



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Industrias

Desarrollo de golosinas deshidratadas de alta calidad a partir de grosella negra

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

Lic. Diego Alberto Archaina

Directora de tesis: Dra. Carolina Schebor.

Directora asistente: Dra. Natalia Sosa.

Consejera de estudios: Dra. Stella Maris Alzamora.

Lugar de Trabajo: Laboratorio de Investigación y Servicios de Productos Apícolas (LISPA).
Facultad de Bromatología. Universidad Nacional de Entre Ríos.

Fecha de defensa: 26 de Marzo de 2019

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2019

RESUMEN

Desarrollo de golosinas deshidratadas de alta calidad a partir de grosella negra

El objetivo de este trabajo fue desarrollar golosinas deshidratadas de alta calidad a partir de grosella negra, realizando un estudio integral de sus propiedades fisicoquímicas, funcionales, texturales y sensoriales. Se obtuvieron caramelos saludables liofilizados a partir de grosella negra, yogur natural y diferentes endulzantes (miel-isomalta: F1, e isomalta-estevia: F2). El estudio sensorial cualitativo demostró, que las golosinas a base de grosella negra podrían ser aceptadas satisfactoriamente por los consumidores. Estos caramelos se caracterizaron por poseer compuestos bioactivos que les confirieron una elevada actividad antioxidante, comparable con la de frutas como la manzana y el kiwi. Se realizó un estudio integral de textura empleando técnicas instrumentales, sensoriales y análisis de imágenes, mostrando muy buena correlación entre los métodos. Los caramelos presentaron características texturales muy diferentes y sufrieron cambios en su perfil de textura a lo largo del almacenamiento. El estudio sensorial y el análisis de penalidades mostraron que los atributos dureza, crocancia y color fueron los que manifestaron cambios más relevantes en el almacenamiento. Se puede concluir que es posible darle valor agregado al fruto de grosella negra, el cual se consume muy poco como fruta fresca, aprovechando sus propiedades benéficas para la salud y generando dos alternativas de golosina saludable, un caramelo con miel-isomalta y otro con menor contenido calórico con isomalta-estevia. Finalmente, si bien la utilización de diferentes endulzantes permitió obtener dos productos con características físicas, texturales y sensoriales distintas, ambos presentaron una gran aceptabilidad por parte de los consumidores.

Palabras clave: grosella negra, liofilización, compuestos bioactivos, textura, análisis sensorial.

ABSTRACT

Development of high-quality dehydrated candies from blackcurrant

The objective of this work was to develop high quality dehydrated candies from blackcurrant, making an integral study of their physicochemical, functional, textural and sensory properties. Healthy lyophilized candies were obtained from blackcurrant, natural yogurt and different sweeteners (honey-isomalt: F1, and isomalt-stevia: F2). The qualitative sensory study showed that blackcurrant-based candies could be accepted satisfactorily by consumers. These candies were characterized by having bioactive compounds that gave them a high antioxidant activity, comparable to that of fruits such as apple and kiwi. An integral texture study was carried out using instrumental and sensory techniques and image analysis, showing very good correlation between the methods. The candies had very different textural characteristics and underwent changes in their texture profile over storage. The sensory study and the analysis of penalties showed that the attributes of hardness, crispiness and color were the ones that showed the most relevant changes in storage. It can be concluded that it is possible to add value to the blackcurrant fruit, which is consumed very little as fresh fruit, taking advantage of its beneficial properties for health and generating two alternatives of healthy candy, one sweetened with honey-isomalt and the other with less caloric content, sweetened with isomalt-stevia. Finally, although the use of different sweeteners allowed obtaining two products with different physical, textural and sensory characteristics, both showed great acceptability by consumers.

Keywords: blackcurrant, freeze-drying, bioactive compounds, texture, sensory analysis.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que me acompañaron de una u otra manera a lo largo de este camino de crecimiento personal y profesional por su excelente calidad humana y por sus aportes para la realización de esta tesis.

A mi directora, la Dra. Carolina Schebor por haber depositado su confianza en mí y por su invaluable guía, acompañamiento y motivación durante los años de trabajo juntos.

A mi directora asistente, la Dra. Natalia Sosa por sus aportes científicos, su acompañamiento diario y fundamentalmente por los momentos compartidos dentro y fuera del laboratorio.

A la Dra. Bertha Baldi Coronel por motivarme a dar los primeros pasos en el campo de la investigación.

A la Dra. Pilar Buera por la formación brindada y por permitirme ser parte de su equipo de trabajo.

A todos mis compañeros del laboratorio de Propiedades Físicoquímicas y Conservación de Biomoléculas del Departamento de Industrias de la UBA (PROCBIO) y del Laboratorio de Investigación y Servicios de Productos Apícolas de la Facultad de Bromatología de la UNER (LISPA) por las largas horas de trabajo compartidas, su colaboración y sus consejos. Gracias Betty, Florencia, Patricio, Cristina, Graciela, Verónica, Silvio, Leonardo, Tatiana, Maite, Rocío, Guido (PROCBIO), Andrea, Freddy, Carolina (LISPA).

A ellas, Eunice, Gabriela y Alondra por ser mis compañeras, amigas y familia en los primeros años de estadía en Buenos Aires, y por todos los momentos compartidos juntos.

A Roy, por ser ese compañero incondicional y por su invaluable ayuda durante todos los años de trabajo juntos.

A todos los jueces que conformaron el panel sensorial de textura por su buena predisposición y el gran trabajo realizado.

A las instituciones que hicieron posible la realización de esta tesis. A CONICET por el otorgamiento de la beca y a los laboratorios, PROCBIO - UBA y LISPA - UNER por aportar sus instalaciones para la ejecución de las diferentes tareas de investigación.

Aunque hay paradas antes de mi destino, mi rumbo es claro y el viento es firme, y no me olvido de mis raíces... A mis padres Carlos y Noemí, y mis hermanos Hernán y Matías por estar a mi lado incondicionalmente, acompañándome y apoyándome siempre en todas mis elecciones y decisiones.

Y traerá tu amor la primavera y una vida nueva que aprender, nada volverá a ser como ayer... A mi ahijada Matilda por su amor puro y todas las alegrías compartidas.

No importa cuánto hay en tus bolsillos hoy, sin nada hemos venido y nos iremos igual... A mis amigos por todos los momentos inolvidables, las charlas, las risas y los infaltables mates compartidos.

Gracias... Diego Archaina

A mis padres

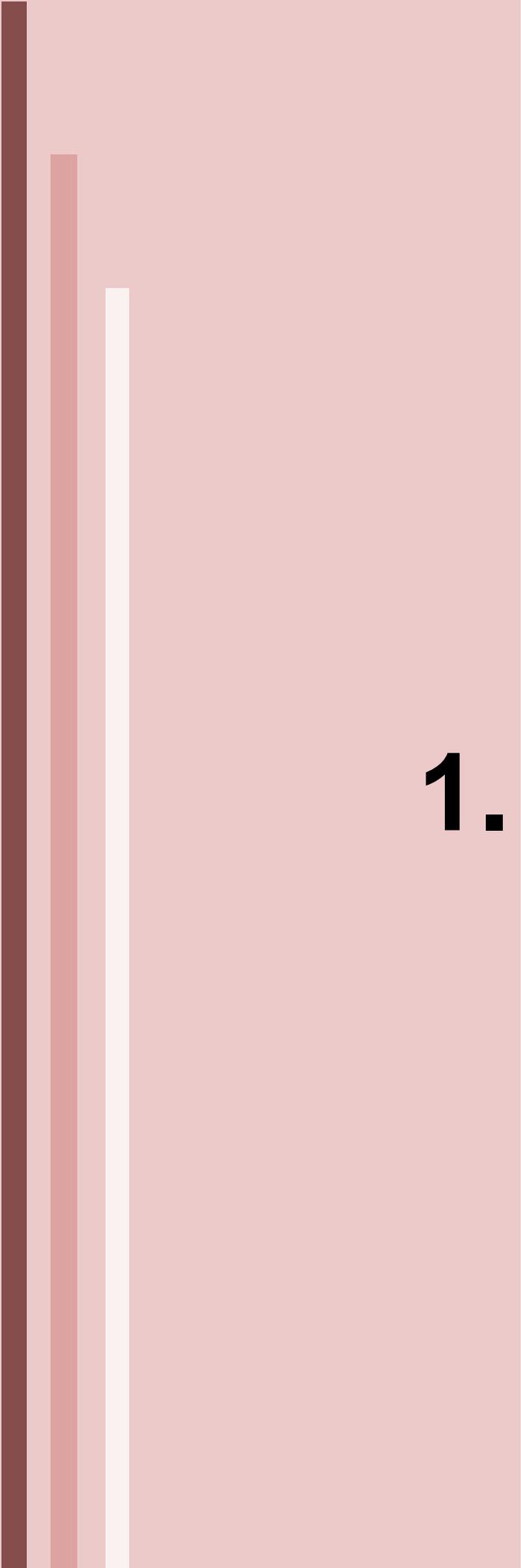
ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Componentes de los caramelos liofilizados	3
1.1.1. Grosella negra (<i>Ribes nigrum L.</i>).....	3
1.1.1.1. Generalidades: Aspectos botánicos y taxonómicos	3
1.1.1.2. Composición química y nutricional.....	5
1.1.1.3. Compuestos fenólicos	7
1.1.1.4. Producción de grosella negra a nivel mundial y nacional.....	13
1.1.1.4.1. Producción mundial	13
1.1.1.4.2. Producción nacional	14
1.1.2. Yogur	15
1.1.2.1. Generalidades	15
1.1.2.2. Propiedades	16
1.1.2.3. Aplicaciones de yogur en golosinas.....	17
1.1.3. Endulzantes.....	17
1.1.3.1. Miel.....	25
1.1.3.1.1. Generalidades	25
1.1.3.1.2. Composición química	26
1.1.3.1.3. Propiedades	27
1.1.3.1.4. Aplicaciones de la miel en golosinas	28
1.1.3.2. Isomalta.....	29
1.1.3.2.1. Generalidades	29
1.1.3.2.2. Metabolismo	30
1.1.3.2.3. Situación reglamentaria	31
1.1.3.2.4. Propiedades	32
1.1.3.2.5. Aplicaciones de la isomalta en golosinas.....	32
1.1.3.3. Estevia.....	33
1.1.3.3.1. Generalidades	33
1.1.3.3.2. Metabolismo	34
1.1.3.3.3. Situación reglamentaria	35
1.1.3.3.4. Propiedades	36
1.1.3.3.5. Aplicaciones de la estevia en golosinas.....	36
1.2. Proceso de deshidratación.....	37
1.2.1. Liofilización	38
1.2.2. Productos deshidratados a partir de berries	40

1.3. Calidad, estabilidad y vida útil	42
1.3.1. Propiedades sensoriales	42
1.3.1.1. Análisis sensorial.....	43
1.3.2. Propiedades texturales.....	50
1.3.2.1. Análisis instrumental.....	51
1.3.2.2. Análisis sensorial.....	53
1.3.2.3. Análisis de imágenes.....	54
1.3.3. Propiedades físicas.....	56
1.3.3.1. Transición vítrea	56
1.3.3.2. Isotermas de sorción de agua.....	58
1.3.4. Vida útil de los alimentos	60
1.3.4.1. Vida útil fisicoquímica, funcional y microbiológica.....	61
1.3.4.2. Vida útil sensorial	61
2. OBJETIVOS.....	65
2.1. Objetivo general	65
2.2. Objetivos específicos	65
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	67
3.1. Preparación de los caramelos.....	67
3.1.1. Materias primas.....	67
3.1.2. Elaboración de yogur.....	67
3.1.3. Preparación de las formulaciones	68
3.1.4. Liofilización	70
3.1.5. Envasado	71
3.2. Metodología.....	72
3.2.1. Caracterización de la materia prima y los caramelos liofilizados.....	72
3.2.1.1. Caracterización de la materia prima	72
3.2.1.1.1. Humedad.....	72
3.2.1.1.2. pH	72
3.2.1.1.3. Acidez total.....	73
3.2.1.1.4. Sólidos Solubles.....	73
3.2.1.1.5. Antocianinas Monoméricas Totales (AMT)	74
3.2.1.1.6. Compuestos Polifenólicos Totales (CPT)	75
3.2.1.1.7. Capacidad Antioxidante (CA).....	76

3.2.1.2. Caracterización de los caramelos liofilizados	77
3.2.1.2.1. Evaluación de aceptabilidad sensorial	77
3.2.1.2.2. Propiedades texturales	78
3.2.1.2.2.1. Análisis instrumental	78
3.2.1.2.2.2. Análisis sensorial	79
3.2.1.2.3. Propiedades funcionales	85
3.2.1.2.3.1. AMT, CPT y CA	85
3.2.1.2.3.2. CA luego de la digestión <i>in vitro</i>	86
3.2.1.2.4. Propiedades fisicoquímicas	87
3.2.1.2.4.1. Actividad de agua (a_w)	87
3.2.1.2.4.2. Humedad	88
3.2.1.2.4.3. Acidez total	88
3.2.1.2.4.4. Temperatura de transición vítrea	88
3.2.1.2.4.5. Isotermas de sorción de agua	89
3.3. Estabilidad de los caramelos liofilizados durante el almacenamiento.....	90
3.3.1. Estabilidad de las propiedades sensoriales.....	90
3.3.1.1. Prueba del nivel de intensidad de atributos	91
3.3.1.2. Prueba de satisfacción	91
3.3.1.2.1. Prueba de satisfacción de atributos	92
3.3.1.2.2. Prueba de satisfacción global	92
3.3.2. Estabilidad de las propiedades texturales	92
3.3.2.1. Análisis instrumental.....	93
3.3.2.2. Análisis sensorial.....	93
3.3.2.3. Análisis de imágenes.....	93
3.3.3. Estabilidad de las propiedades fisicoquímicas y funcionales.....	95
3.3.3.1. Propiedades fisicoquímicas	95
3.3.3.2. Propiedades funcionales	95
3.4. Análisis estadístico.....	96
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	99
4.1. Caracterización de la materia prima	99
4.2. Caracterización de los caramelos liofilizados.....	100
4.2.1. Evaluación de la aceptabilidad sensorial	101
4.2.2. Propiedades texturales.....	103
4.2.2.1. Análisis instrumental.....	103
4.2.2.2. Análisis sensorial.....	105

4.2.2.3. Comparación de datos de textura instrumental y sensorial	106
4.2.3. Propiedades fisicoquímicas y funcionales	109
4.2.3.1. Propiedades fisicoquímicas	109
4.2.3.2. Propiedades funcionales	113
4.3. Estabilidad sensorial	119
4.3.1. <i>Prueba del nivel de intensidad de atributos</i>	119
4.3.2. <i>Prueba de satisfacción de atributos</i>	128
4.3.3. <i>Prueba de satisfacción global</i>	138
4.4. Estabilidad de las propiedades texturales, fisicoquímicas y funcionales	139
4.4.1. Propiedades texturales	139
4.4.1.1. Análisis instrumental.....	140
4.4.1.2. Análisis sensorial.....	145
4.4.1.3. Análisis de imágenes.....	147
4.4.1.4. Integración de resultados de textura.....	150
4.4.2. Propiedades fisicoquímicas	153
4.4.3. Propiedades funcionales	154
4.5. Vida útil	158
5. CONCLUSIONES	163
6. BIBLIOGRAFÍA	168
7. ANEXO	194



1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura informa periódicamente sobre la importancia de consumir frutas y hortalizas ya que algunos de los trastornos más comunes y debilitantes del mundo como defectos congénitos, retraso mental y del crecimiento, debilidad del sistema inmune, ceguera e incluso la muerte, se deben a una alimentación carente de vitaminas y minerales, comúnmente denominados micronutrientes. El consumo insuficiente de frutas y hortalizas es uno de los principales factores de carencia de estos nutrientes (Mataix-Verdú, 2009).

De acuerdo a lo establecido en las Guías Alimentarias para la Población Argentina (GAPA) elaboradas por el Ministerio de Salud de la Nación en el año 2016 lo recomendable es un consumo diario de 700 g de frutas y verduras (400 g de hortalizas no feculentas y 300 g de frutas), sin embargo la última Encuesta Nacional de Gastos de los Hogares (ENGHo) realizada en el año 2012 indicó que el consumo promedio es de 135 g de hortalizas no feculentas y 93 g de frutas, es decir, un valor total de 228 g que sólo alcanzan a cubrir el 32,5% del consumo diario recomendado en nuestro país (Giacobone y col., 2018). A la vez, investigaciones realizadas por el Centro de estudios de nutrición infantil (CESNI) de nuestro país, indican que el 20% de los niños en edad escolar tiene sobrepeso y el 5% es obeso.

En este sentido, es interesante ofrecer nuevas alternativas que permitan incrementar el consumo de frutas. Por ello, en este trabajo se desarrollaron caramelos saludables liofilizados en base a grosella negra a los que se les realizaron diversos estudios, empleando tanto técnicas instrumentales como sensoriales.

En virtud de ello, la introducción se divide en tres bloques, el primero relacionado con los componentes empleados para el desarrollo de los caramelos; el segundo relacionado con el proceso de deshidratación empleado en la elaboración; y el tercero abocado a analizar aspectos vinculados a la calidad, la estabilidad y la vida útil.

1.1. Componentes de los caramelos liofilizados

1.1.1. Grosella negra (*Ribes nigrum* L.)

1.1.1.1. Generalidades: Aspectos botánicos y taxonómicos

Las grosellas, junto a las frambuesas, frutillas, arándanos y moras pertenecen al denominado grupo de las “berries” que se caracterizan por ser frutas de reducido tamaño, sabor acidulado y rápida perecibilidad. Además, las berries junto con las “cherries” (cerezas y guindas) constituyen el grupo de las “frutas finas”, cuya denominación se vincula al aspecto comercial y no al botánico (Bruzzone, 2009).

En la **Tabla 1** se muestra la clasificación científica de la grosella negra. El género *Ribes* originalmente fue clasificado dentro de la familia *Saxifragaceae*, sin embargo más tarde, en base a sus características morfológicas (presencia de ovarios inferiores, frutos carnosos y sin carpó) fue clasificado dentro de la familia *Grossulariaceae* (Cronquist, 1981; Sinnot, 1985).

Tabla 1 - Clasificación científica de la grosella negra. Fuente: Vagiri (2012).

Reino	Plantae	División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida	Orden	Saxifragales
Familia	Grossulariaceae	Género	Ribes
Sub-género	Coreosma	Especie	<i>Ribes nigrum</i> L.

Existen diferentes especies de grosellas, de las cuales, las más importantes desde el punto de vista comercial son: la grosella negra o cassis (*Ribes nigrum* L.); la grosella roja o corinto (*Ribes rubrum*) y la grosella espina (*Ribes grosularia*) (Caminti, 2013).

La especie *Ribes nigrum* L. conocida comúnmente como grosella negra es originaria del centro y este de Europa y del norte de Asia, además puede cultivarse extensamente en otros países (Gopalan y col., 2012).

La planta de la grosella es un arbusto perenne y longevo que crece entre 1,2 - 2,0 metros de altura; su raíz es fibrosa y poco profunda en forma de plato; con ramas sin espinas; hojas de color verde oscuro, aromáticas, alargadas, formadas por cinco lóbulos, puntas agudas y bordes dentados; y flores pequeñas agrupadas (**Figura 1**) (Caminti, 2013).

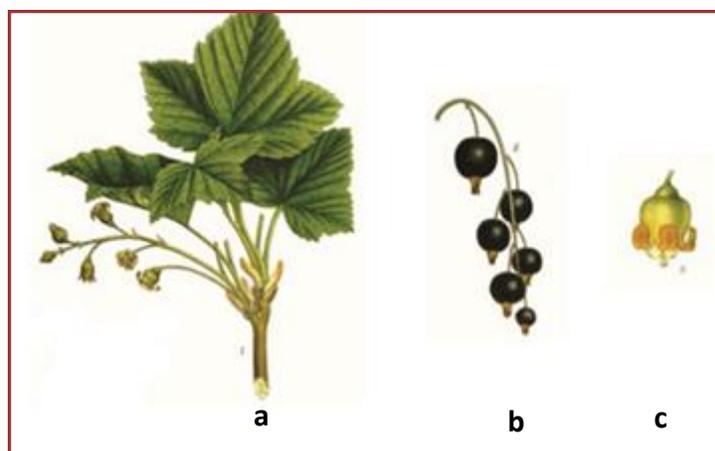


Figura 1 - Esquema de hojas (**a**), frutos (**b**) y flores (**c**) de la grosella negra, adaptado de Caminti (2013).

Para su buen crecimiento, el grosellero requiere suelos parcialmente arcillosos con un pH entre 5,5 y 6,5, una profundidad promedio de 1 metro y muy buen drenaje permaneciendo bien húmedos evitando la deshidratación. Además, la plantación de *Ribes nigrum* L. demanda un alto aporte de materia orgánica y no tolera suelos salinos y/o alcalinos (Caminti, 2013).

Es una planta muy resistente a las bajas temperaturas invernales y contrariamente muy sensible a temperaturas superiores a 30°C, las cuales producen daños a nivel de las hojas y los frutos. Generalmente requieren entre 120 - 140 días libres de heladas para cumplir su ciclo vegetativo, y entre 70 - 90 días para la maduración de sus frutos.

El grosellero produce frutos pequeños con un diámetro aproximado de 12 mm dispuestos en racimos (**Figura 2**). La grosella negra es una fruta que contiene una pulpa oscura, carnosa, jugosa, aromática y con un sabor intenso cuando está totalmente madura. Asimismo, contiene un gran contenido de semillas pequeñas (ricas en ácido γ -linoléico y otros ácidos grasos de importancia nutricional); además, las frutas están recubiertas por una piel oscura y brillante (con alto contenido de polifenoles, especialmente antocianinas) sin presencia de pelos ni proyecciones y están coronadas por un remanente de cáliz (Gopalan y col., 2012; Vagiri, 2012).



Figura 2 - Fruto de grosella negra (*Ribes nigrum* L.).

1.1.1.2. Composición química y nutricional

La grosella negra es poco apreciada como fruta fresca por su elevada acidez y escaso sabor, sin embargo ha sido etiquetada como “superfruta” debido a que constituye una importante fuente de compuestos bioactivos promotores de la salud. Es conocido que los miembros del género *Ribes* tienen una capacidad antioxidante muy alta, asociadas a su elevado contenido de compuestos bioactivos. En este sentido, ha aumentado el interés científico hacia los cultivos pertenecientes a este género (Cervenka, 2009; Vagiri, 2012). Gopalan y col. (2012) realizaron una extensa revisión sobre los beneficios que presenta la grosella negra para la salud con el objetivo de proporcionar una visión general acerca del potencial terapéutico de esta fruta. Estos autores hicieron referencia a los efectos biológicos

(propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas) y los efectos farmacológicos mediante ensayos *in vitro*, *in vivo* y clínicos (estudios a nivel de sistemas tales como: cardiovascular, nervioso, pulmonar, renal, ocular, esquelético; y estudios sobre tumores) producidos por la grosella negra como fruta tal cual y su jugo; extractos de antocianinas a partir de grosella negra y aceite de semillas de grosella negra. Estos estudios proporcionaron resultados positivos, demostrando que la grosella negra presenta un amplio espectro de efectos debido a las vías comunes que comparten muchos procesos de enfermedades y la manera en que los fitoquímicos de esta fruta ejercen su acción sobre procesos similares.

La **Tabla 2** muestra la composición nutricional de la grosella negra fresca.

Tabla 2 - Composición nutricional de la grosella negra cada 100 g. Fuente: Bruzone (2009), Vagiri (2013) y Nile y col. (2014).

Componente	%, (m/m)
Agua	75
Proteínas	1,40
Carbohidratos	14
Lípidos	0,20 - 0,40
Fibra Total	4,0
Sodio*	1,7 - 2,5
Potasio*	300 - 320
Calcio*	35-45
Hierro*	1,3 - 2,5
Vitamina*	40 - 310

* El contenido de micronutrientes está expresado en mg/100 g de fruta.

Esta fruta posee un alto contenido de agua (~75%) que varía con el estado de desarrollo y la variedad de la fruta. De los sólidos solubles totales la mayoría son azúcares, que a su vez constituyen la mayor cantidad de componentes solubles del jugo. Además, la fruta provee un aporte importante de micronutrientes tales como vitamina C y potasio (Bruzzone, 2009; Nile y col., 2014). Adicionalmente, la grosella negra es una fruta muy ácida, con valores de pH que oscilan entre 2,5 - 3,0 y con respecto a la acidez los valores típicos oscilan entre 2,30 - 3,15 mg ácido cítrico/100 g fruta (Rubinskiene y col., 2005).

1.1.1.3. *Compuestos fenólicos*

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios mayormente presentes en los alimentos de origen vegetal. Pueden ir desde simples anillos aromáticos hidroxilados hasta complejas moléculas poliméricas (Harborne y Williams, 1995).

Los metabolitos secundarios juegan un papel importante en la adaptación y defensa de la planta bajo diferentes condiciones de estrés tales como: sequía, radiación UV, patógenos y plagas (Szajdek y Borowska, 2008). Además, se caracterizan por ser bioactivos y presentar beneficios para la salud (Scalbert y col., 2005; Karjalainen y col., 2009).

La grosella negra, al igual que la mayoría de las frutas pertenecientes al grupo de las berries, se caracteriza por contener una amplia diversidad de constituyentes bioactivos tales como compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, taninos, antocianinas y flavonoides como así también micronutrientes como minerales, vitaminas, y fibra (Jiménez-García y col., 2013; Gopalan y col., 2012).

La **Figura 3** muestra la clasificación de los compuestos fenólicos presentes en las grosellas negras. La amplia variedad de compuestos fenólicos tales como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, lignanos y estilbenos presentes en las grosellas negras contribuyen a su astringencia,

amargor, color, parte del sabor y la estabilidad oxidativa de sus productos derivados (Vagiri, 2012).

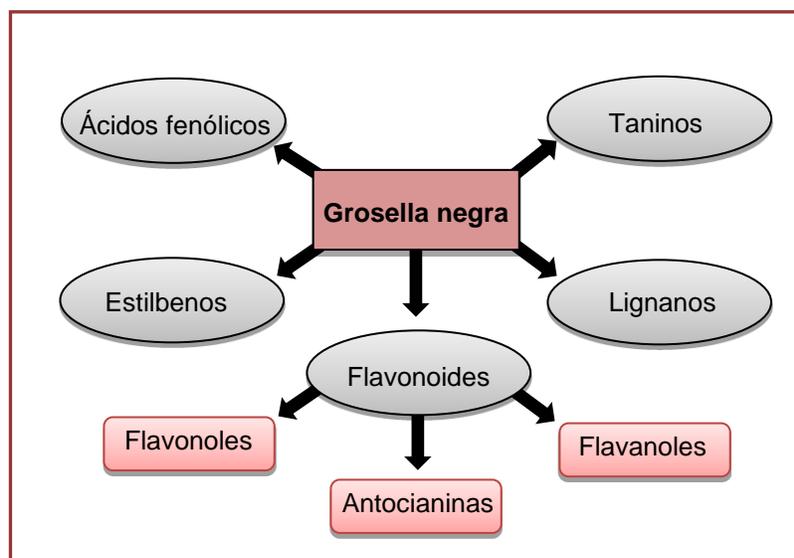


Figura 3 - Compuestos fenólicos encontrados en las grosellas negras, adaptado de Vagiri (2012).

El contenido de compuestos fenólicos en las berries está determinado por muchos factores, como el cultivar, el manejo agronómico, los factores climáticos, la etapa de maduración, el tiempo de cosecha, las condiciones de almacenamiento y el manejo poscosecha (Castrejón y col., 2008; Nile y col., 2013). Generalmente la grosella negra se caracteriza por contener altos niveles de compuestos fenólicos (500 – 1350 mg/100 g fruta fresca). Por otra parte, la grosella negra contiene una amplia gama de flavonoles con altos niveles de quercetina y miricetina, ambas con actividad neuroprotectora (Anttonen y Karjalainen, 2006).

Las antocianinas representan un grupo de compuestos fenólicos de gran importancia en las grosellas negras, que adicionalmente son relevantes por el color que aportan a los alimentos en los que se incorporan. Por lo tanto, a continuación se realiza una descripción más completa de este tipo de compuestos:

Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos que pertenecen al grupo de los flavonoides, que están ampliamente distribuidos en frutas y vegetales tales como berries, repollo morado, berenjenas, entre otros. Además, en muchos casos, las antocianinas presentes en frutas y flores son las responsables de atraer a los animales que favorecen la polinización y la dispersión de semillas en las plantas.

El contenido promedio de antocianinas en la grosella negra oscila en el rango de 116 – 288 mg/100 g de fruta fresca, sin embargo puede haber variaciones dependiendo del cultivar, la estación de cosecha y el estado de maduración de la fruta (Nour y col., 2011; Gopalan y col., 2012; Vagiri, 2012).

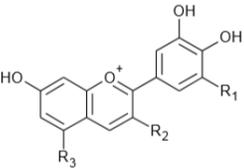
Adicionalmente, a los extractos de antocianinas se les atribuye una amplia gama de actividades biológicas. Poseen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas; ayudan a mantener la salud ocular y actúan como neuroprotectores (Han y col., 2007; Ramos, 2008). Si bien se ha demostrado que las antocianinas exhiben un efecto protector *in vitro* contra las enfermedades humanas, existe la necesidad de realizar más investigaciones sobre la biodisponibilidad de las mismas, que en muchos estudios ha demostrado ser baja y parcial (Karjalainen y col., 2009).

Estructura de las antocianinas

Las antocianinas se encuentran en la naturaleza como glicósido, es decir que contienen azúcares unidos covalentemente. La estructura sin los carbohidratos unidos se denomina antocianidina (o aglicona) (Fennema, 2000). Las antocianidinas más comúnmente encontradas en las plantas incluyen pelargonidina, cianidina, delphinidina, penonidina, petunidina y malvidina (Nile y col., 2014).

La **Tabla 3** muestra las principales antocianinas encontradas en la grosella negra. De acuerdo con Anttonen y Karjalainen (2006), la proporción de estos componentes varía entre los diferentes cultivares.

Tabla 3 – Principales antocianinas presentes en la grosella negra. Fuente: Vagiri (2012).

	Antocianinas	R ₁	R ₂	R ₃
	cianidina-3-O-β-glucósido	H	O-glucosa	OH
cianidina-3-O-β-rutinósido	H	O-rutinosa	OH	
delfinidina-3-O-β-glucósido	OH	O-glucosa	OH	
delfinidina-3-O-β-rutinósido	OH	O-rutinosa	OH	

Estabilidad de las antocianinas

Los compuestos antociánicos son relativamente inestables y la mayor estabilidad ocurre en condiciones ácidas, dependiendo de su estructura y la composición del alimento que las contiene (Wrolstad, 2005; Fennema, 2000). Tanto durante su extracción del tejido vegetal, como también así durante el procesado y el almacenamiento del alimento, las antocianinas se encuentran susceptibles a una rápida degradación, es por ello que teniendo conocimiento de la química de las antocianinas se puede minimizar su deterioro.

Los principales factores involucrados en la degradación de las antocianinas durante el procesado de las frutas son el pH, la temperatura, la concentración de oxígeno y la concentración de azúcares (Fennema, 2000; Skrede y col., 2000).

Efecto del pH: generalmente en soluciones acuosas e inclusive en los alimentos, las antocianinas pueden existir en 4 formas estructurales dependiendo del pH: base quinoidal (azul), catión flavilio (rojo), pseudobase carbinol (incolore) y chalcona

(incolore). La **Figura 4** muestra el equilibrio entre las diferentes estructuras de las antocianinas.

Para cada pigmento antocianínico solo 2 de las 4 formas son predominantes dentro del rango de pH mencionado. Por ejemplo, en una solución de malvidín-3-glucósido a pH bajo predomina la estructura flavilo, mientras que a pH= 4 - 6 predomina la pseudobase carbinol. Generalmente a valores de pH < 2 la totalidad de las antocianinas siempre se encuentran en su forma de catión flavilo de color rojo intenso. A valores de pH más altos ocurre una pérdida del protón y adición de agua en la posición 2, dando lugar a un equilibrio entre la pseudobase carbinol y la forma chalcona, las cuales son formas incoloras y bastante inestables. Finalmente, a valores de pH > 7 predomina la base quinoidal de color azul que se degrada rápidamente por oxidación con el aire.

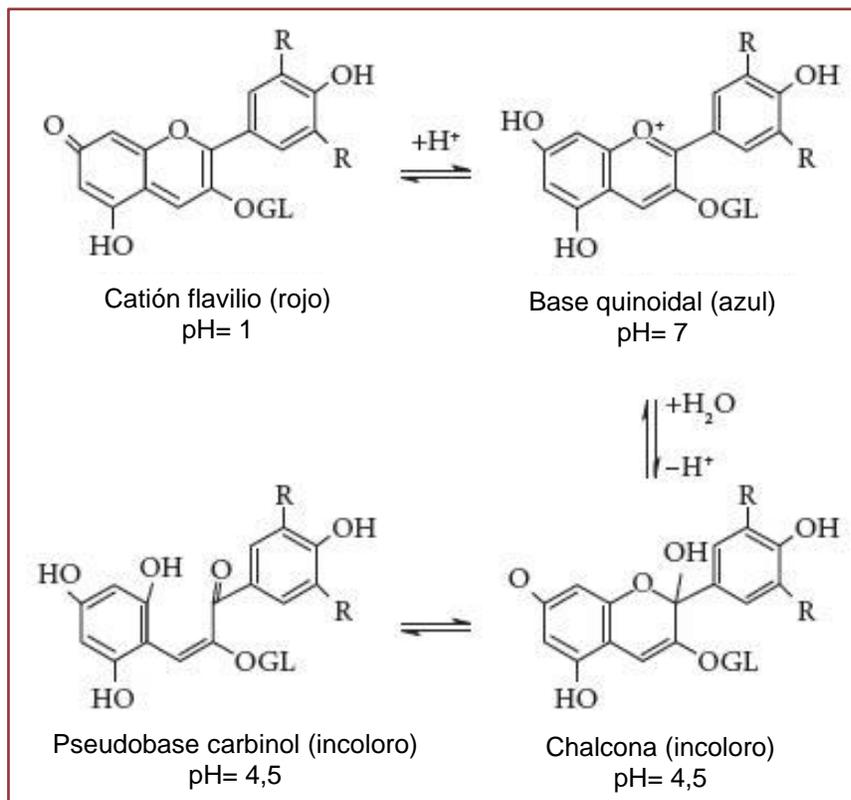


Figura 4 - Equilibrio entre las diferentes estructuras de las antocianinas en función del pH, adaptado de Fennema (2000).

Efecto de la temperatura: la estabilidad de las antocianinas en los alimentos se ve afectada por la temperatura, principalmente durante el procesamiento y el almacenamiento. Las altas temperaturas desplazan rápidamente el equilibrio hacia la chalcona, conduciendo a una reducción en la intensidad del color, aparte de la posibilidad de formación de compuestos poliméricos pardos (Sari y col., 2012).

Efecto de la concentración de oxígeno: la naturaleza insaturada de las estructuras de las antocianinas las convierte en susceptibles al oxígeno molecular. Por ello, la disminución o eliminación del contenido de oxígeno tiene un efecto positivo para retener el color de las antocianinas ya que se reducen las reacciones de oxidación de las mismas (Mazza y Miniati, 1993).

Efecto de la concentración de azúcares: los azúcares a altas concentraciones estabilizan las antocianinas debido a la disminución de la actividad de agua, mientras que a concentraciones bajas los azúcares o sus productos de degradación pueden acelerar el deterioro de las antocianinas (Fennema, 2000).

El desarrollo de la reacción de Maillard en condiciones ácidas y/o altas temperaturas conduce a la degradación de los azúcares y luego a la formación de productos intermedios como furfural y 5-hidroximetil-furfural (HMF) (Pérez-Locas y Yaylayan, 2010). El furfural se condensa fácilmente con las antocianinas, formando compuestos poliméricos pardos. Esta reacción es muy dependiente de la temperatura y se acelera por la presencia de oxígeno (Fennema, 2000; ES-Safi y col., 2003).

Por otra parte, también existen otros factores que también aceleran la degradación de las antocianinas como lo son algunos compuestos nativos del vegetal o que pueden ser adicionados extrínsecamente tales como enzimas, ácido ascórbico y la exposición a la luz. Las enzimas degradativas polifenoloxidasas y glicosidasas pueden degradar las antocianinas

(Wrolstad y col., 2005). Por otro lado, la presencia de ácido ascórbico acelera la degradación de las antocianinas y la exposición a la luz promueve la destrucción de los pigmentos antociánicos.

1.1.1.4. Producción de grosella negra a nivel mundial y nacional.

1.1.1.4.1. Producción mundial

La grosella negra es una fruta que se cultiva y consume tradicionalmente en los países del este y norte de Europa, Reino Unido y América del norte. Si bien en estos países existe el hábito por el consumo fresco, su principal destino es la industria alimentaria donde se utiliza para la elaboración de dulces, jaleas y jugos, entre otros productos (Caminti, 2013).

Según los datos entregados por la Asociación Internacional de la Grosella Negra (International Blackcurrant Assosiation – IBA) entre los años 2013 y 2016, la producción mundial de grosella negra reportada en superficie cultivada y rendimiento total anual fue de ~56500 hectáreas y ~197900 toneladas, respectivamente. La producción de esta fruta se concentra principalmente en los países de Europa (91%), mientras que el resto se distribuye en países como China, Australia y Nueva Zelanda. El principal país productor de grosella negra es Polonia (~35000 hectáreas y 95000 toneladas), seguido por Ucrania, Lituania y Reino Unido. Por otra parte, la IBA establece que Rusia también es un importante productor de grosella negra, y si bien no se conocen datos claros sobre sus volúmenes de producción se sabe que este país consume su propia cosecha a nivel nacional y además importa grosellas negras de otros países.

1.1.1.4.2. Producción nacional

En Argentina el desarrollo de los berries es muy reciente, sin embargo, se trata de una actividad de moderada expansión que en los últimos 10 años ha mostrado un mejor posicionamiento en el mercado, como así también un aumento significativo de producción y superficie cultivada.

El sector de la grosella negra es minoritario. Como muestra la **Figura 5**, su producción se concentra principalmente en la región patagónica, en las zonas de la Comarca Andina del Paralelo 42°; el Valle Inferior del Río Chubut; el Alto Valle del Río Negro y Neuquén, y Santa Cruz.



Figura 5 - Regiones productoras de grosella negra en Argentina (Bruzzone, 2009).

Según los datos reportados por la Agencia de Extensión Rural El Bolsón - INTA, las variedades más cultivadas en Argentina son:

Noir de Bourgogne: es una muy buena variedad de origen francés (INRA). Se produce durante todo enero, y por las características anatómicas de la flor necesita polinizadores.

Gian de Boskoop: origen francés (INRA). Necesita polinizadores y da frutos de buen tamaño.

Burga: origen francés (INRA), muy rendidora, tamaño medio a grande. Es un poco más tardía que las anteriores. Precisa polinizadores.

Royal de Naples: a esta variedad se la utiliza como polinizadora de las anteriores, pero también puede ser utilizado su fruto. Rinde un poco menos y tiene un buen tamaño de fruto.

Troll: origen francés (INRA). Es autofértil y de rendimientos muy altos, con buen tamaño de fruto.

Titania: de origen alemán, muy parecida a Troll, también es autofértil.

Silvergieters Schwarze: de origen alemán y autofértil.

En la región andino-patagónica un escaso volumen se comercializa en forma de frutos frescos, mientras que el 95% de la producción se comercializa congelada principalmente por el método de congelado rápido individual (IQF), siendo su principal destino la industria alimentaria local para la elaboración de jaleas, dulces, licores y conservas. Es cada vez mayor el número de industrias que incorporan frutas finas como insumo de sus alimentos, en especial para elaborar lácteos, cereales en barra, bebidas sin alcohol y té (Bruzzone, 2009).

1.1.2. Yogur

1.1.2.1. Generalidades

El yogur es un derivado lácteo obtenido a partir de la fermentación de la leche previamente inoculada con un cultivo de bacterias acidolácticas (Damin y col., 2009). El CAA en su artículo

576, define de forma general a las “leches fermentadas” como los productos obtenidos por coagulación y disminución de pH de la leche o leche reconstituida, adicionada o no de otros productos lácteos, por fermentación láctica mediante la acción de cultivos de microorganismos específicos. En esta definición se incluye el yogur, producto cuya fermentación se realiza con cultivos protosimbóticos de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*, los cuales pueden ser acompañados por otras bacterias acidolácticas que contribuyan a la determinación de las características del producto terminado.

Tamime y Robinson (2007) clasificaron las distintas variedades de yogures de la siguiente forma:

Según composición química y contenido graso: yogur entero, semidescremado o descremado.

Según naturaleza física: yogur firme, batido o bebible.

Según sabor: yogur natural, saborizado o con frutas.

1.1.2.2. Propiedades

El yogur es un alimento fuente de diferentes minerales tales como calcio, fósforo, magnesio, y zinc. La elevada acidez del yogur provoca la ionización del calcio, facilitando así su absorción a nivel intestinal (Singh y Muthukumarappan, 2008).

La calidad nutricional del yogur está dada por la presencia de los compuestos de la leche y además por la transformación de éstos durante la fermentación como resultado de la actividad metabólica de las bacterias acidolácticas. Además, a diferencia del la leche, el yogur es apto para personas con intolerancia a la lactosa debido a que durante la fermentación los microorganismos utilizan la lactosa como fuente de energía reduciendo su contenido (Hernández y col., 2003).

Por otra parte, el consumo de yogur está asociado con diferentes beneficios para la salud tales como: prevención de osteoporosis, protección contra el cáncer de vejiga y colon, prevención de infecciones urogenitales, protección contra la diarrea del viajero, prevención de diarrea infantil y mejora del estreñimiento (Tamime y Robinson, 2007).

1.1.2.3. Aplicaciones de yogur en golosinas

En el ámbito académico son escasas las referencias acerca de la utilización de yogur en el desarrollo de golosinas. Corfield y col. (2015) desarrollaron bocaditos liofilizados en base a arándanos y yogur. Estos autores probaron distintas formulaciones, logrando obtener productos de gusto y color aceptables para los consumidores. Por otro lado, en el mercado argentino existen caramelos masticables a base de yogur. Mondelez Internacional produce los caramelos masticables sabor yogur-fruta Billiken®. La empresa Oblimar S.A. produce caramelos masticables de yogur marca Berbau®; por su parte ARCOR presenta en el mercado Butter Toffees Griego®, caramelos de leche rellenos de yogur y frutos rojos y Yogus®, caramelos masticables sabor yogur.

En el mercado internacional existen muchas alternativas de golosinas a base de yogur, y cabe destacar que se producen caramelos de yogur liofilizados de diferentes sabores, y con el agregado de frutas. Adicionalmente, algunos de estos productos están destinados al consumo por niños pequeños.

1.1.3. Endulzantes

En general, el azúcar es un componente inseparable de los alimentos que consumimos, sin embargo en la actualidad se ha puesto suma atención sobre su consumo y los efectos que produce sobre la salud humana.

Se pueden distinguir entre “*azúcares intrínsecos*” que son propios de frutas y verduras enteras frescas y “*azúcares libres*”, los cuales generalmente incluyen monosacáridos y disacáridos añadidos a los alimentos por los fabricantes, cocineros y/o consumidores como así también aquellos presentes en forma natural en la miel, jarabes, jugos de fruta y concentrados de jugo de fruta (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2014)

Numerosos estudios demuestran que las enfermedades no transmisibles han crecido de forma alarmante. En este sentido la OMS, advirtiendo sobre el excesivo consumo de azúcar, ha fijado una recomendación máxima de consumo de 50 g diarios incluyendo tanto los azúcares intrínsecos como los libres (OMS, 2014). Así, Tandel (2011) y Vreman y col. (2017) sugieren que el consumo de azúcares libres en exceso podría estar asociado con una mayor ocurrencia de obesidad, diabetes tipo 2, afecciones dentales, ciertas enfermedades coronarias y enfermedades del hígado graso. Por su parte Sheiham y James (2014) observaron un aumento en la ocurrencia de caries en todos los tipos de dientes en personas entre 1 y 8 años expuestas a niveles entre 1 - 5 Kg de azúcar/año. Con respecto a las enfermedades del hígado graso, se ha establecido un vínculo con el excesivo consumo de azúcares libres suministrados con los alimentos. La fructosa se metaboliza en el hígado, y a través de la vía glucolítica se transforma en acetil-CoA. A partir de allí, el exceso de acetil-CoA se convierte en citrato, que a su vez se convierte en ácidos grasos mediante el proceso de lipogénesis (Lustig, 2016; Vreman y col., 2017).

En Estados Unidos el consumo de azúcar agregado ha aumentado notablemente en los últimos años. Más del 55% de los adultos americanos consumen más de 50 g de azúcar por día, valores altamente superiores a los niveles máximos recomendados por la Asociación Americana del Corazón (25 - 37,5 g) y en el límite de los valores recomendados por la Organización Mundial de la Salud. Esto ha llevado a que un gran sector de la población sufra de sobrepeso y obesidad mórbica. Además la prevalencia de diabetes tipo 2 es de 9,3%, y la

ocurrencia de enfermedades coronarias en la población ha aumentado de 13 a 15,5 millones en los últimos 10 años (Vreman y col., 2017).

Dado que América Latina no escapa a los problemas relacionados al consumo excesivo de azúcares, Fisberg y col. (2018) en su trabajo denominado “Estudio Latinoamericano de Nutrición y Salud (ELANS)” realizan un reporte acerca de esta problemática en países tales como Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Perú y Venezuela. Es preocupante y alarmante mencionar que Argentina fue posicionado como el país con el mayor consumo de azúcares de la región seguido por Colombia, con 115,2 y 109,8 gramos diarios de los cuales 91,4 y 59,5 g corresponden a azúcares agregados, respectivamente. Los países con menor consumo fueron Brasil y Chile con 86,2 y 84,9 gramos diarios de los cuales 57,6 y 52,3 g corresponden a azúcares agregados, respectivamente. Los autores establecen que Argentina es el país con mayor afinidad por el sabor dulce y posiblemente las causas se deban a factores culturales que se han transmitido de generación en generación. Otro aspecto interesante que destacan los autores, es que si bien los varones mostraron un mayor consumo de azúcares, en términos relativos fue mayor para las mujeres; indicando que esto se debe al mayor consumo energético por parte de los varones inherente a su constitución.

En este sentido, alrededor del mundo, ha surgido un notable interés por reducir el consumo de azúcares libres a lo largo del ciclo de vida de manera tal que no sea superior al 10% de la ingesta calórica total basado en una dieta tipo de 2000 Kcal/día (OMS, 2014).

Es sabido que el potencial uso de edulcorantes como sustitutos en la industria alimentaria ha surgido ante la necesidad de encontrar una solución a la problemática ocasionada por el excesivo consumo de azúcares. Así, el empleo de edulcorantes tiene como fin disminuir el valor calórico total de la dieta, promover el descenso del peso corporal y/o prevenir el desarrollo de enfermedades metabólicas crónicas. Sin embargo, en muchos casos existen dudas sobre los riesgos que estos compuestos puedan tener sobre la salud humana (Fitch y Keim, 2012; García-Almeida y col., 2013).

Respecto a los aspectos legales, existen comités científicos de expertos encargados de regular todo aquello que concierne a la utilización, seguridad e ingesta diaria media de los edulcorantes. Entre las entidades regulatorias más importantes se encuentran el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en el ámbito internacional, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en el ámbito europeo, y diferentes agencias nacionales tales como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos (García-Almeida y col., 2013). Particularmente en el caso de Argentina y los países miembros del Mercosur, no poseen un comité científico propio, por lo cual se rigen sobre las reglamentaciones establecidas por el JECFA y la FDA (Torresani y col., 1999).

De acuerdo a lo reportado por García-Almeida (2013), la clasificación actual de los principales edulcorantes se basa en su contenido calórico y en su origen (**Tabla 4**).

Tabla 4 - Clasificación de los edulcorantes. Fuente: García-Almeida (2013).

Calóricos	<i>Naturales</i>	Azúcares
		Edulcorantes naturales calóricos
	<i>Artificiales</i>	Azúcares modificados
		Alcoholes del azúcar
No calóricos	<i>Naturales</i>	Edulcorantes naturales no calóricos
	<i>Artificiales</i>	Edulcorantes artificiales

A continuación, se describen los aspectos distintivos de los edulcorantes que se utilizan en la industria alimentaria como sustitutos del azúcar tomando como referencia el trabajo realizado por García-Almeida y col. (2013): “Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación”.

Edulcorantes calóricos

Naturales

Azúcares (sacarosa, glucosa, fructosa, lactosa, maltosa, dextrosa, galactosa): se encuentran naturalmente en alimentos como frutas, verduras, cereales y leche. Son hidratos de carbono por lo cual contienen 4 calorías por gramo y además pueden ser perjudiciales para los dientes.

Educorantes naturales calóricos (miel, jarabe de arce, azúcar de coco, jarábe de sorgo): estos edulcorantes también contienen azúcar, sin embargo se diferencian de los anteriores por presentar cualidades nutritivas y un índice glucémico menor que el azúcar.

Dentro del grupo de los educorantes calóricos naturales los mayormente utilizados son la sacarosa, la glucosa y la fructosa. La glucosa presenta un índice glucémico de 100 y un poder edulcorante relativo a la sacarosa entre 0,6 – 0,7; mientras que la fructosa presenta un índice glucémico de 23 y un poder edulcorante relativo a la sacarosa entre 1,3 – 1,8 por lo cual ha sido utilizada en la sustitución de la sacarosa en pacientes diabéticos.

Artificiales

Azúcares modificados (jarabe de maíz de alta fructosa, caramelo, azúcar invertido): son una mezcla de hidratos de carbono de bajo índice glucémico que se obtienen por distintos procesamientos térmicos y/o enzimáticos del almidón.

Alcoholes del azúcar o polialcoholes (sorbitol, xilitol, manitol, eritritol, maltitol, isomaltulosa, isomalta, lactitol, glicerol): estos edulcorantes son hidratos de carbono que se producen de forma natural en las plantas y cereales, aunque en pequeñas

proporciones. Industrialmente se producen por hidrogenación catalítica de los azúcares reductores de los que provienen. A pesar de ser hidratos de carbono, el organismo no puede metabolizarlos completamente, y en consecuencia tienen menos calorías por gramo que el azúcar y un índice glucémico muy bajo. Además, no se han asociado al desarrollo de caries dentales.

Edulcorantes no calóricos

Naturales

Edulcorantes naturales no calóricos (estevia, taumatina, pentadina, monelina, brazzeína, Luo Han Guo): estos edulcorantes no son hidratos de carbono, por tanto no tienen índice glucémico.

Sin duda alguna la estevia es el principal referente dentro del grupo de los edulcorantes naturales no calóricos. Su poder edulcorante es entre 300 y 400 veces mayor que el de la sacarosa, presenta un sabor lento al comienzo y una duración prolongada y en altas concentraciones puede tener un sabor amargo. Este edulcorante se describe en detalle en el ítem 1.1.3.3.

También existe un edulcorante 300 veces más dulce que el azúcar denominado Luo Han Guo, el cual se obtiene a partir de una fruta llamada Monk procedente de China. Su poder edulcorante está atribuido a una sustancia llamada mogrosido proveniente de la pulpa de la fruta. Su índice glucémico es 0 y tiene como ventaja respecto a la estevia que no deja regusto amargo. El año 2010 el Luo Han Guo ha sido aprobado como GRAS para el uso en algunos alimentos.

Finalmente, se han identificado al menos siete proteínas dulces (taumatina, monelina, mabinlina, pentadina, brazzeína, curculina y miraculina), todas con perfiles de gusto

lentos en relación al del azúcar, que se extraen de plantas que crecen en bosques tropicales. De todas ellas las únicas que se han comercializado son la taumatina y la brazzeína, siendo la primera la que presenta mayores avances en relación a su desarrollo y situación ante las autoridades reguladoras.

Artificiales

Edulcorantes artificiales (sacarina, ciclamato, sucralosa, neoesperidina, aspartamo, neotamo, acesulfame K, alitamo): estos edulcorantes se caracterizan por ser no calóricos, no poseer efecto glucémico y presentar una alta intensidad. Este grupo es el que mayor interés despierta en el área de investigación, con el objetivo de demostrar su seguridad y aportar datos firmes sobre los posibles efectos en pacientes con diabetes o con otros problemas específicos de salud.

La sacarina es el edulcorante que lidera el mercado mundial, siendo Asia el mayor consumidor. Es 300 veces más dulce que el azúcar, pero tiene un sabor final metálico ligeramente desagradable. Se mezcla muy bien con otros edulcorantes, sin embargo, no soporta altas temperaturas por lo que no es apto para productos que requieren cocción.

El ciclamato es el segundo edulcorante más antiguo en uso, siendo también muy utilizado en Asia. Es el representante menos potente dentro del grupo de los edulcorantes intensivos (sólo 40 veces más dulce que el azúcar), por lo cual generalmente se lo utiliza mezclado con otros edulcorantes. Es ampliamente utilizado en la cocina y en la industria de los alimentos por su estabilidad calor y su larga vida de almacenamiento.

La sucralosa es una forma modificada de la sacarosa con un poder edulcorante 600 veces mayor. Es muy utilizada a nivel mundial, sola o en combinación con otros edulcorantes; y debido a su alta estabilidad frente al calor se la puede encontrar en más de 4500 alimentos y bebidas.

La neoesperidina se obtiene a partir de una sustancia de la naranja amarga mediante modificación química, y posee un poder endulzante entre 250 y 1800 veces mayor que la sacarosa y su sabor dulce es muy persistente. Este edulcorante está aprobado en Europa, pero no así por la FDA.

Dentro del grupo de los edulcorantes no calóricos artificiales existen edulcorantes de origen protéico y sus derivados.

El aspartamo es una proteína sensible al calor aproximadamente 200 veces más dulce que el azúcar. Si bien como tal aporta 4 calorías por gramo, las pequeñas cantidades utilizadas debido a su elevada dulzura no representan un valor calórico significativo. Su fuerte posicionamiento en Estados Unidos lo ha convertido en uno de los edulcorantes más conocidos y utilizados, incluso ha desplazado a la sacarina como edulcorante en las bebidas light. A partir de éste deriva el neotamo, un dipéptido 8000 veces más dulce que el azúcar. A diferencia del aspartamo es resistente al calor siendo adecuado para la cocción. Además, no se descompone a fenilalanina, por lo tanto es seguro para personas con fenilcetonuria.

El acesulfame K es otro edulcorante protéico 200 veces más dulce que el azúcar. Es resistente al calor y no se metaboliza, eliminándose sin modificaciones. Se lo utiliza en alimentos tales como bebidas refrescantes, lácteos y como edulcorante de mesa.

El alimato es un dipéptido formado por ácido aspártico y alanina 2000 veces más dulce que el azúcar que se caracteriza por su estabilidad. Si bien su utilización está autorizada en Europa todavía no ha sido aprobado por la FDA.

En este trabajo se emplearon como edulcorantes: miel, isomalta y estevia, como reemplazantes del azúcar. A continuación, se detallan sus características y propiedades:

1.1.3.1. Miel

1.1.3.1.1. Generalidades

La miel es un endulzante natural generalmente viscoso y almibarado. El CAA define la miel en su artículo 782 como el producto dulce elaborado por las abejas obreras a partir del néctar de las flores o de exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes en ellas, que dichas abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenándolo en panales, donde madura hasta completar su formación. Se caracteriza por poseer un aroma y sabor agradable, y su color se extiende del amarillo pardo al ámbar oscuro (Aparna y Rajalakshmi, 1999).

Cabe destacar que la calidad de la miel depende en gran medida del origen botánico, el área geográfica y las condiciones climáticas. Por otra parte, las propiedades físicas, la composición química y nutricional y los aspectos sensoriales son factores involucrados en la determinación general de la calidad de la miel (Aparna y Rajalakshmi, 1999).

1.1.3.1.2. Composición química

La **Tabla 5** muestra la composición general de la miel. Este producto está constituido mayoritariamente por azúcares y en menor medida por compuestos tales como proteínas, minerales, polifenoles, vitaminas y compuestos aromáticos (Bogdanov y col., 2008).

Tabla 5 – Composición de la miel cada 100 g. Fuente: Bogdanov y col. (2008).

Componente	% (m/m)
Agua	15 - 20
Monosacáridos	
<i>fructosa</i>	30 - 45
<i>glucosa</i>	45 - 40
Disacáridos	
<i>sacarosa</i>	0,1 – 5,0
<i>otros</i>	2,0 – 8,0
Trisacáridos	
<i>melecitosa</i>	< 0,1
<i>erlosa</i>	0,5 – 6,0
<i>otros</i>	0,5 – 1,0
Oligosacáridos	3,1
Azúcares totales	80 - 85
Minerales	0,1 – 0,5
Proteínas	0,2 – 0,4
Ácidos	0,2 – 0,8
pH	3,5 – 4,5

El contenido de agua de la miel es de 15 – 20%. Generalmente una humedad menor al 15% conduce a una mayor viscosidad y cristalización, lo cual conlleva a diversos problemas en

el posterior procesamiento; mientras que una humedad mayor al 20% favorece la fermentación por levaduras (Aparna y Rajalakshmi, 1999). El color de la miel está relacionado con el contenido de minerales, el cual depende de su origen botánico. Los minerales presentes en la miel reaccionan con la materia orgánica formando compuestos pardos. Si el color de una miel es oscuro, es indicativo que la misma presenta un mayor contenido de minerales.

En cuanto a los azúcares presentes en la miel, la fructosa y la glucosa son los mayoritarios. Además se han podido detectar más de 25 oligosacáridos diferentes en su composición. El contenido de vitaminas de la miel es muy bajo, pero incluye vitaminas solubles tales como tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, y ácido fólico, entre otras. Los polifenoles son otro importante grupo de compuestos que le confieren propiedades funcionales a la miel. Los principales polifenoles presentes en la miel son flavonoides y su contenido puede variar entre 60 y 450 μg cada 100 gramos de miel (Kenjeric y col., 2007).

1.1.3.1.3. *Propiedades*

La miel es un alimento muy utilizado, y su incorporación en la dieta proporciona numerosos efectos benéficos para la salud. Muchos estudios han demostrado que la miel es menos cariogénica que la sacarosa, dado que la actividad antibacteriana de la miel permite inhibir la formación de la placa dental disminuyendo el desarrollo de caries y gingivitis (Steinberg y col., 1996; Molan, 2001). Además, la miel contiene una importante actividad antioxidante debido a la presencia de compuestos tales como flavonoides, ácidos fenólicos, derivados de carotenoides y productos de la reacción de Maillard (Beretta y col., 2005; Pérez y col., 2007).

Bogdanav y col. (2008) reportan que la incorporación de miel en la dieta es ampliamente recomendada, posiblemente debido a los efectos benéficos en el proceso de digestión. La miel es un potente inhibidor del agente causante de úlceras y gastritis *Helicobacter pylori*. Respecto a su efecto benéfico, Al-Swayeh y Ali (1998) han establecido que si bien la miel no participa

directamente en la producción de prostaglandina tiene un efecto estimulante sobre los nervios sensoriales del estómago que responden a la capsaicina; mientras que Nasuti y col. (2006) han postulado que este efecto es debido a las propiedades antioxidantes de la miel.

Por otra parte, la miel contiene oligosacáridos con un similar efecto prebiótico al de los fructooligosacáridos. Los oligosacáridos de la miel incrementan la flora de bifidobacterias y lactobacilos, ejerciendo una acción prebiótica mediante un modo de acción sinérgico (Bogdanav y col., 2008).

La miel es también recomendada en la dieta de los niños. Estudios clínicos establecen que la incorporación de miel a la leche de los infantes produce efectos positivos. Los niños alimentados con miel presentaron un incremento del peso corporal, mejor color de piel y un mayor contenido de hemoglobina. Además, se observó una menor tasa de niños con vómitos y diarrea, lo cual fue atribuido a la presencia de una microflora acidófila rica en *B. bifidus* (Ramenghi y col., 2001; Rivero-Urgell y Santamaria-Orleans, 2001). Sin embargo, otros autores no recomiendan la implementación de miel en la dieta de infantes menores de 1 año de edad debido a posible presencia de esporas de *Clostridium botulinum* en la miel. Estas esporas pueden sobrevivir y una vez en el estómago de los infantes generar la toxina botulínica (Cox y Hinkle, 2002; Tanzi y Gabay, 2002).

En este sentido, teniendo en cuenta que es un alimento con diversas propiedades benéficas para la salud, y su capacidad para disminuir la incidencia de caries, la miel es una buena alternativa para ser usada como ingrediente sustituto del azúcar refinado en la industria de las golosinas.

1.1.3.1.4. Aplicaciones de la miel en golosinas

Existen algunos estudios y patentes sobre el uso de la miel para la elaboración de golosinas. Los caramelos de miel son productos comerciales muy populares (Umesh Hebbar,

2008). Estos caramelos normalmente contienen muchos otros ingredientes y se consumen como alimentos saludables (Tadao, 1983) o para fines terapéuticos para afecciones como el asma y la tos (Li y col., 2002). Durrani y col. (2011) desarrollaron caramelos de zanahoria con miel e informaron que las golosinas formuladas con 40% de miel presentaron características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales aceptables y una vida útil estimativa de 6 meses a temperatura ambiente. Gupta y col. (2012) desarrollaron caramelos de jengibre y miel mediante deshidratación osmoconvectiva reportando que mantuvieron las propiedades funcionales aportadas por ambas materias primas. Adicionalmente, se ha empleado miel para endulzar láminas de fruta. Addai y col. (2016) desarrollaron láminas de papaya secadas en corriente de aire con la adición de 10% de miel, y obtuvieron productos de buenas propiedades fisicoquímicas y alta actividad antioxidante, destacándose una mejora sensorial debida al agregado de miel. Mutlu y col. (2018) desarrollaron diferentes caramelos de gelatina para niños a base de jugo de naranja, frutilla y mora negra, utilizando miel en lugar de azúcar, logrando obtener productos sensorialmente aceptables, de color atractivo y más saludables para los niños que los caramelos de gelatina convencionales.

1.1.3.2. Isomalta

1.1.3.2.1. Generalidades

La isomalta es un azúcar alcohol constituido por la mezcla de los diasterómeros α -D-glucopiranosil-1-6-manitol (GPM) y α -D-glucopiranosil-1-6-sorbitol (GPS), descubierto en la década de 1960 (Grembecka, 2015). Este producto se obtiene como un material cristalino a partir de la sacarosa. La **Figura 6** muestra el proceso de síntesis de la isomalta. En primer lugar, la sacarosa se transforma en isomaltulosa mediante transglicosilación enzimática y

posteriormente mediante una hidrogenación catalítica, en medio acuoso y con níquel como catalizador, se obtiene una mezcla equimolar de GMP y GMS (Cammenga y Zielasko, 1996).

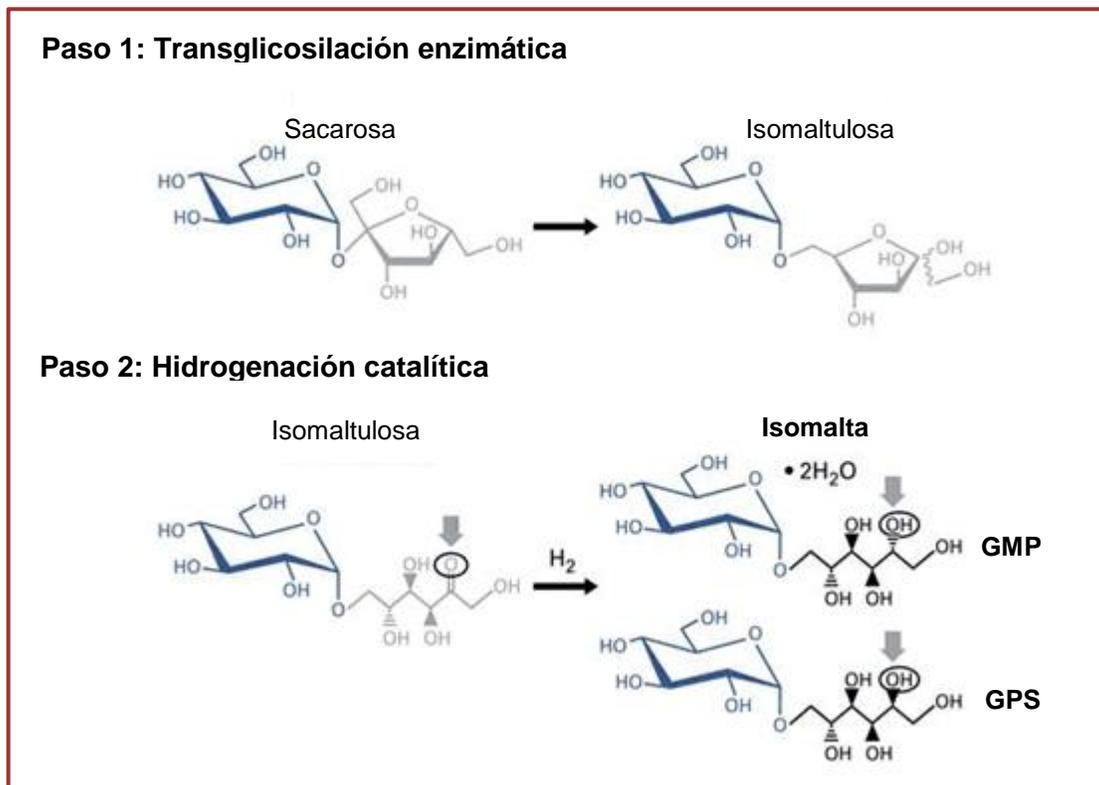


Figura 6 - Proceso de obtención de isomalta a partir de sacarosa.

1.1.3.2.2. Metabolismo

La isomalta se caracteriza por presentar una baja cariogenicidad, no incrementar la glucosa en sangre ni los niveles de insulina, y ser sustrato para un colon saludable. Estas propiedades, características de todos los polialcoholes, están vinculadas a su lenta metabolización pero relativamente fácil fermentación en el colon (Livesey, 2003).

Durante el tiempo que la isomalta se encuentra en la boca resiste la fermentación y acidogénesis provocada por las bacterias de la placa dental, no siendo absorbida vía estomacal en un grado significativo. La absorción de isomalta es muy baja y se produce por difusión

pasiva de los monosacáridos polioles formados, mientras que los di, oligo y polisacáridos polioles que se forman son muy grandes y solo un 2% de la ingesta oral llega a difundirse desde el intestino a la circulación. Si bien algunos di, oligo y polisacáridos pueden liberar glucosa su digestión es lenta e incompleta, por lo que esto no resulta en un aumento sustancial de glucosa en sangre. En cuanto a los monosacáridos absorbidos vía oral, estos se oxidan directamente o son convertidos en glucógeno o glucosa en el hígado; mientras que los polisacáridos son fermentados completamente por la microflora colónica dando como resultado ácidos grasos de cadena corta (Livesey, 2003; Grembecka, 2015).

Es interesante destacar que la baja digestibilidad y/o lenta liberación de glucosa hepática son los factores determinantes de la baja respuesta glucémica e insulínica que presenta la isomalta (Livesey, 2003; Grembecka, 2015).

De acuerdo con lo establecido por el comité experto en aditivos alimenticios de la Organización de Alimentos y Agricultura (JECFA-FAO), cuando la isomalta es consumida en grandes cantidades puede provocar un efecto laxante, aún mayor cuando se trata de alimentos líquidos. Para evitar sufrir estos efectos secundarios de la isomalta, se recomienda limitar su consumo diario a 50 g para adultos y 25 g para niños (Mäkinen, 2016). De todos modos, Grembecka (2015) postula que esta intolerancia depende de varios factores como la sensibilidad de cada persona, el momento y la frecuencia de consumo.

1.1.3.2.3. Situación reglamentaria

El uso del isomalta está aprobado en más de 80 países en todo el mundo, que incluyen los Estados Unidos, Japón, Australia, Nueva Zelanda, los países de Europa del este y muchos países asiáticos y sudamericanos, entre ellos Argentina.

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) evaluó la seguridad de la isomalta, y concluyó que no hay necesidad de establecer una cifra de ingesta

diaria admisible (IDA), por lo tanto se estableció para la isomalta una IDA “no especificada”, que es la categoría más segura que el JECFA puede asignar a un ingrediente.

1.1.3.2.4. Propiedades

La isomalta es físicamente similar al azúcar de mesa (blanca, cristalina e inodora). Posee un poder edulcorante correspondiente a un 45 - 65% del de la sacarosa y su dulzor depende de la concentración, la temperatura y del producto en el cual se utilice (Sentko y Willibald-Ettle, 2012).

1.1.3.2.5. Aplicaciones de la isomalta en golosinas

La principal característica de la isomalta es su lenta cristalización en comparación con la sacarosa, por lo cual puede ser utilizada en la elaboración de esculturas de azúcar y otros productos decorativos (Sentko y Willibald-Ettle, 2012). Además, puede combinarse con otros edulcorantes no nutritivos ayudando a enmascarar el regusto amargo de los mismos y actúa como agente de carga mejorando la textura de algunos productos alimenticios, como agente antiaglomerante y como agente de glaseado (Grembeka, 2015).

En Europa, la isomalta se encuentra disponible desde principios de 1980. De acuerdo a lo establecido por la Asociación Europea de Polioles (EPA), debido a sus propiedades fisicoquímicas y técnicas la isomalta puede ser utilizada en la industria de las golosinas en una amplia gama de productos tales como caramelos, chicles y chocolates:

Caramelos duros: la isomalta es un ingrediente muy utilizado, debido a que se disuelve más lentamente que el azúcar, por lo tanto el caramelo persiste más tiempo en la boca. Los caramelos elaborados con isomalta son más estables y resistentes a la abrasión

durante la producción y el almacenamiento. Además su baja higroscopicidad minimiza los problemas de pegajosidad.

Chicles: la isomalta permite obtener chicles uniformes y además genera un recubrimiento que lo protege y permite mantener la humedad del núcleo del chicle.

Chocolates: la isomalta puede ser utilizada en todas las variedades de chocolates (negro, blanco y con leche) como así también en coberturas, rellenos y caramelos de chocolate. Debido a la dulzura suave de la isomalta el sabor del chocolate se desarrolla completamente sin defectos. Además, los chocolates que contienen isomalta se derriten fácilmente en la boca, sin perder el chasquido característico durante la mordida.

Respecto al campo científico, Bataglia da Silva y col. (2016) desarrollaron un caramelo masticable a partir de la fruta açai, reemplazando la sacarosa por manitol, isomalta, xilitol y eritritol. Estos autores demostraron que los caramelos presentaron buenas características texturales y sensoriales, siendo una opción más saludable y natural para aquellos consumidores que deseen incorporar las golosinas a su dieta.

1.1.3.3. *Estevia*

1.1.3.3.1. *Generalidades*

La estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*) es una hierba natural dulce nativa del nordeste de Paraguay donde crece en suelos arenosos cerca de arroyos. Generalmente el sabor dulce de la estevia se debe a la presencia de varios glucósidos de diterpeno acumulados en las hojas de la planta, las cuales se secan a la sombra y se procesan para obtener los glucósidos purificados (Kalpana y Khan, 2008; Savita y col., 2017).

Existen 8 glucósidos conocidos presentes en la planta que poseen un alto poder edulcorante (300 – 400 veces más dulce que el azúcar). Los glucósidos mayoritariamente

encontrados en las hojas son: esteviósido (9,1%), rebaudiósido A (3,8%), rebaudiósido C (0,6) y el dulcósido A (0,3%).

La estevia es un buen edulcorante para ser incorporado en la dieta humana. Posee múltiples ventajas entre las que se pueden mencionar: no aporta calorías, es apta para personas con diabetes y fenilcetonuria, posee propiedades vasodilatadoras y además ayuda a reducir el colesterol LDL (Gupta y col., 2013).

Este edulcorante se utiliza como sustituto del azúcar en el desarrollo de una amplia variedad de alimentos tales como jugos, bebidas carbonatadas, mermeladas, productos lácteos, entre otros. Sin embargo posee una desventaja, en altas concentraciones el esteviósido y el rebaudiósido A pueden impartir sabor astringente y amargo dejando un regusto persistente, lo cual limita su utilización. La estevia posee un efecto sinérgico con otros edulcorantes, esto es positivo para considerar su inclusión en mezclas (Schiffman y col., 1995).

1.1.3.3.2. *Metabolismo*

De acuerdo a lo reportado por Koyama y col. (2003) y Roberts y Renwick (2008), tanto los animales como los seres humanos no poseen la capacidad de degradar el esteviosido y el rebaudiosido A a nivel gastrointestinal. Las bacterias de la flora intestinal de humanos y animales como ratones y cerdos pueden convertir los mencionados glucósidos en la aglicona denominada esteviol. Las bacterias del género *Bacteroides* spp. son las responsables de esta conversión (Wingard y col., 1980; Hutapea y col., 1997; Geuns y col., 2003; Gardana y col., 2003).

El esteviol que ingresa al torrente sanguíneo es transportado hacia el hígado donde se une al ácido glucurónico formando glucurónico de esteviol, el cual es principalmente excretado a través de las vías biliares y urinarias siendo esta última la que juega un papel predominante en los seres humanos (Carakostas y col., 2008; Prakash y col., 2008; Wheeler y col., 2008).

Además, es importante destacar que durante la conversión a esteviol, las bacterias intervinientes utilizan la glucosa liberada, por lo que ésta no es absorbida y no aporta calorías. Adicionalmente, el esteviosido no interfiere en la absorción de otros nutrientes esenciales tales como aminoácidos, vitaminas y minerales (Gardana y col., 2003; Geuns y col., 2003).

Por otra parte, la estevia no induce respuesta glucémica tras su ingesta. Toskulkao y col. (1995) han establecido que el esteviol actúa a nivel del borde en cepillo intestinal disminuyendo la absorción de glucosa.

1.1.3.3.3. *Situación reglamentaria*

Desde el año 2008 la FDA clasificó a la estevia como un edulcorante GRAS y se encuentra aprobada para la utilización en alimentos y bebidas en países tales como Japón, Corea, Australia, Rusia, Malasia, Indonesia Suiza, Francia, México, Brasil y Estados Unidos (Loria Khoen, 2012)

Respecto a nuestro país, la estevia se encuentra incorporada en el capítulo XVIII: Aditivos Alimentarios del CAA. En el artículo 1398, a través de la Resolución Conjunta SPReI y SAV N° 7-E/2018, queda autorizado el uso de estevia como edulcorante en forma de un polvo blanco obtenido a partir de las hojas de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) mediante extracción acuosa, purificación con resinas de intercambio iónico y secado por aspersión.

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) estableció en el año 2009 una ingesta diaria admisible (IDA) de 4,0 mg/Kg peso corporal, expresado como esteviol. Esto equivaldría a 12 mg/Kg de peso corporal para el rebaudiosido A (Loria Khoen, 2012).

1.1.3.3.4. *Propiedades*

Las moléculas que componen la estevia son altamente estables, sin embargo presentan baja solubilidad en agua (Crammer y Ikan 1986, Brandle y col., 1998). De acuerdo a lo establecido por Chang y Cook (1983), el esteviósido y el rebaudiósido A presentan una alta estabilidad a amplios rangos de pH y temperatura, como así también son estables en bebidas carbonatadas. Sin embargo, un calentamiento prolongado puede llevar a un decrecimiento en la concentración del esteviósido. Así, Kroyer (1999) observó una reducción en la concentración del esteviósido del 17% luego de un calentamiento a 100°C durante 12 horas en una solución neutra, mientras que la reducción fue entre 46 y 54% luego de 4 horas en una solución ácida (pH 2,4 – 2,6).

1.1.3.3.5. *Aplicaciones de la estevia en golosinas*

En cuanto al uso de la estevia como endulzante en golosinas, en Argentina, la empresa Trini S.A. localizada en la ciudad de Santa Fé desde el año 2012, se encuentra abocada a ofrecer una amplia gama de productos endulzados con estevia entre los que se encuentran caramelos blandos. Por otro lado, la empresa ARCOR comercializa caramelos duros de sabores frutales, reducidos en calorías y endulzados con estevia. También se comercializan alfajores endulzados con estevia de la marca Chocoleit®.

Adicionalmente, a nivel internacional la oferta de golosinas endulzadas con estevia es muy amplia.

En el ámbito científico, se han realizado algunos estudios acerca del empleo de estevia como edulcorante. Rad y col. (2012) estudiaron las propiedades físicas de un chocolate con leche apto para diabéticos elaborado con estevia e inulina reportando que el chocolate presentó similares características a las de un chocolate control elaborado con sacarosa. Aranda-

González y col. (2015) desarrollaron caramelos de goma para niños con el agregado de estevia, y lograron reemplazar el 60% de la sacarosa sin alterar la aceptación sensorial del producto.

1.2. Proceso de deshidratación

El proceso de deshidratación se utiliza como un método de conservación dado que la reducción del contenido de agua permite reducir el crecimiento de microorganismos perjudiciales y además retarda el avance de ciertas reacciones químicas que afectan a los alimentos durante el almacenamiento. Además, la deshidratación también se utiliza debido a que la reducción de tamaño y volumen permite rebajar los costos de manejo, manipulación y transporte de los alimentos (Lewicki y Jakubczyk, 2004; Vega y Lemus, 2006; Araya-Farías y Ratti, 2009).

Durante el proceso de deshidratación se pueden producir cambios en los atributos de los alimentos que son indeseables y generalmente llevan a una pérdida de calidad del producto. Los cambios producidos podrán ser más o menos drásticos dependiendo de la naturaleza del alimento y las características del proceso de secado utilizado (Sablani, 2006).

En materiales sensibles al calor como frutas y vegetales, la retención de nutrientes, el color y la textura son los principales factores críticos a considerar durante la selección del método de secado. En los últimos años se han estudiado una gran variedad de métodos de deshidratación, haciendo hincapié en la calidad de los productos obtenidos (Vega-Gálvez y col., 2012). Como todo método de conservación, debe emplearse de tal modo que la pérdida de calidad sea la mínima posible. Entre los métodos empleados, se destacan el secado por convección, la liofilización, el secado por microondas, el secado por aspersion, entre otros. En este trabajo se empleó la técnica de liofilización que se describe a continuación.

1.2.1. Liofilización

La liofilización o secado por congelación es un proceso ampliamente utilizado en industrias tales como la alimentaria, la farmacéutica y la biotecnológica para preservar materiales y alimentos sensibles al calor y mejorar la estabilidad de formulaciones.

El proceso de liofilización se divide en tres etapas (**Figura 7**): congelación (solidificación), secado primario (sublimación) y secado secundario (desorción) (Abdelwahed y col., 2006):

Congelación (solidificación): durante esta etapa se congela la muestra para formar cristales de hielo de agua pura. A medida que el proceso continúa, se congela mayor cantidad de agua y la suspensión líquida restante se concentra constituyendo una fase amorfa que contiene un pequeño porcentaje de agua que no se congela.

Secado primario (sublimación): en esta etapa se lleva cabo la mayor remoción del agua (75 - 90%) en presencia de alto vacío. El hielo se sublima y el vapor de agua formado pasa de la porción seca del producto a la superficie del mismo y desde allí al condensador. Al final de la sublimación se forma un material poroso. Los poros corresponden a los espacios que anteriormente fueron ocupados por los cristales de hielo.

Secado secundario (desorción): esta etapa implica la eliminación del agua que no se convirtió en hielo en la congelación, por medio de desorción. Como en este punto no existe agua congelada, la temperatura del proceso se puede aumentar sin riesgo a que se produzca fusión, logrando que el porcentaje de humedad final sea muy reducido.

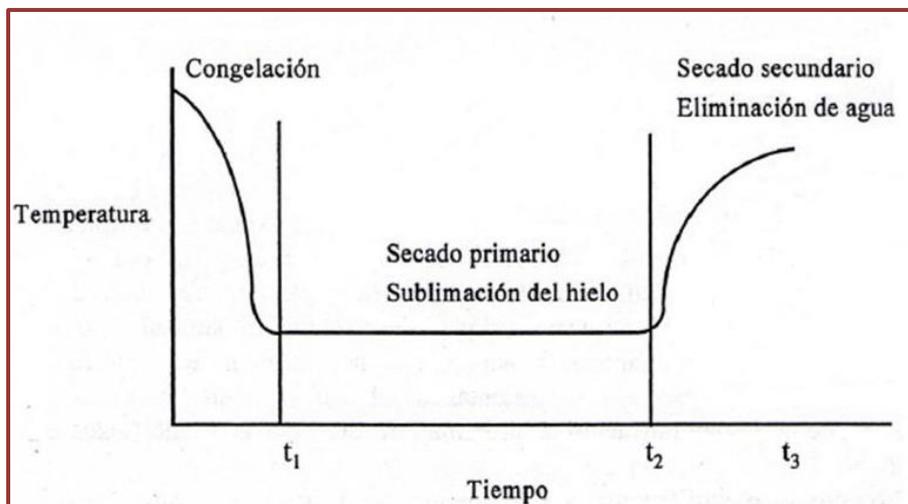


Figura 7 - Etapas operativas durante el proceso de liofilización.

Al finalizar la liofilización el alimento adquiere una estructura rígida y porosa, de textura crujiente, que conserva la forma y el volumen y además preserva sus características nutritivas y organolépticas. Es importante, controlar el contenido final de agua del producto de manera que se corresponda con el necesario para garantizar su estabilidad (Márquez y Freire, 2005; Parzanese, 2011).

Esta técnica es muy ventajosa en relación con los métodos de secado convencionales. Permite obtener un producto de alta calidad sin alteraciones fisicoquímicas; con excelente retención de aromas (90 - 100%), pigmentos y vitaminas (80 - 90%); además asegura la preservación de compuestos volátiles termolábiles (Khalloufi y Ratti, 2003). Por estas razones, la liofilización constituye un efectivo método de preservación de material biológico, frutas, vegetales y alimentos en general. En algunos casos, las frutas liofilizadas pueden ser almacenadas, en condiciones de hermeticidad, durante varios años.

1.2.2. *Productos deshidratados a partir de berries*

Los berries son frutos muy delicados y luego de su cosecha comienzan a experimentar una rápida pérdida de firmeza y frescura. Esto, no solamente limita su vida útil, sino también su disponibilidad para consumo en fresco. Generalmente estas frutas se congelan, y su principal destino son las industrias elaboradoras de jugos o purés concentrados, mermeladas, conservas, productos lácteos o productos de panadería. En este sentido, es necesario optar por métodos de procesamiento alternativos que permitan extender la vida útil de los berries y que a su vez preserven las características de calidad de las frutas frescas (Duel y Plotto, 2004; Yousefi y col., 2014). En este contexto, las frutas deshidratadas cobran relevancia, como una alternativa de las frutas frescas, ofreciendo un gran aporte de fibra, polifenoles, vitaminas y minerales. Además, al igual que las frutas frescas, contienen un bajo valor de índice glucémico. Hoy en día, muchas frutas deshidratadas sirven de base para el desarrollo y formulación de nuevos productos o ingredientes de alimentos funcionales. Otra ventaja que destaca a las frutas deshidratadas es su versatilidad en cuanto a su incorporación en productos lácteos (leche, postres, yogurt, helados), galletas, pasteles, etc. (Vega y Lemus, 2006).

Es interesante destacar que existe una gran variedad de estudios sobre productos deshidratados a partir de berries. Goroya y Bajwa (2015) evaluaron la mejora de las propiedades funcionales y nutricionales de un helado adicionado de un polvo de grosella espinosa india (amla) obtenido mediante secado convectivo. Los helados con el agregado de amla mostraron un aumento significativo en el contenido de ácido ascórbico, fenoles totales, taninos y en el valor de capacidad antioxidante. Sigdel y col. (2018) estudiaron la estabilidad y el contenido de fitoquímicos de yogures adicionados de moras secadas mediante deshidratación osmoconvectiva, reportando que estos yogures presentaron mejores propiedades bioactivas y una mayor capacidad antioxidante respecto al yogur sin adición de fruta, además los yogures con mora mostraron una reducción de la sinéresis con el tiempo.

Yang y Atallah (1995) estudiaron el efecto de diferentes métodos de secado (liofilización, secado por corriente de aire, horno de vacío) sobre la calidad de arándanos deshidratados reportando que la liofilización fue el método que permitió obtener productos con mayor calidad. Por su parte, Michalczyk y col. (2009) estudiaron los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de diferentes berries deshidratados mediante secado convectivo y liofilización. Estos autores informaron que, en todos los casos, la liofilización permitió preservar mejor las propiedades de las frutas, aún luego del almacenamiento. Franceschinis y col. (2014) desarrollaron polvos liofilizados a partir de jugo de mora con potencial uso como colorante o ingrediente saludable en la industria alimentaria. Sette y col. (2016) utilizaron el proceso de liofilización para obtener frambuesas deshidratadas, las cuales mostraron una alta retención de compuestos bioactivos. Nemzer y col. (2018) secaron arándanos, frutillas y cerezas mediante diferentes métodos y mostraron que las frutas secadas por liofilización presentaron mejor calidad comparadas con las frutas secadas mediante secado con corriente de aire.

Por otra parte, hay escasos estudios centrados en el uso de jugo, pulpa o extractos de berries como ingredientes en el desarrollo de snacks o golosinas. Karki (2011) desarrolló láminas de fruta a partir de diferentes variedades de arándanos, obteniendo productos con alto contenido de polifenoles totales y buena capacidad antioxidante. Mäkilä y col. (2014) utilizaron el residuo resultante del prensado de jugo de grosella negra para la producción de snacks extrusados. Estos productos mostraron buenos niveles de proteínas y fibra, sin embargo los autores enfatizaron en la importancia de focalizarse en las propiedades sensoriales del producto a fin de mantener características tales como sabor y color de la fruta fresca.

En cuanto al mercado nacional, actualmente no hay muchos productos de berries deshidratados tipo golosina o snack disponibles. Se destacan las berries deshidratadas tipo pasa, mayoritariamente arándanos rojos y azules, y también frutillas. Por otra parte, SNAT es una empresa ubicada en Villa Devoto, CABA, que ofrece frutas y verduras en trozos liofilizadas, entre ellas arándanos y frutillas.

Actualmente no se encuentran disponibles golosinas liofilizadas a partir de grosella negra en el mercado argentino.

1.3. Calidad, estabilidad y vida útil

Debido a las características de los caramelos desarrollados, los principales parámetros de calidad y estabilidad analizados en este trabajo fueron la textura y los compuestos bioactivos. Con respecto a los compuestos bioactivos, los analizados en este trabajo se relacionan principalmente con el aporte realizado por las grosellas negras, que se describieron en el apartado 1.1.1.3. Adicionalmente se estudiaron propiedades físicas vinculadas con la estabilidad como la temperatura de transición vítrea y las isotermas de sorción de agua. Además se realizaron distintos ensayos de evaluación sensorial para establecer la calidad, la estabilidad y la vida útil de los caramelos liofilizados.

1.3.1. Propiedades sensoriales

Si bien en la actualidad existen numerosos métodos instrumentales y técnicas analíticas para medir la calidad de los alimentos, es importante destacar que los mismos no permiten medir la totalidad de las características de un alimento. Por ello, la evaluación sensorial es una herramienta de gran utilidad en la clasificación de materias primas y productos terminados, en el conocimiento de la opinión de los consumidores sobre determinado alimento, como así también en la formulación, desarrollo y control de calidad de los mismos (Espinosa-Manfugás, 2007; Clark y col., 2009).

1.3.1.1. *Análisis sensorial*

La evaluación sensorial es la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones que son percibidas, sobre las características de un alimento u otra sustancia, a través de los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído (Hough, 2011). La percepción de una sensación puede dividirse en tres etapas. El estímulo se produce sobre el órgano sensorial y es transmitido al cerebro por el sistema nervioso. El cerebro (que posee información de experiencias previas) integra, organiza e interpreta las sensaciones para generar una percepción. Finalmente la persona elabora una respuesta (Meilgaard y col., 2006; Espinosa-Manfugás, 2007; Clark y col., 2009).

Cuando se trabaja con seres humanos como instrumento de medida, es necesario realizar un control riguroso de todas las condiciones de las pruebas a fin de evitar errores causados por factores propios de las personas (fisiológicos, psicológicos y culturales); inherentes al alimento y aquellos del entorno ambiental que pueden alterar el juicio por parte de los evaluadores (Costell, 2002).

Panel de evaluación sensorial

Un panel de evaluación sensorial es un conjunto de personas destinado a evaluar las propiedades sensoriales de un alimento. De acuerdo con la clasificación establecida por el comité de evaluación sensorial de la Sociedad Americana para el análisis de materiales (ASTM, 2005) los paneles sensoriales pueden dividirse en tres grupos:

Panel entrenado: está constituido por personas cuidadosamente seleccionadas y entrenadas en las propiedades sensoriales que se desean evaluar del alimento. El entrenamiento asegura la utilización sistemática de la combinación de las percepciones sensoriales de los evaluadores como guía analítica para evaluar la

calidad de los productos alimenticios. Los miembros de un panel entrenado poseen un lenguaje formal y en muchas ocasiones tienen conocimiento científico de las propiedades que deben medir. Debido al riguroso entrenamiento y el elevado conocimiento sobre el producto que poseen los individuos, no es necesario un número elevado de jueces (no más de 10).

Panel semientrenado: está constituido por personas familiarizadas con los atributos del alimento que se desea evaluar. Este panel es capaz de discriminar diferencias, medir intensidad de diferentes atributos y evaluar globalmente al producto. Los integrantes del panel semientrenado poseen un lenguaje menos formal pudiendo generar una variabilidad individual. Este inconveniente puede balancearse considerando un mayor número de jueces (entre 25 y 40).

Panel de consumidores: está constituido por personas que no tienen ningún tipo de entrenamiento. Generalmente los integrantes de este tipo de panel son seleccionados al azar, y son ideales para evaluar la aceptabilidad global de un alimento y atributos individuales en escalas simples siguiendo determinadas consignas.

Sala de evaluación sensorial

Es importante que el lugar físico donde se realiza la evaluación sensorial cumpla con ciertos requisitos de manera tal que permita minimizar la distracción de los jueces, controlar todas las condiciones y garantizar constancia en las mediciones. En general, el ambiente debe ser tranquilo, agradable, iluminado, exento de olores ambientales y con control de temperatura y humedad cuando el producto a evaluar lo requiera. Además, está totalmente prohibido fumar y el uso de productos cosméticos dentro de la sala.

Meilgaard y col. (2006) proporcionan una guía para la construcción e instalación de las salas para análisis sensorial. Estas salas deben contar con cabinas individuales para evitar que los panelistas interactúen y así evitar errores por distracción, sin embargo existen pruebas descriptivas especiales que requieren de un análisis en una mesa redonda donde un grupo reducido de jueces trabajan, discuten y evalúan en conjunto los atributos de las muestras.

Pruebas de evaluación sensorial

a) Evaluación sensorial cualitativa

Uno de los pasos más importantes en el desarrollo de nuevos productos es lograr la optimización del los mismos de manera que cumplan con las expectativas sensoriales de los consumidores. Para ello, las industrias alimentarias necesitan información sobre CÓMO los consumidores perciben las características sensoriales del producto que desean desarrollar y de esa manera contar con un punto de partida en aquellos casos que sea necesario reformular el producto (Ares y col., 2014).

Así, para poder entender las percepciones de los consumidores y su posible intención de compra de diferentes productos alimenticios es posible utilizar técnicas sensoriales cualitativas (Vidal y col, 2013). Estas técnicas cualitativas pueden basarse en un enfoque clásico a través de entrevistas en profundidad, o también en la utilización de nuevas metodologías como lo son las técnicas proyectivas.

Las técnicas proyectivas son ampliamente utilizadas para estudiar la percepción de la personas. Originalmente se desarrollaron en el campo de la psicología para poder estudiar los comportamientos y trastornos de la personalidad de los pacientes, basándose en el concepto de Sigmund Freud quien estableció que la proyección es un mecanismo de defensa mediante el

cual un individuo protege el ego de la ansiedad externalizando sentimientos o experiencias poco agradables atribuyéndoselos a terceros (Bellak, 1956).

De acuerdo al tipo de respuesta, las técnicas proyectivas pueden dividirse en 4 categorías (Vidal y col., 2013; Mesías y Escribano, 2018):

Técnicas de asociación: incluyen pruebas como la asociación de palabras, personificación de marca, ordenamiento de fotos y prueba de mapeo. En general, todas estas pruebas se basan en presentar un estímulo a un individuo y pedirle que responda con las primeras cosas que se le ocurran (Ares y col., 2010; Viana y col., 2014; Banovic y col., 2016).

Técnicas de construcción: este grupo abarca pruebas como la de respuesta fotográfica, la de construcción de collage y la de dibujos animados con burbujas (historieta). En estas pruebas se le solicita al individuo que de una respuesta en forma de dialogo, historia y/o descripción. Se considera que a través de una fotografía o caricatura un individuo podría manifestar sus propias actitudes y sentimientos (Mesías y Escribano, 2018).

Técnicas de terminación: estas técnicas se basan en presentarle a un individuo una oración o una historia inconclusa y se le solicita que la complete/finalice. De acuerdo a lo establecido por Vidal y col. (2013), cuando las oraciones o historias son acompañadas de imágenes proporcionan mejores resultados. Otra prueba dentro de este grupo es la denominada “lista de supermercado” que consiste en realizar dos listas idénticas, excepto por el producto que se desea estudiar que se coloca en dos presentaciones diferentes (ejemplo: lista 1 - 250 g de café molido, lista 2 – un paquete de cápsulas de café) con el propósito de determinar las percepciones y las respuestas de los consumidores.

Técnicas expresivas: aunque existen numerosas técnicas agrupadas en esta categoría las más comunes son las denominadas de juegos de roles y de tercera

persona. Este tipo de pruebas consiste en presentarle al individuo una situación verbal o visual y solicitarle que describa los sentimientos que tendría otra persona en ese contexto. Dada su complejidad y dificultad de entendimiento, las técnicas expresivas son poco utilizadas en el campo de los alimentos (Mesías y Escribano, 2018).

De acuerdo a lo establecido por Ares y col. (2008) y Vidal y col. (2013), estas técnicas se han podido trasladar y adaptar satisfactoriamente al campo de los alimentos y han resultado una herramienta interesante en el análisis sensorial cualitativo por ser rápidas y simples. Se ha podido detectar que los consumidores no son capaces de expresar correctamente sus sentimientos u opiniones cuando se les pregunta directamente debido a las barreras sociales o el miedo a ser considerados irracionales y/o no inteligentes, sin embargo cuando reciben un estímulo desestructurado y ambiguo (técnicas proyectivas) pueden expresar sus sentimientos más íntimos, creencias y motivaciones (Guerrero y col., 2010).

En este contexto es frecuente encontrar artículos científicos que utilizan diferentes técnicas proyectivas para el estudio de alimentos. En el año 2008, Ares y col. utilizaron la técnica de asociación de palabras en el estudio de un yogur convencional (natural, bajo en calorías) y otro funcional (enriquecido en fibra y antioxidantes) reportando que esta técnica proporcionó información sobre los atributos que eran relevantes para la aceptación por parte de los consumidores, los defectos comunes de los productos en el mercado, los motivos detrás de la elección de los consumidores y los atributos que podrían limitar el interés de los consumidores en el producto. Ares y col. (2010) utilizaron la técnica proyectiva de mapeo y un ensayo de CATA con el objetivo de conocer las percepciones de los consumidores y obtener un perfil sensorial de 8 formulaciones de un postre a base de leche y chocolate, reportando que ambas técnicas arrojaron resultados similares y permitieron establecer un perfil sensorial de las diferentes formulaciones. Por otra parte, el trabajo realizado por Vidal y col. (2013) describe la utilización de tres técnicas proyectivas (asociación de palabras, terminación de oración y lista de

supermercado) para descubrir la percepción y motivación de compra de los consumidores de una ensalada lista para consumir. Estos autores reportaron que la prueba de asociación de palabras y la de terminación de oración permitieron recabar la mayor información; mientras que la prueba de lista de supermercado no aportó información relevante, sugiriendo que esta técnica podría ser más apropiada para el estudio de productos con mayor impacto en los consumidores. Ares y col. (2014) realizaron el análisis sensorial cualitativo de diferentes yogures mediante la utilización de un ensayo de CATA y un análisis de penalidades con el fin de determinar el producto ideal basándose en las descripciones de los consumidores.

A continuación, se describe brevemente la prueba de asociación de palabras, la cual se ha utilizado en el presente trabajo:

Prueba de asociación de palabras

La asociación de palabras es considerada una de las técnicas más utilizadas y efectivas, posiblemente debido a la facilidad de su aplicación en comparación con otras técnicas. En el curso habitual del desarrollo de esta técnica los participantes deben manifestar lo primero que se les ocurra. Generalmente esta prueba va acompañada de frases como: por favor diga..., ¿qué piensa acerca de...?, escriba lo primero que viene a su mente cuando... (Mesías y Escribano, 2018).

En este sentido, las respuestas obtenidas permiten identificar el tipo de vocabulario con el cual los consumidores asocian al producto que se desea estudiar, lo cual puede ser relevante a la hora de tener que establecer una marca y/o los atributos que caracterizan al producto (Donoghue, 2000).

En el campo de los alimentos, la prueba de asociación de palabras es utilizada en el estudio de las percepciones de los consumidores. Se requiere un número de participantes superior a 150 consumidores, los cuales pueden ser reclutados utilizando cuestionarios online

con instrucciones simples y claras, distribuidos por correo electrónico y/o redes sociales (Vidal y col., 2013; Yu-Chin y col., 2018)

b) Evaluación sensorial cuantitativa

El análisis sensorial cuantitativo permite evaluar las propiedades organolépticas de los alimentos mediante el uso de técnicas estrictamente estandarizadas que se basan en la percepción del ser humano con uno o más de sus sentidos. Está establecido que en general el hombre tiende a percibir los atributos de un alimento en el siguiente orden: apariencia, olor, aroma, consistencia o textura, y sabor. Sin embargo, en el proceso de percepción, la mayoría de los atributos se superponen, es decir que la persona recibe una mezcla de percepciones sensoriales casi simultáneamente (Meilgaard y col., 2006).

Los métodos de medición sensorial comprenden una amplia variedad de pruebas y su elección se basa fundamentalmente en los objetivos del estudio y la disponibilidad tanto de personal como de material a utilizar. Estos métodos se han clasificado en tres grandes categorías básicas

Pruebas discriminativas: buscan diferencias significativas entre productos. Dentro de este grupo se encuentran las siguientes pruebas: test del triángulo, test de comparación pareada, test “A – no A”, test de diferencia contra control, test dúo o trío, etc.

Pruebas descriptivas: permiten realizar una descripción completa de los alimentos a través de un panel entrenado. Para realizar un test descriptivo se pueden utilizar métodos normalizados como: análisis descriptivo cuantitativo (QDA), perfil de flavor, perfil de textura, método SPECTRUM[®], etc.

Pruebas afectivas: permiten evaluar la respuesta (reacción, preferencia o aceptación) de consumidores reales o potenciales de un determinado alimento.

Generalmente estas pruebas siguen a estudios discriminativos y/o descriptivos y son previas a un estudio de mercado. Las pruebas afectivas se realizan con consumidores.

Los aspectos cualitativos de un producto alimenticio incluyen su aroma, apariencia, textura, flavor y propiedades de sonido. En general todos estos aspectos pueden ser cuantificados, facilitando la descripción del alimento. Dentro del gran conjunto de pruebas existentes en el campo del análisis sensorial, estos métodos tradicionales son rápidos, prácticos y siguen siendo la herramienta más adecuada para el análisis de productos alimenticios en el control de calidad, la comparación de prototipos para entender la respuesta de los consumidores, el rastreo de cambios del producto debido al efecto de los ingredientes o el empaque, y la evaluación de los cambios producidos a lo largo del tiempo con relación de la vida útil del producto (Gacula, 1997; Murray y col., 2001; Drake, 2007).

1.3.2. *Propiedades texturales*

Generalmente la textura se utiliza como un parámetro de calidad de los alimentos, que influye a veces más que el flavor, sobre la preferencia y la aceptación de los consumidores (Szczesniak y Kahn, 1971). De acuerdo a lo establecido por la norma ISO 5492:1992, la textura se define como el conjunto de propiedades reológicas y de estructura de un producto, perceptibles por los receptores mecánicos, táctiles y en ciertos casos, por los visuales y auditivos.

Por todo ello es que surge el siguiente interrogante, *¿es posible realizar una completa caracterización de la textura de los alimentos?* Generalmente esto resulta muy complejo, sin embargo, el conjunto de sensaciones que conforman la textura pueden ser evaluados de manera integral empleando distintas técnicas como análisis sensorial, métodos instrumentales y análisis de la microestructura (Anton y Luciano, 2007).

1.3.2.1. *Análisis instrumental*

Las propiedades mecánicas de los alimentos son importantes para el diseño de procesos y operaciones, formulación y desarrollo de productos, control de calidad, y estudios de vida útil (Sharma y col., 2003; Ramírez-Navas, 2006). En este sentido, los ensayos reológicos o de fuerza-deformación son ampliamente utilizados para evaluar las características texturales de los alimentos sólidos (Lu y Abbott, 2004).

Si bien es conocido que existe un número considerable de instrumentos desarrollados y/o adaptados para la medición de las propiedades mecánicas de los alimentos sólidos, todos ellos suelen denominarse genéricamente “texturómetros universales”, y aunque difieren entre ellos en determinados aspectos, coinciden en dos puntos importantes: pueden realizar diferentes tipos de ensayos con un mismo equipo básico adaptándoles distintas celdas de medida, y permiten registrar la variación de la resistencia que opone el alimento a la fuerza aplicada y obtener de dicho registro una información más amplia sobre el comportamiento mecánico del alimento durante los procesos de deformación. Su funcionamiento se basa en la aplicación de una fuerza sobre el alimento y el registro de su resistencia a la misma. Todos estos instrumentos incluyen cuatro elementos básicos: a) una pieza que entra en contacto con el alimento y a través de la cual se aplica la fuerza; b) un mecanismo que desplaza la pieza anterior en un sentido determinado (vertical, horizontal o rotatorio) a una velocidad constante o variable; c) un elemento sensor capaz de registrar la respuesta del alimento a la fuerza aplicada; y d) un sistema que comunica la señal detectada por el sensor (Szczesniak, 1973).

Estos equipos permiten realizar ensayos de resistencia a la compresión, a la penetración, al corte, al cizallamiento; ensayos de perfil de textura (TPA), entre otros.

A continuación, se describirá brevemente el ensayo de punción el cual se ha utilizado en el presente trabajo.

Ensayo de punción

Este ensayo es uno de los más utilizados en el estudio de los alimentos. Consiste en penetrar un alimento con una punta de penetración y medir la fuerza requerida. (**Figura 8**).

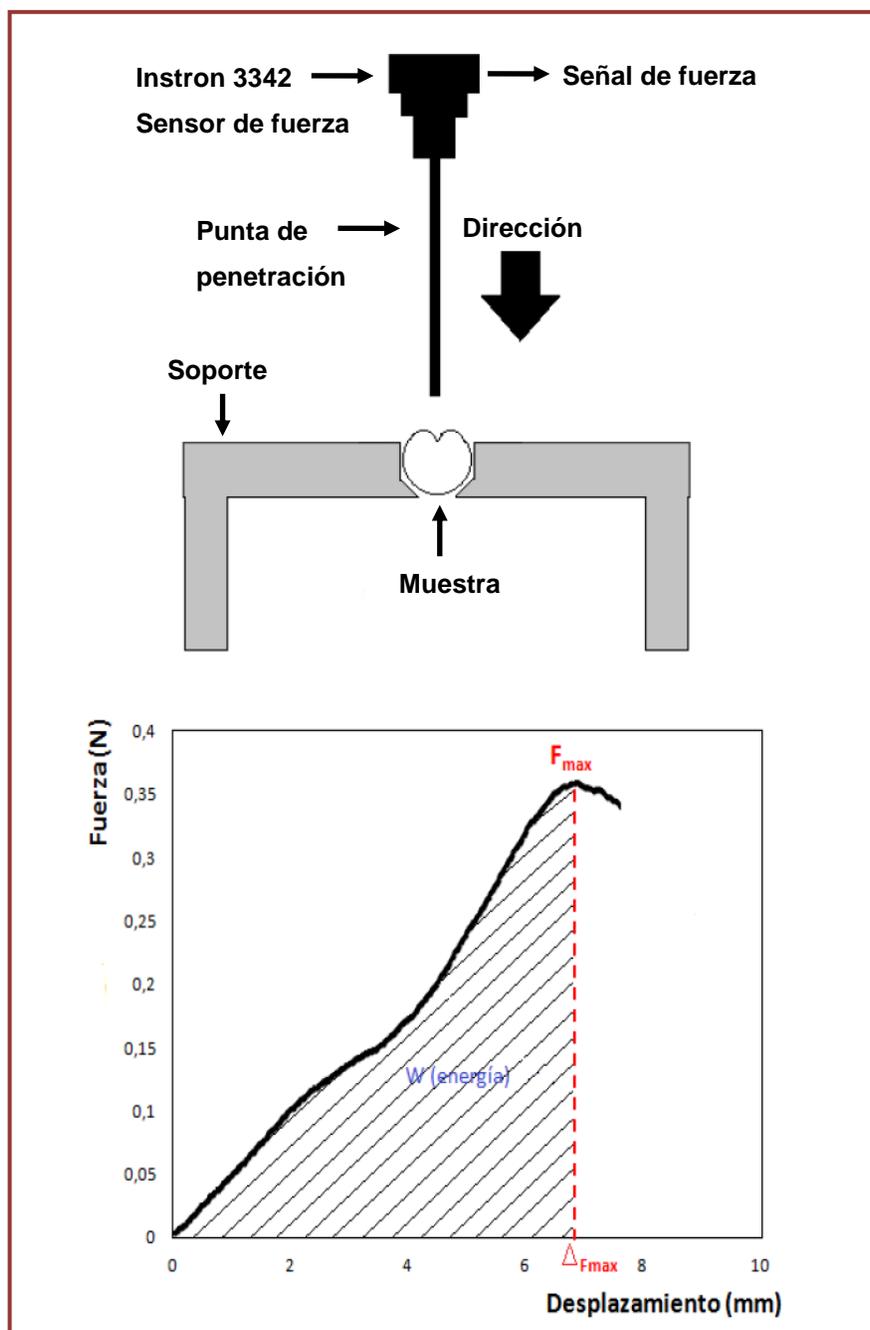


Figura 8 - Esquema de ensayo de punción y curva típica de fuerza-desplazamiento (Sette, 2015).

La fuerza de penetración incluye componentes de compresión y de corte cuya proporción depende del diámetro de la punta que se utilice. Por otra parte, cuando el ensayo se realiza con punzones cilíndricos, además de la fuerza se pueden obtener valores de cohesividad y rigidez, mientras que con punzones cónicos la curva obtenida es más simple y solo se suele registrar la fuerza máxima y la distancia correspondiente a dicha fuerza (Costell y Fiszman, 1997).

En el ensayo de punción se registran los cambios en la fuerza aplicada (F) en función del tiempo (t) o de la deformación (D). En estas pruebas la muestra se deforma con velocidad de desplazamiento constante y se registra la resistencia que opone a la deformación impuesta (Fiszman y Durán, 1997). Como resultado se obtienen curvas típicas de fuerza-distancia (**Figura 8**). A partir de las curvas de fuerza-distancia se pueden obtener la fuerza máxima (F_{\max}), la distancia correspondiente a la fuerza máxima (ΔF_{\max}) y la energía o trabajo (W).

1.3.2.2. *Análisis sensorial*

Es importante destacar, que debido a la complejidad de atributo textura, los métodos instrumentales no siempre son suficientes para medir la totalidad de las características de un alimento. Brandt y col. (1963) desarrollaron un método de perfil de textura que consiste en el análisis sensorial utilizando un panel entrenado para el análisis de la textura de los alimentos. En el mismo se utiliza terminología estandarizada, muestras de referencia y procedimientos de evaluación controlados, y tiene como objetivo medir cuantitativamente los atributos texturales de los alimentos.

Existen antecedentes sobre el uso de paneles sensoriales entrenados para analizar textura. Bárcenas y col. (2000) conformaron y entrenaron un panel sensorial en términos de olor, sabor y textura para el estudio de quesos de leche de oveja. Albert y col. (2011) utilizaron un panel sensorial entrenado para el estudio de alimentos calientes de textura compleja como los *nuggets* de pescado. García Loredo y col. (2013) realizaron un análisis sensorial descriptivo de

rodajas de manzana osmóticamente deshidratadas utilizando un panel entrenado. Farroni y col. (2015) utilizaron un panel sensorial entrenado para evaluar el efecto del agua sobre las propiedades texturales de copos de maíz.

En el presente trabajo se utilizó un panel sensorial entrenado para el estudio de las características texturales de los caramelos liofilizados.

1.3.2.3. *Análisis de imágenes*

La microscopía de barrido electrónico (SEM) es una técnica muy versátil que permite obtener imágenes de todo tipo de materiales estructurales o de origen biológico con un mínimo de preparación previa, como así también observar directamente todo tipo de superficies con una gran profundidad de foco. Un microscopio SEM permite observar muestras con una resolución de unos 4 nanómetros con magnificaciones de hasta 300.000x. Para ello solo es necesario asegurar que la muestra esté limpia y seca, sea resistente al vacío del instrumento, y sea buena conductora electrónica. En el caso de los materiales no conductores, generalmente se los recubre con una delgada capa metálica. En un microscopio SEM, la imagen se obtiene a partir de las señales emitidas por la muestra y se va formando a medida que el haz de electrones se desplaza sobre una porción de su superficie. El microscopio SEM no forma una imagen real del objeto, sino que es una imagen virtual de algunas de las señales emitidas por la muestra (Ipohorski y Bozzano, 2013).

La matriz de co-ocurrencia es una matriz en la que un píxel con un nivel de gris aparece en una relación de espacio específica con la de otro píxel de diferente nivel de gris. Estas matrices son medidas de segundo orden porque consideran parejas de píxeles vecinos, separados a una distancia y en un determinado ángulo; por tanto, pueden revelar ciertas propiedades sobre la distribución espacial de los grises en la textura de la imagen. El análisis de imágenes mediante GLCM es una técnica que permite obtener resultados rápidos y objetivos. Inicialmente se

empleaba una cámara digital para la adquisición de las imágenes y un software para el análisis de la matriz GLCM (Pieniazek y Messina, 2017; Roa Andino y col., 2018). La matriz GLMC se utilizó por primera vez por Haralick y col. (1973) en un estudio de discriminación de suelos a partir de imágenes satelitales. Desde allí, ha tenido numerosas aplicaciones en diferentes ámbitos cuando se presenta un problema de resolución de textura (Roa Andino y col., 2018).

Posteriormente, se observó que la microscopía SEM es un buen medio para la adquisición de imágenes. Así, de acuerdo a lo postulado por Barrera y col. (2013) y Pieniazek y Messina (2017), la utilización conjunta de técnicas de obtención y análisis de imágenes como la microscopía de barrido electrónico (SEM) y la matriz de co-ocurrencia del nivel de gris (GLCM), respectivamente, se ha convertido en una poderosa herramienta para poder estudiar y predecir los cambios de las características texturales de los alimentos. A partir de esta técnica se pueden obtener los siguientes parámetros texturales: contraste (CON), correlación (COR), entropía (ENT), energía (ASM) y homogeneidad (HOM) (**Figura 9**). En el campo de los alimentos Botero-Valencia y Restrepo-Martínez (2010) utilizaron la matriz GLCM para el análisis de textura de panes pudiendo detectar diferencias entre el pan blanco y el pan integral. Pieniazek y col. (2018) utilizaron la técnica de análisis de textura por imágenes para predecir la textura de diferentes cortes de carne, pudiendo clasificar los diferentes cortes en términos de parámetros de textura y obteniendo una buena correlación con ensayos de textura instrumental. Roa Andino y col. (2018) estudiaron bananas liofilizadas aplicando esta técnica para evaluar el efecto de diferentes ciclos de liofilización. Estos autores reportaron que ciclos de liofilización largos afectan la textura de las frutas, tornándolas más duras.

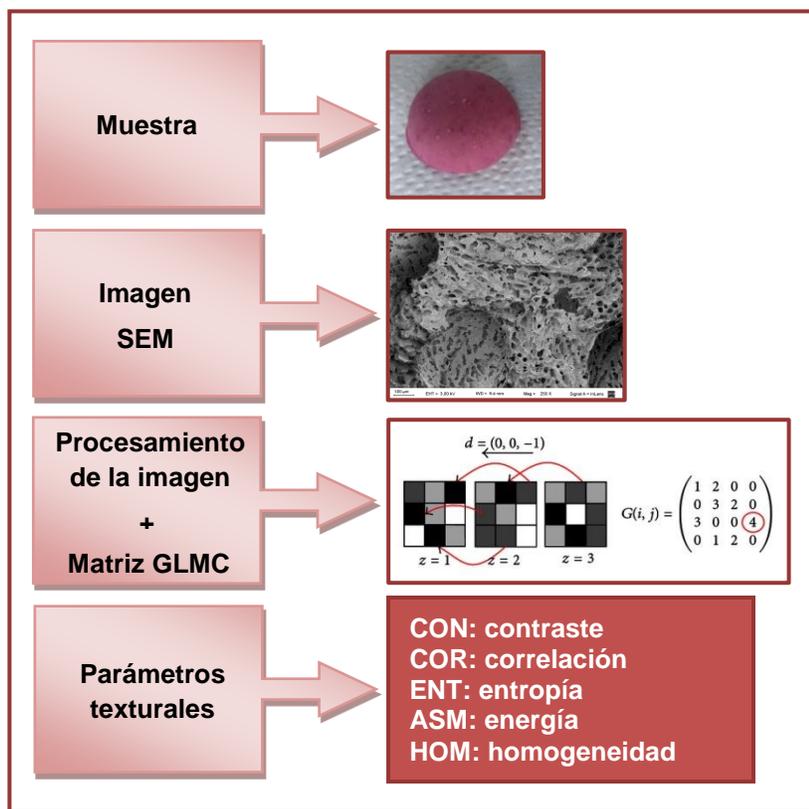


Figura 9 - Esquema general de análisis textural mediante el uso conjunto de SEM y GLMC.

1.3.3. Propiedades físicas

1.3.3.1. Transición vítrea

Muchos alimentos deshidratados contienen componentes amorfos, los cuales dependiendo de la temperatura y la presencia de agua pueden existir en estado vítreo (sólido rígido) o estado de líquido sobreenfriado (gomoso). El cambio entre el estado vítreo y el estado de líquido sobreenfriado se conoce como transición vítrea y se produce a una temperatura específica para cada material denominada temperatura de transición vítrea (T_g). Sin embargo, dado que los alimentos son sistemas multicomponentes, la transición vítrea puede ocurrir en un rango de temperatura, en un intervalo de aproximadamente 20°C , e incluso un producto puede tener

numerosas transiciones vítreas. Esto depende de la velocidad de calentamiento, de la historia térmica del producto como así también de su masa molar y el contenido de agua (Roos, 1998; Hui, 2006; Quiroz, 2007).

La transición vítrea puede ser detectada y estudiada por distintos métodos, sin embargo, la técnica más utilizada es la calorimetría diferencial de barrido (DSC) (Levine y Slade, 1992). En esta técnica, la muestra se calienta a una velocidad constante en una cápsula sellada, y se mide la diferencia de calor absorbido o entregado respecto de una cápsula vacía que se utiliza como referencia. Este método es capaz de detectar la transición vítrea en base a un cambio escalonado en el calor específico que ocurre a medida que un sistema es calentado y atraviesa dicha transición.

Es importante notar que, a temperaturas en el rango de la T_g , un cambio de pocos grados puede provocar cambios estructurales en los materiales deshidratados como consecuencia de una disminución de su viscosidad. En el caso de los productos en polvo, estos cambios están asociados a fenómenos como la pegajosidad, el apelmazamiento y el colapso estructural (Martínez y col., 2000). De acuerdo a lo establecido por Bhandari (2001), la temperatura de apelmazamiento (T_a) de los polvos se puede determinar a partir de la T_g y corresponde en promedio a un valor 20°C por encima de la T_g . Los materiales muy porosos como los productos liofilizados, pueden sufrir un colapso post-secado cuando no se mantienen las condiciones óptimas de almacenamiento y se pueden afectar sus propiedades incluyendo pérdida de volátiles atrapados en la matriz liofilizada (Flink y Karel, 1972; Tsourouflis y col., 1976; Gerschenson, y col., 1981); disminución de las características de rehidratación de tejidos vegetales (Tsourouflis y col., 1976; Anglea, y col., 1993); pérdida de esponjosidad (Bellows y King, 1972); modificación de la velocidad de desarrollo de color (Buera y Karel, 1995; Roos y Himberg, 1994); y aumento de la velocidad de oxidación de lípidos (Gejl-Hansen y Flink, 1977).

Para poder evaluar la magnitud de los cambios en las propiedades físicas y químicas que ocurren al atravesar la transición vítrea puede utilizarse el parámetro $(T-T_g)$, el cual corresponde

a la diferencia entre la temperatura de almacenamiento (T) y la temperatura de transición vítrea (T_g). Valores de $(T-T_g)$ negativos indican que el sistema se encuentra en un estado vítreo estable altamente viscoso, mientras que a valores de $(T-T_g)$ positivos el sistema se encuentra en estado sobreenfriado con una menor viscosidad y mayor susceptibilidad a los cambios (Levine y Slade, 1992).

1.3.3.2. *Isotermas de sorción de agua*

Los alimentos, en mayor o menor medida, están constituidos por agua, es por ello que las interacciones que se producen entre el agua y sus componentes son factores determinantes de su estabilidad y calidad. En un alimento las moléculas de agua pueden asociarse de diferentes maneras con los constituyentes sólidos. El término actividad de agua (a_w) se desarrolló para considerar la intensidad con la cual el agua se asocia con los distintos constituyentes no acuosos (Fennema, 2000) y se la define como muestra la **Ecuación 1**.

$$a_w = \frac{p}{p_0} \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

a_w : actividad de agua.

p: presión de vapor de agua en el alimento a la temperatura T.

p_0 : presión de vapor de agua pura a la temperatura T.

La a_w está relacionada con el contenido acuoso a una temperatura constante a través de la isoterma de sorción de agua. Las isotermas de sorción de agua son extremadamente

importantes en el campo de los alimentos para el desarrollo de nuevas formulaciones, selección del material de embalaje adecuado, predicción de las condiciones óptimas de almacenamiento, y la determinación de la estabilidad del producto (Arévalo-Pinedo y col., 2004).

De acuerdo con lo establecido por Gregg y Sing (1982), las isotermas de sorción se clasifican en 6 tipos según la adsorción por las fuerzas de van der Waals de gases no polares adsorbidos en diversos sustratos sólidos no porosos. En el caso de los alimentos, las isotermas de tipo I, II y III son las más características (**Figura 10**).

Entre los problemas estudiados en relación a las isotermas de sorción de agua en alimentos, uno de los más importantes es la descripción matemática de las mismas. Para este propósito se han propuesto diferentes modelos y ecuaciones. El modelado de las isotermas de sorción de agua es particularmente importante para predecir la vida media de alimentos con humedad baja e intermedia (Labuza, y col., 1970; Simatos y Karel, 1988). Las ecuaciones de Brunauer-Emmett-Teller y Guggenheim-Anderson-de Boer, más conocidas como ecuaciones de BET y GAB, respectivamente, son modelos de isotermas de sorción de agua que proveen el valor de humedad de monocapa, el cual corresponde al contenido de agua óptimo para mantener la estabilidad de los alimentos de baja humedad (Brunauer y col., 1938; Labuza y col., 1970; Van Den Berg y Bruin, 1981).

La aplicabilidad del modelo BET se limita a valores de a_w en el rango de 0,1 a 0,5. Brunauer reconoce que por debajo de $a_w = 0,1$ existen heterogeneidades superficiales, mientras que por encima de $a_w = 0,35$ existen fenómenos de condensación capilar. Por su parte, la ecuación de GAB es más popular en el campo de los alimentos debido a que cubre un rango más amplio de a_w (hasta 0,9), siendo recomendada por el European Project Group COST 90 en propiedades físicas de alimentos como la ecuación fundamental para la caracterización de sorción de agua de materiales alimenticios (Van Den Berg y Bruin, 1981; Timmermann, 2003).

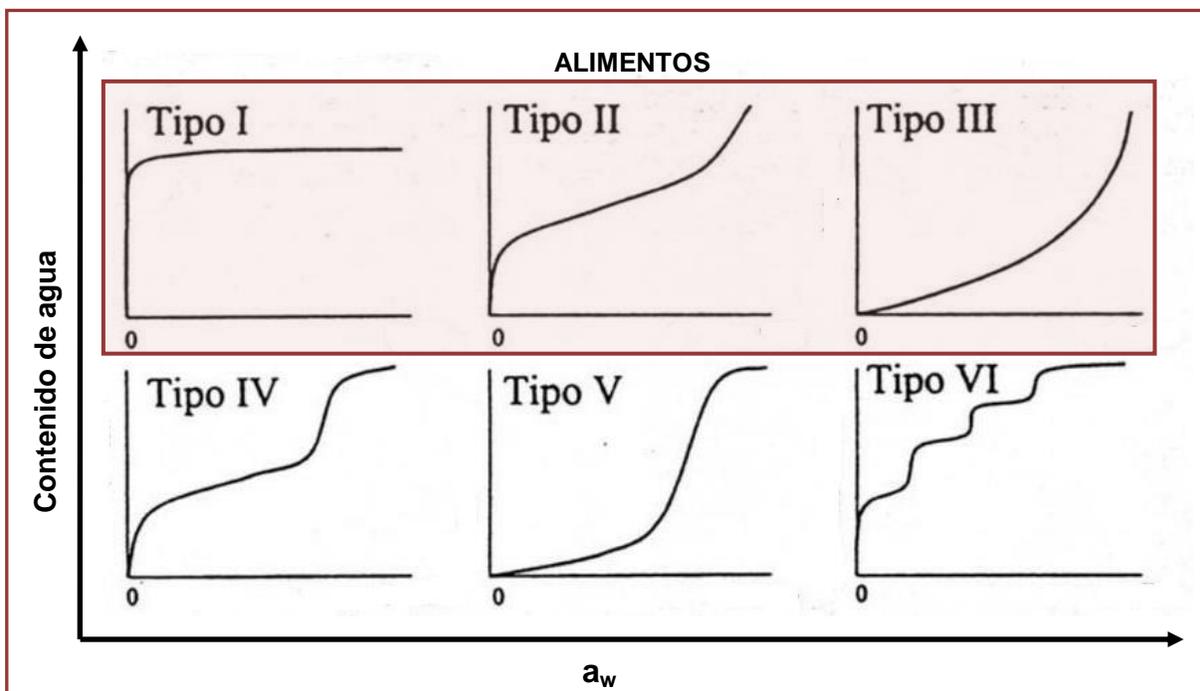


Figura 10 - Clasificación general de isothermas de sorción de agua y tipos más frecuentes en los alimentos (Gregg y Sing, 1982).

1.3.4. Vida útil de los alimentos

La vida útil es un atributo importante de todos los alimentos incluidas las materias primas, los ingredientes y los productos manufacturados, y comprende el período de tiempo durante el cual el alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario, manteniendo las características sensoriales, químicas, físicas y microbiológicas por encima de los límites de calidad previamente establecidos como aceptables (Earle y Earle, 2008; Hough y Fizman, 2005).

Entre los factores que pueden influir en la duración de la vida útil de un alimento se encuentran el tipo de materias primas utilizadas, la formulación del producto, el proceso aplicado y las condiciones sanitarias durante el mismo, el envase elegido para protegerlo, las

condiciones de almacenamiento y distribución, y la manipulación que tendrá en manos de los consumidores (Carrillo-Inungara y Reyes-Munguía, 2013; Hough y Fizman, 2005).

1.3.4.1. Vida útil fisicoquímica, funcional y microbiológica

De la definición de vida útil surge que lo primordial es el aspecto sanitario. Ningún fabricante puede permitir que los consumidores se intoxiquen, ya sea por una proliferación microbiana elevada o por la presencia de un algún compuesto químico tóxico generado durante un almacenamiento demasiado prolongado (Hough y Fizman, 2005).

Desde el punto de vista químico, entre los componentes que se pueden ver afectados se encuentran carbohidratos, proteínas, grasas y vitaminas; también puede haber cambios en la humedad del alimento y crecimiento microbiano. El deterioro de los alimentos puede ser causado por reacciones microbiológicas, químicas y enzimáticas, por lo tanto, todos estos factores pueden limitar la vida útil del producto (Carrillo-Inungara y Reyes-Munguía, 2013)

Para algunos alimentos también es importante el aspecto nutricional. Por ejemplo, en fórmulas para lactantes, la provisión de vitaminas y otros nutrientes esenciales no debe verse afectada por el deterioro de éstos durante el almacenamiento. Pasadas las barreras sanitarias y nutricionales, la vida útil depende en definitiva de las propiedades sensoriales del producto. Se puede discutir que es importante tener en cuenta los cambios físicos o químicos, pero éstos repercuten directamente sobre la calidad sensorial (Hough y Fizman, 2005).

1.3.4.2. Vida útil sensorial

La evaluación sensorial se ha convertido en un factor determinante a la hora de estimar la vida útil de muchos productos alimenticios. Esto es debido a que existen alimentos

microbiológicamente estables que podrían tener su vida útil definida por los cambios en sus propiedades sensoriales.

De acuerdo con lo establecido por Cardello (1998), los factores que afectan la percepción de la calidad por parte de los consumidores pueden ser intrínsecos del producto o extrínsecos.

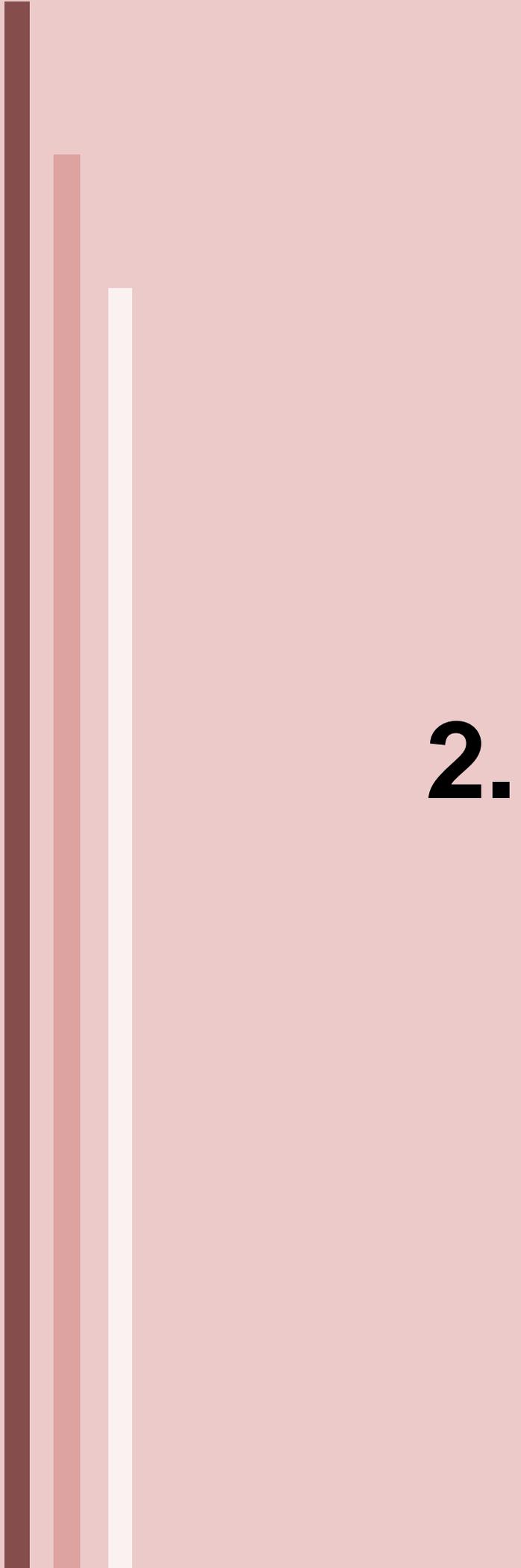
Los factores intrínsecos están relacionados con las propiedades microbiológicas y fisicoquímicas, las cuales por su propia naturaleza controlan las características sensoriales del alimento; y a su vez determinan la aceptabilidad y la percepción de calidad que tiene el consumidor. Respecto a los factores extrínsecos, existen aspectos asociados a las expectativas y las influencias culturales y sociales que contribuyen a la calidad del alimento (Cardello, 1998).

En este sentido, la vida útil sensorial se define como el periodo de tiempo durante el cual el alimento es consumible y/o utilizable manteniendo las características sensoriales y el rendimiento previstas por el fabricante (ASTM, 2005).

La correlación entre la medición de la calidad de un alimento dada por el consumidor y la aceptabilidad del mismo fue estudiada por Cardello y col. (1996), resultando un coeficiente de correlación superior a 0,92. No cabe duda que la calidad de un alimento está definida por la percepción que de ella tenga el consumidor, y que esta percepción está muy ligada a lo que al consumidor le gusta.

Hough y Fizman (2005) y Hough y Garitta (2012), establecieron que en Argentina el número de productos alimenticios cuya vida útil depende de sus propiedades sensoriales es mayor que aquellos productos cuya vida útil está limitada por sus aspectos microbiológicos y/o nutricionales. Por ejemplo, Hough y Garitta (2012) reportan que cuando las salchichas se cocinan en autoclave y se envasan en películas permeables adquieren un aspecto seco que se manifiesta antes de los problemas microbiológicos. Por otra parte, Hough y Fizman (2005) reportan que durante el almacenamiento de los jugos de fruta se pueden producir reacciones de pardeamiento que provocan cambios en su color. En el caso del yogur, durante el almacenamiento, se libera suero generando un cambio físico indeseable desde el punto de vista

sensorial. Todos estos problemas repercuten sobre la aceptabilidad de los consumidores, por lo cual es necesario buscar mecanismos que retarden o bloqueen estas reacciones, en definitiva, con el propósito de evitar que aparezcan defectos sensoriales que impacten negativamente sobre los consumidores (Cardello, 1998; Hough y Fizman, 2005).



2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Desarrollar golosinas saludables deshidratadas a partir de grosella negra, realizando un estudio integral de sus propiedades fisicoquímicas, funcionales, texturales y sensoriales.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar una caracterización fisicoquímica de la grosella negra empleada como materia prima.
- Generar dos formulaciones de caramelos liofilizados organolépticamente aceptables, utilizando diferentes endulzantes. Un caramelo endulzado con miel-isomalta; y otro reducido en calorías endulzado con isomalta-estevia.
- Caracterizar los productos desarrollados mediante el análisis de sus propiedades fisicoquímicas, texturales y funcionales.
- Realizar la evaluación sensorial de los productos incluyendo estudios cualitativos y cuantitativos.
- Analizar la estabilidad de las propiedades fisicoquímicas, funcionales, texturales y sensoriales de los productos durante el almacenamiento.



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Preparación de los caramelos

3.1.1. Materias primas

Se utilizaron grosellas negras (*Ribes nigrum L.*) variedad Titania procesadas mediante Congelado Rápido Individual (IQF) provenientes de El Bolsón – Río Negro, adquiridas en un mercado local de la ciudad de Buenos Aires. Además, se utilizaron los siguientes endulzantes: miel (Gala®), isomalta (Beneo®) y estevia (Durli®).

Por otra parte se preparó un yogur natural utilizando leche semi descremada (SanCor®), un cultivo *starter* (Amerex®) constituido por cepas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, y maltodextrina DE12 de grado alimentario (Givaudan S.A., Argentina).

3.1.2. Elaboración de yogur

Se preparó el yogur natural mediante el siguiente procedimiento: la leche se calentó a 80°C durante 15 minutos y luego se enfrió a 45°C para incorporar el fermento y la maltodextrina (10% para incrementar el contenido de sólidos). La preparación se mezcló usando un agitador magnético F20530162 (Velp Scientifica SRL, Monza y Brianza, Italia). El proceso de fermentación tuvo una duración aproximada de 7 horas y se realizó en una estufa Function Line 7000 (Heraeus, Hesse, Alemania) a 40°C ± 2° hasta alcanzar un pH de 4,5. Transcurridas 5 horas del proceso de fermentación, cada media hora se tomó una muestra de yogur y se controló su pH con un pHmetro HI 2223 (Hanna®, Buenos Aires, Argentina) calibrado con soluciones buffer de pH 4,0 y 7,0. Una vez alcanzado el pH de 4,5, el yogur se conservó en heladera a 4°C hasta su uso.

3.1.3. Preparación de las formulaciones

A los efectos de lograr formulaciones organolépticamente aceptables se realizaron pruebas preliminares variando los componentes (pulpa de fruta, yogur, endulzantes) y sus proporciones. Entre los objetivos de este trabajo se planteó generar golosinas liofilizadas con características más similares a las golosinas tradicionales pero sin agregado de sacarosa y endulzadas con miel, y por otro lado obtener caramelos reducidos en calorías empleando endulzantes de bajas calorías.

La pulpa de fruta se elaboró de la siguiente forma: las grosellas negras se descongelaron en un baño de agua a 40°C durante 30 minutos. Luego se trituraron hasta tener una pulpa homogénea con una minipimer HR 1372 (Philips, Buenos Aires, Argentina) durante 2 minutos en un baño de hielo.

En una primera instancia se trabajó con pulpa de grosella negra como componente mayoritario, sin embargo los estudios sensoriales preliminares mostraron un alto rechazo por parte de los consumidores debido a la elevada acidez del producto obtenido. Es por ello que se decidió incorporar en las formulaciones yogur para contrarrestar la acidez proporcionada por la fruta.

Con respecto a la incorporación de endulzantes, en el caso de la formulación endulzada con miel, se realizaron pruebas utilizando miel como único endulzante probando diferentes concentraciones (10 a 30%). Se observó que en bajas concentraciones la miel no era suficiente para endulzar la formulación prevaleciendo el gusto ácido de la grosella negra, contrariamente cuando se adicionó en mayor proporción se logró conseguir un dulzor adecuado, sin embargo llevó a inconvenientes tecnológicos (dificultad para congelar las formulaciones y caramelos liofilizados con superficie pegajosa). Se buscó reducir la concentración de miel empleando estevia, sin embargo la mezcla de miel-estevia no resultó satisfactoria y no fue aceptada por los

consumidores. Finalmente se decidió probar la combinación miel-isomalta, la cual resultó más adecuada, permitiendo reducir el contenido de miel utilizada y alcanzar el dulzor deseado.

Con respecto a la formulación reducida en calorías, se planeó emplear como endulzante la estevia. Sin embargo, las concentraciones de estevia necesarias para alcanzar el sabor dulce deseado, causaron un regusto no aceptado por los consumidores. Por lo tanto, se decidió incorporar isomalta en combinación con estevia. La isomalta no solamente permitió solucionar el inconveniente del regusto sino que además mejoró considerablemente la textura del producto debido a sus propiedades como agente de carga.

La **Tabla 6** muestra la composición de las formulaciones finalmente preparadas, obtenidas por mezclado de las diferentes materias primas.

Tabla 6 - Composición centesimal de las formulaciones F1 y F2.

Formulación	Ingredientes (%)				
	Fruta	Yogur	Miel	Isomalta	Estevia
F1	23,3	46,7	20,0	10,0	-
F2	23,2	46,3	-	30,0	0,50

La **Figura 11** muestra la preparación de la formulación con miel-isomalta como endulzantes (F1), siendo el aspecto similar para la formulación elaborada con isomalta-estevia (F2).



Figura 11 - Preparación de formulación (F1)

3.1.4. Liofilización

En el presente trabajo se decidió utilizar la liofilización como método de deshidratación a fin de preservar los compuestos bioactivos presentes en la fruta utilizada como materia prima y de conservar la forma de los caramelos previamente moldeados.

La **Figura 12** muestra las etapas del proceso de obtención de las golosinas liofilizadas. Cada formulación se colocó en moldes de silicona y se congeló a -20°C durante 48 horas. Los caramelos congelados se desmoldaron y colocaron en bandejas de plástico. El proceso de liofilización se llevó a cabo en un liofilizador Alpha 1-4 LD/2-4 LD-2 (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Baja Sajonia, Alemania) durante 48 horas. Las condiciones de trabajo utilizadas fueron: temperatura de la placa condensadora: -55°C ; presión de la cámara: 4 Pa.

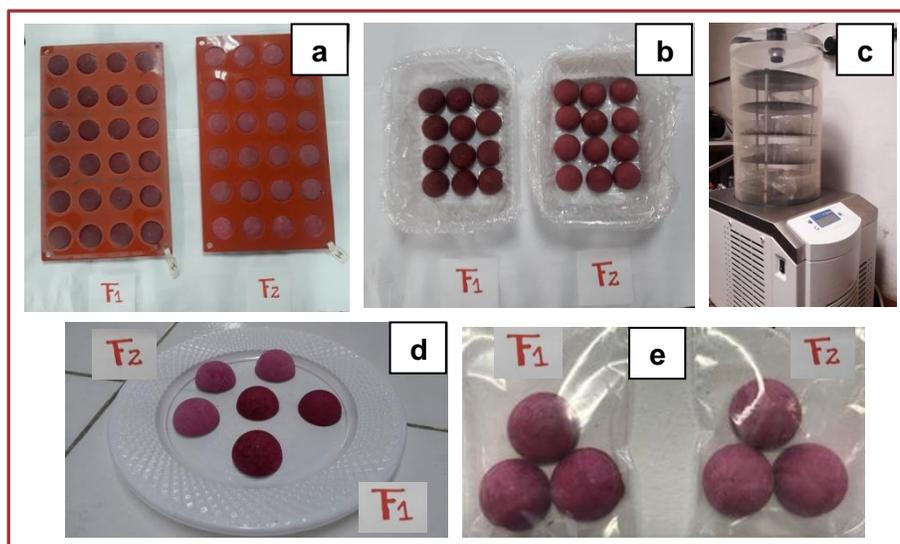


Figura 12 - Obtención de los caramelos liofilizados a partir de grosella negra y yogur, endulzadas con miel-isomalta (F1), e isomalta-estevia (F2):

Moldeado en moldes de silicona **(a)**, bandejas plásticas empleadas para completar el congelado **(b)**, liofilizador **(c)**, caramelos liofilizados **(d)**, caramelos liofilizados envasados **(e)**.

3.1.5. Envasado

Una vez finalizado el proceso de liofilización, los caramelos obtenidos se envasaron rápidamente en pequeñas bolsas de plástico cerradas herméticamente, conteniendo 3 unidades cada una (**Figura 12e**). Todas aquellas bolsas conteniendo los caramelos que se utilizarían inmediatamente para diferentes determinaciones se recubrieron con papel aluminio y se mantuvieron en un lugar fresco y libre de humedad. En el caso de aquellas bolsas con caramelos que serían utilizados para el estudio de estabilidad se envasaron en una segunda bolsa de plástico coextrudada termocontraíble Cryovac[®], la cual se selló con una envasadora eh16 (Ehrlich, Buenos Aires, Argentina). Todas las bolsas conteniendo los caramelos para las diferentes determinaciones, correspondientes a cada tiempo de almacenamiento se colocaron

en una cámara con control de temperatura HCP108 (Memmert GmbH, Schwabach, Alemania), a 25°C hasta su utilización.

3.2. Metodología

3.2.1. Caracterización de la materia prima y los caramelos liofilizados

3.2.1.1. Caracterización de la materia prima

3.2.1.1.1. Humedad

El contenido de agua de la fruta se determinó gravimétricamente mediante el método oficial 925.09 (AOAC, 2005). Las muestras se secaron en una estufa de vacío FI-J010045 (Fistreem International Ltd, Loughborough, Reino Unido) a una temperatura de 60°C hasta alcanzar peso constante. La pérdida de peso de las muestras se determinó por pesada en una balanza analítica AG245 (Mettler Toledo, Ohio, Estados Unidos) de precisión 0,01 mg. Antes de cada pesada las muestras se enfriaron en un desecador conteniendo sílica gel. La humedad se expresó como miligramos de agua por cada 100 gramos de fruta fresca (g H₂O/100 g f.f.)

3.2.1.1.2. pH

El pH se determinó sobre una fracción de fruta triturada mediante el método oficial 945.27 (AOAC, 2005). Se utilizó un pHmetro HI 2223 (Hanna[®], Buenos Aires, Argentina) calibrado con soluciones buffer de pH 4,0 y 7,0.

3.2.1.1.3. Acidez total

La acidez total se determinó mediante el método oficial 942.15 (AOAC, 2005). Se pesó una masa conocida de fruta triturada y se diluyó con 40 ml de agua destilada. La titulación volumétrica se realizó con una solución de NaOH 0,1 N. Debido a la interferencia producida por el color de la fruta en el viraje del indicador, el punto final de la titulación se controló midiendo el pH de la muestra. En primer lugar se agregó álcali rápidamente hasta alcanzar un valor de pH de 6,0 y posteriormente se continuó titulando lentamente hasta un pH final de 8.1. El resultado se expresó como miligramos de ácido cítrico por cada 100 gramos de fruta fresca (mg ácido cítrico/100 g f.f.)

La acidez total se calculó mediante la **Ecuación 2**.

$$AT = \frac{(V \times N)_{NaOH} \times PE_{ácido\ cítrico} \times 100}{m} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

AT: mg ácido cítrico/100 g de fruta fresca.

V: volumen (ml) de NaOH.

N: normalidad de NaOH.

PE: peso equivalente (g/mol) de ácido cítrico.

M: peso de la muestra (g).

3.2.1.1.4. Sólidos Solubles

Los sólidos solubles de la fruta se determinaron mediante el método oficial 932,12 (AOAC, 2005). La medición se realizó directamente sobre la muestra triturada utilizando un

refractómetro digital AR200 (Reichert Instruments GmbH, Nueva York, Estados Unidos). El resultado se expresó como gramos de sólidos por cada 100 gramos fruta fresca ($^{\circ}$ Brix).

3.2.1.1.5. Antocianinas Monoméricas Totales (AMT)

Obtención de los extractos:

Se preparó un extracto etanólico (EE) por homogeneización de 3,0 g de fruta triturada en 35 ml de etanol acidificado (HCl 1,5 N, 5%), luego se mezcló constantemente durante 15 minutos utilizando un agitador magnético F20530162 (Velp Scientifica SRL, Monza y Brianza, Italia) y por último se filtró a vacío. El proceso de extracción se realizó dos veces más utilizando 10 y 5 ml de etanol acidificado, respectivamente. Los extractos obtenidos se combinaron en un matríz aforado de 50 ml y se llevó a volumen con etanol acidificado. Los extractos se almacenaron a -18°C hasta su uso.

Cuantificación del contenido de AMT:

El contenido de AMT se determinó mediante el método del pH diferencial a partir de los EE (Giusti y Wrolstad, 2001). Aproximadamente 0,5 ml de EE se llevaron a pH 1,0 con el agregado de 1,5 ml de buffer cloruro de potasio 0,025M. Se procedió de la misma forma con otra alícuota de EE que se llevó a pH 4,5 utilizando un buffer acetato de sodio 0,4M. Luego de incubar durante 15 minutos en la oscuridad y a temperatura ambiente se midió la absorbancia a 510 y 700 nm. La diferencia de absorbancia entre los valores de pH y longitudes de onda se calculó empleando la **Ecuación 3**.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.5} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5} \quad \text{Ec. 3}$$

El contenido de AMT se calculó a partir de la **Ecuación 4**.

$$AMT = \frac{(A \times PM \times FD \times 1000)}{\epsilon \times PO} \quad \text{Ec. 4}$$

Donde:

A: absorbancia.

PM: peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449,2 g mol⁻¹).

FD: factor de dilución.

ϵ : absortividad molar de la cianidina-3-glucósido (26,900 L cm⁻¹ mol⁻¹).

PO: paso óptico (1 cm).

Los resultados se expresaron como mg de cianidina-3-glucósido por 100 g de fruta fresca (mg cian-3.glu/100 g f.f.).

3.2.1.1.6. *Compuestos Polifenólicos Totales (CPT)*

Obtención de los extractos:

Se preparó un Extracto Metanólico (EM) pesando 2,5 g de fruta triturada que luego se mezclaron con 7,5 ml de metanol en un agitador magnético durante 3 minutos, y por último se filtró a vacío. La extracción se realizó dos veces más utilizando el mismo procedimiento. Los extractos obtenidos se combinaron en un matríz aforado de 25 ml y se llevó a volumen con metanol. Los extractos se almacenaron a -18°C hasta su uso.

Cuantificación del contenido de CPT:

El contenido de CPT se determinó usando el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y Rossi (1965) con algunas modificaciones. Se mezclaron 100 µl de EM con 900 µl de agua, 100 µl de reactivo Folin–Ciocalteu, y 600 µl de carbonato de sodio al 20%. Luego de incubar durante 30 minutos a 40°C, se midió la absorbancia a 765 nm. Se utilizaron soluciones de ácido gálico entre 0-0,3 mg/ml para construir la curva de calibración ($r^2= 0,9977$). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 gramos de fruta fresca (mg EAG/100 g f.f.).

3.2.1.1.7. *Capacidad Antioxidante (CA)*

Obtención de los extractos:

Los extractos se prepararon según el procedimiento descrito en el ítem 3.2.1.1.6.

Cuantificación de la CA:

La CA se determinó mediante el método TEAC (Capacidad Antioxidante en Equivalentes Trolox) propuesto por Re y col. (1999) usando ácido 2,2-azinobis-[3-etilbenzotiazolina]-6-sulfónico (ABTS) para producir el radical libre catiónico (ABTS^{•+}). El ABTS^{•+} se generó por reacción entre 0,0194 g de reactivo ABTS 7mM y 0,0033 g persulfato de potasio 2,45mM con 5 ml de agua bidestilada. La solución se incubó durante 16 horas en oscuridad y a temperatura ambiente. Posteriormente se diluyó en buffer fosfato 7mM, de pH 7,4 hasta una absorbancia de $1,00 \pm 0,01$ a 734 nm. Antes de realizar el análisis de la CA, los EM se diluyeron 1/20 (v/v) y una

alícuota de 0,1 ml de esta dilución se mezcló con 1,9 ml de solución de ABTS⁺⁺ y se incubó por 30 minutos a 25°C. Luego se midió la absorbancia a 734 nm. Se utilizaron soluciones de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico) entre 0,02-0,12 mg/ml para construir la curva de calibración. Dada la inestabilidad del reactivo ABTS⁺⁺, la curva de calibración se realizó al inicio de cada medición. Los resultados se expresaron como milimoles de Trolox por Kg de fruta fresca (mmol Trolox/Kg f.f.).

Para la determinación del contenido de compuestos bioactivos (AMT y CPT) y la CA de la fruta se utilizó un espectrofotómetro ultravioleta-visible Jenway 6505 (Burlington, Nueva Jersey, Estados Unidos).

3.2.1.2. *Caracterización de los caramelos liofilizados*

3.2.1.2.1. *Evaluación de aceptabilidad sensorial*

Para evaluar cualitativamente la aceptabilidad de los caramelos de grosella negra, se realizó un estudio sensorial cualitativo empleando una técnica proyectiva asociativa denominada *asociación de palabras*. La asociación de palabras es la técnica más conocida, en la que a los encuestados se les presenta una palabra, una oración o una lista de palabras, y se les pide que respondan a cada una con lo primero que viene a sus mentes.

Se trabajó con un total de 222 consumidores, a los cuales se les proveyó de una encuesta vía e-mail y/o redes sociales (**Planilla 1 - Anexo**). Todas las palabras, descripciones y asociaciones provistas por los participantes mediante sus respuestas fueron consideradas para el análisis y para determinar su frecuencia. Los datos se analizaron utilizando el programa Word Art y se creó una nube de palabras. Word Art es un programa online que permite crear nubes de palabras con facilidad (<https://wordart.com>). Por otra parte, las asociaciones se agruparon en

diferentes categorías. El proceso de agrupamiento se realizó individualmente por tres investigadores, considerando su interpretación personal y el significado de las palabras. Las categorías finales y sus nombres se establecieron por consenso entre los tres investigadores considerando sus clasificaciones independientes y la discusión entre ellos (Guerrero y col. 2010). Finalmente, se determinó el porcentaje de las palabras mencionadas para cada categoría identificada.

3.2.1.2.2. *Propiedades texturales*

3.2.1.2.2.1. *Análisis instrumental*

La evaluación de textura instrumental se realizó utilizando una máquina universal de testeo Instron 3342 (Instron Corporation, Massachusetts, Estados Unidos) conectada por medio de una computadora al software Instron Bluehill Material Testing Software. Se obtuvieron las curvas fuerza-deformación mediante un ensayo de punción. Se utilizó una punta de penetración de 3 mm de diámetro de punta roma que simula la fuerza ejercida por un molar, y la prueba finalizó cada vez que la muestra era completamente atravesada. Las condiciones de trabajo utilizadas fueron: velocidad de cabezal: 0,5 mm/seg; intervalo de tiempo (captura de datos): 100 ms; rango de carga: 500 N.

A partir de las curvas de fuerza-deformación obtenidas, como se muestra en la **Figura 8**, se obtuvieron los siguientes parámetros:

Fuerza Máxima ($F_{\text{máx}}$): indica la resistencia del producto a la fractura.

Distancia correspondiente a la fuerza máxima ($\Delta F_{\text{máx}}$): indica la deformación de la muestra en el punto de fuerza máxima.

Energía o trabajo (W): indica la energía requerida durante la ruptura del material.

3.2.1.2.2.2. *Análisis sensorial*

Para describir las propiedades sensoriales de los caramelos liofilizados se aplicó el método de perfiles sensoriales (ISO 13299, 2003). Este método consistió en dos fases, una fase inicial que permitió seleccionar y capacitar a los evaluadores para integrar un panel de perfil de textura, y una fase posterior que se focalizó en el análisis de las muestras de los caramelos liofilizados.

Se trabajó con 20 asesores (13 mujeres y 7 varones; 25-65 años de edad), todos ellos miembros del personal de la Facultad de Bromatología de la Universidad Nacional de Entre Ríos. La evaluación y selección de los integrantes del panel de perfil de textura se realizó siguiendo los procedimientos estandarizados establecidos por la norma (ISO 8586, 2012).

La evaluación sensorial se llevó a cabo en las instalaciones de la Facultad de Bromatología – Universidad Nacional de Entre Ríos, en una sala acondicionada adecuadamente, con una temperatura agradable y libre de interferencias externas que pudieran provocar distracción de los asesores. La sala estaba formada por 5 cabinas cuyos gabinetes se encontraban aislados para evitar la interacción entre los diferentes asesores.

a) Primera fase: selección y entrenamiento de los asesores

Fase de selección

Al momento de conformar un panel entrenado es importante tener en cuenta el interés y la disponibilidad de tiempo de los participantes, como así también sus hábitos alimenticios y estado de salud. No hay reglas fijas en cuanto a las pruebas y criterios de selección, para esta primera fase se tomaron los criterios establecidos por Hough (2011) quien propone:

- Tener tres veces más candidatos a los necesarios para el panel.

- Asegurarse que los candidatos comprendan la prueba y la planilla.
- Repetir las pruebas para determinar la reproducibilidad de las respuestas del candidato.

Para efectuar la selección de cada una de las personas interesadas en conformar el panel sensorial de textura se siguieron los lineamientos propuestos en la Norma ISO 8586, la cual incluye la metodología que se describe a continuación:

Curso teórico:

Previo al comienzo de la realización de las pruebas de selección, se dictó una charla con contenidos teóricos. El objetivo de la misma fue explicarles a los candidatos qué es la evaluación sensorial, cuál es su importancia, el compromiso que debe asumir el evaluador, y el fundamento de cada prueba de selección a realizar.

Encuesta personal:

A fin de recabar información y establecer la presencia de factores de importancia en la etapa de selección tales como: estado de salud y hábitos alimenticios como así también posibles incompatibilidades y/o alteraciones en la percepción, poniendo atención en si los participantes utilizaban prótesis dentales y/o tenían problemas del sistema masticatorio dado que se trata de un panel de textura (Meilgaard y col., 2006). La **Planilla 2 – Anexo** muestra la encuesta utilizada en la selección de los miembros del panel de perfil de textura.

Reconocimiento de gustos básicos:

Esta prueba tuvo como objetivo evaluar la habilidad de los asesores para reconocer los cuatro gustos básicos y sus umbrales de concentración (ISO 3972, 2011; Jellinek, 1985). Se evaluó la sensibilidad de los asesores frente al gusto dulce (sacarosa), salado (cloruro de sodio), amargo (cafeína) y ácido (ácido cítrico).

Cada asesor recibió cuatro vasos correctamente rotulados conteniendo en cada uno de ellos soluciones patrones de los gustos básicos mencionados anteriormente a los efectos de poder reconocer y familiarizarse con los mismos antes de evaluar las soluciones incógnitas. Posteriormente se le entregaron 10 muestras incógnitas de las soluciones patrones en las concentraciones indicadas en la metodología de la prueba junto con un formulario con la consigna a desarrollar (**Planilla 3 - Anexo**). La prueba se realizó en dos sesiones separadas y consistió en evaluar cada gusto básico tomando pequeños sorbos de las muestras, distribuyéndolos por toda la lengua y el paladar sin tragar.

Como criterio de aprobación se definió un límite inferior de 65% de acierto en las dos series de pruebas de gustos básicos (Hough y col., 1994).

Resultados: menor a 65%: desaprobado (D), mayor a 65%: aprobado (A)

Prueba triangular:

Esta prueba tuvo como objetivo determinar la sensibilidad de los asesores para detectar pequeñas diferencias entre pares de alimentos muy similares (ISO 4120, 2004; Meilgaard y col., 2006).

Cada asesor recibió tres triángulos constituidos por pares de alimentos (**Planilla 4a – Anexo**) presentados bajo las mismas condiciones para evitar diferencias de apariencia, y por cada triángulo, un formulario con la consigna a desarrollar (**Planilla 4b – Anexo**). La prueba se

realizó en cuatro sesiones y consistió en evaluar la capacidad de los asesores para detectar el alimento diferente.

Como criterio de aprobación se definió un límite inferior de 33,3% de aciertos, es decir la probabilidad de acertar 1 de los 3 triángulos analizados (Hough y col., 1994).

Resultados: menor a 33,3%: desaprobado (D), mayor a 33,3%: aprobado (A).

Prueba de ordenamiento de colores:

Esta prueba tuvo como objetivo evaluar la capacidad de los asesores para detectar diferencias entre varias muestras según la intensidad de un atributo (color). Generalmente esta prueba se utiliza para evaluar si existen diferencias entre muestras pero no permite determinar el grado de diferencia existente entre las mismas (ISO 8587, 2006).

Cada asesor recibió una serie de 8 vasos ordenados aleatoriamente conteniendo diferentes diluciones de un jugo de manzana. La **Planilla 5a - Anexo** muestra las diluciones utilizadas en la prueba de evaluación de color. La prueba consistió en ordenar los vasos conteniendo el jugo de menor a mayor intensidad de color, completando la **Planilla 5b – Anexo**.

Como criterio de aprobación se definió un 100% de acierto (Hough y col., 1994).

Resultados: menor a 100%: desaprobado (D), 100%: aprobado (A)

Prueba de reconocimiento de olores:

Esta prueba tuvo como objetivo determinar la aptitud de los asesores para identificar y describir productos odoríferos (ISO 5496, 2006). Cada asesor recibió una serie de 8 tubos conteniendo soluciones preparadas a partir de diferentes esencias odoríferas (**Planilla 6a – Anexo**). La prueba consistió en evaluar cada una de las soluciones a los efectos de percibir e indentificar su olor, completando la **Planilla 6b – Anexo**.

Para la interpretación de los resultados se estableció la siguiente escala: A: resultado correcto, B: asociación correcta, C: asociación general correcta o descripción vaga, y D: resultado incorrecto o insuficiente.

Como criterio de aprobación se definió un 100% de acierto de respuestas A y B (Hough y col., 1994).

Resultados: menor a 100% de A y B: desaprobado (D), 100% de A y B: aprobado (A)

Prueba de perfil sensorial:

Esta prueba tuvo como objetivo evaluar los atributos de apariencia, sabor, textura visual y manual de un alimento de referencia y establecer los atributos y descriptores que caracterizan al mismo. En esta prueba cada asesor recibió 3 mayonesas de diferentes marcas, una planilla que contenía los atributos a evaluar con su definición (**Planilla 7a**) y otra planilla que debía completar con los descriptores propuestos para cada atributo (**Planilla 7b**).

Los resultados se analizaron por ANDEVA y para cada descriptor se estableció como criterio de aprobación toda aquella respuesta coincidía con el orden promedio de todo el grupo (Hough, 2004).

Resultados: discrepancia con respuesta promedio: desaprobado (D), coincidencia con respuesta promedio: aprobado (A).

Puntaje Final:

La selección de los evaluadores se realizó contabilizando las respuestas aprobadas (A) y desaprobadas (D) en cada prueba. Los mejores evaluadores fueron aquellos con menor cantidad de (D) en el puntaje total. Una vez analizados los resultados de la fase de selección,

nueve asesores (6 mujeres y 3 hombres) fueron los que cumplieron correctamente con las condiciones necesarias para pasar a la fase de entrenamiento.

Fase de entrenamiento

El entrenamiento se llevó a cabo durante un período de 6 meses con una sesión por semana. El objetivo de esta fase fue desarrollar una memoria sensorial en cada uno de los asesores del panel, utilizando vocabulario específico y escalas de referencia para describir la textura.

Primera parte: consistió en un curso teórico cuyo objetivo fue instruir a los miembros del panel respecto del vocabulario específico (**Planilla 8 - Anexo**), qué son las escalas de referencia y el método de entrenamiento utilizados necesarios para evaluar las características texturales de las muestras.

Esta etapa se realizó en mesa redonda, a fin de facilitar la comprensión y desarrollar un vocabulario común estandarizado entre los diferentes asesores del panel sensorial.

Segunda parte: consistió en la presentación y reconocimiento de las escalas de referencia. Se utilizaron escalas para los atributos dureza, adhesividad al paladar, fracturabilidad y cohesividad, adaptadas por Hough y Contarino (1994), y la escala de crocancia desarrollada por Farroni y col. (2015) para alimentos argentinos (**Planillas 9 a 13 – Anexo**).

El objetivo de esta etapa fue lograr que los miembros del panel entrenado se familiaricen con los alimentos de referencia que conforman cada una de las escalas y aprendan a reconocer la sensación percibida en cada alimento con el valor correspondiente de la escala.

b) Segunda fase: evaluación de los caramelos liofilizados

Una vez concluido el entrenamiento del panel, los asesores llevaron a cabo el análisis sensorial de los caramelos liofilizados frescos correspondientes a F1 y F2. Cada asesor recibió las muestras en bolsas individuales plásticas con un código de 3 dígitos y por cada atributo recibió una planilla conteniendo una escala semiestructurada con anclas acompañadas de los alimentos de referencia correspondientes. Las **Planillas 14 a 18 - Anexo** se utilizaron en el estudio de los caramelos liofilizados. Los asesores realizaron la evaluación en cabinas individuales, donde debían sacar cada muestra de la bolsa y degustarla a fin de evaluar las propiedades de dureza, adhesividad al paladar, fracturabilidad, cohesividad y crocancia valorando la intensidad de cada atributo y calificándolos dentro de la escala semiestructurada correspondiente

*3.2.1.2.3. Propiedades funcionales**3.2.1.2.3.1. AMT, CPT y CA*

Las determinaciones de antocianinas monoméricas totales (AMT), compuestos polifenólicos totales (CPT) y capacidad antioxidante (CA) se realizaron empleando las metodologías descritas previamente en la caracterización de la materia prima (ítem 3.2.1.1.). En el caso de los caramelos liofilizados, los resultados se expresaron en base seca (b.s.). Adicionalmente, para la preparación de los EE y EM se tomó la misma masa de muestra que la utilizada para la caracterización de la fruta fresca, pero en lugar de fruta triturada en este caso se emplearon caramelos liofilizados.

3.2.1.2.3.2. CA luego de la digestión *in vitro*

Digestión *in vitro*

Se realizó un ensayo de digestión *in vitro* analizando las fases oral, gástrica e intestinal. En todos los casos, las muestras se incubaron a 37°C en una estufa Function Line 7000 ((Heraeus, Hesse, Alemania), bajo constante movimiento en un agitador orbital Vicking M-23 (Vicking, Buenos Aires, Argentina) a 100 rpm. La digestión *in vitro* se realizó utilizando el método estandarizado propuesto por Minekus y col. (2014), como se describe a continuación:

Fase oral: 5,00 g de muestra se mezclaron con 3,5 ml de una solución de fluido salivar simulado (FSS). Luego se agregaron 0,50 ml de una solución de α -amilasa salivar de 1500 U ml⁻¹, 25 μ l de CaCl₂ 0,3 M y 975 μ l de agua destilada. El tiempo de digestión fue de 2 minutos.

Fase gástrica: al bolo proveniente de la fase oral se le adicionaron 7,5 ml de una solución de fluido gástrico simulado (FGS), 1,6 ml de una solución de pepsina de 25000 U ml⁻¹ y 5,0 μ l CaCl₂ 0,3 M. Luego se agregó HCl 1M para llevar el pH a 3,0 y finalmente se completó el volumen con agua destilada para alcanzar 10 ml totales. El tiempo de digestión de esta fase fue de 2 horas. El pH se ajustó a lo largo del tiempo con HCl 1M.

Fase intestinal: el producto de la fase gástrica se mezcló con 11 ml de solución de fluido intestinal simulado (FIS), 5,0 ml de una solución de pancreatina de 800 U ml⁻¹, 2,5 mL de una solución de sales biliares y 40 μ l de CaCl₂ 0,3 M. Luego se llevó el pH a 7,0 adicionando NaOH 0,1M y finalmente se completó el volumen con agua destilada para alcanzar 20 ml totales. El tiempo de digestión fue de 2 horas.

Luego de la digestión *in vitro*, las muestras se centrifugaron a 10000 rpm a 4°C durante 10 minutos. Finalmente la fracción soluble “sobrenadante” y la fracción insoluble “residuo” se

separaron y almacenaron a -18°C . La fracción insoluble se liofilizó empleando las mismas condiciones mencionadas en el ítem 3.1.4.

Determinación de la CA luego de la digestión

La CA se midió en la fracción soluble fresca y en la fracción insoluble liofilizada provenientes de la digestión *in vitro*.

Fracción soluble: la determinación de la CA se realizó usando el método TEAC descrito anteriormente en el ítem 3.2.1.1.7.

Fracción insoluble: la determinación de la CA se realizó utilizando el procedimiento QUENCHER descrito por Gökmen y col. (2009) con algunas modificaciones. Se pesó 1,00 mg de fracción liofilizada y se le adicionaron 10 ml de reactivo ABTS. Luego se mezcló en un vórtex durante 2 minutos y se centrifugó a 10000 rpm durante 3 minutos para facilitar la reacción con el reactivo ABTS. Luego de 30 minutos se midió la absorbancia a 734 nm. Los resultados se expresaron en milimoles de Trolox por Kg de materia seca (mmol Trolox/Kg m.s.).

3.2.1.2.4. *Propiedades fisicoquímicas*

Se realizaron las siguientes determinaciones: actividad de agua, humedad, temperatura de transición vítrea e isoterma de sorción de agua.

3.2.1.2.4.1. *Actividad de agua (a_w)*

La a_w se determinó mediante el método oficial 925.09 (AOAC, 2005). Las medidas se realizaron a $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}$ empleando un higrómetro de punto de rocío Aqualab 3TE (Decagon

Devices, Washington, Estados Unidos) con sensibilidad de $\pm 0,003$, el cual se calibró previamente con soluciones saturadas de sales.

3.2.1.2.4.2. Humedad

El contenido de agua se determinó por el método de Karl Fischer (KF). Se empleó un titulador volumétrico Mettler Toledo DL 31 (Mettler Toledo, Uster, Suiza). Se aplicó la técnica de un solo componente con el reactivo Hydranal Titrant Composite 5 (Riedel-de Haën, Darmstadt, Alemania). Se utilizó metanol puro como solvente. Las mediciones se realizaron a 25°C. La masa de muestra fue de aproximadamente 10 mg y las mediciones se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como gramos de agua por cada 100 g en base seca (g H₂O/100 g b.s.).

3.2.1.2.4.3. Acidez total

La acidez total se determinó utilizando la metodología descrita en el ítem 3.2.1.1.3. Los resultados se expresaron en miligramos de ácido cítrico por cada 100 g en base seca (mg ácido cítrico/100 g b.s.).

3.2.1.2.4.4. Temperatura de transición vítrea

La temperatura de transición vítrea (T_g) se midió por calorimetría diferencial de barrido utilizando un calorímetro DSC 822 (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Suiza). El equipo se calibró con indio, plomo y zinc. Todas las mediciones se realizaron con una rampa de calentamiento entre -100 y 70°C y -100 y 120°C para F1 y F2, respectivamente, a una velocidad de barrido de 10°C/min. Se empleó una cápsula vacía herméticamente sellada como referencia, y para la

medición de la T_g se utilizaron aproximadamente 10 mg de muestra. Los termogramas se evaluaron utilizando el programa Mettler Star[®] Thermal Analysis System versión 3.1 software (Mettler Toledo AG).

3.2.1.2.4.5. Isotermas de sorción de agua

Para la construcción de las isotermas de sorción de agua, los caramelos liofilizados se colocaron en recipientes conteniendo soluciones saturadas de diferentes sales que proveen distintas humedades relativas (HR): cloruro de litio (HR= 11%), acetato de potasio (HR= 22%), cloruro de magnesio (HR= 33%), carbonato de potasio (HR= 43%) y nitrato de magnesio (HR= 52%) (Greenspan, 1977). La humidificación de las muestras se llevó a cabo a 25°C durante un lapso de 14 días hasta alcanzar peso constante. Posteriormente a cada muestra se le determinó el contenido de agua empleando la metodología descrita en el ítem 3.2.1.2.2.2.

El ajuste de las isotermas de sorción de agua se realizó a partir de los valores experimentales, utilizando la ecuación de Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) (**Ecuación 5**).

$$m = \frac{(m_0 \times C \times K \times a_w)}{(1 - C \times K \times a_w) \times (1 - C \times K \times a_w + C \times K \times a_w)} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

m: contenido de agua en base seca (g H₂O/100 g b.s.).

m_0 : contenido de agua límite de hidratación cinética relacionada con la adsorción en la primera capa (g H₂O/100 g b.s.).

a_w : actividad de agua expresada como HR/100.

C: constante de Guggenheim, relacionada con el calor de sorción del agua a la primera capa de sitios activos del sólido.

K: factor de corrección de las propiedades de las moléculas de agua de la multicapa respecto del agua libre.

3.3. Estabilidad de los caramelos liofilizados durante el almacenamiento

Para estudiar la estabilidad de los caramelos liofilizados a base de grosella se estableció un período de almacenamiento de 6 meses. Si bien es conocido que los productos liofilizados pueden tener una larga vida útil (Ciużyńska y Lenart, 2011), en el caso particular de los caramelos desarrollados en el presente trabajo se eligió este tiempo de estudio considerando que se trata de productos sin el agregado de aditivos conservantes, diseñados para ser almacenados en condiciones ambientales como es el caso de las golosinas tradicionales que se encuentran en el mercado. A lo largo del estudio de estabilidad, los caramelos liofilizados se envasaron y almacenaron como ya se describió en el ítem 3.1.5.

La evaluación instrumental de textura, los ensayos de las propiedades fisicoquímicas y funcionales se realizaron cada mes durante todo el almacenamiento. Por otro lado, los estudios sensoriales con consumidores y con jueces entrenados; y de análisis de imágenes se ensayaron muestras a tiempo inicial ($t=0$), 3 meses ($t=3$) y 6 meses ($t=6$).

3.3.1. Estabilidad de las propiedades sensoriales

A fin de evaluar las variaciones en las propiedades sensoriales y la aceptabilidad de los caramelos liofilizados se realizaron estudios sensoriales con consumidores. El panel sensorial estuvo conformado por 87 asesores, con edades comprendidas entre entre 18 y 65 años, incluyendo alumnos, personal docente y no docente de la Facultad de Bromatología de la Universidad Nacional de Entre Ríos. Se emplearon las mismas cabinas para el análisis sensorial descriptas previamente.

En esta fase se evaluaron un total de 6 muestras, 3 correspondientes al caramelo con miel-isomalta (F1) y 3 al caramelo elaborado con isomalta-estevia (F2). Todas las muestras se

identificaron con un código ternario elegido al azar con el objetivo de no evidenciar los tratamientos realizados.

En la prueba del nivel de intensidad de atributos y en la prueba de satisfacción de atributos se evaluaron los siguientes atributos de los caramelos liofilizados: dureza, adhesividad al paladar, crocancia, gusto dulce, gusto ácido y color.

3.3.1.1. *Prueba del nivel de intensidad de atributos*

Las pruebas del nivel de intensidad de atributos consisten en solicitar a los consumidores que describan la intensidad percibida de cada atributo como muy intenso, poco intenso o lo justo de acuerdo a la representación que cada uno posee del ideal. (Lawles y Heymann, 1998; Bruzzone, 2014).

Cada asesor recibió las muestras a analizar, agua de mesa como neutralizante y un formulario con las instrucciones. Para cada atributo, los asesores debían indicar el nivel de intensidad percibido. Se utilizó una escala de 5 puntos que fue desde el nivel *muy bajo* a *muy alto* (**Planilla 19a – Anexo**).

3.3.1.2. *Prueba de satisfacción*

Las pruebas de satisfacción consisten en solicitar a los consumidores que describan la sensación que les produce un atributo en particular o el producto globalmente. Una vez identificado el nivel de intensidad de los atributos característicos de un producto, es fundamental evaluar la satisfacción de los mismos (Lawles y Heymann, 2010).

3.3.1.2.1. Prueba de satisfacción de atributos

La prueba de satisfacción de atributos usualmente se utiliza para comprender por qué gustan o disgustan en particular cada uno de los atributos a evaluar. En este sentido, esta prueba es útil para guiar los esfuerzos de desarrollo de los productos y así aumentar la aceptabilidad del consumidor (Watts y col., 1992).

Cada asesor recibió las muestras a analizar, agua de mesa como neutralizante y un formulario con las instrucciones para la evaluación sensorial. Para cada atributo, los asesores debían indicar el grado de satisfacción percibido. Se utilizó una escala hedónica de 7 puntos que fue desde la categoría *me disgusta mucho* a *me gusta mucho* (**Planilla 19b – Anexo**)

3.3.1.2.2. Prueba de satisfacción global

La prueba de satisfacción global se emplea para determinar el grado en que gusta o disgusta un producto por parte de los consumidores, e indica el uso real del producto (compra y consumo) (Watts y col., 1992).

Cada asesor recibió las muestras a analizar, agua de mesa como neutralizante y un formulario con las instrucciones para la evaluación sensorial. Los asesores debían indicar el grado de satisfacción global de cada caramelo considerando integralmente los atributos analizados anteriormente. Se utilizó una escala hedónica de 7 puntos que va desde la categoría *me disgusta mucho* a *me gusta mucho* (**Planilla 19c – Anexo**)

3.3.2. Estabilidad de las propiedades texturales

Dada la complejidad del atributo textura, en el presente trabajo se decidió realizar una evaluación integral, incluyendo análisis instrumentales, sensoriales y de imágenes. Así, se

realizaron ensayos de punción, análisis con un panel sensorial entrenado, y análisis de imágenes mediante uso de microscopía de barrido electrónico (SEM) y la matriz de co-ocurrencia del nivel de gris (GLCM). En los tres ensayos realizados se estudiaron caramelos almacenados a 25°C por distintos tiempos hasta 6 meses.

3.3.2.1. *Análisis instrumental*

La evaluación de textura instrumental se realizó utilizando el método descrito en el ítem 3.2.1.2.3.1.

3.3.2.2. *Análisis sensorial*

La evaluación de textura instrumental se realizó utilizando el método descrito en el apartado 3.2.1.2.3.2.

3.3.2.3. *Análisis de imágenes*

La evaluación de textura por imágenes se realizó utilizando conjuntamente la microscopía de barrido electrónico (SEM) y la matriz de co-ocurrencia del nivel de gris (GLCM).

a) Adquisición de imágenes: Microscopía de barrido electrónico (SEM)

Las muestras se colocaron en un soporte de aluminio conteniendo una cinta adhesiva bifaz de carbón conductor como apoyo y se cubrieron con nanopartículas de oro, manteniéndolas en un desecador al vacío hasta su utilización. La adquisición de imágenes se llevó a cabo en un microscopio SEM Zeiss Supra 40 (Zeiss, Oberkochen, Alemania) utilizando las magnificación de

250X. Las imágenes fueron tomadas con el detector dentro de la lente, utilizando un voltaje de aceleración de 3,00 Kv, manteniendo constante el brillo y el contraste. Estos parámetros son importantes y deben ser controlados durante la adquisición de imágenes (Pieniazek y col., 2018). Por cada magnificación se capturaron 10 imágenes, las cuales se almacenaron como mapas de bits en una escala de grises con valores de brillo entre 0-255 para cada píxel que constituye la imagen.

b) Análisis de imágenes: Matriz de co-ocurrencia del nivel de gris (GLCM)

El análisis de imágenes y la obtención de los parámetros texturales se realizó mediante el uso de una matriz de co-ocurrencia de la escala de gris (GLCM). El tamaño de cada muestra (región de interés= 122 x 122 píxeles) fue el mismo para todas las imágenes evaluadas. La matriz GLCM considera la relación espacial entre dos píxeles, un *pixel de referencia* (*i*) y un *pixel vecino* (*j*). A partir de la matriz GLCM y del software MATLAB 8,4 (The Math Works Inc., Massachusetts, Estados Unidos) se pueden calcular distintos parámetros texturales (ítem 1.3.2.3.). En el presente trabajo se utilizaron los parámetros contraste y energía para el estudio de las propiedades texturales de los caramelos liofilizados:

Contraste (CON): indica la dureza de la muestra. Cuanto mayor es el valor de CON la muestra presenta mayor dureza.

Energía (ASM): indica la uniformidad de la muestra. Cuanto mayor es ASM más uniforme es la muestra.

A continuación se presentan las ecuaciones que se utilizaron para el cálculo de CON (**Ecuación 6**) y ASM (**Ecuación 7**).

$$CON = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{n-1} (i-j)^2 P d, \theta(i, j) \quad \text{Ec. 6}$$

$$ASM = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{n-1} P d, \theta(i-j)^2 \quad \text{Ec. 7}$$

Donde:

P: probabilidad de co-ocurrencia de valores de gris de i y j .

d : distancia a la que se produce la co-ocurrencia entre i y j .

θ : dirección en la que se produce la co-ocurrencia entre i y j .

i : pixel de referencia.

j : pixel vecino.

3.3.3. Estabilidad de las propiedades fisicoquímicas y funcionales

3.3.3.1. Propiedades fisicoquímicas

A los efectos de poder determinar el comportamiento de los caramelos liofilizados, se decidió realizar diferentes determinaciones fisicoquímicas cada un mes a lo largo del período establecido. Así, cada mes se tomaron muestras y se realizaron las siguientes determinaciones: humedad, actividad de agua y acidez. Se emplearon las metodologías descritas previamente en la caracterización del caramelo (ítem 3.2.1.2.).

3.3.3.2. Propiedades funcionales

Al igual que en el caso de las propiedades fisicoquímicas, los ensayos se realizaron mensualmente evaluando los compuestos bioactivos (AMT y CPT) y la capacidad antioxidante (CA) de los caramelos liofilizados, utilizando las metodologías descritas en el ítem 3.2.1.2.

3.4. Análisis estadístico

Los resultados de la caracterización de la materia prima y los caramelos liofilizados, como así también los obtenidos en el estudio de estabilidad de los caramelos durante el almacenamiento se analizaron estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias significativas, aplicando la prueba de LSD Fisher con un nivel de significancia de 5% ($p < 0,05$).

Además en el estudio de estabilidad durante el almacenamiento se realizó una integración de los parámetros texturales empleando un análisis de componentes principales (PCA) para comparar de manera descriptiva las variables estudiadas en los caramelos liofilizados.

Por otra parte, a fin de estimar la vida útil de los caramelos liofilizados se realizó un análisis de penalidades mostrando la evolución de los diferentes atributos sensoriales en función de la aceptabilidad de los consumidores.

Todos los resultados fueron analizados utilizando el software Infostat v.2008. (Di Rienzo y col., 2008).



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. A.

CARACTERIZACIÓN

DE LA

MATERIA PRIMA

Y DE LOS

CARAMELOS

LIOFILIZADOS

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la materia prima

La grosella negra se caracteriza por presentar una gran variabilidad en su composición, que en gran medida se debe a muchos factores tales como la variedad de la fruta, el grado de madurez, las condiciones de cultivo, y el tiempo y condiciones de almacenamiento (Mattila y col., 2011; Rumpunen y col., 2012; Vagiri, 2012).

La **Tabla 7** muestra algunas propiedades fisicoquímicas estudiadas para caracterizar la grosella negra (*Ribes nigrum L.*, variedad Titania) empleada como materia prima en el desarrollo de los caramelos liofilizados.

Tabla 7 - Caracterización fisicoquímica de la grosella negra variedad Titania. AMT: antocianinas monoméricas totales; CPT: contenido de polifenoles totales; CA: capacidad antioxidante

Propiedades de la fruta	Contenido (%)
Contenido de agua (g H ₂ O/100 g f.f.)	74,1 ± 2,6
Sólidos soluble totales (°Brix a 20°C)	16,7 ± 0,3
Acidez total (mg ácido cítrico/100 g f.f.)	3,02 ± 0,02
pH	2,83 ± 0,01
AMT (mg cian-3-glu/100 g f.f.)	170,41 ± 0,01
CPT (mg EAG/100 g f.f.)	288,05 ± 0,01
CA (mmol trolox/Kg f.f.)	21,5 ± 1,1

Valores expresados como la media ± desviación estándar.

Los resultados obtenidos fueron, en algunos casos, similares a los informados por otros autores. Rubinskiene y col. (2005) estudiaron 9 variedades de grosellas negras (diferentes a la

variedad Titania) e informaron un rango de sólidos solubles totales entre 14,0 - 16,1 °Brix y valores de acidez total entre 2,30 - 3,15 mg de ácido cítrico/100 g para la grosella negra fresca. Nour y col. (2011) realizaron una caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de grosellas negras reportando los siguientes rangos: humedad (76,8 - 82,1%), sólidos solubles (14,0 - 15,6 °Brix), acidez total (1,35 - 1,68 mg de ácido cítrico/100 g). Stéger-Maté y col. (2011) reportaron un contenido de agua de 79,6%, y Djordjevic y col. (2013) informaron un contenido de sólidos solubles totales de 13,3 °Brix, en ambos casos para grosellas negras de la variedad Titania.

En cuanto al contenido de compuestos bioactivos, Nour y col. (2011) informaron un contenido de antocianinas monoméricas totales (AMT) entre 116,1 - 287,8 mg cian-3-glu/100 g para diferentes variedades de grosellas negras. Djordjevic y col. (2013) estudiaron grosellas negras de variedad Titania, ellos reportaron un contenido de antocianinas de 52,8 mg cian-3-glu/100 g; sin embargo utilizaron un método diferente para la determinación del contenido de AMT. Por otra parte, estos autores informaron valores de contenido de compuestos polifenólicos totales (CPT) de 137,7 mg ácido gálico/100 g. Flores y Ruíz del Castillo (2016) estudiaron dos variedades de grosellas negras (Ben Alder y Ben Hope) y reportaron valores de capacidad antioxidante (CA) similares a los obtenidos en este trabajo.

4.2. Caracterización de los caramelos liofilizados

Si bien es conocido que la deshidratación es una alternativa para aumentar la estabilidad de los alimentos, por lo general durante su aplicación se producen reacciones y cambios que pueden alterar significativamente sus características químicas, físicas y nutricionales en comparación con las del producto fresco. La magnitud de los cambios dependerá del tipo de alimento, el método de secado utilizado y la intensidad del tratamiento. Así por ejemplo, el secado convectivo ocasiona importantes problemas en materiales térmicamente sensibles;

mientras que en la liofilización, el tipo de congelación aplicada y el tiempo total del proceso son factores que influyen en la calidad final del producto (Haque y Adhikari, 2015; Guiné, 2018). De acuerdo a lo establecido por diferentes autores, la congelación es el principal parámetro crítico, influye sobre la efectividad del proceso de liofilización propiamente dicho y sobre las propiedades finales del producto. Shofian y col (2011) estudiaron el efecto de la liofilización sobre el contenido de compuestos antioxidantes de diferentes frutas tropicales tales como melón, papaya y sandía y reportaron que cuando la congelación se realiza de manera lenta (0,1°C/min) se producen pérdidas significativas del contenido total de compuestos polifenólicos en los productos liofilizados y también establecieron que en las mencionadas condiciones las enzimas de las frutas mantienen su actividad causando degradación de algunos compuestos fenólicos.

En este trabajo se desarrollaron caramelos liofilizados a partir de dos formulaciones (**Tabla 6**) conteniendo grosella negra, yogur y dos tipos de combinaciones de endulzantes: miel-isomalta (F1), isomalta-estevia (F2).

4.2.1. Evaluación de la aceptabilidad sensorial

Cuando nos referimos al caramelo a base de grosella negra liofilizado es importante destacar que se trata de un producto totalmente nuevo, y en el momento que se decidió trabajar en su desarrollo surgieron muchos interrogantes acerca de su aceptabilidad. Por ello, a fin de explorar la percepción de los consumidores sobre éste producto, aun no conociéndolo, se decidió realizar un estudio sensorial cualitativo utilizando una técnica proyectiva denominada *asociación de palabras*. Para este ensayo se realizó una encuesta (**Planilla 1 - Anexo**) con fotos del caramelo liofilizado correspondientes a F1. Solamente se realizó con un tipo de caramelo debido a la similitud de apariencia de F1 y F2 recién elaborados.

La **Figura 13** muestra una nube de palabras con los resultados obtenidos en el ensayo de análisis sensorial cualitativo. Se obtuvieron un total de 367 palabras (n= 222).

Cabe destacar que los participantes mostraron asociaciones positivas y negativas acerca del caramelo liofilizado. Las asociaciones mencionadas por el mayor porcentaje de los participantes fueron: *interesante* (n= 45), *muy buena idea* (n= 45) y *saludable* (n= 39); mientras que la minoría de los participantes mencionó asociaciones negativas tales como: *mal aspecto* (n= 5), *disgusta* (n= 3) y *extraño* (n= 2).



Figura 13 - Nube de palabras obtenida a partir de los resultados del análisis sensorial cualitativo realizado a los caramelos liofilizados.

Por otra parte, la **Tabla 8** muestra las seis categorías identificadas y el porcentaje de mención para cada una de ellas. El porcentaje de consumidores que mencionó la categoría *buen aspecto* (46%) fue mayor en comparación con el resto, mientras que la categoría con el menor porcentaje fue *otros* (3%) incluyendo palabras como *niños*, *snack* y *escuela*. Este estudio indica que los caramelos liofilizados de grosella negra podrían tener una buena aceptación por parte de los consumidores.

Tabla 8 - Frecuencia de mención (%) de las categorías identificadas a partir de los resultados del análisis sensorial cualitativo realizado a los caramelos liofilizados.

Categorías	Frecuencia (%)
Buen aspecto	46
Saludable	22
Deseos/Sentimientos	12
Mal aspecto	11
Sabor	6
Otros	3

4.2.2. Propiedades texturales

4.2.2.1. Análisis instrumental

En la **Figura 14** se presentan las curvas características de fuerza-distancia que describen la textura inicial de los caramelos liofilizados. Se puede observar que la fuerza de penetración aumentó progresivamente hasta alcanzar un valor máximo correspondiente a $140,4 \pm 13,65$ N a una distancia de $6,92 \pm 0,55$ mm para F1, y $173,8 \pm 15,83$ N a una distancia de $2,81 \pm 0,43$ mm para F2. Los caramelos F1 presentaron una curva redondeada mostrando una mayor resistencia a la penetración (mayor distancia) que F2. Este hecho condujo a una deformación antes de que el caramelo pudiera ser atravesado por la punta de penetración.

La curva relativamente continua y suave de F1 sugiere que el material no presentaba características frágiles ni quebradizas sino propiedades similares a las de un material gomoso. Ésto se condice con que los caramelos F1 se encontraban en estado sobreenfriado y que la

prueba instrumental se llevó a cabo a temperatura ambiente, es decir, una temperatura $\sim 17^{\circ}\text{C}$ mayor a la T_g de los caramelos. Además de gomosa, la textura inicial de F1 fue dura, posiblemente debido a su composición rica en polímeros, y a que la evaluación se realizó a tiempos muy cortos posteriores a la salida del producto del liofilizador, no habiendo suficiente tiempo para que se manifestara el ablandamiento típico de los productos almacenados a $T > T_g$ (Bhandari y Howes, 1999)

Por otro lado, en el caso de los caramelos F2 la curva no fue continua sino que presentó varios picos, indicando que la muestra se rompió de manera quebradiza. En este caso, la elevada fuerza máxima de ruptura requerida, la forma de la curva y la pendiente pronunciada indicarían que los caramelos F2 recién elaborados fueron duros y crocantes.

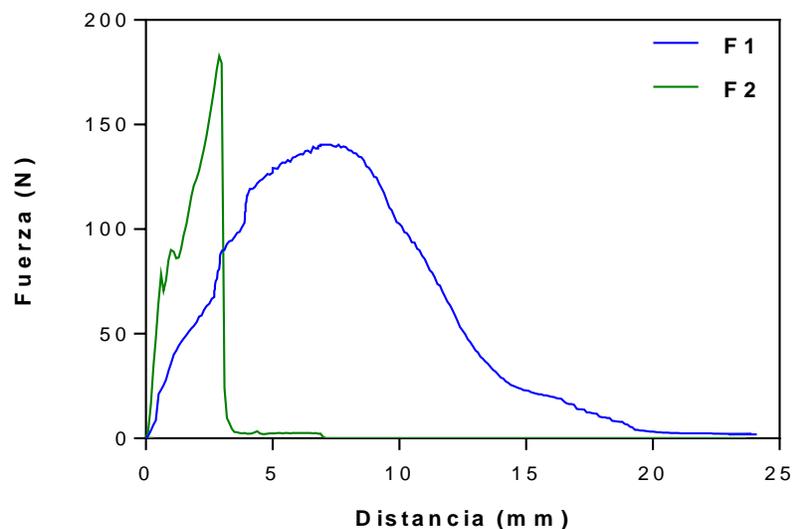


Figura 14 - Curvas de fuerza-distancia obtenidas para los caramelos liofilizados correspondientes a F1 y F2 recién elaborados.

4.2.2.2. *Análisis sensorial*

Para realizar una caracterización integral de la textura de los caramelos, se incluyeron estudios sensoriales empleando un panel sensorial entrenado en el estudio del perfil de textura, además del análisis instrumental (**Figura 14**). La **Figura 15** muestra la intensidad promedio percibida por los asesores del panel sensorial entrenado para varios atributos que caracterizan la textura inicial de los caramelos liofilizados.

El atributo dureza presentó valores promedio de 12 para F1 y 15 para F2, es decir, una dureza similar a la de un chocolate (valor= 11) y un caramelo duro (valor= 17), de la escala de referencia propuesta por Hough y Contarini (1994) (**Planilla 9 - Anexo**).

Para las dos formulaciones de caramelos los valores de adhesividad al paladar fueron similares al de la margarina (valor= 1) de la escala de referencia propuesta por Hough y Contarini (1994) (**Planilla 10 - Anexo**).

En el caso del atributo fracturabilidad, el caramelo F2 mostró un valor similar al de una galletita de miel (valor= 10), destacadamente más alto que para el caramelo F1 que resultó ser similar a una galletita de agua (valor= 5) de la escala de referencia propuesta por Hough y Contarini (1994) (**Planilla 11 - Anexo**). Estos resultados indican que F2 presentó una estructura más frágil y propensa a la ruptura en comparación con F1.

El valor de cohesividad de F1 fue similar al de un caramelo masticable (valor= 3), mientras que para F2 fue semejante al de una barra de cereal (valor= 1) de la escala de referencia propuesta por Hough y Contarini (1994) (**Planilla 12 - Anexo**). Teniendo en cuenta que este atributo está relacionado con el grado en el cual un alimento es comprimido entre los dientes antes de su ruptura, se observó que el caramelo formulado con miel mostró desde su inicio una tendencia a ser más plástico y gomoso en comparación con F2. Este aspecto podría relacionarse con el estado físico de los caramelos, dado que F1 se encontraba en estado

sobreenfriado como se mencionó previamente, pudiendo tener una manifestación inicial de los cambios asociados al almacenamiento a temperaturas superiores a T_g .

En el caso de los valores de crocancia, se obtuvieron valores similares a la galletita (valor= 5) y al anillo de avena y miel (valor= 12) para F1 y F2, respectivamente, de acuerdo con la escala de referencia propuesta por Farroni y col. (2015) (**Planilla 13 - Anexo**), indicando que el caramelo F2 fue mucho más crocante que F1.

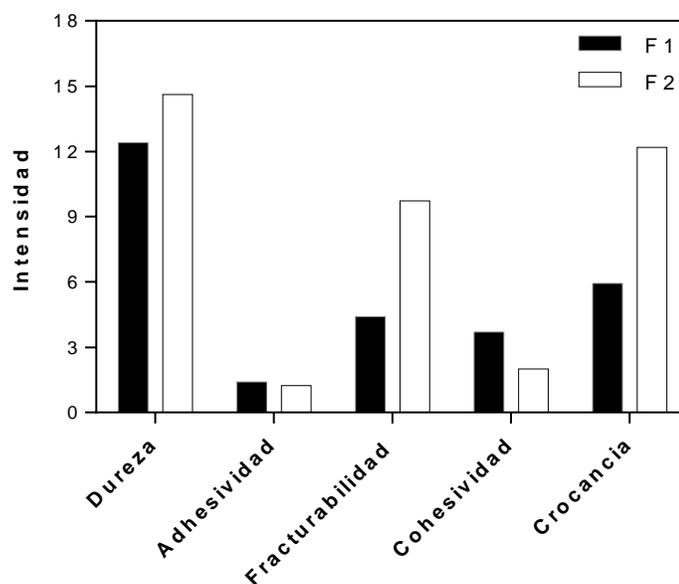


Figura 15 - Intensidad promedio para cada atributo textural percibida por los miembros del panel entrenado para los caramelos liofilizados.

4.2.2.3. Comparación de datos de textura instrumental y sensorial

En la **Tabla 9** se analiza la relación entre los atributos texturales: dureza, adhesividad, fracturabilidad, cohesividad y crocancia, desde el punto de vista instrumental y sensorial. Esta relación se realizó a nivel instrumental teniendo en cuenta los parámetros y la forma de la curva de fuerza-deformación (**Figura 14**) y la definición física establecida por Cville y Szczesniak

(1973) (**Planilla 8 - Anexo**), mientras que a nivel sensorial se tomó como parámetro la intensidad percibida por los jueces entrenados (muy alta, alta, intermedia, baja o muy baja) utilizando las escalas semiestructuradas para cada atributo en particular (**Planillas 14 a 18 - Anexo**)

Tabla 9 - Relación entre las características de textura evaluadas por un método instrumental y uno sensorial de los caramelos liofilizados.

Atributos texturales	Instrumental		Sensorial	
	F1	F2	F1	F2
Dureza	Fuerza elevada	Fuerza elevada	Alta	Muy alta
Adhesividad	Sin adherencia al punzón	Sin adherencia al punzón	Baja	Baja
Fracturabilidad	Dos fragmentos	Múltiples fragmentos	Intermedia	Alta
Cohesividad	Mayor ΔF_{\max}	Menor ΔF_{\max}	Baja	Muy baja
Crocancia	Curva continua	Múltiples picos	Baja	Alta

En el estudio de textura instrumental ambos caramelos liofilizados presentaron valores de F_{\max} altos y a su vez para F1 los valores fueron menores respecto de F2, lo cual se correlaciona con lo percibido por los miembros del panel entrenado en el estudio de textura sensorial, dado que este atributo fue percibido con una alta intensidad por parte de los jueces, indicando que ambos caramelos son duros.

En cuanto al atributo adhesividad, si bien desde el punto de vista instrumental no se cuenta con un valor cuantitativo que represente este parámetro, se puede mencionar que visualmente no se observó adherencia de los caramelos a la punta de penetración durante el ensayo,

indicando que tanto F1 como F2 presentan una baja adhesividad. Esto se pudo comprobar en el estudio sensorial debido que este atributo resultó bajo para ambas formulaciones.

Respecto al atributo fracturabilidad, si bien, al igual que en el caso de la adhesividad, no se cuenta con un valor instrumental cuantitativo, durante el ensayo se evidenció que F1 se rompió en dos fracciones mientras que F2 se quebró en múltiples fragmentos luego de ser atravesados por la punta de penetración. Esto indicaría que el caramelo con isomalta presenta una mayor fracturabilidad que el caramelo elaborado con miel, lo cual se correlaciona con los resultados obtenidos en el estudio sensorial, en el cual F2 presentó un valor más alto que F1.

En el caso de la cohesividad, este atributo indica el grado de deformación que sufre un material antes de su ruptura. Desde el punto de vista instrumental este atributo puede ser relacionado con la distancia correspondiente a la fuerza máxima (ΔF_{max}), mientras que a nivel sensorial está relacionado con el grado de deformación que experimenta el alimento entre los dientes antes de su ruptura. En este sentido, F1 presentó una mayor ΔF_{max} y un valor de cohesividad sensorial más alto que F2, indicando que el caramelo con miel es más cohesivo que el caramelo con isomalta. En relación a lo percibido por parte de los jueces en el estudio de textura sensorial, el valor de cohesividad de F1 fue el doble respecto de F2. Esto se condice con el hecho de que el caramelo F1 se encontraba en un estado sobreenfriado y presentó características de un material gomoso.

Finalmente, los resultados obtenidos en los estudios instrumental y sensorial arrojaron que F2 fue más crocante que F1. Esto quedó evidenciado en la curva de fuerza-deformación del análisis instrumental por la presencia de numerosos picos para F2 (típico de alimentos en estado vítreo), mientras que para F1 la curva fue más simétrica (típico de alimentos en estado sobreenfriado). Estos resultados concuerdan con lo postulado por diferentes autores tales como Roos y Karel (1991) quienes reportaron que un material vítreo se caracteriza por ser duro, quebradizo y crocante, mientras que un material en sobreenfriado es más flexible y gomoso. Por su parte Costell y Fiszman (1997), establecen que los gráficos de fuerza-distancia registrados

para alimentos duros tienen un pico abrupto que marca el momento de la ruptura durante el ensayo, mientras que para alimentos gomosos y sin ruptura aparente, la curva presenta una forma suave y continua hasta el final del ensayo.

Por lo tanto, es interesante destacar que para las diversas propiedades texturales estudiadas se observó una relación directa entre los resultados instrumentales y los sensoriales.

4.2.3. *Propiedades fisicoquímicas y funcionales*

4.2.3.1. *Propiedades fisicoquímicas*

La **Tabla 10** muestra el contenido de agua y la actividad de agua (a_w) de los caramelos liofilizados a la salida del proceso de liofilización. También se detallan los valores de ajuste de la ecuación de GAB para las isotermas de sorción de agua a 25°C para ambas formulaciones de caramelos.

Las dos formulaciones de caramelos (F1 y F2) mostraron valores significativamente diferentes en todos los parámetros analizados. A pesar de que la composición de las formulaciones fue relativamente similar, se pudo observar que la utilización de diferentes endulzantes influyó de manera relevante sobre las propiedades medidas. Los caramelos F1 presentaron mayor humedad y a_w que los caramelos F2. La presencia de miel en F1, la cual es rica en azúcares de bajo peso molecular altamente higroscópicos, podría promover la retención de agua en estas muestras. Adicionalmente, la acidez de F1 ($4,55 \pm 0,05$ mg ácido cítrico/100 g b.s.) fue menor y significativamente diferente a la de F2 ($4,73 \pm 0,06$ mg ácido cítrico/100 g b.s.).

Tabla 10 - Contenido y actividad de agua (a_w) de los caramelos liofilizados. Parámetros de ajuste de la ecuación de GAB para las isotermas de sorción de agua a 25 °C.

Propiedades	F1	F2
Contenido de agua (g H ₂ O/100 g b.s.)	5,20 ± 0,19 ^a	2,50 ± 0,16 ^b
a_w (a 25°C)	0,36 ± 0,06 ^a	0,27 ± 0,06 ^b
Parámetros ecuación GAB	F1	F2
m_0 (g H ₂ O/100 g sólido)	2,67 ± 0,27 ^a	1,57 ± 0,17 ^b
K_{GAB}	1,552	1,819
C	20,4	6,2
r^2	0,9908	0,9911

Valores expresados como la media ± desviación estándar. Las diferentes letras minúsculas en una fila indican diferencia significativa entre las formulaciones ($p < 0,05$).

Es conocido que mediante el proceso de liofilización se obtienen productos porosos y con una alta capacidad de adsorción de agua. Por ello, incrementos en la actividad de agua durante el almacenamiento pueden generar cambios fisicoquímicos que lleven a la pérdida de estabilidad de los productos (Roos, 1995; Delgado y Rubiolo, 2005). En la **Figura 16** se muestra el comportamiento de sorción de agua de los caramelos liofilizados a 25°C. En ambos casos, las curvas de sorción de agua no presentaron discontinuidades indicando que a bajas a_w las muestras adsorbieron cantidades relativamente pequeñas de agua y a altas a_w la cantidad de agua adsorbida se incrementó (Telis y Sobral, 2001). En ambas formulaciones las curvas de sorción de agua presentaron forma sigmoidea, correspondiente a isotermas de sorción de tipo II según lo establecido por Gregg y Sing (1982). Este comportamiento es típico de alimentos en los cuales inicialmente se produce la formación de una capa adsorbida cuyo espesor va aumentando progresivamente a medida que aumenta la a_w hasta completar la formación de la monocapa y a partir de allí comienza la formación de las multicapas.

Adicionalmente, a las isotermas de sorción de agua de los caramelos liofilizados se les realizó el ajuste según la ecuación GAB (**Figura 16**) (Van den Berg y Bruin, 1981).

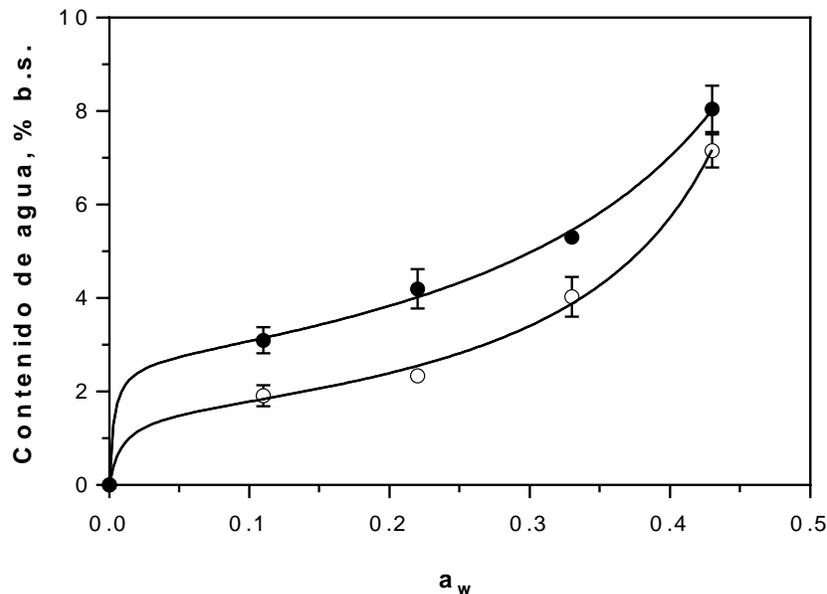


Figura 16 - Isoterma de sorción de agua a 25°C para F1 (●) y F2 (○). Las líneas corresponden al ajuste con el modelo GAB.

En la **Tabla 10** se presentan los valores de los parámetros obtenidos mediante el modelo de GAB. De acuerdo con los coeficientes de correlación (r^2) obtenidos, se infiere que los datos mostraron un buen ajuste al modelo. Ambos caramelos liofilizados presentaron valores de m_0 en el rango de los reportados por otros autores para diferentes productos liofilizados. Moraga y col. (2004) informaron valores de m_0 entre 3,6 y 9,8% para frutillas con diferentes pretratamientos. Pavan y col. (2012) utilizaron el modelo de GAB en el estudio del fruto açai liofilizado reportando un valor de m_0 de 2,5%. Agudelo-Laverde (2012) reportó valores de m_0 entre 8,3 y 9,4% para discos de diferentes frutas liofilizados. Respecto a la constante K, presentó valores superiores a 1, coincidentes con los reportados por Moraga y col. (2004) para frutillas liofilizadas. Además, los valores de la constante C fueron superiores a 2 para ambos caramelos liofilizados. De acuerdo a

lo establecido por Lewicki (2008), basado en el análisis matemático de la ecuación de GAB, un valor de $C > 2$ indica que la isoterma es de tipo II y presenta forma sigmoidea.

La **Figura 17** muestra la temperatura de transición vítrea (T_g) en función del contenido de agua para los caramelos liofilizados.

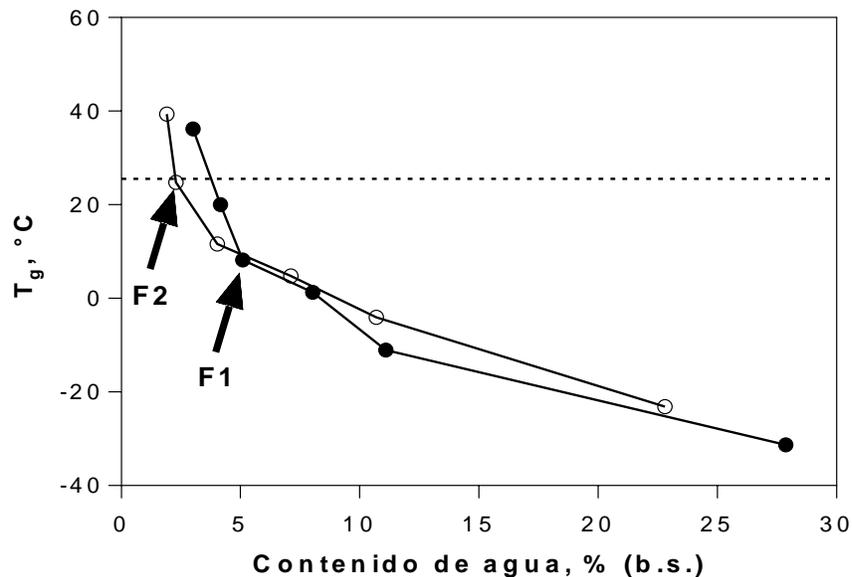


Figura 17 - Temperatura de transición vítrea en función del contenido de agua para F1 (●) y F2 (○). La línea punteada indica la temperatura ambiente (25°C). Las flechas indican la condición inicial de los caramelos liofilizados de ambas formulaciones.

Al analizar la temperatura transición vítrea, se observó un desplazamiento a valores más bajos a medida que se incrementó la humedad, debido al efecto plastificante producido por el agua. Se puede observar que tanto F1 como F2 se encontraban en estado vítreo hasta contenidos de agua inferiores a 3% b.s. ($a_w \sim 0,11$). A la salida del proceso de liofilización, los caramelos F1 se encontraban en estado sobreenfriado con una temperatura de transición vítrea

de 8°C, mientras que los caramelos F2 presentaron una T_g de 24°C, estando en el límite de la transición vítrea a temperatura ambiente. Ambos caramelos presentaron una apariencia sólida rígida inicial. Franceschinis y col. (2014) estudiaron el comportamiento de diferentes jugos de mora secados por liofilización en un rango de actividades de agua entre 0,11 y 0,53, reportando valores de T_g similares a los obtenidos para los caramelos de grosella negra liofilizados.

4.2.3.2. *Propiedades funcionales*

La **Tabla 11** muestra los contenidos de antocianinas monoméricas totales (AMT), y compuestos polifenólicos totales (CPT) presentes en los caramelos liofilizados, observándose que F1 presentó valores ligeramente más altos ($p < 0,05$) que F2.

Considerando que uno de los ingredientes de F1 es la miel, sería posible esperar un mayor contenido de CPT en F1 respecto de F2. Sin embargo, solamente se observó una mínima diferencia significativa entre los valores de F1 y F2. Esto posiblemente sea debido a que los polifenoles constituyen el grupo de los compuestos minoritarios presentes en la miel (Bogdanov y col., 2008). Esto se condice con los valores informados por Bertonecelj y col. (2007) y Kenjeric y col. (2007), quienes reportaron contenidos de CPT entre 0,06 y 23,3 mg EAG/100 g miel. Por otra parte, cabe mencionar que a F1 se le adicionó un 20% de miel, cantidad que no aportaría un contenido sustancial de CPT.

Con respecto a las antocianinas, es posible que la mayor proporción de AMT presente en F1 se relacione con una mayor estabilidad de las mismas en esta formulación.

Tabla 11 - Contenido de AMT y CPT para los caramelos liofilizados recién elaborados.

Propiedades	F1	F2
AMT (mg cian-3-glu/100 g b.s.)	40,5 ± 0,1 ^a	34,3 ± 0,2 ^b
CPT (mg EAG/100 g b.s.)	55,31 ± 0,02 ^a	53,97 ± 0,17 ^b

Valores expresados como la media ± desviación estándar. Las diferentes letras minúsculas en una fila indican diferencia significativa entre las formulaciones ($p < 0,05$).

Considerando entonces que el aporte de compuestos bioactivos proviene solamente de la fruta (**Tabla 7**), según cálculos teóricos los caramelos liofilizados deberían presentar: valores de AMT de aproximadamente 135 mg cian-3-glu/100 g de caramelo y de CPT de 227 mg EAG/100 g de caramelo. Si se comparan los valores obtenidos en la práctica (**Tabla 9**) con los calculados teóricamente, el porcentaje de retención de compuestos bioactivos en ambas formulaciones de caramelos fue bajo, siendo de ~20% y ~25% para AMT y CPT respectivamente. Autores tales como Wrolstad y col. (2005) y Delgado-Vargas y col. (2000) establecen que las antocianinas se degradan fácilmente, no solo durante la extracción del tejido vegetal sino también en el procesado y almacenamiento del alimento, y que su estabilidad depende de la estructura y de la composición del alimento que las contiene. En el caso particular de los caramelos liofilizados se debe tener presente que tanto en el acondicionamiento de la fruta como durante la preparación de las formulaciones y posterior proceso de liofilización, los compuestos antociánicos se encuentran expuestos a condiciones adversas (ruptura de tejido e interacción con otros componentes, oxígeno, luz) que serían las responsables de su degradación.

A pesar de la pérdida de compuestos bioactivos debido al proceso de elaboración, los caramelos desarrollados en este trabajo presentaron una concentración de compuestos

bioactivos interesante en comparación con las golosinas tradicionales encontradas en el mercado. Por lo tanto, se decidió evaluar el aporte de la capacidad antioxidante luego de la realización de un proceso de digestión *in vitro*.

De acuerdo con varios autores, las metodologías GAR y QUENCHER son adecuadas para determinar la CA de sistemas alimenticios luego de ser sometidos a ensayos de digestión *in vitro*. Así, Delgado-Andrade y col. (2010) aplicaron estas metodologías en el estudio de pan; mientras que Pastoriza y col. (2011) estudiaron diferentes alimentos frescos y procesados. La **Tabla 12** muestra los valores de CA de los caramelos liofilizados, obtenidos luego de la extracción química convencional, y aquellos de las fracciones soluble e insoluble obtenidas luego de la realización del proceso de digestión *in vitro*. Para cada fracción estudiada, no se observaron diferencias significativas en los valores de CA entre F1 y F2. Si bien es conocido que la miel posee propiedades antioxidantes (Baldi Coronel, 2010), el aporte de miel a F1 no evidenció un incremento de la CA. Posiblemente esto sea debido a que los compuestos capaces de transferir CA en F1 se deterioraron durante el procesamiento que recibió el caramelo no manifestándose una mejoría en esta característica.

Pastoriza y col. (2011) reportaron valores de CA luego de la extracción química para frutas como el kiwi y la manzana: 5,2 y 4,8 mmol trolox/Kg de fruta, respectivamente. Los caramelos liofilizados F1 y F2 presentaron valores de CA similares, indicando que el aporte de compuestos bioactivos de estos productos es relevante y podría resultar en una contribución interesante para la dieta.

Tabla 12 - Valores de CA (mmol trolox/Kg de caramelo) de la extracción química y las fracciones soluble (GAR) e insoluble (QUENCHER) después de la digestión *in vitro* para los caramelos liofilizados F1 y F2.

	Extracción química	Digestión <i>in vitro</i>	
		GAR	QUENCHER
F1	4,53 ± 0,59 ^a	6,95 ± 0,47 ^b	64,68 ± 3,96 ^c
F2	4,24 ± 0,29 ^a	6,98 ± 0,64 ^b	73,67 ± 10,36 ^c

Valores expresados como la media ± desviación estándar. Las diferentes letras minúsculas en una columna indican diferencia significativa entre las formulaciones ($p < 0,05$).

Los valores de CA obtenidos mediante el método GAR para la fracción soluble fueron más altos que los valores obtenidos mediante la extracción química convencional, indicando que en el proceso de digestión *in vitro* se produjo la liberación de algunos compuestos bioactivos con capacidad antioxidante. Pastoriza y col. (2011) y Wootton-Beard y Ryan (2011) informaron resultados similares para varias matrices alimenticias. Karas y col. (2017) sugirieron que la CA después de la digestión *in vitro* depende de la matriz alimentaria debido a la interacción entre los compuestos bioactivos y los demás constituyentes del alimento.

Los valores de CA de la fracción insoluble (método QUENCHER) de los caramelos liofilizados fueron los más altos en comparación con los valores de la extracción química y de la fracción soluble de la digestión. Cabe destacar que luego del proceso de digestión la mayor parte de la muestra de caramelo pasó a formar parte de la fracción insoluble (F1: 74% y F2: 86%). Pastoriza y col. (2011) mostraron que en la mayoría de los casos este comportamiento no se observa, sino que los valores de CA para la fracción insoluble, suelen ser más bajos que aquellos obtenidos en la fracción soluble.

Por otra parte, cabe mencionar que el sistema gastrointestinal está constantemente expuesto a especies reactivas de oxígeno (ROS) (Halliwell, 2006). Por lo tanto, la presencia de antioxidantes podría jugar un rol importante en el mantenimiento del balance rédox frente a diferentes especies oxidantes y en la prevención de enfermedades del tracto gastrointestinal relacionadas con la generación de ROS durante el proceso de digestión (Leopoldini y col., 2011).

4. B.

**ESTABILIDAD DE
LOS CARAMELOS
LIOFILIZADOS
DURANTE EL
ALMACENAMIENTO**

Es importante considerar que durante el almacenamiento, los alimentos liofilizados pueden sufrir cambios químicos de acuerdo con su composición, y también, que los cambios ocurridos en el procesamiento del producto pueden proseguir durante el almacenamiento generando una pérdida de sus características nutricionales y sensoriales.

En este trabajo se buscó hacer un estudio integral de la estabilidad de los caramelos liofilizados en un periodo de 6 meses de almacenamiento a 25°C. En esta sección se analizan diferentes propiedades fisicoquímicas, funcionales, mecánicas y sensoriales de los caramelos liofilizados a lo largo del almacenamiento.

4.3. Estabilidad sensorial

El análisis sensorial es el principal método de evaluación de la estabilidad organoléptica de un alimento, ya que no existen métodos instrumentales o químicos que puedan reemplazar adecuadamente a los sentidos humanos. En consecuencia, en el presente trabajo se empleó un panel sensorial constituido por consumidores, el cual quedó conformado por un total de 87 panelistas, quienes evaluaron varios atributos de los caramelos liofilizados almacenados a 25°C durante diferentes tiempos (hasta 6 meses).

4.3.1. Prueba del nivel de intensidad de atributos

En este ensayo se buscó evaluar el nivel de intensidad percibido por los panelistas respecto de diferentes atributos de los caramelos liofilizados. La **Figura 18** muestra el nivel de intensidad percibido por los consumidores sobre el atributo dureza para los caramelos liofilizados F1 (**Figura 18a**) y F2 (**Figura 18b**). En ambos casos se puede observar que la intensidad del atributo disminuyó a lo largo del tiempo de almacenamiento. En los caramelos frescos (t=0) la intensidad del atributo dureza fue categorizada como *alta* (58% y 63% para F1 y F2,

respectivamente), mientras que para el caso de los caramelos almacenados durante 6 meses la categoría predominante fue *muy baja* (86%) para F1 y *baja* (50%) para F2.

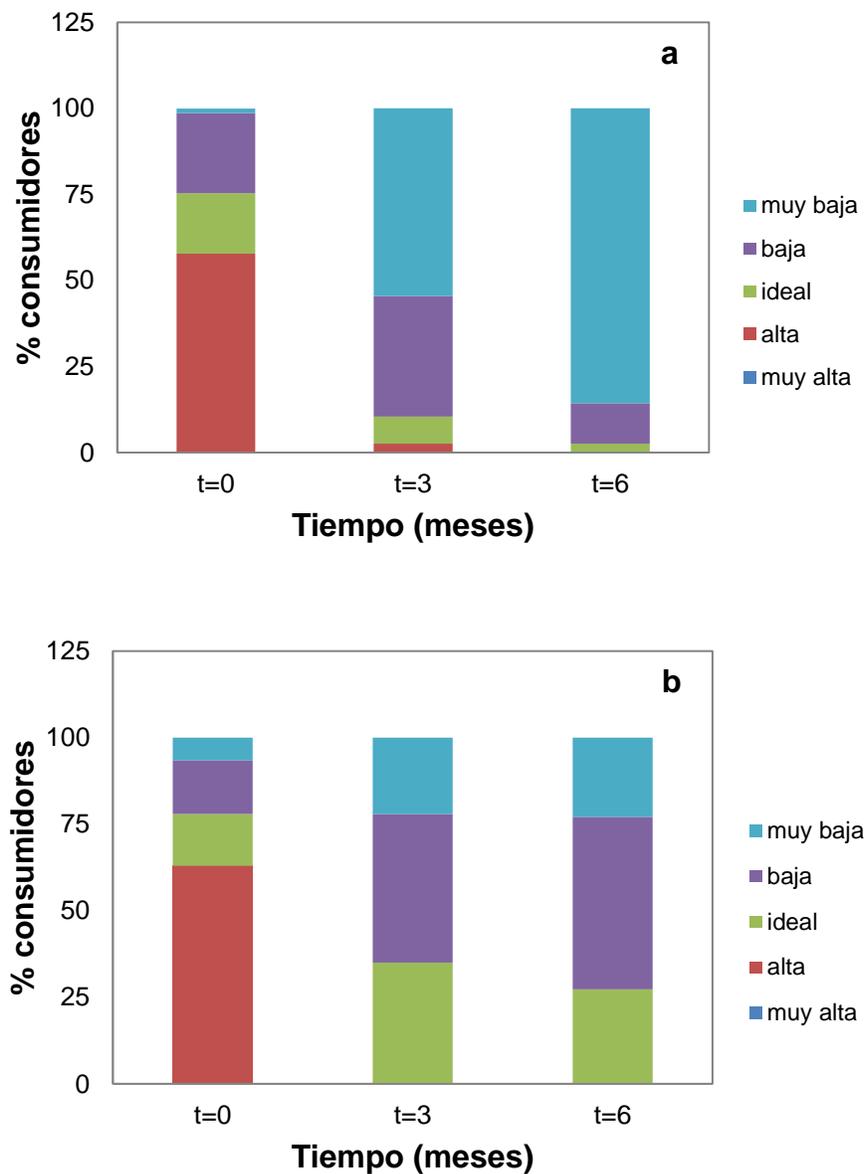


Figura 18 - Nivel de intensidad percibido por los consumidores sobre el atributo **dureza** para los caramelos liofilizados F1 **(a)** y F2 **(b)** almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

Con respecto al atributo adhesividad al paladar (**Figura 19**), en ambos casos se puede observar una respuesta similar por parte de los consumidores. La adhesividad fue categorizada mayoritariamente como *muy baja* y *baja* para F1 y F2, respectivamente, manteniéndose esa tendencia durante los diferentes tiempos de almacenamiento.

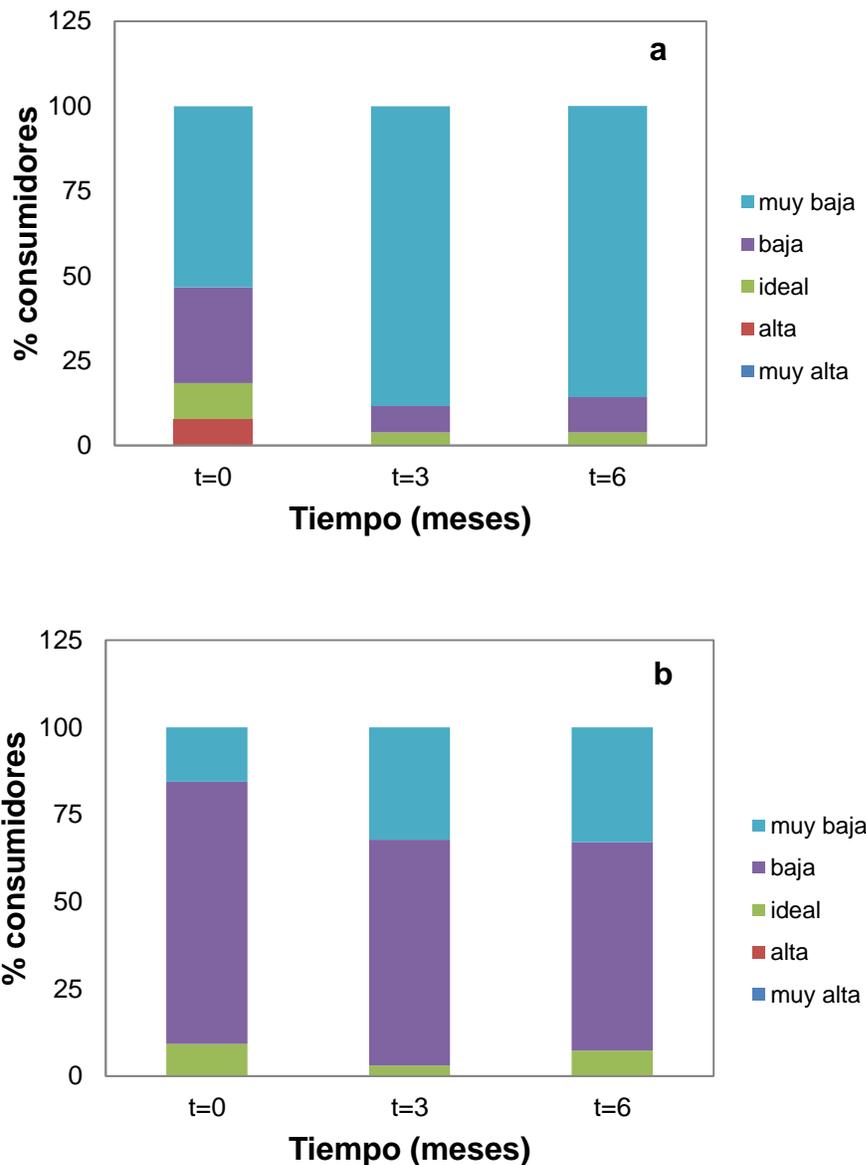


Figura 19 - Nivel de intensidad percibido por los consumidores sobre el atributo adhesividad al paladar para los caramelos liofilizados F1 (**a**) y F2 (**b**) almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

La **Figura 20** muestra los resultados correspondientes al atributo **crocancia** para los caramelos liofilizados F1 (**Figura 20a**) y F2 (**Figura 20b**) almacenados a diferentes tiempos.

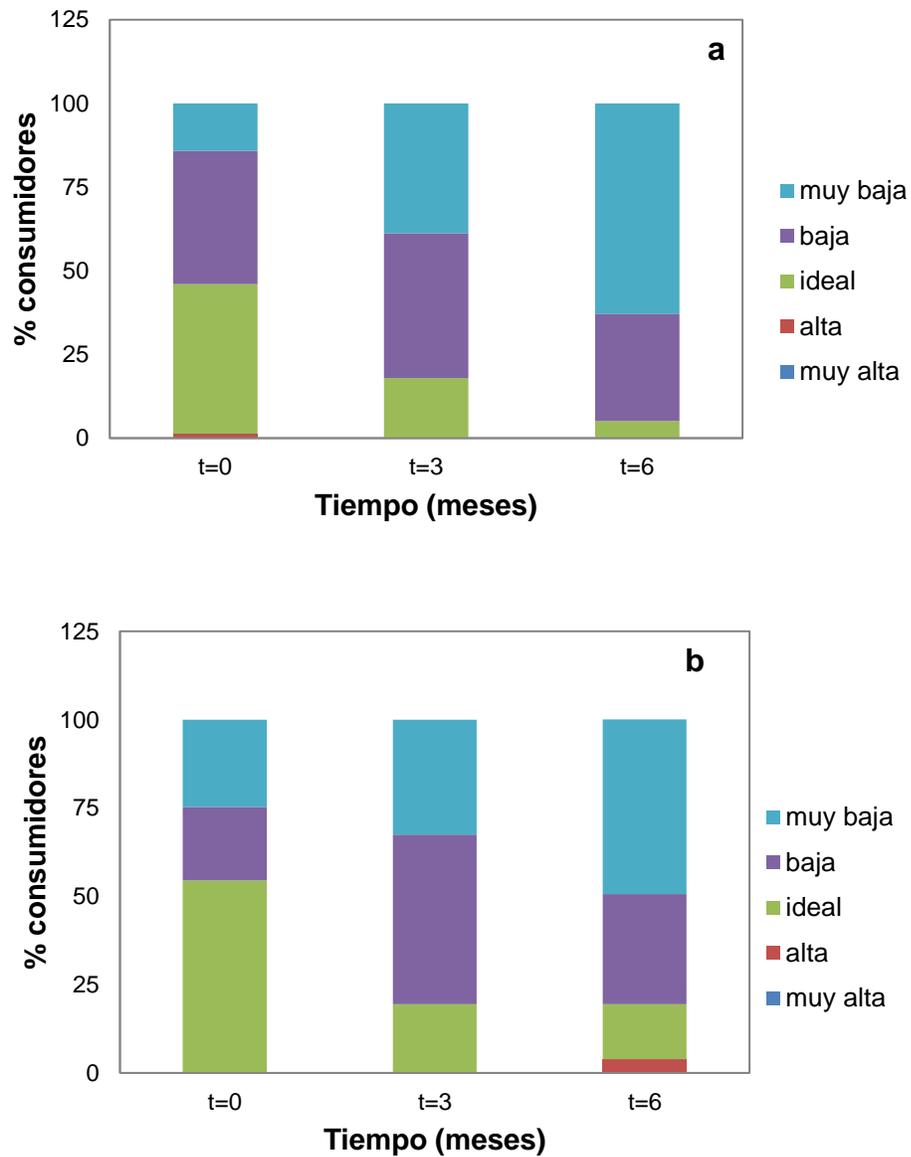


Figura 20 - Nivel de intensidad percibido por los consumidores sobre el atributo **crocancia** para los caramelos liofilizados F1 (**a**) y F2 (**b**) almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

En el caso de F1, se puede observar que el mayor porcentaje de los consumidores (45%) categorizó la intensidad de este atributo como *ideal* en el caramelo correspondiente a $t=0$. Es interesante destacar los cambios ocurridos con la crocancia en el tiempo, luego de 6 meses de almacenamiento alcanzó, para un alto porcentaje de los consumidores, la categoría *muy baja*. En el caso del caramelo F2, la prueba del grado de intensidad de crocancia mostró resultados similares a los observados para F1.

La intensidad del gusto dulce (**Figura 21**) y del gusto ácido (**Figura 22**) de ambos caramelos fue evaluada como *ideal* por el mayor porcentaje de consumidores, manteniéndose esta categoría con pocas variaciones a lo largo del tiempo de almacenamiento.

Otro de los atributos sensoriales evaluados que manifestó cambios muy importantes en el almacenamiento fue el color (**Figura 23**). En el caso de F1 se puede observar que la intensidad del color aumentó pasando de ser *ideal* ($t=0$) para un 56% de los consumidores a *alta* a los 3 y 6 meses de almacenamiento para el 50% de los consumidores. Por otro lado, el caramelo F2 presentó un comportamiento diferente. A $t=0$ un 64% de los consumidores evaluó el color como *ideal* y luego la intensidad del color del caramelo disminuyó considerablemente con el tiempo de almacenamiento, siendo categorizada mayoritariamente como, *baja* ($t=3$), y *muy baja* ($t=6$).

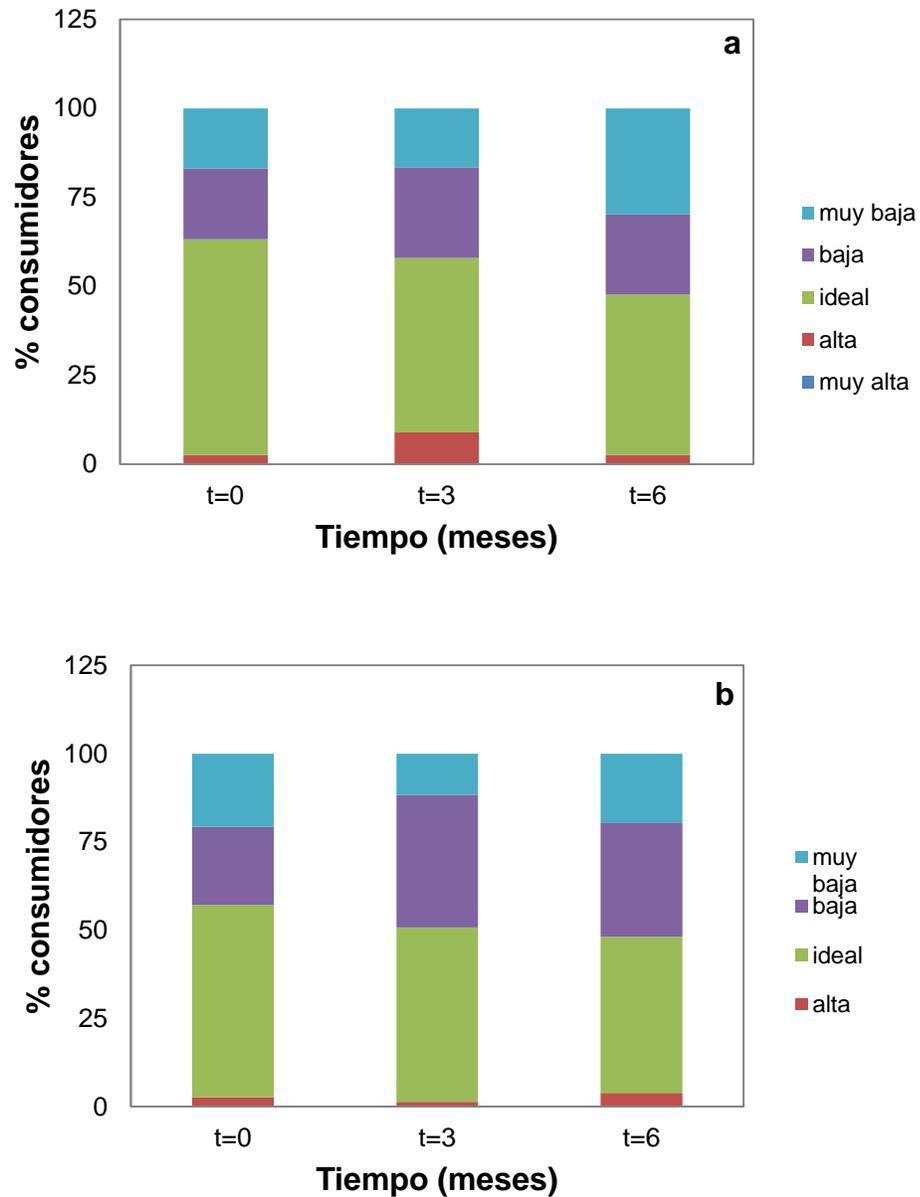


Figura 21 - Nivel de intensidad percibido por los consumidores sobre el atributo **gusto dulce** para los caramelos liofilizados F1 **(a)** y F2 **(b)** almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

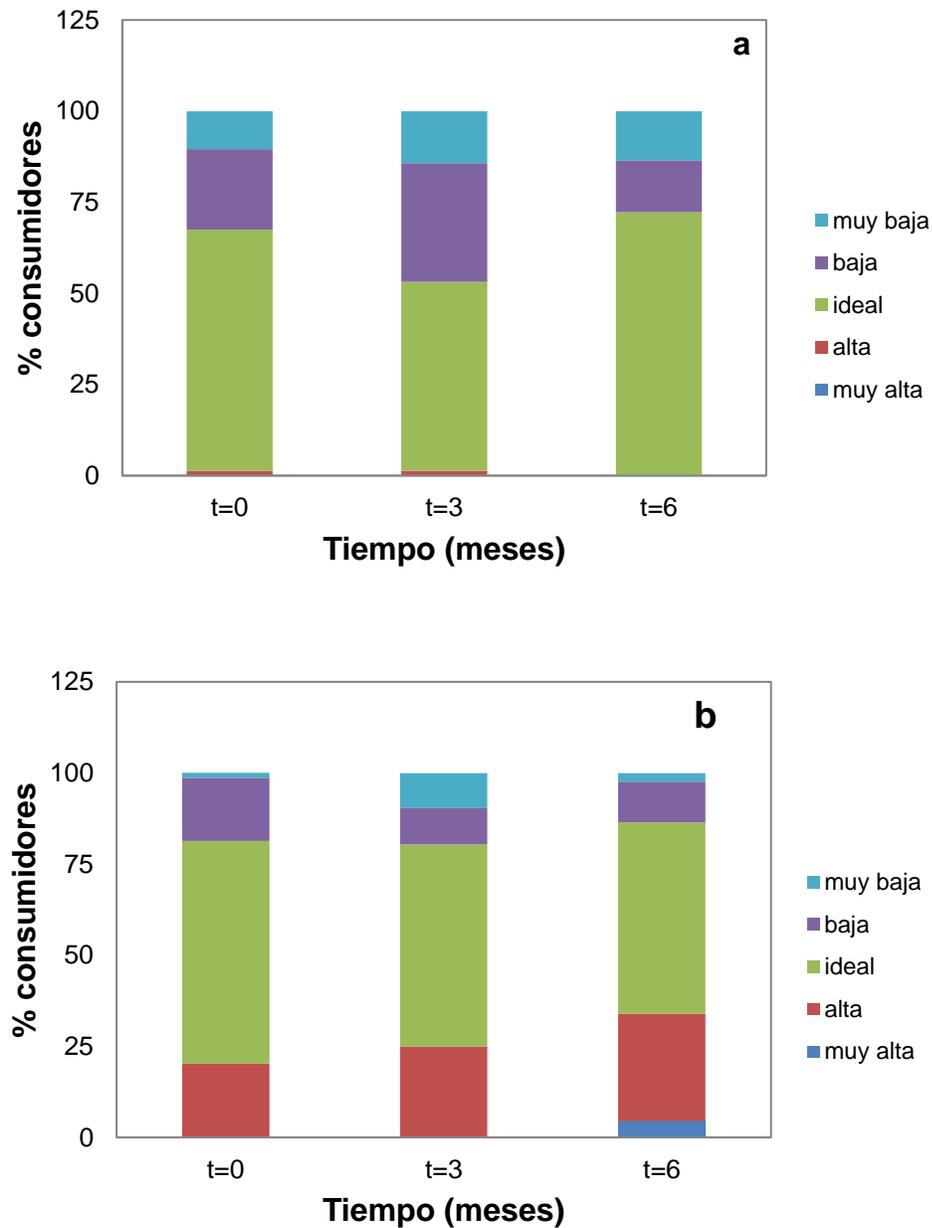


Figura 22 - Nivel de intensidad percibido por los consumidores sobre el atributo **gusto ácido** para los caramelos liofilizados F1 **(a)** y F2 **(b)** almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

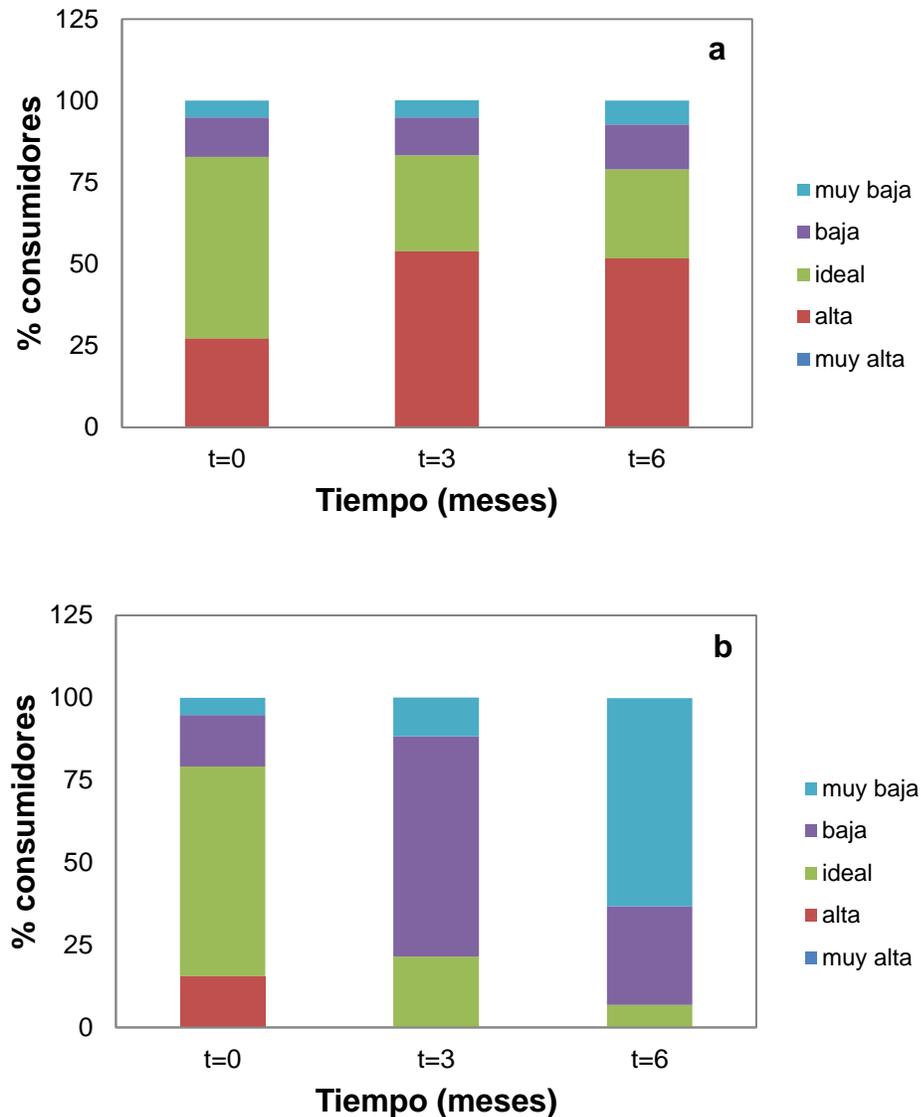


Figura 23 - Nivel de intensidad percibido por los consumidores sobre el atributo **color** para los caramelos liofilizados F1 (**a**) y F2 (**b**) almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

Los cambios de color sufridos por ambos caramelos se pueden observar en la **Figura 24**. El color de los caramelos liofilizados desarrollados en el presente trabajo está determinado principalmente por los pigmentos antociánicos aportados por la grosella negra utilizada como materia prima.

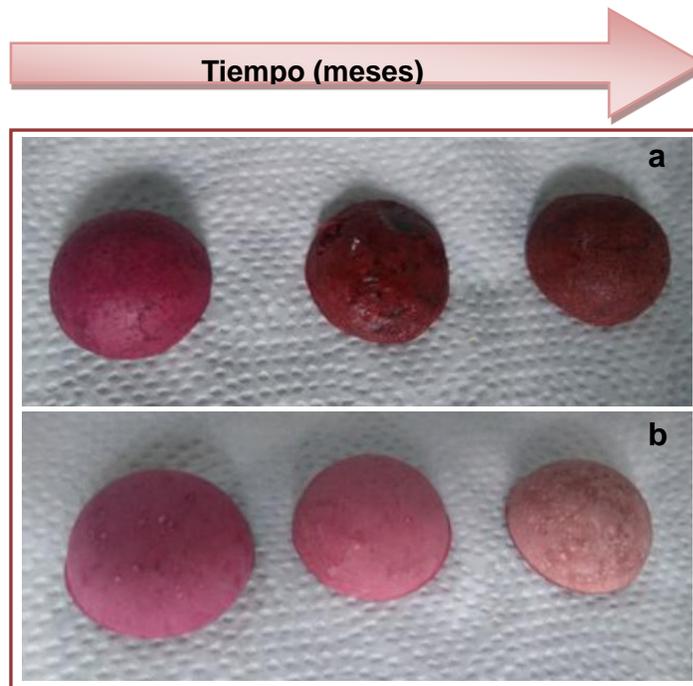


Figura 24 - Cambios de color de los caramelos liofilizados, F1 (a) y F2 (b) almacenados durante 0, 3 y 6 meses.

En ambos casos hubo aparición de color pardo en el almacenamiento, particularmente a los 6 meses. Este hecho se puede atribuir a la ocurrencia de pardeamiento no enzimático, tanto por la reacción de Maillard, dado que ambas formulaciones cuentan con azúcares reductores (de la fruta, el yogur y la miel) y proteínas (del yogur), como por la degradación del ácido ascórbico proveniente de la grosella negra. Además, los cambios de color, como se trató en el ítem 1.1.1.3., pueden relacionarse con todos aquellos factores responsables de la degradación de las antocianinas. A este respecto, la incorporación de antocianinas a matrices alimenticias se ve limitada debido a su baja estabilidad durante el procesado y el almacenamiento de los alimentos. Dependiendo de las distintas condiciones del medio a las que se exponen, las antocianinas pueden reaccionar con otros compuestos, degradarse, o polimerizarse, conduciendo por lo tanto a distintas tonalidades e intensidades del color. Por un lado, la presencia de furfural puede acelerar y/o inducir la polimerización de las antocianinas (Es-Safi y col., 2000). Los furfurales y

los 5-hidroximetil-furfurales son productos intermediarios de la reacción de Maillard cuando la misma ocurre a pH ácido (Pérez-Locas y Yaylayan, 2010). Teniendo en cuenta el pH de las formulaciones de los caramelos, estos compuestos intermediarios podrían haberse formado durante el procesado y el almacenamiento. Adicionalmente, dado que el almacenamiento no se realizó en envases totalmente impermeables al oxígeno, su presencia pudo contribuir a los cambios en el color de los caramelos liofilizados. Durante el almacenamiento el O₂ actuaría como desencadenante de diversas reacciones, llevando a la degradación de compuestos tales como ácido ascórbico y antocianinas (Sondheimer y Kertesz, 1952; Fennema, 2000). Claramente la presencia de diferentes edulcorantes influyó significativamente en la evolución del color de los caramelos F1 y F2. En presencia de miel, rica en azúcares muy reactivos frente a la reacción de Maillard, predominó el desarrollo de pardeamiento y los caramelos se oscurecieron notablemente (**Figura 24a**). Por otro lado, los caramelos F2, si bien sufrieron pardeamiento, particularmente a los 6 meses de almacenamiento (**Figura 24b**), también evidenciaron la pérdida superficial de antocianinas, mostrando tonalidades más claras y menos rojas.

4.3.2. Prueba de satisfacción de atributos

La prueba de satisfacción de atributos permitió definir el grado de satisfacción que los consumidores presentaron respecto a cada uno de los atributos en particular.

Con respecto al atributo dureza se observó que las percepciones de los consumidores fueron diferentes para ambos caramelos liofilizados (**Figura 25**).

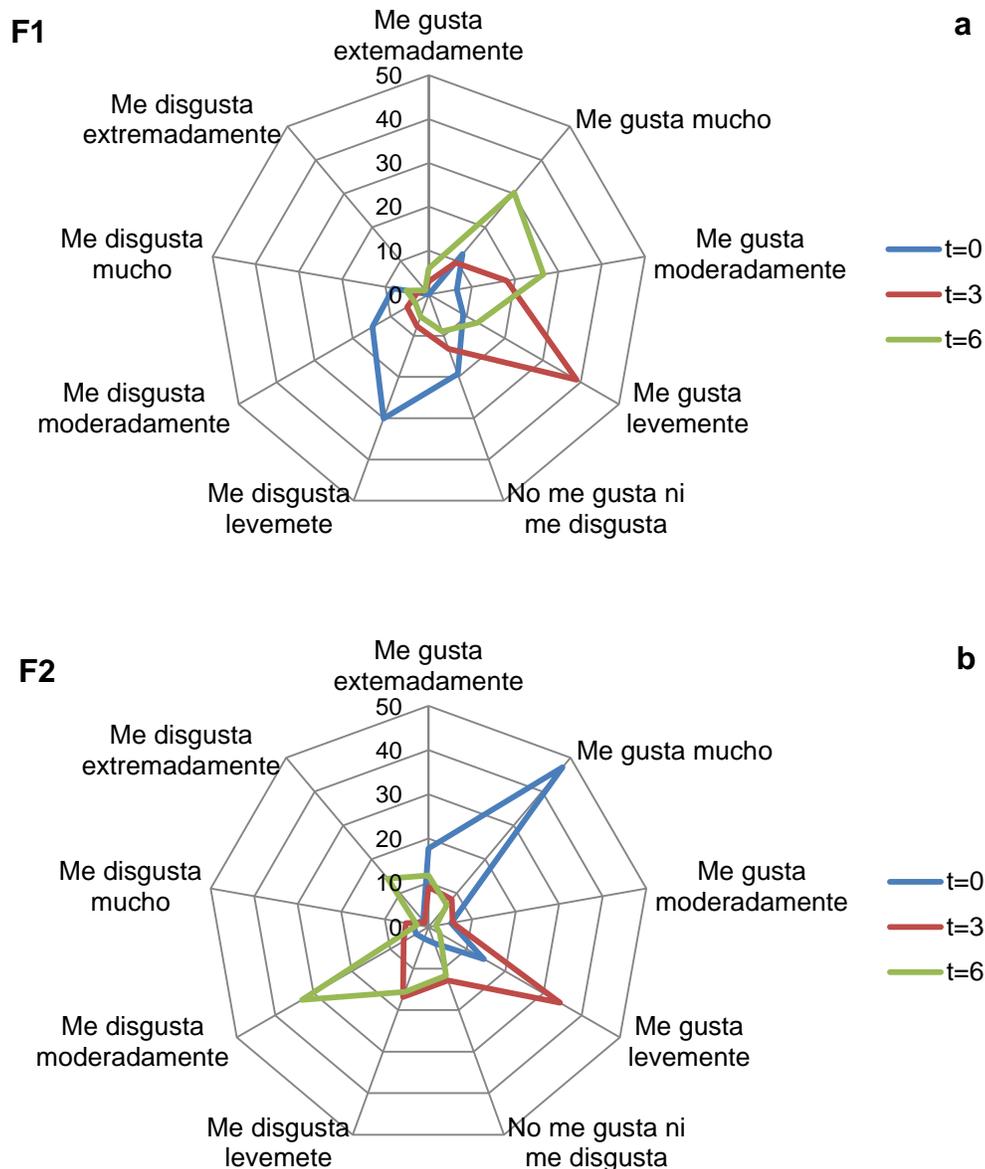


Figura 25 - Grado de satisfacción percibido por los consumidores sobre el atributo **dureza** para los caramelos liofilizados almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

En el caso de F1 (**Figura 25a**), la preferencia sobre el atributo dureza fue aumentando a medida que pasó el tiempo de almacenamiento. El caramelo fresco (t=0) fue categorizado de manera negativa como “*me disgusta levemente*”, mientras que el almacenado a mayor tiempo

(t=6) fue aceptado satisfactoriamente por parte de los consumidores, recibiendo el mayor porcentaje la categoría "*me gusta mucho*". Esto probablemente sea debido a que inicialmente el caramelo presentó no solamente una dureza alta sino también una estructura compacta lo cual magnificó dicho atributo. Sin embargo, a medida que transcurrió el tiempo el caramelo adquirió características de textura más aceptables para los consumidores: se tornó más blando y gomoso, concordante con la prueba de nivel de intensidad donde se detectó una disminución muy importante de la dureza (**Figura 18a**)

Por su parte, los resultados obtenidos para F2 (**Figura 25b**) fueron totalmente diferentes, es decir que el caramelo a t=0 fue el preferido por la mayor parte de los consumidores (*me gusta mucho*= 47%) llegando a ser categorizado como *me disgusta moderadamente* a t=6. En este caso, se obtuvo un caramelo duro y poroso, que con el tiempo manifestó una disminución de la dureza (**Figura 18b**), pero contrariamente a lo que ocurrió con F1, para el caramelo F2 esta evolución de la textura tuvo una connotación negativa

La **Figura 26** muestra los resultados pertenecientes al grado de aceptabilidad del atributo adhesividad al paladar para los caramelos liofilizados. La adhesividad fue categorizada mayoritariamente dentro de las categorías *me gusta levemente* y *no me gusta ni me disgusta* para ambos caramelos, sin presentarse cambios relevantes en el tiempo.

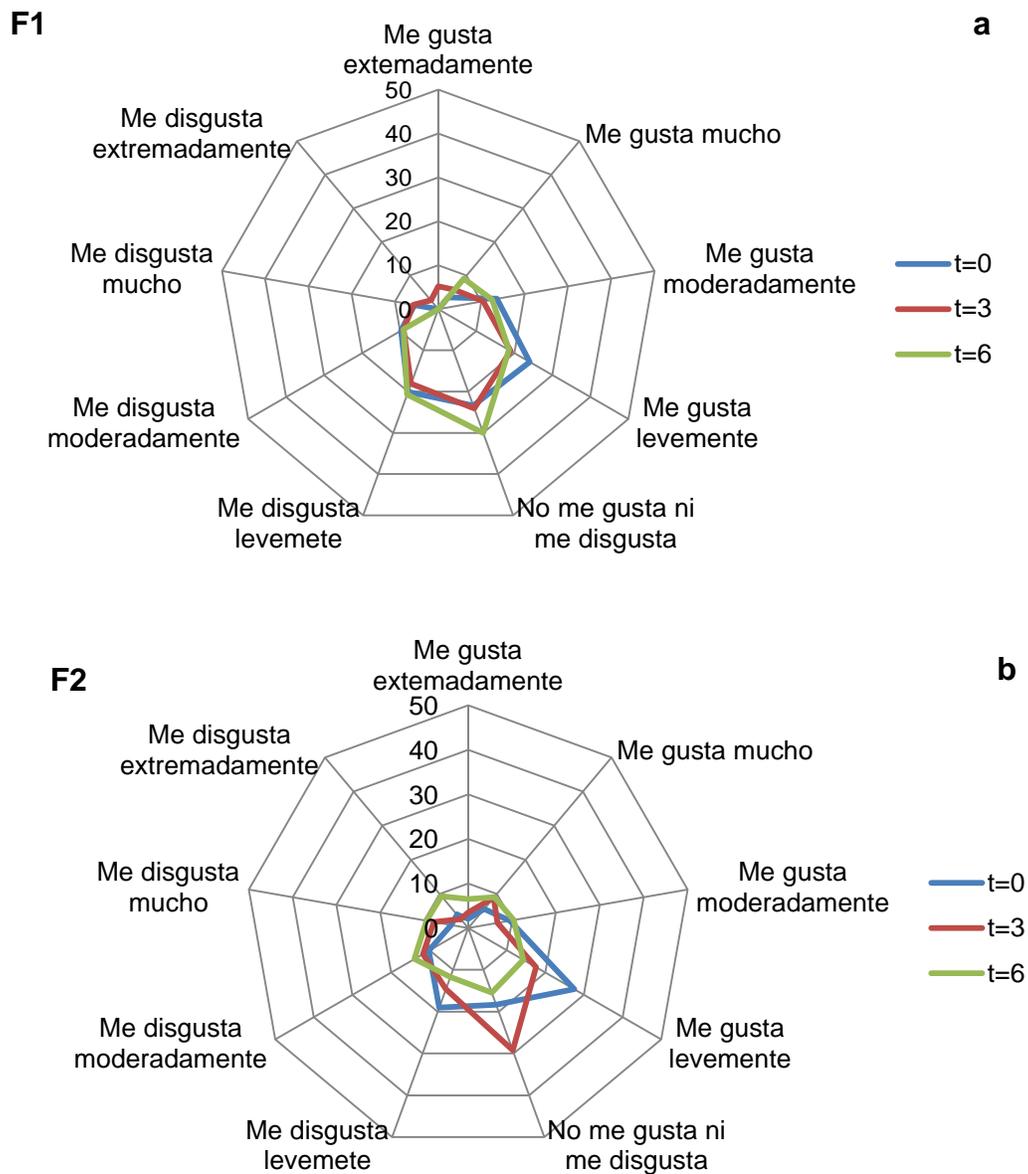


Figura 26 - Grado de satisfacción percibido por los consumidores sobre el atributo adhesividad al paladar para los caramelos liofilizados almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

El grado de satisfacción del atributo crocancia se muestra en la **Figura 27**. En el caso de F1 la categoría de agrado *me gusta levemente* fue la que predominó en el caramelo fresco, mientras que luego de los seis meses de almacenamiento predominó la categoría *me gusta mucho*, evidenciando que la mayor masticabilidad adquirida por el caramelo con el transcurso del tiempo (relacionada con la pérdida de crocancia (**Figura 20a**) resultó aceptada de manera positiva por parte de los consumidores. Para F2 se observó un comportamiento contrario, es decir que a medida que transcurrió el tiempo el grado de preferencia por parte de los consumidores pasó de *me gusta extremadamente* (t=0), a *me gusta mucho* (t=3) y *me disgusta mucho* (t=6). Esto probablemente sea debido a la pérdida total de la crocancia, que en el caso de este caramelo resultó un atributo de gran aceptación. La pérdida de crocancia se evidenció claramente en el ensayo de nivel de intensidad (**Figura 20b**).

Con respecto al atributo gusto dulce (**Figura 28**), los consumidores categorizaron a ambos caramelos dentro de las categorías de agrado, con porcentajes similares para los tres tiempos de almacenamiento. Estos resultados muestran que el grado de preferencia de este atributo no se vio afectado notablemente durante el tiempo de almacenamiento. Además, se observó una concordancia con lo observado en la prueba de nivel de intensidad del gusto dulce (**Figura 21**), que mostró un mantenimiento de la intensidad del dulzor a lo largo del tiempo de estudio.

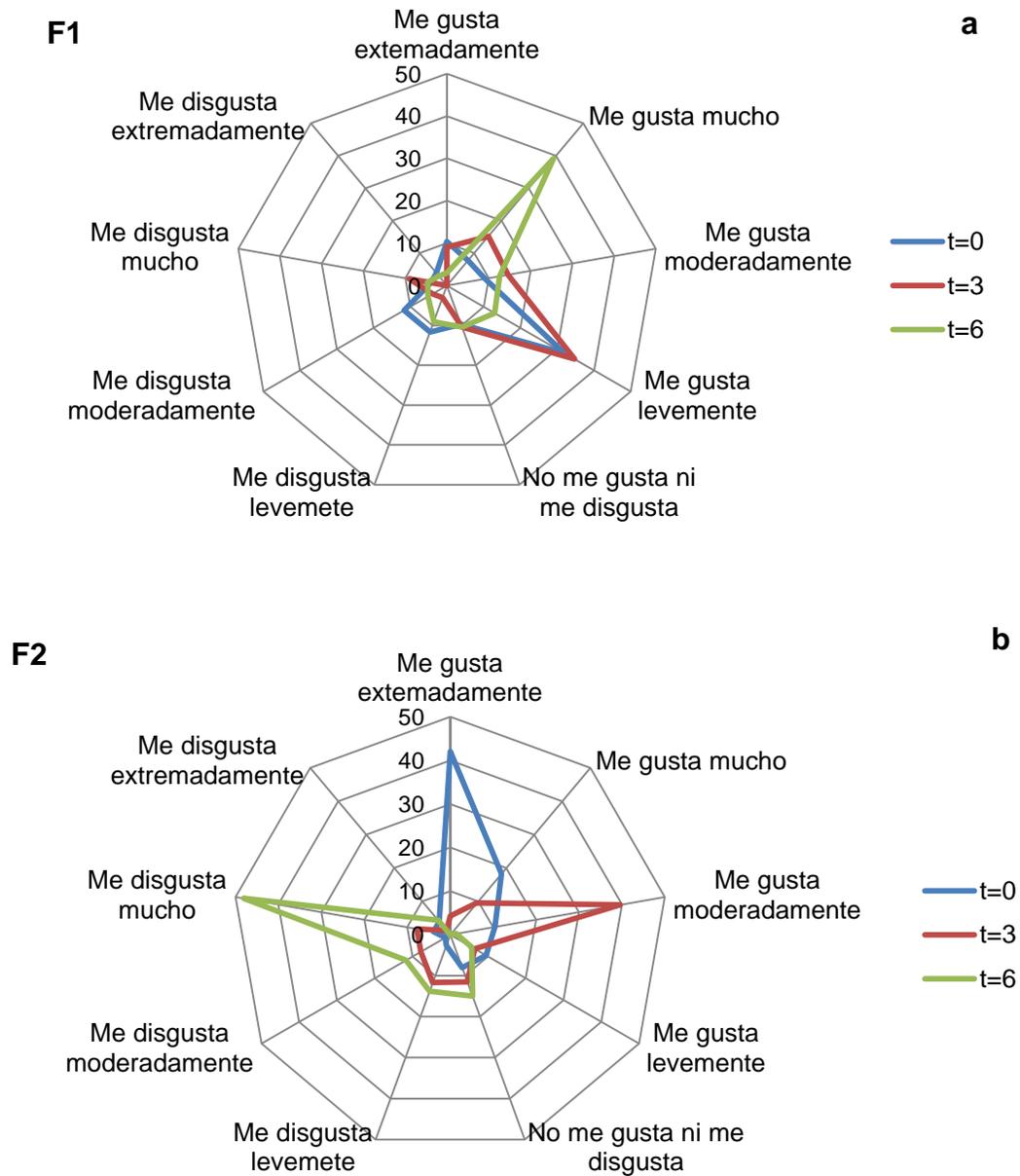


Figura 27 - Grado de satisfacción percibido por los consumidores sobre el atributo **crocancia** para los caramelos liofilizados almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

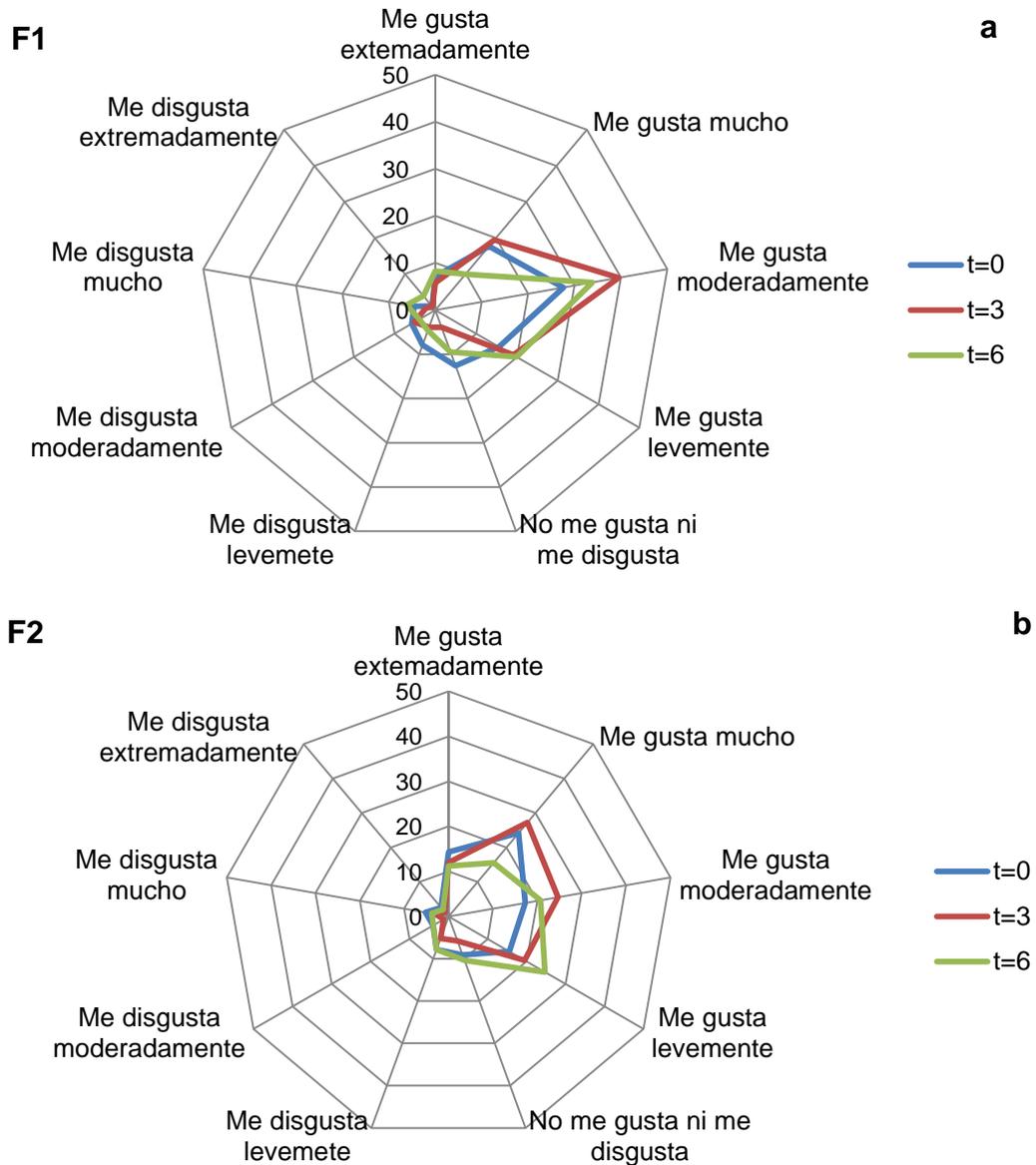


Figura 28 - Grado de aceptabilidad percibido por los consumidores sobre el atributo **gusto dulce** para los caramelos liofilizados almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

Por otra parte, al analizar la prueba de preferencia para el atributo gusto ácido (**Figura 29**), predominaron las categorías de agrado, tanto para F1 como para F2, a los diferentes tiempos de almacenamiento. Dado que los cambios de acidez en el tiempo fueron muy leves, estos resultados se condicen con la prueba de nivel de intensidad (**Figura 22**).

Con respecto al color, los cambios evidenciados en este atributo causaron diferentes impactos en la aceptabilidad de los consumidores (**Figura 30**). En el caso de F1, se evidenció que a $t=0$ el caramelo fue aceptado satisfactoriamente por parte de los consumidores, siendo mayormente categorizado como *me gusta extremadamente* (41,4%). A medida que pasó el tiempo, si bien el grado de preferencia se mantuvo dentro de las categorías de agrado, los cambios en el color del caramelo disminuyeron el atractivo del producto hasta la categoría *me gusta levemente*.

En el caso de los caramelos F2, se evidenció que el cambio de color del caramelo impactó de manera negativa en los consumidores, siendo categorizado como *me gusta extremadamente* ($t=0$), *me gusta levemente* ($t=3$) y *me disgusta moderadamente* ($t=6$). Los cambios de color sufridos por F2 en el almacenamiento fueron muy notables y tornaron al caramelo más claro y de un tono rosado amarronado (**Figura 24b**), el cual no se condice con la expectativa de un producto a base de berries. Por lo tanto es esperable obtener una baja aceptación del producto al cabo del almacenamiento.

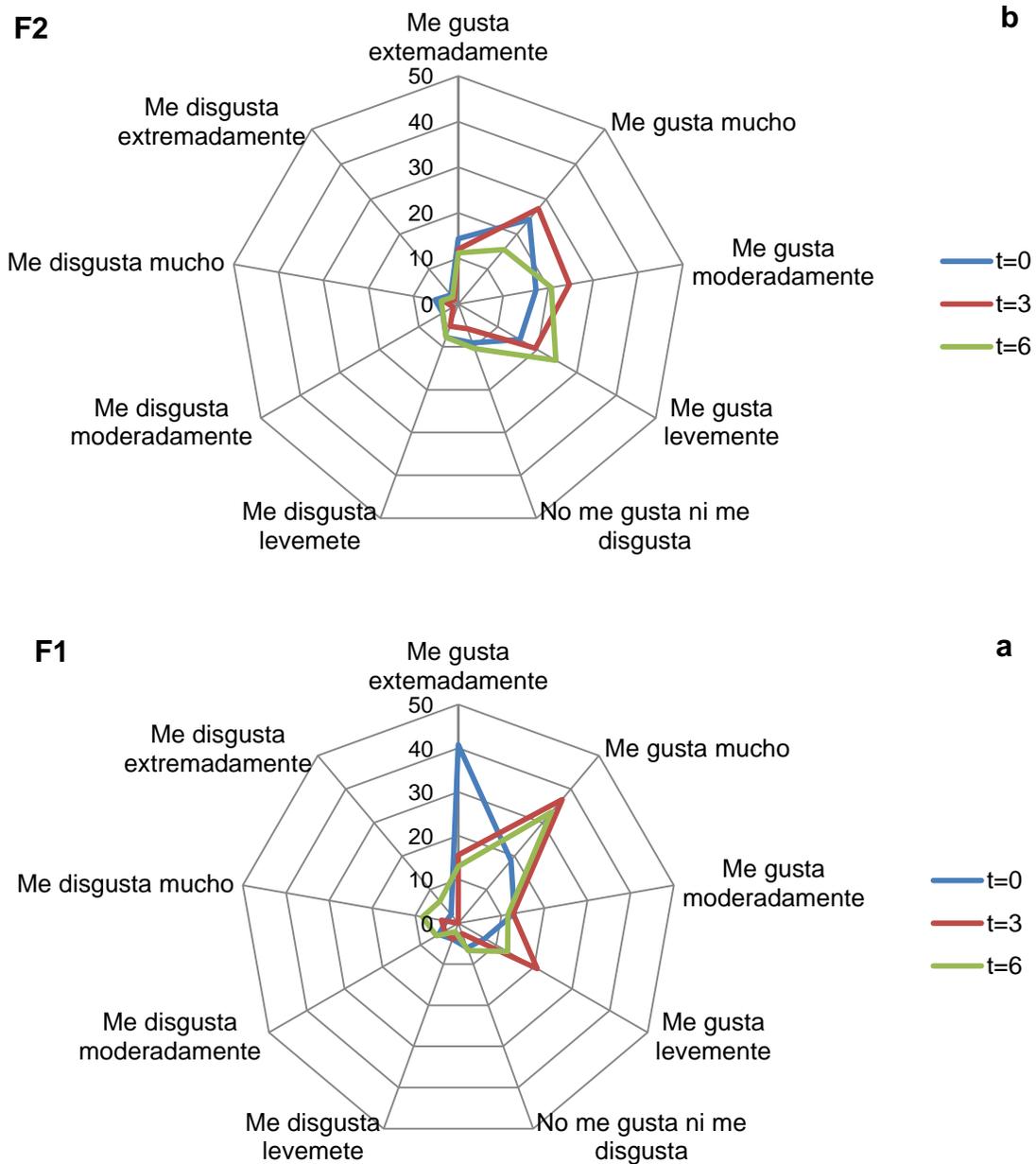


Figura 29 - Grado de aceptabilidad percibido por los consumidores sobre el atributo **gusto ácido** para los caramelos liofilizados almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

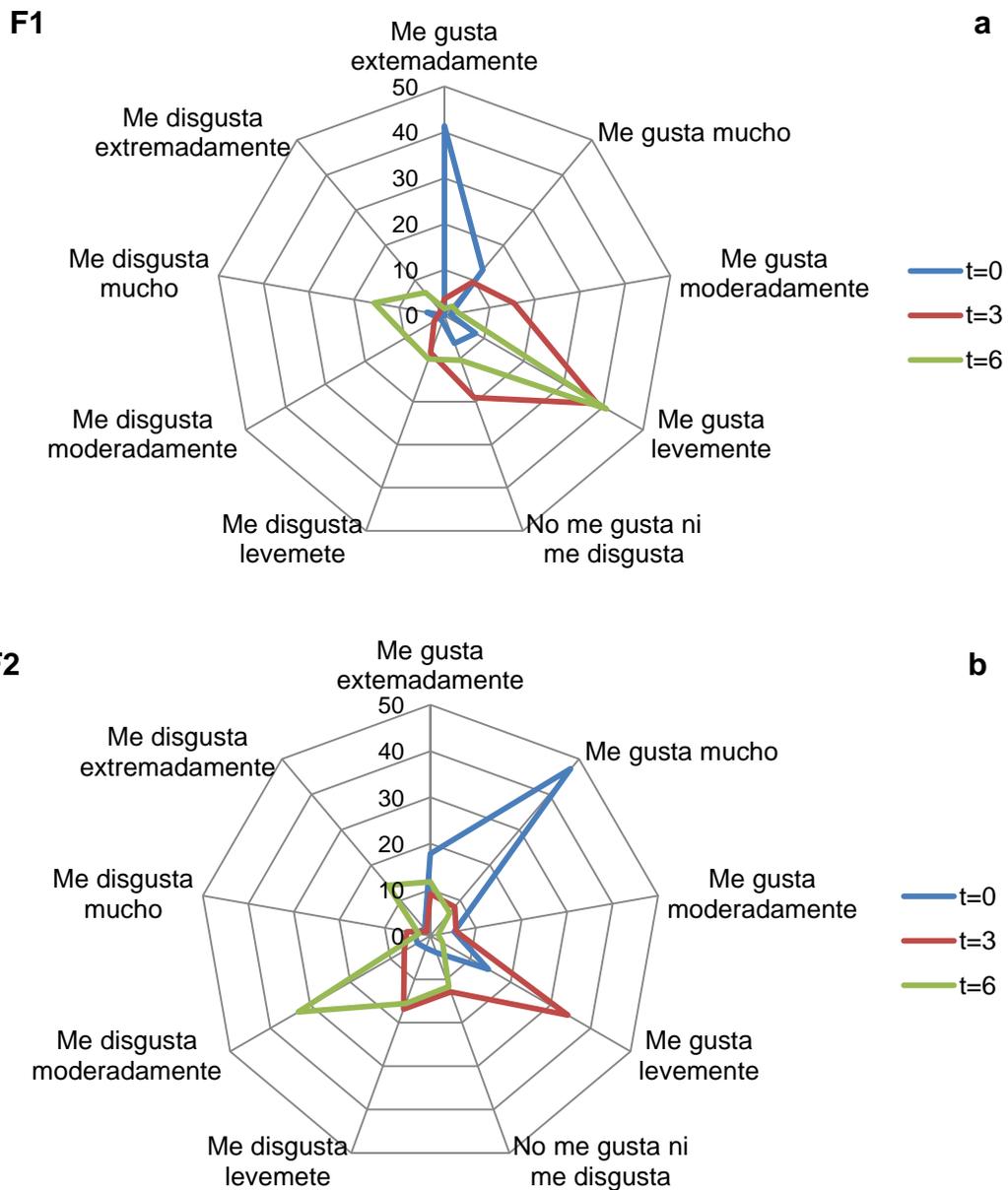


Figura 30 - Grado de satisfacción percibido por los consumidores sobre el atributo **color** para los caramelos liofilizados almacenados a 25°C durante diferentes tiempos: tiempo inicial (t=0), 3 meses (t=3) y 6 meses (t=6).

4.3.3. Prueba de satisfacción global

La prueba de satisfacción global tuvo como objetivo definir el grado de satisfacción que tienen los consumidores sobre los caramelos (**Figura 31**). Los resultados obtenidos mostraron que el uso de distintos endulzantes llevó a la obtención de dos caramelos con características sensoriales diferentes entre sí, lo cual a su vez repercutió de manera distinta en los consumidores.

La **Figura 31a** muestra que en los caramelos endulzados con miel-isomalta, el nivel de agrado por parte de los consumidores evolucionó de manera positiva a lo largo del tiempo de almacenamiento. Se observó que a $t=0$ los caramelos fueron calificados dentro de las categorías de agrado por el 43% de los consumidores, mientras que el nivel de agrado aumentó con el tiempo, alcanzando una aceptación satisfactoria por el 75% de los consumidores a $t=6$. Esto posiblemente se debió a que la presencia de miel aportó una mayor suavidad y masticabilidad en los caramelos almacenados.

En el caso del caramelo endulzado con isomalta-estevia (**Figura 31b**), los consumidores prefirieron notablemente el producto almacenado hasta 3 meses. Se pudo observar que los caramelos fueron calificados dentro de las categorías de agrado por el 72% y 85% de los consumidores para $t=0$ y $t=3$ respectivamente. Sin embargo, a $t=6$ se observó una disminución en la aceptación de los caramelos, siendo calificados por el 63% de los consumidores dentro de las categorías de desagrado. La presencia prácticamente total de isomalta como endulzante en estos caramelos generó una estructura porosa y frágil. Esto provocó que en la boca los caramelos no solo se rompieran fácilmente sino que al tomar contacto con la saliva se disolvieran rápidamente generando un alto grado de satisfacción en la percepción de los consumidores. Contrariamente, a $t=6$ se produjo una pérdida total de las características mencionadas, lo cual se reflejó en un rechazo por parte de los consumidores.

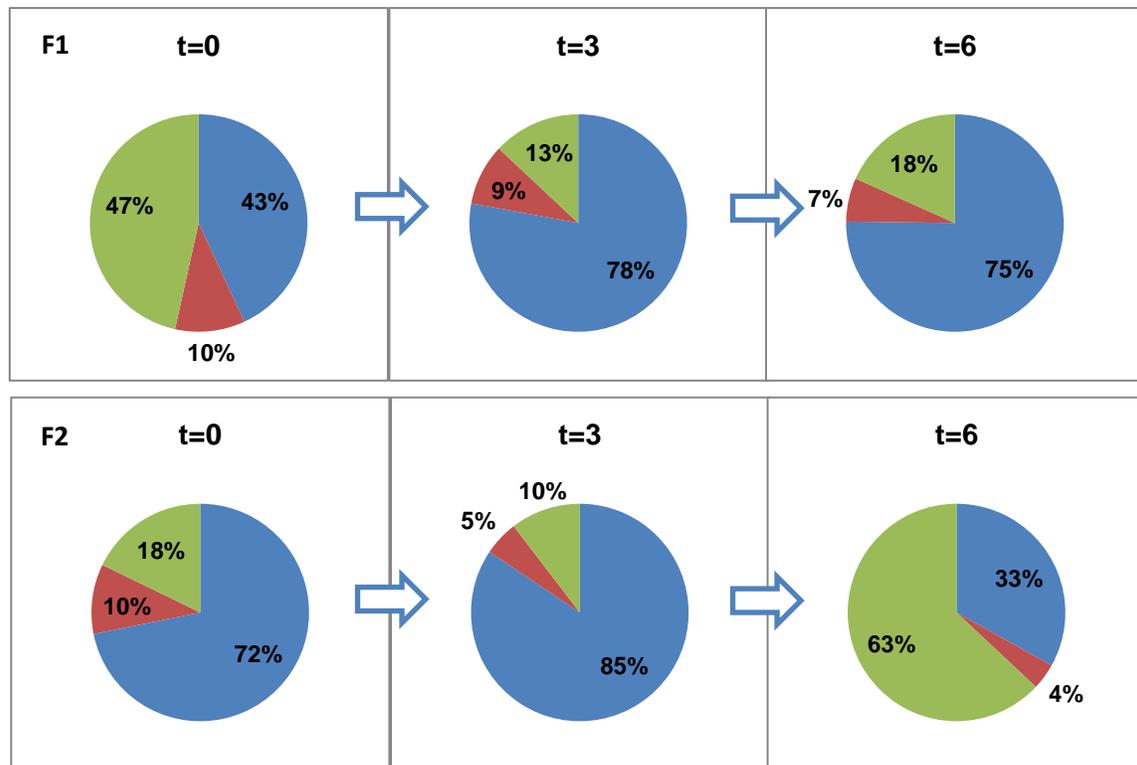


Figura 31 - Grado de satisfacción global percibido por los consumidores sobre los caramelos liofilizados: Categorías de agrado (●), no me gusta ni me disgusta (●), y categorías de desagrado (●).

4.4. Estabilidad de las propiedades texturales, fisicoquímicas y funcionales

4.4.1. Propiedades texturales

Las características texturales tienen gran relevancia en productos alimenticios como lo son las golosinas. En este sentido, a los efectos de estudiar y analizar los cambios producidos sobre la textura de los caramelos liofilizados durante el período de almacenamiento, se realizaron ensayos instrumentales de punción, ensayos sensoriales con un panel entrenado y análisis de

imágenes mediante el uso de microscopía electrónica de barrido (SEM) y matrices de coexistencia del nivel de gris (GLCM).

4.4.1.1. *Análisis instrumental*

En la **Figura 32** se presentan las curvas características de fuerza-distancia que muestran el efecto del tiempo de almacenamiento sobre las características texturales de los caramelos liofilizados F1 (**Figura 32a**) y F2 (**Figura 32b**).

Como se mencionó en la sección de caracterización de los caramelos liofilizados (**Figura 15**), ambos caramelos recién elaborados fueron duros y además F2 fue quebradizo. Las dos formulaciones de caramelos sufrieron modificaciones en la textura a lo largo del almacenamiento. En cuanto a F1, las curvas presentaron una forma simétrica, con una fuerza máxima de penetración levemente decreciente hasta los 3 meses (**Figura 32a**). Durante el período comprendido entre 1 y 2 meses de almacenamiento el producto presentó una mayor resistencia a la punción (mayor distancia). Esto provocó una deformación antes de que el caramelo pudiera ser atravesado por la punta de punción. En el tercer mes de almacenamiento, la fuerza máxima se mantuvo constante pero la penetración de la punta ocurrió a una distancia menor, la cual se conservó en las muestras correspondientes a los siguientes meses de almacenamiento. Entre el cuarto y sexto mes de almacenamiento, la fuerza máxima de penetración disminuyó de manera considerable y además la pendiente de las curvas fue menos pronunciada. Los cambios sufridos por el material lo transformaron en gomoso y por lo tanto pudo soportar una mayor deformación antes de romperse con la punta de penetración (Castro Montero, 2007). Esto indicaría que el caramelo perdió totalmente las características texturales del producto liofilizado inicial. Teniendo en cuenta que los caramelos F1 se encontraban en estado de líquido sobreenfriado a la salida del proceso de liofilización, y que el valor de $(T-T_g)$

correspondiente era de 17°C durante el almacenamiento, es esperable la ocurrencia de los cambios físicos que se registraron en la textura de los caramelos en el almacenamiento.

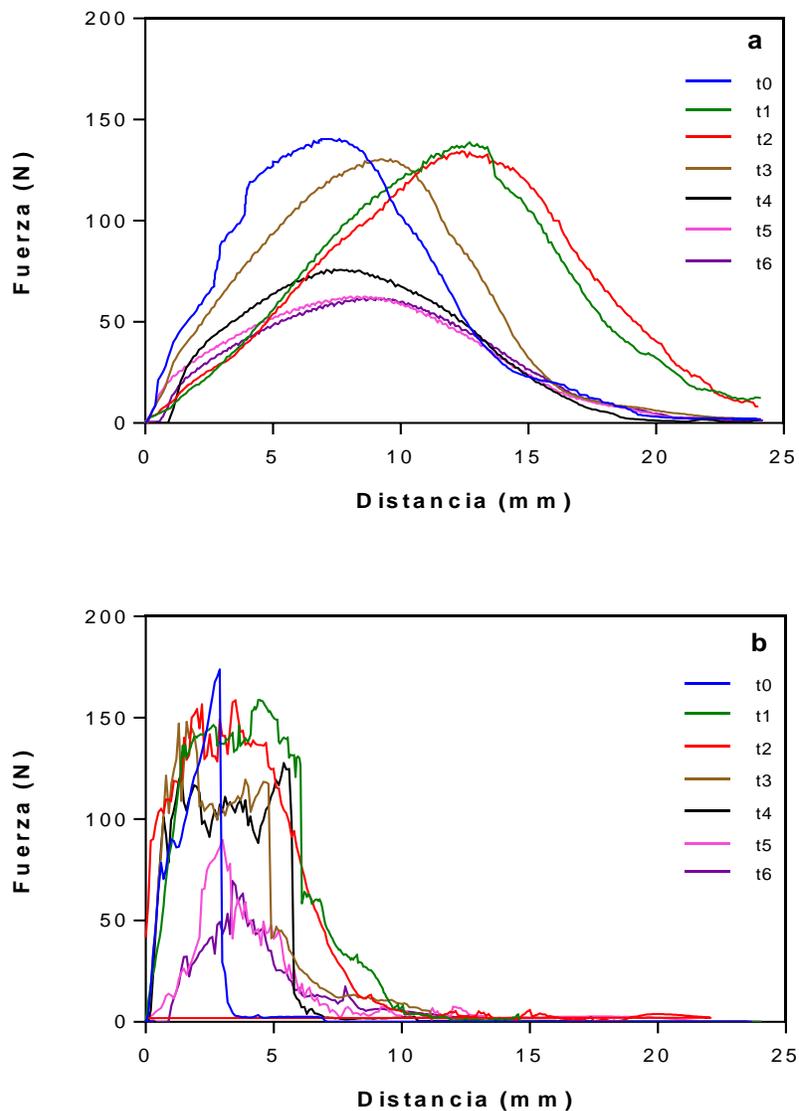


Figura 32 - Curvas características de fuerza-distancia de los caramelos liofilizados F1 (a) y F2 (b), obtenidas para los diferentes tiempos de almacenamiento a 25°C.

Con respecto a F2 (**Figura 32b**) se puede observar que durante el primer y segundo mes la fuerza de penetración disminuyó levemente, sin embargo, las curvas presentaron un mayor

número de picos, lo cual indicaría que el caramelo siguió presentando una estructura frágil. A partir del tercer mes la fuerza máxima de penetración continuó decreciendo significativamente hasta alcanzar un valor aproximado de 50 N luego de seis meses de almacenamiento.

Con respecto a la F_{\max} (**Figura 33**), en el caso de F1 se observó que los valores se mantuvieron sin cambios significativos hasta los 3 meses de almacenamiento, mientras que a tiempos mayores ocurrió una disminución significativa de este parámetro alcanzando una reducción de 56,1% al cabo de de los 6 meses. Por otro lado, para el caramelo F2 se observó una disminución gradual que alcanzó un 60% luego de los 6 meses; con valores de F_{\max} relativamente elevados entre el $t=0$ y el $t=3$, mientras que a tiempos mayores la disminución fue más pronunciada .

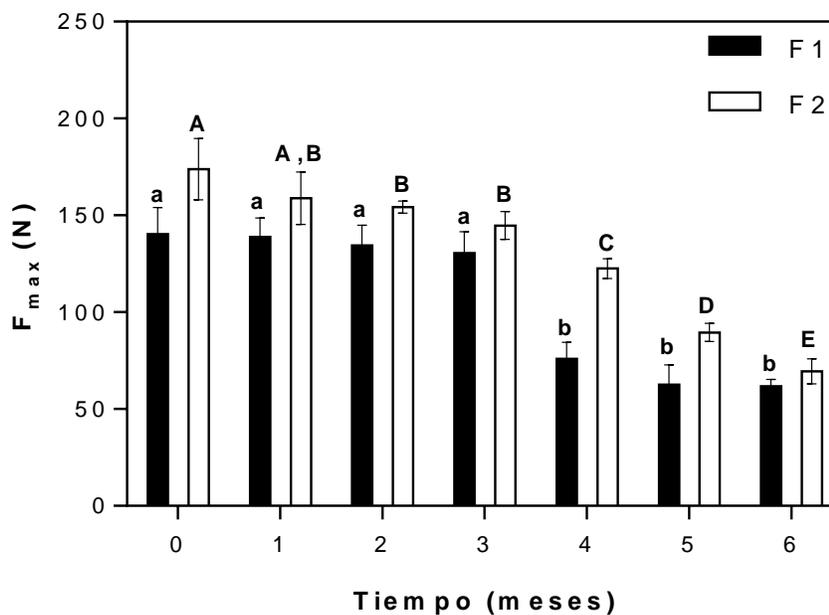


Figura 33 - Variación de la F_{\max} de penetración para los caramelos liofilizados durante el periodo de almacenamiento a 25°C. Las mediciones con diferentes letras minúsculas (F1) y mayúsculas (F2) son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

La **Tabla 13** muestra los valores de los parámetros texturales obtenidos a partir de las curvas fuerza-deformación: W y ΔF_{\max} . De acuerdo a lo establecido por Prothon y col. (2003), el grado de porosidad y fragilidad en los productos liofilizados determina la energía requerida durante la ruptura del material. El trabajo de fractura o energía de deformación (W) fue inferior en F2 respecto a F1 indicando que el caramelo endulzado con isomalta-estevia presentó una mayor fragilidad que el caramelo endulzado con miel-estevia, requiriendo menor energía para alcanzar la ruptura.

Tabla 13 - Valores de los parámetros texturales W y ΔF_{\max} de los caramelos liofilizados durante el periodo de almacenamiento a 25°C.

	Tiempo (meses)	W (J)	ΔF_{\max} (mm)
F1	0	$0,61 \pm 0,17^a$	$6,92 \pm 0,55^a$
	1	$0,94 \pm 0,08^b$	$12,7 \pm 2,54^b$
	2	$0,86 \pm 0,04^b$	$12,4 \pm 1,23^b$
	3	$0,79 \pm 0,09^b$	$9,19 \pm 1,07^b$
	4	$0,34 \pm 0,02^c$	$7,39 \pm 1,91^{bc}$
	5	$0,37 \pm 0,04^c$	$8,59 \pm 0,84^{bc}$
	6	$0,37 \pm 0,02^c$	$9,09 \pm 1,25^{bc}$
F2	0	$0,28 \pm 0,03^A$	$2,81 \pm 0,43^A$
	1	$0,51 \pm 0,07^B$	$4,45 \pm 0,77^{BC}$
	2	$0,45 \pm 0,05^B$	$3,50 \pm 0,51^{BC}$
	3	$0,48 \pm 0,02^B$	$3,75 \pm 0,33^{BC}$
	4	$0,52 \pm 0,01^B$	$5,39 \pm 1,37^{BC}$
	5	$0,10 \pm 0,07^C$	$3,00 \pm 0,56^C$
	6	$0,08 \pm 0,04^C$	$3,40 \pm 0,17^{BC}$

Las mediciones con diferentes letras minúsculas (F1) y mayúsculas (F2) en cada columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Respecto a F1 se puede observar que a $t=0$ presentó un valor de $W= 0,6$ J. A medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento, el valor de W aumentó significativamente indicando un incremento de gomosidad que provocó una mayor demanda de energía para alcanzar la ruptura. A partir de $t=4$ se produjo un descenso significativo en los valores de W , lo que podría ser indicio del comienzo del colapso estructural del caramelo. Este colapso fue apreciado visualmente como una reducción de tamaño y una deformación del caramelo, observándose aplastado. Este resultado también se condice con la disminución significativa de la F_{max} que se registró en el ensayo instrumental a partir de $t=4$ (**Figura 32**)

En el caso de F2 a $t=0$, el valor de W fue significativamente menor respecto de F1, en concordancia con que el caramelo presentó más crocancia y fragilidad. En el período comprendido entre $t=1$ y $t=4$ los valores de W aumentaron significativamente indicando una pérdida de crocancia y fracturabilidad respecto al caramelo recién elaborado. Luego, se puede observar que a partir de $t=5$ los valores de W disminuyeron de forma significativa, hecho que estuvo asociado a una pérdida de las propiedades estructurales originales del caramelo.

Finalmente, los valores de ΔF_{max} a $t=0$ para ambos caramelos resultaron significativamente menores respecto a los demás tiempos de almacenamiento. Este hecho se relaciona con que los caramelos recién elaborados mostraron mayor crocancia y fracturabilidad que los caramelos almacenados. Se destaca que en el caso de F2 los valores de ΔF_{max} fueron muy inferiores a los de F1 en todo el estudio de almacenamiento, en concordancia con la textura más crocante y fracturable de esta formulación.

El comportamiento textural observado en F2 en el almacenamiento mostró una importante disminución de la dureza y la crocancia, lo cual no sería esperable en un material cuya T_g es muy cercana a la temperatura de almacenamiento (Roos, 1995). Sin embargo, algunas características de textura no siempre pueden explicarse en base a la T_g . Estudios realizados en distintos productos panificados y extrudados mostraron que se presentaron cambios importantes en la crocancia de los mismos en el estado vítreo (Le Meste y col., 1996; Roudaut y col., 1998;

Nicholls y col., 1995). Los eventos microestructurales subyacentes no fueron totalmente elucidados. Sin embargo, se detectaron relajaciones secundarias a temperaturas inferiores a la T_g en panes secos y extrudados, por análisis térmico dinámico-mecánico y por espectroscopía dieléctrica (Le Meste y col., 1996; Roudaut y col., 1998). De acuerdo con Roudaut y col (1998), estos cambios texturales podrían relacionarse con relajaciones sub- T_g que pueden ocurrir a 25°C o podrían asociarse a movimientos que preceden el comienzo (onset) de la transición vítrea (relajaciones α). Por lo tanto los resultados observados en F2 podrían estar relacionados con este tipo de relajaciones que pueden afectar la textura a valores de $(T-T_g)$ cercanos a cero.

4.4.1.2. *Análisis sensorial*

La **Figura 34** muestra el análisis de textura realizado por el panel sensorial entrenado durante el almacenamiento. En general se observó que los resultados obtenidos con el panel entrenado fueron concordantes tanto con los obtenidos con el estudio instrumental de textura como con la prueba de intensidad de nivel realizada con consumidores. Respecto al atributo dureza (**Figura 34a**) los valores decrecieron significativamente con el tiempo de almacenamiento para las dos formulaciones de caramelos. Se observó un mayor decrecimiento en los valores del atributo dureza en el caramelo F1, siendo percibido similar a la clara de huevo (valor= 2,5) luego de 6 meses de almacenamiento, mientras que para el mismo tiempo la dureza de F2 se percibió similar a la de la aceituna (valor= 6,0) de la escala de referencia propuesta por Hough y Contarini (1994) (**Planilla 10 - Anexo**).

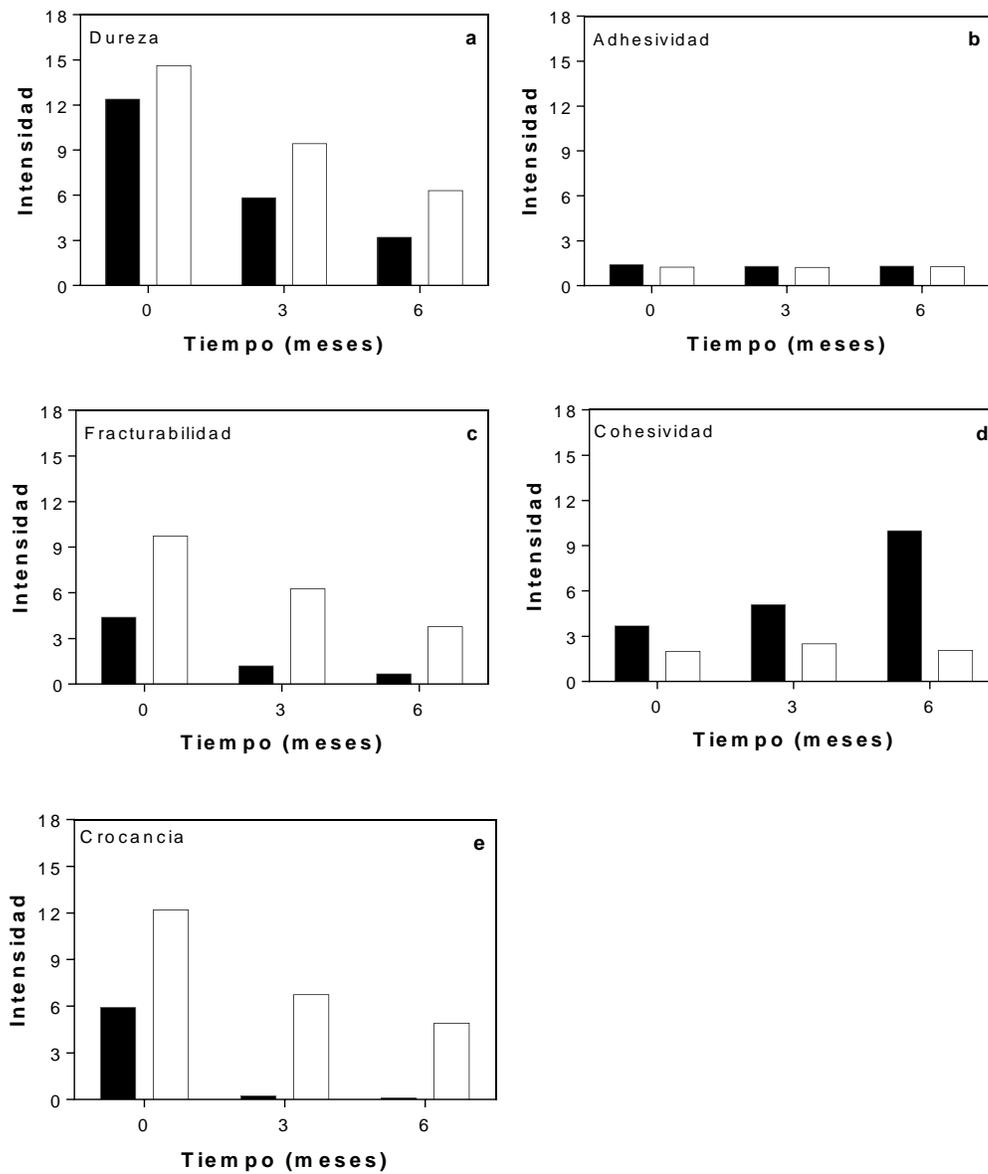


Figura 34 - Intensidad promedio para cada atributo percibida por los miembros del panel entrenado para los caramelos liofilizados correspondientes a F1 (barra blanca) y F2 (barra negra) durante el tiempo de almacenamiento a 25°C: dureza **(a)**, adhesividad al paladar **(b)**, fracturabilidad **(c)**, cohesividad **(d)**, y crocancia **(e)**.

La **Figura 34b** muestra los valores de adhesividad al paladar, los cuales se mantuvieron bajos y constantes a lo largo del tiempo de almacenamiento para ambas formulaciones. Este atributo fue percibido de manera similar que en la margarina (valor= 1) de la escala de referencia propuesta por Hough y Contarini (1994) (**Planilla 11 - Anexo**).

En el caso del atributo fracturabilidad (**Figura 34c**), el caramelo F2 presentó valores más altos que los de F1 para todos los tiempos estudiados. Además, este atributo mostró un decrecimiento significativo con el tiempo de almacenamiento en ambos caramelos. La miel utilizada en la formulación F1 condujo a obtener una estructura compacta, mientras que el caramelo endulzado con isomalta presentó una estructura más frágil y porosa.

Los valores de cohesividad (**Figura 34d**) se incrementaron significativamente a lo largo del tiempo para el caramelo F1, mientras que para el caramelo F2 estos valores se mantuvieron constantes. Esto podría indicar que la gomosidad se incrementó en el caramelo F1 con el transcurso del tiempo, requiriendo realizar más compresión antes de romperlo. Estos resultados son coherentes con un material almacenado a temperaturas superiores a su T_g , que con el tiempo se va tornando más gomoso.

Finalmente, la **Figura 34e** muestra los valores de crocancia. Se observó una disminución significativa en la intensidad de la crocancia a lo largo del almacenamiento. El caramelo F1 perdió completamente este atributo dentro de los primeros 3 meses de almacenamiento a 25°C, tornándose más suave y masticable. Por otro lado, en F2 disminuyó la crocancia a lo largo del tiempo, en paralelo con la disminución de la fracturabilidad y la dureza.

4.4.1.3. *Análisis de imágenes*

La **Figura 35** muestra las imágenes obtenidas mediante SEM con una magnificación de 250x, para muestras de un corte transversal de los caramelos F1 y F2 almacenados durante 0, 3 y 6 meses. Como se puede observar, en ambos casos los caramelos frescos ($t=0$) presentaron

una microestructura porosa, desorganizada y con irregularidades, aunque muy diferente para las dos formulaciones.

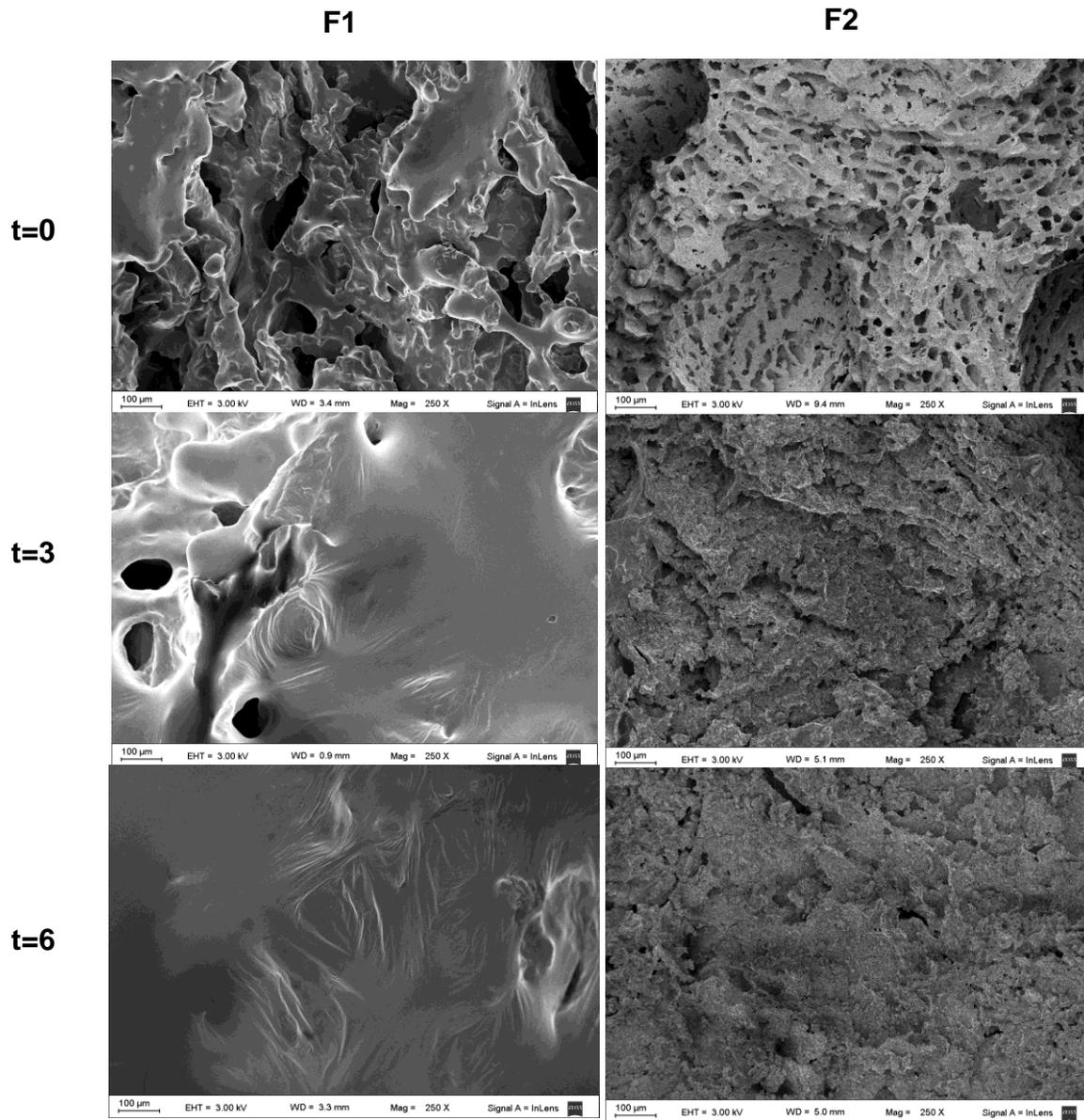


Figura 35 - Micrografías SEM obtenidas a una magnificación de 250x para los caramelos liofilizados almacenados a diferentes tiempos.

Esto se encuentra en concordancia con lo reportado por Mousavi y col. (2007), quienes establecieron que durante la etapa de congelación del proceso de liofilización el crecimiento de

los cristales de hielo rompe, empuja y comprime el material a secar, lo cual se traduce en una formación de poros y cavidades una vez sublimado el hielo. Sin embargo, a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento se observó un cambio en la microestructura de los caramelos. Las micrografías para F1 mostraron que al aumentar el tiempo, la microestructura de los caramelos se tornó más suave y uniforme; en los caramelos almacenados durante 3 meses ($t=3$) se observa una considerable reducción en la cantidad de poros, mientras que en aquellos almacenados durante 6 meses ($t=6$) no se observaron poros. En el caso de F2, se generó una estructura un poco más organizada y con menor porosidad, sin embargo, los cambios no fueron tan marcados.

En la **Tabla 14** se presentan los valores de los parámetros texturales obtenidos mediante la utilización de la GLCM. El parámetro contraste (CON) está relacionado con la dureza, así un aumento de este parámetro indica una mayor dureza. Para ambos caramelos se observó una tendencia decreciente del valor de CON a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento, lo cual indicaría que la dureza de los caramelos disminuyó. Por otra parte los valores de CON obtenidos para F2 fueron mayores que los correspondientes a F1, lo cual indicaría que los caramelos endulzados con isomalta-estevia presentaron una mayor dureza a lo largo del estudio de almacenamiento.

En cuanto al parámetro energía (AMS), éste es indicativo de la uniformidad, cuanto mayor es el valor de AMS más uniforme es la muestra. En el caso de F1 se observó un aumento del valor de ASM, lo cual indica que a medida que transcurrió el tiempo el caramelo endulzado con miel se tornó más uniforme. Para F2 el valor de AMS no presentó cambios importantes, mostrando solo un leve aumento a los 6 meses de almacenamiento. Esto indicaría que este caramelo se mantuvo relativamente uniforme a lo largo del tiempo.

Tabla 14 - Parámetros de textura obtenidos en el análisis de imágenes para los caramelos liofilizados almacenados a diferentes tiempos.

Tiempo (meses)	Parámetros de textura (GLCM)		
	CON	ASM	
F1	0	0,39	0,37
	3	0,24	0,64
	6	0,12	0,78
F2	0	0,81	0,14
	3	0,77	0,14
	6	0,66	0,16

4.4.1.4. Integración de resultados de textura

Se realizó un análisis de componentes principales del perfil textural descriptivo de los caramelos liofilizados (**Figura 36**). Para ello se consideraron los datos de textura obtenidos por los tres métodos descritos previamente. Debido a que estos métodos no poseen las mismas escalas, se realizó una normalización previa de los datos. Los dos componentes principales (CP1 y CP2) explicaron el 92,7% de la variabilidad de los datos para ambas formulaciones al cabo del almacenamiento.

El CP1 explicó el 71,4% de la variabilidad de los datos, con los siguientes coeficientes de correlación para cada atributo: dureza instrumental (0,67), dureza sensorial (0,72), CON (0,96), fracturabilidad sensorial (0,96), cohesividad sensorial (0,88), crocancia sensorial (0,96), ASM (0,95), ΔF_{\max} (0,92) y W (0,41). La variabilidad del parámetro W fue explicada mayoritariamente por el CP2 con un coeficiente de correlación de 0,71.

Analizando la **Figura 36**, la primera observación que se puede realizar es que las muestras correspondientes a F1 y F2 a $t=0$ se agruparon del lado derecho del gráfico, mostrando que sus propiedades texturales se encuentran caracterizadas por la dureza (evaluada por los tres métodos), la fracturabilidad y la crocancia. Para los atributos mencionados, F2 presentó valores mayores que F1.

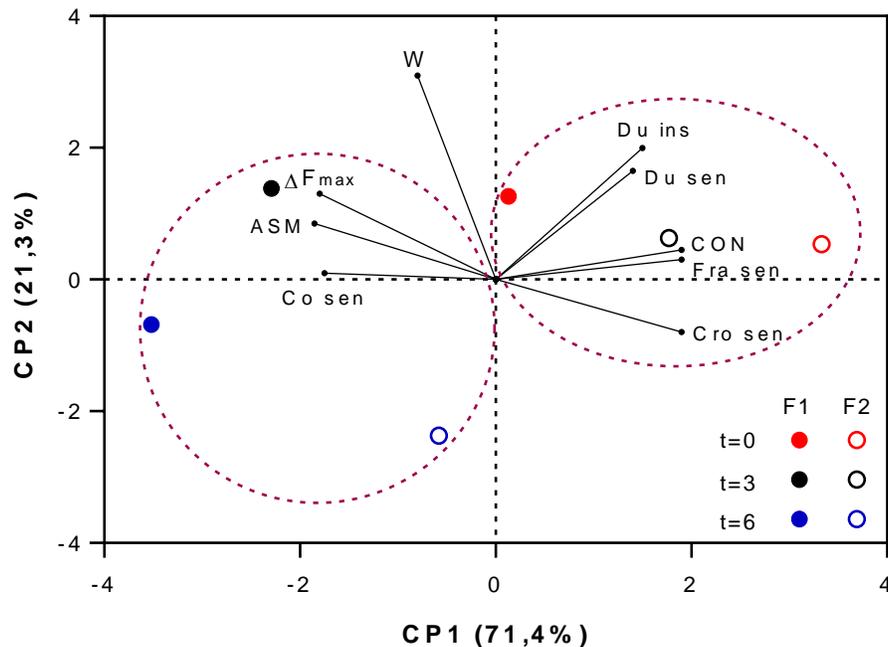


Figura 36 – Gráfico de los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2) generado para las variables texturales analizadas y los datos correspondientes a los caramelos F1 y F2 almacenados a distintos tiempos ($t=0$, $t=3$ y $t=6$).

Codificación: Du ins= dureza instrumental, Du sen= dureza sensorial, CON= contraste, Fra sen= fracturabilidad sensorial, Co sen= cohesividad sensorial, Cro sen= crocancia sensorial, ASM= energía, ΔF_{max} = distancia correspondiente a la fuerza, W= energía o trabajo.

Respecto a F1, a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento las muestras se desplazaron hacia el lado izquierdo del gráfico y las características texturales a t=6 pasaron a estar gobernadas por los atributos ASM y ΔF_{\max} y la cohesividad. En el t=3, los caramelos F1 presentaron propiedades intermedias entre t=0 y t=6. Es interesante destacar que estos atributos están en dirección opuesta a los que predominan en la muestra a t=0, indicando que el caramelo perdió su alta dureza, fracturabilidad y crocancia para pasar a ser más gomoso y homogéneo, y experimentó un mayor grado de deformación (ΔF_{\max}); acentuándose estas características en la muestra correspondiente a t=6. La pérdida de dureza se encuentra en concordancia con la disminución de la F_{\max} en el estudio instrumental (**Figura 33**), la disminución en la percepción de dicho atributo por parte de los jueces entrenados (**Figura 34a**) y el decrecimiento del valor del parámetro CON en el estudio de imágenes (**Tabla 14**). Además, el caramelo se tornó más suave y masticable, lo cual se encuentra estrechamente relacionado con lo descrito respecto al aumento de cohesividad (**Figura 34d**) y la disminución de crocancia (**Figura 34e**) por parte de los jueces del panel sensorial de textura, como así también con el aumento del parámetro textural AMS en el estudio de imágenes (**Tabla 14**).

Por su parte, en F2 también se observó un desplazamiento hacia el lado izquierdo del gráfico, pero en menor intensidad que lo observado para F1. En la muestra correspondiente a t=3 continuaron prevaleciendo la dureza, la crocancia y la fracturabilidad como los principales atributos característicos, sin embargo hubo una notable disminución en su percepción en comparación con la muestra t=0; mientras que en la muestra t=6 dichas características desaparecieron, marcando una pérdida completa de la textura original del producto. En este caso la liofilización permitió obtener un caramelo duro pero muy poroso, lo cual se encuentra evidenciado por la micrografía correspondiente a t=0 obtenida en el estudio de textura por imágenes (**Figura 35**). Sin embargo con el paso del tiempo estas características se perdieron completamente. Esto se correlaciona con los datos obtenidos en el estudio instrumental, al llegar al sexto mes se registró una caída del 60% en el valor de F_{\max} respecto al valor obtenido para el

caramelo fresco (**Figura 33**). A su vez, en el estudio de textura sensorial los jueces entrenados también detectaron un cambio considerable, la dureza pasó de tener un valor de 14 a $t=0$ a un valor de 6 a $t=6$ (**Figura 34a**), lo cual en términos porcentuales representa una disminución del 65%. Por otra parte, la pérdida de las características del caramelo estuvo relacionada con la disminución de crocancia descrita por parte de los jueces entrenados (**Figura 34e**)

Este análisis permitió interpretar la evolución de la textura de las dos formulaciones de caramelos de manera integral, mostrando una buena correlación entre las distintas técnicas empleadas.

4.4.2. Propiedades fisicoquímicas

La humedad y la a_w de ambos caramelos liofilizados no presentaron diferencias significativas manteniéndose constantes durante el almacenamiento. Respecto a la acidez total (**Figura 37**), se pudo observar que en F1, el valor de esta propiedad se incrementó significativamente con el tiempo de almacenamiento, sin embargo, los cambios fueron cuantitativamente pequeños, y no fueron percibidos en el estudio de nivel de intensidad por parte de los consumidores (**Figura 22**). El aumento de acidez en las muestras F1 podría deberse a la oxidación de la glucosa por acción de la glucosa oxidasa (ambas provenientes de la miel). La miel es un producto naturalmente muy ácido y contiene una amplia gama de ácidos orgánicos tales como glucónico, oxálico, butírico, cítrico, málico, entre otros. Entre estos, el predominante es el ácido glucónico, el cual se genera como un subproducto de la actividad enzimática de la enzima glucosa oxidasa (Prica y col., 2014). Por otro lado, en los caramelos F2 se observó una leve disminución no significativa de la acidez en el almacenamiento.

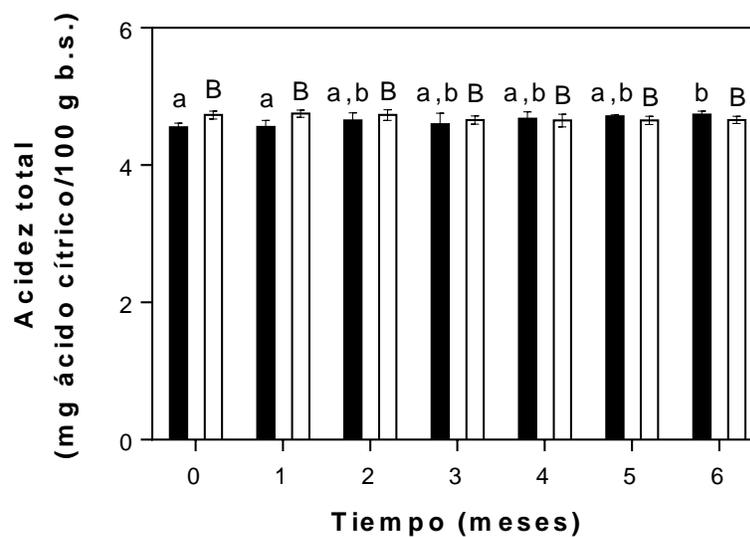


Figura 37 – Acidez total de caramelos liofilizados F1 (barra negra) y F2 (barra blanca) almacenados durante 6 meses.

4.4.3. Propiedades funcionales

En esta sección se analizó la evolución de los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en el tiempo de almacenamiento a 25°C.

La **Figura 38** muestra la retención porcentual de AMT (**Figura 38a**) y CPT (**Figura 38b**) de los caramelos liofilizados durante 6 meses.

Es interesante notar que la retención de los compuestos bioactivos fue elevada para las dos formulaciones de caramelos, cercana al 90% al concluir el almacenamiento. A todos los tiempos analizados, el decaimiento en las 2 variables fue levemente menor para F2 que para F1, sin embargo no fue significativamente diferente.

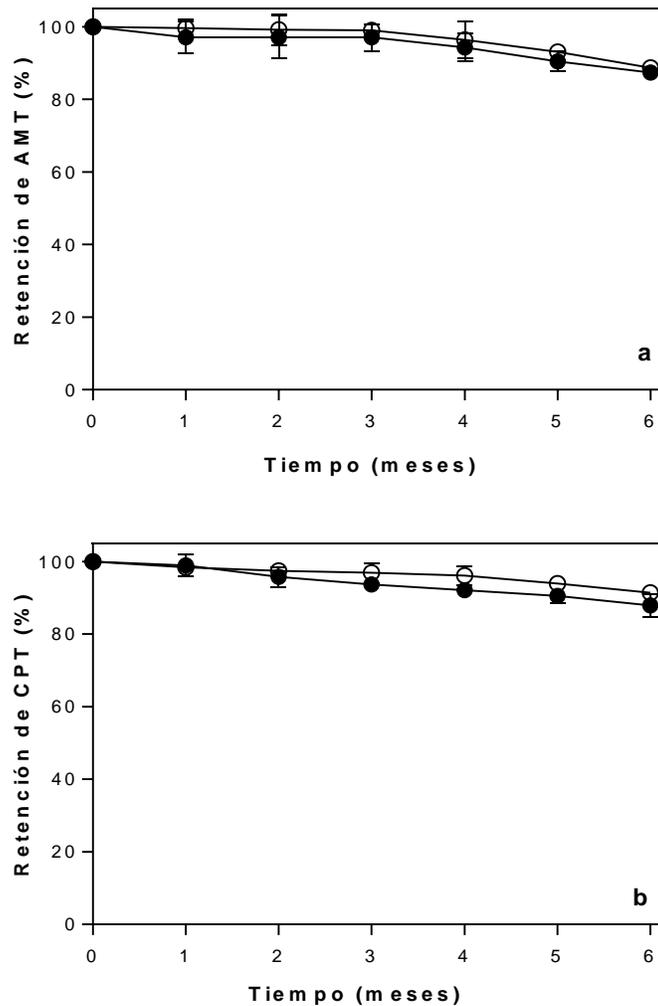


Figura 38 - Retención porcentual de compuestos bioactivos: AMT (**a**) y CPT (**b**), de los caramelos liofilizados F1 (●) y F2 (○) durante el almacenamiento a 25°C.

Fracassetti y col. (2013) estudiaron el efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento en polvos obtenidos a partir de arándano silvestre a diferentes temperaturas (25, 42, 60 y 80°C), e informaron un decaimiento del 3% en el contenido de antocianinas en los polvos de arándanos luego de 50 días de almacenamiento a 25°C. Estos autores observaron

que a bajas temperaturas la descomposición de las antocianinas se produce de manera lenta, mientras que a medida que se incrementa la temperatura la velocidad de destrucción aumenta llegando prácticamente a un 95% a 80°C. Sinela y col. (2017) reportaron un comportamiento similar analizando la degradación de antocianinas de extractos de *Hibiscus sabdariffa*, que luego de un almacenamiento durante 60 días a 4°C alcanzó una pérdida aproximada del 11%. Estos datos concuerdan con los obtenidos para los caramelos liofilizados, los cuales mostraron un bajo porcentaje de pérdida de AMT (~10%) luego de 6 meses de almacenamiento a 25°C.

Otro de los análisis realizados es el estudio de la capacidad antioxidante (CA) en el almacenamiento de los caramelos liofilizados. Pantelidis y col. (2007) estudiaron el contenido de compuestos fenólicos, antocianinas, ácido ascórbico y la capacidad antioxidante de frutas finas tales como frambuesas, moras, grosellas y cerezas demostrando que existe una alta correlación entre el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de las mencionadas frutas. Paixao y col. (2007) publicaron resultados similares, demostrando que existe una alta correlación entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de vinos blancos, rosados y tintos. Finalmente, si bien se trata de un producto diferente, Kim y col. (2007) demostraron que la capacidad antioxidante de cebadas presenta una alta correlación con su contenido de proantocianidinas y compuestos fenólicos. Por lo tanto, independientemente de la naturaleza del alimento, siempre existe una correlación directa y positiva entre el contenido de antocianinas y compuestos polifenólicos con la capacidad antioxidante del mismo.

El análisis de la CA se realizó por los 3 métodos previamente empleados en la caracterización de los caramelos: extracción química convencional y digestión *in vitro* (métodos GAR y QUENCHER), durante el almacenamiento a 25°C. Los valores de CA en el almacenamiento siguieron la misma tendencia que aquellos obtenidos para los caramelos recién elaborados en el estudio de caracterización (**Tabla 12**): los valores obtenidos luego de la aplicación del método QUENCHER fueron notablemente más elevados que los registrados con

los otros dos métodos. Además, los valores obtenidos luego de la aplicación del método GAR fueron más elevados que los alcanzados mediante la extracción química convencional. Al igual que lo observado para los compuestos bioactivos, la retención en la capacidad antioxidante fue muy elevada (>75%) para los tres métodos empleados (**Figura 39**). Este resultado es prometedor, y estaría indicando que los compuestos bioactivos conservaron sus propiedades en el almacenamiento, pudiendo recuperarse al atravesar el proceso digestivo.

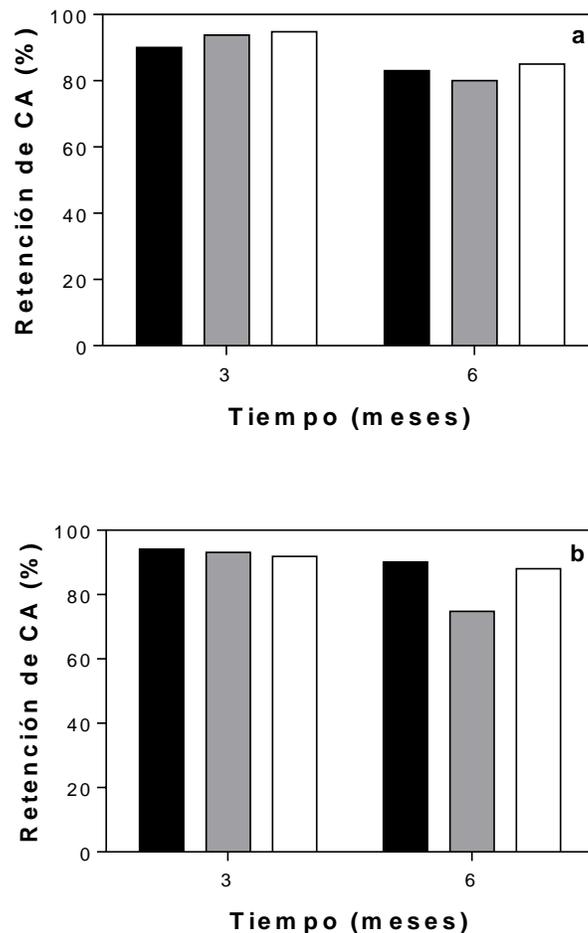


Figura 39 - Retención porcentual de CA en el almacenamiento. Valores obtenidos a partir de la extracción química (barra negra), y de las fracciones soluble (método GAR, barra gris) e insoluble (método QUENCHER, barra blanca) después de la digestión *in vitro* para los caramelos liofilizados F1 (**a**) y F2 (**b**) almacenados a 25°C.

4.5. Vida útil

La vida útil de un alimento representa el período de tiempo dentro del cual el mismo mantiene sus características organolépticas inalteradas y es seguro, de modo que no representa un riesgo para la salud de los consumidores.

La finalización de la vida útil de un alimento puede estar relacionada modificaciones de sus propiedades fisicoquímicas y/o microbiológicas, o porque sus propiedades sensoriales se deterioraron hasta hacer que el alimento sea rechazado. En este sentido, es importante poder tener conocimiento de cómo impacta sobre los consumidores la intensidad de todos aquellos atributos que se desvían de lo que sería considerado como ideal. El análisis de penalizaciones es una herramienta muy útil y permite evaluar el efecto de aquellos atributos cuya intensidad ha resultado mayor (+) o inferior (-), desviándose del punto ideal. Permite obtener información respecto de cómo influyen sobre la aceptación del producto y en qué medida son penalizados/castigados dichos desvíos por parte de los consumidores, pudiendo de esa manera detectar los cambios direccionales que un atributo debe tomar para lograr acercarse a su punto ideal. Generalmente se establece un “límite crítico” delimitado por el grado de penalización (hasta 1) y el número de consumidores (hasta 30%). Así, todos aquellos atributos que se encuentran fuera del límite crítico son considerados como los de mayor impacto negativo sobre la aceptabilidad del producto (Cadot y col., 2010; Ares y col., 2014).

La **Figura 40** muestra la evolución de los diferentes atributos sensoriales en función del nivel de intensidad y la satisfacción global percibida por los consumidores estudiados en los caramelos liofilizados durante diferentes tiempos de almacenamiento.

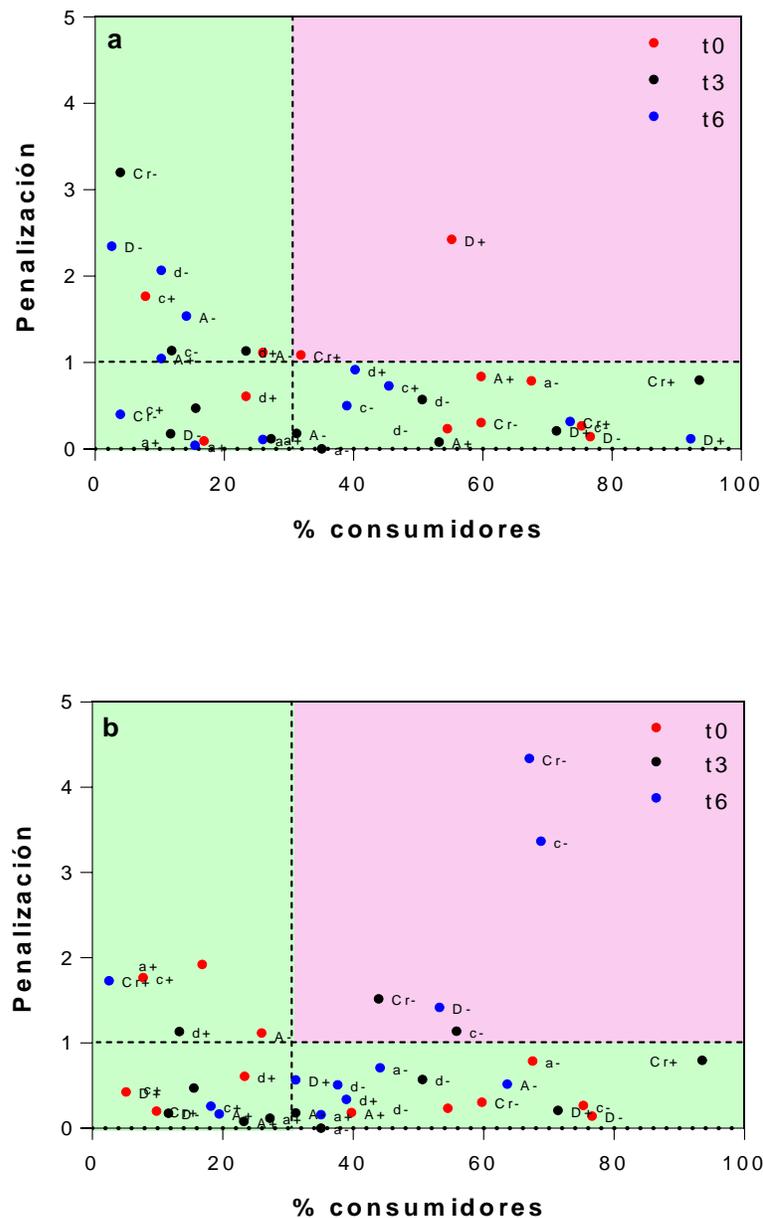


Figura 40 - Penalización de diferentes atributos en función del porcentaje de consumidores que establecieron un desvío superior (+) o inferior (-) respecto del punto ideal para F1 (a) y F2 (b) estudiados a diferentes tiempos de almacenamiento.

Codificación: D= dureza, A= adhesividad al paladar, Cr= crocancia, c= color, d= gusto duce, a= gusto ácido.

En el caso de F1 (**Figura 40a**), la elevada dureza (D+) y crocancia (Cr+) fueron las características penalizadas en los caramelos recién elaborados, lo cual hizo que solo un 43% de los consumidores manifestaran categorías de agrado (**Figura 31a**). Sin embargo, como muestra el análisis instrumental y la prueba sensorial en el apartado de propiedades texturales (**ítem 4.3.3.**), a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento se observó una disminución en la intensidad de estos atributos. Asimismo, es interesante destacar que las prueba de satisfacción de atributos mostró que lo cambios producidos en la dureza y la crocancia (**Figura 25a y Figura 27a** respectivamente) de los caramelos fueron valorados de manera positiva, y a su vez esto condujo a un mayor grado de satisfacción global por parte de los consumidores a t=6 (75%) respecto a t=0 (43%) (**Figura 31a**). En consecuencia, estos cambios permitieron reducir el grado de penalización por parte de los consumidores, logrando que ambos atributos estuvieran dentro de los niveles del límite crítico establecido. Estos resultados estarían indicando que para lograr un producto que sea aceptable por un mayor porcentaje de consumidores desde el comienzo, se debe realizar una reformulación para lograr un mejoramiento de las características texturales, haciendo énfasis en los atributos que fueron evaluados positivamente en los ensayos sensoriales. En base a estos resultados, y al análisis de la estabilidad de las propiedades fisicoquímicas y funcionales, se podría decir que la vida útil de los caramelos endulzados con miel-isomalta alcanzaría los 6 meses de almacenamiento. Sin embargo, si se tiene en cuenta una definición más estricta de la vida útil, considerando que no deben producirse cambios apreciables en el producto, entonces la vida útil sería más corta.

Respecto a F2 (**Figura 40b**), el atributo con mayor impacto negativo fue la crocancia. La disminución de la intensidad de este atributo (Cr-) fue penalizada por parte de los consumidores a partir de los 3 meses de almacenamiento alcanzando un grado de penalización superior a 4,0 por más del 60% de los consumidores luego de los 6 meses de almacenamiento. La reducción de color (c-) de los caramelos, también fue juzgada por los consumidores, escapando del límite crítico establecido, pasando de ser leve (t=3) a altamente (t=6) penalizado por parte de los

consumidores. La baja dureza (D-) alcanzada a los 6 meses de almacenamiento también fue penalizada. Los cambios mencionados condujeron a un mayor grado de rechazo de los caramelos. Esto se condice con el aumento en la cantidad de consumidores que calificaron a los caramelos con categorías de rechazo en la prueba de satisfacción global (**Figura 31b**). En base a estos resultados junto a lo observado en los estudios de estabilidad fisicoquímica y funcional, se podría decir que la vida útil de los caramelos endulzados con isomalta-estevia alcanzaría los 3 meses. A los 6 meses de almacenamiento, los cambios texturales y de color fueron muy pronunciados y llevaron a que solo un 33% de los consumidores presentara categorías de agrado por el producto. Si bien se podría considerar realizar estudios entre los 3 y 6 meses, mediante el análisis de penalización se pudo detectar que a partir de los 3 meses, aunque con un nivel bajo, ya aparecen tres de los atributos sensoriales estudiados en el sector crítico. Esto indicaría que a tiempos mayores sería de esperar que esto se agrave, haciendo imposible aumentar el tiempo de vida útil de estos caramelos.

Finalmente se podría inferir que la vida útil de los caramelos desarrollados se vio limitada por la ocurrencia de cambios en las características texturales y el color. En este sentido, resulta indispensable buscar las estrategias adecuadas que permitan mejorar y mantener estables las características de ambos caramelos en el tiempo de vida útil.



5. CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

Se desarrollaron dos formulaciones de caramelos liofilizados en base a grosella negra y yogur. Una formulación se endulzó con miel-isomalta (F1), y la otra se endulzó con isomalta-estevia (F2) con el fin de obtener caramelos reducidos en calorías. El estudio de aceptabilidad sensorial empleado para explorar la percepción de los consumidores respecto de los caramelos liofilizados mostró un alto número de asociaciones positivas, sugiriendo que estos productos podrían tener buena aceptación en el mercado. En función de estos resultados, se realizó una caracterización completa de los caramelos y un estudio de estabilidad en el tiempo a temperatura ambiente.

En cuanto a los compuestos bioactivos:

- Los caramelos desarrollados resultan una alternativa interesante y más saludable para niños y adultos, en reemplazo de los productos de escaso valor nutricional que se encuadran dentro de la categoría de “golosinas”. En este sentido, la capacidad antioxidante de ambas formulaciones de caramelos fue similar a la de las frutas como el kiwi y la manzana; este es un aspecto positivo si se considera que las golosinas convencionales tienen propiedades funcionales deficientes o nulas.
- Luego de la digestión *in vitro*, se mantuvo una alta capacidad antioxidante en la fracción insoluble, lo que sugiere una contribución relevante, ya que los compuestos antioxidantes no extraíbles podrían producir un efecto biológico positivo en la microbiota intestinal.

En cuanto a las propiedades físicas y texturales:

- Las dos formulaciones de caramelos presentaron diferencias muy importantes desde el punto de vista físico, las cuales pudieron atribuirse a los endulzantes empleados. El caramelo endulzado con miel-estevia presentó una temperatura de transición vítrea mucho menor a la del caramelo endulzado con isomalta-estevia, lo cual determinó propiedades texturales radicalmente distintas.
- Estos resultados recalcan la importancia de la influencia de la composición sobre la temperatura de transición vítrea de alimentos deshidratados, y también resaltan la posibilidad de obtener productos con características mecánicas distintas a partir de modificar el endulzante empleado.
- El estudio de las propiedades texturales es muy complejo, en este trabajo se destaca el análisis de textura empleando tres técnicas diferentes, un análisis instrumental tradicional, un panel entrenado de textura sensorial y un estudio de imágenes SEM y empleo de una matriz de co-ocurrencia del nivel de gris (GLCM). Esta combinación de técnicas permitió hacer una caracterización integral de las propiedades de textura de los caramelos liofilizados.

En cuanto a la estabilidad y la vida útil:

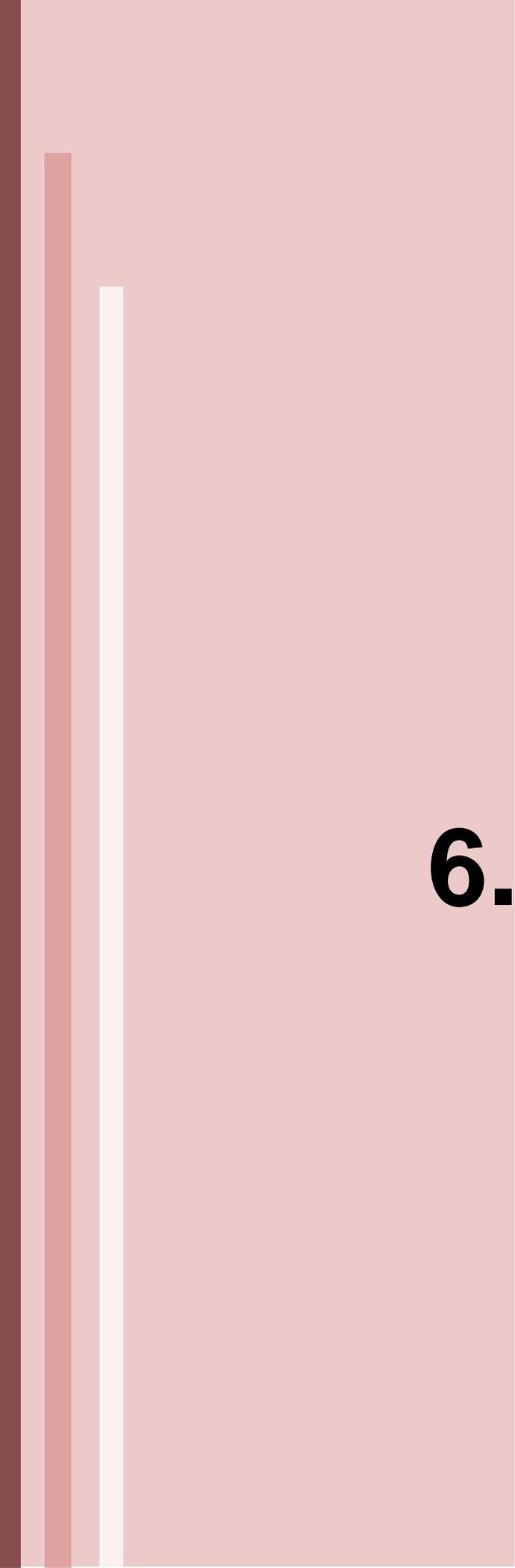
- Las formulaciones correspondientes a ambos caramelos mostraron una elevada retención de compuestos bioactivos luego del almacenamiento, indicando que la vida útil de estos productos no estaría limitada por el deterioro funcional de los mismos.
- La capacidad antioxidante de los caramelos almacenados a distintos tiempos se conservó luego de la digestión *in vitro*, demostrando que los compuestos bioactivos mantienen sus características funcionales luego del proceso digestivo.

- Las tres técnicas de análisis textural empleadas resultaron de gran utilidad en el estudio de estabilidad. Las técnicas de análisis instrumental y sensorial pusieron de manifiesto los cambios producidos a nivel macroestructural y su impacto sobre los consumidores, mientras que el estudio mediante el análisis de imágenes permitió tener un mejor entendimiento de los cambios producidos a nivel microestructural. Estas técnicas mostraron una buena correlación entre sí, permitiendo tener un análisis integral de las propiedades texturales de los caramelos y sus modificaciones a lo largo del almacenamiento.
- El estudio sensorial con consumidores permitió identificar los atributos que limitan la vida útil de los caramelos liofilizados. Las dos formulaciones presentaron características muy diferentes, y su vida útil resultó limitada por distintas razones. En el caso de F1, la elevada dureza y crocancia del caramelo fresco impactaron de manera negativa sobre los consumidores, sugiriendo que se debe considerar realizar cambios en la formulación de manera de lograr una mayor aceptación inicial del producto. Por otro lado, la crocancia y el color fueron los atributos limitantes de la vida útil de la formulación F2, los cambios en estos atributos comenzaron a ser detectados y rechazados por parte de los consumidores a partir del tercer mes de almacenamiento. En cuanto a este caramelo, los cambios de color se asociaron principalmente al deterioro de las antocianinas en la superficie del caramelo, y también al pardeamiento no enzimático.

CONCLUSIONES FINALES

Este trabajo muestra que mediante el desarrollo de los caramelos liofilizados es posible obtener productos de alta calidad y buena aceptabilidad, dándole un valor agregado a la grosella negra, que se consume muy poco como fruta fresca debido a su alta acidez, y también a las frutas que no cumplen con los estándares de calidad para ser comercializadas para el

consumo directo. La prueba sensorial cualitativa de asociación de palabras indicó que a pesar de tratarse de productos nuevos, el aspecto general de los caramelos fue aceptado por el público marcando un buen punto de partida para el desarrollo de este tipo de productos. La utilización de diferentes endulzantes permitió obtener dos productos con características físicas, texturales y sensoriales completamente diferentes. A pesar de que la contribución de CPT y CA no fue influyente, en este trabajo se valora la utilización de miel como endulzante en F1 debido a que se trata de un endulzante natural, que le otorga un flavor y una masticabilidad característica al producto elaborado. Sin embargo es importante considerar que se trata de un fluido viscoso que no puede agregarse en cantidades elevadas porque influye de manera negativa en las características texturales del producto. Los cambios de textura producidos en F1 durante el almacenamiento aportaron una mayor suavidad y masticabilidad a los caramelos, llevando a una mayor satisfacción global del producto; mientras que en el caso de F2 los cambios texturales producidos disminuyeron la satisfacción global de los caramelos. La vida útil de los caramelos desarrollados se vio limitada por la ocurrencia de cambios en las características texturales y el color. Para subsanar estos inconvenientes se podrían realizar modificaciones en la composición de las formulaciones. Con respecto a los cambios de color, los estudios deberían enfocarse en reducir la ocurrencia de pardeamiento. En cuanto a los cambios texturales, las estrategias a evaluar no serían las mismas para F1 y F2. En el caso de F1, se debería favorecer la textura más masticable desde un comienzo, dado que esta característica fue muy bien valorada por los consumidores. Esta modificación implica el desafío de lograr un producto deshidratado de baja T_g sin tener cambios estructurales significativos en el tiempo de vida útil. Con respecto a F2, se podría incorporar algún ingrediente que conduzca a una mayor estabilidad física del producto.



6. BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process, and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58: 1688 - 1713.
- Addai, Z. R., Abdullah, A., Sahilah Abd, M., & Khalid, H. M. (2016). Evaluation of fruit leather made from two cultivars of papaya. *Italian Journal of Food Science*, 1: 73 - 82.
- Agencia De Extensión Rural El Bolsón – INTA. (2019). Disponible en: http://sipan.inta.gov.ar/productos/ssd/vc/neuquen/ap/ribes_descripcion.htm.
- Agudelo Laverde, L. M. (2012). Interacciones agua-sólido en frutas liofilizadas y sus consecuencias sobre aspectos estructurales, atributos cromáticos y distribución espacial de la luz. (Tesis de Doctorado). Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Albert, A., Vaela, P., Salvador, A., Hough, G., & Fiszman, S. (2011). Overcoming the issues in the sensory description of hot served food with a complex texture. Application of QDA, flash profiling and projective mapping using panels with different degrees of training. *Food Quality and Preference*, 22: 463 – 473.
- Al-Swayeh, O. A., & Ali, A. T. M. M. (1998). Effect of ablation of capsaicin sensitive neurons on gastric protection by honey and sucralfate. *Journal of Hepato-Gastroenterology* 45: 297 - 302.
- Anglea, S., Karathanos, V., & Karel M. (1993). Low temperature transitions in fresh and osmotically dehydrated plant materials. *Biotechnology Progress*, 9, 204 - 209.
- Anton, A. A., & Luciano, F. B. (2007). Instrumental texture evaluation of extruded snack foods: a review. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(4): 245 - 251.

-
- Anttonen, M. J., & Karjalainen, R. O. (2006). High-performance liquid chromatography analysis of black currant (*Ribes nigrum* L.) fruit phenolics grown either conventionally or organically. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7530 - 7538.
- AOAC. (2005). Official methods of analysis of AOAC international. (18th ed.). Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemist.
- Aparna, A. R., & Rajalakshmi, D. (1999). Honey - its characteristics, sensory aspects, and applications. *Food Reviews International*, 15(4): 455 - 471.
- Aranda-González, I., Tamayo-Dzul, O., Barbosa-Martín, E., Segura-Campos, M., Moguel-Ordoñez, Y., & Betancur-Ancona, D. (2015). Desarrollo de una golosina tipo "gomita" reducida en calorías mediante la sustitución de azúcares con stevia rebaudiana B. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1): 334 – 340.
- Araya-Farías, M., & Ratti, C. (2008). Dehydration of Foods: General Concepts. In C. Ratti (Eds.), *Advances in food dehydration*. Estados Unidos.
- Ares, G., Dauber, C., Fernández, E., Giménez, A., & Varela, P. (2014). Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. *Food Quality and Preference*, 32: 65 – 76.
- Ares, G., Deliza, R., Barreiro, C., Giménez, A., Gámbaro, A. (2010). Comparison of two sensory profiling techniques based on consumer perception. *Food Quality and Preference*, 21: 417 – 426.
- Ares, G., Giménez, A., & Gámbaro, A. (2008). Understanding consumers' perception of functional yogurts using word association and hard laddering. *Food Quality and Preference*, 19: 636 - 643.
- Arévalo-Pinedo, A., Giraldo-Zuniga, A. D., Dos Santos, F. L., Arevalo, D. S. Z., & Arevalo, P. R. (2004). Sorption isotherms experimental data and mathematical models for murici pulp (*Byrsonima sericea*). In: Silva M., Rocha S. (eds): Drying 2004, Proceedings 14th Drying Symposium (IDS 2004). San Pablo, Brasil, A: 634–639.

-
- ASTM E2454 Standard. (2005). Standard guide for sensory evaluation methods to determine the sensory shelf life of consumer products. American Society for Testing of Materials, West Conshohocken, PA.
- Baldi Coronel, B. (2010). Aspectos bromatológicos. Componentes biológicos. En B. Baldi Coronel (Eds.), *La miel. Una mirada científica*. Argentina.
- Banović, M., Krystallis, A., Guerrero, L., & Reinders, M. J. (2016). Consumers as co-creators of new product ideas: An application of projective and creative research techniques. *Food Research International*, 87: 211 - 223.
- Bárceñas, P., Pérez Elartondo, F. J., & Albisu, M. (2000). Selection and screening of a descriptive panel for ewes milk cheese sensory profiling. *Journal of Sensory Studies* 15: 79 - 99.
- Barrera, G., Calderón-Domínguez, G., Chanona-Pérez, J., Gutiérrez-López, G., León, A. & Ribotta, P. (2013), Evaluation of the mechanical damage on wheat starch granules by SEM, ESEM, AFM and texture image analysis. *Carbohydrate Polymers*, 98: 1449 - 1457.
- Bataglia da Silva, L., Bonifácio Queiroz, M., Fadini, A. L., da Fonseca. R. C. C., Germer, S. P. M., & Efraim, P. (2016). Chewy candy as a model system to study the influence of polyols and fruit pulp (açai) on texture and sensorial properties. *LWT - Food Science and Technology*, 65: 268 – 274.
- Bellack, L. (1956). Freud and projective techniques. *Journal of Projective Techniques*, 20, 5 - 14.
- Bellows, R., & King, C. (1972). Freeze-drying of aqueous solutions: Maximum allowable operating temperature. *Cryobiology*, 9(6): 559 - 561.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino R. M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* 533: 185 - 191.
- Bernardi, L. A. (2018). Una dulce alternativa. *Alimentos Argentinos*, 53: 73 - 75.

-
- Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and color of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105: 822 – 828.
- Bhandari B. (2001). Glass transition in relation to stickness during spray drying. En: Food technology international. Sterling Publications: Londres.
- Bhandari, B. R., Howes, T. (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering* 40: 71 – 79.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6): 677 - 689.
- Botero-Valencia, J. S., & Restrepo-Martínez, A. (2010). Análisis de textura en panes usando la matriz de co-ocurrencia. *Revista Politécnica*, 6(10): 74 - 80.
- Brandle, J. E., Starratt, A. N. & Gijzen, M. (1998). Stevia rebaudiana: Its agricultural, biological, and chemical properties. *Canadian Journal of Plant Science*. 78: 527 – 536.
- Brandt, M. A., Skinner, L. Z., & Coleman, J. A. (1963). Texture profile method. *Journal of Food Science*, 28: 404 - 409.
- Bridle, P. & Timberlake, C. F. (1997). Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chemistry*, 58: 103 - 109.
- Brunauer, S., Emmett, P. H. & Teller E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60(2): 309 - 319.
- Bruzzone, I. (2009). Frambuesas, moras y grosellas. *Alimentos Argentinos*, 44: 25 – 29.
- Bruzzone, F. (2014). Aplicación de metodologías de caracterización sensorial con consumidores en el desarrollo de postres lácteos funcionales. (Tesis de Maestría). Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Buera M., & Karel, M. (1995). Effect of physical changes on the rates of nonenzymic browning and related reactions. *Food Chemistry*, 52: 167 - 173.

-
- Cadot, Y., Caillé, S., Samsonc, A., Barbeau, G., & Cheynier, V. (2010). Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by quantitative descriptive analysis, Just-About-Right analysis and typicality assessment. *Analytica Chimica Acta*, 660: 53 – 62.
- Caminti, A. (2013). Cultivo de grosella. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/manual_grosella1.pdf.
- Cammenga, H. K., & Zielazko, B. (1996). Thermal behaviour of isomalt. *Thermochimica Acta*, 271: 149 - 153.
- Carakostas, M. C., Curry, L. L., Boileau, A. C., & Brusick, D. J. (2008). Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring esteviol glycoside, for use in food and beverages. *Food and Chemical Toxicology*, 46(Suppl 7): S1 - S10.
- Cardello, A. V. (1998). Perception of food quality. En I. A. Taub y R.P. Singh (Eds.), *Food storage stability*. Estados Unidos.
- Cardello, A. V., Bell, R., & Kramer, F. M. (1996). Attitudes of consumers toward military and other institutional foods. *Food Quality and Preference*, 7(1): 7 – 20.
- Carrillo-Inungara, M. S., & Reyes-Munguía, A. (2013). Vida útil de los alimentos. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 2: 1 – 25.
- Castrejón, A. D. R., Eichholz, I., Rohn, S., Kroh, L. W., & Huyskens-Keil, S. (2008). Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. *Food Chemistry*, 109: 564 - 572.
- Castro Montero. E. (2007). Parámetros mecánicos y de textura de los alimentos. (Tesis de Doctorado). Universidad de Chile. Santiago de Chile, Chile.
- Cervenka, L. (2009). Moisture adsorption characteristics of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.), black elderberry (*Sambucus nigra* L.) and chokeberry (*Aronia melanocarpa*, [minchx.] ell.) samples at different temperatures. *Journal and Food Process Engineering*, 34(4): 1419 - 1434.

-
- Chang, S. S., Cook, J. M. (1983). Stability studies of stevioside and rebaudioside A in carbonated beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31: 409 – 412.
- Ciurzyńska, A., & Lenart, A. (2011). Freeze-Drying – Application in food processing and biotechnology – A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61(3): 165-171.
- Civille, G. V., & Szczesniak A. S. (1973). Guidelines to training a texture profile panel. *Journal of Texture Studies*, 4(2), 204 - 223.
- Clark, S., Costello, M. Drake, M. A. & Bodyfelt, F. (2009). *The sensory evaluation of dairy products*. (2nd. ed.). Nueva York, Estados Unidos.
- Código Alimentario Argentino. Ministerio de Salud y Desarrollo Social – ANMAT. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>.
- Corfield, R., Sosa, N., Archaina, D., Baldi Coronel, B., & Schebor, C. (2015). Desarrollo de bombones de arándanos y yogur liofilizados para su consumo directo o para ser incorporadas en mezclas de cereales. XV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Córdoba, Argentina.
- Costell, E. (2002). A comparison of sensory methods in quality control. *Food Quality and Preference*, 13: 341 - 353.
- Costell, E., & Fiszman, S. M. (1997). Propiedades físicas I: Reología de sólidos y textura. En: Aguilera, J. M. (Eds.), *Temas en tecnología de alimentos* (pp. 215 – 260). México.
- Cox, N., & Hinkle, R. (2002). Infant botulism. *American Family Physician*, 65: 1388 - 1392.
- Crammer, B., & Ikan, R. (1986). Sweet glycosides from the stevia plant. *Chemistry in Britain*, 22: 915 - 917.
- Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. (1st ed.). Nueva York, Estados Unidos.
- Damin, M. R., Alcantara, M. R., Nunes, A. P., & Oliveira, M. N. (2009). Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on

- acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yoghurt. *LWT – Food Science and Technology*, 42: 1744 – 1750.
- Delgado, A., & Rubiolo, A. (2005). Microstructural changes in strawberry after freezing and thawing processes. *LWT – Food Science and Technology*, 38: 135 - 142.
- Delgado-Andrade, C., Conde-Aguilera, J. A., Haro, A., de la Cueva, S. P., & Rufián-Henares, J. A. (2010). A combined procedure to evaluate the global antioxidant response of bread. *Journal of Cereal Science* 52: 239 - 246.
- Delgado-Vargas, F., Jimenez, A. R., & Paredes-López, D. (2000). Natural pigments: Carotenoides, anthocyanins and betalains - Characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3): 173 - 289.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., y Robledo, C. W. (2008). *InfoStat*, versión 2008. Grupo InfoStat, Córdoba, Argentina.
- Djordjevic, B., Savikin, K., Zdunic, G., Jankovic, T., Vulic, T., Pljevljakusic, D. & Oparnica, C. (2013). Biochemical properties of the fresh and frozen black currants and juices. *Journal of Medicinal Food*, 16: 73 - 81.
- Donoghue, S. (2000). Projective techniques in consumer research. *Journal of Family Ecology and Consumer Sciences*, 28, 47 - 53.
- Drake, M. A. (2007). Sensory Analysis of Dairy Foods. *Journal of Dairy Science*, 90: 4925 – 4937.
- Duel, C. L., & Plotto, A. (2004). Strawberries and raspberries. In Barrett, D.M., Somogyi, L., Ramaswamy, H., (Eds), *Processing fruits. Science and technology*. Estados Unidos.
- Durrani, A. M., Srivastava, P. K., & Verma, S. (2011). Development and quality evaluation of honey based carrot candy. *Journal of Food Science and Technology*. 48(4): 502 - 505.
- Earle, M., Earle, R. (2008). *Case studies in food product development*. CRC Press, Boca Raton.
- Espinosa-Mangugás, J. (2007). *Evaluación sensorial*. J. Espinosa-Mangugás (Eds.). Cuba

-
- Es-Safi, N. E., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2003). Implication of phenolic reactions in food organoleptic properties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16: 535 - 553.
- Es-Safi, N. E., Cheynier, V., Moutounet, M. (2000). Study of the reactions between (+)-catechin and furfural derivatives in the presence or absence of anthocyanins and their implication in food color change. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(1): 5946 – 5954.
- European Association of Polyol Producers (2019). Disponible en: <https://www.polyols-eu.org/polyols/isomalt>.
- Farroni, A. E., Guerrero, S., Buera, M. P. (2015). Sensorially and instrumentally detected antiplastizing effect of water in cornflakes. In G. F. Gutiérrez-López, L. Alamilla-Beltrán, M. P. Buera, J. Welti-Chanes, E. Parada-Arias, G. V. Barbosa-Cánovas (Eds.), *Water Stress in Biological, Chemical, Pharmaceutical and Food Systems*
- Fennema, O. R. (2000). *Química de los alimentos*. (2da. ed.). Zaragoza, España.
- Fisberg, M., Kovalskys, I., Gómez, G., Rigotti, A., Cortés-Sanabria L. Y., Yépez-García, M.C., Pareja-Torres, R. G., Herrera-Cuenca, M., Zalcmán Zimberg, I., Koletzko, B., Pratt, M., Moreno-Aznar L. A., Guajardo, V., Fisberg, M. R., Hermes-Sales, C., & Nogueira-Previdelli, A. (2018). Total and added sugar intake: assessment in eight Latin American countries. *Nutrients*, 10(4): 389 - 406.
- Fizman S. y Durán L. (1997). Reología de sólidos y textura. En: J. M. Aguilera (Eds.), *Temas en Tecnología de Alimentos*. México.
- Fitch, C., & Keim K. S. (2012). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of Academy of Nutrition and Dietetics*, 112: 739 - 58.
- Flink, J. M., & Karel, M. (1972). Mechanisms of retention of organic volatiles in freeze-dried systems. *International Journal of Food Science and Technology*, 7(2): 199 – 211.

-
- Flores, G., & Ruiz del Castillo, M. L. (2016). Accumulation of anthocyanins and flavonols in black currants (*Ribes nigrum* L.) by pre-harvest methyl jasmonate treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96: 4026 - 4031.
- Fracassetti, D., Del Bo', C., Simonetti, P., Gardana, C., Klimis-Zacas, D., & Ciappellano, S. (2013). Effect of time and storage temperature on anthocyanin decay and antioxidant activity in wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 2999 - 3005.
- Franceschinis, L., Salvatori, D., Sosa, N. & Schebor, C. (2014). Physical and functional properties of blackberry freeze- and spray-dried powders. *Drying Technology: An International Journal*, 32: 197 - 207.
- Gacula, M. C. (1997). Descriptive sensory analysis in practice. Trumbull, CT: Food and Nutrition Press.
- García Loredo, A., Guerrero, S., Gómez, P., & Alzamora S. M. (2011). Relationships between rheological properties, texture and structure of apple (*Granny Smith* var.) affected by blanching and/or osmotic dehydration. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 475 – 488.
- García-Almeida, J. M, Casado-Fdez, G. M., y García-Alemán, J. (2013). Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación. *Nutrición Hospitalaria*, 28(4): 17 - 31.
- Gardana, C., Simonetti, P., Canzi, E., Zanchi, R., & Pietta, P. (2003). Metabolism of stevioside and rebaudioside A from *stevia rebaudiana* extracts by human microflora. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22): 6618 - 6622.
- Garzón, G. A. (2008). Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds. A review. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3): 27 – 36.
- Gejl-Hansen, F., & Flink J. (1977). Freeze-dried carbohydrate containing oil-in-water emulsions: Microstructure and fat distribution. *Journal of Food Science*, 42: 1049 - 1055.

-
- Gerschenson, L., Bartholomai, G., & Chirife J. (1981). Structural collapse and volatile retention during heating and rehumidification of freeze-dried tomato juice. *Journal of Food Science*, 46: 152 - 156.
- Geuns, J. M., Bruggeman, V., & Buyse, J. G. (2003). Effect of stevioside and esteviol on the developing broiler embryos. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17): 5162 - 5167.
- Giacobone, G., Castronuovo, L., Tiscornia, V., y Allemandi, L. (2018). Análisis de la cadena de suministro de frutas y verduras en Argentina. Fundación InterAmericana del Corazón-Argentina, 1 - 56.
- Gökmen, V., Serpen, A., & Fogliano, V. (2009). Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the QUENCHER approach. *Trends in Food Science and Technology*, 20(6-7): 278 - 288.
- Gopalan, A., Reuben, S. C., Ahmed, S., Darvesh, A. S., Hohmann, J., & Bishayee, A. (2012). The health benefits of blackcurrants. *Food and Function*, 3: 795 - 809.
- Goraya, R. K., & Bajwa, U. (2015). Enhancing the functional properties and nutritional quality of ice cream with processed *amla* (Indian gooseberry). *Journal of Food Science and Technology*, 52(12): 7861 - 7871.
- Greenspan L. (1977). "Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions." *Journal of Research of the National Bureau of Standards. Section A. Physics and Chemistry*, 81: 89 - 95.
- Gregg, S. J. & Sing K. S. W. (1982). *Adsorption, Surface Area and Porosity*. (2nd.ed.). Academic Press.
- Grembecka, M. (2015). Sugar alcohols - their role in the modern world of sweeteners: a review. *European Food Research and Technology*, 241: 1 - 14.
- Guerrero, L., Claret, A., Verbeke, W., Enderli, G., Zakowska-Biemans, S., Vanhonacker, F., Issanchou, S., Sajdakowska, M., Granli, B. S., Scalvedi, L., Contel, M., & Hersleth, M.

- (2010). Perception of traditional food products in six European regions using free word association. *Food Quality and Preference*, 21: 225 - 233.
- Guiné, R. P. F. (2018). The drying of foods and its effect on the physical-chemical, sensorial and nutritional properties. *International Journal of Food Engineering*, 4: 93 – 100.
- Guisti, M. ., & Wrolstad, R. E. (2001). Anthocyanins. Characterization and measurement with
- Gupta, E., Purwar, S., Shanthy Sundaram, S., & Rai, G. K. (2013). Nutritional and therapeutic values of *stevia rebaudiana*: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(46): 3343 – 3353.
- Gupta, R., Singh, B., & Shivhare, U. S. (2012). Optimization of osmo-convective dehydration process or the development of honey-ginger candy using response surface methodology. *Drying Technology*, 30(7): 750 - 759.
- Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141(2): 312 – 322
- Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 950 - 988.
- Haque, M., & Adhikari, B. (2015). Drying and denaturation of proteins in spray drying process. En: A. S. Mujumdar (Eds.) *Industrial Drying*. Estados Unidos.
- Haralick, R. M., Shanmugam, K., & Dinstein, I. (1973). Textural features for image classification. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, (6): 610 - 621.
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (1995). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Products Report*, 12: 639 - 657.
- Hernández, A., Alfaro, I., & Arrieta, R. (2003). *Microbiología Industrial*. Ed. A. Hernández, I. Alfaro y R. Arrieta. EUNED, San Carlos, Costa Rica.
- Hough, G. (2011). Curso – Taller de análisis sensorial de alimentos. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

-
- Hough, G., & Fiszman, S. (2005). *Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos*. (1ra. Ed.). Valencia, España.
- Hough, G., & Garitta, I. (2012). Sensory shelf life. *Journal of Sensory Studies*, 27: 137 – 147.
- Hough, G., Contarini, A., & Muñoz A. (1994). Training a texture profile panel and constructing standard rating scales in Argentina. *Journal of Texture Studies*, 25(1): 45 - 57.
- Hui, Y. H. (2006). Handbook of food science, technology and engineering. Vol. I. CRC Press - Taylor & Francis Group: Boca Ratón, Estados Unidos. 3618 p.
- Hutapea, A. M., Toskulkao, C., Buddhasukh, D., Wilairat, P., & Glinsukon, T. (1997). Digestion of stevioside, a natural sweetener, by various digestive enzymes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 23(3): 177 - 186.
- Hutchings, J. B. (1994). Food colour and appearance. (2da. ed.). Nueva York, Estados Unidos.
- International Blackcurrant Assosiation – IBA (2018). Disponible en: <https://www.blackcurrant-iba.com/agronomy/blackcurrant-cultivars/>.
- Iphorski, M. y Bozzano, P. B. (2013). Microscopía electrónica de barrido en la caracterización de materiales. *Ciencia e Investigación*, 63: 43 - 53.
- ISO 13299. (2003). Sensory analysis: General guidance for establishing a sensory profile. Geneve: International Organization for Standardization.
- ISO 3972. (2011). Sensory analysis: Method of investigating sensitivity of taste. Geneve: International Organization for Standardization.
- ISO 4120. (2004). Sensory analysis: Triangle test. Geneve: International Organization for Standardization.
- ISO 5492. (1992). Sensory analysis: Sensory analysis - Vocabulary. Geneve: International Organization for Standardization.
- ISO 5496. (2006). Sensory analysis: Initiation and training of assessors in the detection and recognition of odours. Geneve: International Organization for Standardization.

-
- ISO 8586. (2012). Sensory analysis: General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors, ISO. Geneva: International Organization for Standardization.
- ISO 8587. (2006). Sensory analysis: Ranking. Geneva: International Organization for Standardization.
- Iversen, C., Jakobsen, H. B. & Olsen, C. E (1998). Aroma changes during black currant (*Ribes nigrum L.*) nectar processing. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46: 1132 - 1136.
- Jellinek, G. (1985). Sensory Evaluation of Food - Theory and Practice. Inglaterra.
- Jimenez-García, S. N., Guevara-González, R. G., Miranda-López, R., Feregrino-Pérez, A. A., Torres-Pacheco, I., & Vazquez-Cruz, M. A. (2013). Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. *Food Research International*, 54: 1195 - 1207.
- Kalpana, R., & Khan, M. K. (2008). Post-harvest management of stevia leaves: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 45: 391 – 397.
- Karas, M., Jakubczyk, A., Szymanowska, U., Złotek, U., & Zielinska, E. (2017). Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals. *International Journal of Food Science and Technology*, 52: 291 – 305.
- Karjalainen, R., Anttonen, M., Saviranta, N., Stewart, D., & McDougall, G. (2009). A review on bioactive compounds in black currants (*Ribes nigrum L.*) and their potential health-promoting properties. *Acta Horticulturae*, 839:301-307.
- Karki, M. (2011). Evaluation of fruit leathers made from New Zealand grown blueberries. (Tesis de Maestría). Lincoln University, Christchurch, Nueva Zelanda.
- Kenjeric, D., Mandic, M. L., Primorac, L., Bubalo, D., & Perl, A. (2007). Flavonoid profile of Robinia honeys produced in Croatia. *Food Chemistry*, 102: 683 - 690.
- Khalloufi, S., & Ratti, C. (2003). Quality deterioration of freeze-dried foods as explained by their glass transition temperature and internal structure. *Journal of Food Science*, 68: 892 - 903.

-
- Kim, M., Hyun, J., Kim, J., Park, J., Kim, M., Kim, J., Lee, S., Chun, S., & Chung, I. (2007). Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4802 – 4809.
- Koyama, E., Sakai, N., Ohori, Y., Kitazawa, K., Izawa, O., Kakegawa, K., Fujino, A., & Ui, M. (2003). Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of Stevia mixture and their aglycone, esteviol, in rats and humans. *Food and Chemical Toxicology*, 41(6): 875 - 883.
- Kroyer, G. T. (1999). The low calorie sweetener Stevioside: Stability and interaction with food ingredients. *Lebensm Wiss Technology*, 32: 509 – 512.
- Labuza, T., Tannenbaum, S., & Karel M. (1970). Water content and stability of low-moisture and intermediate moisture foods. *Food Technology*, 24(12): 543 - 550.
- Lawless, H.T. & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: principles and practices*. (2nd ed.). Nueva York, Estados Unidos.
- Le Meste, M., Champion, D., Roudaut, G., Blond, G., & Simatos, D. (2002). Glass transition and food technology. A critical appraisal. *Journal of Food Science*, 67: 2444 – 2458.
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2): 288 - 306.
- Levine, H. & Slade, L. (1992). Glass transitions in foods, En: Schwartzberg, H. y Hartel, R. (Eds.), *Physical Chemistry of Foods*. Estados Unidos.
- Lewicki, P. P. (2008). The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. *Journal of Food Science & Technology*, 32(6), 553 - 557.
- Lewicki, P. P., & Jakubczyk, E. (2004). Effect of hot air temperature on mechanical properties of dried apples. *Journal of Food Engineering*, 64(3): 307 - 314.
- Li, Y.; Li, X.; Li, J. (2002). Pear, peach and apricot honey sugar slab for prevention and cure of cough and asthma. Chinese Patent, CN1448081A.
- Livesey, G. (2003). Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. *Nutrition Research Reviews*, 16: 163 – 191.

-
- Loria Khoen, V. (2012). La stevia y su papel en la salud. *Salud y Medicina*, 1 - 46.
- Lu, R. & Abbott J. A. (2004). Force/deformation techniques for measuring texture. In: D. Kilcast (Eds.), *Texture in Food: Solids Food*. Inglaterra.
- Lustig, R. H., Mulligan, K., Noworolski SM, Tai V. W., Wen, M. J., Erkin-Cakmak, A., Gugliucci, A., & Schwarz, J. M. (2016). Isocaloric fructose restriction and metabolic improvement in children with obesity and metabolic syndrome. *Obesity*, 24: 453 - 460.
- Mäkilä, L., Laaksonen, O., Ramos Diaz, J. M., Vahvaselkä, M., Myllymäki, O., Lehtomäki, I., Laakso, S., Jahreis, G., Jouppila, K., Larmo, P., Yang, B., & Kallio, H. (2014). Exploiting blackcurrant juice press residue in extruded snacks. *LWT - Food Science and Technology*, 57: 618 - 627.
- Mäkinen, K. K. (2016). Gastrointestinal disturbances associated with the consumption of sugar alcohols with special consideration of xylitol: Scientific review and instructions for dentists and other health-care professionals. *International Journal of Dentistry*, 1 - 16.
- Márquez, L. G., & Freire, J. T. (2005). Analysis of freeze-drying of tropical fruits. *Drying Technology*, 23: 2169 - 2184.
- Martínez, N., Andrés A. M., Chiralt A., y Fito P. (2000). *Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno*. (2da. ed.). Editorial UPV: Valencia, España.
- Mataix-Verdú, J. (2009). *Nutrición y alimentación humana*. Zaragoza, España
- Mattila, P. H., Hellström, J., McDougall, G., Dobson, G., Pihlava, J. M., Tiirikka, T., Stewart, D. & Karjalainen, R. (2011). Polyphenol and vitamin C contents in European commercial blackcurrant juice products. *Food Chemistry*, 127(3): 1216 - 1223.
- Mazza, G., & Miniati, E. (1993). *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*. Boca Raton, Fla: CRC Press Inc.
- Meilgaard, M., Thomass Carr, B., & Vance Civille, G. (2006). *Sensory evaluation techniques*. (4th ed.). Nueva York, Estados Unidos.

-
- Mesías, F. J., & Escribano, M. (2018). Projective Techniques. Chapter 4. Methods in Consumer Research, Volume 1: 79 – 102.
- Michalczyk, M., Macura, R., & Matuszak, I. (2009). The effect of air-drying, freeze-drying and storage on the quality and antioxidant activity of some selected berries. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33: 11 – 21.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballancem S., Bohn, T., Bourlieu, S., Carri, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Menard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies W., & Brodkorb, A. (2014). A standardized static *in-vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food and Function*, 5: 1113 - 1124.
- Molan, P. (2001) Why honey is effective as a medicine. The scientific explanation of its effects. *Bee World*, 82: 22 - 40.
- Moraga, G., Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A. (2004). Water sorption isotherms and glass transition in strawberries: influence of pretreatment. *Journal of Food Engineering*, 62: 315 – 321.
- Mousavi, R., Miri, T., Cox, P. & Fryer, P. (2007), Imaging food freezing using X-ray microtomography. *International Journal of Food Science and Technology*, 42: 714 – 727.
- Murray, J. M., Delahunty, C.M., & Baxter, I. A. (2001). Descriptive sensory analysis: past, present and future. *Food Research International*, 34: 461 – 471.
- Mutlu, C., Tontul, S. A., & Erbaş, M. (2018). Production of a minimally processed jelly candy for children using honey instead of sugar. *LWT - Food Science and Technology*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.064>.
- Nasuti, C., Gabbianelli, R., Falcioni, G., & Cantalamessa, F. (2006). Antioxidative and gastro protective activities of anti-inflammatory formulations derived from chestnut honey in rats. *Nutrition Research*, 26: 130 - 137.

-
- Nemzer, B., Vargas, L., Xia, X., Sintara, M., & Feng, H. (2018). Phytochemical and physical properties of blueberries, tart cherries, strawberries, and cranberries as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 262: 242 - 250.
- Nile, S. H., & Park, S. W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30: 134 - 144.
- Nour, V., Trandafir, I., Ionica, M. E, (2011). Ascorbic acid, anthocyanins, organic acids and mineral content of some black and red currant cultivars. *Fruits*, 66(5): 353 – 362.
- Paixao, N., Perestrelo, R., Marques, J. C., & Camara, J. S. (2007). Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose´ and white wines. *Food Chemistry*, 105: 204 – 214.
- Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., & Diamantidis, G. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102: 777 - 783.
- Parzanese, M. (2011). Tecnologías para la industria alimentaria: Liofilización de alimentos. Ficha 3. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnología/Ficha_03_Liofilizados.pdf.
- Pastoriza, S., Delgado-Andrade, C., Haro, A., & Rufián-Henares, J. A. (2011). A physiologic approach to test the global antioxidant response of foods. The GAR method. *Food Chemistry*, 129(4): 1926 – 1932.
- Pavan, M. A., Schmidt, S. J., & Feng, H. (2012). Water sorption behavior and thermal analysis of freeze-dried, refractanc window-dried and hot-air dried açai (*Euterpe oleracea Martius*) juice. *LWT - Food Science and Technology* 48: 75 - 81
- Pérez, R. A., Iglesias, M. T., Pueyo, E., Gonzalez, M., & de Lorenzo, C. (2007). Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 360 - 365.

-
- Perez-Locas, C., & Yaylayan, V. A. (2010). The Maillard reaction and food quality deterioration. En: Skibsted, L.H., Risbo, J., Andersen, M.L. (Eds.), *Chemical deterioration and physical instability of food and beverages*. Estados Unidos.
- Pieniazek, F., & Messina, V. (2017). Quality parameters of freeze-dried peach snacks. *British Food Journal*, 119(12): 2959 – 2968.
- Pieniazek, F., Roa Andino, A., & Messina, V. (2018). Prediction of texture in different beef cuts applying image analysis technique. *British Food Journal*. Disponible en: <https://doi.org/10.1108/BFJ-12-2017-0695>.
- Prakash, I., Dubois, G. E., Clos, J. F., Wilkens, K. L., & Fosdick, L. E. (2008). Development of rebiana, a natural, non-caloric sweetener. *Food and Chemical Toxicology*, 46(Suppl 7): S75 - S82.
- Prica, N., Živkov-Baloš, M., Jakšić, S., Mihaljev, Z., Kartalović, B., Babić, J., & Savić, S. (2014). Moisture and acidity as indicators of the quality of honey originating from vojvodina region. *Arhiv veterinarske medicine*, 7(2): 99 – 109.
- Prothon, F., Ahrne, L., & Sjöholm, I. (2003). Mechanisms and prevention of plant tissue collapse during dehydration: A critical review. *Food Science and Nutrition*, 43(4): 447 - 479.
- Quiroz, L.O. (2007). El modelo extendido de zwanzig y la teoría de Adam-Gibbs en el plegamiento y desnaturalización de proteínas. Universidad Autónoma Metropolitana: México.
- Rad, A. H., Zohre Delshadian, S., Arefhosseini, S. R., Alipour, B., & Jafarabadi, M. A. (2012). Effect of inulin and stevia on some physical properties of chocolate milk. *Health Promotion Perspectives*, 2: 42 – 47.
- Ramenghi, L. A., Amerio, G., & Sabatino, G. (2001) Honey, a palatable substance for infants: from De Rerum Natura to evidence-based medicine. *European Journal Pediatrics* 160: 677 - 678.

-
- Ramirez-Navas, J. S. (2006). *Introducción a la reología de los alimentos*. Valledel Cauca, Colombia.
- Ramos, S. (2008). Cancer chemoprevention and chemotherapy: dietary polyphenols and signaling pathways. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51: 652 - 664.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A; Pannala, A., Yang M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231 - 1237.
- Rivero-Urgell, M., & Santamaria-Orleans, A. (2001). Oligosaccharides: application in infant food (review). *Early Hum Development*, 65: 43 - 52.
- Roa Andino, A., Pieniazek, F., & Messina, V. (2018). Texture of bananas submitted to different freeze drying cycle applying scanning electron microscopy with image analysis techniques. *Food Biophysics*. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11483-018-9551-6>.
- Roberts, A., & Renwick, A. G. (2008). Comparative toxicokinetics and metabolism of rebaudioside A, stevioside, and esteviol in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 31 - 39.
- Roos, Y. & Karel, M. (1991). Water and molecular weight effects on glass transitions in amorphous carbohydrates and carbohydrate solutions. *Journal of Food Science*, 56, 1676 - 1681.
- Roos, Y. H. (1995). Characterization of Food Polymers Using State Diagrams. *Journal of Food Engineering*, 24: 339-360.
- Roos, Y. H. (1998). Role of water in phase - transition phenomena in foods. *Phase/State Transitions in Foods*, M. Rao y R. W. Hartel, Marcel Dekker.
- Roos, Y., & Himberg M. J. (1994). Non-enzymatic browning behaviour, as related to glass transition of a food model at chilling temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(4): 893 - 898.

-
- Roudaut, G., Dacremont, C., & Le Meste, M. (1998). Influence of water on the crispness of cereal based foods: acoustic, mechanical, and sensory studies. *Journal of Texture Studies*, 29: 199 – 213.
- Rubinskiene, M., Viskelis, P., Jasutiene, I., Viskeliene, R. & Bobinas, C. (2005). Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. *Food Research Internationa*, 8: 867 - 871.
- Rumpunen, K., Vagiri, M. & Ekholm, A. (2012). Polyphenolic compounds in blackcurrant. *Acta Horticulture*, 946: 113 – 118.
- S.J. & Schwart, (Eds.), *Current protocols in food analytical chemistry*. Estados Unidos.
- Sablani, S. S. (2006). Drying of fruits and vegetable: Retention of nutritional/functional quality. *Drying Technology*, 24: 123 - 125.
- Sari, P., Wijaya, C. H., Sajuthi D., & Supratman, U. (2012). Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. *Food Chemistry*, 132: 1908 - 1914.
- Savita, S. M., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A. G., & Ramakrishna, P. (2004). *Stevia rebaudiana* – A functional component for food industry. *Journal of Human Ecology*, 15(4): 261 – 264.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. & Jimenez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. CRC. *Critical Reviews and Food Science and Nutrition*, 45: 287 - 306.
- Schiffman, S. S., Booth, B. J., Carr, B. T., Losee, M. L., Sattely- Miller, E. & Graham, B. G. (1995). Investigation of synergism in binary mixtures of sweeteners. *Brain Research Bulletin*, 38: 105 - 120.
- Sentko, A., & Willibald-Ettle, I. (2012). *Isomalt. Sweeteners and sugar alternatives in food technology*. In K. O'Donnell, & M. W. Kearsley (Eds.). Estados Unidos

-
- Sette, P. (2015). Tecnologías combinadas para el desarrollo de productos de frambuesa deshidratados. (Tesis de Doctorado). Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Sette, P., Franceschinis, L., Schebor, C., & Salvatori, D. (2016). Fruit snacks from raspberries: influence of drying parameters on colour degradation and bioactive potential. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(2): 313 - 328.
- Sharma, S. K., Mulvaney, S. J. & Rizvi, S. S. (2003). *Ingeniería de alimentos – Operaciones unitarias y prácticas de laboratorio*. Nueva York, Estados Unidos.
- Sheiham, A., & James, W. P. T. (2014). A new understanding of the relationship between sugars, dental caries and fluoride use: implications for limits on sugars consumption. *Public Health Nutrition*, 17(10): 2176 - 2184.
- Shofian, M. S., & Hairuddin, M. R. (2011). Effect of freeze-drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(7): 4678 - 4692.
- Sigdel, A., Ojha, P., & Karki, T. B. (2018). Phytochemicals and syneresis of osmo-dried Mulberry incorporated yogurt. *Food Science and Nutrition*, 6(4): 1045 - 1052.
- Simatos, D., & Karel, M. (1988). Characterization of the condition of water in foods: Physicochemical aspects. En: C. Seow (Eds.), *Food Preservation by Moisture Control*. Estados Unidos.
- Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., & Dornier, M. (2017). Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. *Food Chemistry*, 214: 234 - 241.
- Singh G, & Muthukumarappan. (2008). Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yoghurt. *LWT – Food Science and Technology*, 41: 1145 – 1152.

-
- Singleton, V. & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticulture*, 16: 144 - 158.
- Sinnot, Q. P. (1985). A revision of *Ribes L.*, subg. *Grossularia* (Mill.) per. sect. *Grossularia* (Mill.) Nutt. (Grossulariaceae) in North America. *Rhodora. Journal of the New England Botanica*, 87: 189 - 286.
- Skrede, G., Wrolstad, R. E., & Durst, R. W. (2000). Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum L.*). *Journal of Food Science*, 65(2): 357 - 364.
- Sondheimer, E., & Kertesz, Z. I. (1952). The kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. *Journal of Food Science*, 17(1-6): 288 - 298.
- Stéger-Máté, M., Nótin, B., Juhász, R., Verasztó, B., Jakab, D., Monspart-Sényi, J. & Barta, J. (2011). Effect of vacuum drying on blackcurrant's antioxidant components. *International Congress on Engineering and Food*, 22 - 26.
- Steinberg, D., Kaine, G., & Gedalia, I. (1996). Antibacterial effect of propolis and honey on oral bacteria. *American Journal Dentistry*, 9: 236 - 239.
- Szajdek, A., & Borowska, J. E. (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63:147–56.
- Szczesniak, A. S., & Kahn, E. L. (1971). Consumer awareness of and attitudes to food texture. *Journal of Texture Studies*, 2(3): 280 - 295.
- Szczesniak, A.S. (1973). Instrumental methods of texture measurements En: A. Kramer y A. S. Szczesniak (Eds.), *Texture measurement of foods*. Ponce George, Estados Unidos.
- Tadao, M. (1983). Production of honey candy. Japanese Patent, JP60098942A2.
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007). *Tamine and Robinson's Yoghurt Science and Technology*. (3th. Ed.). Cambridge, Reino Unido.
- Tandel, K. (2011). Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 2(4): 236 - 244.

-
- Tanzi, M. G., & Gabay, M.P. (2002) .Association between honey consumption and infant botulism. *Pharmacotherapy*, 22: 1479 - 1483.
- Telis, V. R. N., & Sobral, P. J. A. (2001). Glass transitions and state diagram for freeze-dried pineapple. *LWT – Food Science and Technology*, 34: 199 – 205.
- Timmermann, E. O. (2003). Multilayer sorption parameters: BET or GAB values?. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 220: 235 - 260.
- Torresani, M. E., Cardone, C., Palermo, C., Rodríguez, V., Viegner, V., y Garavano, C. (1999). Edulcorantes no nutritivos. Utilización por la industria y consumo en productos alimenticios. *DIAETA*, 18(86): 34 - 37.
- Toskulkao, C., Sutteerawattananon, M., & Piyachaturawat, P. (1995). Inhibitory effect of esteviol, a metabolite of stevioside, on glucose absorption in everted hamster intestine *in vitro*. *Toxicology Letters*, 80(1–3): 153 - 159.
- Tsouroufflis, S., Flink, J. M., & Karel, M. (1976). Loss of structure in freeze-dried carbohydrate solutions. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 27: 509 – 519.
- Umesh Hebbar, H., Rastogi, N. K., & Subramanian, R. (2008) Properties of dried and intermediate moisture honey products: A review. *International Journal of Food Properties*, 11: 804 – 819.
- UV-visible spectroscopy. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid,
- Vagiri, M. R. (2012). Black currant (*Ribes nigrum L.*) - an insight into the crop. (PhD thesis). Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden.
- Vagiri, M., Ekholm, A., Öberg, E., Johansson, E., Andersson, S. C., & Rumpunen, K. (2013). Phenols and ascorbic acid in blackcurrants (*Ribes nigrum L.*): Variation due to genotype, location, and year. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(39): 9298 - 9306.
- Van den Berg, C. & Bruin S. (1981). Water activity and its estimation in food systems: Theoretical aspects. En: *Water Activity: Influence on Food Quality*. L. Rockland y G. Stewart. Nueva York, Academic Press: 1 - 61.

-
- Vega, A., & Lemus, R. (2006). Modelado de la cinética de secado de la papaya chilena (*Vasconcellea pubescens*). *Revista Información Tecnológica*, 27(3): 23 - 31.
- Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Martínez-Monzó, J., García-Segovia, P., Lemus-Mondaca, R., & Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying , antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (*var. Granny Smith*) slices. *Food Chemistry*, 132: 51 - 59.
- Viana, M. M., dos Santos Silva, V. L., & Trindade, M. A. (2014). Consumers' perception of beef burgers with different healthy attributes. *Food Science and Technology*, 59: 1227 - 1232.
- Vidal, L., Ares, G., & Giménez, A. (2013). Projective techniques to uncover consumer perception: Application of three methodologies to ready-to-eat salads. *Food Quality and Preference*, 28: 1 - 7.
- Vreman, R. A., Goodell, A. J., Rodriguez, L. A., Porco, T. C., Lustig, R. H., & Kahn, J. G. (2017). Health and economic benefits of reducing sugar intake in the USA, including effects via non-alcoholic fatty liver disease: a microsimulation model. *BMJ Open*, 7(8): 1 - 17.
- Watts, B. M., Ylimaki, G. L., Jeffrey, L. E., Elías, L. M. (1992). *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*. Ottawa, Canadá.
- Wheeler, A., Boileau, A. C., Winkler, P. C., Compton, J. C., Prakash, I., Jiang, X., & Mandarino, D. A. (2008). Pharmacokinetics of rebaudioside A and stevioside after single oral doses in healthy men. *Food and Chemical Toxicology*, 46(Suppl 7): S54 - S60.
- Wingard, R. E., Brown, J. P., Enderlin, F. E., Dale, J. A., Hale, R. L., & Seitz, C. T. (1980). Intestinal degradation and absorption of the glycosidic sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Experientia*, 36(5): 519 - 520.
- Wootton-Beard, P. C., & Ryan, S. (2011). Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research International*, 44: 3135 – 3148.

-
- World Health Organization (WHO). (2014). Global status report on noncommunicable diseases. Attaining the nine global noncommunicable diseases targets; a shared responsibility. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/148114/9789241564854_eng.pdf;jsessionid=27C0A8A18727B36B5BF79FCAE3F862EF?sequence=1
- Yang, C. S. T., & Atallah, W. A. (1995). Effect of four drying methods on the quality of intermediate moisture low bush blueberries. *Journal of Food Science*, 50: 1233 - 1237.
- Yousefi, G., Emam-Djomeh, Z., Askari, G. R., & Omid, M. (2014). Prediction of physicochemical properties of raspberry dried by microwave-assisted fluidized bed dryer using artificial neural network. *Drying Technology*, 32(1): 4 - 12.
- Yu-Chin, L., Tsung-Chih H., & Kuo-En C. (2018). Identifying food-related word association and topic model processing using LDA. *Journal of Library and Information Studies*, 16: .23 – 43.
- Zhu, K., Kanu, P. J., Claver, I. P., Zhu, K., Qian, H., & Zhou, H. (2009). A method for evaluating Hunter whiteness of mixed powderISOers. *Advanced Powder Technology*, 20: 123 – 126.



7. ANEXO

Planilla 1 - Encuesta utilizada para realizar la prueba de análisis sensorial descriptivo.

Golosina saludable con propiedades antioxidantes a base de grosella negra y yogur, sin el agregado de azúcar ni aditivos artificiales.



¿Qué piensa de este producto?

Planilla 2 - Encuesta utilizada en la selección de los miembros del panel de textura

INFORMACIÓN GENERAL

Datos personales

Nombre

Dirección

Lugar de trabajo

Teléfono

Correo electrónico

Disponibilidad

¿Qué días de la semana está disponible?

¿Cuáles son los horarios de su conveniencia?

ESTADO DE SALUD

Marcar con una cruz si posee alguna de las siguientes enfermedades

Diabetes

Hipoglicemia

Alergias alimentarias

Hipertensión

Afecciones en la cavidad bucal (llagas, herpes)

¿Toma alguna medicación que afecte s percepción sensorial?

¿Usa dentaduras postizas?

HÁBITOS ALIMENTARIOS

¿Está siguiendo algún tipo de dieta? En caso afirmativo detalle

¿Con qué frecuencia come afuera de su casa?

¿Con qué frecuencia consume comidas rápidas?

¿Con qué frecuencia consume alimentos congelados?

¿Cuál es su comida preferida?

¿Cuál es su comida menos preferida?

¿Qué alimentos no puede consumir?

¿Qué alimentos no le gusta consumir

ASPECTOS TEXTURALES

¿Cómo considera su sensibilidad a las características sensoriales?

Mejor que el promedio

Promedio

Por debajo del promedio

¿Cómo describiría la diferencia entre sabor y textura?

¿En qué tipos de productos alimenticios es importante la textura?

Mencione algunas de las características texturales generales de los alimentos

Mencione qué características texturales son evidentes cuando mastica un alimento

Mencione algunas características texturales de las papas fritas

Mencione algunas características texturales del dulce de leche

Mencione algunas características texturales del pan

(Fuente: Meilgaard y col., 2006)

Planilla 3 - Formulario utilizado en la prueba de gustos básicos (Jellinek, 1985)**Nombre y Apellido:****Fecha:**

Usted ha recibido soluciones acuosas de sacarosa (dulce), cloruro de sodio (salado), cafeína (amargo) y ácido cítrico (ácido).

Su tarea consiste en reconocer cada gusto básico marcando "0" cuando la muestra tenga gusto a agua (concentración menor a su umbral de detección) y "?" si la muestra es distinta al agua pero no distingue el sabor.

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

Espere cinco minutos y evalúe la segunda fila.

Código	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
Gusto										

Planilla 4a - Pares de alimentos utilizados en la prueba triangular

Producto	Pares/Marca	Temperatura	Iluminación
Yogur	SanCor® firme (vainilla)	4°C	blanca
	Ilolay® firme (vainilla)		
Gaseosa	Coca®	4°C	blanca
	Pepsi®		
Chocolate	Águila®	ambiente	blanca
	Godet®		

Planilla 4b - Formulario utilizado en la prueba triangular.

Nombre y Apellido:

Fecha:

Evaluador N°:

Usted ha recibido tres grupos con tres muestras. Cada grupo está constituido por dos muestras idénticas y una diferente.

Probar las muestras todas las veces que considere necesario y circular el número correspondiente a la muestra diferente.

Si no encuentra diferencia entre las muestras igual deberá seleccionar una aleatoriamente.

Grupo 1 Grupo 2 Grupo 3

Planilla 5a - Diuciones de jugo utilizadas en la prueba de ordenamiento de color.

Muestra	Jugo (%)	Código
1	100	369
2	94	205
3	88	193
4	82	025
5	75	419
6	68	604
7	60	777
8	54	582

Planilla 5b - Formulario utilizado en la prueba de ordenamiento de color.

Nombre y Apellido:

Fecha:

Usted ha recibido soluciones de diferentes concentraciones de un jugo de manzana.
Su tarea consiste en analizar el color de las muestras y ordenarlas en orden creciente de concentración.

	1	2	3	4	5	6	7	8
Muestra								

Planilla 6a - Preparación de escencias utilizadas en la prueba de reconocimiento de olores.

Escencia	Vol. esencia (ml)	Vol. Agua (ml)	Código
Almendras			235
Canela			743
Manzana			410
Vainilla	2,00	98,0	500
Ananá			695
Limón			320
Banana			158
Frutilla			076

Planilla 6b - Formulario utilizado en la prueba de reconocimiento de olores.

Código	¿Percibe un olor?		¿Reconoce este olor?		Nombre, descripción y/o asociación del olor	Observaciones
	Si	No	Si	No		
235						
743						
410						
500						
695						
320						
158						
076						

Planilla 7a – Atributos y definiciones de perfil de textura

DESCRIPTOR	DEFINICIÓN
APARIENCIA	
Color	Observar la tonalidad amarilla de las muestras
Brillo	Observar la superficie de las muestras
TEXTURA MANUAL	
Dureza	Fuerza necesaria para sumergir en forma completa la cara convexa de la cuchara (lomo).
Corte	Introducir una cuchara en posición vertical, girarla hasta llevar a posición horizontal y levantarla lentamente. Observar la forma que la mayonesa adopta en la cuchara y la depresión dejada en el envase al retirar la cuchara.
Untabilidad	Colocar media cuchara de mayonesa en un vértice de una galletita y con el lomo del cuchillo determinar el esfuerzo necesario para realizar una película.

Planilla 7b – Planilla para completar con los descriptores para cada mayonesaDefinición de Descriptores.

1. Recibirá 3 grupos de dos muestras de mayonesa codificadas.
2. Teniendo en cuenta los conceptos especificados en el cuadro anterior proceda a evaluar cada grupo de muestras.
 - a. Describir semejanzas entre cada muestra
 - b. Describir diferencias entre cada muestra
 - c. Una vez realizadas las pruebas anteriores probar las muestras y describir su sabor y aroma

Muestras	Semejanzas	Diferencias
886-215		
453-175		
982-771		

Planilla 8 - Definición de atributos texturales característicos de los alimentos (Civille y Szczesniak, 1973).

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

Planilla 9 - Alimentos estándares utilizados para el estudio del atributo dureza (Hough y Contarini, 1994).

Valor	Alimento	Marca
1,0	queso crema	Casancrem [®]
2,5	clara de huevo	-
5,0	salchicha	Vienísima [®]
6,0	aceituna	Nucete [®]
7,0	queso dambo	SanCor [®]
9,5	maní sin sal	Krachitos [®]
11	chocolate semiamargo	Águila [®]
17	caramelo duro	Menthoplus - Arcor [®]

Planilla 10 - Alimentos estándares utilizados para el estudio del atributo adhesividad al paladar (Hough y Contarini, 1994).

Valor	Alimento	Marca
1,0	margarina	Danica [®]
3,0	mermelada	Arcor [®]
6,0	dulce de leche repostero	La Serenísima [®]
8,0	queso untable	SanCor [®]
12,0	manteca de maní	Le-fit [®]

Planilla 11 - Alimentos estándares utilizados para el estudio del atributo fracturabilidad (Hough y Contarini, 1994).

Valor	Alimento	Marca
1,0	budín sin frutas	Bagley®
2,5	tapa de alfajor	Fantoche®
5,0	galletita de agua	Criollitas - Bagley®
7,0	tostada dulce	Riera®
8,0	tostada salada	Riera®
10,0	galletita de miel	Melitas - Bagley®
12,0	pastilla	DRF®
14,5	caramelo duro	Menthoplus - Arcor®

Planilla 12 - Alimentos estándares utilizados para el estudio del atributo cohesividad (Hough y Contarini, 1994).

Valor	Alimento	Marca
1,0	barra de cereal manzana	Cereal Mix - Arcor [®]
3,0	caramelo de fruta	Billiken [®]
5,0	queso holanda	SanCor [®]
8,0	caramelo de fruta	Arcor [®]
10,0	pasa de uva	3MG [®]
11,0	Gomita de fruta	Mogul [®]
12,0	caramelo de fruta	Sugus [®]
15,0	chicle	Beldent [®]

Planilla 13 - Alimentos estándares utilizados para el estudio del atributo crocancia (Farroni y col., 2015).

Valor	Alimento	Marca
1,0	barra de cereal manzana	Cereal Mix - Arcor [®]
5,0	galletita	Club social - Mendelez [®]
10,0	copos de maíz	Tres Arroyos [®]
12,0	cereal de avena y miel	Tres Arroyos [®]
17,0	tostada salada	Riera [®]

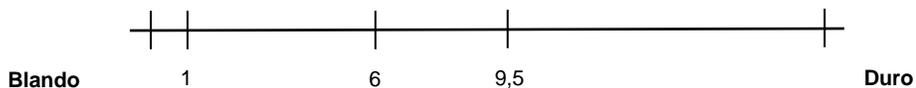
Planilla 14 - Escala semiestructurada utilizada para la evaluación sensorial del atributo dureza.

Definición sensorial: fuerza requerida para comprimir un alimento entre los molares.

Técnica: colocar la muestra entre los molares, morder de forma uniforme y evaluar la fuerza requerida para comprimirla.

Evaluación: evaluar las anclas presentadas y posteriormente las muestras codificadas de izquierda a derecha indicando sobre la escala el valor que mejor describa a la muestra.

Referencias: queso crema (1), clara de huevo (2,5), salchicha (5), aceituna (6), queso dambo (7), maní sin sal (9,5), chocolatesemiamargo (11), caramelo duro (17).



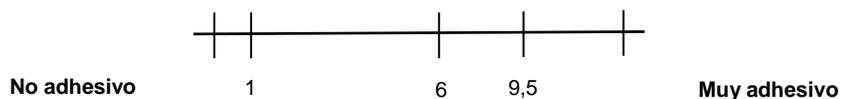
Planilla 15 – Escala semiestructurada utilizada para la evaluación sensorial del atributo adhesividad al paladar.

Definición sensorial: Fuerza requerida para remover un alimento adherido a la superficie del paladar

Técnica: colocar la muestra entre los molares, morder de forma uniforme y evaluar la fuerza requerida para remover alimento del paladar durante la ingestión

Evaluación: evaluar las anclas presentadas y posteriormente las muestras codificadas de izquierda a derecha indicando sobre la escala el valor que mejor describa a la muestra.

Referencias: margarina (1), mermelada (3), dulce de leche repostero (6), queso untable (8), manteca de maní (12)



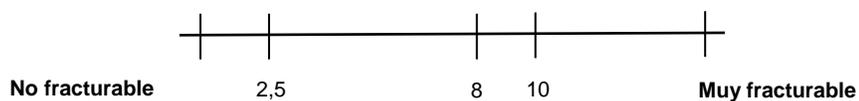
Planilla 16 – Escala semiestructurada utilizada para la evaluación sensorial del atributo fracturabilidad.

Definición sensorial: Grado en el cual un alimento se rompe, fractura o desmenuza.

Técnica: colocar la muestra entre los molares, morder de forma uniforme hasta que la muestra se desmenuce, fracture o destruya, evaluando la fuerza con la cual el alimento se aparta de los dientes

Evaluación: evaluar las anclas presentadas y posteriormente las muestras codificadas de izquierda a derecha indicando sobre la escala el valor que mejor describa a la muestra.

Referencias: budín sin frutas (1), tapa de alfajor (2,5), galletita de agua (5), tostada dulce (7), galletita de miel (10), pastilla (12), caramelo duro (14,5)



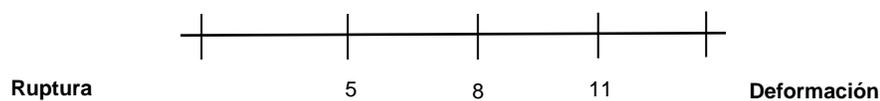
Planilla 17 - Escalasemiestructuradautilizada para la evaluación sensorial del atributo cohesividad.

Definición sensorial: Grado de compresionquesufre un alimento entre los dientes antes de suruptura.

Técnica: colocar la muestra entre los molares, comprima y evalúe la fuerza con la cual el alimento se aparta de los dientes

Evaluación: evaluar las anclas presentadas y posteriormente las muestras codificadas de izquierda a derecha indicando sobre la escala el valor que mejor describa a la muestra.

Referencias: budín sin frutas (1), caramelo Billiken® (3), queso holanda (5), caramelo Arcor® (8), pasa de uva (10), gomita de fruta (11) caramelo Sugus® (12), chicle (15)



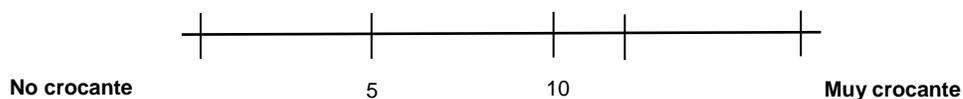
Planilla 18 – Escala semiestructurada utilizada para la evaluación sensorial del atributo crocancia.

Definición sensorial: Sonido agudo y rápido percibido cuando un alimento es mordido con los incisivos y los labios abiertos.

Técnica: colocar la muestra entre los incisivos, morder el alimento con los labios abiertos y evaluar la intensidad del sonido luego de la primera mordida.

Evaluación: evaluar las anclas presentadas y posteriormente las muestras codificadas de izquierda a derecha indicando sobre la escala el valor que mejor describa a la muestra.

Referencias: barra de cereal manzana (1), galletita (5), copo de maíz (10), cereal de avena y miel (12), tostada salada (17)



Planilla 19a - Formulario utilizado en la prueba de nivel de intensidad de atributos en la evaluación sensorial de los caramelos liofilizados.

Nombre y Apellido:

Fecha:

Gusto dulce

Muestra	Muy bajo	Bajo	Ideal	Alto	Muy alto
593					
428					

Gusto ácido

Muestra	Muy bajo	Bajo	Ideal	Alto	Muy alto
593					
428					

Planilla 19b - Formulario utilizado en la prueba de satisfacción de atributos en la evaluación sensorial de los caramelos liofilizados.

<p>Nombre y Apellido:</p> <p>Fecha:</p> <p>Usted ha recibido 6 muestras, 3 correspondientes a un caramelo endulzado con miel-</p>	14
---	----

Gusto dulce

Muestra	Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho
593							
428							

Planilla 19c - Formulario utilizado en la prueba satisfacción global en la evaluación sensorial de los caramelos liofilizados.

<p>Nombre y Apellido:</p> <p>Fecha:</p>	6
---	---

Usted ha recibido 6 muestras. 3 correspondientes a un caramelo endulzado con miel