

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



EFFECTO DE LAS MATERIAS PRIMAS UTILIZADAS EN LA FABRICACIÓN DE DIETAS PARA SALMÓNIDOS SOBRE SUS PROPIEDADES TÉRMICAS MEDIDAS POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

Actividad Formativa Equivalente a Tesis presentada a la Universidad
de Chile para optar al grado de Magíster en Ciencias de los Alimentos
por:

Ingrid Del Pilar Parejas Espinoza

Director/a de Tesis:
Co-Director/a de Tesis:

Alicia Rodríguez Melis

Santiago-CHILE
Agosto 2020

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

**INFORME DE APROBACIÓN DE ACTIVIDAD FORMATIVA EQUIVALENTE A TESIS DE
MAGISTER**

**Se informa a la Dirección de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias
Químicas y Farmacéuticas que la Actividad Formativa Equivalente a Tesis de
Magíster presentada por el candidato**

Ingrid Del Pilar Parejas Espinoza

**Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar
al grado de Magíster en Ciencias de los Alimentos, en el examen público rendido el
día _____**

Director de Tesis:

Alicia Rodríguez Melis

Comisión Evaluadora de Tesis:

Jaime Ortiz Viedma

Liliana Maier Neumann

Roberto Lemus Mondaca

DEDICATORIA

Muchas personas permitieron que pudiese finalizar esta tesis. Fue un periodo largo de trabajo que se desarrolló en parte en el laboratorio y en parte en empresa.

Desde mis compañeros con los que compartí parte de este magister cuando recién ingresé, a mi amigo Matías Sepúlveda con quien estudiamos muchas veces y nos acompañamos en la primera parte de este proceso, a mi querida profesora Alicia Rodríguez que fue un apoyo incondicional todo este tiempo, a mi familia que siempre estuvieron pendientes de cómo iban mis avances, y por último, a Macarena Berríos, que con su experiencia pude terminar de cerrar este ciclo. A todos ellos y otros tantos que me fueron ayudando con pequeñas cosas en el camino es que se pudo lograr terminar este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	3
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS	6
ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	10
ABREVIATURAS.....	11
RESUMEN.....	12
ABSTRACT.....	13
INTRODUCCIÓN.....	14
1. Planteamiento del problema.....	14
1.1 Dietas para peces.....	15
1.2 Trigo.....	18
1.2.1 Almidón.....	19
1.2.2 Gelatinización del almidón.....	21
1.2.3 Factores que influyen en la gelatinización del almidón.....	23
1.3 Calorimetría Diferencial de Barrido.....	25
1.4 Principio y utilidades de DSC.....	25
1.5 Aplicación de la calorimetría diferencial de barrido.....	26
1.6 Hipótesis.....	29
1.7 Objetivos.....	29
1.7.1 Objetivo general.....	29
1.7.2 Objetivos específicos.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
2.1 Materiales.....	31
2.1.1 Materias Primas.....	31
2.1.2 Equipos y Accesorios.....	31
2.1.3 Insumos.....	32
2.2 Métodos.....	32
2.2.1 Procedimientos preliminares.....	32
2.2.1.1 Tratamiento previo al programa térmico.....	32
2.2.1.2 Materiales y preparación de la muestra.....	32
2.2.2 Determinación de las propiedades térmicas de diferentes materias primas de: trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado, mediante DSC.....	33
2.2.2.1 Determinación del termograma del perfil endotérmico de las materias primas.....	33
2.2.2.2 Determinación de la temperatura máxima endotérmica (T_c).....	34
2.2.2.3 Temperatura de inicio (T_0), final (T_p), del rango máximo endotérmico.....	34
2.2.2.4 La entalpía endotérmica (ΔH) (J/g).....	34
2.2.2.5 El contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de temperatura (L_1).....	34

2.2.3	Determinación de las propiedades térmicas de diferentes mezclas de: trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado, mediante DSC.....	35
2.2.3.1	Determinación del termograma del perfil endotérmico de mezclas.....	35
2.2.3.2	Determinación de la temperatura máxima endotérmica (T_c).....	35
2.2.3.3	Temperatura de inicio (T_0), final (T_p) del rango máximo endotérmico.....	35
2.2.3.4	La entalpía endotérmica (ΔH) (J/g).....	35
2.2.2.5	El contenido líquido del area del peak máximo endotérmico en función de la temperature de las mezclas (L_2).....	35
2.2.4	Determinar el efecto de la mezcla sobre las propiedades térmicas mediante metodología superficie respuesta (MSR).....	36
2.2.5	Obtención de modelos polinómicos cuadráticos mediante regresión multiple.....	37
2.2.6	Análisis estadístico.....	38
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
3.1	Objetivo 1. Determinar las propiedades térmicas de diferentes materias primas: Trigo, hemoglobina de cerdo, harinas de pescado y harina de cerdo	39
3.1.1	Objetivo 1.1. Determinación del termograma del perfil endotérmico	39
3.1.2	Objetivos 1.2 1.3 1.4 Temperatura máxima endotérmica, Temperatura de inicio (T_0) y final (T_p) del rango máximo endotérmico	41
3.1.3	Contenido líquido del area del peak máximo endotérmico de las mezclas en función de la temperatura de las materias primas (L_1)	42
3.2	Objetivo 2. Determinar las propiedades térmicas de mezclas de: Trigo, hemoglobina de cerdo, harina de cerdo y harina de pescado, mediante DSC	44
3.2.1	Objetivo 2.1 Termograma del perfil endotérmico de las mezclas	44
3.2.2	Objetivo 2.2 2.3 2.4 Temperatura máxima endotérmica (T_c), Temperatura de inicio (T_0), Temperatura final (T_p) del rango máximo endotérmico	48
3.2.3	Objetivo 2.5 Contenido líquido del area del peak máximo endotérmico en función de la temperatura (L_2) de las mezclas del diseño experimental.....	49
3.3	Objetivo 3. Determinar el efecto de la mezcla sobre las propiedades térmicas mediante metodología superficie respuesta (MSR)	52
3.3.1	Efecto de las distintas combinaciones e mezclas sobre la entalpía endotérmica (ΔH).....	52
3.3.1.1	Diagrama de Pareto: Efecto de las distintas combinaciones de materias primas en mezclas de dietas para salmónidos sobre la entalpía endotérmica (ΔH).....	53
3.3.1.2	Análisis de varianza para entalpía.....	55
3.3.1.3	Efectos principales para entalpía.....	56
3.3.2	Objetivo 3.2 Efecto de las distintas combinaciones de mezclas sobre la temperatura del peak máximo endotérmico (T_c).....	61

3.3.2.1	Diagrama de Pareto: Efecto de las distintas combinaciones de materia primas en mezclas de dietas para salmónidos sobre el peak de temperatura máximo endotérmico (T_c).....	62
3.3.2.2	Análisis de varianza sobre el peak de temperatura (T_c).....	63
3.3.2.3	Efectos principales para peak de Temperatura (T_c).....	64
3.3.3	Objetivo 3.3 Optimización de la mezcla por MSR y obtención de modelos polinómicos cuadráticos de las variables respuesta: ΔH , T_c , mediante regresión múltiple.....	66
3.3.3.1	Obtención de modelo polinómico cuadrático para ΔH	66
3.3.3.2	Optimización de entalpía mediante MSR.....	66
3.3.3.3	Obtención de modelo polinómico cuadrático para temperatura.....	67
3.3.3.4	Optimización de temperatura mediante MSR.....	67
CONCLUSIONES		70
BIBLIOGRAFÍA		72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Caracterización de proximales por NIR de las materias primas bajo estudio.....	31
Tabla 2.	Diseño compuesto de Draper y Lin del efecto de la combinación de materias primas dietas para salmónidos sobre las propiedades térmicas por DSC.....	37
Tabla 3.	Propiedades térmicas del trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harinas de pescado	41
Tabla 4.	Temperatura de fusión de las materias primas.....	43
Tabla 5.	Cantidades y propiedades térmicas de las mezclas de las curvas superpuestas.....	44
Tabla 6.	Diseño experimental de mezclas de materias primas (g) trigo, hemoglobina, harina de cerdo, harina pescado de dietas de salmónidos sobre la entalpía (J/g) y Peak de temperatura máxima de fusión (PTMF) (°C).....	48
Tabla 7.	Temperatura de fusión de las mezclas del diseño experimental.....	51
Tabla 8.	Efectos estimados para Entalpía (J/g).....	53
Tabla 9.	Análisis de varianza para entalpía.....	56
Tabla 10.	Estadístico R^2 y error estándar del análisis de ANOVA que explica la variabilidad en entalpía.....	56
Tabla 11.	Efectos estimados para peak de temperatura.....	61
Tabla 12.	Análisis de varianza para Peak de Temperatura.....	63
Tabla 13.	Estadístico R^2 y error estándar del análisis de ANOVA que explica la variabilidad en peak de temperatura.....	63
Tabla 14.	Valores óptimos de materias primas para obtener un máximo de ΔH .	67
Tabla 15.	Valores óptimos de materias primas para obtener un máximo de Peak de Temperatura.....	68
Tabla 16.	Combinación de las materias primas obtenidas a partir de los resultados de entalpía y Peak de Temperatura de la mezcla de planta utilizando los modelos polinómicos obtenidos.....	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema general del proceso de producción de alimento para salmónidos.....	17
Figura 2.	Detalle de temperaturas en las etapas del proceso para la producción del alimento.....	18
Figura 3.	Detalle de la estructura del almidón. a) Microscopía de barrido de Eliasson (2004). b) Estructura de los anillos concéntricos del almidón, modificado de Tester <i>et al.</i> , (2004).....	20
Figura 4.	Esquema general del funcionamiento de un calorímetro diferencial de barrido.....	26
Figura 5.	Termograma del perfil endotérmico de almidón, trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado.....	39
Figura 6.	Gráfico del porcentaje del contenido líquido del punto de fusión versus temperatura de; trigo (a), hemoglobina de cerdo (b), harina de pescado (c) y harina de cerdo (d).....	43
Figura 7.	Curvas superpuestas de los termogramas de las mezclas; 1 y 2 (a), 3 y 5 (b), 6 y 8 (c), 15 y 16 (d), 11 y 12 (e) y 13 y 14 (f).....	45
Figura 8.	Contenido líquido del peak máximo de fusión en función de la temperatura de cada una de las 18 mezclas del diseño experimental (A a Q).....	51
Figura 9.	Diagrama de Pareto estandarizado de los efectos lineales y de interacción de las cuatro materias primas; trigo (A), hemoglobina de cerdo (B), harina de cerdo (C) y harina de pescado (D) sobre la entalpía endotérmica (ΔH) en mezclas de dietas para salmónidos.....	53
Figura 10.	Comportamiento de los efectos principales de las variables Trigo, Hemoglobina, Harina de Cerdo y Harina de Pescado.....	57
Figura 11.	Gráficos de superficie respuesta de la influencia de las variables trigo (a), Hemoglobina de cerdo (b), harina de cerdo (c) y harina de pescado (d) sobre la entalpía de las mezclas. Donde A)= a versus c (b: 4,995 y d: 24,995), B): a versus b (c: 4,995 y d:24,995), C)= a versus d (b: 4,995 y c: 4,995), D)= b versus d (a: 10 y c: 4,995), E)= c versus d (a: 10 y b: 4,995) y F)= c versus b (a: 10 y d: 24,995) (En paréntesis se indican los valores fijos de las otras variables).....	58
Figura 12.	Diagrama de Pareto estandarizado de los efectos lineales, cuadrático y de interacción de las cuatro materias primas; trigo (A), hemoglobina de cerdo (B), harina de cerdo (C) y harina de pescado (D) sobre el valor del peak máximo endotérmico en mezclas de dietas para salmónidos.....	62
Figura 13.	Comportamiento de los efectos principales de las variables Trigo, Hemoglobina, Harina de Cerdo y Harina de Pescado sobre el peak máximo endotérmico.....	64

Figura 14. Gráficos de superficie respuesta de la influencia de las variables trigo (a), Hemoglobina de cerdo (b), harina de cerdo (c) y harina de pescado (d) sobre el peak temperatura de las mezclas. Donde A): a versus c (b: 4,995 y d: 24,995), B): a versus b (c: 4,995 y d:24,995), C): a versus d (b: 4,995 y c: 4,995), D): c versus d (a: 10 y b: 4,995), E): c versus b (a: 10 y d: 4,995) y F): b versus d (a: 10 y c: 24,995) (En paréntesis se indican los valores fijos de las otras variables).....

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1	Definición de Capacidad calórica.....	25
Ecuación 2	Definición de Entalpía.....	27
Ecuación 3	Modelo de regresión polinómico cuadrático.....	37
Ecuación 4	Modelo matemático obtenido mediante MSR para entalpía.....	66
Ecuación 5	Modelo matemático obtenido mediante MSR para Peak de Temperatura.....	67

ABREVIATURAS

ΔH : Entalpía de fusión del peak máximo endotérmico

ΔT : Variación de temperatura

T: Temperatura

T_c: Temperatura máxima endotérmica

T₀: Temperatura de inicio del rango máximo endotérmico

T_p: Temperatura final del rango máximo endotérmico

MSR: Metodología superficie-respuesta

L₁: Contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura de las materias primas

L₂: Contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura de las mezclas

A: Trigo

B: Hemoglobina

C: Harina de cerdo

D: Harina de pescado

DSC: Differential Scanning Calorimetry

PTMF: Peak de temperatura máxima de fusión

RESUMEN

En Chile, la industria salmonera se ha desarrollado con éxito estos últimos años. Uno de los factores importantes que ha impulsado su buen resultado es la ubicación geográfica de nuestro país. Las empresas que fabrican dietas para peces han sustentado este crecimiento proporcionando alimento de alta calidad que han propiciado el crecimiento de los salmones. Las dietas para salmones están balanceadas nutricionalmente en proteínas, grasas, vitaminas y minerales y se fabrican para cada etapa de crecimiento del salmón. Además de estos ingredientes, uno muy importante, aunque con menor valor nutricional, es el trigo. Su aporte en la dieta es fundamental para lograr la estructura del pellet y así resistir el mecanismo de alimentación en los centros de cultivo. Uno de los componentes fundamentales del trigo es el almidón, el que ha sido ampliamente estudiado utilizando la técnica de calorimetría diferencial de barrido, y del que se ha descrito que algunos componentes tales como proteínas y lípidos interfieren con este proceso. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de las distintas combinaciones de materias primas utilizadas en la fabricación de dietas para salmónidos sobre las propiedades térmicas de mezclas de harina de pescado, harina de cerdo, hemoglobina y trigo, mediante calorimetría diferencial de barrido, según condiciones de humedad dado por la etapa del acondicionador

Para ello se utilizó un diseño compuesto Draper y Lin de 18 corridas experimentales de 5 niveles y 2 repeticiones en el punto central de la combinación de materias primas de dietas para salmónidos como variables independientes. Las muestras se mantuvieron con la misma humedad que se utiliza en el proceso de fabricación de dietas en planta, la que corresponde al 24%. Las materias primas y las muestras se analizaron por DSC a una velocidad de calentamiento de 20°C/min para obtener la entalpía de gelatinización del almidón y temperatura de gelatinización

Los resultados indicaron que las materias primas por si solas sometidas al programa de temperatura en DSC mostraron un perfil endotérmico característico, siendo similares las formas de las curvas del trigo y el almidón solo. Los resultados del diseño experimental mostraron que, en la formulación, la Hemoglobina de cerdo y el Trigo, afectaron positivamente la entalpía de gelatinización del almidón mientras que, la Harina de Pescado, Harina de Cerdo y la interacción Trigo – Harina de Cerdo influyeron negativamente sobre la ΔH ($p < 0.05$). La combinación trigo – harina de cerdo fue la que presentó un efecto significativo mayor sobre el peak de temperatura de gelatinización ($p < 0,05$).

Como conclusión de este estudio, las distintas combinaciones de materias primas afectan las variables respuesta entalpía y peak de temperatura de la formulación. Los modelos predichos por MSR se comportaron de manera predictiva para entalpía y peak de temperatura. La entalpía de fusión de la formulación de planta que correspondió a la entalpía de gelatinización del almidón, y otras transformaciones, resultó ser de 59 J/g mientras que, el peak de temperatura del rango máximo endotérmico de la mezcla correspondió a 81,27°C. Los valores teóricos de maximización de entalpía por MSR indicaron que para obtener un máximo de entalpía la mezcla debe consistir en 11,98 g de trigo, 9,99 g de hemoglobina, 0,056 g de harina de cerdo y 5,96 g de harina de pescado.

ABSTRACT

Nowadays, salmon feed industry has become in one of the most important industries in Chile. Our country has the privilege of being in a favorable climate for the growth and development of salmon. One of the most important factors to achieve good results is the feeding of the fishes; diets are nutricionally balanced according to the growth stage of the fish. One of the most important ingredients is wheat, which allows the pellet structure. However, wheat has low digestibility therefore the use of wheat in the formula is limited. One of the principal components that give the functional characteristic to wheat is the starch. Under processing conditions, the starch experiment gelatinization. There are studies indicating that lipids and proteins can interfere to the gelatinization process.

On this work, using DSC technique, an experimental design was used to study the effect of four raw materials on thermic characteristics of different combinations of them. The methodology included keeping the raw material and the combinations of the experimental design at 24% of moisture. Each sample in a sealed DSC pan was heated at 20°C/min.

Results indicated that the raw material had a characteristic endothermic profile. Wheat curve and starch curve were similar. Combinations results indicate that each combination had different enthalpy and peak of temperature value, depending on the raw material inclusion. The last point was obtaining the polynomial models.

As a conclusion, the different combinations of raw material show different values of enthalpy and peak of temperature. Raw material analysis by DSC indicates that wheat curve and starch curve are very similar. The liquid content of the 18 combinations of the experimental design indicate that the higher fat content, the lower peak of temperature. The predicted models by MSR was predictive for enthalpy and peak of temperature.

INTRODUCCIÓN

1. Planteamiento del Problema

La industria de la fabricación de alimento para peces ha cobrado vital importancia en el último tiempo. Chile, por su ubicación geográfica, es un país privilegiado donde se ha desarrollado la industria de la acuicultura, aumentando cada año la exportación de salmones a otros países. Uno de los factores fundamentales para conseguir este resultado ha sido la alimentación de los peces, cuyas dietas están nutricionalmente balanceadas según la etapa de crecimiento en la que éstos se encuentren. Entre los elementos más importantes para la fabricación de las dietas se encuentra el trigo, un ingrediente esencial que tiene beneficios tales como favorecer la formación y la estructura del pellet, ya que dadas las propiedades que tiene permite la formación del pellet. Sin embargo, el trigo tiene baja digestibilidad en los peces, por lo que su uso en las formulaciones de dietas es limitado. Bajo estas circunstancias, es importante que la cantidad utilizada sea suficiente para lograr cumplir con su beneficio. Uno de los componentes fundamentales que le dan esta característica funcional al trigo es el almidón. Este está formado por dos macromoléculas principalmente, amilosa y amilopectina. Bajo las condiciones de procesamiento del alimento, estas macromoléculas sufren cambios estructurales, lo que se denomina gelatinización del almidón. Por otra parte, se ha estudiado que los lípidos y las proteínas pueden influir en la gelatinización del almidón debido a que se adhieren a su superficie interfiriendo negativamente en este proceso. Diversos estudios desarrollados sobre la gelatinización del almidón han utilizado la técnica de calorimetría diferencial de barrido y se ha relacionado directamente la gelatinización con la variación de entalpía (ΔH).

En este trabajo, se pretende estudiar el efecto de distintas mezclas de cuatro materias primas que se utilizan en la fabricación de dietas para peces sobre sus características térmicas, mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido, utilizando la metodología de superficie respuesta.

1.1.- Dietas para peces

Es importante conocer algunos conceptos generales acerca de la nutrición animal. Para ellos, como para cualquier otro ser vivo, la ingesta de energía es parte de los procesos vitales a lo largo de su ciclo de vida. Existen muchas formas por las cuales el pez puede perder esta energía, como por ejemplo, a través, de los productos de desecho, por ingerir alimento de baja digestibilidad o de baja absorción, como también mediante la formación de calor debido al metabolismo. El objetivo es que se pierda la menor cantidad de energía y por lo tanto, que la mayor parte de esta se transforme en producto utilizable como carne. De acuerdo con esto, es la energía digestible la más importante para que el animal realice sus funciones vitales y de producción. Se ha definido la energía digestible como la energía total consumida menos la energía eliminada en las heces. Por otra parte, la demanda de energía para el metabolismo basal puede ser positiva o negativa. Cuando es negativa, la ingesta de alimento no es suficiente para cumplir las necesidades básicas del animal, así éste comienza a utilizar sus reservas y como consecuencia pierde peso (*Vangen y Hemre, 2003*).

Los requerimientos nutricionales son diferentes entre peces juveniles y adultos, estos requerimientos deben considerar el nivel de organización y madurez del sistema digestivo del pez en sus distintos estados de desarrollo, es por ello, que el desarrollo de las dietas está enfocado en cada etapa de crecimiento del pez. La mayoría de los estudios en peces están enfocados en las especies salmónidas debido a su importante valor comercial para la industria de la acuicultura (*Holt., 2011; Fjelldal et al., 2012; Hemre et al., 2016*)

Para formular dietas se utilizan lípidos, carbohidratos y proteínas como principales fuentes de energía. Las proteínas son usualmente la fuente más cara, por lo que no es conveniente utilizarla en alta cantidad, excepto en estados primarios de desarrollo donde son necesarias para el crecimiento de los peces. Es más económico administrar una cantidad determinada de proteínas solo para obtener los aminoácidos esenciales necesarios para el crecimiento y calidad de la carne y también como parte de la energía necesaria para los procesos internos del organismo (*Sadasivam, 1998; Eranfullah y Jafri, 1998; Özparlak, 2013, Tako et al., 2014;*).

En cuanto a los lípidos, éstos poseen mayor energía por unidad de masa que cualquier otro compuesto biológico. La dieta de un pez carnívoro usualmente está compuesta por un 50% de

proteínas y un 50% de grasas. Las grasas de origen marino, además, incrementan la palatabilidad del alimento (*Sire et al., 1981; Cho, 1982; Lupatsch et al., 1988; Kaushik, 1998; Tocher, 2003*).

Con respecto a los carbohidratos, se utilizan en baja cantidad en dietas para peces carnívoros. Es la fuente de menor costo por lo que resulta una ventaja económica utilizarlos en la mayor cantidad posible tanto como sea posible, especialmente en peces tropicales como tilapias y carpas. Sin embargo, existen algunas controversias sobre cuánto carbohidrato utilizar en las dietas. En algunas especies, como la trucha, se pueden utilizar en alta cantidad como fuente de energía, pero otras especies como el *Salmo Salar* lo digieren en menor porcentaje. Algunos investigadores sugieren que la cocción del almidón aumenta su energía metabolizable ya que el calor y la humedad transforman el almidón en fuente de energía digestible para la mayoría de los peces (*Eranfullah y Jafri, 1998; Hemre et al., 2002; Encarnacao et al., 2004*).

Dentro de los carbohidratos utilizados en la producción de alimentos para peces se encuentra el almidón, donde se destaca su importancia debido a que su tratamiento térmico y el uso de agua en forma de vapor tienen directa relación con la digestibilidad de éste. Durante el proceso de producción del alimento existen dos etapas fundamentales, que corresponden a las etapas de acondicionador y extrusión. El acondicionador es el punto donde la mezcla, que contiene trigo y otros componentes, es sometida a temperatura y humedad, ambos factores son muy importantes para que el trigo cumpla su función estructural. El tiempo que está la mezcla dentro del acondicionador es corto, aproximadamente 2 minutos y medio, este paso es rápido debido a la optimización de las etapas. Posteriormente, en la etapa de extrusión, el alimento sufre una serie de cambios físicos y químicos de tal manera que el material que sale es totalmente diferente al que entró, la razón principal para estos cambios es que el material es "cocinado" (*Gómez y Aguilera, 1983; Forte y Young, 2016*).

Otra forma de denominar la dieta es pienso. Éste se refiere a alimento para animales y está constituido por diferentes materias primas (*Fao, 2020*). Sin embargo, como término no es muy utilizado en la planta de procesos.

A continuación, se muestra un esquema general del proceso de producción en una planta de alimento para peces:

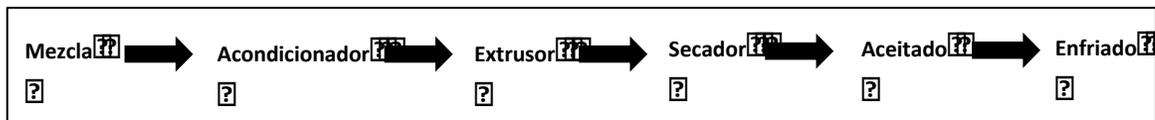


Figura 1. Esquema general del proceso de producción de alimento para salmónidos

Diagrama general de procesos planta Biomar – Chile. Elaboración propia

La primera etapa ocurre en el mezclador, este recibe tanto los macro y micro insumos y son mezclados en una gran tolva, posteriormente la mezcla pasa al acondicionador que es una de las etapas fundamentales de todo el proceso, en esta etapa la mezcla recibe agua y vapor de agua a 90°C, se reconoce que es en esta etapa donde el almidón es activado o gelatinizado, en total la mezcla está aproximadamente 3 minutos pasando posteriormente a la etapa de extrusión. La etapa de extrusión podría asemejarse a un “amasado” de la mezcla, donde la mezcla es cocinada. Al final del extrusor, por donde sale la mezcla a gran velocidad, está conectado un molde que permite obtener la forma característica del pellet. Al final de esta etapa y debido a la presión de salida, ocurre la formación de poros en la parte interna del pellet, espacio que será ocupado por aceite en la etapa de aceitado. Posterior al extrusor viene la etapa de secado, cuya humedad final debiese estar en torno al 5%, los poros internos del pellet darán el espacio para que el aceite ingrese al pellet en la etapa del aceitado y por último está la etapa de enfriado que deja al pellet con una temperatura final de 10°C.

En la figura 2 se destaca la etapa del acondicionador, ya que es la etapa que se pretende estudiar en este trabajo, utilizando la técnica de calorimetría diferencial de barrido.

Como se ha mencionado anteriormente, uno de los ingredientes fundamentales para la producción de dietas para salmónidos es el trigo. El trigo tiene un componente fundamental llamado almidón que al estar sometido a humedad y temperatura sufre el proceso de gelatinización lo que finalmente ayuda a otorgar estructura al pellet. La calidad física del pellet está directamente relacionada con el uso del trigo por lo que la optimización de su uso está directamente relacionada con el éxito en la estructura del pellet (Kraugerud O.F. 2011).

Gráficamente, las temperaturas de trabajo de cada una de estas etapas son las siguientes:

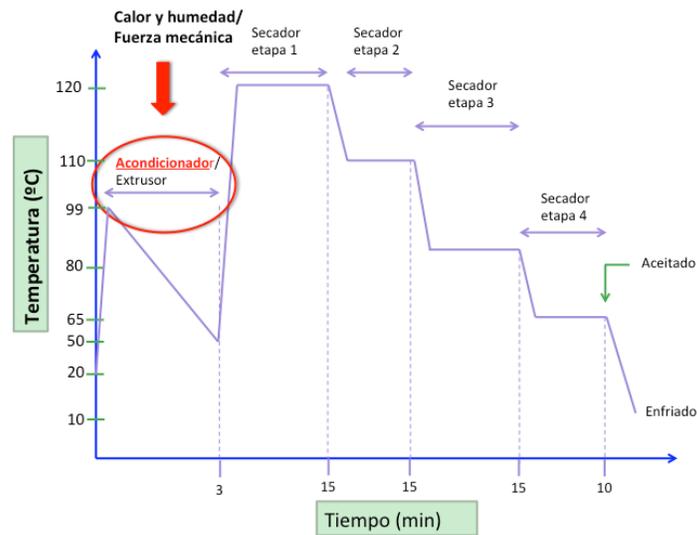


Figura 2. Detalle de temperaturas en las etapas del proceso para la producción del alimento

Diagrama general de temperaturas del proceso de planta Biomar – Chile. Elaboración propia.

1.2.- Trigo:

Es un tipo de cereal que se utiliza fundamentalmente en la fabricación de distintos derivados de la panificación, ya que presenta la particularidad de que durante su fermentación se produce esponjamiento, esta capacidad se debe principalmente a las proteínas, pero también influyen otros componentes del trigo como el almidón y los lípidos. La harina de trigo contiene de 10 a 12% de proteínas, que son básicamente glutelinas y prolaminas del citoplasma de las células del endospermo, en donde actúan como componentes estructurales y de reserva de nitrógeno para el crecimiento. Las glutelinas del trigo reciben el nombre de gluteninas, mientras que las prolaminas reciben el nombre de gliadinas, ambas suman el 85% de la fracción proteínica; éstas, junto con los lípidos y el agua forman el llamado gluten, que es el responsable de las propiedades de cohesividad y de viscoelasticidad de la masa de panificación. El gluten se caracteriza por su elevado contenido de prolamina y glutamina. (Dergal, 1999). Durante el amasado, manual o mecánico, las gluteninas y las gliadinas se desnaturalizan y establecen uniones disulfuro hidrófobas e hidrófilas. El resultado de este proceso es la formación de una red elástica y cohesiva necesaria para el esponjamiento. Esta red se crea por una interacción

de las gliadinas y gluteninas y se estabiliza por un gran número de puentes de hidrógeno por parte de la glutenina, y de uniones hidrófobas y enlaces disulfuro intra e intermoleculares (Dergal, 1999).

El rendimiento del trigo depende de su variedad, fertilización, condiciones climáticas y el lugar de cultivo. Todas estas condiciones afectan la calidad de la harina que se vaya a producir. Para fabricar una harina con una óptima composición para la producción de almidón con determinadas características, esta puede ser obtenida mezclando granos de diferentes características hasta lograr un almidón de óptima calidad (Sjoo y Nilsson, 2017).

1.2.1- Almidón:

El almidón es el principal polisacárido de almacenamiento en cereales, leguminosas, semillas, tubérculos y frutos verdes en donde se encuentra organizado en entidades pequeñas llamados gránulos (Dergal, 1999; Damodaran, 2017; Sjoo and Nilsson, 2017). Además de alimento también tiene otros usos como por ejemplo en cosmética, como adhesivo, como agente espesante, agente estabilizador, gelificante, etc. La estructura del almidón y su funcionalidad lo llevan a ser utilizado para mejorar la calidad nutricional y sensorial de los alimentos (Eliasson, 2004.)

Este polisacárido está formado por dos macromoléculas, amilosa y amilopectina, los distintos tipos de almidón varían en los porcentajes de cada una de estas moléculas (Tako et al., 2014). Además de estas diferencias, la manera en la que están organizadas dentro de los gránulos en las diferentes especies otorga una gran variabilidad de almidones. La mayoría del almidón nativo contiene entre 20 – 30% de amilosa, la variabilidad de los distintos tipos de almidón se ve reflejada en sus propiedades funcionales tales como la absorción de agua, su comportamiento en cuanto a su capacidad de hincharse, de formar una pasta y de gelificar. La cristalinidad de la estructura del almidón se debe a la disposición de las cadenas de amilopectina con y sin ramificar (Wang et al., 2015). La estructura rígida de los gránulos de almidón está rodeada por capas concéntricas de amilosa y amilopectina distribuidas radialmente. Estos cuerpos son birrefringentes, es decir, tienen dos índices de refracción. Dentro del gránulo se localizan zonas cristalinas de moléculas de amilosa ordenadas paralelamente a través de puentes de hidrógeno, así como zonas amorfas causadas por la

amilopectina que no tienen la posibilidad de asociarse entre sí o con la amilosa. La característica de birrefringencia se pierde cuando los gránulos alcanzan la gelatinización (Dergal, 1999; Damodaran, 2017).

Mediante microscopía electrónica de barrido ha sido posible obtener detalles de cómo es la estructura del almidón. Como se observa en la figura 3 a), el gránulo consiste en figuras concéntricas que representan la distribución de la amilosa y amilopectina, se cree que el origen de estos anillos podría provenir de fluctuaciones durante el crecimiento del gránulo de almidón (Eliasson, 2004). En los cereales y tubérculos que lo contienen, el almidón se encuentra en las células con este tipo de estructura. Dependiente del vegetal, los gránulos tienen un tamaño entre 2 y 100 micras, los gránulos de almidón del arroz están entre los más pequeños, y los del almidón de patata entre los más grandes. La forma suele ser redondeada pero también los hay de forma alargada o más o menos irregular

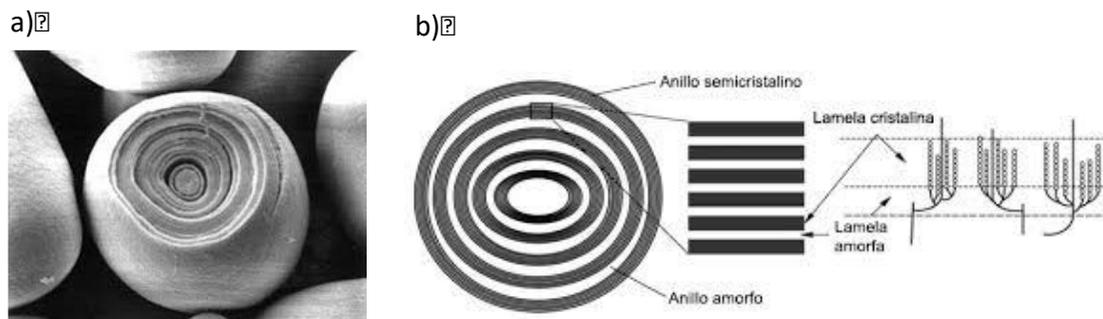


Figura 3. Detalle de la estructura del almidón. **a)** Microscopía de barrido de Eliasson (2004). **b)** Estructura de los anillos concéntricos del almidón, modificado de Tester et al., (2004).

Como se observa en la figura 3 b), los gránulos de almidón expuestos exhiben un patrón alternado de círculos concéntricos claros y oscuros que corresponden a las regiones amorfas y a las regiones semicristalinas. Las secciones donde se encuentran los puntos de ramificación de la amilopectina son las zonas amorfas. En la amilopectina se encuentran dos tipos de enlace entre las unidades de glucosa, los α 1 \rightarrow 4 de la amilosa y los α 1 \rightarrow 6 que dan lugar a las ramificaciones. En cambio, la sección cristalina está formada por cadenas paralelas de amilosa unidas por enlaces α 1 \rightarrow 4.

Como se mencionó en un principio, en la industria dedicada a la fabricación de alimento para peces, uno de los procesos fundamentales ocurre en la etapa del acondicionador, este proceso raramente se produce en exceso de agua, lo típico utilizado es entre 15 a 30%, mientras que en estudios sobre gelatinización del almidón afirman que el contenido de humedad necesario para que se produzca este fenómeno es sobre un 60% (*Forte y Yang, 2016*). Cuando el almidón es mezclado con agua y sometido a temperatura, experimenta algunos fenómenos termodinámicos tales como transición vítrea (T_g) y gelatinización. El primero corresponde a una fase de transición de segundo orden que ocurre sobre el rango de temperatura en el cual un sólido amorfo es transformado a un estado metaestable. La transición vítrea tiene un rol clave en la calidad y estabilidad de almacenamiento de productos congelados (*Zeleznaek, y Hosenev, 1987; Charoenrein y Udomrati, 2013*). Sin embargo, la medición de T_g es difícil debido a que el cambio de la capacidad calórica o la señal sobre el flujo de calor es más bajo que la de un polímero convencional. Ha habido varios estudios que han intentado encontrar la T_g del almidón encontrándose significativas diferencias entre cada uno. Teóricamente, un incremento en la velocidad de calentamiento de una muestra de almidón podría incrementar la sensibilidad térmica medida por DSC, estudios utilizando High Speed DSC con una velocidad de calentamiento de 250°C/min ha logrado determinar la débil señal de la T_g del almidón (*Liu et al., 2009*)

1.2.2.- Gelatinización del almidón:

Los gránulos de almidón, cuando están sujetos a tratamientos de calor y agua, son sometidos a una transformación fisicoquímica conocida como gelatinización. Este fenómeno induce varios cambios en el gránulo de almidón tales como hinchazón del gránulo, salida de amilosa, mejora la solubilidad y digestibilidad, disrupción granular y mayor viscosidad (*Gill et al., 2010*).

La gelatinización de los gránulos de almidón está principalmente gobernada por el contenido de humedad y la temperatura. En un ambiente con alta cantidad de agua, el almidón es fácilmente gelatinizado, mientras que en escasez de agua es difícil lograr la gelatinización del almidón, incluso a temperaturas altas como a 100°C.

Este fenómeno ocurre cuando el almidón es calentado en exceso de agua encontrándose los gránulos sometidos a un cambio irreversible de fase en el cual la estructura ordenada del almidón pasa a estar desorganizada. Cuando el almidón se calienta empieza un proceso lento de absorción de agua en las zonas amorfas de su estructura, que son las menos organizadas y las más accesibles, ya que los puentes de hidrógeno no son tan numerosos ni rígidos como en las áreas cristalinas. A medida que incrementa la temperatura se retiene más agua y el gránulo empieza a hincharse y a aumentar el volumen. Al final de este proceso se genera una pasta en la que existen cadenas de amilosa de bajo peso molecular altamente hidratadas que rodean a los agregados, también hidratados, de los restos de los gránulos. La cantidad de agua que absorben los diferentes almidones varía, pero se considera que va de 40 a 55 gramos de agua por cada 100 gramos de sólido (*Dergal, 1999; Sjöo and Nilsson, 2017*).

La gelatinización hace que el almidón sea digestible ya que a medida que aumenta el almidón gelatinizado aumenta la digestibilidad de éste (*Bergot y Brequet, 1983; Rooney y Pflugfelder, 1986*). Kraugerud (2011) estudió la gelatinización durante el proceso de extrusión y en su primer estudio evaluó el grado de gelatinización de los pellets. Un muestreo aleatorio de dietas para peces mostró diferencias en la gelatinización indicando de esta forma diferencias en el origen de la fuente de almidón y/o en las condiciones de procesamiento. El grado de gelatinización es un factor esencial cuando se quiere utilizar las propiedades del almidón e incrementar su digestibilidad. Otro estudio realizado por el mismo autor, fue diseñado para investigar cómo las dietas y sus ingredientes responden a cambios de las variables operativas en el extrusor. En este caso, las dietas fueron procesadas a dos niveles de energía mecánica específica (SME), para conocer como las dietas responden a diferencias en el tratamiento de severidad. Para este estudio se trabajó con formulaciones de origen vegetal además se incluyó almidón y celulosa. El estudio concluyó que las dietas ricas en proteínas mostraron una mejor calidad física que las dietas ricas en almidón (*Kraugerud et al., 2011*).

Como ya se ha descrito, uno de los objetivos perseguidos en la industria durante el proceso de producción del alimento es la gelatinización del almidón del trigo. Esto es importante principalmente por dos motivos: para aumentar la digestibilidad del almidón y para lograr la estructura del pellet. En la industria hasta el día de hoy, el rol del trigo es muy importante para

lograr este último objetivo. Es por ello que en todas las formulaciones siempre está presente entre un 8 – 12%.

Se ha descrito que existen ciertos componentes que pueden influir sobre la etapa de gelatinización haciendo que no se produzca en su totalidad. La interacción entre el almidón y los lípidos es un fenómeno bien conocido en la industria de los alimentos, se utiliza para aumentar la vida útil del pan, para disminuir la adherencia de la pasta y las hojuelas de papa y afectar el comportamiento reológico del almidón. Cuando la técnica de calorimetría diferencial de barrido comenzó a ser utilizada a principios de los años 80, se convirtió en una importante herramienta para estudiar la gelatinización del almidón siendo uno de los métodos que mejor han contribuido al entendimiento de las interacciones almidón – lípidos. Para entrar en mayor detalle, a continuación, se profundiza sobre los factores que influyen sobre la gelatinización del almidón (*Eliasson, 1994; Douglas, 2003*)

1.2.3. Factores que influyen en la gelatinización del almidón:

Como se ha dicho anteriormente, es sabido que la activación del almidón se puede ver influenciada por ciertos compuestos, principalmente aquellos ricos en proteínas y lípidos (*Melvin, 1979; Schweizer et al., 1986; Lin et al., 1997; Gelders et al., 2006*). Se ha descrito que, en la fabricación de alimentos, la adición de fuentes lipídicas a la mezcla que será extruida retarda el grado de gelatinización del almidón, lo cual puede reducir sus propiedades y viscosidad (*Malkki et al., 1984*). En estudios sobre el sorgo (un tipo de cereal) se ha determinado que la presencia de proteínas alrededor del gránulo de almidón produce una cobertura rígida y que la completa gelatinización solo ocurre si esta barrera es removida (*Chandrashekar and Kirleis, 1988*). También hay otros estudios sobre viscosidad que sugieren que la adición de ácidos grasos, principalmente saturados, restringen al gránulo de almidón en su proceso de hidratación e hinchamiento durante la gelatinización, lo que llevó a concluir que la adición de ácidos grasos, saturados particularmente, aumenta la resistencia a la ruptura hidrotérmica del gránulo de almidón durante la gelatinización (*Zhou et al., 2007*). Una explicación más acabada para este fenómeno ha descrito que se pueden formar complejos amilosa – ácido graso debido a su excelente capacidad de unión (*Desrumaux et al., 1999*). Por

otra parte, Kim y Walker (1992) describieron que los lípidos pueden cubrir la superficie del almidón como un film, incrementando la hidrofobicidad e inhibiendo la transferencia de agua dentro del gránulo. Se ha descrito también, que el almidón puede sufrir interacciones con proteínas. Proteínas tales como la gelatina y los hidrocoloides son ampliamente utilizados en la industria alimentaria como agentes gelificantes, espesantes, estabilizadores, emulsionantes y modificadores de textura. Otros estudios han descrito también la interacción entre proteínas de cereal y almidón de cereal (*Eliasson y Tjerneld, 1990a*). Por ejemplo, varios estudios se han desarrollado sobre esta interacción, en una masa de harina de trigo, los gránulos de almidón se dispersan en una matriz continua de gluten. Debido a la gran superficie de área que poseen, hay una gran oportunidad para las interacciones almidón – gluten que pueden ser importantes en el comportamiento durante la cocción de la masa.

Se ha propuesto que la interacción entre el almidón y las proteínas ocurre en la superficie del gránulo con las moléculas del gluten. También se ha encontrado, mediante la técnica de DSC, que la presencia de gluten disminuye la entalpía de gelatinización del almidón e incrementa la temperatura de gelatinización. Este efecto, se atribuyó a la pequeña cantidad de agua disponible para el almidón por la presencia de gluten, debido a la competencia por el agua entre la proteína y el almidón (*Eliasson, 1983*).

Como ya se ha mencionado, una de las técnicas más utilizadas para estudiar el comportamiento térmico del almidón es la calorimetría diferencial de barrido, técnica importante para conocer el punto donde se alcanza la gelatinización, entregando además información de su orden de magnitud.

1.3.- Calorimetría Diferencial de Barrido:

La calorimetría diferencial de barrido o DSC, por sus siglas en inglés, corresponde a un sistema de análisis que permite estudiar las propiedades físicas y químicas de una sustancia o mezcla en función de la temperatura o tiempo. EL DSC es una técnica experimental que permite determinar la cantidad de calor que absorbe o libera una sustancia, cuando es mantenida a

temperatura constante durante un tiempo determinado, o cuando es calentada o enfriada a velocidad constante en un determinado intervalo de temperaturas. La capacidad calórica es definida como la cantidad de energía requerida para incrementar la temperatura de un material en 1 grado, siendo:

$$C_p = Q/\Delta T$$

Ec. 1

Donde C_p es la capacidad calórica, ΔT el cambio de temperatura y Q es la cantidad de calor requerido para alcanzar el ΔT (*Reading and Hourston, 2010*).

1.4.- Principio y utilidades de DSC:

En la técnica experimental de DSC se dispone de dos cápsulas. Una de ellas contiene la muestra a analizar y la otra está generalmente vacía y es la llamada cápsula de referencia. Se usan calefactores individuales para cada cápsula y un sistema de control comprueba si se producen diferencias de temperatura entre la muestra y la referencia. Si se detecta cualquier diferencia, los calefactores individuales se corregirán de tal manera que la temperatura se mantendrá igual en ambas cápsulas. Es decir, cuando tiene lugar un proceso exotérmico o endotérmico, el instrumento compensa la energía necesaria para mantener la misma temperatura en ambas cápsulas (*Suriñach et al., 1992*).

La figura 4 muestra el funcionamiento general de un calorímetro. El DSC mide la diferencia entre el flujo de calor a una muestra y a una referencia que están bajo un mismo programa de temperatura, esta energía es medida en watts (W) o en miliwatts (mW). Si la muestra absorbe energía entonces la Entalpía (ΔH) es endotérmico. Si la muestra libera energía entonces el ΔH es exotérmico (*Chiu y Prenner, 2011*).

Como regla general, puede decirse que todas las transformaciones o reacciones donde se produce un cambio de energía, pueden medirse por DSC. Entre las diversas utilidades de la técnica de DSC se puede destacar las siguientes; Medidas de capacidad calorífica aparente (fenómenos de relajación estructural) y determinación de temperaturas características de transformación o de transición tales como: transición vítrea, cristalización, transformaciones

polimórficas, fusión, ebullición, sublimación, descomposición, isomerización, etc. También permite determinar la estabilidad térmica de los materiales y la cinética de cristalización de los materiales (Suriñach et al., 1992).

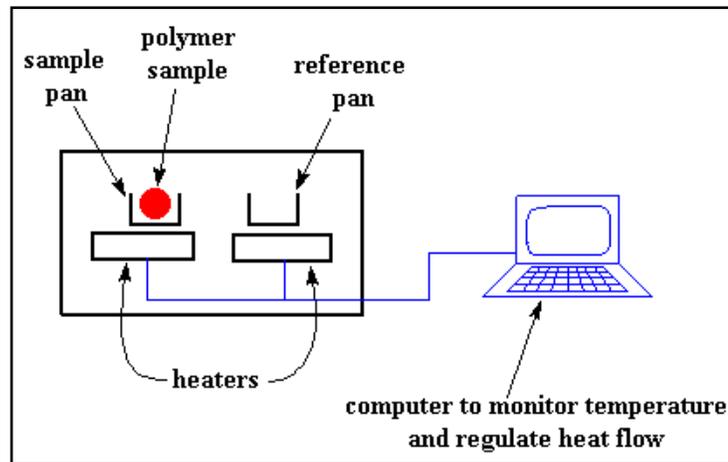


Figura 4. Esquema general del funcionamiento de un calorímetro diferencial de barrido

Gönul Kaletunç, 2009

1.5.- Aplicación de la calorimetría diferencial de barrido:

Esta técnica ha sido muy relevante en el campo de la ciencia de los materiales debido a su elevado grado de sensibilidad y a su rápida velocidad de análisis. Por otra parte, es sabido que el conocimiento de la estabilidad de un material, así como la completa caracterización de sus transiciones, es de primordial interés en los materiales con potenciales aplicaciones industriales (Suriñach et al., 1992).

En general, la aplicación de la calorimetría es muy variada, se ha utilizado en estudios termodinámicos de proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, hidratos de carbono y también para aplicaciones en nanotecnología. DSC es considerada una de las técnicas más frecuentes para determinar la estabilidad térmica de proteínas y también existen variados reportes sobre

estudios en lípidos. Se ha demostrado, además, que la técnica puede ser aplicada para estudiar la estabilidad oxidativa de ácidos grasos. Sobre su uso en hidratos de carbono, esta técnica aparece como una de las más aplicables para el estudio de la gelatinización del almidón (*Gill et al., 2010*).

Su aplicación en el conocimiento del almidón es estudiar la influencia del tratamiento térmico sobre la microestructura, en consecuencia, las propiedades de este material para determinar de esta forma el tratamiento más adecuado (*Suriñach et al., 1992*). El DSC es una poderosa herramienta para cuantificar la gelatinización del almidón y ha sido ampliamente utilizada para estudiar el comportamiento térmico de esta molécula (*Yu and Christie, 2001*). Esta técnica permite identificar cambios estructurales mediante el registro de flujo de energía versus temperatura. También es posible determinar la pérdida de cristalinidad durante la gelatinización del almidón que es medida como una isoterma de primer orden. Al analizar la cinética de la gelatinización de distintos tipos de almidón, mediante calorimetría diferencial de barrido, se determinan cinco parámetros: temperatura de inicio endotérmico (T_0), peak máximo endotérmico (T_c), temperatura final endotérmica (T_p), perfil endotérmico y entalpía endotérmica (ΔH). La entalpía, que es la integración del área bajo el *peak* de transición térmica, es referida como la intensidad de la gelatinización (*Kaur et al., 2004*). Los efectos bajo una curva de DSC pueden ser utilizados para calcular entalpías de transiciones, la entalpía de transición puede ser expresada por la siguiente ecuación:

$$\Delta H = kA' \quad \text{Ec. 2}$$

Donde ΔH es la entalpía, k es la constante calorimétrica y A' es el área bajo la curva. Entalpía calorimétrica se refiere a la integración total de la zona bajo el *peak* del termograma endotérmico, el cual indica la energía total captada por la muestra.

Por otra parte, la aplicación de DSC sobre el estudio de los alimentos se ha transformado en una de las herramientas fundamentales para caracterizar grasas, aceites, proteínas, almidones y macromoléculas en general. Para la caracterización térmica de las grasas y los aceites se utiliza el punto de fusión. Este método es muy exacto ya que el valor se obtiene una vez que la sustancia bajo estudio pasa completamente a su estado líquido (*Tieko and Guaraldo, 1999*).

Ante la diversidad de utilidades y aplicaciones de la técnica de calorimetría diferencial de barrido y su importancia en el comportamiento térmico del almidón en diversas matrices alimentarias y su interacción con otras macromoléculas. El presente trabajo pretende conocer las propiedades térmicas de algunos de los principales ingredientes que se utilizan en dietas para salmones tales como: trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado y, la interacción de estas materias primas en distintas mezclas formuladas, mediante metodología de superficie respuesta.

1.6 HIPÓTESIS

Distintas combinaciones de materias primas que se utilizan en dietas para salmónidos del tipo harina de pescado, harina de cerdo, hemoglobina, trigo, y sus interacciones, afectan

negativamente las propiedades térmicas de sus mezclas tales como el peak endotérmico y la entalpía, ΔH , bajo las condiciones de humedad que se utilizan en la etapa de acondicionador.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 Objetivo general

Determinar el efecto de las distintas combinaciones de materias primas utilizadas en la fabricación de dietas para salmónidos sobre las propiedades térmicas de mezclas que contengan harina de pescado, harina de cerdo, hemoglobina y trigo, mediante calorimetría diferencial de barrido, según condiciones de humedad dado por la etapa del acondicionador.

1.7.2 Objetivos específicos

1.- Determinar las propiedades térmicas de diferentes materias primas para dietas de salmón; trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado mediante DSC.

1.1.- El termograma del perfil endotérmico

1.2.- Temperatura máxima endotérmica (T_c)

1.3.- Temperatura de inicio (T_0) y final (T_p) del rango máximo endotérmico

1.4.- La entalpía endotérmica (ΔH)

1.5.- El contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura (L_1) de las materias primas

2.- Determinar las propiedades térmicas de mezclas de: trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado, mediante DSC.

- 2.1.- El termograma del perfil endotérmico
- 2.2.- Temperatura máxima endotérmica (T_c)
- 2.3.- Temperatura de inicio (T_0) y final (T_p) del rango máximo endotérmico
- 2.4.- La entalpía endotérmica (ΔH)
- 2.5.- El contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura (L_2) de las mezclas
- 3.- Determinar el efecto de la mezcla sobre las propiedades térmicas mediante metodología superficie respuesta (MSR)
 - 3.1.- Determinar el efecto de las distintas combinaciones de mezclas sobre la entalpía endotérmica (ΔH)
 - 3.2.- Determinar el efecto de las distintas combinaciones de mezclas sobre la temperatura del peak máximo endotérmico (T_c)
 - 3.3.- Optimizar la mezcla por MSR y obtener modelos polinómicos cuadráticos de las variables respuestas: ΔH , T_c , mediante regresión múltiple

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales:

2.1.1 Materias primas:

Las materias primas utilizadas en este estudio fueron otorgadas por el departamento de producción de la empresa Biomar Chile – Puerto Montt:

- Muestras de trigo argentino, importado de la zona de la pampa argentina
- Muestras de harina de pescado
- Muestras de harina de cerdo
- Muestras de hemoglobina

Composición de las materias primas: Se realizó caracterización de proximales de las materias primas utilizando un equipo NIR (nir-infrared-spectrometer) del laboratorio de calidad de la empresa Biomar. Equipo NIR marca FOSS DS2500

Tabla 1. Caracterización de proximales por NIR de las materias primas bajo estudio

Materia prima	Proteína %	Grasa %	Humedad %	Ceniza %	HC
Trigo	10,3	1,5	9,2	1,7	75,0
Harina de pescado	68,0	7,5	9,7	15,0	ND
Hemoglobina de cerdo	91,0	1,5	5,0	3,0	ND
Harina de cerdo	55,0	15,0	5,0	25,0	ND

*ND: No determinado

2.1.2 Equipos y accesorios:

- Calorímetro diferencial de barrido DSC marca Perkin Elmer modelo DSC 6000, modelación de temperatura MT-DSC con principio de medición Heat Flux. Incluye:
 - Pyris Software
 - Intracooler
 - Computador
 - Impresora Dell
 - Cápsulas de aluminio para compuestos no volátiles marca Perkin Elmer
 - Balanza analítica RADWAG modelo AS 60/220.R2

2.1.3 Insumos:

- Acetato de potasio para análisis marca Winkler $K_2C_2H_5O_2$ (99,1%). CAS-No: 127-08-2

- Almidón soluble marca Merk CAS-No:9005-84-9

2.2 Métodos

2.2.1. Procedimientos preliminares:

2.2.1.1 Tratamiento previo al programa térmico:

Antes de realizar las mediciones, el calorímetro fue calibrado. Para ello, se utilizó el metal Indio como estándar (punto de fusión= 156,61°C, ΔH de fusión = 28,45 J/g). Se realizó una corrida en el DSC con un peso encapsulado de 5 mg de Indio (la cápsula llega pesada y sellada herméticamente desde el laboratorio del fabricante) a una velocidad de 2°C/min que es recomendada por el fabricante para fusión de estándares. La calibración se realiza una vez, antes de pasar todas las muestras.

2.2.1.2 Materiales y preparación de la muestra:

Las muestras de materias primas se mantuvieron almacenadas a temperatura y humedad ambiente de laboratorio hasta el momento de realizar las mezclas.

Las mezclas se prepararon según el diseño experimental Draper y Lin en la tabla 1. En total se realizaron 18 distintas combinaciones de mezclas en 18 corridas experimentales dentro de las cuales dos corridas correspondieron al punto central, lo que permitió estimar el error experimental. Cada una de las combinaciones fue medida en gramos. Estas mezclas se homogeneizaron y colocaron en un ambiente a una humedad del 24%, para ello se prepararon en frascos de 250 mL un medio saturado de acetato de potasio (CH_3COOK) para equilibrar el contenido de humedad por 48 horas según protocolo modificado de Liu P., et al. 2009. Cada mezcla se dispuso en estos frascos por 48 h para luego ser analizadas por DSC.

2.2.2 Determinación de las propiedades térmicas de diferentes materias primas: trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado, mediante DSC:

Estos ensayos fueron realizados en el Laboratorio de Procesos de Alimentos, perteneciente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

El equipo que se utilizó fue el calorímetro diferencial de barrido modelo DSC 6000 de la marca Perkin Elmer con modelación de temperatura MT-DSC y principio de Heat Flux. Se usó Nitrógeno de alta pureza como gas de purga (99,999%) a flujo de 20 mL/min. El tratamiento de datos se realizó con el programa computacional Software Pyris Player.

El DSC permitió determinar el termograma del perfil endotérmico, temperatura de inicio, final y rango endotérmico, la entalpía endotérmica, la temperatura máxima endotérmica y el área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura.

El programa de temperatura utilizado fue de 20°C a 120°C a una velocidad de 10°C/min.

Se realizó 2n por muestra.

2.2.2.1 Determinación del termograma del perfil endotérmico de las materias primas:

Se pesó entre 5 y 10 mg de cada materia prima, previamente ambientada por 48 h en un medio saturado de CH₃COOK, se colocó en la cápsula de aluminio para compuestos volátiles y luego se selló herméticamente mediante una prensa para cápsula. Además, se selló herméticamente una cápsula vacía para utilizarla como cápsula de referencia. Ambas cápsulas se prepararon el mismo día del experimento. Cada cápsula fue sometida al programa térmico presentado en el punto anterior. La curva obtenida desde los 20°C hasta los 120°C correspondió al termograma del perfil endotérmico.

2.2.2.2 Determinación de la temperatura máxima endotérmica (T_c):

Del perfil endotérmico obtenido del punto anterior se determinó la temperatura peak del termograma, la que fue definida como la temperatura máxima endotérmica (T_c). El peak se determinó utilizando el software Pyris.

2.2.2.3 Temperatura de inicio (T_0), final (T_p) del rango máximo endotérmico:

Se analizó el termograma del perfil endotérmico obtenido de cada materia prima y como variable respuesta se obtuvo la temperatura de inicio y final del rango donde se encuentra el peak máximo endotérmico.

2.2.2.4 Entalpía endotérmica (ΔH) (J/g):

La entalpía endotérmica fue determinada según el perfil del termograma. Se calculó según el área bajo la curva de $\Delta H/\Delta T$ versus temperatura. Según el rango endotérmico definido, el software Pyris Player entregó los valores en J/g que corresponde al calor absorbido el rango endotérmico.

Se analizó cada materia prima y como variable respuesta se obtuvo la entalpía endotérmica de cada muestra según el rango definido.

2.2.2.5 El contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura de las materias primas (L_1):

Fue determinado mediante integración de las áreas parciales bajo el área del peak máximo endotérmico. El software Pyris Player entregó el valor del área en porcentaje de contenido líquido en función de la temperatura.

2.2.3. Determinación de las propiedades térmicas de mezclas de: trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado, mediante DSC:

2.2.3.1 Determinación del termograma del perfil endotérmico de mezclas:

Para determinar los termogramas del perfil endotérmico de cada una de las 18 mezclas preparadas según el diseño experimental de la tabla 1 se realizó el mismo procedimiento que se describe en el punto 2.2.2.1

2.2.3.2 Determinación de la temperatura máxima endotérmica (T_c):

Para determinar la temperatura máxima endotérmica de cada una de las 18 mezclas preparadas según el diseño experimental de la tabla 1 se realizó el mismo procedimiento que se describe en el punto 2.2.2.2 Las temperaturas se determinaron utilizando el software Pyris.

2.2.3.3 Temperatura de inicio (T_0), final (T_p) del rango máximo endotérmico:

Para determinar la temperatura de inicio y final del rango máximo endotérmico de cada una de las 18 mezclas preparadas y de las materias primas por separado, se realizó según el diseño experimental de la tabla 2 tal como se describe en el punto 2.2.2.3.

2.2.3.4 Entalpía endotérmica (ΔH) (J/g):

Para determinar la entalpía endotérmica de cada una de las 18 mezclas preparadas y de las materias primas por separado según el diseño experimental de la tabla 1, se realizó tal como se describe en el punto 2.2.2.4

2.2.3.5 El contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura de las mezclas (L_2):

El contenido líquido se calculó tal como se describe en el punto 2.2.2.5

2.2.4 Determinar el efecto de la mezcla sobre las propiedades térmicas mediante metodología superficie respuesta (MSR):

Con el fin de estudiar el efecto de las variables independientes trigo (8 a 12 g), hemoglobina (0 a 10 g), harina de cerdo (0 a 10 g) y harina de pescado (0 a 50 g) se realizó mediante MSR, un diseño compuesto Draper y Lin con 18 corridas experimentales de cuatro niveles incluyendo 2

repeticiones en los puntos centrales para determinar el error experimental (Tabla 1). En este estudio las variables independientes fueron las materias primas:

- Trigo (A)
- Hemoglobina (B)
- Harina de cerdo (C)
- Harina de pescado (D)

Cuyas variables dependientes o variables respuesta fueron:

- La entalpía del peak máximo endotérmico (ΔH)
- La temperatura del peak máximo endotérmico (T_c)

Tabla 2. Diseño compuesto Draper y Lin de la combinación de materias primas de dietas para salmónidos como variables independientes.

Nº exp.	Trigo (g)	Hemoglobina (g)	Harina de cerdo (g)	Harina de pescado (g)	Total (g)
1	11,18 (1)	7,97 (1)	7,97 (1)	10,13 (-1)	37,25
2	11,18 (1)	7,97 (1)	2,02 (-1)	10,13 (-1)	31,3
3	11,180 (1)	2,02 (-1)	7,97 (1)	39,86 (1)	61,03

4	8,82 (-1)	7,97 (1)	2,02 (-1)	39,86 (1)	58,67
5	11,18 (1)	2,02 (-1)	2,02 (-1)	39,86 (1)	55,08
6	8,82 (-1)	2,02 (-1)	7,97 (1)	10,13 (-1)	31,3
7	8,82 (-1)	7,97 (1)	7,97 (1)	39,86 (1)	64,62
8	8,82 (-1)	2,02 (-1)	2,02 (-1)	10,13 (-1)	22,99
9	8,01 (-2)	4,99 (0)	4,99 (0)	24,99 (0)	43
10	11,98 (2)	4,99 (0)	4,99 (0)	24,99 (0)	46,16
11	10,00 (0)	0 (-2)	4,99 (0)	24,99 (0)	39,99
12	10,00 (0)	9,99 (2)	4,99 (0)	24,99 (0)	37,25
13	10,00 (0)	4,99 (0)	0 (-2)	24,99 (0)	39,99
14	10,00 (0)	4,99 (0)	9,99 (2)	24,99 (0)	49,98
15	10,00 (0)	4,99 (0)	4,99 (0)	0 (-2)	19,99
16	10,00 (0)	4,99 (0)	4,99 (0)	49,99 (2)	69,98
17	10,00 (0)	4,99 (0)	4,99 (0)	24,99 (0)	44,98
18	10,00 (0)	4,99 (0)	4,99 (0)	24,99 (0)	44,98

*Cantidades (gramos) obtenidas por método estadístico mediante programa Statgraphic Centurion. 1; -1; 0; 2; -2 corresponde a las variables codificadas.

2.2.5. Obtención de modelos polinómicos cuadráticos mediante regresión múltiple:

Un modelo de regresión polinómico cuadrático fue utilizado para predecir las variables dependientes (Y). El modelo propuesto para cada respuesta Y fue expresado según la fórmula 2:

$$Y_i = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad \text{Ec. 3}$$

Donde β_0 , β_i y β_{ii} corresponden a los coeficientes intercepto, lineal y cuadráticos, respectivamente; β_{ij} representa el coeficiente de interacción para las interacciones de las variables X_{ij} ; X_1 , X_2 , X_3 , X_4 representan las variables independientes, ε corresponde el error experimental.

2.2.6. Análisis estadístico:

Se realizó análisis de varianza ANOVA para obtener diferencias significativas de las variables independientes con $p < 0.05$ y análisis de regresión múltiple para obtener los modelos polinómicos cuadráticos ajustados de las variables respuesta estudiadas. Además, se obtuvo el diagrama de superficie de respuesta estimada y de contorno para cada una de las variables dependientes con el fin de conocer el efecto de cada una de las variables independientes sobre las variables dependientes.

El intervalo de confianza utilizado fue del 95% tomando en cuenta el número de réplicas y considerando la desviación estándar de cada muestra. Se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurión XVI-2011 (Start Point Technologies, Inc., Rockville, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Objetivo 1 Determinar las propiedades térmicas de diferentes materias primas: Trigo, Hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado

3.1.1.- Objetivo 1.1 Determinación del termogramas del perfil endotérmico

La figura 5 muestra los perfiles endotérmicos de trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado. Se incluye además el resultado del perfil endotérmico del almidón para comparar con la curva de trigo. Casi todas las curvas muestran dos peak, siendo mayor el segundo para todas las materias primas. La curva del almidón muestra que su segundo peak es mucho mayor que el segundo peak del resto de las curvas de las materias primas. El segundo peak de la curva del trigo sigue a la del almidón en altura, pero de magnitud mucho menor.

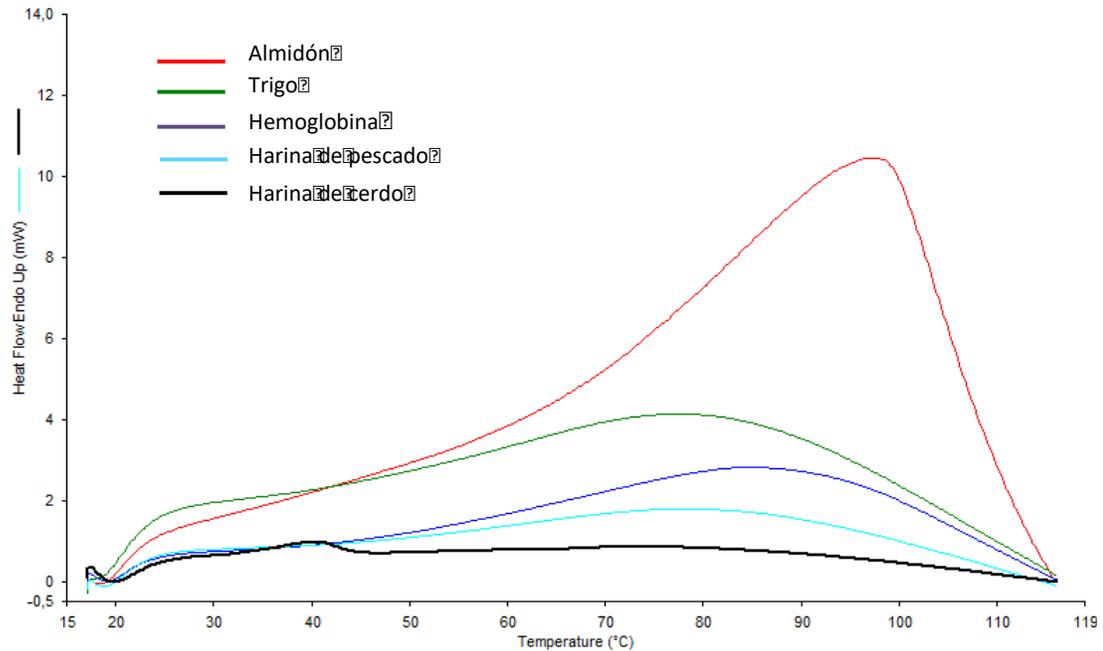


Figura 5. Termogramas del perfil endotérmico de almidón, trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado

Existen varios estudios en DSC que describen el comportamiento del trigo, y estos se han enfocado en analizar la gelatinización del almidón del trigo bajo ciertas condiciones de humedad y temperatura. Este estudio en particular se enfocó en representar las condiciones reales de planta, donde se entregó un 24% de humedad a todas las muestras bajo el programa de temperatura, lo que llevó a la obtención de estas curvas.

Ya se ha descrito previamente que el comportamiento de la gelatinización del almidón es un proceso multifactorial (Lund, 1984; Eliasson et al., 1996). En el caso de este estudio, bajo las condiciones de humedad y temperatura del procedimiento experimental, el almidón quedaría sometido al cambio irreversible ya conocido como gelatinización. Este fenómeno ya se ha estudiado anteriormente utilizando DSC y en resultados obtenidos, se encontró que en exceso de agua solo aparece una endoterma en la curva de DSC, mientras que en baja cantidad de agua también aparece solo una endoterma, pero a mayor temperatura (Donovan, 1979). Con una concentración intermedia de agua, se han observado dos transiciones endotérmicas (Biliaderis et al., 1986; Kokini et al., 1992)

Según Fukuoka et al. (2002), un incremento en el contenido de agua lleva a un incremento en la entalpía de gelatinización y a una disminución en la temperatura de gelatinización.

Por otra parte, con una concentración intermedia de agua, se han observado dos transiciones endotérmicas (Biliaderis et al., 1986), situación cercana lo obtenido en los termogramas de los perfiles térmicos de las materias primas de este estudio.

Como se mencionó en un principio, uno de los factores fundamentales para la gelatinización del almidón es el contenido de agua. En este tipo de industrias, el contenido de agua debe ser limitado ya que la optimización del proceso apunta a la producción de miles de toneladas al año por lo que la eficiencia del proceso productivo necesita tiempos cortos en cada una de sus etapas. Esto implica que el porcentaje de humedad utilizado no supera el 25 -30% para así hacer del proceso de secado una etapa no superior a los 55 – 60 minutos. Es por ello que este diseño experimental se desarrolló bajo una humedad del 24% (entregado por el ambiente del acetato de potasio). En cuanto a este porcentaje de humedad utilizado, se ha descrito que la gelatinización del almidón en sistemas con limitado contenido de agua, no es alcanzada en su totalidad. Además, algunos estudios usando la técnica de NMR llegaron a la conclusión de que, para lograr la gelatinización, tanto la cantidad de agua como la temperatura son fundamentales, encontrándose la temperatura óptima entre los 60º y 100ºC (Fukuoka et al., 2002).

En la figura 5, la curva del almidón está mostrando cómo se comporta bajo este programa de temperatura en ausencia de otro componente de la matriz alimentaria que pueda interferir

con su proceso. La magnitud de la curva de almidón es mucho mayor que la del trigo y el resto de las materias primas, lo que apoya la evidencia bibliográfica que indica que ciertos componentes pueden interferir con la gelatinización del almidón. Por ejemplo, estudios realizados sobre harina de pescado y gelatinización de almidón evidenciaron que estas materias primas tienen un efecto negativo sobre la gelatinización del almidón (Samuelsen et al. 2014). Por lo tanto, la evidencia científica sobre la existencia de interacciones entre el almidón y otros biopolímeros utilizados en la industria de los alimentos apoyan lo observado en la figura 5 entre las curvas del trigo y del almidón.

Además, lo descrito por Ann Charlotte Eliasson (1994), acerca de la influencia de los lípidos sobre la gelatinización del almidón, donde los tipos de procesos a los cuales son sometidos los alimentos tales como extrusión y secado por tambor, pueden permitir la formación de distintos complejos entre la estructura del almidón y los lípidos. Se ha descrito, además, la formación de un complejo amilopectina-lípido, lo que implica la disminución en la entalpía de gelatinización de almidón de maíz ceroso en presencia de lípido.

3.1.2 Objetivos 1.2 1.3 1.4 Determinación de la Temperatura máxima endotérmica, Temperatura de inicio (T₀) y final (T_p) del rango máximo endotérmico

Los resultados se presentan resumidos en la tabla 3 que se muestra a continuación:

Tabla 3. Propiedades térmicas del trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado.

Materia prima	ΔH (J/g)	Peak de Temperatura (°C)	Temperatura onset (°C)	Temperatura endset (°C)
Trigo	67,19	81,72	44,64	115,67
Hemoglobina	66,35	86,75	47,51	115,63
Harina de cerdo	16,00	82,08	52,2	115,60
Harina de pescado	41,51	82,45	46,35	115,63

Mediante DSC, se determinaron las propiedades térmicas de las materias primas bajo estudio, que se detallan en la tabla 3. Las principales diferencias están en el valor de entalpía encontrado, la harina de cerdo presenta el menor valor de entalpía, seguido por la harina de pescado. El valor más alto de entalpía es para el trigo cuyo valor es de 67,19 J/g. No se registraron mayores diferencias para el peak de temperatura, cuyos rangos de inicio y fin (onset y endset) son muy similares para las cuatro materias primas.

Los valores de entalpía del trigo y hemoglobina son muy similares, así como se observa en el termograma de ambos en la figura 5 cuyas curvas son muy parecidas, sin embargo, el flujo de calor experimentado durante el proceso de calentamiento de la muestra es mayor para el trigo, observándose para la curva del trigo un débil peak pasados los 20°C, el cual no se presenta en la curva de la hemoglobina.

3.1.3 Objetivo 1.5 Contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura (L_1) de las materias primas

Para calcular el contenido líquido en función de la temperatura, cada una de las materias primas fue sometida al programa de temperatura detallado en el punto 2.2.2 de materiales y métodos. Los gráficos presentados en la figura 6 muestran el aumento del contenido líquido de cada una de las materias primas a medida que aumenta la temperatura en el rango del peak máximo endotérmico.

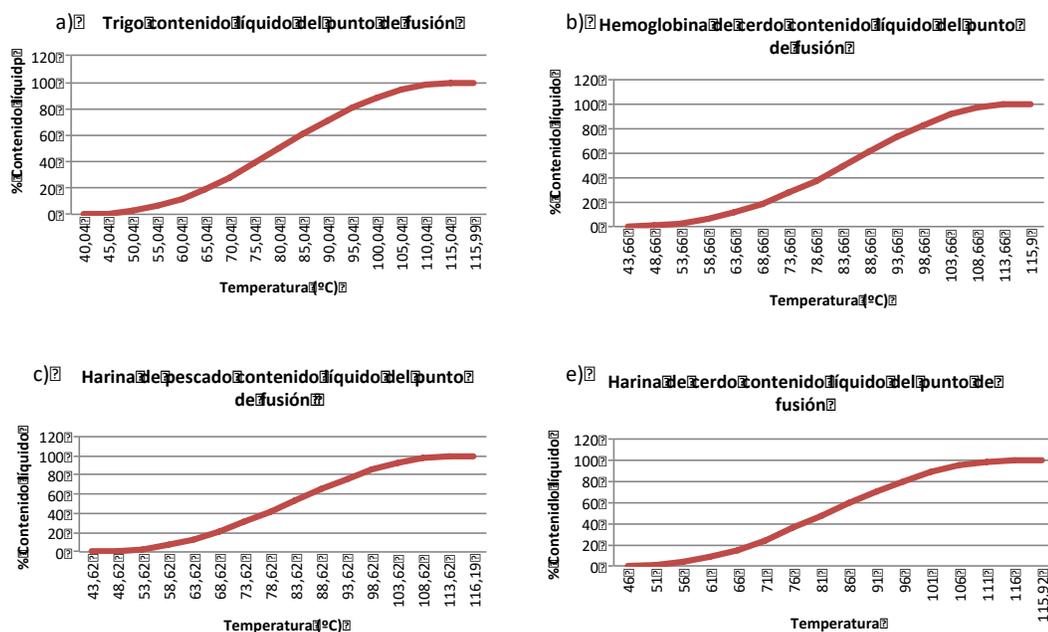


Figura 6. Gráfico del porcentaje del contenido líquido del punto de fusión versus temperatura de; trigo (a), hemoglobina de cerdo (b), harina de pescado (c) y harina de cerdo (d).

Tabla 4. Temperatura de fusión de las materias primas

Materia prima	Temperatura °C
Trigo	115,99
Hemoglobina de cerdo	115,9
Harina de cerdo	115,92
Harina de pescado	116,19

Las curvas del contenido líquido de cada una de las materias primas se construyeron a partir de la curva del peak máximo endotérmico. Para todas las materias primas, la temperatura de inicio de fusión es alrededor de los 40°C y las curvas presentan un comportamiento similar. Este tipo de representación permite comparar entre las cuatro materias primas cómo a medida que aumenta la temperatura se va produciendo la fusión del contenido sólido. La tabla 4 resume los resultados y muestra que entre las cuatro materias primas bajo estudio se observa que el peak de fusión no es muy distinto entre ellas, siendo este peak levemente mayor para la harina de pescado, con 116,19°C.

3.2 Objetivo 2. Determinar las propiedades térmicas de mezclas de: Trigo, Hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado, mediante DSC.

3.2.1 Objetivo 2.1 Determinación del termogramas del perfil endotérmico de las mezclas

Tabla 5. Cantidades y propiedades térmicas de las mezclas de las curvas superpuestas.
(Temperatura = T°)

Nº exp.	Trigo (g)	Hemoglobina (g)	Harina de cerdo (g)	Harina de pescado (g)	Total (g)	ΔH	Peak de T°
1	11,18 (1)	7,97 (1)	7,97 (1)	10,13 (-1)	37,25	55,15	83,10
2	11,18 (1)	7,97 (1)	2,02 (-1)	10,13 (-1)	31,30	71,82	80,59
3	11,180 (1)	2,02 (-1)	7,97 (1)	39,86 (1)	61,03	39,87	84,93
5	11,18 (1)	2,02 (-1)	2,02 (-1)	39,86 (1)	55,08	49,73	79,47
6	8,82 (-1)	2,02 (-1)	7,97 (1)	10,13 (-1)	31,30	51,50	79,12
8	8,82 (-1)	2,02 (-1)	2,02 (-1)	10,13 (-1)	22,99	51,31	82,84
11	10,00 (0)	0 (-2)	4,99 (0)	24,99 (0)	39,99	42,24	80,76
12	10,00 (0)	9,99 (2)	4,99 (0)	24,99 (0)	37,25	51,95	80,77
13	10,00 (0)	4,99 (0)	0 (-2)	24,99 (0)	39,99	49,53	83,28
14	10,00 (0)	4,99 (0)	9,99 (2)	24,99 (0)	49,98	46,05	80,43

15	10,00 (0)	4,99 (0)	4,99 (0)	0 (-2)	19,99	53,74	85,57
16	10,00 (0)	4,99 (0)	4,99 (0)	49,99 (2)	69,98	41,70	80,99

Para representar los termogramas de mezclas, se eligieron algunas combinaciones, dependiendo de la cantidad de cada uno de sus componentes, para determinar si las variaciones de éstos influyeron en la curva del perfil endotérmico. Para ello, se eligieron 14 de las 18 mezclas del diseño experimental, representadas en la tabla 5. Los resultados de la superposición de las curvas se muestran en la figura 7.

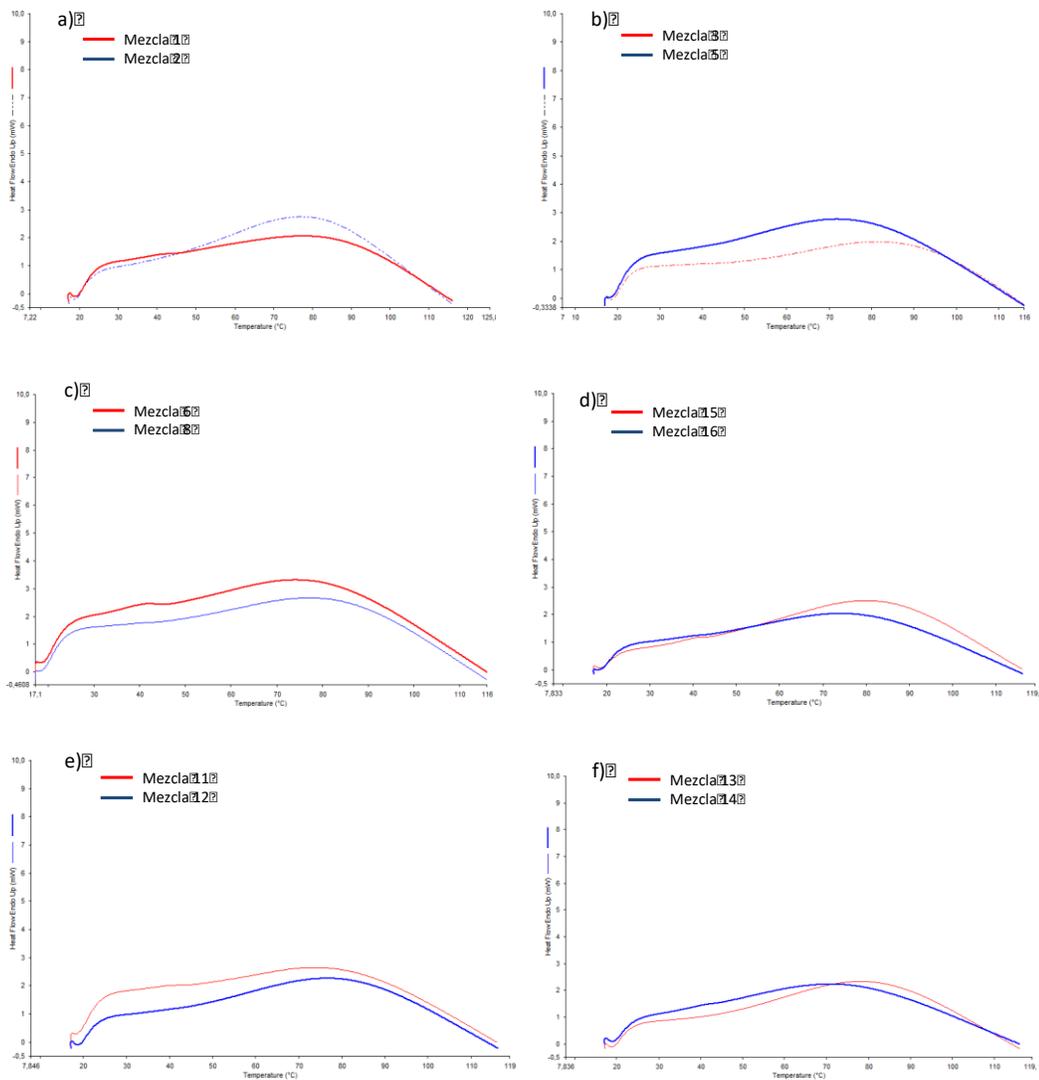


Figura 7. Curvas superpuestas de los termogramas de las mezclas; 1 y 2 (a), 3 y 5 (b), 6 y 8 (c), 15 y 16 (d), 11 y 12 (e) y 13 y 14 (f).

En la Figura 7a, se observa que la principal diferencia es la entalpía que alcanzan las curvas, siendo más alta para la mezcla 2. La diferencia entre ambas es que la mezcla 1 contiene casi 4 veces mayor cantidad de harina de cerdo que la mezcla 2. Esto posiblemente se debe a que la harina de cerdo tiene un menor perfil endotérmico, indicado por una curva más plana que las curvas de las otras materias primas (ver figura 5). Por lo tanto, como se ve en la figura 7a, un mayor contenido de harina de cerdo en la mezcla 1 induce a que la curva sea más plana que la curva de la mezcla 2. Por su parte, la figura 7b muestra curvas cuya diferencia también radica en la cantidad de harina de cerdo, pero, en este caso, ambas curvas poseen alta cantidad de harina de pescado. El resultado es que la curva de la mezcla 3, que tiene mayor cantidad de harina de cerdo, es más plana comparada con la curva de la mezcla 5. Las mezclas de la figura 7c son muy similares a las mezclas a las mezclas de la figura 7a en cuanto a la cantidad de cada uno de los componentes de las mezclas, salvo que las mezclas representadas por las curvas en la figura 7c poseen casi cuatro veces menos hemoglobina que la figura 7a. La figura 7c muestra curvas muy parecidas en la forma, pero la curva de la mezcla 8 alcanza un menor valor de entalpía, esto podría deberse a una mayor diferencia en la cantidad de harina de cerdo de la mezcla 6 por sobre la mezcla 8, sin embargo, este comportamiento es opuesto al efecto detectado en las figuras 7a y 7b, cuya mayor cantidad de harina de cerdo en la mezcla determinó una curva más plana.

La figura 7d muestra dos curvas muy parecidas en un principio, pero a partir de los 60°C aproximadamente comienzan a diferenciarse alcanzando un mayor peak de temperatura la curva de la mezcla 15 cuyo valor de entalpía también es mayor. La única diferencia entre ambas mezclas es la cantidad de harina de pescado que solo está presente en la mezcla 16. Al igual que la harina de cerdo, el termograma de la harina de pescado mostrado en la figura 1 es el segundo en menor intensidad, esta característica debe influir en las propiedades térmicas de la mezcla 16 al mostrar una curva más plana que la curva de la mezcla 15.

La figura 7e muestra dos curvas que en un comienzo tienen un perfil endotérmico distinto, pero a partir de los 80°C sus curvas se comienzan a juntar. Las mezclas se diferencian principalmente en la cantidad de hemoglobina, encontrándose esta presente solo en la mezcla 12, por lo tanto, esta materia prima podría tener un efecto sobre el comportamiento térmico de las mezclas.

La figura 7f muestra curvas muy similares, excepto porque la curva de la mezcla 14 experimenta un mayor flujo de calor para alcanzar el peak de temperatura que la curva de la mezcla 13, la principal diferencia entre ambas mezclas es la cantidad de harina de cerdo, que está solo presente en la mezcla 14. Tal como se observó en las figuras 7a, 7b y 7c, en la figura 7e se vuelve a confirmar que la harina de cerdo afecta el comportamiento térmico de las mezclas.

Tal como es sabido, existen sustancias que interfieren con la gelatinización del almidón. Como se ha descrito en varias publicaciones, tanto lípidos como proteínas pueden adherirse a la superficie del almidón impidiendo que se produzca la gelatinización (*Eliasson, 1994; Zhou et al., 2007*). En el presente estudio, es posible observar que existen diferencias en el comportamiento térmico del almidón como sustancia pura y su comportamiento térmico como una molécula en interacción con otras en una matriz alimentaria, tal como se observó en las cuatro materias primas estudiadas y sus mezclas.

3.2.2 Objetivos 2.2 2.3 y 2.4. Temperatura máxima endotérmica (T_c), temperatura de inicio (T₀) y final (T_p) del rango máximo endotérmico y la entalpía endotérmica (ΔH) de las 18 mezclas del diseño experimental:

Tabla 6. Diseño experimental de mezclas de materias primas (g) trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina pescado sobre la entalpía (J/g) y Peak de Temperatura máxima de fusión (PTMF) (°C).

Nº exp.	Trigo (g)	Hemoglobina (g)	Harina de cerdo (g)	Harina de pescado (g)	Total (g)	ΔH (J/g)	Peak Tº (°C)	σ ΔH	σ Peak Tº
1	11,180 (1)	7,970 (1)	7,970 (1)	10,130 (-1)	37,25	55,15	83,1	4,60	2,11
2	11,180 (1)	7,970 (1)	2,020 (-1)	10,130 (-1)	31,3	71,82	80,59	6,26	1,21
3	11,180 (1)	2,020 (-1)	7,970 (1)	39,860 (1)	61,03	39,87	84,93	2,65	2,47
4	8,820 (-1)	7,970 (1)	2,020 (-1)	39,860 (1)	58,67	46,6	81,78	1,69	0,88
5	11,180 (1)	2,020 (-1)	2,020 (-1)	39,860 (1)	55,08	49,73	79,47	1,26	1,07
6	8,820 (-1)	2,020 (-1)	7,970 (1)	10,130 (-1)	31,3	51,5	79,115	0,19	0,11
7	8,820 (-1)	7,970 (1)	7,970 (1)	39,860 (1)	64,62	49,95	78,605	2,26	2,45
8	8,820 (-1)	2,020 (-1)	2,020 (-1)	10,130 (-1)	22,99	51,31	82,84	2,78	0,49
9	8,015 (-2)	4,995 (0)	4,995 (0)	24,995 (0)	43	47,97	81,21	0,48	0,50
10	11,985 (2)	4,995 (0)	4,995 (0)	24,995 (0)	46,165	54,41	78,64	0,24	0,06
11	10,000 (0)	0 (-2)	4,995 (0)	24,995 (0)	39,99	42,24	80,76	1,45	0,15
12	10,000 (0)	9,998 (2)	4,995 (0)	24,995 (0)	37,25	51,95	80,77	0,62	0,09
13	10,000 (0)	4,995 (0)	0 (-2)	24,995 (0)	39,99	49,53	83,28	6,58	2,62
14	10,000 (0)	4,995 (0)	9,998 (2)	24,995 (0)	49,988	46,05	80,43	1,83	1,24
15	10,000 (0)	4,995 (0)	4,995 (0)	0 (-2)	19,99	53,74	85,57	12,77	2,72
16	10,000 (0)	4,995 (0)	4,995 (0)	49,995 (2)	69,985	41,7	80,99	5,44	2,58
17	10,000 (0)	4,995 (0)	4,995 (0)	24,995 (0)	44,985	52,18	81,52	1,08	1,12
18	10,000 (0)	4,995 (0)	4,995 (0)	24,995 (0)	44,985	48,5	80,21	4,46	0,07

*Los valores corresponden a un promedio de 2n por muestra. (Temperatura = T°; σ = desviación estándar)

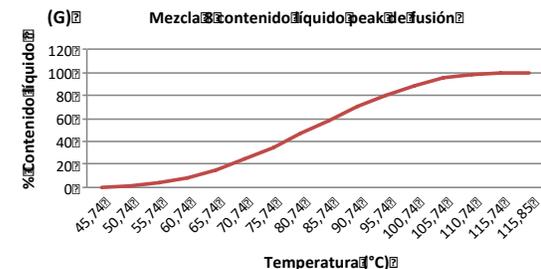
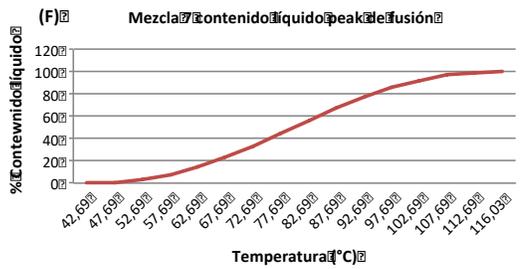
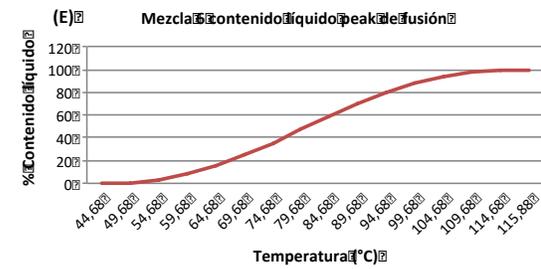
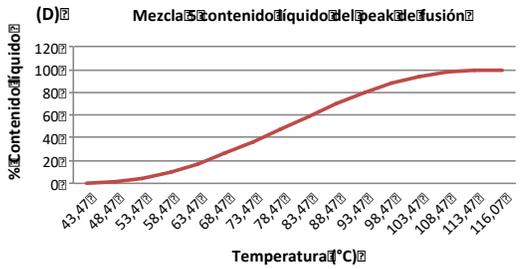
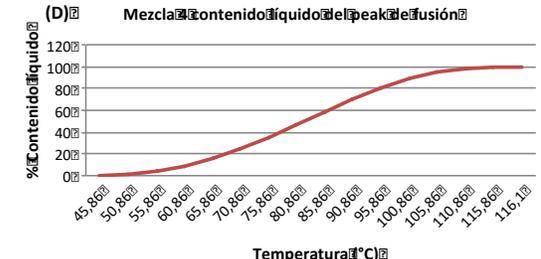
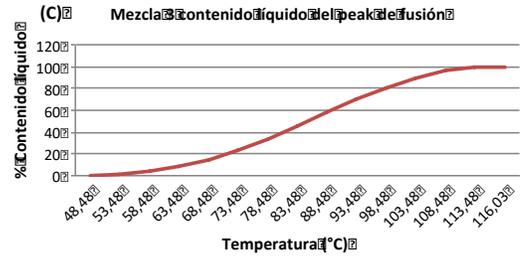
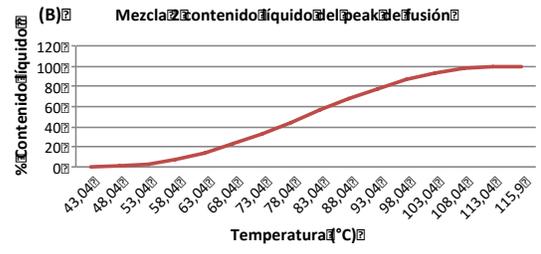
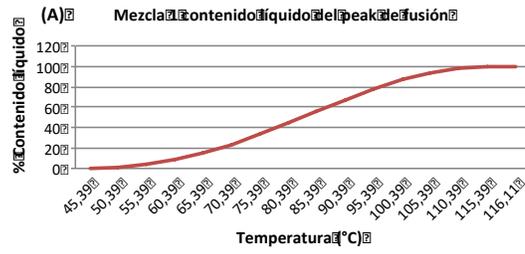
En la Tabla 6 se resumen los resultados de los objetivos 2.2 2.3 y 2.4. En ella se muestran los datos del diseño experimental con las 18 corridas. Las variables independientes del proceso corresponden a: Trigo, Hemoglobina, Harina de Cerdo y Harina de Pescado y los valores experimentales de las variables respuestas: entalpía y el peak de temperatura máxima de fusión. Se adicionó, además, como parte de la información obtenida de acuerdo al diseño experimental, la temperatura onset y endset que corresponden a las temperaturas de inicio y final de la entalpía máxima endotérmica.

Los valores de entalpía para las 18 mezclas son variados, estando entre 39,8 J/g y 71,8 J/g. La curva de la mezcla 2 es la que tiene mayor entalpía versus la curva de la mezcla 3 que tiene menor valor de entalpía. Ambas mezclas se diferencian en la cantidad de cada una de las materias primas que conforman la mezcla salvo por la cantidad de Trigo, que es la misma para ambas.

Los valores del Peak de Temperatura también son variados siendo el más alto el valor de la mezcla 3 y el menor el de la mezcla 7.

3.2.3. Objetivo 2.5 Contenido líquido del área del peak máximo endotérmico en función de la temperatura (L₂) de las mezclas del diseño experimental

A continuación, se representa las curvas del contenido líquido de las 18 mezclas del diseño experimental versus la temperatura según programa de temperatura detallado en materiales y métodos.



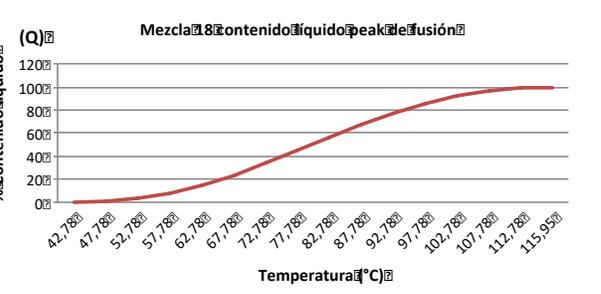
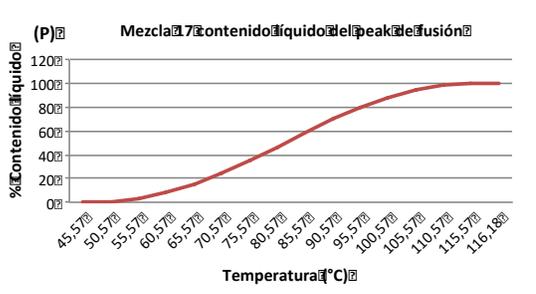
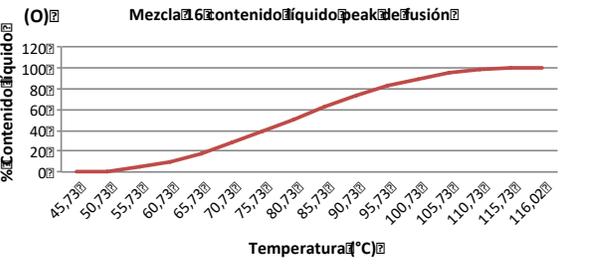
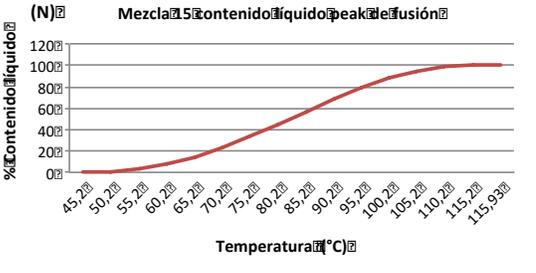
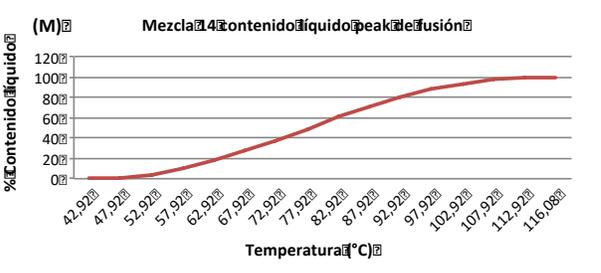
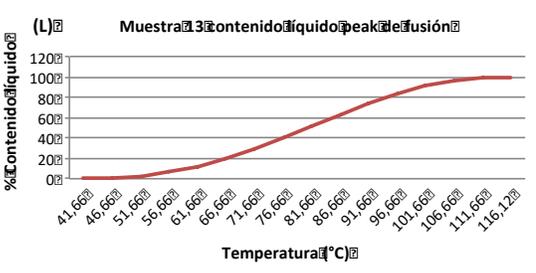
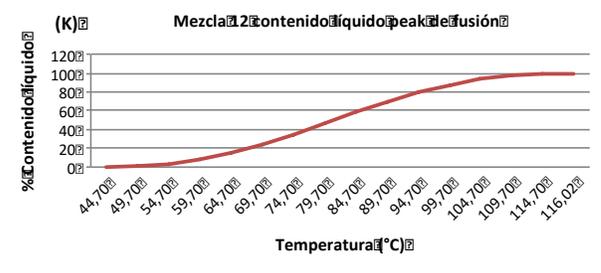
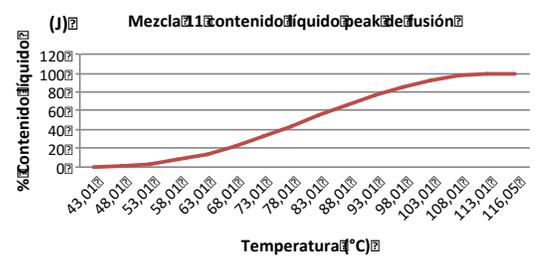
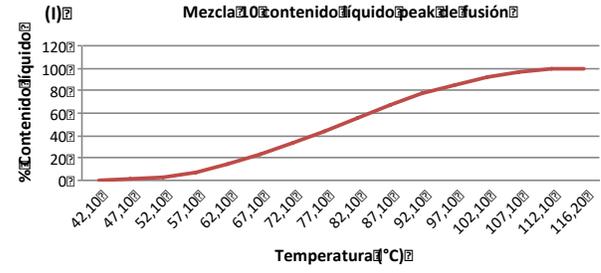
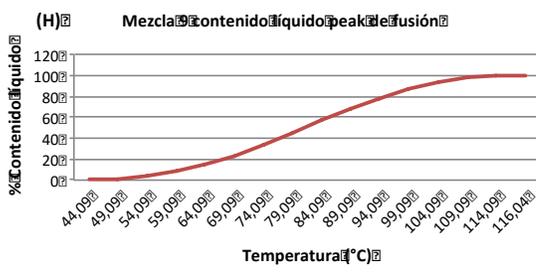


Figura 8. Contenido líquido del peak máximo de fusión en función de la temperatura de cada una de las 18 mezclas del diseño experimental (A a Q).

Tabla 7. Temperatura de fusión en la que está el 100% del contenido de las mezclas del diseño experimental.

Mezcla	Temperatura °C	Mezcla	Temperatura °C
1	116,11	10	116,2,
2	115,9	11	116,05
3	116,03	12	116,02
4	116,1,	13	116,12
5	116,07	14	116,08
6	115,88	15	115,93
7	116,03	16	116,02
8	115,85	17	116,18
9	116,04	18	115,95

La tabla 7 resume las curvas de fusión de la figura 8. En esta tabla se muestra la temperatura a la cual está el 100% del contenido de la mezcla en estado líquido. Todas las mezclas están en estado líquido 100% entre los 115,0 y los 117,0°C. Si bien todas son muy cercanas, la mezcla 8 es la que tiene la temperatura de fusión más baja que corresponde a 115,85°C y la mezcla 10 es la que tiene la temperatura más alta de fusión correspondiente a 116,2°C. Las diferencias entre las mezclas 8 y 10 es que la mezcla 10 contiene mayor contenido % de proteína que la mezcla 8, dado por la hemoglobina y la harina de pescado. Esta diferencia en la inclusión de las materias primas trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado, principalmente en la inclusión del porcentaje de proteína en la mezcla podría estar influyendo en la temperatura que debe alcanzar la mezcla para que el 100% de su contenido esté en estado líquido.

Desde hace varios años se han desarrollado estudios utilizando la técnica de DSC. Algunos de estos estudios han sido sobre el punto de fusión de las grasas que, como es sabido, su valor dependerá del tipo de grasa. Además, mediante la técnica de DSC es posible distinguir entre distintos tipos de grasa (*Bentz et al., 1969*). Esto implica que los resultados arrojados por las materias primas, y sobretodo por aquellas ricas en porcentaje grasa, con la técnica de DSC es posible reconocer más de un tipo de triglicérido.

3.3 Objetivo 3. Determinar el efecto de la mezcla sobre las propiedades térmicas mediante metodología superficie respuesta (MSR)

3.3.1 Objetivo 3.1 Efecto de las distintas combinaciones de mezclas sobre la entalpía endotérmica (ΔH)

A continuación, se muestran los resultados del análisis estadístico del diseño experimental compuesto Draper y Lin donde se estudió el efecto de las materias primas sobre la variable independiente entalpía.

Tabla 8. Efectos estimados para Entalpía (J/g)

Efecto	Estimado	Error Estd.	V.I.F.
promedio	50,23	0,73	
A:Trigo	4,10	1,69	1,0
B:Hemoglobina de cerdo	6,94	1,69	1,0
C:Harina de cerdo	-4,22	1,69	1,0
D:Harina de pescado	-9,35	1,69	1,0
AC	-7,51	2,21	1,0

*Errores estándar basados en el error total con 12 g.l.

La tabla 8 muestra las estimaciones para cada uno de los efectos estimados y las interacciones. También se muestra el error estándar de cada uno de estos efectos, el cual mide su error de muestreo. Note también que el factor de inflación de varianza (V.I.F.) más grande, es igual a 1,0. Para un diseño perfectamente ortogonal, todos los factores serían igual a 1. Factores de 10 o más normalmente se interpretan como indicativos de confusión seria entre los efectos.

3.3.1.1 Diagrama de Pareto: efecto de las distintas combinaciones de materias prima (A, B, C y D) en mezclas de dietas para salmónidos sobre la entalpía endotérmica (ΔH)

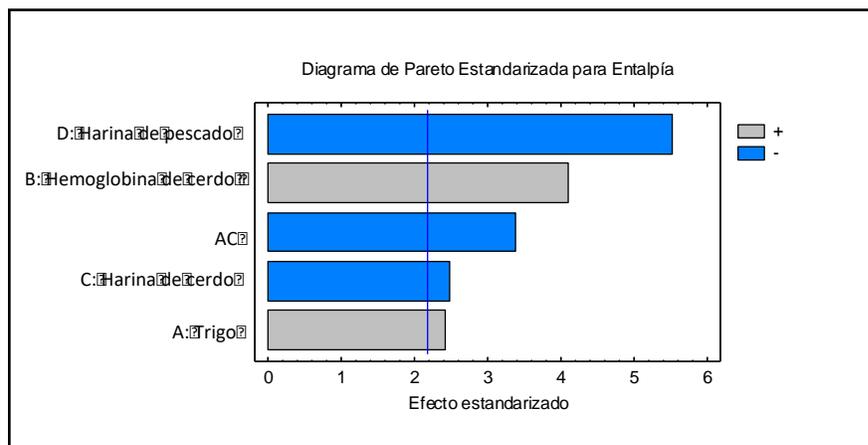


Figura 9. Diagrama de Pareto estandarizado de los efectos lineales y de interacción de las cuatro materias primas; trigo (A), hemoglobina de cerdo (B), harina de cerdo (C) y harina de pescado (D) sobre la entalpía endotérmica (ΔH) en mezclas de dietas para salmónidos.

La Figura 9 muestra el gráfico de Pareto con los efectos lineales y de interacción estimados en orden decreciente de las variables independientes sobre la Entalpía (ΔH). La línea azul vertical representa la significancia de los efectos ($p < 0,05$). Las variables independientes que afectan positivamente la ΔH son Hemoglobina de cerdo y el Trigo, mientras que la Harina de Pescado, Harina de Cerdo y la interacción Trigo –Harina de Cerdo influyen negativamente sobre la ΔH .

La técnica de DSC se ha utilizado para estudiar las propiedades térmicas de distintos materiales, y como se ha detallado en un principio, existen estudios sobre lípidos, proteínas y carbohidratos, entre otras macromoléculas. Como se ha descrito anteriormente, uno de los principales constituyentes del trigo es el almidón que cuando se encuentra sometido a un tratamiento de calor en presencia de agua experimenta el fenómeno de gelatinización. Los cambios endotérmicos medidos por DSC, permiten reconocer cómo influyen las cuatro materias primas sobre la entalpía, y tal como se observa en la figura 9, la hemoglobina de cerdo es la principal variable que influye significativamente sobre la entalpía de forma positiva, siendo luego el trigo que influye con una significancia menor. Este efecto indica que, a mayor contenido de estos insumos en la mezcla, la entalpía será mayor. Es importante mencionar, que la harina de hemoglobina tiene una cantidad de proteína superior al 90%, siendo el contenido más alto al compararlo con las otras materias primas de este estudio. Por lo tanto,

es posible que este macronutriente sea el responsable del efecto positivo sobre la entalpía de las mezclas que contienen este insumo.

La metodología del DSC nos puede entregar información sobre parámetros termodinámicos tales como transiciones térmicas en proteínas y es posible caracterizar el mecanismo de los cambios conformacionales de estas moléculas inducidos por temperatura. De hecho, se han desarrollado estudios sobre la proteína humana hemoglobina utilizando esta técnica y se ha reportado que la temperatura de fusión de la hemoglobina, en presencia de agua, se encuentra entre 63 y 67°C (*Michnik et al., 2005*). Para el caso de este estudio, la harina de hemoglobina presentó su peak máximo de fusión a los 86,75 °C (ver tabla 8), valor que no es tan lejano a lo obtenido por Ann Michnik *et al.* (2005). Además, la figura 9 muestra cómo la hemoglobina influye sobre el valor de entalpía, que, según este mismo autor, correspondería a la denaturación de la proteína.

La siguiente variable que tiene un efecto positivo sobre la entalpía es el trigo, que como ya es sabido, uno de sus principales constituyentes es el almidón. Esta molécula, al encontrarse en un medio húmedo y con un aumento gradual de temperatura, sufre el proceso de gelatinización dando como resultado un efecto positivo sobre la entalpía.

En síntesis, para el caso de las dos materias primas que son el trigo y la harina de hemoglobina, su presencia en las mezclas tiene un efecto positivo sobre el valor de entalpía, lo que posiblemente se debe, en el caso del trigo, a la gelatinización del almidón, y en el caso de la hemoglobina, a la denaturación de la proteína.

El estudio de las 18 combinaciones de distintas cantidades de materias primas arrojó que tanto la harina de cerdo, la harina de pescado y la interacción harina de cerdo – trigo tienen un efecto negativo sobre la entalpía. Esto quiere decir, que a mayor cantidad de estas materias primas o a mayor interacción harina de cerdo – trigo, menor es la entalpía de las mezclas. Este efecto es mucho más significativo para el caso de la harina de cerdo, siendo esta materia prima la responsable, a la vez, de las diferencias entre las mezclas observadas en la figura 8. Por lo tanto, se debe tomar en cuenta el efecto significativo de la harina de cerdo al incorporarla en las mezclas de dietas para peces, sobretodo, cuando se sabe que posee un alto contenido de grasa tal como se mencionó anteriormente.

3.1.1.2 Análisis de Varianza para Entalpía

La tabla 9 muestra que el análisis ANOVA particiona la variabilidad de Entalpía en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 5 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 9. Análisis de Varianza para Entalpía

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Trigo	57,57	1	57,57	5,85	0,0324
B: Hemoglobina de cerdo	164,79	1	164,79	16,75	0,0015
C: Harina de cerdo	60,91	1	60,91	6,19	0,0285
D: Harina de pescado	298,78	1	298,78	30,37	0,0001
AC	113,02	1	113,02	11,49	0,0054
Error total	118,07	12	9,83		
Total (corr.)	813,16	17			

Tabla 10. Estadístico R² y error estándar del análisis de ANOVA que explica la variabilidad en entalpía

R-cuadrado	85,4%
R-cuadrado (ajustado por g.l.)	79,4%
Error estándar del est.	3,13
Error absoluto medio	2,02
Estadístico Durbin-Watson	1,07995 (P=0,0429)
Autocorrelación residual de Lag 1	0,44

La tabla 10 muestra el estadístico R-Cuadrado que indica que el modelo, así ajustado, explica 85,48% de la variabilidad en Entalpía. El estadístico R-cuadrado ajustado, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 79,43%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 3,13. El error medio absoluto (MAE) de 2,02 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de

Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Debido a que el valor-P es menor que 5,0%, hay una indicación de posible correlación serial al nivel de significancia del 5,0%.

3.3.1.3 Efectos principales para Entalpía

En la Figura 10 se observa el comportamiento de los efectos principales de las cuatro materias primas; trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado. Se observa que, tanto el trigo como la hemoglobina muestran un comportamiento positivo para la variable respuesta ΔH . En cambio, las variables harina de cerdo y harina de pescado presentan un efecto negativo sobre la ΔH .

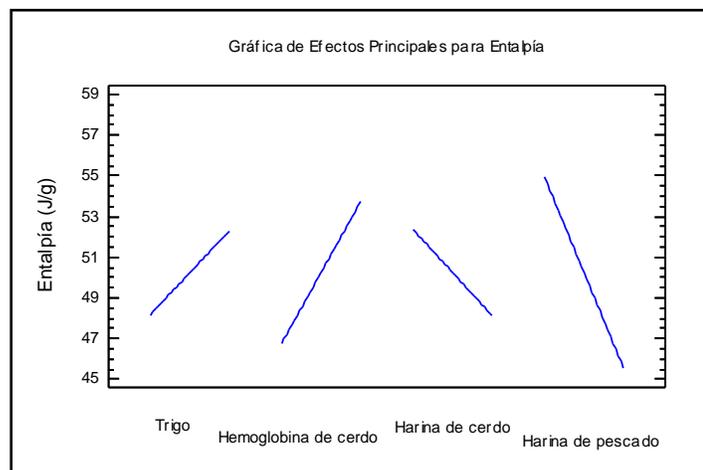


Figura 10. Comportamiento de los efectos principales de las variables Trigo, Hemoglobina, Harina de Cerdo y Harina de Pescado.

Según *Pooria Gill en 2010*, la DSC es la técnica que ha permitido establecer una conexión entre la temperatura y las propiedades físicas de una sustancia y es el único método para la determinación directa de entalpía. Existen varios estudios sobre las aplicaciones de DSC para determinar transiciones de fase, temperatura de fusión, calor de fusión, porcentaje de cristalinidad, cinética de cristalización, estabilidad oxidativa y análisis termodinámico de biomoléculas. En experimentos que utilizan la técnica de DSC, los parámetros termodinámicos

están asociados con transiciones macromoleculares inducidas por calor. Para cualquier biomolécula en solución acuosa, habrá un equilibrio entre una conformación nativa y una conformación denaturada. Durante el proceso de desplegamiento de una proteína, ciertas fuerzas que tienen un rol clave en la estabilización necesitan ser rotas. El DSC mide la entalpía de desplegamiento como resultado de denaturación por calor. La entalpía calorimétrica se refiere a la zona integrada total bajo el peak del termograma, lo que indica el total de energía captada por la muestra. En la figura 10 puede verse cómo la hemoglobina y el trigo tienen pendientes positivas, lo que indica que afectan positivamente la entalpía, siendo mayor la pendiente para hemoglobina que es lo que se observa en la figura 9 del diagrama de Pareto.

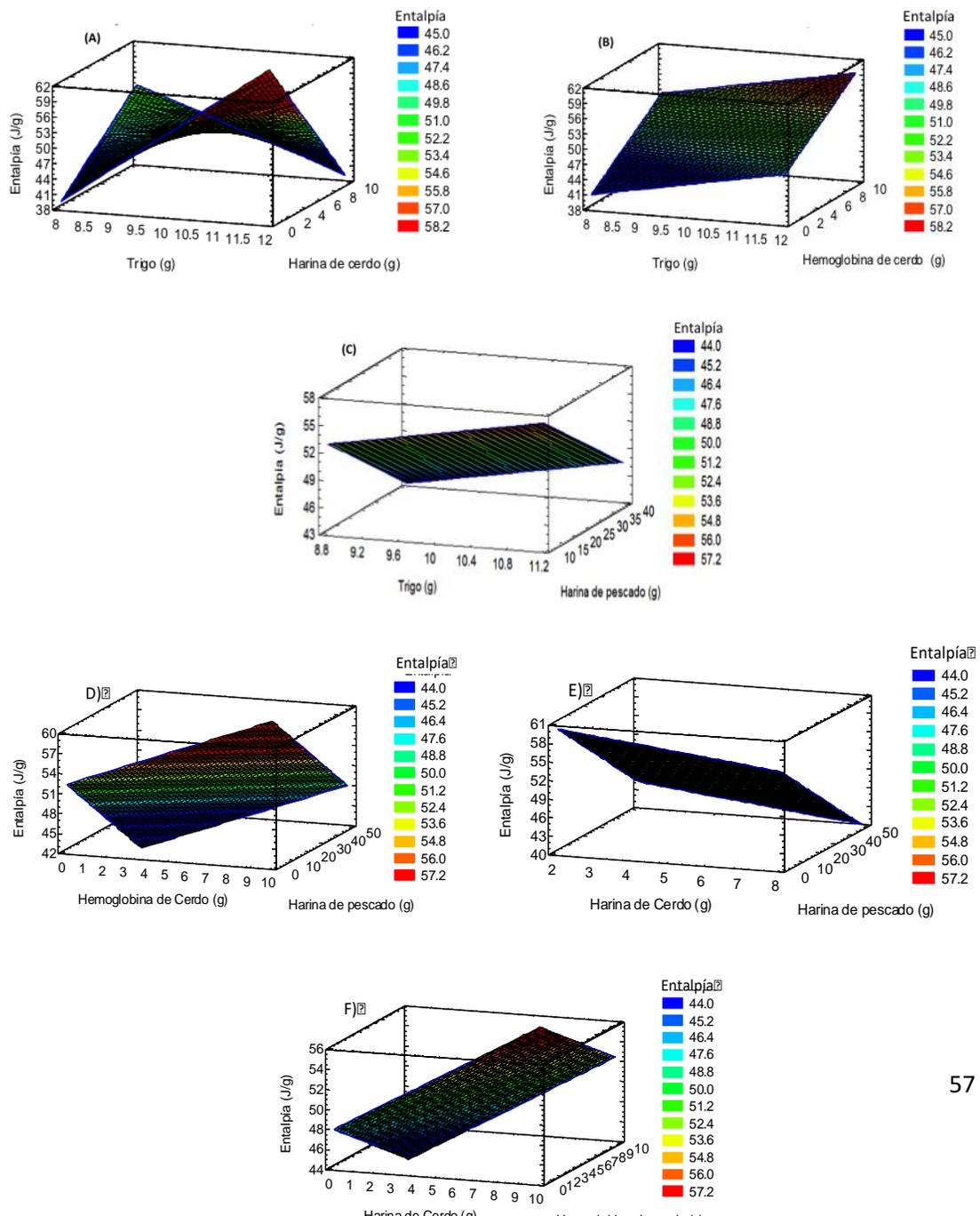


Figura 11. Gráficos de superficie respuesta de la influencia de las variables trigo (a), Hemoglobina de cerdo (b), harina de cerdo (c) y harina de pescado (d) sobre la entalpía de las mezclas. Donde **A)** = a versus c (b: 4,995 y d: 24,995), **B)** = a versus b (c: 4,995 y d:24,995), **C)** = a versus d (b: 4,995 y c: 4,995), **D)** = b versus d (a: 10 y c: 4,995), **E)** = c versus d (a: 10 y b: 4,995) y **F)** = c versus b (a: 10 y d: 24,995) (En paréntesis se indican los valores fijos de las otras variables).

La Figura 11 muestra las representaciones tridimensionales de gráficos de superficie respuesta, donde se puede observar cómo influyen las principales variables del proceso. En la figura 11A se desprende que el trigo afecta a la ΔH de manera inversa al efecto de la harina de cerdo. Si se extrapola estos resultados a la etapa productiva del alimento, se predice que un aumento del contenido de trigo a bajas concentraciones de harina de cerdo en la etapa del acondicionador llevará a un máximo de la ΔH del proceso, mientras que, en una situación opuesta, un incremento en el contenido de trigo a altas concentraciones de cerdo disminuye la ΔH .

En 2017, *Zhili Ji* concluyó que el efecto de la presión con el shear estrés inducido por el extrusor durante la producción del alimento tiene un rol determinante en la gelatinización del almidón. Los gránulos de almidón al estar sometidos a calor, temperatura, humedad y fuerza mecánica sufren la transformación fisicoquímica ya conocida como gelatinización. La técnica de DSC ha sido una de las más aplicables para estudiar este fenómeno (*Gill et. al., 2010*). Se ha descrito que complejos de lípidos con amilosa sobre la superficie del almidón pueden restringir al gránulo su hinchamiento impactando finalmente en el proceso de gelatinización (*Zhou et. al., 2007*). De las cuatro materias primas bajo estudio, la harina de cerdo es la que mayor porcentaje de grasa posee correspondiendo como mínimo a un 50% de grasa, según la figura 10 se observa un efecto negativo sobre la entalpía tanto de harina de cerdo como de la interacción trigo-harina de cerdo indicando que la materia prima más rica en fuente lipídica tiene un efecto negativo sobre la entalpía. Se ha documentado que complejos lipídicos con

amilosa sobre el gránulo del almidón pueden restringir el hinchamiento del gránulo (Zhou *et al.*, 2007). Además, otros estudios han descrito que existen algunos componentes que pueden afectar el ΔH , a través de DSC se ha logrado determinar que existen interacciones entre almidón y lípidos quedando evidenciada la disminución de la entalpía de gelatinización, en presencia de lípidos, para el caso del almidón ceroso (Eliasson, 1994).

En la figura 11B se observa el comportamiento de trigo versus hemoglobina. De la gráfica se desprende que a altas cantidades de trigo y de hemoglobina el ΔH es máximo, por el contrario, a bajas cantidades de trigo y de hemoglobina el ΔH disminuye. A diferencia de harina de cerdo, la hemoglobina es una materia prima rica en proteínas, cuyo contenido mínimo es del 90%.

Como se ha descrito, la técnica de DSC es considerada una de las técnicas más frecuentemente utilizadas para determinar la estabilidad de proteínas (Gill *et al.*, 2010). Existe una amplia variedad de estudios que han tratado la interacción entre proteínas de cereales y almidón de cereal (Dahle, 1971, Eliasson and Tjerneld 1990b). Por ejemplo, se ha investigado la proteína llamada gluten y su efecto sobre la gelatinización del almidón, donde se ha descrito disminuye la entalpía e incrementa la temperatura de gelatinización del almidón. Este efecto fue atribuido a la pequeña cantidad de agua disponible para el almidón en presencia de gluten, debido a la competencia por el agua entre la proteína y el almidón (Eliasson, 1983).

La figura 11C muestra el gráfico de superficie-respuesta entre trigo y harina de pescado. Una alta cantidad de trigo y una baja cantidad de harina de pescado llevan a un alto valor de ΔH , mientras que una menor cantidad de trigo y una alta cantidad de harina de pescado llevan a un menor ΔH . La harina de pescado, a diferencia de la hemoglobina, tiene menor porcentaje de proteína, correspondiendo a un 70%. Wu (1985) investigó las transiciones térmicas de mezclas de almidón-harina de pescado utilizando la técnica de DSC. Este estudio concluyó que el almidón y la proteína reaccionan independientemente durante el proceso térmico. Sin embargo, en un sistema que contiene proteína de pescado, la temperatura de gelatinización del almidón estudiados se desplazó a temperaturas más altas, lo que hizo creer que el sistema proteico tuvo alguna influencia sobre la gelatinización del almidón. Se propuso que una opción era que este efecto se debiera a la cantidad de agua disponible para la gelatinización, disminuyendo la disponibilidad de agua para este proceso.

Las figuras 11D, 11E y 11F muestran gráficos de superficie respuesta entre hemoglobina-harina de pescado, harina de cerdo-harina de pescado y harina de cerdo-hemoglobina respectivamente. La figura 11D muestra que alta cantidad de hemoglobina de cerdo y baja cantidad de harina de pescado dan un valor alto de ΔH . La figura 11E muestra que una alta cantidad de harina de cerdo y harina de pescado tienen un efecto negativo sobre ΔH .

Por último, la figura 11F muestra que una alta cantidad de harina de cerdo y baja de hemoglobina dan un alto valor de ΔH .

3.3.2 Objetivo 3.2 Efecto de las distintas combinaciones de mezclas sobre la temperatura del peak máximo endotérmico (T_c)

Otro objetivo importante en este estudio fue analizar cómo cambia la temperatura del peak máximo endotérmico con cada una de las mezclas del diseño experimental. Durante la etapa del acondicionador, la temperatura es uno de los factores fundamentales ya que permite alcanzar la buscada gelatinización del almidón del trigo. Varios autores han estudiado la gelatinización del almidón utilizando la técnica de DSC para lo cual han sometido las muestras a velocidades de calentamiento que van desde los $2^\circ\text{C}/\text{min}$ a los $20^\circ\text{C}/\text{min}$ (Fukuoka, 2002; Chung, 2004; Xie, 2008; Ji, et al., 2017).

A continuación, se muestran los resultados del análisis estadístico del diseño experimental compuesto Draper y Lin donde se estudió el efecto de las materias primas sobre la variable independiente peak de temperatura.

Tabla 11. Efectos estimados para Peak de Temperatura ($^\circ\text{C}$)

Efecto	Estimado	Error Estd.	V.I.F.
promedio	80,71	0,34	
A:Trigo	-1,52	0,93	2,41
B:Hemoglobina de cerdo	-0,33	0,59	1,0
C:Harina de cerdo	-0,54	0,59	1,0
D:Harina de pescado	-2,72	0,93	2,41
AB	-2,50	1,21	2,41
AC	3,715	0,78	1,0
BD	-2,96	1,21	2,41
DD	1,60	0,59	1,0

*Errores estándar basados en el error total con 9 g.l.

La tabla 11 muestra las estimaciones para cada uno de los efectos estimados y las interacciones. También se muestra el error estándar de cada uno de estos efectos, el cual mide su error de muestreo. Notar también que el factor de inflación de varianza (V.I.F.) más grande, es igual a 2,41. Para un diseño perfectamente ortogonal, todos los factores serían igual a 1. Factores de 10 o más normalmente se interpretan como indicativos de confusión seria entre los efectos.

3.3.2.1 Diagrama de Pareto: Efecto de las distintas combinaciones de materias primas (A, B, C, D) en mezclas de dietas para salmónidos sobre el Peak de Temperatura

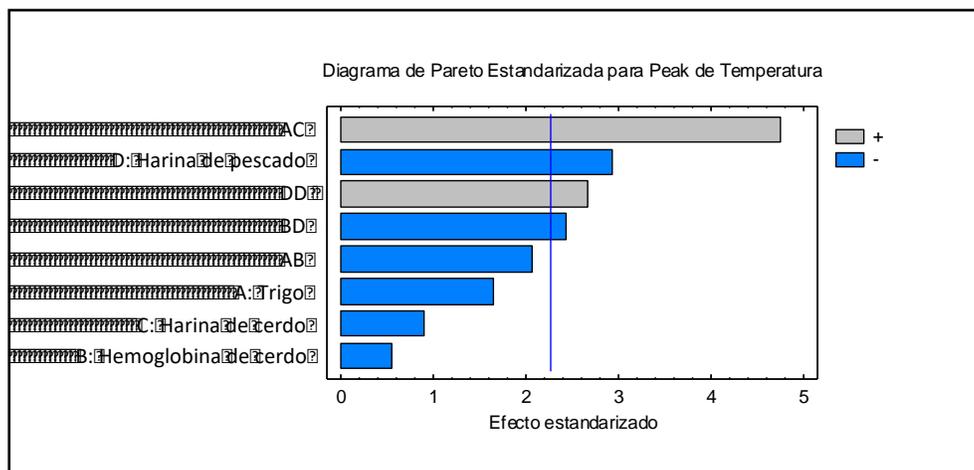


Figura 12. Diagrama de Pareto estandarizado de los efectos lineales, cuadrático y de interacción de las cuatro materias primas; trigo (A), hemoglobina de cerdo (B), harina de cerdo (C) y harina de pescado (D) sobre el valor del peak máximo endotérmico en mezclas de dietas para salmónidos.

La figura 12 muestra el diagrama de Pareto donde se observa cual de las materias primas o sus interacciones son las que influyen sobre el peak de temperatura de las mezclas del diseño experimental. La combinación trigo – harina de cerdo es la que tiene un efecto significativo mayor sobre el peak de temperatura. La Harina de pescado y la combinación hemoglobina-harina de pescado tienen un efecto significativo pero negativo sobre el peak de temperatura.

3.3.2.2 Análisis de varianza para temperatura

Tabla 12. Análisis de Varianza para Peak de Temperatura

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Trigo	3,30	1	3,30	2,70	0,13
B: Hemoglobina de cerdo	0,37	1	0,37	0,31	0,59
C: Harina de cerdo	1,00	1	1,00	0,82	0,38
D: Harina de pescado	10,48	1	10,48	8,57	0,01
AB	5,21	1	5,21	4,26	0,06
AC	27,60	1	27,60	22,55	0,001
BD	7,27	1	7,27	5,94	0,03
DD	8,74	1	8,74	7,15	0,02
Error total	11,01	9	1,22		
Total (corr.)	66,74	17			

Tabla 13. Estadístico R^2 y error estándar del análisis de ANOVA que explica la variabilidad en peak de temperatura

R-cuadrado	83,5%
R-cuadrado (ajustado por g.l.)	68,8%
Error estándar del est.	1,1
Error absoluto medio	0,6
Estadístico Durbin-Watson	1,58 (P=0,43)
Autocorrelación residual de Lag 1	0,17

La tabla 12 muestra el análisis ANOVA del diseño experimental. Éste particiona la variabilidad de Peak de Temperatura en piezas separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba

la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 4 efectos tienen un valor-P menor que 0,05; indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

La tabla 13 muestra el estadístico R-Cuadrado, en ella se indica que el modelo, así ajustado, explica 83,49% de la variabilidad en Peak de Temperatura. El estadístico R-cuadrado ajustado, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 68,83%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 1,10. El error medio absoluto (MAE) de 0,606 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5,0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5,0%.

3.3.2.3 Efectos principales para Peak de Temperatura

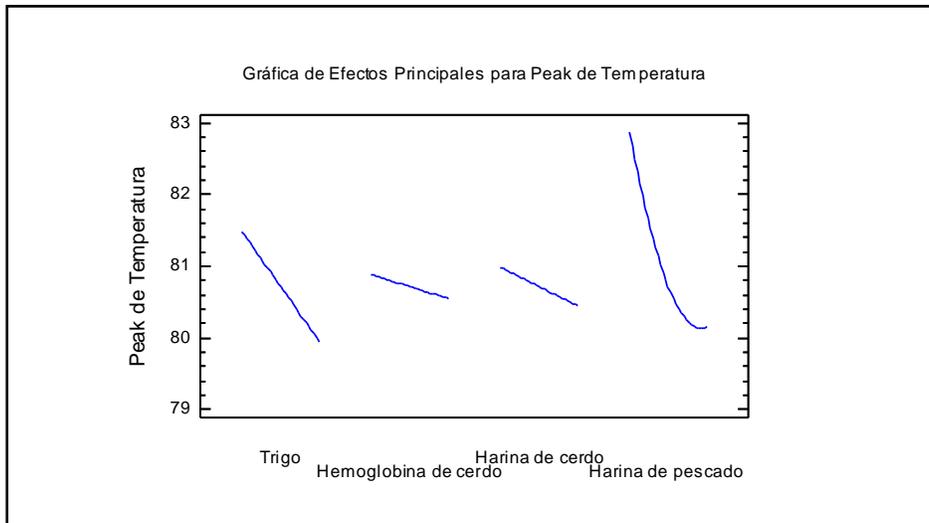
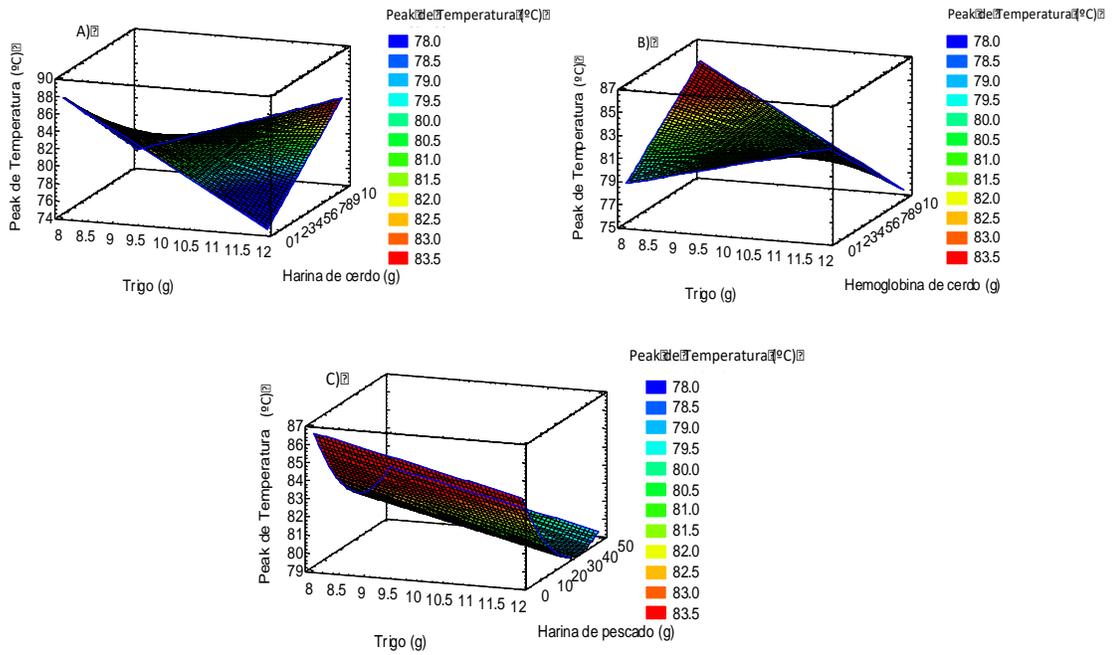


Figura 13. Comportamiento de los efectos principales de las variables Trigo, Hemoglobina, Harina de Cerdo y Harina de Pescado sobre el peak máximo endotérmico.

En la figura 13 se muestran pendientes negativas para el trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado sobre la temperatura del peak máximo endotérmico. Las pendientes

negativas indican los efectos de las cuatro materias primas sobre la disminución del peak de temperatura. Se observa además la forma curva del efecto de la harina de pescado, ya que su efecto es de tipo cuadrático sobre el peak endotérmico.



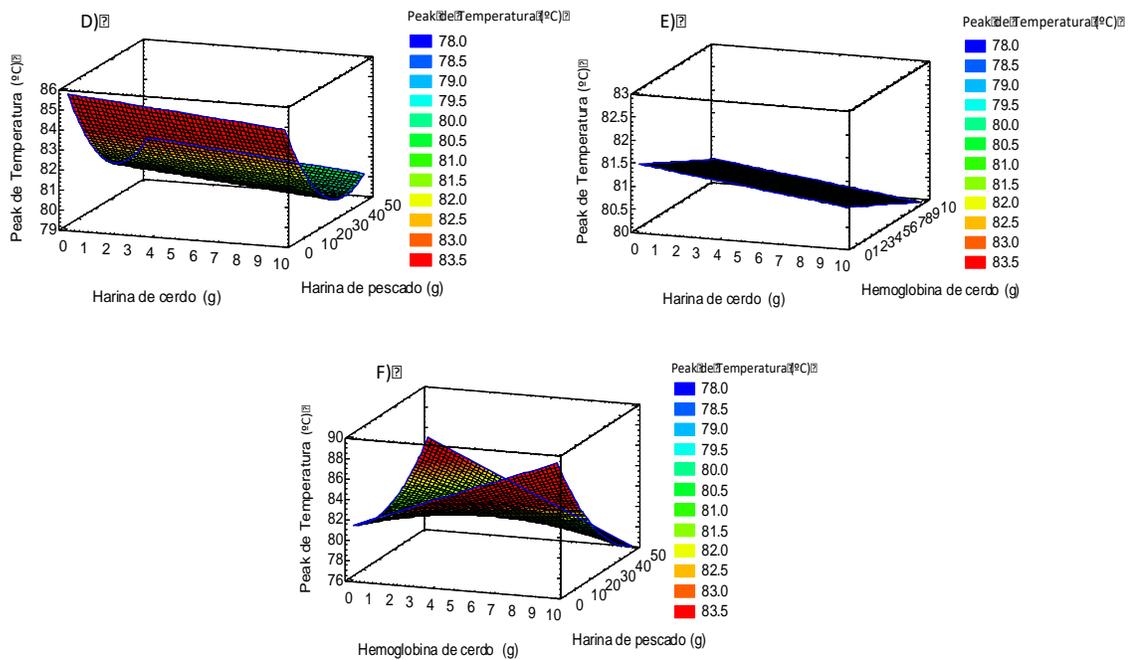


Figura 14. Gráficos de superficie respuesta de la influencia de las variables trigo (a), Hemoglobina de cerdo (b), harina de cerdo (c) y harina de pescado (d) sobre el peak temperatura de las mezclas. Donde **A)**: a versus c (b: 4,995 y d: 24,995), **B)**: a versus b (c: 4,995 y d:24,995), **C)**: a versus d (b: 4,995 y c: 4,995), **D)**: c versus d (a: 10 y b: 4,995), **E)**: c versus b (a: 10 y d: 4,995) y **F)**: b versus d (a: 10 y c: 24,995) (En paréntesis se indican los valores fijos de las otras variables).

Al observar la figura 14, se destaca que en los gráficos C y D se obtiene un alto valor del peak endotérmico cuando se incorpora un bajo contenido de harina de pescado. El comportamiento del manto de superficie respuesta es curvo ya que el efecto de la harina de pescado es de tipo cuadrático. Para el caso de la harina de cerdo, en la figura 14 Modelo matemático obtenido mediante MSR A y 14D su efecto es de tipo lineal, donde un bajo porcentaje de incorporación también aumenta el valor del peak endotérmico. En síntesis, ambas materias primas tienen un efecto negativo sobre el peak endotérmico al aumentar su incorporación en las mezclas.

3.3.3 Objetivo 3.3 Optimización la mezcla por MSR y obtención modelos polinómicos cuadráticos de las variables respuestas: ΔH , T_c , mediante regresión múltiple

3.3.3.1 Obtención de modelo polinómico cuadrático para ΔH

Se construyeron los modelos polinómicos cuadráticos ajustados de la variable respuesta ΔH . Los modelos en términos de sus coeficientes de regresión para las variables independientes cantidad de: trigo, hemoglobina, Harina de Cerdo y harina de pescado, fueron los siguientes:

Ecuación del modelo ajustado:

$$\text{Entalpía} = -15,07 + 7,08*\text{Trigo} + 1,16764*\text{Hemoglobina de cerdo} + 9,99*\text{Harina de cerdo} - 0,31466*\text{Harina de pescado} - 1,07*\text{Trigo}*Harina de cerdo$$

Ec. 4

3.3.3.2 Optimización de Entalpía mediante MSR

Una vez que se obtuvieron los valores de entalpía de las distintas mezclas bajo estudio y se creó el modelo predictivo, es posible determinar de manera teórica el valor máximo de entalpía mediante la optimización de las cuatro variables independientes.

Meta: maximizar Entalpía

Valor óptimo teórico de entalpía = 79,50 (J/g)

Tabla 14. Valores óptimos de materias primas para obtener un máximo de ΔH

Factor	Cantidad óptima (g)
Trigo	11,98
Hemoglobina de cerdo	9,99
Harina de pescado	5,96
Harina de cerdo	0,056

La Tabla 14 muestra la combinación óptima de materias primas A, B, C y D que maximizan la ΔH a un valor de 79,50 J/g. Esta mezcla corresponde a 11,98 g de A; 9,00 g de B; 0,056 g de C y 5,96 de D.

3.3.3.3 Obtención de modelo polinómico cuadrático para temperatura

Se construyeron los modelos polinómicos cuadráticos ajustados a la variable respuesta Peak de temperatura.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{Peak de Temperatura} = 96,88 - 1,50*\text{Trigo} + 4,35*\text{Hemoglobina de cerdo} - 5,38*\text{Harina de cerdo} - 0,10*\text{Harina de pescado} - 0,35*\text{Trigo}*\text{Hemoglobina de cerdo} + 0,52*\text{Trigo}*\text{Harina de cerdo} - 0,03*\text{Hemoglobina de cerdo}*\text{Harina de pescado} + 0,003*\text{Harina de pescado}^2$$

Ec. 5

3.3.3.4 Optimización de temperatura mediante MSR

Una vez se tienen los valores de peak de temperatura del rango máximo endotérmico de las distintas mezclas bajo estudio y la obtención de un modelo predictivo, fue posible determinar de manera teórica el valor máximo de peak de temperatura mediante la optimización de las cuatro variables independientes.

Meta: maximizar Peak de Temperatura

Valor óptimo teórico de temperatura = 90,86°C

Tabla 15. Valores óptimos de las materias primas para obtener máximo de Peak de Temperatura

Factor	Cantidad óptima (g)
Trigo	8,88
Hemoglobina de cerdo	9,99
Harina de cerdo	6,50
Harina de pescado	0

La Tabla 15 muestra la combinación óptima de materias primas A, B, C y D que maximizan el peak de temperatura a un valor de 90,86°C. Esta mezcla corresponde a 8,88 g de A; 9,99 g de B; 6,5 g de C y 0 de D.

Al comparar los resultados de las tablas 14 y 15, se observa que la cantidad óptima de harina de cerdo para maximizar la entalpía es de cero y para maximizar temperatura es de 6,5 gramos; la cantidad óptima de harina de pescado para maximizar la entalpía es de 5,96 gramos y para

maximizar peak de temperatura es de cero. Esto indica que ambas materias primas se comportan de manera independiente para maximizar entalpía y peak de temperatura.

Para corroborar la exactitud del modelo, se utilizó una muestra sacada del acondicionador durante el proceso de producción de una dieta formulada, dentro de otros insumos, por un 3% de harina de cerdo; 2,5% hemoglobina; 11% de trigo y 5% harina de pescado.

Esta muestra fue almacenada y sellada para mantener su humedad del 25% y fue analizada mediante DSC cuyo resultado de entalpía fue de 59 J/g y el peak de temperatura del rango máximo endotérmico de la mezcla correspondió a 81,27°C. Al incorporar los datos de esta mezcla de planta en los modelos polinómicos para optimizar ambas variables respuestas de manera independiente, se obtuvo un valor teórico de 58,18 J/g y 81,85°C, respectivamente. Estos valores son cercanos a los valores experimentales obtenidos en planta, indicando así que los modelos son representativos. Dado que la entalpía es un parámetro relevante a considerar en la gelatinización del almidón, se decidió incorporar el dato obtenido en la muestra de planta (59 J/g) en el modelo polinómico de optimización de entalpía, obteniéndose una combinación de materias primas que se muestran en la tabla 16.

Tabla 16. Combinación de las materias primas obtenidas a partir de la utilización del modelo polinómico obtenido para entalpía .

Factor	Cantidad (g)
Trigo	10,61
Hemoglobina de cerdo	7,04
Harina de cerdo	5,08
Harina de pescado	7,77

Los datos de la tabla 16 son una propuesta del modelo polinómico para obtener una entalpía de 59 J/g considerando una mezcla que utilice solamente las cuatro materias primas de este estudio, es decir, se excluyen otras materias primas que se incorporan habitualmente en planta. Si comparamos, los valores de incorporación en planta con los de la propuesta en la tabla 16, los de la tabla indican que el modelo arroja un valor de trigo similar a valores de mezclas en planta, los valores de harina de cerdo y harina de pescado si bien no son los mismos, se acercan al valor propuesto. Para el caso de la hemoglobina, se propone un valor mucho más

alto de incorporación que en la mezcla en planta. Esto puede deberse a que la mezcla de planta tiene muchas más materias primas que las estudiadas en este trabajo, por lo tanto, podrían influir en el comportamiento térmico de la hemoglobina de cerdo.

CONCLUSIONES

Al analizar los termogramas de fusión de cada una de las materias primas por separado, el trigo presentó un perfil endotérmico diferente al perfil endotérmico de la hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado y la curva es similar a la curva del almidón.

La combinación de las materias primas obtenidas a partir de los resultados de entalpía de la mezcla de planta utilizando el modelo polinómico de entalpía resultó en: 10,61;7,04; 5,08 y 7,7 (g) de Trigo, hemoglobina, harina de cerdo y harina de pescado, respectivamente. La entalpía de fusión fue de 59 J/g mientras que, el peak de temperatura del rango máximo endotérmico de la mezcla fue de 81,27°C.

Los valores de incorporación de ingredientes de planta fueron reemplazados en las ecuaciones de los modelos polinómicos de entalpía y de peak de temperatura. Los resultados según ecuación de entalpía fue de 58,18 J/g mientras que para peak de temperatura fue de 81,85°C. Estos valores

fueron muy similares a los experimentales por lo que se podría concluir que ambos modelos polinoómicos, entalpía y peak de temperatura, son representativos.

El valor teórico de la optimización de entalpía mediante MSR fue de 79,5 J/g, superior al valor obtenido en planta bajo las mismas condiciones de humedad de planta del 25%. Los valores óptimos de materias primas para obtener ese máximo de ΔH fue de 11,98 g de Trigo, 9,99 g de hemoglobina, 0,056 g de harina de cerdo y 5,96 g de harina de pescado. Este valor de entalpía correspondió a la entalpía de gelatinización del almidón sumado a las transformaciones de las otras macromoléculas y/o polímeros que conforman la mezcla (lípidos y proteínas).

De acuerdo con la hipótesis, los resultados mostrados en este estudio permiten concluir que distintas combinaciones de materias primas utilizadas en dietas para salmónidos afectan las variables respuesta entalpía y peak máximo de temperatura endotérmico, bajo las condiciones de humedad que se utilizan en la etapa de acondicionador. El efecto sobre la entalpía de las variables hemoglobina y trigo es positivo y significativo. Mientras que, el efecto de la harina de pescado, la combinación trigo – harina de cerdo y harina de cerdo sobre la entalpía es negativo y significativo.

Para efectos de la formulación en planta, se recomienda maximizar el valor de entalpía de la mezcla, incrementando las cantidades de las materias primas que influyeron positivamente sobre la entalpía (trigo y hemoglobina) y limitando las cantidades de las que influyeron negativamente sobre la entalpía (harina de cerdo y harina de pescado), ya que de esta manera se favorece una mayor gelatinización del almidón del trigo y por lo tanto a una mayor digestibilidad del trigo en dieta del pez.

BIBLIOGRAFÍA

Badui Dergal, S; 1999; *Química de los Alimentos*. Naucalpan de Juárez, México; Pearson Educación

Bentz, A.P., Breidenbach, B.G. Evaluation of the Differential Scanning Calorimetric Method for Fat Solids. *Journal of the American Oil Chemists` Society*, 1969. Vol 46: 60–63

Bergot, F., Breque, J. Digestibility of Starch by Rainbow Trout: Effect of the Physical State of Starch and of the Intake Level. *Aquaculture*, 1983. Vol 34: 203 – 212

Biliaderis C.G, Page C.M, Maurice T.J, Juliano B.O. Thermal Characterization of Rice Starches: a Polimeric Approach to Phase Transitions of Granular Starch. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 1986. Vol 34: 6-14.

Chandrashekar, A., Kirleys W. Influence of protein of Starch Gelatinization in Sorghum. *Cereal Chemistry*, 1988. Vol 65: 457 – 462

Charoenrein S., Udomrati S. Retrogradation of Waxy Rice Starch Gel in the Vicinity of the Glass Transition Temperature. *International Journal of Food Science*, 2013. Vol 2013: 1-4.

Chiu MH, Prenner EJ. Differential scanning calorimetry: An invaluable tool for a detailed thermodynamic characterization of macromolecules and their interactions. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2011. Vol 31:39-59.

Cho C. Y., Slinger S. J., Bayley, H. S. Bioenergetics of Salmonid Fishes: Energy Intake, Expenditure and Productivity. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1982. Vol 73: 25-41

Chung H. J., Woo K. S., Lim, S.T. Glass Transition and Enthalpy Relaxation of Cross-Linked Corn Starches. *Carbohydrate Polymers*, 2004. Vol 55: 9-15.

Damodaran S., Parkin, K.L., 2017. *Fennema's Food Chemistry*. Wiscconsin, USA. CRC Press

Desrumaux, A., Bouvier, J. M., & Burri, J. Effect of Free Fatty Acids Addition on Corn Grits Extrusion Cooking. *Cereal Chemistry*, 1999. Vol 76: 699-704

Dhale, L. K., Wheat Protein-Starch Interaction. I. Some Starch – Binding Effects of Wheat Flour Proteins. *Cereal Chemistry*, 1971. Vol 48: 706-713

Donovan J.W. Phase Transitions of the Starch-Water System. *Biopolymers*, 1979. Vol 18: 263-265

Douglas, R. T. Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fishery Science and Aquaculture*, 2003. Vol 11: 107-184

Eliasson, A. C. Differential Scanning Calorimetry Studies on Wheat Starch-Gluten Mixtures. *Journal of Cereal Science*, 1983. Vol 1: 199-205

Eliasson, A. C. y Gudmundsson M. 1996. *Carbohydrates in Food*. Dekker, New York, USA. Marcel Dekker.

Eliasson, A. C. 2004. *Starch in food: Structure, Function and Applications*. Cambridge, Inglaterra. Boca Raton, CRC Press.

Eliasson, A. C. Interaction Between Starch and Lipids Studied by DSC. *Thermochimica Acta*, 1994. Vol 246: 343-346

Eliasson, A. C. y Tjerneld E. Absorption of Wheat Protein on Wheat Starch Granules. *Cereal Chemistry*, 1990a. Vol 67: 366-372.

Eliasson, A. C. y Tjerneld E. On the Influence of Added Lipid Phases on the Rheological Properties of Wheat Flour Doughs. *Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 1990b. Vol 191: 35-39.

Encarnacao, P., Rodehutsord, M., Hoehler, D., Bureau, W., Bureau, D.P. Diet digestible energy content affects lysine utilization, but not dietary lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. *Aquaculture*, 2004. Vol 235: 569-586

Fjelldal P.G., Hansen T., Albrektsen S. Inadequate Phosphorus Nutrition in Juvenile Atlantic Salmon Has a Negative Effect on Long-Term Bone Health. *Aquaculture*, 2012. Vol 334-337: 117–123

Forte, D., Young, G. 2016. *Food and Feed Extrusion Technology*. Queensland, Australia. Food Industry Engineering

Fukuoka, M., Ohta, K-I, Watanabe, H. Determination of the Terminal Extent of Starch Gelatinization in a Limited Water System by DSC. *Journal of Food Engineering*, 2002. Vol 53: 39-42.

Gelders, H. Goesaert, J. A. Delcour. Amylose – Lipid Complexes as Controlled Lipid Release Agents During Starch Gelatinization and Pasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006 Vol 54: 1493- 1499

Gönül Kaletunç, 2009. *Calorimetry in Food Processing*. Iowa, USA. Willey-Blackwell.

Gómez, M. H., Aguilera, J. M. Changes in the Starch Fraction During Extrusion – Cooking of Corn. *Journal of food science*, 1983, Vol 48: 378 – 381

Hemre G. I., Lok E. J, Olsvik P. A, Hamre K, Espe M, Torstensen B. E, Silva J, Hansen A. C, Waagbo R, Johansen J. S, Sanden M, Sissener N.H. Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Require Increased

Dietary Levels of B-vitamins When Fed Diets With High Inclusion of Plant Based Ingredients. Peer J, 2016. Vol 4: 1-28

Hemre, G. I., Mommsen, T. P., Krogdahl, A. Carbohydrates in Fish Nutrition: Effects on Growth, Glucose Metabolism and Hepatic Enzymes. Aquaculture Nutrition, 2002. Vol 8: 175-194

Holt G. J. 2011; *Larval and Fish Nutrition*. Texas, USA. Wiley – Blackwell

Ji, Z., Yu, L., Liu, H., Bao, X., Wang, Y., Chen, L. Effect of Pressure With Shear Stress on Gelatinization of Starches With Different Amylose/Amylopectin Ratios. Food Hydrocolloids, 2017. Vol 72: 331-337.

Kaura, M., Singh, N., Sandhu, K.S., Guraya, H.S. Physicochemical, Morphological, Thermal and Rheological Properties of Starches Separated from Kernels of Some Indian Mango Cultivars (*Mangifera Indica* L.). Food Chemistry, 2004. Vol 85: 131 – 140

Kaushik S.J. Nutritional Bioenergetics and Estimation of Waste Production in Non-Salmonids. Aquatic Living Resources, 1998. Vol 11: 211-217.

Kim, C. S., & Walker, C. E. Changes in Starch Pasting Properties Due to Sugars and Emulsifiers as Determined by Viscosity Measurements. Journal of Food Science, 1992. Vol 57: 1009 – 1013.

Kokini, J.L., Lai, L.S., Chedid, L.L. Effects of Starch Structure on Starch Rheological Properties. Food Technology, 1992. Vol 46: 124-139.

Kraugerud, O. F., Svihus, B. Tools to Determine the Degree of Starch Gelatinization in Commercial Extruded Salmon Feeds. Journal of the World Aquaculture Society, 2011. Vol 42: 914-920.

Lin S., Hsieh F., Huff, H. Effects of Lipids and Processing Conditions of Degree of Starch Gelatinization of Extruded Dry Pet Food. Food Science and Technology, 1997. Vol 30: 754-761.

Liu, P., Long Y., Hongsheng L., Ling Ch., Lin Li. Glass transition temperature of starch studied by a high-speed DSC. Carbohydrate Polymers, 2009. Vol 77: 250 – 253.

Lupatsch, G. W., Kissil, D., Pfeffer, S. E. Energy and Protein Requirements for Maintenance and Growth in Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition*, 1988. Vol 4: 165-173

Lund D. Influence of time, Temperature, Moisture, Ingredients and Processing Conditions on Starch Gelatinization. *CRC Crit. Revs Food Sci. Nutr*, 1984. Vol 20:249-273

Malkki, Y., Kervinen, R., Olkku, J. & Linko, P. Effect of Monoglycerides During Cooking Extrusion of Wheat Flour. In *Fats (Lipids) in Baking and Extrusion, Lipid Forum Symposium*, 1984. Vol 1: 130-137.

Melvin, M. A. The Effect of Extratable Lipid on the Viscosity Characteristics of Corn and Wheat Starches. *Science of Food and Agriculture*, 1979. Vol 30: 731-738.

Michnik A., Drzazga Z., Kluczevska A., Michalik K. Differential Scanning microcalorimetry study of the thermal denaturation of haemoglobin, *Biophysical Chemistry*, 2005. Vol 118: 93-101

Özparlak, H. Effect of Seasons on Fatty Acid Composition and n-3/n-6 Ratios of Muscle Lipids of Some Fish Species in. *Pakistan Journal Zoology*, 2013. Vol. 45: 1027-103

Pooria Gill, Tahereh Tohidi Moghadam and Bijan Rnajibar. Differential Scanning Calorimetry Techniques: Application in Biology and Nanoscience. *Journal of Biomolecular Techniques*, 2010. Vol 21: 167-193

Reading M., Hourston, D.J. *Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry: Theoretical and Practical Applications in Polymer Characterisation*; Dordrecht, Netherlands; Springer, 2010.

Rooney, L. W. Pflugfelder, R. L. Factors affecting Starch Digestibility With Special Emphasis on Sorghum and Corn. *Journal of Animal Science*, 1986. Vol 63: 1607 – 1623

Sadasivam, J. K. Nutritional Bioenergetics and Estimation of Waste Production in Non – Salmonids. *Aquatic Living Resources*, 1998. Vol 11: 211 – 217

Samuelsen, T. A., Mjos, S. A., Otherhals, A. Influence of Type of Raw Material on Fishmeal on Physicochemical properties, the Extrusion Process, Starch Gelatinization and Physical Quality of Fish Feed. *Aquaculture Nutrition*, 2014. Vol 20: 410-420.

Schweizer, T. F., Reimann, S., Solms, J., Eliasson, A. C., Asp, N. G. Influence of drum - drying and Twin-Screw Extrusion Cooking on Wheat Carbohydrates, II, Effect of Lipids on Physical Properties, Degradation and Complex Formation of Starch in Wheat Flour. *Journal of Cereal Science*, 1986. Vol 4: 249 – 260

Sire, MF., Lutton, C., Vernier, J.M. New views on Intestinal Absorption of Lipids in Teleostean fishes: an Ultrastructural and Biochemical study in the rainbow trout. *Journal of Lipid Research*, 1981. Vol 22: 81- 94.

Sjoo, M., Nilsson L. 2017; *Starch in Food, Structure, Function and Applications*. Duxford, United Kingdom; Woodhead Publishing.

Suriñach, S., Baro, M. D., Bordas, S., Clavaguera, N., Clavaguera – Mora, M. T. La Calorimetría Diferencial de Barrido y su Aplicación a la Ciencia de Materiales. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 1992. Vol 31: 11-17

Tako, M., Tamaki, Y., Teruya, T., Takeda, Y. The Principles of Starch Gelatinization and retrogradation. *Food and Nutrition Sciences*, 2014. Vol 5: 280-291

Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X. Starch Composition, Fine Structure and Architecture. *Journal of Cereal Science*, 2004. Vol 39: 151-165.

Tieko Nassu, R., Guaraldo Goncalves, L. A. Determination of melting point of vegetable oils Fats by Differential Scanning Calorimetry (DSC) technique. *Grasas y Aceites*, 1999. Vol 50: 16-22

Tocher, D. R. Metabolismo and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Fisheries Sciences*, 2003. Vol 11: 107-184.

Tufvesson, F., Wahlgren, M., Eliasson, A. Formation of Amylose – Lipid complexes and effect of temperature treatment. *Starch/Starke*, 2003. Vol 55: 61 – 71

Vangen B., Hemre G.I. Dietary Carbohydrate Iron and Zinc Interactions in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 2003. Vol 219: 597- 611

Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q., Wang, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2015. Vol 14: 568 – 585

Wang, S., Li, C., Zhang, X., Copeland, L., Wang, S. Retrogradation Enthalpy Does Not Always Reflect Retrogradation Behavior of Gelatinized Starch. *Nature*, 2016. Vol 6: 1-10

Wu, M. C, Hamann D. D, Lanier T. C. Rheological and Calorimetric Investigations of Starch-Fish Protein System During Thermal Processing. *Journal of Texture Studies*, 1985. Vol 16: 53-74.

Xie, F., Yu, L., Chen, L., Li, L. A New Study of Starch Gelatinization Under Shear Stress Using Dynamic Mechanical Analysis. *Carbohydrate Polymers*, 2008. Vol 72: 229 – 234.

Yu L., Christie, G. Measurement of starch thermal transitions using differential scanning calorimetry. *Carbohydrate Polymers*, 2001. Vol 46: 179 – 184

ZeleznaK, K. J. and HoseneY, R. C. The Glass Transition in Starch. *Cereal Chemistry*, 1987. Vol 64: 121 -124

Zhou, Z., Robards K., Helliwel S., Kevin R., Blanchard Ch. Effect of the Addition of Fatty Acids on Rice Starch Properties. *Food Research International*, 2007. Vol 40: 209-214.

Sitios web:

Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura: Fao. 2020.
<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/animal-feed/es/>

