas; en cambio, b* aumentó

desde el valor inicial hasta un valor máximo en t= 5 semanas, disminuyendo levemente a partir de esta semana hasta alcanzar un valor similar al correspondiente al oleogel inicial.

Tabla 5.3. Parámetros de color (L*, a*, b* y ΔE) de los oleogeles analizados durante el almacenamiento de oleogeles a 5 °C.

Tiempo (semanas)	L*	a*	b*	ΔE
0	45,6±0,3^{a}	-4,0±0,0^{b}	3,0±0,1^{d}	0,00
1	45,8±0,3^{a}	-3,9±0,0^{b}	2,9±0,0^{d}	0,48
2	45,8±0,5^{a}	-4,0±0,0^{b}	3,0±0,1^{d}	0,40
3	46,0±0,1^{a}	-4,0±0,1^{b}	3,6±0,1^{b}	0,52
4	44,4±0,0^{b}	-4,1±0,1^{b}	3,4±0,1^{c}	1,19
5	43,8±0,2^{bc}	-4,0±0,0^{b}	3,9±0,1^{a}	1,87
6	43,6±0,2^{c}	-4,4±0,0^{a}	3,0±0,0^{d}	2,05
7	43,7±0,6^{bc}	-4,3±0,1^{a}	2,6±0,2^{e}	2,03
8	43,5±0,4^{c}	-4,3±0,0^{a}	2,9±0,1^{d}	2,15

Valores promedio representados con una letra en común dentro de una columna no son significativamente diferentes (p > 0,05).

Si bien se observaron cambios significativos en los parámetros de color de los oleogeles durante el tiempo de almacenamiento respecto del color inicial, estos cambios no serían perceptibles al ojo humano (ΔE < 3) (Francis y Clydesdale, 1975).

5.3.8 Índice de peróxidos

La estabilidad oxidativa de los oleogeles formulados se evaluó mediante la medición del índice de peróxidos (IP). El aceite de girasol alto oleico es considerado una fuente de lípidos de alta calidad para obtener oleogeles para aplicaciones en alimentos debido a su gran estabilidad oxidativa (Chaves y col., 2018).

Como puede verse en la Tabla 5.4, todos los oleogeles mostraron valores muy inferiores al límite máximo permitido para la comercialización de aceites y grasas refinadas (10 meq O_2/kg) (Artículo 528. Código Alimentario Argentino, 2012). Se observó un incremento desde 0,25±0,01 meq O_2/kg en t=0 hasta 0,32±0,04 meq O_2/kg en t=8 semanas. Esto indicaría

que las características estructurales de los oleogeles no favorecerían la promoción de las primeras etapas de las reacciones de oxidación. Debido a que la velocidad de formación de peróxidos depende de la disponibilidad de oxígeno en el sistema, la presencia de una red cristalina de monoglicéridos que estructura el aceite representaría un obstáculo para el ingreso del oxígeno en los sitios de reacción (Da Pieve y col., 2011). Resultados similares han sido reportados previamente por Yılmaz y Ögütcü (2014) en su estudio sobre el almacenamiento de oleogeles a base de aceite de avellanas, monoglicéridos y ceras de abeja durante 3 semanas a temperaturas de 5 y 20 ºC. Además, se encontró un incremento en el IP del aceite de girasol de alto oleico de 37%, en comparación con un aumento de 28% observado en los oleogeles, lo que indicaría que la estructuración de este aceite con monoglicéridos favorecería su estabilidad oxidativa.

Tabla 5.4. Índice de peróxidos (IP) de los oleogeles analizados durante su almacenamiento a 5 °C.

Tiempo (semanas)	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**
IP ($meqO_2/kg$)	$0,25\pm0,01^{b}$	$0,24\pm0,01^{b}$	$0,25\pm0,00^{b}$	$0,25\pm0,02^{b}$	$0,27\pm0,01^{ab}$
Tiempo (semanas)	5	6	7	8	
IP ($meqO_2/kg$)	$0,27\pm0,01^{ab}$	$0,27\pm0,02^{ab}$	$0,29\pm0,01^{a}$	$0,32\pm0,04^{a}$	

Valores promedio representados con una letra en común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

5.4 Conclusiones

Los resultados obtenidos permitieron demostrar una gran estabilidad en los oleogeles formulados durante las primeras tres semanas de almacenamiento, sin mostrar diferencias significativas en sus principales características fisicoquímicas: capacidad de retención de aceite, dureza, elasticidad y color. Además, todos los oleogeles presentaron alta estabilidad oxidativa al mostrar valores muy bajos del índice de peróxidos. De esta manera, se podría asegurar la potencial aplicación de los oleogeles obtenidos en formulaciones alimenticias con la finalidad de lograr productos con un perfil nutricional mejorado. Sin embargo, se reconoce

la necesidad de realizar estudios posteriores respecto al comportamiento de los oleogeles dentro de la matriz alimenticia de aplicación, con el objetivo de analizar las interacciones de estos materiales con el resto de los ingredientes atendiendo al análisis de la estabilidad del producto final.

Al analizar en conjunto los resultados obtenidos en el total de tiempo de almacenamiento evaluado, puede decirse que de todos los parámetros analizados la dureza fue aquel que resultó más afectado, reduciéndose a la mitad desde su valor inicial hasta el alcanzado luego de 8 semanas de almacenamiento a 5 ºC, y sin mostrar la correlación esperada con la variación en la distribución del tamaño de cristales. Tanto el módulo elástico como la capacidad de retención de aceite disminuyeron levemente, mientras que el comportamiento térmico no se modificó. Si bien se observaron cambios en el tamaño de los cristales, lo cual podría indicar cambios en el polimorfismo de estos materiales, esto no se alcanzó a detectar en el análisis correspondiente, verificando de esta manera la estabilidad en la estructura de los oleogeles. Se confirmó la presencia de la forma β', siendo éste el carácter polimórfico deseado en potenciales sustitutos grasos, que requieren propiedades elásticas y plásticas que permitan reemplazar la funcionalidad de margarinas.

5.5 Referencias

Almeida, I. F., y Bahia, M. F. (2006). Evaluation of the physical stability of two oleogels. *International Journal of Pharmaceutics, 327*(1-2), 73-77.

AOCS. (1997). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (5th ed.). AOCS Press, Champaign.

Blake, A. I., y Marangoni, A. G. (2015). The use of cooling rate to engineer the microstructure and oil binding capacity of wax crystal networks. *Food Biophysics, 10*(4), 456-465.

Chaves, K. F., Barrera-Arellano, D., y Ribeiro, A. P. B. (2018). Potential application of lipid organogels for food industry*. Food Research International, 105*, 863-872.

Co, E. D. y Marangoni, A. G. (2012). Organogels: An Alternative Edible Oil-Structuring Method. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 89*, 749-780.

Código Alimentario Argentino. (2012). *Capitulo VII: Alimentos Grasos, Aceites Alimenticios*. Buenos Aires, Argentina: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat-capitulo_vii_grasosactualiz_2018-12.pdf. Último acceso: 22/10/2019.

Da Pieve, S., Calligaris, S., Co, E., Nicoli, M. C. y Marangoni, A. G. (2010) Shear Nanostructuring of Monoglyceride Organogels. *Food Biophysics, 5*, 211-217.

Da Pieve, S., Calligaris, S., Panozzo, A., Arrighetti, G., y Nicoli, M. C. (2011). Effect of monoglyceride organogel structure on cod liver oil stability. *Food Research International, 44*(9), 2978-2983.

Dassanayake, L. S. K., Kodali, D. R., y Ueno, S. (2011). Formation of oleogels based on edible lipid materials. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, 16*(5), 432-439.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C. W. (2011). InfoStat version 2011 Retrieved from www.infostat.com.ar

Doan, C. D., Van de Walle, D., Dewettinck, K., y Patel, A. R. (2015). Evaluating the oil-gelling properties of natural waxes in rice bran oil: rheological, thermal, and microstructural study. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 92*(6), 801-811.

Doan, C. D., Patel, A. R., Tavernier, I., De Clercq, N., Van Raemdonck, K., Van de Walle, D., ... y Dewettinck, K. (2016). The feasibility of wax-based oleogel as a potential co-structurant with palm oil in low-saturated fat confectionery fillings. *European Journal of Lipid Science and Technology, 118*(12), 1903-1914.

Ferro, A. C., Okuro, P. K., Badan, A. P., y Cunha, R. L. (2019). Role of the oil on glyceryl monostearate based oleogels. *Food Research International, 120*, 610-619.

Francis, F. J., y Clydesdale, F. M. (1975). Food colorimetry: theory and applications. AVI Publishing Co. Inc.

Glibowski, P., Zarzycki, P., y Krzepkowska, M. (2008). The rheological and instrumental textural properties of selected table fats. *International Journal of Food Properties, 11*(3), 678-686.

Gunstone, F. D., Harwood, J. L., y Dijkstra, A. J. (2007). The lipid handbook with CD-ROM. CRC press.

Lim, J., Hwang, H. S., y Lee, S. (2017). Oil-structuring characterization of natural waxes in canola oil oleogels: rheological, thermal, and oxidative properties. *Applied Biological Chemistry, 60*(1), 17-22.

López-Martínez, A., Morales-Rueda, J. A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M. A., Marangoni, A. G. y Toro-Vazquez, J. F. (2014). Comparing the crystallization and rheological behavior of organogels developed by pure and commercial monoglycerides in vegetable oil. *Food Research International, 64*, 946-957.

Narine, S. S., y Marangoni, A. G. (1999). Relating structure of fat crystal networks to mechanical properties: a review. *Food Research International*, *32*(4), 227-248.

Ojijo, N. K. O., Kesselman, E., Shuster, V., Eichler, S., Eger, S., Neeman, I. y Shimoni, E. (2004). Changes in microstructural, thermal, and rheological properties of olive oil/monoglyceride networks during storage. *Food Research International, 37*, 385-393.

Öğütcü, M., y Yılmaz, E. (2014). Oleogels of virgin olive oil with carnauba wax and monoglyceride as spreadable products. *Grasas y Aceites, 65*(3), 040.

Palla, C., de Vicente, J., Carrín, M. E., y Ruiz, M. J. G. (2019). Effects of cooling temperature profiles on the monoglycerides oleogel properties: A rheo-microscopy study. *Food Research International, 125*, 108613.

Pernetti, M., van Malssen, K. F., Flöter, E., y Bot, A. (2007). Structuring of edible oils by alternatives to crystalline fat. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, 12*, 221–231.

Pomeranz, Y. (1991) *Functional Properties of Food Components*. San Diego, CA: Academic Press

Rogers, M. A. (2009). Novel structuring strategies for unsaturated fats–Meeting the zero-trans, zero-saturated fat challenge: A review. *Food Research International, 42*(7), 747-753.

Szydłowska-Czerniak, A., Karlovits, G., Lach, M., y Szłyk, E. (2005). X-ray diffraction and differential scanning calorimetry studies of β′→ β transitions in fat mixtures. *Food Chemistry, 92*(1), 133-141.

Yılmaz, E., y Ögütcü, M. (2014). Properties and Stability of Hazelnut Oil Organogels with Beeswax and Monoglyceride. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 91*, 1007-1017.

APLICACIÓN DE ULTRASONIDO EN LA OBTENCIÓN DE OLEOGELES

Capítulo 6

6.1 Introducción

Como se mencionó anteriormente (sección 1.2.2.1, Capítulo 1), la aplicación de US en diferentes etapas del procesamiento de alimentos presenta gran potencial por ser considerada una técnica más sustentable y beneficiosa respecto a los procesos convencionales, debido a que implica la reducción del consumo de energía y tiempo de procesamiento, y la mejora de la calidad del producto (Gallo y col., 2018). En los últimos años, se ha investigado la aplicación de US como tratamiento complementario para favorecer procesos típicos de la industria de alimentos, como la filtración, la deshidratación, la extracción, el mezclado y la congelación. Otros ejemplos de su aplicación industrial son la homogeneización y pasteurización de leche, la desgasificación durante distintas etapas de procesamiento, la inactivación enzimática, y la pasteurización de jugos de frutas o vegetales, entre otros (Majid y col., 2015).

Como ya se ha establecido y fundamentado a lo largo de esta tesis, las características físicas y estructurales de los oleogeles, considerados sustitutos o alternativas saludables de las grasas saturadas y *trans*, quedan definidas tanto por su composición química como por las condiciones térmicas y mecánicas establecidas durante su procesamiento. Dado que durante el proceso de cristalización de lípidos se generan cambios en su estructura interna, morfología y ordenamiento molecular, la aplicación de US puede modificar este proceso,

alterando el crecimiento de cristales, promoviendo la formación de cristales más pequeños, y por ende, modificando las características texturales de este tipo de productos (Ye y col., 2011; Jana y Martini, 2014; Rincón-Cardona y col., 2015). La aplicación de ultrasonido de alta intensidad con el fin de modificar la cristalización (sonocristalización) de lípidos ha sido ampliamente estudiada (Higaki y col., 2001; Martini y col., 2008). En general, los resultados de estos trabajos demuestran que el uso de US induce la formación de cristales pequeños y promueve la generación de formas polimórficas estables, disminuyendo el tiempo de inducción necesario para la cristalización y generando estructuras con mayor dureza y elasticidad. La mejora en las propiedades funcionales de sistemas grasos lograda por la aplicación de US se relaciona con la formación de una red cristalina fuerte con alta capacidad de retención de aceite (Ye y col., 2011; Maruyama y col., 2016). La eficiencia del proceso de sonocristalización de los lípidos depende de las condiciones empleadas durante el mismo: temperatura, potencia y duración de sonicación, entre otras (Wagh y col., 2016). Hasta el momento, existen pocos trabajos, y de reciente publicación, sobre la aplicación de US en oleogeles (Jana y Martini, 2014; Sharifi y col., 2018; da Silva y col., 2019). Estos estudios demuestran que el uso de esta técnica de procesamiento resulta ser eficaz para modificar las propiedades finales de los oleogeles dando lugar a materiales con potencial aplicación como sustitutos de las materias grasas que se buscan reemplazar.

Si bien varios trabajos, incluyendo esta tesis, han estudiado el efecto de la velocidad de enfriamiento y la concentración de agente estructurante en oleogeles almacenados a distintas temperaturas, no se han encontrado hasta el momento estudios de investigación publicados sobre el efecto combinado de la concentración de MG, la velocidad de enfriamiento, la temperatura de almacenamiento, y la aplicación de ultrasonido de alta intensidad, en la producción de oleogeles de MG y aceite de GAO. Por ello, el objetivo de este capítulo es estudiar el efecto de emplear una baja velocidad de enfriamiento en comparación con una rápida, en combinación con la aplicación de US a diferentes concentraciones de monoglicéridos, comparando las propiedades de los oleogeles obtenidos a dos temperaturas de almacenamiento distintas. Esto se hizo con el fin de ampliar el rango

de propiedades físicas que se pueden lograr en estos oleogeles y evaluar, al mismo tiempo, la posibilidad de disminuir la cantidad de monoglicéridos usados en la formulación a fin de mejorar aún más el perfil nutricional de estos sustitutos de grasa. En primer lugar, se evaluó la aplicación de ultrasonido mediante un método de preparación inicial, que posteriormente fue modificado con el objetivo de evaluar una metodología alternativa que permitiese obtener oleogeles con propiedades fisicoquímicas mejoradas respecto a las logradas inicialmente.

6.2 Materiales y métodos

6.2.1 Materiales

Como fuente de aceite vegetal se utilizó aceite de girasol alto oleico, marca Spectrum®. Éste fue comprado en un supermercado local en Logan (Utah, Estados Unidos) y su composición en ácidos grasos, obtenida mediante análisis por cromatografía gas-líquido (CGL, sección 2.3.1), resultó en: ácidos grasos saturados (C16:0=4,03±0,03%, C18:0=2,2±0,0%, C20:0=0,2±0,0%, C22:0=0,7±0,0%, C24:0=0,3±0,0%), ácidos grasos monoinsaturados (C16:1=0,1±0,0%, C18:1=83,94±0,07%, C20:1=0,3±0,0%) y ácidos grasos poliinsaturados (C18:2=7,98±0,02%). Como agente estructurante se utilizó la mezcla comercial de monoglicéridos saturados referida en los capítulos anteriores, Myverol 18-04 K SG (Kerry, Irlanda).

6.2.2 Métodos

6.2.2.1 Preparación de oleogeles mediante aplicación de ultrasonido

El aceite de girasol alto oleico se mezcló con los monoglicéridos de manera de obtener distintas concentraciones de agente estructurante en la formulación: 3 (OG3), 4,5 (OG4,5) y 6 (OG6) %p/p. Estas concentraciones fueron seleccionadas de acuerdo a un análisis previo

(sección 3.4) en el cual se encontró que la mínima concentración de MG requerida para estructurar el aceite GAO fue de 2 %p/p, mientras que la concentración óptima de MG necesaria para lograr propiedades reológicas y de textura similares a las de una margarina comercial fue de 6 %p/p. Debido a que, como se indicó previamente, los monoglicéridos utilizados están compuestos principalmente por ácidos grasos saturados, el objetivo de testear diferentes concentraciones fue minimizar la cantidad de ácidos grasos saturados en la formulación de oleogeles.

Las mezclas fueron fundidas en un microondas y luego mantenidas a 80 °C en un horno durante 30 min para eliminar su historia térmica (Figura 6.1). Luego, la mezcla caliente se colocó en una celda de cristalización conectada a un baño de agua externo con control de temperatura. Se utilizó agitación magnética (200 rpm) con el fin de aumentar la transferencia de calor entre la muestra y el baño de agua y homogeneizar la temperatura en la totalidad de la mezcla. Las muestras fueron enfriadas desde 80 hasta 25 °C usando dos velocidades de enfriamiento diferentes, 0,1 °C/min y 10 °C/min, para representar baja y alta velocidad, respectivamente. Estos valores fueron seleccionados de acuerdo a estudios previos (Herrera y Hartel, 2000; Toro-Vazquez y col., 2007; Wiking y col., 2009; Blake y Marangoni, 2015). La velocidad de enfriamiento baja (0,1 °C/min) fue lograda usando un baño de agua programable (Lauda Ecoline Staredition RE310, Estados Unidos). La velocidad alta (10 °C/min), medida previamente, fue alcanzada colocando las muestras fundidas en la celda de cristalización conectada a un baño de agua (VWR, modelo 1160S, Buffalo Grove, Estados Unidos) pre-seteado a la temperatura de enfriamiento (25 °C).

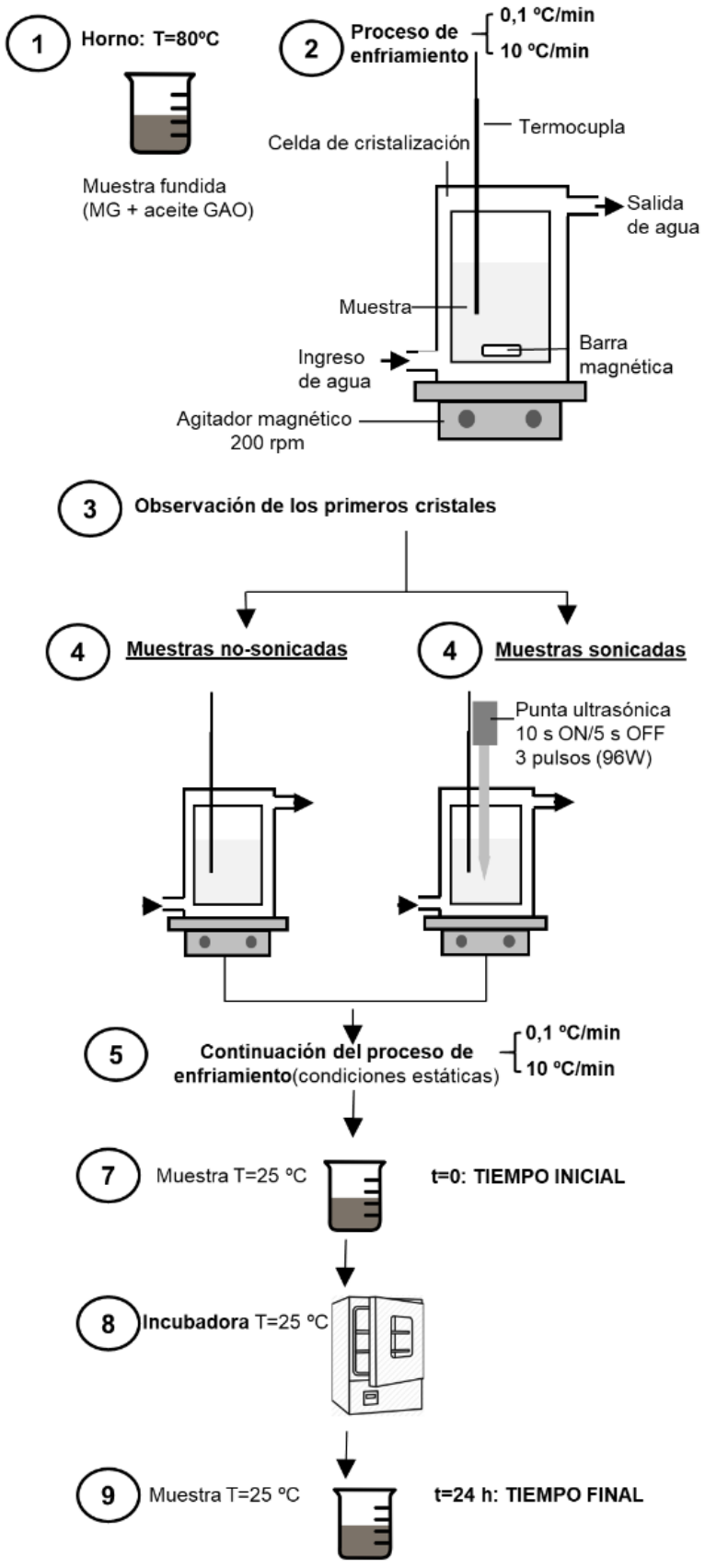


Figura 6.1. Procedimiento experimental para la preparación de oleogeles de monoglicéridos (MG) y aceite de girasol alto oleico (GAO) con aplicación de ultrasonido de alta intensidad.

Estudios reportados previamente en la literatura han mostrado que las ondas ultrasónicas resultan más efectivas en la inducción de la cristalización cuando la agitación es detenida en el comienzo del proceso de cristalización (Suzuki y col., 2010; Ye y col., 2011). Por ello, para ambas velocidades de enfriamiento, en el momento en que los primeros cristales fueron visualmente observados, y confirmada su presencia por microscopía (Martini y col., 2008), la agitación se detuvo y se realizó la aplicación de US. Las temperaturas correspondientes al tiempo en el cual se detectaron los primeros cristales se muestran en la Tabla 6.1.

Tabla 6.1. Temperaturas correspondientes a la detección de los primeros cristales durante el enfriamiento de muestras con diferente concentración de monoglicéridos (OG3, OG4,5, y OG6) a las velocidades de enfriamiento empleadas (0,1 y 10 °C/min).

	0,1 ºC/min	**10 ºC/min**
	Temperatura (ºC)	
OG3	49,5±0,6	50,4±1,9
OG4,5	54,5±0,8	70,9±0,9
OG6	56,8±1,0	73,0±0,6

Luego de detener la agitación y aplicar US, las muestras fueron enfriadas estáticamente hasta 25 ºC. De manera similar, las muestras control (procesadas sin el uso de ultrasonido) fueron enfriadas bajo agitación hasta que se detectaron los primeros cristales y luego enfriadas estáticamente como se mencionó anteriormente.

Para la aplicación de US se utilizó un equipo de ultrasonido Misonix S-3000 (Misonix Inc., Estados Unidos) operando a una frecuencia de 20 kHz. Las condiciones de sonicación fueron definidas luego de ensayos preliminares, modificando una variable a la vez, donde se evaluaron distintos niveles de potencia (45, 96 W), duración de sonicación (5, 10, 30 s), tamaño de la punta ultrasónica (diámetro: 3,2 vs. 12,7 mm) y modo de operación (continuo vs. pulsos, evaluando 1, 2 y 3 pulsos) de acuerdo a estudios reportados previamente en literatura (Ye y col., 2011). En cada ensayo se trabajó aproximadamente con 100 g de mezcla. De acuerdo a los resultados obtenidos en estos ensayos preliminares, se continuó trabajando

con la condición de operación que permitió obtener mejoras en las propiedades respecto a las muestras no sonicadas. Así, las condiciones seleccionadas fueron: la aplicación de US durante 30 s en 3 pulsos: 10 s ON/5 s OFF, lo que resultó en un nivel de potencia de 96 W, utilizando una punta ultrasónica de 3,2 mm de diámetro (amplitud de vibración: 216 µm), la cual se posicionó en el centro de la celda de cristalización.

En resumen, se procedió según un diseño experimental completo donde se tuvieron en cuenta las siguientes variables y niveles: concentración de MG (3, 4,5, y 6 %p/p), velocidad de enfriamiento (0,1 y 10 ºC/min), y aplicación de US (sin US vs. con US). Todas las muestras fueron preparadas por triplicado. Además, se evaluó el efecto del tiempo (inicial y final) sobre las muestras. El tiempo inicial (t=0 h) se definió como aquel en el cual las muestras alcanzaron la temperatura de 25 °C. A t=0 h, se llevaron a cabo ensayos de reología, comportamiento térmico, evaluación de la microestructura y contenido de sólidos. Este tiempo fue seleccionado con el objetivo de evaluar la posibilidad de aplicar los materiales obtenidos en una matriz alimenticia inmediatamente luego de su preparación y así explorar nuevas aplicaciones. Luego, las muestras contenidas en la celda de cristalización donde se formaron fueron almacenadas en una incubadora a 25 °C durante 24 h (tiempo final), el cual representa un tiempo de templado estándar usado en la industria de producción de shortenings. Además de las técnicas mencionadas anteriormente (para las muestras correspondientes al tiempo inicial), en el tiempo final también se evaluaron propiedades de textura y la capacidad de retención de aceite de las muestras.

6.2.2.2 Propiedades de oleogeles

6.2.2.2.1 Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite se determinó acorde a la metodología descripta previamente (sección 2.3.4.1, Capítulo 2). Aproximadamente 1 g de oleogel se transfirió desde la celda de cristalización a cada eppendorf. Para la centrifugación se usó una

microcentrífuga (Sorval Legend Micro 17, Thermo Scientific, Estados Unidos) a la temperatura de almacenamiento correspondiente.

6.2.2.2.2 Propiedades viscoelásticas

Las propiedades viscoelásticas se midieron en un reómetro TA Instruments (modelo AR-G2, Estados Unidos), el cual opera con el software Rheology Advantage Instrument Control (TA Instruments, Estados Unidos) usando aire como gas de purga a 30 psi. Se tomó una porción de muestra de oleogel desde la celda de cristalización siguiendo la metodología previamente indicada (sección 2.3.4.2, Capítulo 2), sin usar papel de lija sobre la geometría. Se realizaron ensayos de barrido de deformación (8 $x10^{-4}$ - 10 %) a una frecuencia angular constante (6,28 rad/s). Las determinaciones se llevaron a cabo a 25 °C usando geometría de platos paralelos (40 mm diámetro, 1000 µm gap) (Kadamne y col., 2017a) y se obtuvieron los módulos elástico (G') y viscoso (G'').

6.2.2.2.3 Comportamiento térmico durante el proceso de calentamiento

El comportamiento térmico de los oleogeles fue medido usando un calorímetro diferencial de barrido (TA Instruments, modelo Q20 1963 con sistema de enfriamiento RCS, Estados Unidos), siguiendo la metodología detallada en la sección 2.3.4.5. A partir de cada termograma obtenido se determinó la temperatura de inicio de fusión (T_o), la temperatura de pico (T_{pi}) y el cambio en la entalpía debido al proceso de fusión (ΔH_M).

6.2.2.2.4 Contenido de sólidos

Para medir el contenido de sólidos (SFC, por sus siglas en inglés – solid fat content) de los oleogeles se usó un equipo de Resonancia magnética nuclear (p-NMR) (modelo Bruker mq 20 Minispec) con un campo magnético 0,47-T operando a una frecuencia de resonancia de 20 MHz. Las muestras fueron tomadas de la celda de cristalización y colocadas en tubos

NMR (180 × 10 mm) que luego fueron directamente introducidos en el equipo para realizar la medición (Rincón-Cardona y col., 2015).

6.2.2.2.5 Análisis del perfil de textura

Para medir las propiedades mecánicas de los oleogeles se utilizó un analizador de textura TMS-Pro (Food Technology Corporation, Sterling, VA) equipado con una celda de carga de 50 N y una sonda cilíndrica de 6 mm de diámetro. La medición de textura solo se llevó a cabo luego del almacenamiento a 25 °C durante 24 h; no se realizó a tiempo inicial debido a que algunas muestras presentaron una consistencia excesivamente blanda. El análisis se realizó siguiendo la metodología descripta anteriormente (sección 2.2.4.3) con algunas modificaciones: se llevaron a cabo dos ciclos de penetración de la muestra contenida en la celda de cristalización (50 mm diámetro, 90 mm altura) a una profundidad de 20 mm con velocidad de 1 mm/s.

6.2.2.2.6 Microestructura

La microestructura de los oleogeles formulados fue evaluada a t=0 y t=24 h. Para ello, se colocó una pequeña cantidad de muestra sobre un portaobjeto y se colocó encima un cubreobjeto. El análisis se llevó a cabo con un objetivo 10X en un microscopio óptico de luz polarizada (Olympus BX 41, Tokyo, Japón) equipado con una cámara digital (Lumenera Scientific, Infinity 2, Ottawa, Ontario, Canadá). Para cada muestra obtenida de forma independiente se tomaron cuatro fotos. La longitud de los cristales se determinó acorde a la metodología detallada en la sección 5.2.2.5 (Capítulo 5).

6.2.2.3 Análisis estadístico

Los datos se reportaron como valores promedios ± desviación estándar de experimentos independientes realizados por triplicado. Para encontrar diferencias

estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos se utilizó el test de ANOVA de dos factores, seguido por el test de Tukey como método de comparación de medias. Se utilizó un nivel de significancia del 5%. El análisis estadístico se llevó a cabo usando el software GraphPad Prism 8.0 (Prism; GraphPad Software Inc., Estados Unidos).

6.3 Resultados

6.3.1 Capacidad de retención de aceite

La Figura 6.2 muestra la capacidad de retención de aceite (OBC) de los oleogeles luego del almacenamiento a 25 °C durante 24 h.

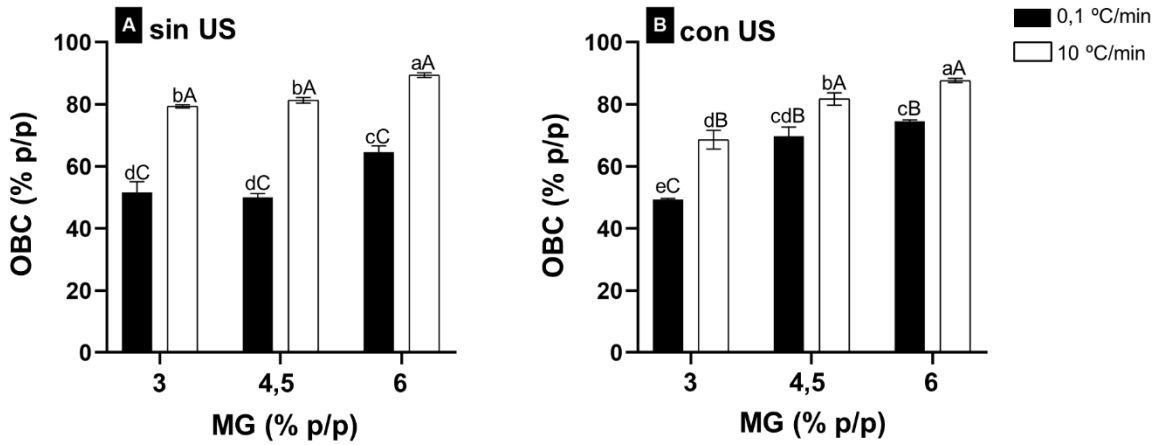


Figura 6.2. Capacidad de retención de aceite (OBC, %p/p) de oleogeles almacenados durante 24 h como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento: (A) sin ultrasonido de alta intensidad (sin US) y (B) con US. Los valores de OBC se representan mediante el valor promedio y desvío estándar. Letras minúsculas diferentes para una misma condición de sonicación (sin US o con US) indican diferencias significativas entre muestras procesadas a distinta velocidad de enfriamiento y concentración de MG ($p < 0,05$). Letras mayúsculas diferentes para una misma concentración de MG indican diferencias significativas entre muestras procesadas sin US y con US y a distinta velocidad de enfriamiento ($p < 0,05$).

La velocidad de enfriamiento tuvo un efecto significativo en esta propiedad. Para la misma concentración de monoglicéridos, OBC aumentó cuando las muestras fueron

obtenidas a la velocidad de enfriamiento más alta, tanto para las muestras sonicadas como para las no sonicadas. OBC también se modificó al cambiar la concentración de MG. Para las muestras procesadas sin US, OBC no mostró diferencias significativas entre OG3 y OG4,5, pero se incrementó en aquellas muestras con 6 %p/p tanto para las muestras enfriadas a 0,1 como a 10 °C/min. En las muestras sonicadas obtenidas mediante enfriamiento a 0,1 °C/min, OBC se incrementó entre OG3 y OG4,5, mientras que no se encontraron diferencias significativas entre las muestras OG4,5 y OG6. Sin embargo, la capacidad de retención de aceite aumentó significativamente en las muestras enfriadas a 10 °C/min al incrementar la concentración de monoglicéridos.

La Figura 6.2 también muestra que la sonicación causó un incremento en OBC en las muestras formuladas con 4,5 y 6 %p/p de MG y enfriadas a 0,1 °C/min. De este modo, para estas formulaciones, la capacidad de retención de aceite de la red puede ser mejorada incrementando la velocidad de enfriamiento en el proceso de cristalización desde 0,1 a 10 °C/min o aplicando ultrasonido de alta intensidad. En general, una capacidad de retención de aceite elevada puede asociarse con la formación de cristales comparativamente más pequeños que aquellos generados con el enfriamiento a baja velocidad. Este resultado es esperado, ya que como consecuencia de la disminución del tamaño de cristales (sección 6.3.6) hay mayor área cristalina disponible para atrapar el aceite del medio comparado con una red formada por cristales de mayor tamaño. Resultados similares han sido reportados por Blake y Marangoni (2015), quienes lograron disminuir el tamaño de cristales mediante el incremento en la velocidad de enfriamiento en la formación de oleogeles de ceras, y por Jana y Martini (2014), quienes reportaron haber obtenido cristales más pequeños cuando se aplicó ultrasonido de alta intensidad en oleogeles formados con cera de abejas. Además, es interesante notar que el incremento en OBC debido al aumento de la velocidad de enfriamiento fue mayor en las muestras no sonicadas que en las sonicadas para todas las concentraciones de MG, con valores promedio de 28% y 15%, respectivamente. Este menor incremento en OBC como consecuencia del aumento en la velocidad de enfriamiento observado en las muestras sonicadas se debió a que la aplicación de ultrasonido mejoró esta

propiedad en las muestras enfriadas a 0,1 °C/min con 4,5 y 6 %p/p de monoglicéridos, pero no fue capaz de hacer lo mismo en las correspondientes muestras enfriadas a 10 °C/min. Este resultado sugiere que la condición de aplicación de ultrasonido testeada en este trabajo no fue capaz de generar una estructura conectada con una alta capacidad de retener el aceite en las muestras enfriadas a velocidad rápida, pero sí fue capaz de mejorar OBC en aquellas obtenidas mediante enfriamiento a baja velocidad.

6.3.2 Propiedades viscoelásticas

Los módulos elástico (G') y viscoso (G'') fueron evaluados mediante barrido de deformación a 25 ºC. Todas las muestras presentaron valores de G' mayores que G'', confirmando de esta manera el comportamiento de tipo gel (Da Pieve y col., 2010; Da Pieve y col., 2011). La Figura 6.3 muestra los valores de G' a valores de deformación de 0,01% (dentro de la región viscoelástica lineal) correspondientes a los oleogeles obtenidos bajo las diferentes condiciones de procesamiento (velocidad de enfriamiento, concentración de MG y aplicación de ultrasonido) y tiempo de almacenamiento (t=0 y t=24 h). Como puede verse, el módulo elástico se incrementó con el aumento en la concentración de MG para ambas condiciones de sonicación (sin US y con US), y ambas velocidades de enfriamiento, a tiempo inicial y final. La única excepción a este comportamiento fue observada para las muestras cristalizadas a alta velocidad sin la aplicación de ultrasonido, a tiempo inicial. Otros estudios también han reportado que concentraciones más altas de monoglicéridos conducen a la formación de una red más fuerte como consecuencia de una mayor fuerza impulsora para la cristalización y un mayor número de cristales en el sistema que permiten disminuir las distancias entre ellos y por ende, favorecen sus interacciones (Ojijo y col., 2004a; Da Pieve y col., 2011).

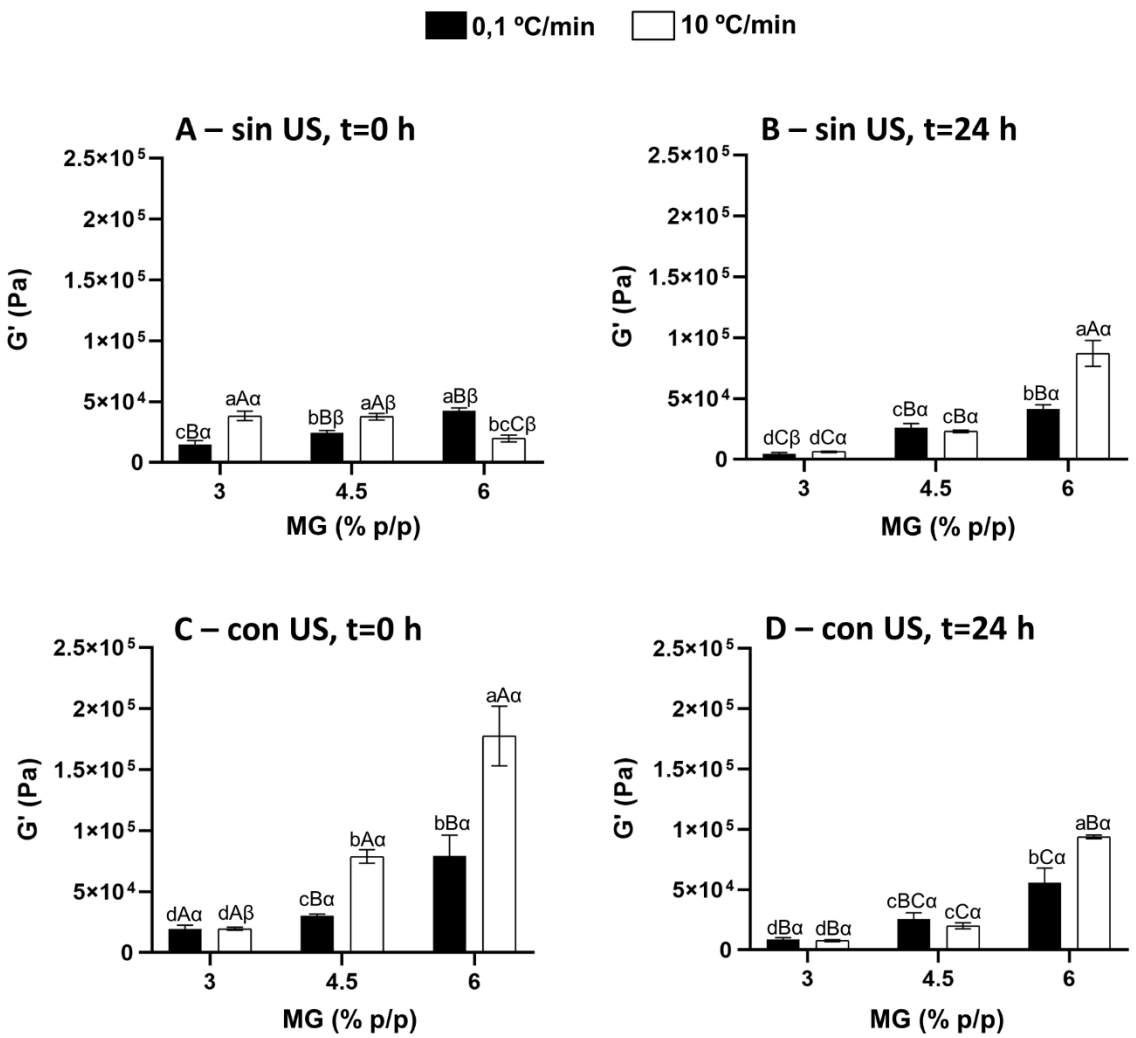


Figura 6.3. Módulo elástico (G') a 25 °C de oleogeles formulados con diferentes concentraciones de MG (MG (%p/p)) y bajo diferentes condiciones de procesamiento: sin ultrasonido (sin US), a t=0 h (inicial) (A) y t=24 h (final) (B), y con ultrasonido (con US), a t=0 h (inicial) (C) y t=24 h (final) (D). Los valores promedio representados con letras minúsculas distintas para cada condición de sonicación (sin US o con US) y tiempo (0 o 24 h) indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que los valores promedio con letras mayúsculas distintas para cada concentración de MG y condición de sonicación indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Letras griegas distintas entre muestras procesadas sin US y con US para una misma concentración de MG, tiempo y velocidad de enfriamiento indican que las muestras son significativamente diferentes.

Se observó que, en general, el módulo elástico disminuyó con el tiempo de almacenamiento desde t=0 hasta t=24 h para todas las concentraciones de MG testeadas y tanto sin aplicar ultrasonido como aplicando, mostrando que estas muestras fueron menos elásticas luego del almacenamiento. La excepción a este comportamiento fue obtenida en

algunas muestras no sonicadas: G' no mostró diferencias significativas en el tiempo en las muestras OG4,5 y OG6 obtenidas a 0,1 °C/min, mientras que se encontró un incremento significativo en la elasticidad de las muestras OG6 obtenidas a 10 °C/min. Además, tampoco hubo diferencias significativas entre el módulo elástico a tiempo inicial y final en las muestras sonicadas OG4,5 obtenidas a baja velocidad de enfriamiento. Es importante notar que las muestras correspondientes t=0 h fueron medidas inmediatamente luego de ser enfriadas a 25 ºC. La diferencia encontrada entre los valores de G' correspondientes a muestras analizadas a tiempo inicial y final sugiere la ocurrencia de un reordenamiento molecular durante el almacenamiento a 25 ºC durante 24 h.

A t=0 h se obtuvieron valores de G' mayores cuando las muestras fueron enfriadas a 10 °C/min comparado con las correspondientes a 0,1 °C/min, con la excepción de las muestras OG3, cristalizada con la aplicación de ultrasonido, y OG6, obtenida sin ultrasonido. Respecto a la última condición mencionada, un resultado similar fue reportado por Ojijo y col. (2004a) en oleogeles formulados con concentraciones de monoglicéridos comparables, al incrementarse la velocidad de enfriamiento. En general, la velocidad de enfriamiento no tuvo influencia en los valores del módulo viscoso a tiempo inicial. La diferencia entre los valores del módulo elástico de las muestras cristalizadas a 10 y 0,1 °C /min sugiere que las muestras enfriadas a alta velocidad tuvieron una estructura cristalina significativamente más fuerte que aquellas cristalizadas a baja velocidad. Esto puede atribuirse a la formación de cristales más pequeños como consecuencia de un enfriamiento más rápido, a tiempo inicial, permitiendo la presencia de mayor cantidad de interacciones entre cristales y de mayor fuerza (el cambio en la longitud de cristales debido a las condiciones de procesamiento será descripto más adelante). Sin embargo, luego del almacenamiento durante 24 h, este efecto fue mostrado solo por las muestras OG6 cristalizadas tanto sin como con ultrasonido, evidenciando que los cambios estructurales ocurridos debido a la velocidad de enfriamiento solo pudieron mantenerse a la concentración más alta de monoglicéridos. La ausencia de diferencias en los valores del módulo elástico debido a la velocidad de enfriamiento, luego del almacenamiento, se debe una disminución significativa de esta propiedad, especialmente para las bajas

concentraciones (OG3 y OG4,5), sugiriendo que la reorganización molecular ocurre con mayor probabilidad en estas muestras y, por lo tanto, resulta en un material menos elástico y con estructura más débil.

La aplicación de ultrasonido tuvo influencia sobre los valores del módulo elástico de las muestras cristalizadas a ambas velocidades de enfriamiento, pero no se encontraron diferencias significativas entre los valores de G' correspondientes a las muestras cristalizadas con y sin ultrasonido luego de 24 h, con la excepción de OG3 a 0,1 °C/min. En general, las muestras cristalizadas con la aplicación de ultrasonido mostraron valores más altos de elasticidad que las muestras cristalizadas a la misma velocidad de enfriamiento y analizadas a t=0 h, excepto para la muestra OG3 obtenida a 10 °C/min. Esta mejora en los valores iniciales del módulo elástico como consecuencia de la aplicación de ultrasonido de alta intensidad fue de 30,4%, 25,3%, y 87,4% para las muestras OG3, OG4,5, y OG6 enfriadas a baja velocidad, respectivamente. Los incrementos más altos fueron encontrados para las muestras enfriadas a alta velocidad, siendo 110,4% y 807,5%, para OG4,5 and OG6, respectivamente. Estos resultados sugieren que la aplicación de ultrasonido puede ser usada como una técnica eficaz para producir un material con mayor elasticidad inicialmente, pero este efecto podría perderse luego del almacenamiento durante 24 h.

6.3.3 Comportamiento térmico de los oleogeles durante el calentamiento

Los oleogeles de monoglicéridos se forman mediante enfriamiento de la mezcla fundida, generando una estructura cristalina tridimensional que atrapa al aceite. Durante este proceso, las moléculas de agente estructurante se mantienen en su estado fundido disueltas en el aceite hasta que comienza la nucleación. A medida que el proceso de enfriamiento continúa, los cristales crecen y se ramifican, generando como consecuencia de ello diferencias en el tamaño de los cristales que componen la red y en el ordenamiento de las moléculas que la componen. Los elementos microestructurales son los bloques básicos que componen la red (Ojijo y col., 2004b), los cuales se organizan mediante enlaces no-

covalentes, como las interacciones de van der Waals y los enlaces de puente hidrógeno (Meng y col., 2014). El conocimiento del comportamiento térmico de los oleogeles es fundamental en el análisis de sus propiedades físicas, ya que su evaluación durante el calentamiento permite obtener información sobre la microestructura de la red cristalina presente en estos materiales. En este capítulo, solo se consideró el comportamiento de fusión con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido de alta intensidad. Todas las muestras de oleogel se caracterizaron por presentar un único pico endotérmico (Figura 6.4) asociado con la fusión de los monoglicéridos. Los parámetros térmicos calculados a partir de los termogramas (ΔH_M, T_o, y T_p) se reportan en la Tabla 6.2 para las muestras obtenidas a las diferentes velocidades de enfriamiento, con y sin ultrasonido, y analizadas a t=0 y t=24 h.

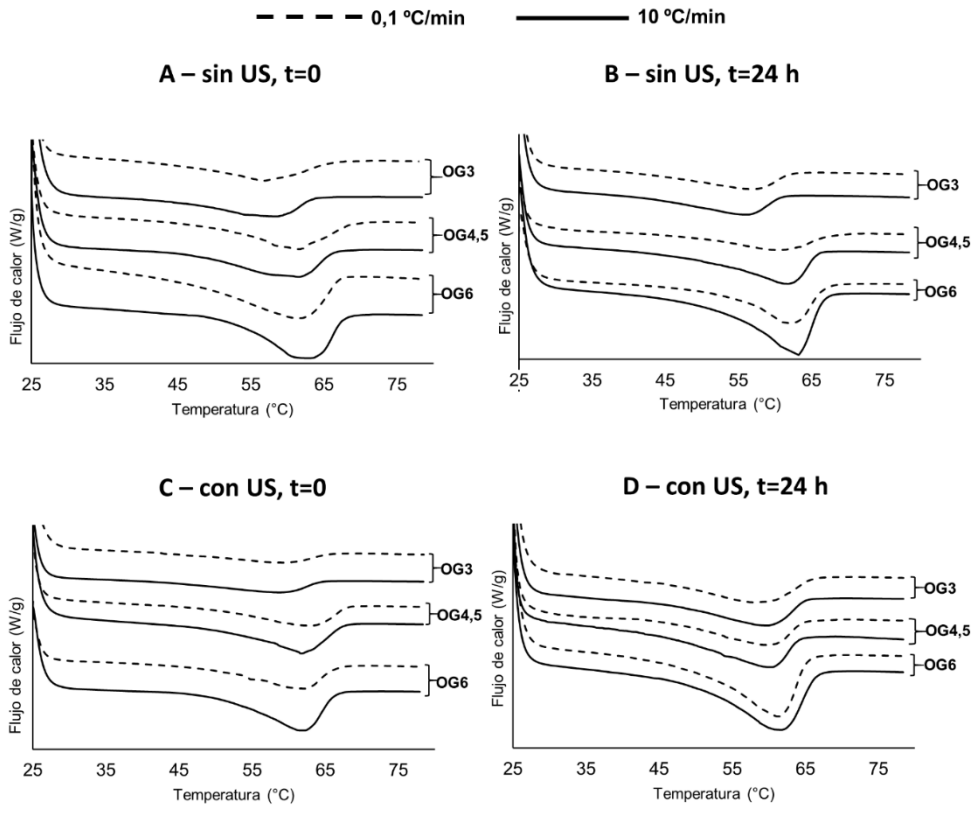


Figura 6.4. Perfil de fusión de los oleogeles (OG3, OG4,5 y OG6) formulados con monoglicéridos y aceite de girasol alto oleico con diferentes concentraciones de monoglicéridos, obtenidos bajo distintas condiciones de procesamiento: sin ultrasonido (sin US), a t=0 h (inicial) (A) y t=24 h (final) (B), y con ultrasonido, a t=0 h (inicial) (C) y t=24 h (final) (D)

Tabla 6.2. Entalpía de fusión (ΔH_M), temperatura de inicio de fusión (T_o) y temperatura de pico (T_{pi}) de oleogeles formulados con aceite de girasol alto oleico y monoglicéridos (MG) a distintas concentraciones de MG (MG (%p/p)) (OG3, OG4,5, y OG6) y cristalizadas a 0,1 y 10 ºC/min sin ultrasonido (sin US) y con ultrasonido (con US), a t=0 h (Inicial) y t=24 h (Final).

			sin US				con US			
			Velocidad de enfriamiento (ºC/min)							
	MG (%p/p)		0,1		10		0,1		10	
			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
ΔH_M (J/g)	3	OG3	$5,4\pm0,5^{dABα}$	$6,0\pm0.5^{dAα}$	$4,7\pm0,1^{dBβ}$	$5,5\pm0,4^{dABβ}$	$5,5\pm0,2^{cBα}$	$6,2\pm0,2^{cABα}$	$6,1\pm0,5^{dABα}$	$6,9\pm0,5^{cdAα}$
	4,5	OG4,5	$9,1\pm0,3^{bAα}$	$7,9\pm0.5^{cBα}$	$6,9\pm0,7^{cBα}$	$9,6\pm0,4^{bAα}$	$10,5\pm1,0^{aAα}$	$10,2\pm0,8^{bABα}$	$8,2\pm0,6^{bBα}$	$8,2\pm0,7^{cBα}$
	6	OG6	$9,2\pm0,1^{bCβ}$	$11,8\pm0.2^{aAα}$	$10,6\pm0,2^{aBα}$	$11,5\pm0,4^{aAα}$	$11,8\pm0,9^{aABα}$	$11,9\pm0,5^{aABα}$	$10,9\pm0,4^{aBα}$	$12,4\pm0,2^{aAα}$
T_o (°C)	3	OG3	$43,5\pm1.9^{bAα}$	$41,9\pm1,7^{dAα}$	$42,7\pm2,8^{bAα}$	$41,7\pm1,6^{dAα}$	$38,5\pm3,6^{cAα}$	$45,6\pm2,8^{bcAα}$	$43,3\pm4,4^{bcAα}$	$44,4\pm1.3^{cAα}$
	4,5	OG4,5	$46,1\pm0,6^{bAα}$	$46,6\pm0,1^{cAα}$	$47,1\pm1,8^{abAα}$	$46,2\pm2,2^{cAα}$	$47,8\pm3,4^{abAα}$	$51,2\pm2,2^{abAα}$	$51,5\pm2,1^{aAα}$	$46,1\pm0,5^{bcAα}$
	6	OG6	$51,0\pm2,1^{abBα}$	$57,4\pm0,2^{aAα}$	$53,5\pm3,5^{aABα}$	$51,7\pm0,8^{bABα}$	$49,7\pm1,3^{abAα}$	$52,1\pm2,6^{aAα}$	$50,4\pm0,7^{abAα}$	$51,8\pm2,5^{abAα}$
T_{pi} (°C)	3	OG3	$57,0\pm1,1^{bAα}$	$57,0\pm0,7^{cAα}$	$57,3\pm1,9^{bAα}$	$56,3\pm1,3^{cAα}$	$56,5\pm1,5^{cAα}$	$56,1\pm1,7^{bAα}$	$57,9\pm0,6^{bAα}$	$59,4\pm1,3^{aAα}$
	4,5	OG4,5	$61,7\pm0,6^{aAα}$	$61,3\pm0,8^{bAα}$	$61,1\pm0,5^{aAα}$	$60,2\pm1,4^{bAα}$	$61,6\pm0,7^{aAα}$	$59,6\pm1,1^{aAα}$	$59,9\pm1,4^{abAα}$	$59,7\pm0,2^{aAα}$
	6	OG6	$60,8\pm2,1^{aAα}$	$61,6\pm0,7^{abAα}$	$62,0\pm0,7^{aAα}$	$62,8\pm1,2^{aAα}$	$61,5\pm0,7^{aAα}$	$61,5\pm0,2^{aAα}$	$61,5\pm0,3^{aAα}$	$61,5\pm0,2^{aAα}$

Los valores se muestran como el promedio ± desviación estándar de tres réplicas. Para cada condición de sonicación (sin US o con US) y tiempo (inicial o final), los valores promedio con la misma letra minúscula entre concentraciones y velocidades de enfriamiento no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Los promedios representados con letra mayúscula diferente entre tiempo (inicial y final) y velocidad de enfriamiento para cada condición de sonicación y concentración indican que las muestras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que aquellos con la misma letra griega entre condiciones sin US y con US para cada velocidad de enfriamiento, concentración, y tiempo, no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

ΔH_M representa una estimación de la cantidad de material cristalizado presente en la muestra (Da Pieve y col., 2011). Luego del almacenamiento durante 24 h a 25 °C, la entalpía de fusión de los oleogeles se incrementó con la concentración de monoglicéridos, para todas las condiciones testeadas. Da Pieve y col. (2011) presentaron resultados similares para oleogeles formulados con monoglicéridos saturados y aceite de hígado de bacalao. De hecho, las muestras formuladas con concentraciones de MG de 6 %p/p a una velocidad de enfriamiento de 0,1 °C/min sin aplicación de ultrasonido y almacenadas durante 24 h mostraron casi el doble de incremento en la entalpía de fusión comparada con las obtenidas usando 3 %p/p (11,8±0,2 vs. 6,0±0,5 J/g). Esto fue esperado debido a la presencia de mayor cantidad de material cristalizable en OG6 comparada con la correspondiente a OG3, lo cual pudo conducir a una inducción en la cristalización. Tendencias similares fueron encontradas en las muestras cristalizadas a 10 ºC/min. La aplicación de ultrasonido no cambió estos resultados, los cuales estuvieron en concordancia con los resultados reportados por da Silva y col. (2019) para oleogeles formulados con aceite de girasol alto oleico y ceras de candelilla, monoglicéridos y una grasa, como agentes estructurantes. En ese trabajo, no se encontraron diferencias significativas en los perfiles de fusión de las muestras debido a la aplicación de ultrasonido de alta intensidad.

En general, no se encontraron diferencias significativas en los valores de ΔH_M entre las muestras cristalizadas a 0,1 y 10 ºC/min, con la excepción de algunas muestras formuladas con 4,5 y 6 %p/p de monoglicéridos. Esto es, para las muestras no sonicadas, se encontró que al incrementarse la velocidad de enfriamiento la entalpía disminuyó en las muestras OG4,5 mientras que aumentó en OG6 a tiempo inicial, observándose un incremento a tiempo final en OG4,5. Para las muestras sonicadas, el incremento en la velocidad de enfriamiento generó una disminución en ΔH_M para OG4,5 a t=0 h. Si bien, como se expresó más arriba, ΔH_M puede usarse como parámetro para cuantificar la cantidad de material cristalizado presente en el sistema, también se encuentra asociado con el orden estructural de las moléculas de agente estructurante dentro de las unidades que componen el oleogel (Toro-Vazquez y col., 2007). La variabilidad encontrada en los resultados descriptos

anteriormente podría ser el resultado de estos dos efectos ocurriendo en simultáneo, pero con distinta intensidad según las condiciones analizadas. A bajas concentraciones de monoglicéridos no se observó efecto de la velocidad de enfriamiento, lo cual podría significar que ni la cantidad de material cristalizado ni el ordenamiento molecular se vieron afectados bajo esas condiciones de procesamiento. A medida que la concentración de monoglicéridos se incrementó hasta 4,5 %p/p (OG4,5), la velocidad de enfriamiento más alta en las muestras cristalizadas con y sin ultrasonido y medidas a tiempo inicial resultó en una red cristalina más desordenada, en una menor cantidad de material cristalizado, o una combinación de estos dos efectos, resultando en una disminución de la entalpía. Un comportamiento similar se observó para las muestras OG4,5 cristalizadas con la aplicación de ultrasonido y medidas luego de 24 h. Sin embargo, se detectó un comportamiento inverso para las muestras OG4,5 cristalizadas sin ultrasonido y medidas luego de 24 h, así como también para las muestras OG6 a tiempo inicial, sugiriendo que en esas muestras, el enfriamiento a alta velocidad permitió la formación de una mayor cantidad de material cristalizado o un mayor orden molecular, en comparación con el proceso de enfriamiento a velocidad baja.

ΔH_M se incrementó desde t=0 hasta t=24 h para algunas muestras no sonicadas: OG6 y OG4,5 cristalizadas a alta velocidad de enfriamiento, y para OG6 cristalizada a 0,1 °C/min. Este comportamiento solo fue encontrado en una condición en las muestras sonicadas: OG6 obtenida a 10 °C/min. Una disminución en la entalpía de fusión se observó para las muestras OG4,5 cristalizadas a baja velocidad de enfriamiento, mientras que no se detectaron diferencias en ΔH_M para la concentración de MG más baja (OG3). En función de lo mencionado anteriormente respecto al significado de ΔH_M, nuestros resultados sugieren que aquellas muestras que mostraron un incremento en ΔH_M luego del almacenamiento durante 24 h reorganizaron su ordenamiento molecular, alcanzando un mayor nivel de organización estructural (con un nivel de energía más bajo). Un incremento en las interacciones que forman la red podría incrementar la entalpía de fusión sin cambiar la cantidad de material cristalizado. No se encontraron diferencias significativas en los valores de entalpía entre las muestras

sonicadas y no sonicadas, con la excepción de las muestras OG6 obtenida a 0,1 °C/min a tiempo inicial, y OG3 preparada a 10 °C/min tanto para t=0 h como para t=24 h.

La temperatura inicial de fusión se incrementó al aumentar la concentración de monoglicéridos, sugiriendo la presencia de interacciones más fuertes en la estructura cristalina por la presencia de mayor concentración de estructurante. En general, T_o no se vio afectada por la velocidad de enfriamiento, ni por el tiempo de almacenamiento para todas las condiciones testeadas, con la excepción de la muestra OG6 cristalizada sin la aplicación de ultrasonido, donde se observó una mayor T_o para las muestras obtenidas a 0,1 °C/min y almacenadas durante 24 h.

De manera similar a la discusión anterior, en general, T_{pi} se incrementó con el aumento de la concentración de monoglicéridos desde 3 hasta 4,5 %p/p y no se vio afectada por los demás parámetros evaluados. Ni T_o ni T_{pi} fueron afectadas significativamente por la aplicación de ultrasonido de alta intensidad. Resultados similares fueron reportados en un estudio acerca de la aplicación de ultrasonido en oleogeles de cera de candelilla, monoglicéridos, grasa y aceite de girasol alto oleico (da Silva y col., 2019).

6.3.4 Contenido de sólidos

El contenido de sólidos (SFC) es una propiedad física importante de lípidos, que representa la cantidad de sólidos presente en el sistema a una determinada temperatura. Este parámetro presenta gran influencia sobre las propiedades físicas, como la textura y estabilidad, y afecta las características sensoriales del producto final (Augusto y col., 2012).

El contenido de sólidos de los oleogeles obtenidos en este trabajo resultó en un rango entre 2,1% y 7,7% a 25 ºC (Tabla 6.3).

Tabla 6.3. Contenido de sólidos (SFC, %) de oleogeles formulados con aceite de girasol alto oleico y monoglicéridos (MG) a distintas concentraciones de MG (MG (%p/p)) (OG3, OG4,5 y OG6) y cristalizadas a 0,1 y 10 ºC/min sin (sin US) y con (con US) la aplicación de ultrasonido de alta intensidad, a t=0 h (Inicial) y t=24 h (Final).

SFC (%)	**sin US**					
	MG (%p/p)		**Velocidad de enfriamiento (ºC/min)**			
			0,1		**10**	
			Inicial	**Final**	**Inicial**	**Final**
	3	**OG3**	$2,1\pm0,1^{cB\beta}$	$2,6\pm0,5^{cAB\alpha}$	$3,8\pm0,8^{bA\alpha}$	$2,7\pm0,6^{bcAB\alpha}$
	4,5	**OG4,5**	$2,2\pm0,0^{cC\beta}$	$2,0\pm0,1^{cC\beta}$	$4,7\pm0,4^{bA\alpha}$	$2,8\pm0,2^{bcB\beta}$
	6	**OG6**	$3,6\pm0,6^{bB\alpha}$	$4,1\pm0,7^{abB\alpha}$	$7,7\pm0,7^{aA\alpha}$	$5,2\pm0,8^{aB\alpha}$
	con US					
	MG (%p/p)		**Velocidad de enfriamiento (ºC/min)**			
			0,1		**10**	
			Inicial	**Final**	**Inicial**	**Final**
	3	**OG3**	$3,3\pm0,2^{bA\alpha}$	$2,4\pm0,2^{cdB\alpha}$	$3,0\pm0,2^{bcA\alpha}$	$2,3\pm0,2^{dB\alpha}$
	4,5	**OG4,5**	$3,6\pm0,1^{bB\alpha}$	$3,2\pm0,1^{cB\alpha}$	$3,5\pm0,2^{bB\beta}$	$5,2\pm0,6^{aA\alpha}$
	6	**OG6**	$2,7\pm0,2^{cC\alpha}$	$2,9\pm0,2^{cdC\alpha}$	$6,6\pm0,3^{aA\alpha}$	$4,3\pm0,2^{bB\alpha}$

Los valores se muestran como el promedio ± desviación estándar de tres réplicas. Para cada condición de sonicación (sin US o con US) y tiempo (inicial o final) los valores promedio con la misma letra minúscula, entre concentraciones y velocidades de enfriamiento, no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Los promedios representados con letra mayúscula diferente entre tiempo (inicial y final) y velocidad de enfriamiento para cada condición de sonicación y concentración indican que las muestras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que aquellos con la misma letra griega entre condiciones sin US y con US para cada velocidad de enfriamiento, concentración, y tiempo, no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

A t=0 h se observaron diferencias significativas por efecto de la velocidad de enfriamiento en las muestras no sonicadas. Estos resultados estuvieron en concordancia con aquellos reportados en sistemas de grasa de leche, donde se observaron mayores valores de SFC como consecuencia de la utilización de velocidades de enfriamiento más altas (Campos y col., 2002; Martini y col., 2002). Si bien los valores de SFC obtenidos para muestras cristalizadas a 10 °C/min fueron mayores que los correspondientes para el enfriamiento a 0,1 °C/min, en general este incremento no se reflejó en los valores de entalpía de fusión. Estos resultados sugieren que el incremento en la entalpía debido al aumento en la velocidad de enfriamiento, como en el caso de la muestra OG6 obtenida sin ultrasonido a tiempo inicial (ver Tabla 6.2), podría deberse a un mayor contenido de sólidos (valor más alto

en SFC, Tabla 6.3). Sin embargo, la disminución en la entalpía al incrementarse la velocidad de enfriamiento en algunas muestras fue probablemente debido a una disminución en el nivel de organización molecular. Es decir, se pudo obtener un valor de entalpía menor incluso cuando SFC fue mayor debido a que ΔH_M no sólo está relacionado con la cantidad de material cristalizado, sino también con el nivel de orden molecular alcanzado (Toro-Vazquez y col., 2007). A t=24 h se encontraron diferencias significativas en los valores de SFC como consecuencia de cambios en la velocidad de enfriamiento en algunas muestras no sonicadas, OG4,5, y sonicadas, OG4,5 y OG6, en las cuales los valores más altos se obtuvieron empleando la velocidad más alta. Respecto del efecto del tiempo de almacenamiento, un incremento en el contenido de sólidos se encontró solo en las muestras OG4,5 sonicadas obtenidas por enfriamiento a 10 °C/min, mientras que no se observaron cambios o no se detectó una disminución en SFC para las muestras restantes. Después de 24 h de almacenamiento, solo fue posible incrementar significativamente el contenido de sólidos usando la concentración de monoglicéridos más alta, para ambas velocidades de enfriamiento en la condición sin ultrasonido, y usando 4,5 y 6 %p/p a 10 °C/min aplicando ultrasonido (Tabla 6.3).

A t=0 h se encontraron diferencias significativas en el contenido de sólidos como consecuencia de la aplicación de ultrasonido, con la excepción de la muestra OG3 cristalizada a 10 ºC/min y de las muestras OG6 (para ambas velocidades de enfriamiento). Particularmente, el contenido de sólidos aumentó en las muestras sonicadas OG3 y OG4,5 obtenidas a 0,1 ºC/min, mientras que disminuyó en la muestra sonicada OG4,5 obtenida a 10 ºC/min. Estudios previos realizados en triglicéridos han mostrado que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad resulta más eficiente en la inducción del proceso de cristalización y por ende, en la modificación de las propiedades físicas, en las muestras con cinéticas de cristalización lentas (Kadamne y col., 2017a, b). Este tipo de cinética puede lograrse, por ejemplo, trabajando con una baja fuerza impulsora. En los casos descriptos en este capítulo, las muestras enfriadas a 0,1 °C/min cristalizan de manera más lenta que las enfriadas a 10 °C/min, permitiendo que la aplicación de ultrasonido sea más eficiente en las

primeras. Si la cinética de cristalización es demasiado rápida, entonces el proceso de nucleación y crecimiento de cristales ocurre muy rápido y el efecto de sonicación no llega a ser evidente.

Sin embargo, luego del almacenamiento durante 24 h, este comportamiento cambió, y no se encontraron diferencias significativas entre las condiciones sonicadas y no sonicadas debido a la aplicación de ultrasonido de alta intensidad. Resultados similares fueron recientemente reportados para oleogeles de cera de candelilla, monoglicéridos, grasa y aceite de girasol alto oleico (da Silva y col., 2019). La excepción a este comportamiento se encontró para las muestras OG4,5, las cuales mostraron un incremento en el contenido de sólidos en el tiempo final como consecuencia del uso de ultrasonido. Estos resultados sugieren que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad promueve la ocurrencia más temprana del proceso de cristalización (Suzuki y col., 2010; Ye y col., 2011; Lee y col., 2018), lo cual sería evidente en el momento inicial cuando se usaron concentraciones bajas de MG y velocidades de enfriamiento lentas (valores más altos de SFC obtenidos en las muestras sometidas a sonicación) pero, si se proporciona suficiente tiempo de almacenamiento a la red cristalina, ambas muestras (sonicadas y no sonicadas) alcanzan el mismo valor de SFC final (Rincón-Cardona y col., 2015).

6.3.5 Propiedades de textura

La dureza es una de las propiedades físicas más importantes de los lípidos ya que desempeña un papel fundamental en las aplicaciones en alimentos. Como puede verse en las Figuras 6.5 A y B, la dureza de las muestras de oleogel se incrementó con el aumento de la concentración de monoglicéridos. Para las muestras no sonicadas, el aumento de la velocidad de enfriamiento desde 0,1 hasta 10 ºC/min resultó en un incremento de la dureza de las muestras OG4,5 y OG6, aunque el contenido de sólidos no cambió para la última muestra. Este resultado estuvo en concordancia con los resultados reportados por Ojijo y col. (2004a), quienes encontraron que la dureza de oleogeles de aceite de oliva y monoglicéridos

se incrementó con la velocidad de enfriamiento. La misma tendencia fue obtenida para las muestras sonicadas OG3 y OG6. Tal vez el hallazgo más interesante en esta sección fue que la dureza de las muestras OG4,5 obtenidas a 10 ºC/min fue significativamente mayor a la dureza de las muestras OG6 obtenidas a 0,1 ºC/min (sin la aplicación de ultrasonido), contrario a los resultados encontrados para el contenido de sólidos. Esto indica que es posible obtener un oleogel con mayor dureza mediante el cambio en la velocidad de enfriamiento, aunque el contenido de monoglicéridos usados como agente estructurante sea menor (y por lo tanto, el contenido de sólidos también sea más bajo).

En general, cuando se aplicó ultrasonido de alta intensidad para cristalizar las muestras, no fue posible obtener oleogeles con mayor dureza que aquellos formulados sin la aplicación de ultrasonido. La única muestra que mostró un aumento significativo en la dureza entre las condiciones sonicadas y no sonicadas (para ambas velocidades de enfriamiento) fue OG6, si bien el contenido de sólidos totales permaneció sin cambios en estas muestras. Un estudio publicado recientemente evaluó diferentes condiciones de aplicación de ultrasonido para obtener oleogeles de aceite de girasol alto oleico, utilizando 6 %p/p de agente estructurante (da Silva y col., 2019). En dicho trabajo, se evaluó el uso de dos sondas de distinto diámetro, 3,2 o 12,7 mm, con amplitudes de vibración de 206 y 60 o 180 µm, respectivamente. Además, se aplicó US durante distintos tiempos (1 o 3 min). Casi todas las condiciones testeadas condujeron a materiales más blandos comparados con los obtenidos sin la aplicación de ultrasonido, obteniendo un incremento significativo en la dureza (~ 18%) solo en una condición de aplicación de ultrasonido: sonda de 3,2 mm, duración de aplicación de US=3 min, amplitud=206 µm. Resultados más promisorios han sido reportados en la literatura que describen la aplicación de ultrasonido de alta intensidad como herramienta potencial para generar estructuras más duras en muestras de lípidos con diferente composición de triglicéridos respecto de los oleogeles, sin contener agentes estructurantes en su composición (Suzuki y col., 2010; Ye y col., 2011; Wagh y col., 2016). Las muestras OG6 sonicadas mostraron incrementos en la dureza de 18,4 y 11,4%, para baja y alta velocidad de enfriamiento, respectivamente, sugiriendo que la sonicación fue más eficiente

para incrementar la dureza del oleogeles cuando fue aplicada a baja velocidad de enfriamiento sobre las muestras formuladas con la concentración de monoglicéridos más alta. Este comportamiento podría estar relacionado al proceso de cristalización de los monoglicéridos, el cual ocurrió de manera más lenta durante el enfriamiento a 0,1 ºC/min comparado con las muestras que fueron enfriadas a 10 ºC/min. Estudios previos han demostrado que cuando la fuerza impulsora aumenta ocurre una inducción en la cristalización de lípidos, y el incremento en la fuerza impulsora puede ser logrado tanto mediante una mayor supersaturación o un incremento en el nivel de sobreenfriamiento (Kadamne y col., 2017a, b; Lee y col., 2018). Estos estudios también han mostrado que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad no resulta efectiva en la inducción de la cristalización de triglicéridos si el contenido de material cristalizable es bajo (lo que implica un grado de supersaturación bajo), corroborando la ausencia del efecto de la aplicación de ultrasonido en las propiedades de oleogeles formulados con baja concentración de monoglicéridos.

Independientemente de la aplicación de ultrasonido, los valores más altos de dureza se encontraron para las muestras OG6 cristalizadas a 10 ºC/min. Este hallazgo concuerda con los resultados reportados para la capacidad de retención de aceite y las propiedades viscoelásticas para estas muestras a t=24 h, mostrados previamente. Por lo tanto, estas muestras fueron las que presentaron mayor dureza, mayor elasticidad y una red cristalina fuerte capaz de retener la máxima cantidad de aceite. Teniendo en cuenta que no se obtuvieron diferencias significativas en los valores de entalpía entre las muestras sonicadas y no sonicadas, el incremento en la dureza podría deberse solo a un cambio en las propiedades microestructurales de esos oleogeles. Sin embargo, para todas las muestras OG4,5 y para las muestras OG3 obtenidas a baja velocidad de enfriamiento, la aplicación de ultrasonido produjo una disminución en los valores de dureza, y no se evidenció efecto de la sonicación en las muestras OG3 obtenidas a la velocidad de enfriamiento más alta. Se desconoce el motivo por el cual la aplicación de ultrasonido resultó en una disminución de la dureza en algunas de las muestras, aunque el SFC se incrementó en alguna de ellas. Es posible que el nivel de potencia de las ondas acústicas usado en este trabajo haya causado

la alteración de la red cristalina que estaba formándose y el bajo nivel de supersaturación no haya sido suficiente para superar esta perturbación.

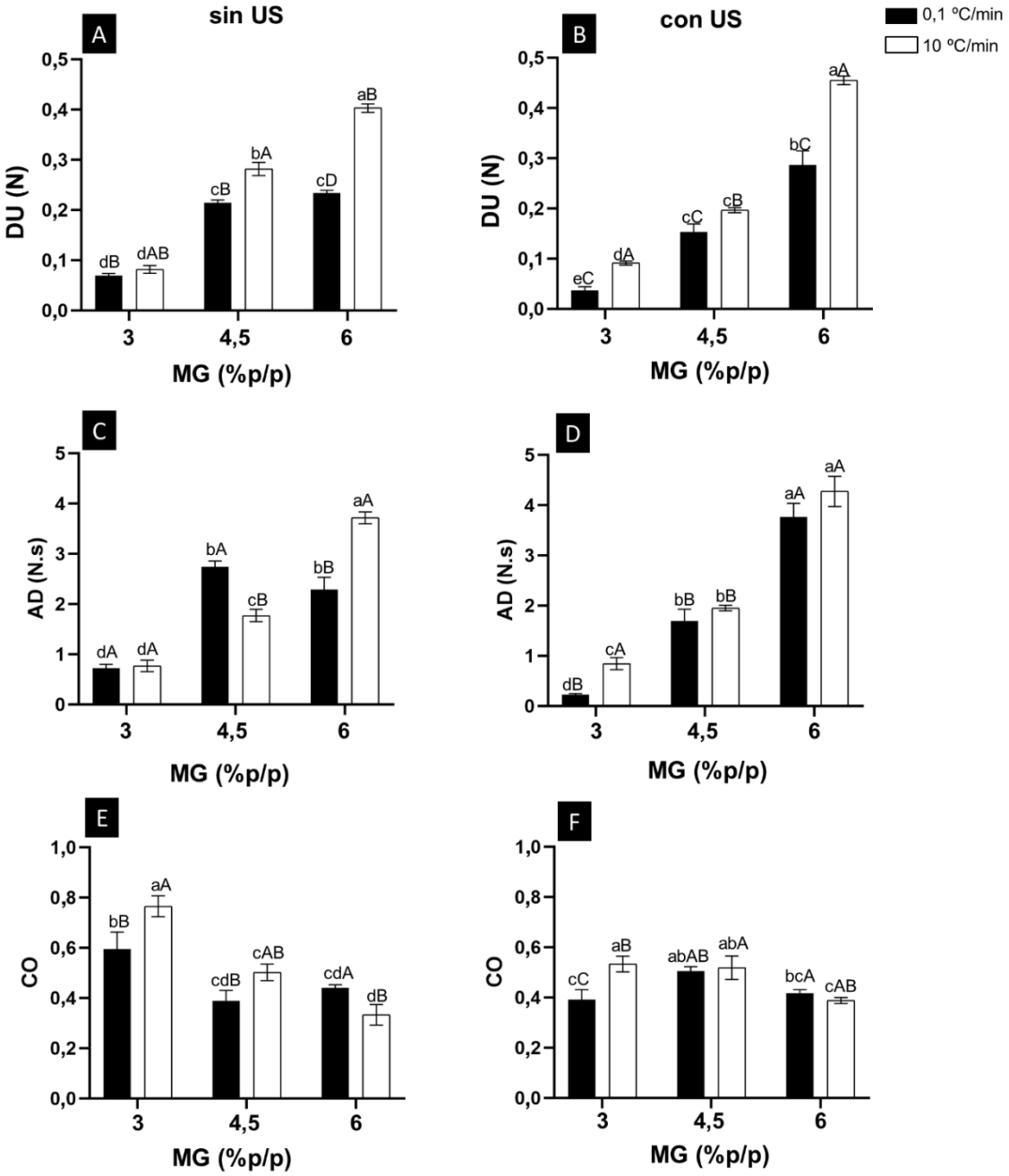


Figura 6.5. Dureza (DU) (A, B), Adhesividad (AD) (C, D) y Cohesividad (CO) (E, F) de oleogeles con diferente concentración de monoglicéridos (MG) como función de la velocidad de enfriamiento y sin ultrasonido (sin US) y con ultrasonido (con US), luego del almacenamiento durante 24 h. Los valores promedio representados con letras minúsculas distintas para cada condición de sonicación (sin US o con US) indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que los valores promedio con letras mayúsculas distintas para cada concentración de MG indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Los resultados provenientes del análisis de textura dan una interpretación diferente acerca de las características macroscópicas de los oleogeles, comparada con la correspondiente a los análisis de reología reportados anteriormente en este capítulo. Mientras que se encontraron diferencias significativas en las propiedades mecánicas de oleogeles obtenidos mediante condiciones sonicadas y no sonicadas cuando fueron evaluados por ensayos de alta deformación (TPA), esas diferencias no se observaron cuando estas muestras fueron analizadas por experimentos de baja deformación (reología). Los ensayos de alta deformación proveen información acerca de todos los niveles estructurales que conforman la red; en cambio, los de baja deformación están relacionados principalmente al nivel microestructural, por lo cual solo los enlaces entre las microestructuras se ven afectados cuando la red es sometida a estos ensayos, si bien la microestructura en sí misma puede permanecer intacta (Narine y Marangoni, 1999).

De manera similar a lo encontrado en la dureza, en general los valores de adhesividad se incrementaron al aumentar la concentración de monoglicéridos tanto para las muestras sonicadas como para las no sonicadas (Figuras 6.5-C y D). Entre todos los oleogeles obtenidos, el valor más bajo de adhesividad se encontró para las muestras OG3 formuladas con aplicación de ultrasonido a la velocidad de enfriamiento de 0,1 ºC/min (0,23±0,02 N.s). Los valores más altos de adhesividad se registraron para las muestras OG6 obtenidas con la aplicación de ultrasonido, independientemente de la velocidad de enfriamiento, y para las muestras OG6 procesadas sin ultrasonido y enfriadas a 10 ºC/min. Sorpresivamente, para las muestras OG4,5 y OG6 obtenidas sin ultrasonido, el cambio en la velocidad de enfriamiento mostró un efecto contrario en los valores de adhesividad. Mientras que la baja velocidad de enfriamiento resultó en valores más altos de AD para la muestra OG4,5, un valor menor de AD fue obtenido para las muestras OG6. Por lo tanto, la velocidad de enfriamiento podría ser usada como una manera efectiva para adaptar este parámetro de textura a los valores deseados. La velocidad de enfriamiento más baja provocó mayores fuerzas de atracción entre la superficie de la muestra OG4,5 y la sonda de medición, lo cual se evidenció por el mayor valor de AD y estuvo en concordancia con resultados que han sido reportados en el estudio

descripto en el Capítulo 3 (sección 3.3.2.2.3). Algunas de las diferencias observadas en la adhesividad pueden relacionarse con los valores obtenidos de dureza. Por ejemplo, para las muestras no sonicadas, mientras que aquellas obtenidas a baja velocidad de enfriamiento con una concentración de monoglicéridos de 4,5 y 6 %p/p tuvieron la misma dureza, también presentaron la misma adhesividad. De manera similar, la muestra OG6 cristalizada a 10 °C/min fue más dura que la correspondiente OG4,5, y también presentó mayor valor de adhesividad. Sin embargo, aunque la muestra OG4,5 cristalizada a 0,1 °C/min fue más blanda que la misma muestra cristalizada a 10 °C/min, presentó mayor valor de adhesividad. Es posible que este menor valor de AD se deba a la organización molecular que ocurrió durante el proceso de cristalización. La Figura 6.3 muestra que, a tiempo inicial, el valor de G' de la muestra OG4,5 obtenida a 10 °C/min fue mayor que el correspondiente a la muestra obtenida a 0,1 °C/min. Luego del almacenamiento de esta muestra, los valores de G' no cambiaron para la muestra enfriada a baja velocidad, pero disminuyeron para las enfriadas a alta velocidad. Esto sugiere que la red cristalina se volvió más débil durante el almacenamiento y esto podría haber afectado a los valores de adhesividad observados, sin modificar los correspondientes a la dureza.

El parámetro de cohesividad proporciona una medida de la resistencia que ofrece el material a la desintegración cuando es sometido a acción mecánica. Los resultados de la cohesividad de oleogeles se muestran en la Figura 6.5-E y F. Se encontró que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad no afectó significativamente la cohesividad de oleogeles para las muestras OG4,5 y OG6, pero una disminución significativa en CO se observó para las muestras sonicadas OG3 obtenidas mediante ambas velocidades de enfriamiento. La velocidad de enfriamiento afectó a la cohesividad de diferentes maneras, dependiendo de la concentración de monoglicéridos. Mientras que la cohesividad de las muestras formuladas con 3%p/p de MG a 10 °C/min fue significativamente más alta que la correspondiente a las muestras enfriadas a 0,1 °C/min, tanto para las condiciones sonicadas como para las no sonicadas, no se observaron diferencias significativas en los valores de CO para las muestras OG4,5 debido a la velocidad de enfriamiento. Se observó una disminución en los valores de

cohesividad con el aumento de la velocidad de enfriamiento en las muestras OG6 no sonicadas, mientras que no se encontraron diferencias significativas en las muestras sonicadas. Los valores más altos de CO fueron encontrados en las muestras OG3 procesadas sin la aplicación de ultrasonido de alta intensidad. Esto pudo estar asociado con los resultados de dureza discutidos previamente (Figuras 6.5- A y B). El parámetro de cohesividad (A3/A1) indica cuán bien el oleogel soporta un segundo trabajo de deformación (A3, segundo ciclo de penetración) respecto a la resistencia ofrecida a la primera deformación (A1, primer ciclo), mientras que el parámetro de dureza es proporcional a A1. Como se mostró previamente, el aumento en la velocidad de enfriamiento desde 0,1 hasta 10 °C/min no afectó significativamente la dureza de las muestras OG3 procesadas sin ultrasonido, mientras que las muestras OG4,5 y OG6 evidenciaron un incremento en su dureza. Sin embargo, el cambio mencionado en la velocidad de enfriamiento sí produjo un incremento en los valores de cohesividad de las muestras OG3, sin evidenciar diferencias significativas en los valores de cohesividad en las muestras OG4,5 y OG6. A3 se incrementó en todas las muestras como consecuencia del aumento en la velocidad de enfriamiento desde 0,1 hasta 10 ºC/min (desde 0,80±0,04, 1,91±0,21, y 1,95±0,28 N.s. hasta 1,06±0,32, 2,27±0,07, y 3,10±0,05 N.s. para las muestras no sonicadas, y desde 0,25±0,06, 1,37±0,31, y 2,59±0,70 N.s. hasta 0,82±0,13, 2,17±0,23, y 3,65±0,12 N.s. para las muestras sonicadas, para OG3, OG4,5, y OG6, respectivamente). Debido a que A3 provee información acerca de las estructuras que permanecen sin romperse luego del primer ciclo de penetración y, por lo tanto, sobre la presencia de los enlaces más persistentes (sección 3.3.2.2.2), es posible concluir que el incremento en la velocidad de enfriamiento permite mejorar la estructura de la red.

6.3.6 Propiedades microscópicas

El tamaño y la forma de los cristales son los factores claves que influencian la funcionalidad de una materia grasa y sus propiedades reológicas. Por lo tanto, para entender cómo el comportamiento durante el proceso de cristalización de los oleogeles afectó a las

propiedades macroscópicas de los mismos, se evaluó la microestructura de los materiales obtenidos mediante la técnica de microscopía óptica de luz polarizada. Las imágenes microscópicas de los oleogeles obtenidos a ambas velocidades de enfriamiento y diferentes concentraciones de monoglicéridos, sin y con la aplicación de ultrasonido, se muestran en las Figuras 6.6 y 6.7, respectivamente.

Las imágenes muestran que los cristales de monoglicéridos que componen la red del oleogel se presentan en forma de agujas irregulares birrefringentes en contraste con el fondo oscuro que representa al aceite, de acuerdo a la descripción reportada por Ojijo y col. (2004b), quien estudió oleogeles de monoglicéridos con aceite de oliva. Resultados similares fueron reportados por López-Martinez y col. (2014) en un estudio de oleogeles de monoglicéridos y aceite de cártamo, y por Kesselman y Shimoni (2007), quienes analizaron la microestructura de oleogeles de monoglicéridos y aceite de oliva.

Como puede verse en las Figuras 6.6 y 6.7, en general, a tiempo inicial la red se mostró como una estructura más saturada compuesta con cristales de mayor longitud (valores mayores de L_c), comparada con las correspondientes a tiempo final, indicando la ocurrencia de un reordenamiento microestructural durante el almacenamiento de las muestras a 25 °C durante 24 h. Este hallazgo estuvo en concordancia con los resultados obtenidos en los análisis de reología y térmicos. Algunas excepciones se encontraron en las muestras no sonicadas: a ambas velocidades de enfriamiento con concentraciones de monoglicéridos de 3 %p/p, y con enfriamiento a 10 °C/min con una concentración de MG de 6 %p/p, donde se obtuvieron valores más altos de L_c a tiempo final. Es probable que para esas muestras la organización molecular que tuvo lugar durante el almacenamiento haya resultado en la formación de agrupaciones ligeramente más grandes (lo cual estuvo en concordancia con el incremento significativo observado en la elasticidad durante el almacenamiento de las muestras OG6 no sonicadas cristalizadas a 10 °C/min, descripto anteriormente).

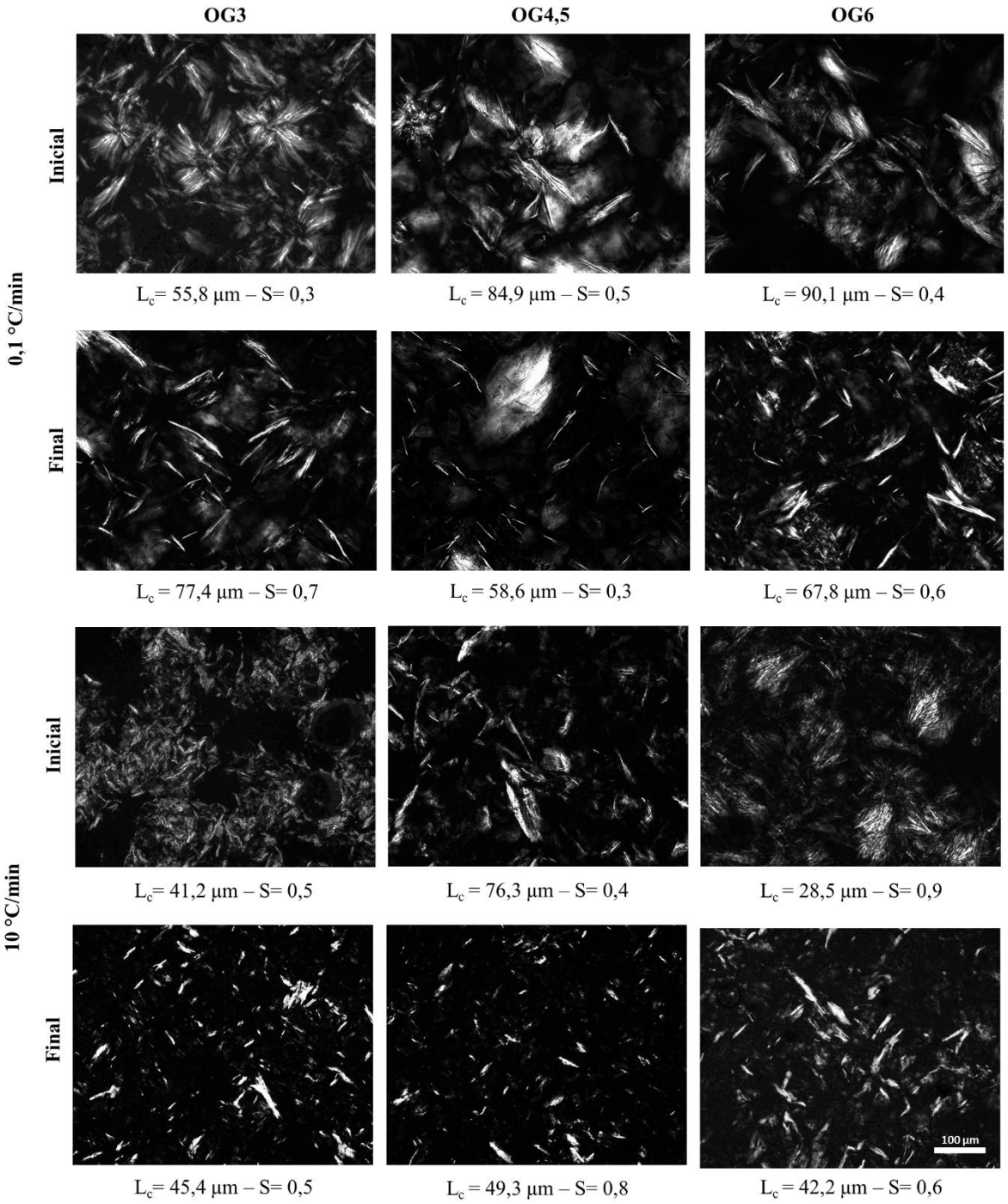


Figura 6.6 Fotomicrografías con luz polarizada de oleogeles (OG3, OG4,5 y OG6) obtenidos sin aplicar ultrasonido de alta intensidad con diferentes concentraciones de monoglicéridos (MG (%p/p)) y velocidades de enfriamiento (0,1 and 10 °C/min), a tiempo inicial y final. Las imágenes fueron tomadas con una magnificación de 10X. L_c: longitud de cristales; S: span.

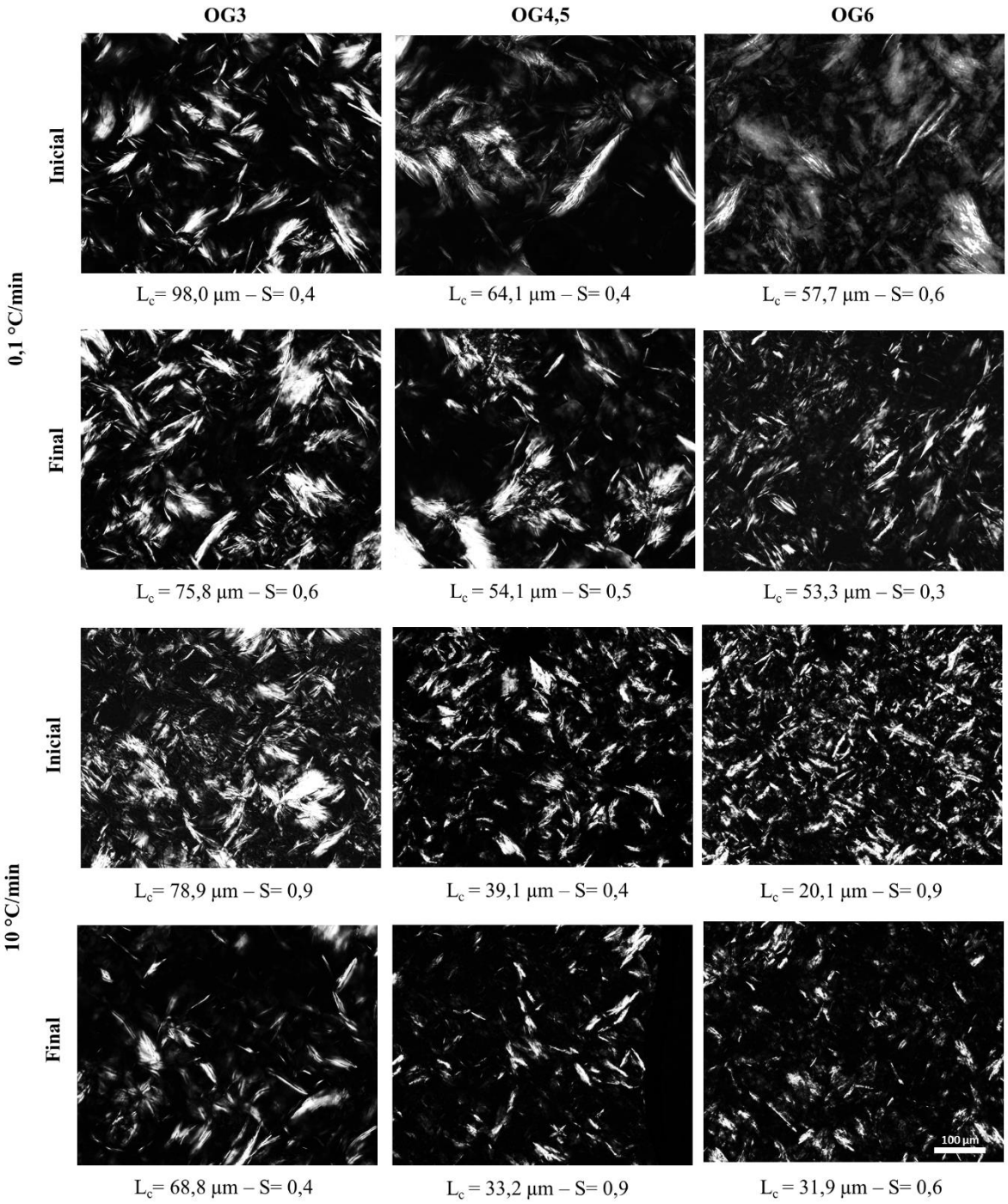


Figura 6.7. Fotomicrografías con luz polarizada de oleogeles (OG3, OG4,5 y OG6) obtenidos mediante aplicación de ultrasonido de alta intensidad con diferentes concentraciones de monoglicéridos (MG (%p/p)) y velocidades de enfriamiento (0,1 and 10 °C/min), a tiempo inicial y final. Las imágenes fueron tomadas con una magnificación de 10X. L_c: longitud de cristales; S: span.

Respecto a las muestras sonicadas, solo las muestras enfriadas a 10 °C/min y formuladas con la concentración de monoglicéridos más alta mostraron un incremento en el tamaño de cristal con el tiempo de almacenamiento.

Además, el cambio en la velocidad de enfriamiento afectó la microestructura de los oleogeles, generando la formación de cristales de menor longitud cuando las muestras fueron enfriadas a la velocidad más alta a t=24 h. Estos hallazgos fueron observados en todos los oleogeles y principalmente en las muestras no sonicadas y sonicadas con una concentración de 3 y 6 %p/p, respectivamente. Asimismo, se observó una reducción en la longitud de los cristales a tiempo final como consecuencia de la aplicación de ultrasonido, excepto en las muestras OG3 enfriadas a 10 °C/min donde se observó un incremento en L_c. Este efecto concuerda con los resultados obtenidos para la capacidad de retención de aceite, donde ésta fue la única condición que mostró una disminución en OBC debido a la aplicación de ultrasonido de alta intensidad. En todas las muestras se obtuvieron valores relativamente bajos de Span (S < 1), indicando que las distribuciones de tamaño de los cristales fueron angostas. En virtud de los resultados aquí expuestos, se podría decir que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad condujo a la formación de una red cristalina formada por cristales más pequeños, especialmente a altas concentraciones de monoglicéridos, mientras que se formaron cristales de mayor tamaño en esta condición usando una concentración de monoglicéridos de 3 %p/p.

6.4 Aplicación de ultrasonido en la obtención de oleogeles empleando un método alternativo

Teniendo en cuenta los resultados anteriores y considerando que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad resultaría más efectiva cuando se realiza en presencia de cristales (Ye y col., 2011), pero no sería eficiente cuando el proceso de cristalización ocurre rápidamente (Rincón-Cardona y col., 2015), se propuso evaluar el efecto de la aplicación de US en el comportamiento de cristalización de los oleogeles introduciendo algunas modificaciones en la metodología de preparación de los oleogeles.

6.4.1 Preparación de oleogeles

Para la preparación de oleogeles se siguió la metodología descripta en la sección 6.2.2.1 con algunas modificaciones (Figura 6.8). Principalmente, estas modificaciones consistieron en realizar el proceso de enfriamiento desde la mezcla fundida, a velocidad de enfriamiento controlada (0,1 y 10 ºC/min), hasta que se alcanzó un nivel intermedio de cristalización (denominado aquí temperatura de cristalización-T_c), en lugar de hacerlo hasta que se observó la aparición de los primeros cristales (como en el estudio anterior). Luego, se aplicó US en las mismas condiciones que en el estudio anterior, y la muestra continuó enfriándose, bajo condiciones estáticas y sin control de la velocidad de enfriamiento, hasta alcanzar la temperatura de almacenamiento (T_s) correspondiente (25 o 5 ºC). Los análisis se llevaron a cabo luego de 24 h de almacenamiento a T_s. Las condiciones de procesamiento evaluadas se detallan en la Tabla 6.4. Para evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento, las muestras OG3 y OG6 se almacenaron a 5 ºC, además de evaluar su almacenamiento a 25 ºC.

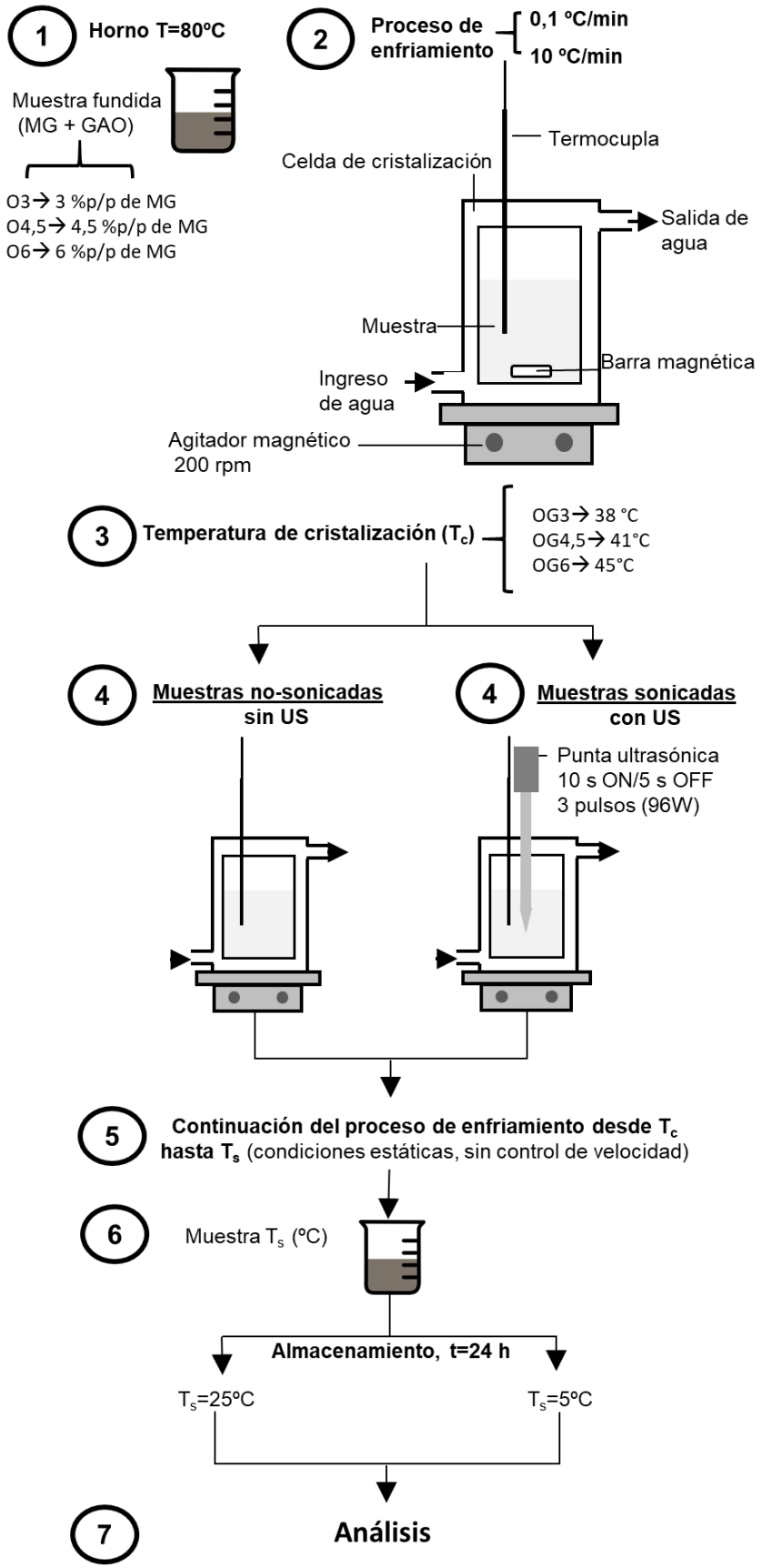


Figura 6.8. Procedimiento experimental para la preparación de oleogeles con aplicación de ultrasonido de alta intensidad (US): método alternativo.

Tabla 6.4. Condiciones de procesamiento evaluadas en la preparación alternativa de oleogeles.

Muestra	Concentración de MG (%p/p)	Velocidad de enfriamiento (°C/min)	Aplicación de US	T_s (ºC)
OG3-0,1-sin US	3	0,1	NO	5 - 25ºC
OG3-10-sin US	3	10	NO	5 - 25ºC
OG3-0,1-con US	3	0,1	SI	5 - 25ºC
OG3-10-con US	3	10	SI	5 - 25ºC
OG4,5-0,1-sin US	4,5	0,1	NO	25ºC
OG4,5-10-sin US	4,5	10	NO	25ºC
OG4,5-0,1-con US	4,5	0,1	SI	25ºC
OG4,5-0,1-con US	4,5	10	SI	25ºC
OG6-0,1-sin US	6	0,1	NO	5 - 25ºC
OG6-10-sin US	6	10	NO	5 - 25ºC
OG6-0,1-con US	6	0,1	SI	5 - 25ºC
OG6-10-con US	6	10	SI	5 - 25ºC

MG: monoglicéridos; US: ultrasonido de alta intensidad; T_s: temperatura de almacenamiento.

6.4.2 Medición de las propiedades de los oleogeles

El módulo elástico, las propiedades de textura, la capacidad de retención de aceite, el contenido de sólidos, la microestructura y el comportamiento térmico durante el proceso de calentamiento se analizaron siguiendo la metodología descripta anteriormente (6.2.2.2.1). Además, se evaluó la estructura cristalina mediante la técnica de difracción de rayos X. A continuación se detalla la metodología adicional llevada a cabo en este segundo estudio. El análisis estadístico se realizó siguiendo la metodología descripta en la sección 6.2.2.3.

6.4.2.1 Punto de fusión (PF) y temperatura de cristalización (T_c)

El PF de los oleogeles fue determinado en el calorímetro diferencial de barrido descripto en la sección 6.2.2.2.5, acorde a la metodología descripta en la sección 2.3.2. El mismo procedimiento fue llevado a cabo para determinar T_c para cada muestra de oleogel

(OG3, OG4,5 y OG6). A partir de los termogramas y mediante el cálculo del parámetro de cristalinidad reducida (F= cambio entálpico desde el comienzo del proceso de cristalización hasta una dada temperatura / cambio entálpico total del proceso de cristalización), se construyeron las curvas de cristalización (F vs. temperatura) (Palla y col., 2019). Considerando que, como se mencionó anteriormente, la aplicación de US resulta ser más eficiente cuando se aplica al inicio del proceso de cristalización (Wagh y col., 2016), pero sin embargo, un valor muy bajo de F en el momento de la aplicación de US podría causar pérdida de eficiencia de la sonicación al fundir los cristales que están formándose (Ye y Martini, 2014), se seleccionó un valor intermedio de F (48%) para determinar T_c a partir de la curva de cristalización, para cada concentración de MG.

6.4.2.2 Polimorfismo

Con el objetivo de detectar las formas polimórficas presentes en la red de los oleogeles se llevó a cabo el análisis de difracción de rayos X, acorde a la metodología descripta en la sección 2.3.4.6 (Capítulo 2). De los difractogramas obtenidos, se extrajo la información de la distancia entre los planos de la red cristalina (d, Å) para las señales que se observaron con mayor intensidad y se identificaron las formas polimórficas según la Tabla 2.4.

6.4.3 Resultados

6.4.3.1 Punto de fusión (PF) y temperatura de cristalización (T_c)

El PF de los MG usados como agente estructurante en este capítulo resultó ser de 68,9±0,2 °C. La diferencia encontrada en este PF con respecto al reportado en el Capítulo 2 (69,3 °C) se puede explicar teniendo presente que este Myverol corresponde a otro lote de producción. Los valores de la T_c correspondientes a un grado de cristalización del 48% fueron 38, 41 y 45 °C para las muestras OG3, OG4,5 y OG6, respectivamente.

6.4.3.2 Comportamiento térmico durante el calentamiento

Todos los termogramas obtenidos durante el calentamiento térmico de los oleogeles mostraron un único pico endotérmico (Figura 6.9) correspondiente a la fusión de los monoglicéridos, en concordancia con lo encontrado en el estudio anterior (sección 6.3.3).

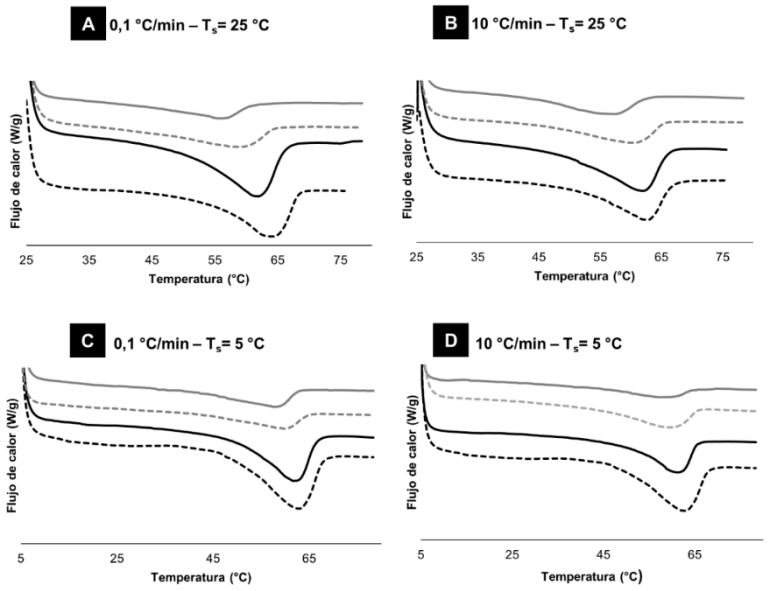


Figura 6.9. Termogramas obtenidos durante el calentamiento de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_S= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p) (OG3: curvas de color gris, OG6: curvas de color negro), la aplicación o no de ultrasonido (sin US: líneas punteadas, con US: líneas continuas) y la velocidad de enfriamiento: (A) 0,1 °C/min, T_S= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_S= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_S= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_S= 5 °C.

Como se mencionó anteriormente, la entalpía de fusion (ΔH_M) representa la energía absorbida por el material durante el proceso de fusión, y depende tanto de la cantidad de material cristalizado en la muestra como del orden estructural existente en la red cristalina (Toro-Vazquez y col., 2007).

Respecto a la aplicación de US, no se observaron cambios significativos en ΔH_M como consecuencia del proceso de sonicación (Figura 6.10), excepto en las muestras OG6 cristalizadas tanto a 0,1 como a 10 ºC/min y almacenadas a 25 ºC. Si bien el contenido de sólidos de las muestras OG6 sonicadas no fue significativamente diferente en comparación

con las correspondientes muestras no sonicadas (sección 6.4.3.4), ΔH_M disminuyó al aplicar US, lo cual podría deberse a la presencia de interacciones moleculares más débiles entre los cristales de MG (confirmado por la disminución en T_o en las muestras sonicadas, Tabla 6.5).

Ni la velocidad de enfriamiento ni la temperatura de almacenamiento causaron cambios significativos en ΔH_M, excepto en las muestras OG6 sonicadas.

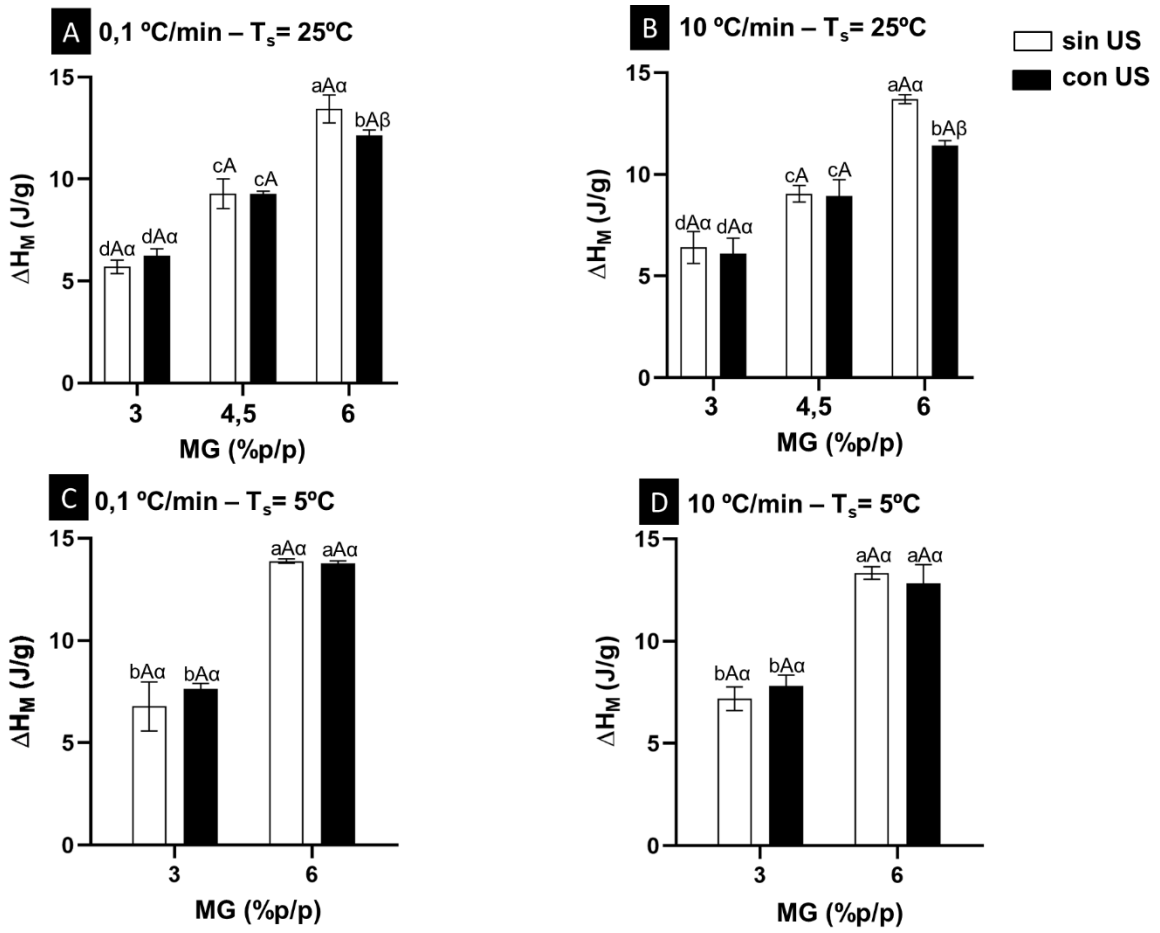


Figura 6.10. Entalpía de fusión (ΔH_M, J/g) de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C. Los valores promedio representados con letras minúsculas distintas para cada velocidad de enfriamiento (0,1 o 10 ºC/min) y T_s (25 o 5 ºC) indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que los valores promedio con letras mayúsculas distintas, para cada concentración de MG, condición de sonicación y T_s, indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Letras griegas distintas entre muestras almacenadas a 25 y 5 ºC para una misma concentración de MG, condición de sonicación y velocidad de enfriamiento indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

La aplicación de US causó una disminución significativa de los valores de T_{pi} en los oleogeles obtenidos a 0,1 ºC/min y almacenados a 25 °C, mientras que no se detectaron diferencias significativas en las muestras cristalizadas a 10 ºC/min (Tabla 6.5). Esto es un resultado esperado ya que las muestras que han sido enfriadas lentamente tuvieron más tiempo para permitir un cierto ordenamiento molecular durante el proceso de enfriamiento y la aplicación de US podría haber colaborado en la incorporación en la red cristalina de componentes de menor punto de fusión provenientes de la mezcla comercial de MG usada, o incluso de los triglicéridos presentes en el aceite. Una disminución similar en los valores de T_{pi} fue reportada previamente (Jana y Martini, 2014). Además, se observó una disminución en T_o en las muestras OG6 como consecuencia de la aplicación de US, para ambas velocidades de enfriamiento, mientras que no se observaron diferencias significativas en T_o en las muestras OG3 y OG4,5. Parecería que la aplicación de US promueve la cristalización de los compuestos de bajo punto de fusión a altas concentraciones de MG, los cuales no son capaces de cristalizar sin la aplicación de sonicación (Ye y Martini, 2015).

En general, ni T_{pi} ni T_o se vieron afectadas ni por la velocidad de enfriamiento ni por la temperatura de almacenamiento. Se encontraron algunas excepciones en las muestras no sonicadas: el incremento en la velocidad de enfriamiento aumentó significativamente T_o en las muestras OG6, mientras que causó una disminución en T_{pi} en OG4,5 y OG6; mientras que en las muestras sonicadas se observó una disminución en T_o al disminuir T_s en las muestras OG3 a ambas velocidades de enfriamiento. El almacenamiento a una T_s más baja podría inducir la co-cristalización de los triglicéridos de menor punto de fusión presentes en el aceite, los cual a su vez podría ser favorecido por la aplicación de US.

Tabla 6.5. Temperatura de pico (T_{pi}) y de inicio de fusión (T_o) de los oleogeles obtenidos bajo diferentes condiciones de procesamiento a distintas temperaturas de almacenamiento (T_s, 5 o 25°C).

Muestra	T_{pi} (°C)		T_o (°C)	
	5°C	25°C	5°C	25°C
OG3-0,1-sin US	$59,9\pm0,9^{bA\alpha}$	$58,3\pm0,6^{dA\alpha}$	$44,7\pm1,8^{bA\alpha}$	$43,2\pm0,3^{cA\alpha}$
OG3-10-sin US	$59,0\pm0,2^{cA\alpha}$	$57,7\pm1,4^{bA\alpha}$	$42,0\pm1,3^{bAB\alpha}$	$42,5\pm0,4^{cA\alpha}$
OG3-0,1-con US	$56,8\pm1,1^{bB\alpha}$	$56,3\pm0.5^{eA\alpha}$	$41,4\pm1,0^{bAB\beta}$	$44,6\pm0,1^{cA\alpha}$
OG3-10-con US	$57,1\pm0,8^{dA\alpha}$	$56,7\pm0,1^{bA\alpha}$	$40,6\pm1,1^{bB\beta}$	$44,5\pm1,2^{bcA\alpha}$
OG4,5-0,1-sin US	nd	$62,2\pm0,6^{bA}$	nd	$43,8\pm0,6^{cA}$
OG4,5-10-sin US	nd	$60,0\pm1,2^{abB}$	nd	$45,1\pm1,0^{bA}$
OG4,5-0,1-con US	nd	$59,8\pm0,2^{cA}$	nd	$45,4\pm2,6^{cA}$
OG4,5-10-con US	nd	$59,9\pm0,9^{abA}$	nd	$47,4\pm2,1^{bA}$
OG6-0,1-sin US	$63,3\pm0,6^{aA\alpha}$	$63,7\pm0,4^{aA\alpha}$	$50,6\pm1,6^{aA\alpha}$	$54,4\pm1,3^{aB\alpha}$
OG6-10-sin US	$62,2\pm0,4^{aA\alpha}$	$62,3\pm0,7^{aB\alpha}$	$49,0\pm0,4^{aA\beta}$	$57,8\pm0,1^{aA\alpha}$
OG6-0,1-con US	$61,8\pm1,2^{aA\alpha}$	$60,7\pm0,2^{cA\alpha}$	$49,2\pm0,3^{aA\alpha}$	$49,9\pm0,4^{bA\alpha}$
OG6-10-con US	$60,8\pm0,4^{bB\alpha}$	$61,7\pm0,4^{aA\alpha}$	$50,8\pm0,5^{aA\alpha}$	$49,4\pm1,0^{bA\alpha}$

Los valores se muestran como el promedio ± desviación estándar de tres réplicas. Para cada velocidad de enfriamiento (0,1 o 10 ºC/min) y temperatura de almacenamiento (T_s) los valores promedio con la misma letra minúscula entre concentraciones y condición de sonicación (sin US y con US) no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Los promedios representados con letra mayúscula diferente entre velocidades de enfriamiento (0,1 y 10 ºC/min) para cada condición de sonicación, T_s y concentración indican que las muestras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que aquellos con la misma letra griega entre condiciones de procesamiento medidas a T_s= 25 y 5 ºC para cada velocidad de enfriamiento, concentración y condición de sonicación, no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). nd: no determinada.

6.4.3.3 Microestructura y apariencia visual

La aplicación de US disminuyó la longitud de los cristales (L_c) en todas las concentraciones de MG analizadas a ambas T_s, principalmente en las muestras enfriadas a 0,1 ºC/min (Figuras 6.11 y 6.12). Se observó un efecto menor de la sonicación sobre L_c en las muestras OG3 enfriadas a 10 ºC/min. Como se puede observar en las fotografías mostradas en el ángulo inferior derecho de cada imagen microscópica, para las muestras almacenadas a 25 ºC (Figura 6.11), la aplicación de US permitió la formación de una red

visualmente más fuerte comparada con las muestras no sonicadas, evitando el flujo de la muestra cuando ésta se invierte, particularmente en aquellas procesadas a 0,1 ºC/min.

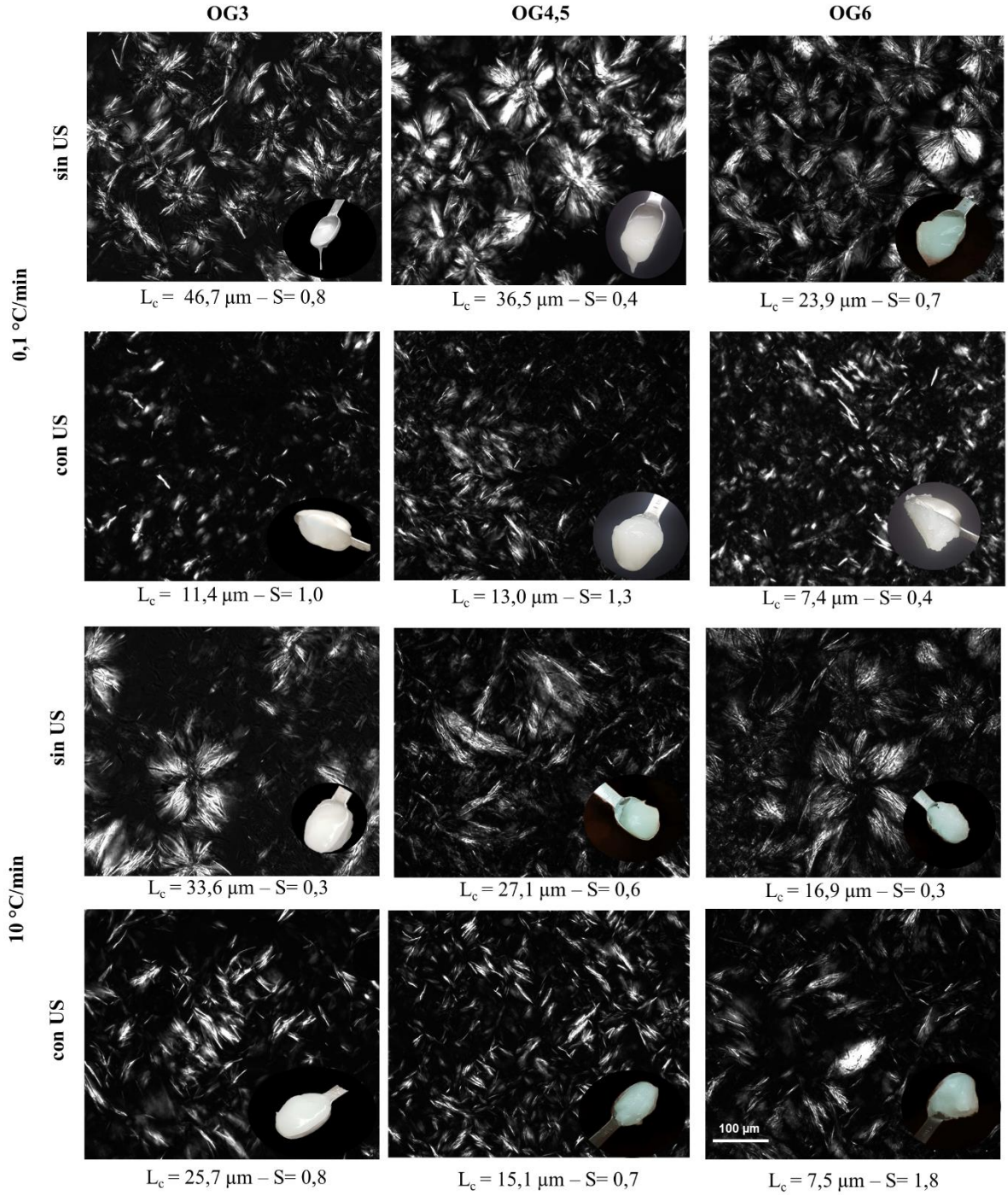


Figura 6.11. Fotomicrografías con luz polarizada (principales) e imágenes de la apariencia visual (en lado inferior derecho de cada imagen principal) de oleogeles (OG3, OG4,5 y OG6) obtenidos con diferentes concentraciones de monoglicéridos, velocidades de enfriamiento (0,1 and 10 °C/min) y condiciones de sonicación (sin ultrasonido (sin US) y con ultrasonido (con US)), almacenados por 24 h a 25 °C. Las imágenes microscópicas fueron tomadas con una magnificación de 10X. L_c: longitud de cristales; S: span.

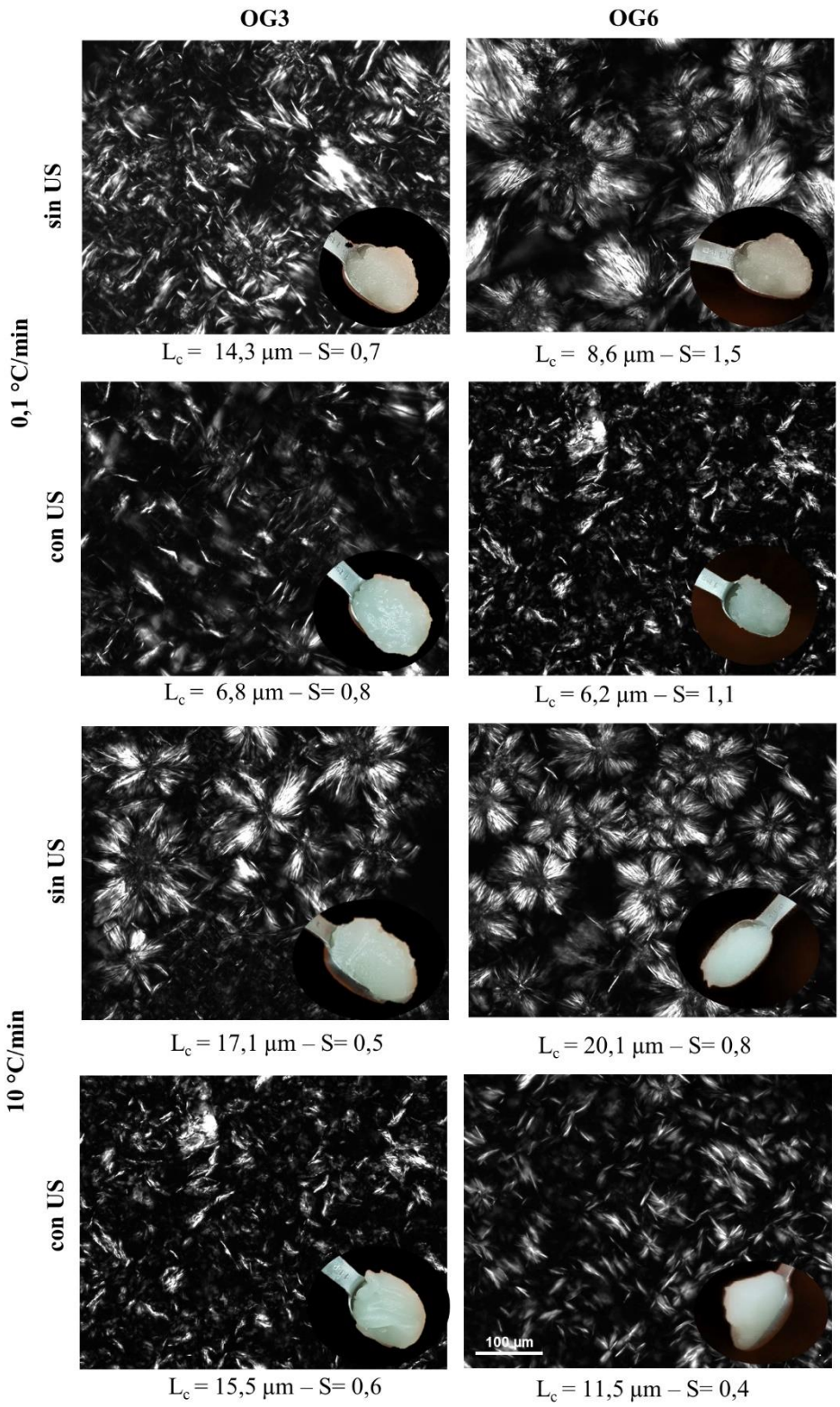


Figura 6.12 Fotomicrografías con luz polarizada (principales) e imágenes de la apariencia visual (en lado inferior derecho de cada imagen principal) de oleogeles (OG3 y OG6) obtenidos con diferentes concentraciones de monoglicéridos, velocidades de enfriamiento (0,1 and 10 °C/min) y condiciones de sonicación (sin ultrasonido (sin US) y con ultrasonido (con US)), almacenados por 24 h a 5 °C. Las imágenes microscópicas fueron tomadas con una magnificación de 10X. L_c: longitud de cristales; S: span.

Los MG cristalizaron en forma de agujas irregulares, en concordancia a los cristales observados anteriormente en esta tesis (Sección 3.3.2.5.2, Capítulo 3) y en oleogeles de aceite de oliva y MG (Kesselman y Shimoni, 2007). En las muestras no sonicadas, se observaron agregados esféricos formados a partir de los cristales en forma de aguja, los cuales no se detectaron en las muestras sonicadas. Resultados similares han sido reportados por Bin Sintang y col. (2017) en oleogeles de MG. Para las muestras no sonicadas, el incremento en la velocidad de enfriamiento produjo una disminución en L_c, en concordancia con los resultados mostrados en otros estudios realizados en oleogeles estructurados con ceras (Toro-Vazquez y col., 2013). Para las muestras sonicadas, el comportamiento cambió: se formaron cristales de mayor tamaño al incrementar la velocidad de enfriamiento en las muestras OG3, lo que sugiere que la aplicación de US no fue eficiente en la reducción de L_c bajo estas condiciones. Prácticamente, no se observaron cambios en L_c en las muestras OG4,5 y OG6 debido al incremento en la velocidad de enfriamiento.

El almacenamiento a una menor T_s provocó una disminución en L_c, excepto en las muestras OG6 cristalizadas a 10 ºC/min sin y con la aplicación de US, donde se obtuvieron cristales de mayor tamaño luego del almacenamiento a 5 ºC, en comparación con los cristales obtenidos a 25 ºC. La inspección visual de estas muestras estuvo en concordancia con estos resultados. Los oleogeles almacenados a 25 ºC se observaron con apariencia menos estructurada y aspecto grasoso, mostrando cierto brillo comparados con los materiales almacenados a 5ºC.

6.4.3.4 Contenido de sólidos

La aplicación de US incrementó significativamente el contenido de sólidos solo en las muestras OG3 obtenidas a 10 ºC/min y almacenadas a 25 ºC (Figura 6.13), sugiriendo que la sonicación favoreció la cristalización de los MG en esas condiciones. Una interpretación similar ha sido reportada previamente (Suzuki y col., 2010). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el SFC de las demás muestras enfriadas a 10 ºC/min y

procesadas tanto sin como con la aplicación de US, ni en las muestras OG3 y OG6 enfriadas a 0,1 ºC/min, similar a lo reportado por da Silva y col. (2019) para condiciones similares.

Un resultado no esperado fue que se obtuvo un valor más bajo de SFC como consecuencia de la aplicación de US en las muestras OG4,5 cristalizadas a 0,1°C/min y almacenadas a 25 ºC. Resulta poco claro el motivo por el cual el US causó un SFC menor en estas muestras; posiblemente, las ondas acústicas disolvieron parte de los cristales formados en este material en lugar de inducir su cristalización. Si bien el SFC fue menor en estas muestras sonicadas, se observó un efecto significativo de la aplicación de US en el tamaño de cristales y la morfología de estas muestras (Figura 6.11). En general, no se observaron diferencias significativas en el SFC entre las muestras cristalizadas a 0,1 y 10 ºC/min, y almacenadas a 25 ºC, excepto en las muestras OG3 y OG4,5 no sonicadas, donde SFC disminuyó al incrementar la velocidad de enfriamiento. Este resultado podría estar relacionado con el tiempo durante el cual ocurre la organización molecular previa al comienzo de la nucleación. A 0,1 ºC/min, las moléculas pueden tener más tiempo para interactuar y formar mayor cantidad de cristales, en comparación con la cristalización a 10 ºC / min.

La temperatura de almacenamiento modificó el SFC en las muestras OG3 enfriadas a 10 ºC/min y en las muestras OG6. Para las muestras OG3-10-con US, la combinación de la aplicación de US y el almacenamiento a 25 ºC favoreció la inducción de la cristalización, donde el bajo grado de subenfriamiento en el sistema permitió que continuara cristalizando hasta igualar el nivel logrado a baja velocidad de enfriamiento (Toro-Vazquez y col., 2007). En cambio, para ambas velocidades de enfriamiento y condiciones de sonicación, el almacenamiento de OG6 a 5°C causó un incremento de SFC comparado con T_s= 25°C, sugiriendo que estas muestras tuvieron la fuerza impulsora necesaria, dada por la presencia de mayor cantidad de material cristalizable en el sistema, para continuar cristalizando a baja T_s. Este efecto fue también observado en ΔH_M (sección 6.4.3.2).

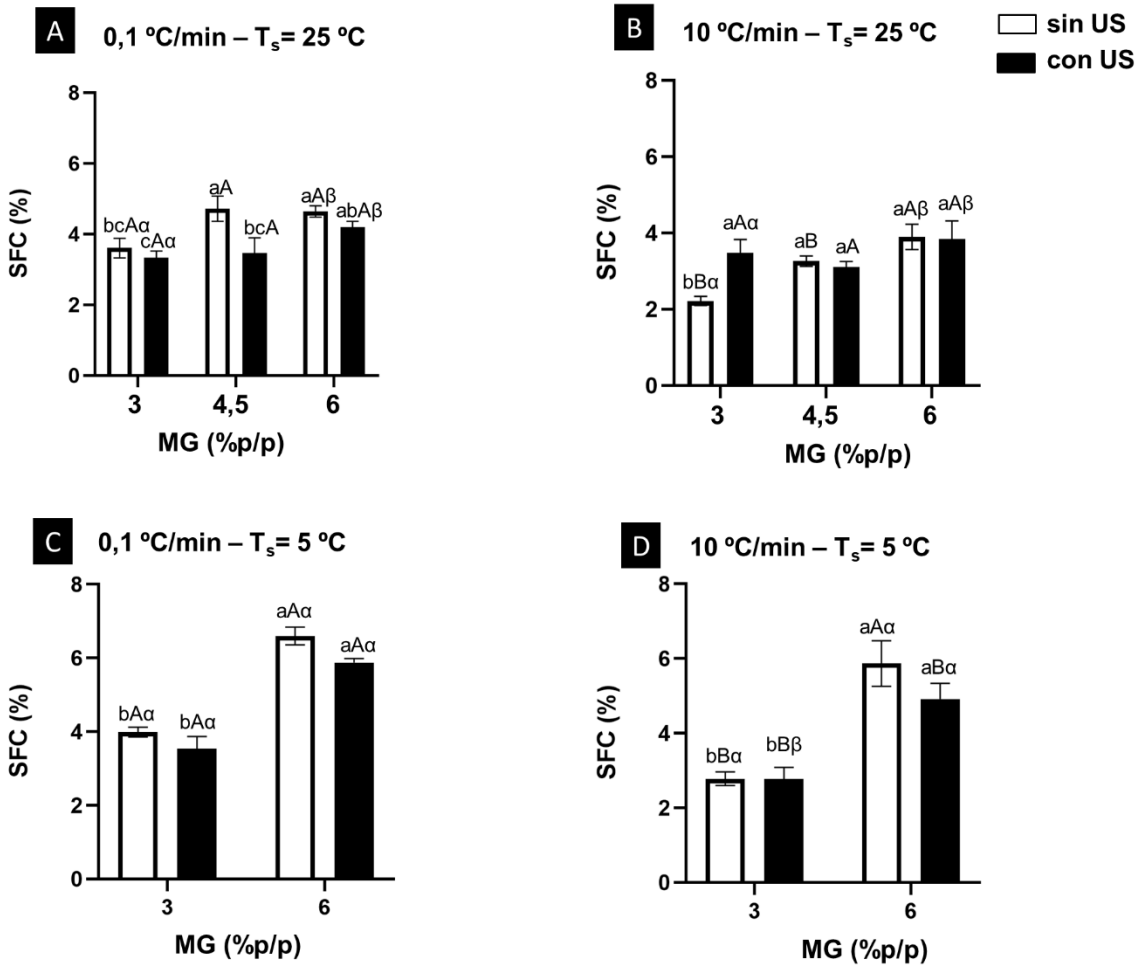


Figura 6.13. Contenido de sólidos (SFC, %) de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C. Los valores promedio representados con letras minúsculas distintas para cada velocidad de enfriamiento (0,1 o 10 ºC/min) y T_s (25 o 5 ºC) indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que los valores promedio con letras mayúsculas distintas para cada concentración de MG, condición de sonicación y T_s indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Letras griegas distintas entre muestras almacenadas a 25 o 5 ºC, para una misma concentración de MG, condición de sonicación y velocidad de enfriamiento, indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

6.4.3.5 Polimorfismo

Las muestras no sonicadas mostraron la forma polimórfica β', con sus picos característicos en 3,8 y 4,2 Å (Tabla 6.6). Resultados similares fueron reportados en oleogeles de aceite de hígado de bacalao y MG (Da Pieve y col., 2011). Los cristales β' son reconocidos

por proveer la estructura suave/lisa característica de las margarinas, y por lo tanto es la forma polimórfica deseada en los oleogeoles obtenidos con el objetivo de sustituir a los shortenings (Ferro y col., 2019). La aplicación de US no cambió el polimorfismo en las muestras OG3. Sin embargo, en la concentración más alta de MG, la sonicación promovió la formación de la forma polimórfica β (d=4,6 Å) y la coexistencia de las formas β' y β. Debido a que no se observó fraccionamiento en los perfiles térmicos de los oleogeles durante el calentamiento (Figura 6.9), es probable que la forma β' se haya mantenido como la predominante en todas las muestras. No se observaron cambios en el polimorfismo debido a la velocidad de enfriamiento y a T_s, en concordancia con Da Pieve y col. (2011).

Tabla 6.6. Distancia entre los planos de la red cristalina (d) en oleogeles con distinta concentración de monoglicéridos (OG3 y OG6) obtenidos bajo distintas condiciones de procesamiento y temperatura de almacenamiento (T_s=25 o 5 ºC).

Muestra*	d (Å)	Forma polimórfica
	T_s = 25 ºC	
OG3-0,1-sin US	3,74 - 3,93 - 4,31	β'
OG3-10-sin US	3,75 - 3,94 - 4,28	β'
OG3-0,1-con US	3,85 - 4,34	β'
OG3-10-con US	3,72 - 3,91 - 4,29	β'
OG6-0,1-sin US	3,73 - 3,90 - 4,29	β'
OG6-10-sin US	3,73 - 3,91 - 4,31	β'
OG6-0,1-con US	3,89 - 4,31 - 4,55	β' - β
OG6-10-con US	3,89 - 4,33 - 4,52	β' - β
	T_s = 5 ºC	
OG3-0,1-sin US	3,45 - 3,74 - 4,29	β'
OG3-10-sin US	3,74 - 3,94 - 4,28	β'
OG3-0,1-con US	3,58 - 3,72 - 3,90	β'
OG3-10-con US	3,33 - 3,73 - 3,93 - 4,30	β'
OG6-0,1-sin US	3,73 - 3,92	β'
OG6-10-sin US	3,74 - 3,92 - 4,28	β'
OG6-0,1-con US	3,94 - 4,54	β'
OG6-10-con US	3,75 - 3,94 - 4,28 - 4,55	β' - β

*Ver Tabla 6.4 para la descripción de la nomenclatura de las muestras.

6.4.3.6 Propiedades de textura

La dureza (DU) de las muestras sonicadas almacenadas a 25 °C fue significativamente mayor que la correspondiente a las no sonicadas, y este incremento fue mayor en las muestras enfriadas a 0,1 ºC/min en comparación con aquellas enfriadas a 10 ºC/min (Figura 6.14). Este incremento en la dureza puede ser atribuido a los cristales más pequeños generados por la aplicación de US, los cuales tienen mayor área de contacto y por ende contribuyen a una estructura más dura comparada con la red formada por cristales de mayor tamaño. Las muestras OG3-0,1-sin US no mostraron una red bien estructurada y fluyeron luego de 24 h de almacenamiento a 25 ºC (Figura 6.11), mientras que las correspondientes obtenidas con US no fluyeron, mostrando una estructura de tipo semisólido. Además, se obtuvo el mismo nivel de DU en oleogeles formulados con 3 %p/p de MG usando US comparados con aquellos oleogeles no sonicados preparados con 6 %p/p de MG, y se lograron valores mayores de DU en oleogeles sonicados con 4,5 %p/p de MG (0,24±0,03 N) en comparación con los no sonicados formulados con 6 %p/p (0,06±0,00 N) (Figura 6.14-A). El aumento en la velocidad de enfriamiento mejoró la dureza de los oleogeles obtenidos sin aplicación de US, en concordancia con Ojijo y col. (2004a). Para las muestras sonicadas, esta tendencia solo se encontró en OG3, mientras que no se encontraron diferencias significativas en los valores de DU de las muestras OG4,5 y OG6 debido a la velocidad de enfriamiento. Esto resulta así porque el US incrementó la dureza de las muestras enfriadas a 0,1 ºC/min en mayor porcentaje que en las enfriadas a 10 ºC/min, siendo incrementada con la aplicación de US desde 0,03±0,00 hasta 0,25±0,03 N y desde 0,06±0,00 hasta 0,41±0,01 N, y desde 0,14±0,01 hasta 0,26±0,02 N y desde 0,29±0,03 hasta 0,49±0,05 N, para las muestras OG4,5 y OG6, respectivamente.

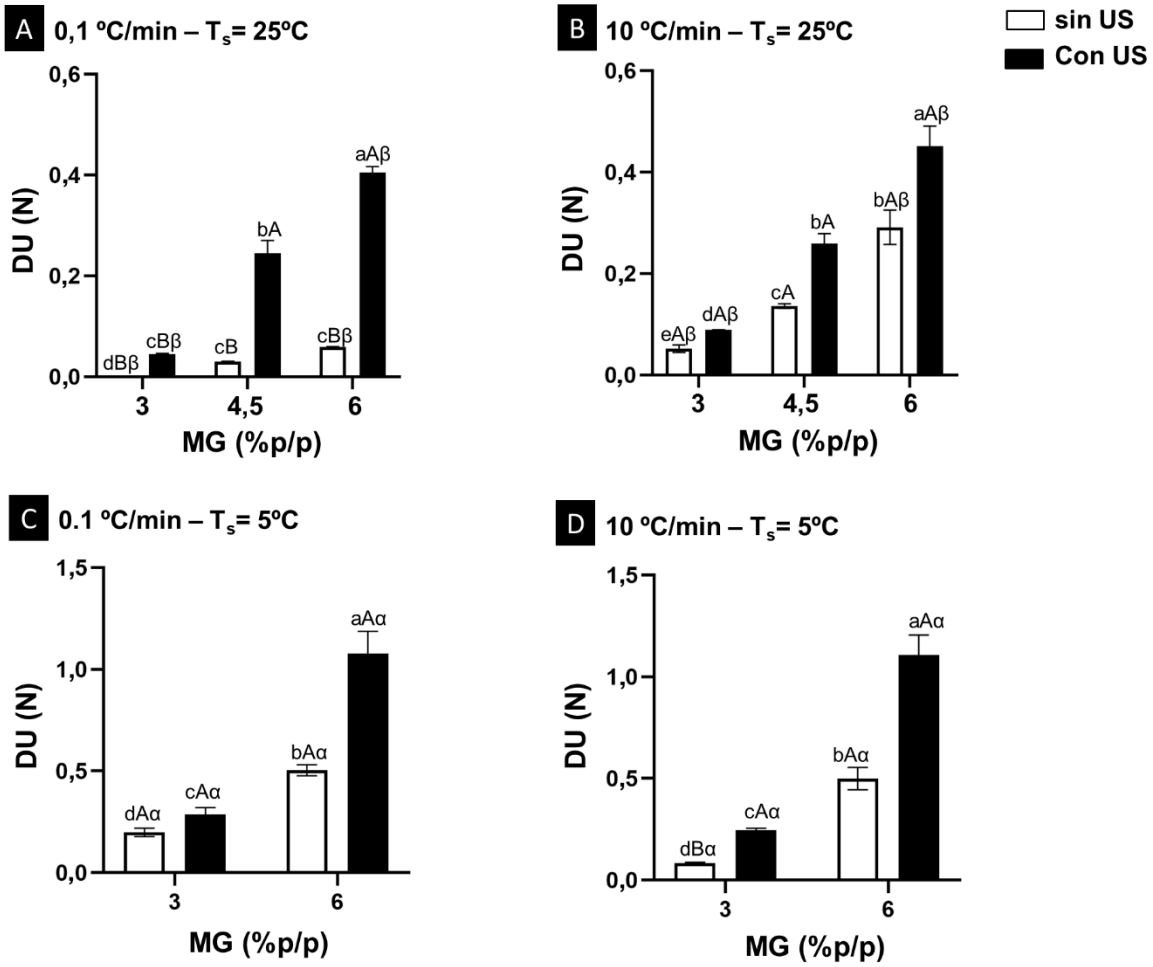


Figura 6.14. Dureza (DU) de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C. Los valores promedio representados con letras minúsculas distintas para cada velocidad de enfriamiento (0,1 o 10 ºC/min) y T_s (25 o 5 ºC) indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que los valores promedio con letras mayúsculas distintas para cada concentración de MG, condición de sonicación y T_s indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Letras griegas distintas entre muestras almacenadas a 25 y 5 ºC para una misma concentración de MG, condición de sonicación y velocidad de enfriamiento indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

La dureza de los oleogeles almacenados a 5 °C fue significativamente más alta que la correspondiente a los almacenados a 25 °C para todas las condiciones de procesamiento testeadas. La mayor dureza de los oleogeles enfriados hasta 5 °C y almacenados por 24 h a dicha temperatura, podría ser el resultado de organizaciones estructurales más eficientes,

con interacciones no-covalentes más fuertes, y/o que los oleogeles almacenados a 5 ºC se encuentran en un estado energético lo suficientemente bajo como para mantener la organización de la red cristalina lograda durante el almacenamiento por 24 h, pero además, también podría ser el efecto de una mayor cantidad de material cristalizado debido a un incremento en la fuerza impulsora para la cristalización. Sin embargo, el SFC no cambió significativamente con T_s en algunas muestras, sugiriendo que otras propiedades físicas, como la microestructura y/o las interacciones, determinan la dureza de las muestras.

La aplicación de US incrementó la adhesividad de las muestras enfriadas tanto a 0,1 como a 10 ºC/min, y almacenadas a 25 ºC, siendo mayor el incremento en aquellas cristalizadas a 0,1 ºC/min (Tabla 6.7). Este resultado sugiere que la aplicación de US generó más interacciones entre los cristales de MG (en concordancia con los resultados de reología descriptos en la sección 6.4.3.7) que pudieron modificar la adhesividad de la red cristalina. El incremento en la velocidad de enfriamiento produjo un aumento en la AD de las muestras almacenadas a 25 ºC, lo cual se correlaciona con los resultados obtenidos para la DU, excepto para las muestras OG3-con US, donde probablemente la aplicación de US generó un arreglo molecular con mayor grado de desorden debido a la presencia de interacciones cristal-cristal más débiles, evidenciadas por los valores de elasticidad más bajos (sección 6.4.3.7).

Al disminuir T_s, la AD se incrementó comparada con los valores obtenidos luego del almacenamiento a 25ºC, lo cual estuvo en concordancia con Öğütcü y Yılmaz (2014) en su estudio de oleogeles de ceras, MG y aceite de oliva. Una excepción a este comportamiento se encontró en las muestras OG6-10-sin US y OG6-10-con US, las cuales no mostraron diferencias significativas en la AD debido a la disminución de T_s.

Tabla 6.7. Adhesividad (AD) y cohesividad (CO) de oleogeles obtenidos bajo diferentes condiciones de procesamiento a distintas temperaturas de almacenamiento (T_s, 5 o 25°C).

Muestra*	AD (N.s)		CO	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
OG3-0,1-sin US	1,53±0,21$^{cA\alpha}$	**$^{eB\beta}$	0,40±0,03$^{abA\alpha}$	**$^{cB\beta}$
OG3-10-sin US	0,61±0,07$^{cB\alpha}$	0,24±0,03$^{fA\beta}$	0,40±0,02$^{bA\beta}$	0,50±0,03$^{abA\alpha}$
OG3-0,1-con US	2,05±0,49$^{cA\alpha}$	0,92±0,10$^{cA\beta}$	0,42±0,03$^{aB\beta}$	0,74±0,04$^{aA\alpha}$
OG3-10-con US	2,55±0,17$^{bA\alpha}$	0,37±0,03$^{eB\beta}$	0,52±0,03$^{aA\alpha}$	0,55±0,03$^{aB\alpha}$
OG4,5-0,1-sin US	nd	0,02±0,01^{eB}	nd	0,52±0,05^{bA}
OG4,5-10- sin US	nd	1,66±0,10^{dA}	nd	0,51±0,06^{abA}
OG4,5-0,1-con US	nd	1,60±0,13^{bB}	nd	0,47±0,05^{bA}
OG4,5-10-con US	nd	2,66±0,09^{cA}	nd	0,50±0,00^{abA}
OG6-0,1-sin US	4,29±0,51$^{bA\alpha}$	0,45±0,03$^{dB\beta}$	0,37±0,01$^{abA\beta}$	0,49±0,06$^{bA\alpha}$
OG6-10-sin US	4,80±1,33$^{aA\alpha}$	3,49±0,18$^{bA\alpha}$	0,37±0,07$^{bA\alpha}$	0,42±0,04$^{bcA\alpha}$
OG6-0,1-con US	6,07±0,67$^{aA\alpha}$	3,69±0,64$^{aB\beta}$	0,30±0,02$^{cA\beta}$	0,44±0,03$^{bA\alpha}$
OG6-10-con US	5,32±1,30$^{aB\alpha}$	4,33±0,21$^{aA\alpha}$	0,24±0,05$^{cA\beta}$	0,41±0,03$^{cA\alpha}$

Los valores se muestran como el promedio ± desviación estándar de tres réplicas. Para cada velocidad de enfriamiento (0,1 o 10 ºC/min) y temperatura de almacenamiento (T_s) los valores promedio con la misma letra minúscula entre concentraciones y condición de sonicación (sin US y con US) no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Los promedios representados con letra mayúscula diferente entre velocidades de enfriamiento (0,1 y 10 ºC/min) para cada condición de sonicación, T_s y concentración indican que las muestras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que aquellos con la misma letra griega entre condiciones de procesamiento medidas a T_s= 25 y 5 ºC para cada velocidad de enfriamiento, concentración, y condición de sonicación, no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). *Ver Tabla 6.4 para la descripción de la nomenclatura de las muestras; **estas muestras no gelificaron, por lo cual no se midió su textura; nd: no determinada.

En general, a T_s=25 °C, la aplicación de US no modificó significativamente la cohesividad (CO) de los oleogeles. Como se mencionó anteriormente (sección 6.3.5), la CO se calcula mediante el cociente A3/A1. En este estudio, ambos parámetros incrementaron con el uso de US, lo que significa que la sonicación permitió fortalecer la estructura de la red cristalina. Sin embargo, debido a que el incremento en A1 y A3 fue similar, la cohesividad prácticamente no fue afectada. La velocidad de enfriamiento solo afectó la CO en los oleogeles formulados con la menor concentración de MG. Se observó un incremento en la CO de las muestras OG3-10-sin US comparadas con OG3-0,1-sin US almacenadas a 25 ºC,

mientras que el incremento en la velocidad de enfriamiento produjo una disminución en la CO en las muestras OG3 sonicadas almacenadas a 5 ºC.

Contrariamente a lo observado en la dureza, los oleogeles almacenados a 5 ºC mostraron, en general, valores de cohesividad significativamente menores que aquellos almacenados a 25 ºC. Los mayores valores de dureza encontrados en las muestras sonicadas cristalizadas a 10 ºC/min y almacenadas a 5 ºC pueden explicar esta disminución en la cohesividad.

6.4.3.7 Módulo elástico

La aplicación de US incrementó significativamente el módulo elástico (G') de los oleogeles OG4,5 y OG6 obtenidos a ambas velocidades de enfriamiento almacenados a 25 ºC, lo que sugiere que la sonicación permite desarrollar una estructura cristalina más elástica (Figura 6.15). Estos resultados son consistentes con los observados en el análisis de la microestructura: se detectó una reducción en el tamaño de los cristales presentes en las muestras sonicadas, mejorando las interacciones cristal-cristal e incrementando así la elasticidad de estos materiales. Este hallazgo también fue reportado por Toro-Vazquez y col. (2007). La excepción a este comportamiento se encontró para las muestras OG3 enfriadas a 10 ºC/min, donde G' no cambió debido a la aplicación de US. Esto podría deberse a que la disminución en L_c observada para esta condición no fue suficiente como para cambiar significativamente la elasticidad de la red cristalina. El mayor incremento en G' debido a la sonicación se observó para las muestras OG6, y esto podría estar relacionado con la presencia de una pequeña cantidad de cristales presentes en la forma polimórfica β (como se describió en la sección 6.4.3.5).

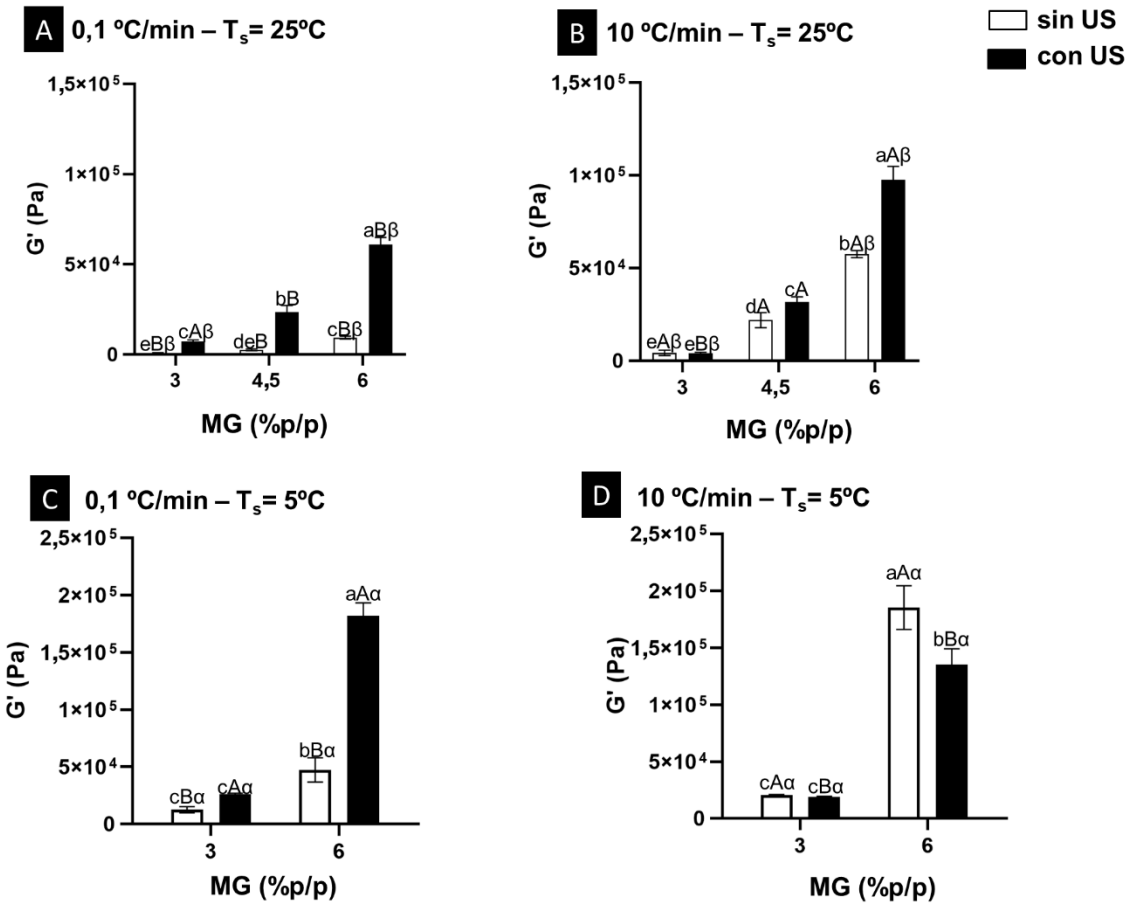


Figura 6.15. Módulo elástico (G') de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C. Los valores promedio representados con letras minúsculas distintas para cada velocidad de enfriamiento (0,1 o 10 ºC/min) y T_s (25 o 5 ºC) indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que los valores promedio con letras mayúsculas distintas para cada concentración de MG, condición de sonicación y T_s indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Letras griegas distintas entre muestras almacenadas a 25 y 5 ºC para una misma concentración de MG, condición de sonicación y velocidad de enfriamiento indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Si bien el SFC permaneció sin cambios o disminuyó con el aumento en la velocidad de enfriamiento, G' se incrementó. Este resultado estuvo en concordancia con lo reportado por Dibildox-Alvarado y col. (2004). De manera similar, al disminuir la T_s desde 25 a 5 ºC, los valores de G' incrementaron. La mayor elasticidad se obtuvo para la concentración de MG más alta a T_s= 5 ºC, tanto procesando a 0,1 ºC/min con US como a 10 ºC/min sin US. Durante el almacenamiento a 5 ºC, las muestras OG6 parecieran presentar un mayor orden en su

nivel estructural, lo que sumado a la mayor cantidad de sólidos (evidenciado por el incremento observado tanto en SFC como en ΔH_M), de las mismas explicaría el incremento de la elasticidad de la red. Pérez-Martínez y col. (2005) demostraron que el comportamiento elástico de la red cristalina formada en mezclas de manteca de cacao y aceites vegetales está asociado con la cantidad de material cristalizado (SFC y ΔH_M), y que esta relación es directa cuando la forma polimórfica predominante es la β'. Esto último también concuerda con los resultados encontrados en este trabajo (sección 6.4.3.5)

6.4.3.8 Capacidad de retención de aceite

La capacidad de retención de aceite se incrementó significativamente con la aplicación de US a ambas velocidades de enfriamiento luego del almacenamiento a T_s=25 °C (Figura 6.16), en concordancia con los resultados reportados por Sharifi y col. (2018). El mayor incremento en OBC debido a la sonicación se observó para las muestras enfriadas a 0,1 ºC/min; este incremento disminuyó a medida que la concentración de MG aumentó, siendo de 59,5, 47,3, y 32,8 % para las muestras OG3, OG4,5, y OG6, respectivamente. Estos resultados sugieren la existencia de un comportamiento sinérgico entre la disminución de la velocidad de enfriamiento desde 10 hasta 0,1 ºC/min y la aplicación de US, influenciando positivamente la formación de una red cristalina más efectiva para estructurar el aceite líquido. La velocidad de enfriamiento baja permitió desacelerar el proceso de cristalización previo a la aplicación de US (esto fue observado visualmente), en comparación con la velocidad alta y, por lo tanto, se logró un mayor efecto de la sonicación en la estructura del material. Por otro lado, se obtuvieron valores similares de OBC en las muestras sonicadas OG4,5 y OG6 enfriadas a 0,1 ºC/min, lo cual no fue logrado con las condiciones estudiadas en la Sección 6.3.1, lo que demuestra que sería posible reducir la cantidad de MG usada en la formulación de oleogeles sin causar la pérdida de las propiedades físicas deseadas. Estos resultados concuerdan con los encontrados en la dureza, elasticidad y microestructura: las muestras con menor L_c mostraron valores más altos de DU y G', además de presentar mayor OBC.

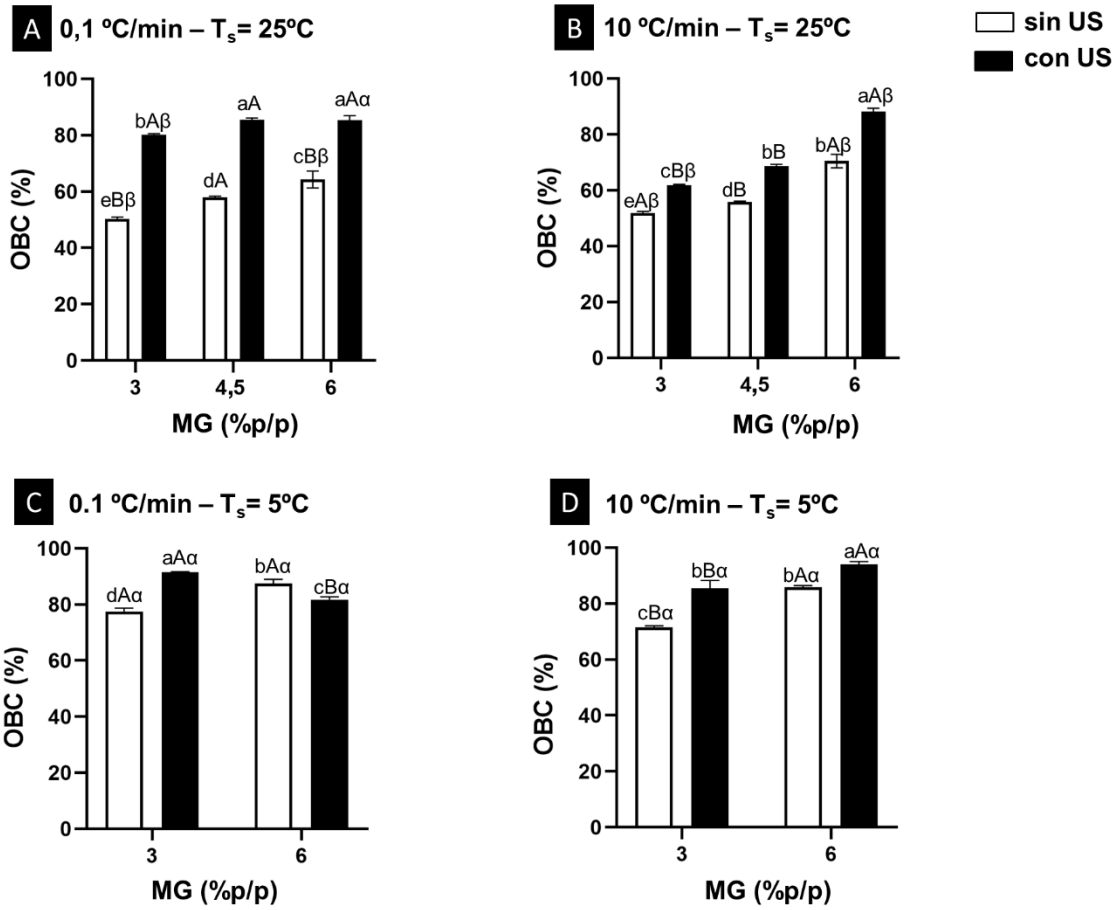


Figura 6.16. Porcentaje de capacidad de retención de aceite (OBC) de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C. Los valores promedio representados con letras minúsculas distintas para cada velocidad de enfriamiento (0,1 o 10 ºC/min) y T_s (25 o 5 ºC) indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$), mientras que los valores promedio con letras mayúsculas distintas para cada concentración de MG, condición de sonicación y T_s indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Letras griegas distintas entre muestras almacenadas a 25 y 5 ºC para una misma concentración de MG, condición de sonicación y velocidad de enfriamiento indican que las muestras son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En general, a T_s=25 °C, OBC se incrementó significativamente con el aumento de la velocidad de enfriamiento en las muestras no sonicadas. Sin embargo, las muestras sonicadas obtenidas a 10 ºC/min mostraron valores de OBC más bajos (OG3, OG4,5) o similares (sin diferencias significativas, OG6) comparadas con las correspondientes procesadas a 0,1 ºC/min. Como se mencionó anteriormente, el tamaño de cristales presentes

en la red puede influenciar la capacidad de retención de aceite de la misma (sección 6.3.1). La presencia de cristales de menor tamaño en las muestras sonicadas OG3-0,1 y OG4,5-0,1 (Figura 6.11) permitió obtener mayores valores de OBC, lo cual podría asociarse al posible incremento en la superficie cristalina disponible para atrapar el aceite, sumado a la probable presencia de más interacciones que conducirían a la obtención de una estructura más fuerte (Blake y Marangoni, 2015), comparada con la red formada por cristales de mayor tamaño evidenciada en los oleogeles procesados a 10 ºC/min, la cual presentó menor OBC. En la concentración de MG más alta, la diferencia leve encontrada en L_c pareciera no influenciar la capacidad de retención de aceite de la red cristalina.

El almacenamiento de los oleogeles a una menor temperatura incrementó la OBC, observándose el mayor cambio en las muestras OG3-0,1-sin US. El valor más alto de OBC encontrado para las muestras almacenadas a 5 ºC fue para los oleogeles sonicados (OG3-0,1-con US y OG6-10-con US).

6.5 Conclusiones

Este trabajo demuestra que la velocidad de enfriamiento, la concentración de monoglicéridos y la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (US) podrían ser usadas como herramientas potenciales para adaptar las propiedades físicas de oleogeles de monoglicéridos y aceite de girasol alto oleico.

Al evaluar los resultados de las propiedades de los oleogeles obtenidos mediante un proceso de enfriamiento con velocidad controlada hasta la condición de almacenamiento, junto con la aplicación de US realizada al percibir la aparición de los primeros cristales, se observó que el aumento en la velocidad de enfriamiento permitió mejorar la estructura de la red que compone el oleogel, mostrando un aumento en su capacidad de retención de aceite para todas las concentraciones ensayadas, y mejorando la dureza y elasticidad para la mayor concentración de monoglicéridos usada. A tiempo inicial, se encontraron valores de entalpía de fusión y de contenido de sólidos mayores como consecuencia de una velocidad de

enfriamiento más alta. Las temperaturas de inicio de fusión y de pico se incrementaron con el aumento en la concentración de monoglicéridos y no se vieron afectadas ni por la velocidad de enfriamiento ni por el tiempo de almacenamiento. Los resultados de los ensayos térmicos, de reología y microscopía confirmaron la ocurrencia de un reordenamiento microestructural en la red durante el almacenamiento de los oleogeles a 25 °C durante 24 h, lo cual afectó las propiedades de textura de los mismos. En general, la aplicación de US en las condiciones descriptas arriba no afectó significativamente el comportamiento térmico de los oleogeles. En la concentración más alta de agente estructurante usada, la aplicación de ultrasonido resultó ser más eficiente en el incremento de la capacidad de retención de aceite y de la dureza de la red cuando el enfriamiento tuvo lugar a baja velocidad.

Por otro lado, con el fin de mejorar el proceso de obtención de oleogeles empleando US, se empleó un método alternativo que contempla la aplicación de US cuando el valor de la cristalinidad reducida alcanza el 48% y el enfriamiento posterior sin control de la velocidad. En este caso se observó que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad modificó el proceso de cristalización de los monoglicéridos y redujo el tamaño de cristales obtenidos para todas las concentraciones evaluadas, siendo más efectiva cuando previamente se utiliza una velocidad de enfriamiento lenta y bajo condiciones de almacenamiento a 5 ºC. La reducción en el tamaño de cristales permitió la formación de una red cristalina más fuerte, lo que estaría relacionado con mayor número de interacciones cristal-cristal, y mayores valores de dureza y elasticidad, permitiendo atrapar efectivamente el aceite líquido incluso con la concentración más baja de monoglicéridos. Además, resulta importante destacar que se logró la misma capacidad de retención de aceite en oleogeles sonicados obtenidos a 0,1 ºC/min con 4,5 %p/p de monoglicéridos en comparación con oleogeles procesados bajo las mismas condiciones pero formulados con mayor concentración de agente estructurante (6 %p/p). De esta manera, la aplicación de ultrasonido de alta intensidad permitió disminuir la cantidad de grasas saturadas en los oleogeles manteniendo las propiedades físicas deseadas, el cual era uno de los objetivos de este estudio.

El trabajo que se detalla en este capítulo fue divulgado a través de la siguiente publicación científica:

- Giacomozzi, A. S., Palla, C. A., Carrín, M. E., y Martini, S. (2019). Physical Properties of Monoglycerides Oleogels Modified by Concentration, Cooling Rate, and High-Intensity Ultrasound. *Journal of food science, 84*(9), 2549-2561. DOI: 10.1111/1750-3841.14762.

6.6 Referencias

Augusto, P. E., Soares, B. M., Chiu, M. C., y Gonçalves, L. A. (2012). Modelling the effect of temperature on the lipid solid fat content (SFC). *Food Research International, 4*5(1), 132-135.

Bin Sintang, M. D., Rimaux, T., Van de Walle, D., Dewettinck, K., y Patel, A. R. (2017). Oil structuring properties of monoglycerides and phytosterols mixtures. *European Journal of Lipid Science and Technology, 119*(3), 1500517.

Blake, A. I., y Marangoni, A. G. (2015). The use of cooling rate to engineer the microstructure and oil binding capacity of wax crystal networks. *Food Biophysics, 10*(4), 456-465.

Campos, R., Narine, S., y Marangoni, A. (2002). Effect of cooling rate on the structure and mechanical properties of milk fat and lard. *Food Research International, 35*(10), 971-981.

Da Pieve, S., Calligaris, S., Co, E., Nicoli, M. C., y Marangoni, A. G. (2010). Shear Nanostructuring of Monoglyceride Organogels. *Food Biophysics, 5*(3), 211-217.

Da Pieve, S., Calligaris, S., Panozzo, A., Arrighetti, G., y Nicoli, M. C. (2011). Effect of monoglyceride organogel structure on cod liver oil stability. *Food Research International, 44*(9), 2978-2983.

da Silva, T. L. T., Arellano, D. B., y Martini, S. (2019). Use of High-Intensity Ultrasound to Change the Physical Properties of Oleogels and Emulsion Gels. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. https://doi.org/10.1002/aocs.12215

Dibildox-Alvarado, E., Rodrigues, J. N., Gioielli, L. A., Toro-Vazquez, J. F., y Marangoni, A. G. (2004). Effects of crystalline microstructure on oil migration in a semisolid fat matrix. *Crystal growth & design, 4*(4), 731-736.

Ferro, A. C., Okuro, P. K., Badan, A. P., y Cunha, R. L. (2019). Role of the oil on glyceryl monostearate based oleogels. *Food Research International, 120*, 610-619.

Gallo, M., Ferrara, L., y Naviglio, D. (2018). Application of ultrasound in food science and technology: A perspective. *Foods, 7*(10), 164.

Herrera, M. L., y Hartel, R. W. (2000). Effect of processing conditions on crystallization kinetics of a milk fat model system. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 77*(11), 1177-1188.

Higaki, K., Ueno, S., Koyano, T., y Sato, K. (2001). Effects of ultrasonic irradiation on crystallization behavior of tripalmitoylglycerol and cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 78*(5), 513-518.

Jana, S., y Martini, S. (2014). Effect of high-intensity ultrasound and cooling rate on the crystallization behavior of beeswax in edible oils. *Journal of Agricultural and Food chemistry, 62*(41), 10192-10202.

Kadamne, J. V., Ifeduba, E. A., Akoh, C. C., y Martini, S. (2017a). Sonocrystallization of interesterified fats with 20 and 30% C16:0 at sn-2 position. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 94*(1), 3-18.

Kadamne, J. V., Ifeduba, E. A., Akoh, C. C., y Martini, S. (2017b). Sonocrystallization of interesterified fats with 20 and 30% of stearic acid at the sn-2 position and their physical blends. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 94*(8), 1045-1062.

Kesselman, E., y Shimoni, E. (2007). Imaging of Oil/Monoglyceride Networks by Polarizing Near-Field Scanning Optical Microscopy. *Food Biophysics, 2*(2), 117-123.

Lee, J., Claro da Silva, R., Gibon, V., y Martini, S. (2018). Sonocrystallization of Interesterified Soybean Oil: Effect of Saturation Level and Supercooling. *Journal of Food Science, 83*(4), 902-910.

Lopez-Martinez, A., Morales-Rueda, J., Dibildox-Alvarado, E., Charo-Alonso, M., Marangoni, A., y Toro-Vazquez, J. (2014). Comparing the crystallization and rheological behavior of organogels developed by pure and commercial monoglycerides in vegetable oil. *Food Research International, 64*, 946-957.

Majid, I., Nayik, G. A., y Nanda, V. (2015). Ultrasonication and food technology: A review. *Cogent Food & Agriculture, 1*(1), 1071022.

Martini, S., Herrera, M., y Hartel, R. W. (2002). Effect of processing conditions on microstructure of milk fat fraction/sunflower oil blends. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 79*(11), 1063-1068.

Martini, S., Suzuki, A. H., y Hartel, R. W. (2008). Effect of high intensity ultrasound on crystallization behavior of anhydrous milk fat. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 85*(7), 621-628.

Maruyama, J. M., Wagh, A., Gioielli, L. A., da Silva, R. C., y Martini, S. (2016). Effects of high intensity ultrasound and emulsifiers on crystallization behavior of coconut oil and palm olein. *Food Research International, 86*, 54-63.

Meng, Z., Yang, L., Geng, W., Yao, Y., Wang, X., y Liu, Y. (2014). Kinetic study on the isothermal and nonisothermal crystallization of monoglyceride organogels. *The Scientific World Journal, 2014*, 1-7.

Narine, S. S., y Marangoni, A. G. (1999). Relating structure of fat crystal networks to mechanical properties: a review. *Food Research International, 32*(4), 227-248.

Ojijo, N. K., Neeman, I., Eger, S., y Shimoni, E. (2004a). Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 84*(12), 1585-1593.

Ojijo, N. K., Kesselman, E., Shuster, V., Eichler, S., Eger, S., Neeman, I., y Shimoni, E. (2004b). Changes in microstructural, thermal, and rheological properties of olive oil/monoglyceride networks during storage. *Food Research International, 37*(4), 385-393.

Palla, C., de Vicente, J., Carrín, M. E., y Ruiz, M. J. G. (2019). Effects of cooling temperature profiles on the monoglycerides oleogel properties: A rheo-microscopy study. *Food Research International, 125*, 108613.

Pérez-Martínez, D., Alvarez-Salas, C., Morales-Rueda, J. A., Toro-Vazquez, J. F., Charó-Alonso, M., y Dibildox-Alvarado, E. (2005). The effect of supercooling on crystallization of cocoa butter-vegetable oil blends. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *82*(7), 471-479.

Pernetti, M., van Malssen, K. F., Flöter, E., y Bot, A. (2007). Structuring of edible oils by alternatives to crystalline fat. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, 12*(4-5), 221-231.

Pomeranz, Y. (1991) *Functional Properties of Food Components*. San Diego, CA: Academic Press

Rincón-Cardona, J. A., Agudelo-Laverde, L. M., Herrera, M. L., y Martini, S. (2015). Effect of high-intensity ultrasound on the crystallization behavior of high-stearic high-oleic sunflower oil soft stearin. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 92*(4), 473-482.

Sharifi, M., Goli, S. A. H., y Fayaz, G. (2018). Exploitation of high-intensity ultrasound to modify the structure of olive oil organogel containing propolis wax. *International Journal of Food Science & Technology, 54*(2), 509-515.

Suzuki, A., Lee, J., Padilla, S., y Martini, S. (2010). Altering functional properties of fats using power ultrasound. *Journal of Food Science, 75*(4), E208-E214.

Toro-Vazquez, J., Morales-Rueda, J., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M., Alonzo-Macias, M., y González-Chávez, M. (2007). Thermal and textural properties of organogels developed by candelilla wax in safflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 84*(11), 989-1000.

Toro-Vazquez, J. F., Morales-Rueda, J., Torres-Martínez, A., Charó-Alonso, M. A., Mallia, V. A., y Weiss, R. G. (2013). Cooling rate effects on the microstructure, solid content, and rheological properties of organogels of amides derived from stearic and (R)-12-hydroxystearic acid in vegetable oil. *Langmuir, 29*(25), 7642-7654.

Wagh, A., Birkin, P., y Martini, S. (2016). High-Intensity ultrasound to improve physical and functional properties of lipids. *Annual Review of Food Science and Technology, 7*, 23-41.

Wiking, L., De Graef, V., Rasmussen, M., y Dewettinck, K. (2009). Relations between crystallisation mechanisms and microstructure of milk fat. *International Dairy Journal, 19*(8), 424-430

Ye, Y., Wagh, A., y Martini, S. (2011). Using high intensity ultrasound as a tool to change the functional properties of interesterified soybean oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59*(19), 10712-10722.

Ye, Y., y Martini, S. (2014). Application of high-intensity ultrasound to palm oil in a continuous system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63*(1), 319-327.

Capítulo

7

CONCLUSIONES GENERALES Y TRABAJO FUTURO

En la presente tesis se estudió la formulación de oleogeles de monoglicéridos y aceites vegetales. Los monoglicéridos con contenido elevado de ácidos grasos saturados resultaron ser estructurantes efectivos de los aceites utilizados, especialmente del de girasol alto oleico, para el que se requirió la menor concentración de agente estructurante para lograr su gelificación, en comparación con los aceites de maíz, girasol y soja. Además, los oleogeles formulados con aceite de girasol alto oleico fueron los que mostraron los mayores valores de dureza y capacidad de retención de aceite.

Los diseños de experimentos aplicados permitieron evaluar el efecto de distintas variables de procesamiento de los oleogeles (concentración de monoglicéridos, temperatura de preparación, velocidad de agitación y temperatura de enfriamiento) sobre su capacidad de retención de aceite y sus principales parámetros reológicos y de textura, con el fin de analizar su potencial aplicación como sustitutos de una materia grasa comercial seleccionada como producto modelo. Los resultados obtenidos a partir de los diseños de experimentos y de los análisis de las superficies de respuesta presentados en el Capítulo 3, indicaron que la concentración de agente estructurante y la temperatura de enfriamiento (e indirectamente, la velocidad de enfriamiento) son los parámetros de preparación que mayor influencia presentan sobre las propiedades finales de estos materiales. En lo que se refiere a la evaluación del potencial de los oleogeles como sustitutos de la materia grasa comercial seleccionada, se

observó que fue posible lograr valores similares del módulo elástico y de dureza, además de presentar alta retención de aceite, mientras que los valores de adhesividad y cohesividad resultaron ser más bajos. Como aspectos innovadores de este trabajo se pueden destacar el uso de modelos matemáticos que permiten describir el comportamiento del material en todo el rango analizado de las variables de preparación, teniendo en cuenta la influencia de las posibles interacciones entre las mismas sobre las respuestas analizadas. Estas interacciones no han sido consideradas en estudios similares reportados en bibliografía, y en el Capítulo 3 ha quedado demostrado que varias interacciones afectan significativamente el comportamiento del sistema estudiado.

Los oleogeles obtenidos empleando el método de optimización multirespuesta, a partir de dos conjuntos de condiciones de procesamiento diferentes, mostraron una reducción en su contenido de grasa saturada de al menos 29% respecto a la materia grasa comercial considerada, por lo cual fue posible el desarrollo de sustitutos de la misma que presentan funcionalidad similar y un perfil nutricional mejorado, siendo este uno de los principales objetivos de esta tesis. Estos materiales mostraron propiedades atractivas desde distintos puntos de vista, posibilitando en uno de los casos el uso de menor cantidad de estructurante en la formulación, y por ende menor contenido de ácidos grasos saturados, y en el otro, la preparación de los oleogeles a temperatura ambiente, lo que permite una reducción en el consumo energético. Por ello, para la evaluación de los oleogeles como sustitutos grasos en un producto panificado dulce, se utilizaron ambas formulaciones optimizadas.

Se demostró que los oleogeles desarrollados poseen un gran potencial para reemplazar la materia grasa que habitualmente se utiliza en la formulación de magdalenas. Independientemente de cuál de los 2 oleogeles optimizados fue usado, se obtuvieron magdalenas con propiedades fisicoquímicas similares a las de las magdalenas formuladas con la materia grasa comercial seleccionada. En general, el reemplazo de grasa con los oleogeles de monoglicéridos optimizados tuvo un efecto positivo en la calidad y el perfil nutricional de las magdalenas elaboradas, destacándose que se obtuvo una reducción significativa en su contenido de grasa saturada. La utilización de estos materiales en

magdalenas permitió obtener productos con dureza similar, mostrando coloraciones menos amarillentas y menos rojizas tanto en la corteza como en la miga del producto. Por otro lado, se evidenció una estructura menos compacta, mostrando mayor expansibilidad y volumen específico, siendo estos aspectos deseados desde el punto de vista comercial. Además, se demostró que los oleogeles optimizados pueden ser usados para disminuir la migración de aceite en magdalenas, ya que los productos formulados con oleogeles optimizados presentaron una reducción de la pérdida de aceite de alrededor del 50% luego de 10 días de almacenamiento, en comparación con aquellas formuladas con la materia grasa comercial. A partir del análisis sensorial, se evidenció que las magdalenas formuladas con oleogeles presentaron mayor nivel de aceptabilidad por parte de los consumidores respecto de su aspecto, color y puntaje global, en comparación con aquellas elaboradas con la materia grasa comercial. No se observaron diferencias significativas entre la mismas respecto a su sabor, y ambas magdalenas fueron aceptadas por los consumidores.

El ensayo de estabilidad realizado sobre uno de oleogeles optimizados (el de menor contenido de agente estructurante) en un período de almacenamiento de ocho semanas a 5 ºC permitió demostrar que este material fue muy estable durante las primeras tres semanas de almacenamiento. Al analizar las propiedades fisicoquímicas obtenidas en el total del tiempo de almacenamiento estudiado, no se observaron diferencias en el comportamiento térmico de los oleogeles, mientras que se evidenció una disminución tanto en el módulo elástico como en la retención de aceite y en la distribución del tamaño de cristales. Además, se encontraron cambios en el color de los oleogeles, aunque éstos no serían perceptibles por el ojo humano. La dureza fue el parámetro que mostró mayor variación, reduciéndose a la mitad desde el valor inicial hasta el final. A partir del análisis del polimorfismo presente en los oleogeles, se detectó la presencia de la forma β', lo cual favorecería el potencial de estos oleogeles como sustitutos grasos al ser esta la forma polimórfica deseada en materiales que pretenden reemplazar la funcionalidad de margarinas. Además, no se observaron cambios en las características polimórficas de los oleogeles en el período de almacenamiento

evaluado. Por otro lado, todos los oleogeles presentaron valores muy bajos del índice de peróxidos, demostrando su gran estabilidad oxidativa.

Respecto a la aplicación de ultrasonido de alta intensidad en la formulación de oleogeles, se demostró que la combinación entre variaciones en la velocidad de enfriamiento durante el procesamiento y la aplicación de ultrasonido de alta intensidad resultó ser una herramienta eficaz para modificar las propiedades físicas de oleogeles de monoglicéridos saturados y aceite de girasol alto oleico. En una primera instancia se evaluó la aplicación de ultrasonido al detectar la aparición de los primeros cristales, controlando la velocidad de enfriamiento durante todo el proceso de obtención de oleogeles. Los resultados obtenidos mostraron que, para todas las concentraciones de monoglicéridos ensayadas, iguales o menores a las empleadas previamente, la capacidad de retención de aceite se incrementó al aumentar la velocidad de enfriamiento. La dureza y la elasticidad mejoraron para la mayor concentración de estructurante utilizada, como consecuencia de una velocidad de enfriamiento elevada, además de observarse valores mayores de entalpía de fusión y contenido de sólidos a tiempo inicial. Luego del almacenamiento de los oleogeles a 25 °C durante 24 h, fue posible evidenciar, mediante el análisis de microscopía, reología y comportamiento térmico, un reordenamiento microestructural en la red de los oleogeles, lo cual afectó sus propiedades de textura, disminuyendo el efecto positivo obtenido inicialmente por la aplicación de US en las condiciones hasta acá estudiadas. En general, la aplicación de ultrasonido en las condiciones correspondientes a esta primera instancia no afectó significativamente el comportamiento térmico de los oleogeles. La sonicación resultó ser más eficiente en el incremento de la capacidad de retención de aceite y de la dureza de la red en la concentración más alta y cuando el proceso de enfriamiento tuvo lugar a baja velocidad. En una segunda instancia, y con el objetivo de lograr propiedades mejoradas de los oleogeles obtenidos mediante la aplicación de ultrasonido, se evaluó un método alternativo de preparación, en el cual la sonicación se llevó a cabo al alcanzarse un 48% de cristalinidad, mientras que el proceso de enfriamiento posterior se realizó sin control de velocidad. Como consecuencia de este método alternativo, se logró que la aplicación de ultrasonido de alta

intensidad modifique el proceso de cristalización de los monoglicéridos, reduciendo el tamaño de los cristales obtenidos para todas las concentraciones de monoglicéridos ensayadas. Esta reducción resultó ser más eficiente a velocidad de enfriamiento baja y almacenamiento a 5 ºC, condiciones donde también se logró obtener mayores valores de dureza y elasticidad, además de permitir la efectiva retención de aceite, incluso con la concentración más baja de monoglicéridos. La sonicación no modificó el polimorfismo en las muestras con baja concentración de agente estructurante, promoviendo la formación de la forma polimórfica β'. En cambio, en presencia de mayor concentración de estructurante, la aplicación de ultrasonido promovió también la formación de la forma cristalina β, es decir, la coexistencia de las formas β' y β. Además, para todas las concentraciones de monoglicéridos ensayadas, fue posible lograr una elevada capacidad de retención de aceite en oleogeles obtenidos mediante aplicación de ultrasonido especialmente a baja velocidad de enfriamiento. Así, la sonicación permitió disminuir la cantidad de estructurante utilizados en la formulación de los oleogeles de aceite de girasol alto oleico y monoglicéridos manteniendo las propiedades físicas deseadas, cumpliendo de esta manera con uno de los objetivos principales de este trabajo.

En función de los resultados obtenidos en la realización de la presente tesis, se sugieren, a continuación, posibles trabajos a futuro a desarrollar.

Dado que se reconoce la necesidad de realizar estudios respecto al comportamiento de los oleogeles dentro de la matriz alimenticia de aplicación, y con el objetivo de analizar las interacciones de estos materiales con el resto de los ingredientes atendiendo al análisis de la estabilidad del producto final, se propone evaluar el efecto de la incorporación de los oleogeles almacenados durante distintos tiempos en magdalenas, a fin de determinar si las diferencias encontradas afectan las propiedades del producto final. Además, llevar a cabo una investigación más profunda para explorar las interacciones complejas entre todos los ingredientes y su relación con los cambios físicos que ocurren durante el almacenamiento en magdalenas que incorporaron oleogeles en su formulación, como así también evaluar si los efectos positivos encontrados se mantienen con el transcurso del mismo. Por otro lado, es

importante destacar que los oleogeles utilizados en este trabajo sólo contienen aceite y agente estructurante, es decir, no poseen aditivos (colorantes, resaltadores del sabor, etc.). Esto permite pensar en la posibilidad de mejorar aún más las características organolépticas de las magdalenas formuladas con estos sustitutos grasos mediante la incorporación de aditivos que mejoren el color y el sabor del producto final.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el Capítulo 5, y con el fin de evitar la disminución drástica de la dureza de los oleogeles durante el almacenamiento, se propone evaluar a futuro la inclusión de un segundo agente estructurante en la formulación de estos materiales. De esta manera, se podría analizar los efectos sinérgicos que pudiesen existir entre distintas moléculas de naturaleza química diferente, con la hipótesis de que el sinergismo podría permitir alcanzar las propiedades de dureza que no pudieron ser logradas mediante la estructuración del aceite de girasol alto oleico con los monoglicéridos empleados en períodos prolongados de almacenamiento.

Por último, en base a los resultados obtenidos en el Capítulo 6, se propone optimizar las condiciones de aplicación de ultrasonido de alta intensidad sobre el procesamiento de oleogeles con el fin de minimizar la cantidad de agente estructurante y explorar en mayor detalle la relación entre el mecanismo de cristalización de los monoglicéridos utilizados y la sonicación, como así también determinar el efecto del uso de ultrasonido a diferentes temperaturas y con la adición de otros componentes.

ÍNDICE DE TABLAS

Página

Capítulo 2

Tabla 2.1	Composición (%) en ácidos grasos de los aceites vegetales seleccionados para los ensayos preliminares	25
Tabla 2.2	Composición de las mezclas comerciales utilizadas como agente estructurante.	26
Tabla 2.3	Composición de la margarina light (marca Manty) declarada en su envase.	27
Tabla 2.4	Nomenclatura e identificación de las formas polimórficas en grasas y aceites.	36

Capítulo 3

Tabla 3.1	Variables de procesamiento correspondientes a la condición estándar (std) definida para la preparación de oleogeles	45
Tabla 3.2	Envases utilizados para la gelificación de los aceites evaluados y Myverol 18 XL PL según el objetivo del análisis.	47
Tabla 3.3	Capacidad de retención de aceite (OBC) y propiedades de textura: dureza (DU), adhesividad (AD) y cohesividad (CO) de oleogeles preparados en los ensayos preliminares.	48
Tabla 3.4	Matriz de experimentos utilizada en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-1.	55
Tabla 3.5	Variables de respuesta (OBC y propiedades de textura) obtenidas en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-1.	57
Tabla 3.6	Variables de respuesta (propiedades viscoelásticas) obtenidas en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-1.	58
Tabla 3.7	Coeficientes del modelo cuadrático para variables de respuesta (OBC y propiedades de textura) del Diseño experimental 1, su significancia estadística y los coeficientes estadísticos correspondientes.	59
Tabla 3.8	Coeficientes del modelo cuadrático para variables de respuesta del diseño (propiedades viscoelásticas) experimental 1, su significancia estadística y los coeficientes estadísticos correspondientes.	60
Tabla 3.9	Matriz de experimentos utilizada en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-2.	85
Tabla 3.10	Variables de respuesta obtenidas en el diseño Box-Behnken para la formulación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-2.	86
Tabla 3.11	Coeficientes del modelo cuadrático para cada variable de respuesta del Diseño Experimental 2, su significancia estadística y los coeficientes estadísticos correspondientes.	87

Capítulo 4

Tabla 4.1	Receta utilizada en la elaboración de las distintas formulaciones de magdalenas.	103
Tabla 4.2	Parámetros de color correspondientes a la corteza y a la miga de las magdalenas formuladas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac), y oleogeles obtenidos a partir de la optimización O-1 (M1) y O-2 (M2).	116
Tabla 4.3	Peso, dimensiones, capacidad de expansión, contenido de humedad y volumen específico de las magdalenas formuladas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac), y oleogeles obtenidos a partir de la optimización: O-1 (M1), y O-2 (M2).	117
Tabla 4.4	Número y distribución de celdas de aire en magdalenas preparadas con diferentes tipos de material grasa.	120

Capítulo 5

Tabla 5.1	Parámetros correspondientes al modelo propuesto para describir el comportamiento del módulo elástico (log G_0', $m_{G'}$, n) de los oleogeles almacenados durante 8 semanas a 5 ºC.	135
Tabla 5.2	Parámetros de comportamiento térmico (ΔH, T_i, T_{pi}) de los oleogeles almacenados durante un período de tiempo de 8 semanas a 5 ºC.	140
Tabla 5.3	Parámetros de color (L*, a*, b* y ΔE) de los oleogeles analizados durante el almacenamiento de oleogeles a 5 °C.	145
Tabla 5.4	Índice de peróxidos (IP) de los oleogeles analizados durante su almacenamiento a 5 °C.	146

Capítulo 6

Tabla 6.1	Temperaturas correspondientes a la detección de los primeros cristales durante el enfriamiento de muestras con diferente concentración de monoglicéridos (OG3, OG4,5, y OG6) a las velocidades de enfriamiento empleadas (0,1 y 10 °C/min).	156
Tabla 6.2	Entalpía de fusión (ΔH_M), temperatura de inicio de fusión (T_o) y temperatura de pico (T_{pi}) de oleogeles formulados con aceite de girasol alto oleico y monoglicéridos (MG) a distintas concentraciones de MG (MG (%p/p)) (OG3, OG4,5, y OG6) y cristalizadas a 0,1 y 10 ºC/min sin ultrasonido (sin US) y con ultrasonido (con US), a t=0 h (Inicial) y t=24 h (Final).	167
Tabla 6.3	Contenido de sólidos (SFC, %) de oleogeles formulados con aceite de girasol alto oleico y monoglicéridos (MG) a distintas concentraciones de MG (MG (%p/p)) (OG3, OG4,5 y OG6) y cristalizadas a 0,1 y 10 ºC/min sin (sin US) y con (con US) la aplicación de ultrasonido de alta intensidad, a t=0 h (Inicial) y t=24 h (Final).	171
Tabla 6.4	Condiciones de procesamiento evaluadas en la preparación alternativa de oleogeles.	186
Tabla 6.5	Temperatura de pico (T_{pi}) y de inicio de fusión (T_o) de los oleogeles obtenidos bajo diferentes condiciones de procesamiento a distintas temperaturas de almacenamiento (T_s, 5 o 25°C).	191
Tabla 6.6	Distancia entre los planos de la red cristalina (d) en oleogeles con distinta concentración de monoglicéridos (OG3 y OG6) obtenidos bajo distintas condiciones de procesamiento y temperatura de almacenamiento (T_s=25 o 5 ºC).	195
Tabla 6.7	Adhesividad (AD) y cohesividad (CO) de oleogeles obtenidos bajo diferentes condiciones de procesamiento a distintas temperaturas de almacenamiento (T_s, 5 o 25°C).	201

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Capítulo 1

Figura 1.1	Representación esquemática de la estructura de (a) monoglicéridos (MG), (b) diglicéridos (DG) y (c) triglicéridos (TG) conformados por una molécula de glicerol unida a distintos radicales (R) de ácidos grasos.	1
Figura 1.2	Ejemplos de distintas clases de ácidos grasos: saturados (esteárico y palmítico), monoinsaturado (oleico), y poliinsaturados (linoleico y linolénico).	3
Figura 1.3	Estructuras tridimensionales de los ácidos grasos (a) saturado, (b) insaturado *trans* y (c) insaturado *cis*.	4
Figura 1.4	Ejemplos de alimentos en los que se emplean grasas conteniendo AGT para su elaboración: productos de panadería, margarinas, frituras, rellenos de galletitas, helados, snacks.	8
Figura 1.5	Imágenes microscópicas obtenidas mediante: microscopía óptica de luz polarizada (línea superior) y microscopía electrónica de barrido (línea inferior). Ejemplos de estructuras cristalinas presentes en (A,D) grasas sólidas; oleogeles formulados a partir de la estructuración de aceites con (B,E) monoglicéridos, y (C,F) ceras.	13
Figura 1.6	Proceso de elaboración de oleogeles a partir de aceites y monoglicéridos (MG). T_p: temperatura de preparación, T_e: temperatura de enfriamiento.	14

Capítulo 2

Figura 2.1	Mezclas de monoglicéridos utilizados como agente estructurante: Myverol 18-50 XL PL (izquierda) y Myverol 18-04 K SG (derecha).	25
Figura 2.2	Diagrama de flujo correspondiente al procedimiento de preparación de oleogeles de aceites vegetales y monoglicéridos (MG).	29
Figura 2.3	Curva del Análisis de Perfil de Textura y sus parámetros característicos para un oleogel.	34
Figura 2.4	Configuración de las principales formas polimórficas en grasas: (a) alfa-α, (b) beta prima-β' y (c) beta-β.	36

Capítulo 3

Figura 3.1	Determinación de la concentración mínima de monoglicéridos (MG) requerida para estructurar cada tipo de aceite: (A) soja, (B) girasol, (C) maíz, y (D) girasol alto oleico.	44
Figura 3.2	**(A)** Evolución del módulo elástico, G', y del módulo viscoso, G'', durante el enfriamiento desde 70 a 20°C de mezclas formuladas con distintos tipos de aceite: maíz, soja, girasol y GAO y 10 %p/p de concentración de MG (frecuencia angular: ω=10 rad/s, deformación o strain: γ=0.5%).Velocidad de enfriamiento: 2 ºC/min) **(B)** Módulo elástico vs barrido de frecuencia angular (ω) de oleogeles de distintos tipos de aceite: maíz, soja, girasol y GAO con 10 % p/p de concentración de MG, velocidad de agitación 280 rpm, tiempo 30 min (Temperatura=20 °C, γ=0.5%).	49
Figura 3.3	**(A)** Evolución del módulo elástico, G', y del módulo viscoso, G'', durante el proceso de enfriamiento de oleogeles de aceite GAO con 10 % p/p de concentración de MG (frecuencia angular: ω=10 rad/s, deformación o strain: γ=0.5%, velocidad de enfriamiento: 2 ºC/min). **(B)** Módulo elástico vs barrido de frecuencia angular (ω) de oleogeles de aceite GAO con distintas concentraciones de MG, en comparación con la materia grasa	51

comercial (MC), a 20 °C. **(C)** Efecto de la variación de la temperatura de preparación (T_p = 90 ºC), la velocidad de agitación (V_a = 140 rpm) y la temperatura de enfriamiento (T_e=5 °C) respecto a la condición estándar (Std) en los valores de G' durante el barrido de ω, a 20 °C. Std: condición estándar (T_p= 70 ºC , V_a = 280 rpm ,T_e = 25 °C) (γ=0.5%).

Figura 3.4 Superficies de respuesta para la capacidad de retención de aceite (OBC) de los oleogeles. Efecto de: A) velocidad de agitación (V_a) y concentración de monoglicéridos (C_{MG}) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para T_p=70 ºC y V_a=1000 rpm. Los puntos corresponden a datos experimentales. 62

Figura 3.5 Superficies de respuesta para la dureza (DU) de los oleogeles. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y temperatura de preparación (T_p) para valores de la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para valores de T_p y Va en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 63

Figura 3.6 Superficies de respuesta para la cohesividad (CO) de los oleogeles. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y temperatura de preparación (T_p) para valores de la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para valores de T_p y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 65

Figura 3.7 Superficies de respuesta para la adhesividad (AD) de los oleogeles. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y temperatura de preparación (T_p) para valores de la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para valores de T_p y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 66

Figura 3.8 Superficies de respuesta para la fracturabilidad (FR) de los oleogeles. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y concentración de monoglicéridos (C_{MG}) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y T_p para valores de C_{MG} y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 68

Figura 3.9 Superficies de respuesta para el parámetro log G_0' del modelo descripto por la Ec. 2.3. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y concentración de monoglicéridos (C_{MG}) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y T_p para valores de C_{MG} y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 70

Figura 3.10 Superficies de respuesta para el parámetro $m_{G'}$ del modelo descripto por la Ec. 2.3. Efecto de: A) Velocidad de agitación (V_a) y concentración de monoglicéridos (C_{MG}) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y C_{MG} para valores de T_p y V_a en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 72

Figura 3.11 Superficies de respuesta para el parámetro n del modelo descripto por la Ec. 2.3. Efecto de: A) Concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y temperatura de enfriamiento (T_e) para valores de la velocidad de agitación (V_a) y la temperatura de preparación (T_p) en el punto central; B) V_a y T_p para valores de T_e y C_{MG} en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 73

Figura 3.12 Superficies de respuesta para el parámetro log η_0* del modelo descripto por la Ec. 2.4. Efecto de: A) la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y la temperatura de preparación (T_p) para valores de la velocidad de agitación (V_a) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y V_a para valores de T_p y C_{MG} en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 74

Figura 3.13 Superficies de respuesta para el parámetro mη*, Efecto de: A) la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y la velocidad de agitación (V_a) para valores de la temperatura de preparación (T_p) y temperatura de enfriamiento (T_e) en el punto central; B) T_e y T_p para valores de V_a y C_{MG} en el punto central. Los puntos corresponden a datos experimentales. 75

Figura 3.14 Ensayo de frecuencia angular. Evolución de (A) el módulo elástico (G') y (B) la viscosidad compleja (η*) con la frecuencia angular (ω) de oleogeles preparados en las condiciones de optimización O-1 (○) y O-2 (Δ), y la MC 77

(□). Las líneas corresponden al ajuste de los datos experimentales por los modelos correspondientes para O-1 (—), O-2 (—) y MC (—).
Figura 3.15 Proceso de enfriamiento de oleogeles preparados en las condiciones de optimización O-1 (C_{MG} = 10,76 %p/p, V_a = 1000 rpm, T_p = 70 °C). (A) Perfiles de temperatura experimentales correspondientes a Te de 5 ºC (Δ), 17,5 ºC (○) y 30 ºC (●) y los correspondientes utilizados en la programación del reómetro, mostrados en líneas punteadas; (B) Evolución de G' para los perfiles de temperatura correspondientes a T_e de 5 ºC (Δ), 17,5 ºC (○) y 30 ºC (●) replicados en el reómetro; (C) Evolución de G' para las mezclas obtenidas previamente mediante el proceso de enfriamiento correspondiente a T_e de 5 ºC (Δ), 17,5 ºC (○) y 30 ºC (●) cuando son calentadas desde 5 hasta 70 °C a 1 °C/min. 79
Figura 3.16 Imágenes microscópicas de oleogeles preparados en las condiciones de optimización (C_{MG} = 10 % p/p, V_a = 1000 rpm, T_p = 70 °C), para distintas temperaturas de enfriamiento (T_e): (A) 5 °C; (B) 17.5 °C; (C) 24 °C, y (D) 30 °C. 82
Figura 3.17 Determinación de la concentración mínima de Myv-2 requerida para estructurar aceite de girasol alto oleico. Los números indican la concentración de agente estructurante (% p/p) en la mezcla. 84
Figura 3.18 Molde rectangular utilizado en la preparación de oleogeles de aceite de girasol alto oleico y Myv-2. 85
Figura 3.19 Superficies de respuesta correspondientes a (A) log G_0'; (B) $m_{G'}$; (C) OBC, capacidad de retención de aceite; (D) DU, dureza; (E) AD, adhesividad; (F) CO, cohesividad. Efecto de la concentración de monoglicéridos (C_{MG}) y la temperatura de enfriamiento (T_e). Velocidad de agitación fija en el punto central. 89

Capítulo 4

Figura 4.1 Proceso de elaboración de magdalenas: reemplazo de la materia grasa comercial. 103
Figura 4.2 Cocción de magdalenas en el horno. 104
Figura 4.3 Formulario presentado a cada consumidor para el análisis sensorial de las magdalenas. 110
Figura 4.4 Imágenes de las magdalenas formuladas con (a) materia grasa comercial (Control), (b) aceite de girasol alto oleico (Mac), y oleogeles obtenidos a partir de la optimización (c) O-1 (M1), y (d) O-2 (M2). 111
Figura 4.5 Porcentaje de pérdida de aceite (OL, %) en las distintas formulaciones de magdalenas luego de 1, 7 y 10 días de almacenamiento. 112
Figura 4.6 Parámetros de textura: dureza (DU, N) (izquierda) y cohesividad (CO) (derecha) en las magdalenas formuladas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac), y oleogeles obtenidos a partir de la optimización O-1 (M1) y O-2 (M2). . 114
Figura 4.7 Imágenes de migas de magdalenas elaboradas con materia grasa comercial (Control), aceite de girasol alto oleico (Mac) y los oleogeles obtenidos a partir de las optimizaciones O-1 (M1) y O-2 (M2). (A) Sección transversal seleccionada para el análisis de imágenes. (B) Imágenes correspondientes binarizadas. 119
Figura 4.8 Efecto del reemplazo de materia grasa en la formulación de magdalenas sobre sus características sensoriales: aspecto, color, sabor, esponjosidad, y puntaje global. 122
Figura 4.9 Resultados de la encuesta realizada durante el análisis sensorial de las magdalenas Control y M2. 123

Capítulo 5

Figura 5.1	Dureza (DU) de los oleogeles a lo largo del tiempo durante un período de almacenamiento de 8 semanas a 5 ºC. Valores promedio representados con una letra en común no son significativamente diferentes (p > 0,05).	136
Figura 5.2	Adhesividad (AD) y cohesividad (CO) de los oleogeles a lo largo del tiempo durante un período de almacenamiento de 8 semanas a 5 ºC. Para cada propiedad, valores promedio representados con una letra en común no son significativamente diferentes (p > 0,05).	138
Figura 5.3	Capacidad de retención de aceite (OBC, %p/p) de oleogeles almacenados durante un período de tiempo de 8 semanas a 5 ºC. Valores promedio representados con una letra en común no son significativamente diferentes (p > 0,05).	139
Figura 5.4	Evolución del comportamiento térmico de los oleogeles en un período de tiempo de almacenamiento de 8 semanas (t= semanas) a 5 ºC.	140
Figura 5.5	Microestructura de oleogeles de monoglicéridos y aceite de girasol alto oleico durante el almacenamiento en un período de 8 semanas (t=semanas) a 5 ºC.	141
Figura 5.6	Distribución de tamaño de los cristales de monoglicéridos que componen la estructura de los oleogeles almacenados en distintos tiempos (t, semanas) a 5 ºC, en base a la londitud de cristal (L_c). Los valores indicados en rojo corresponden a la mediana (M) y el span (S) de cada población.	142
Figura 5.7	Difractogramas correspondientes a oleogeles de monoglicéridos y aceite de girasol alto oleico almacenados durante su almacenamiento (t=semanas) a 5 °C. Las flechas indican los picos característicos de los monoglicéridos.	143

Capítulo 6

Figura 6.1	Procedimiento experimental para la preparación de oleogeles de monoglicéridos (MG) y aceite de girasol alto oleico (GAO) con aplicación de ultrasonido de alta intensidad.	155
Figura 6.2	Capacidad de retención de aceite (OBC, %p/p) de oleogeles almacenados durante 24 h como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento: (A) sin ultrasonido de alta intensidad (sin US) y (B) con US.	160
Figura 6.3	Módulo elástico (G') a 25 °C de oleogeles formulados con diferentes concentraciones de MG (MG (%p/p)) y bajo diferentes condiciones de procesamiento: sin ultrasonido (sin US), a t=0 h (inicial) (A) y t=24 h (final) (B), y con ultrasonido (con US), a t=0 h (inicial) (C) y t=24 h (final) (D).	163
Figura 6.4	Perfil de fusión de los oleogeles (OG3, OG4,5 y OG6) formulados con monoglicéridos y aceite de girasol alto oleico con diferentes concentraciones de monoglicéridos, obtenidos bajo distintas condiciones de procesamiento: sin ultrasonido (sin US), a t=0 h (inicial) (A) y t=24 h (final) (B), y con ultrasonido, a t=0 h (inicial) (C) y t=24 h (final) (D).	166
Figura 6.5	Dureza (DU) (A, B), Adhesividad (AD) (C, D) y Cohesividad (CO) (E, F) de oleogeles con diferente concentración de monoglicéridos (MG) como función de la velocidad de enfriamiento y sin ultrasonido (sin US) y con ultrasonido (con US), luego del almacenamiento durante 24 h.	176
Figura 6.6	Fotomicrografías con luz polarizada de oleogeles (OG3, OG4,5 y OG6) obtenidos sin aplicar ultrasonido de alta intensidad con diferentes concentraciones de monoglicéridos (MG (%p/p)) y velocidades de enfriamiento (0,1 and 10 °C/min), a tiempo inicial y final. Las imágenes fueron tomadas con una magnificación de 10X. L_c: longitud de cristales; S: span.	181
Figura 6.7	Fotomicrografías con luz polarizada de oleogeles (OG3, OG4,5 y OG6) obtenidos mediante aplicación de ultrasonido de alta intensidad con diferentes concentraciones de monoglicéridos (MG (%p/p)) y velocidades de enfriamiento (0,1 and 10 °C/min), a tiempo inicial y final. Las	182

	imágenes fueron tomadas con una magnificación de 10X. L_c: longitud de cristales; S: span.	
Figura 6.8	Procedimiento experimental para la preparación de oleogeles con aplicación de ultrasonido de alta intensidad (US): método alternativo.	185
Figura 6.9	Termogramas obtenidos durante el calentamiento de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p) (OG3: curvas de color gris, OG6: curvas de color negro) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US) (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C.	188
Figura 6.10	Entalpía de fusión (ΔH_M, J/g) de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C.	189
Figura 6.11	Fotomicrografías con luz polarizada (principales) e imágenes de la apariencia visual (en lado inferior derecho de cada imagen principal) de oleogeles (OG3, OG4,5 y OG6) obtenidos con diferentes concentraciones de monoglicéridos, velocidades de enfriamiento (0,1 and 10 °C/min) y condiciones de sonicación (sin ultrasonido (sin US) y con ultrasonido (con US)), almacenados por 24 h a 25 °C. Las imágenes microscópicas fueron tomadas con una magnificación de 10X. L_c: longitud de cristales; S: span.	192
Figura 6.12	Fotomicrografías con luz polarizada (principales) e imágenes de la apariencia visual (en lado inferior derecho de cada imagen principal) de oleogeles (OG3 y OG6) obtenidos con diferentes concentraciones de monoglicéridos, velocidades de enfriamiento (0,1 and 10 °C/min) y condiciones de sonicación (sin ultrasonido (sin US) y con ultrasonido (con US)), almacenados por 24 h a 5 °C. Las imágenes microscópicas fueron tomadas con una magnificación de 10X. L_c: longitud de cristales; S: span.	193
Figura 6.13	Contenido de sólidos (SFC, %) de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C.	196
Figura 6.14	Dureza (DU) de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C.	199
Figura 6.15	Módulo elástico (G') de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C.	203
Figura 6.16	Porcentaje de capacidad de retención de aceite (OBC) de oleogeles almacenados durante 24 h a distintas temperaturas (T_s= 5 y 25 °C) como función de la concentración de monoglicéridos (MG (%p/p)) y la velocidad de enfriamiento, y sin y con ultrasonido (US): (A) 0,1 °C/min, T_s= 25 °C; (B)) 10 °C/min, T_s= 25 °C; (C) 0,1 °C/min, T_s= 5 °C; (D) 10 °C/min, T_s= 5 °C.	205

NOMENCLATURA

A: altura
AD: adhesividad
AGT: ácidos grasos *trans*
ANOVA: Análisis de la Varianza
AP: precisión adecuada
C_m: concentración mínima
C_{MG}: concentración de monoglicéridos
CO: cohesividad
D: función de deseabilidad
d: diámetro
DG: diacilglicéridos
DE: diseño de experimentos
DG: diglicéridos
DSC: Calorimetría Diferencial de Barrido
DU: dureza
FFA: ácidos grasos libres
FR: fracturabilidad
G': módulo elástico
G'': módulo viscoso
GAO: girasol alto oleico
H: contenido de humedad
IP: índice de peróxidos
L_c: longitud de los cristales
LOF: falta de ajuste
MG: monoglicéridos
MC: materia grasa comercial
MUFA: ácidos grasos monoinsaturados
Myv-1: Myverol 18-50 XL PL
Myv-2: Myverol 18-04 K SG
OBC: capacidad de retención de aceite
OL: pérdida de aceite
P: peso
PF: punto de fusión
PLM: Microscopía óptica de luz polarizada
PUFA: ácidos grasos poliinsaturados
R^2: coeficiente de determinación
R^2adj: coeficiente de determinación ajustado
R^2pred: coeficiente de determinación predicho
S: Span
SFA: ácidos grasos saturados
SFC: contenido de sólidos
SR: capacidad de expansibilidad

std: estándar
TG: triglicéridos
T_e: temperatura de enfriamiento
T_g: temperatura de gelificación
T_o: temperatura de inicio de fusión
T_p: temperatura de preparación
T_{pi}: temperatura de pico
T_s: temperatura de almacenamiento
TPA: Análisis de Perfil de Textura
US: ultrasonido
V_a: velocidad de agitación
V_e: volumen específico
γ: deformación o strain,
ω: frecuencia angular
η^*: la viscosidad compleja
ΔH_M: cambio en la entalpía debido al proceso de fusión