

EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA, SENSORIAL Y VIDA ÚTIL DE GALLETAS ENRIQUECIDAS CON SUBPRODUCTOS PROTEICOS DE SUERO DE QUESERÍA

Evaluation, shelf life and sensory of cookies enriched with whey protein products from quesería

Andreina Fernández¹, Evelin Rojas², Aiza Garcia², Jorly Mejía³ y Alfonso Bravo³

¹Universidad del Zulia, Facultad de Humanidades y Educación, Escuela de Educación. E-mail: andreinafernandezve@gmail.com.
Unidad de Investigación de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (UDICTA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia².
Facultad de Medicina, Escuela de Nutrición y Dietética, Universidad del Zulia³

RESUMEN

Para el año 2013, en Venezuela se generaron 866,79 millones de litros de lactosuero como consecuencia de la producción anual de queso. Este subproducto contiene proteínas de alto valor biológico y nutricional pero sólo una cuarta parte del mismo es utilizado por la industria alimentaria y el resto por lo general es desechado. Basado en la necesidad de aprovechar el alto potencial nutritivo del suero de quesería, se formularon y elaboraron tres tipos de galletas (A3, B3 y C3) suplementadas respectivamente, con tres subproductos proteicos obtenidos a partir de lactosuero: suero dulce original (SDo); concentrado proteico de suero dulce (cpSD) y aislado de GMP (aGMP). Las galletas se evaluaron fisicoquímicamente (humedad, cenizas, proteínas, grasas, carbohidratos) según la AOAC y sensorialmente. Todas las galletas mostraron parámetros fisicoquímicos ajustados a la norma. La galleta B3 presentó el mayor porcentaje de grasa y energía metabolizable, mientras que la galleta C3 mostró el mayor contenido de proteínas. Se determinó la vida útil según establece COVENIN (contaje de aerobios mesófilos, coliformes totales, fecales, *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras). Las galletas con mayor vida útil fueron la A3 y C3. El análisis sensorial mostró que la galleta B3 fue la más aceptada, sin embargo, cualquiera de ellas pudiera representar una potencial merienda que puede ser ingerida por toda la población.

Palabras clave: Lactosuero; galletas; vida útil; análisis sensorial; glicomacropéptido.

ABSTRACT

For the year 2013 in Venezuela, 866.79 million liters of whey were generated as a result of the annual production of cheese. This product contains proteins of high biological and nutritional value but only a quarter of it is used by the food industry and the rest usually is discarded. Based on the need to exploit the potential of high nutritional whey solids they are formulated and produced three types of cookies (A3, B3 and C3) supplemented, respectively, with three protein products obtained from whey: Sweet whey Original (SWO); sweet whey protein concentrate (cpSW) and isolate GMP (aGMP). Cookies (moisture, ash, protein, fat, carbohydrates) are evaluated according to the AOAC physicochemically and sensory. All cookies showed physicochemical parameters set the standard. B3 cookie had the highest percentage of fat and metabolizable energy, while the C3 cookie showed the highest protein content.

The lifetime was determined as set COVENIN (aerobic mesophilic bacteria count, total coliforms, fecal coli, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, molds and yeasts). Cookies with longer life were the A3 and C3. Sensory analysis showed that the cookie B3 was the most accepted, however, any of them could represent a potential snack that can be eaten by the population.

Key words: Whey protein; cookies; shelf life; sensory analysis; glycomacropéptide.

INTRODUCCIÓN

El lactosuero (LS) es el subproducto lácteo que se separa de la cuajada durante el proceso de elaboración de quesos frescos. Contiene más de la mitad de los sólidos presentes en la leche entera, que incluyen 20% de las proteínas, 75% de materia seca en forma de lactosa y 8% de materia seca correspondiente a sales minerales [7, 20].

Anualmente, a nivel mundial se producen 40.700.000 toneladas de LS y sólo aproximadamente la mitad es aprovechada en la alimentación humana y animal, el resto es tratado como desecho [41, 46]. En Venezuela, para el año 2013 se generaron 866,79 millones de litros (L) de LS [35], de los cuales alrededor del 25% fue utilizado en la alimentación directa de cerdos (*Sus scrofa*), en producción de ricota y requesón, y el resto fue desechado [23].

Las proteínas y péptidos presentes en el LS son consideradas de alto valor biológico y nutricional debido a su contenido (aproximadamente un 26%) en aminoácidos esenciales [27, 28], además han mostrado una variedad de efectos biológicos *in vivo* que contribuyen a la salud, tanto humana como animal [5].

El LS obtenido mediante hidrólisis enzimática de la renina sobre el enlace Phe₁₀₅-Met₁₀₆ de la k-caseína de la leche (conocido como suero dulce), contiene entre otros, un péptido hidrofílico y termoestable, constituido por 64 aminoácidos, llamado Glicomacropéptido (GMP). Este péptido constituye entre del 15 al 20% de la proteína del suero [32], contiene aminoácidos de cadena corta ramificada (Val, Leu, Asp, Asn, Glu, Gln), no contiene aminoácidos aromáticos (Phe, Tyr, Trp), tiene bajo contenido en Met y puede contener hasta 4 o 5 cadenas de carbohidratos (ácido siálico-galactosa-N-acetil galactosamina) unidas en residuos específicos de Thr [45, 48, 51, 53].

A la particular estructura del GMP, en especial la presencia de cadenas de carbohidratos, se le ha atribuido la variedad de actividades biológicas que exhibe este péptido como promotor del crecimiento de la bifidobacterias, supresor de la secreción gástrica, inhibidor de la adhesión de virus, bacteria o sus toxinas a sus hospedadores, modulador de la respuesta inmune humoral y celular, regulador de la agregación plaquetaria y la circulación sanguínea, entre otras [10, 11, 31, 39, 41, 44, 49, 50].

El alto costo de los alimentos de origen animal y la gran necesidad que existe de cubrir las necesidades nutricionales de la población ha conllevado a nivel mundial, a darle un uso eficiente a los subproductos y residuos con potencial biológico y nutritivo generados de la actividad industrial, contribuyendo además, a frenar la contaminación de ecosistemas cuando éstos son vertidos en forma indiscriminada en efluentes marinos [26, 40, 52].

Considerando que las galletas constituyen un excelente vehículo de nutrimentos [24], y son de alto consumo y aceptabilidad, se hace necesario evaluar la composición fisicoquímica, sensorial y vida útil de galletas enriquecidas con subproductos obtenidos a partir de suero dulce de quesería.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del suero y obtención de las muestras

Durante dos meses, con una frecuencia de dos veces por semana, se recolectaron cada vez, 20 L de suero dulce proveniente de la fabricación de queso artesanal suministrado por una empresa quesera de la región. Éste se mantuvo a 8°C (Tropicold, modelo:DS4P Neve Industrial C.A, Venezuela) hasta su uso.

En cada muestreo se reservaron 2L de suero dulce constituyendo ésto la muestra de suero dulce original (SDo). El resto del suero (18L) se concentró utilizando membranas de ultrafiltración/nanofiltración tangencial, según lo descrito por Faría y col. [21]. Producto del proceso de concentración se obtuvieron aproximadamente 4L de suero, de los cuales se reservaron 2L que representaron la muestra de concentrado proteico de suero dulce (cpSD). Los 2L restantes se calentaron a 90°C (Gemmy Industrial CORP, YCW-01, Associated with Camic. INC, EUA) durante 60 minutos (min) en un baño de agua con recirculación interna. Se dejó enfriar a temperatura ambiente para precipitar las proteínas séricas (el GMP es termoestable a esta temperatura). Posteriormente se centrifugó durante 30 min a 4472 g en una centrífuga (IEC Modelo K ¾ HP, EUA) descartando el precipitado. El sobrenadante obtenido representó la muestra de aislado de glicomacropéptido (aGMP).

Las tres muestras, SDo, cpSD y aGMP se concentraron en un rotoevaporador (marca Heidolph HB digital-Laborata 4000 efficient, EUA) a 35°C, 1,268 g, hasta obtener una tercera parte de la muestra original. Luego se secaron por separado en una estufa con aire forzado (marca Fisher isotemp® oven 300 series model 318F, Alemania) a 35°C durante cuatro días (d), hasta completa sequedad. Las muestras secas se pulverizaron utilizando un procesador de alimentos eléctrico (Moulinex, EUA), se tamizaron empleando un tamiz de acero inoxidable de 8 pulgadas de diámetro con abertura de 1 mm, se envasaron en bolsas plásticas de cierre hermético y se almacenaron a -20°C (White-Westinhouse, MFC15XGAW1, White Consolidated IND, EUA) hasta el momento de su uso.

Formulación de las galletas

Tomando como base una dieta de 2000 Kcal/d [29] en esta investigación se formularon tres tipos de galletas (A, B y C) suplementadas con SDo, cpSD y aGMP, respectivamente. Estas aportan aproximadamente un 10% del total de calorías consumidas durante el día, correspondiente al porcentaje de calorías recomendado para una merienda. Por ello se formuló una galleta que satisfaga los requerimientos nutricionales en una población de individuos sanos, enriqueciendo la harina de trigo (*Triticum aestivum*) empleada con 2,5, 5 y 7,5% de cada subproducto proteico para la elaboración del producto final. Se obtuvo por lo tanto, galletas A (1,2, 3), B (1,2,3) y C (1,2,3).

Evaluación sensorial

Con la finalidad de determinar el porcentaje de enriquecimiento (1, 2, 3) más aceptado, las galletas fueron sometidas a una evaluación sensorial empleando una escala hedónica no

estructurada de 10 puntos. La escala más baja correspondió a “me disgusta muchísimo” (0 a 5), una escala intermedia “me es indiferente” (5) y una escala más alta correspondiente a “me gusta muchísimo” (6-10) [43]. Para evaluar atributos como el color, olor, sabor, textura y aceptación global se empleó un panel de laboratorio altamente consumidor de galletas conformado por 25 adultos jóvenes con edades comprendidas entre 25 a 30 años.

Posteriormente se elaboraron las galletas con el porcentaje de enriquecimiento más aceptado y las cuales fueron sometidas a análisis fisicoquímico, vida útil y fueron sometidas nuevamente mediante una evaluación sensorial, donde se empleó un panel no entrenado conformado por 31 jóvenes estudiantes con edades comprendidas entre 19-28 años. Las galletas fueron suministradas a cada participante para la degustación y entre cada tipo de galleta se les permitía tomar agua como una manera de neutralizar los sabores entre cada tipo de galleta.

Evaluación fisicoquímica

Las galletas más aceptadas por tipo y porcentaje de enriquecimiento en la última evaluación sensorial fueron sometidas a análisis fisicoquímicos empleando los métodos propuestos por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [3] para humedad (925.09), proteína (962.10), ceniza total (923.03), grasa (920.39). El contenido de carbohidratos disponibles fue calculado por diferencia, empleando la fórmula recomendada por Barboza y col. [4]. La energía metabolizable se calculó empleando el método empírico [36], para lo cual se multiplicó el porcentaje de proteínas y carbohidratos por 4 Kcal y el porcentaje de grasa por 9 Kcal. Cada análisis se realizó por triplicado.

Para estimar el Valor Energético Recomendado (VER) se utilizaron los datos obtenidos del contenido de proteínas, grasas y carbohidratos para una ración de 30 g de galleta. Estos valores se multiplicaron por el valor calórico que aporta cada macronutriente (4 Kcal para proteínas y carbohidratos y 9 Kcal, para la grasa).

El total de calorías que aporta la ración de 30 g de galletas se calculó como la suma de los valores correspondientes a las fracciones individuales antes indicadas. Como base se consideró un aporte calórico de 2000 Kcal.

El requerimiento energético total por cada macronutriente se estimó a partir del total de calorías y el valor calórico obtenido (proteínas, carbohidratos y grasa) según lo reportado es de 55% para carbohidratos, 30% para grasa y 14% de proteínas [22, 47].

Vida útil de las galletas

Para estimar la vida útil de las galletas se almacenaron bajo condiciones controladas a la temperatura de comercialización, hasta que sus características de calidad indicaron que su vida útil había llegado a su fin. Para ello se realizó una evaluación microbiológica durante 21 d, tomando como tiempo cero (d 0) el día de la elaboración y luego a los 14 y 21 d [9]. Se determinó el contenido de aerobios mesófilos (AM) (COVENIN 902-87) (COVENIN 1126-89) [13,17], coliformes totales (CT) (COVENIN 1104:1996) [12], coliformes fecales (CF) y *E. coli* (EC) (COVENIN 1104:1996) [12], *Staphylococcus aureus* (SA) (COVENIN 1292) [14], *Salmonella* (S) (COVENIN 1291) [15] y mohos y levaduras (COVENIN 1337) [16].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis sensorial

El primer análisis sensorial de las galletas se realizó con el propósito de determinar el porcentaje de enriquecimiento más aceptado. La TABLA I muestra los resultados del análisis sensorial de las galletas por tipo (A, B, C) a los diferentes porcentajes de enriquecimiento (1, 2, 3). En ella se observa que, de los cinco atributos evaluados, sólo hubo diferencia significativa ($P < 0,05$) en el atributo sabor entre las formulaciones A₁ y A₃; B₁ y B₃. No se observó diferencia significativa con respecto al sabor para la galleta tipo C.

TABLA I

ANÁLISIS SENSORIAL DE GALLETAS ENRIQUECIDAS CON SDo, cpSD Y aGMP AL 2,5; 5 Y 7,5%

| Tipo de Galleta | Puntuación por atributo* | | | | |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| | Color | Olor | Textura | Sabor | Aceptación global |
| A ₁ | 8,00 ± 1,98 ^a | 8,92 ± 2,08 ^a | 8,04 ± 3,03 ^a | 7,64 ± 1,99 ^a | 8,28 ± 2,05 ^a |
| A ₂ | 7,32 ± 2,47 ^a | 8,72 ± 2,11 ^a | 8,24 ± 2,86 ^a | 7,88 ± 1,96 ^{a,b} | 8,32 ± 2,11 ^a |
| A ₃ | 7,36 ± 2,47 ^a | 9,12 ± 1,51 ^a | 8,80 ± 2,56 ^a | 8,80 ± 2,27 ^b | 9,00 ± 1,63 ^a |
| B ₁ | 8,28 ± 1,69 ^a | 9,04 ± 1,69 ^a | 8,16 ± 2,73 ^a | 7,92 ± 1,77 ^a | 8,40 ± 1,87 ^a |
| B ₂ | 7,32 ± 2,47 ^a | 8,88 ± 1,71 ^a | 8,56 ± 2,34 ^a | 8,12 ± 1,66 ^{a,b} | 8,48 ± 1,66 ^a |
| B ₃ | 7,72 ± 2,33 ^a | 9,28 ± 1,34 ^a | 8,96 ± 2,18 ^a | 9,04 ± 1,88 ^b | 9,16 ± 1,37 ^a |
| C ₁ | 7,44 ± 2,25 ^a | 8,40 ± 2,17 ^a | 7,48 ± 3,05 ^a | 7,16 ± 2,17 ^a | 7,68 ± 2,05 ^a |
| C ₂ | 6,88 ± 2,43 ^a | 8,24 ± 2,26 ^a | 7,64 ± 2,81 ^a | 7,24 ± 2,06 ^a | 7,60 ± 2,12 ^a |
| C ₃ | 7,00 ± 2,72 ^a | 8,60 ± 1,75 ^a | 8,28 ± 2,59 ^a | 8,28 ± 2,26 ^a | 8,32 ± 1,82 ^a |

n=25. *Los resultados están expresados en promedio ± desviación estándar.

Superíndices diferentes en una misma columna, indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Las letras A, B y C corresponden a galletas suplementadas con suero dulce original (SDo); concentrado proteico de suero dulce (cpSD) y aislado de GMP (aGMP), respectivamente. Los números 1, 2 y 3 corresponden a 2,5; 5 y 7,5% de enriquecimiento, respectivamente.

TABLA II

EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA DE LAS GALLETAS ENRIQUECIDAS CON 7,5% DE SDo, cpSD Y aGMP

| Parámetro* | Tipo de Galleta | | | NORMA COVENIN 1483:2001 |
|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------|
| | A ₃ | B ₃ | C ₃ | |
| Humedad (%) | 5,12 ± 0,07 ^a | 4,76 ± 0,01 ^a | 4,66 ± 0,29 ^a | 5,0 |
| Ceniza (%) | 2,50 ± 0,04 ^a | 2,50 ± 0,04 ^a | 2,60 ± 0,11 ^a | - |
| Grasa (%) | 13,36 ± 0,06 ^a | 14,12 ± 0,04 ^b | 13,38 ± 0,03 ^a | - |
| Proteína (%) | 13,61 ± 0,04 ^a | 13,92 ± 0,09 ^a | 14,30 ± 0,16 ^b | 3,0 |
| Carbohidratos (%) | 65,36 ± 0,01 ^a | 64,66 ± 0,12 ^b | 65,02 ± 0,04 ^c | - |
| Energía Metabolizable (Kcal/100g) | 436,19 ± 0,68 ^a | 441,46 ± 0,53 ^b | 437,73 ± 0,79 ^a | - |

Resultados expresados como valor promedio ± 1 Desviación estándar.

Superíndices diferentes en una misma fila, indican diferencia significativa (P<0,05).

(-): Parámetro no contemplado por la norma.

* Valores expresados en base seca

Los valores de aceptación global no mostraron diferencia significativa (P>0,05), lo que indica una buena aceptabilidad del producto. Sin embargo, de las nueve formulaciones evaluadas, las galletas enriquecidas con 7,5% de los tres subproductos (A₃, B₃ y C₃) obtuvieron las mayores puntuaciones y a su vez, entre ellas, la formulación B₃ obtuvo el mayor puntaje.

Estos resultados indican que las galletas formuladas y suplementadas con proteína de LS fueron bien aceptadas por los catadores, respuesta que ha sido observada también por otros investigadores, al formular yogurt, bebidas, u otros alimentos con proteínas de similar origen [2, 34].

Evaluación fisicoquímica

Las galletas más aceptadas, por porcentaje de enriquecimiento (A₃, B₃ y C₃) fueron evaluadas fisicoquímicamente. Los resultados de este análisis se muestran en la TABLA II.

No hubo diferencias significativas (P>0,05) entre los porcentajes de ceniza y humedad que presentaron los tres tipos de galletas. Éstos se encontraron entre 2,50 - 2,60 y 4,66 - 5,12 %, respectivamente. Los porcentajes de cenizas son ligeramente superiores a los encontrados por Cori y col. [19] y Aleman [1], quienes obtuvieron un valor de 1,8% en galletas con 3% de sustitución de harina de trigo por harina desgrasada de girasol (*Helianthus annuus*), y de 1,45% en galletas con 5% de sustitución de harina de trigo por linaza (*Linum usitatissimum*), respectivamente. Quizás el porcentaje de sustitución de harina de trigo en las galletas obtenidas, por 7,5% de los subproductos lácteos, esté influenciando proporcionalmente el valor de este parámetro.

Los valores de humedad obtenidos en este estudio cumplen en su mayoría con la norma COVENIN 1483:2001, la cual establece un valor máximo de 5%. Estos porcentajes son considerablemente inferiores a los encontrados por Aleman [1] (entre 14,27 y 18,52

% en galletas de trigo y linaza) y superiores a los reportados por Cori y col. [19] (menor a 2% a 1 semana de almacenamiento de galletas dulces elaboradas a base de trigo y cacao (*Theobroma cacao*), sin embargo, se corresponden a los valores de humedad encontrados por Benítez y col. [8] en galletas formuladas a base de harina de yuca (*Manihot esculenta*) y plasma de bovino (*Bos taurus*) con un valor de 4,30% ± 1,87.

León y col. [33] aseguran que el contenido de proteínas y otros ingredientes usados para la elaboración de galletas puede disminuir la cantidad de humedad.

La obtención de galletas con un porcentaje de humedad ajustado a la norma representa una característica favorable ya que este parámetro constituye uno de los controles más rigurosos en la producción industrial de galletas (previo empaque) y en el seguimiento de la estabilidad en almacén debido a las implicaciones relacionadas con el tiempo de vida útil, estabilidad química y microbiológica [42].

El porcentaje de grasa en los tres tipos de galleta varió entre 13,36 y 14,12%, encontrándose diferencias significativas (P<0,05) entre la galleta B₃ con respecto A₃ y C₃, pero no entre estas últimas. El hecho de que la galleta B₃ presente mayor contenido de grasa puede ser atribuido a que la concentración por nanofiltración/ultrafiltración, método utilizado en la obtención del subproducto proteico con el cual fue suplementada, incide directamente en el contenido de los nutrientes, específicamente de la grasa. Estos valores resultan inferiores a los encontrados por Cori y col. [19] al elaborar galletas dulces tipo oblea a base de trigo y cacao (alrededor de 19,62% en cuatro tipos de tratamientos).

Por otro lado, el mayor contenido de grasa en las galletas tipo B₃ pudo haber influenciado en la obtención del mayor puntaje en el parámetro sabor y en la aceptabilidad global durante el análisis sensorial de las mismas ya que las grasas son en gran medida,

las responsables de la palatabilidad y del sabor en los alimentos, otorgando la sensación de plenitud que resulta al ingerirlos [6]. En Venezuela no existe normativa alguna que permita clasificar las galletas según su contenido en grasas, sin embargo, al analizar la normativa de clasificación de galletas de la Dirección General de Normas Mexicana [30], las galletas formuladas en este estudio según su contenido en grasa, se ubican como Tipo I, es decir galletas finas.

Al calcular el aporte energético de la grasa como macronutriente, para una ración de 30 g de las galletas (3 unidades), se encontró que la galleta A₃ aporta un valor de 27,57%, la galleta B₃ de 29,20% y la galleta C₃ de 27,51%. Estos valores se correlacionan con los establecidos por Gómez Candela y De Cos Blanco [22], quienes indicaron que el aporte de la grasa al valor energético total es del 30%.

El porcentaje de proteínas en las galletas estuvo entre 13,61 y 14,30%, alrededor de cuatro veces por encima de lo establecido por la Norma COVENIN 1483 [18] para este tipo de galleta (TABLA II). Los tres subproductos utilizados para enriquecer cada tipo de galleta, contribuyó en gran medida y de manera aditiva al porcentaje de proteína aportado por el huevo y la harina de trigo. El análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas (P<0,05) entre el porcentaje de proteínas de la galleta C₃ y los porcentajes de proteínas en las galletas A₃ y B₃. Estos resultados se corresponden con los encontrados por Lopez-Villafuerte y col. [37] en galletas enriquecidas con LS, soya (*Glycine max*) y nuez de macadamia (*Juglans regia*), cuyo contenido de proteínas fue de 12,95%.

Se han reportado porcentajes de proteínas en diferentes tipos de galletas: galletas con "chip" de chocolates (5,27%), galletas sandwich con chocolate (4,97%), galletas para animales (6,15%), galletas "crackers" con queso (10,48%), galleta "crackers" de harina completa de trigo (10,76%), galletas tipo oblea a base de trigo y cacao (8,60%) [19, 38, 54]. Como se observa, los seis tipos de galletas citados, contienen un porcentaje proteico inferior al de las galletas formuladas en este estudio.

El aporte energético de las proteínas presentes en una ración de 30 g corresponde a 12,47% para la galleta A₃; 12,53% para la galleta B₃ y de 13,07% para la C₃. Al comparar estos valores se observa que, la galleta C₃ muestra el mayor porcentaje, sin embargo las tres galletas cumplen con lo reportado por Serralda-Zuñiga y col. [47], quienes han indicado que los requerimientos de proteínas representan aproximadamente el 14% de los requerimientos energéticos del producto.

El contenido de carbohidratos disponibles estuvo entre 64,66 y 65,36%, encontrándose diferencias significativas (P<0,05) entre los tres tipos de galletas, siendo mayor para la galleta C₃. Esto es un indicio de que el GMP aislado en esta preparación, posiblemente de encuentre en su forma glicosilada.

El aporte energético de estos carbohidratos en una ración de 30g fue de 59,94%, para A₃, 58,26% para la galleta B₃ y de 59,41% para la galleta C₃. Estos valores se corresponden al requerimiento energético total reportado para este macronutriente, el cual se ubica en aproximadamente 55% [22].

La energía metabolizable de las galletas estuvo entre 436,19 y 441,46 Kcal/100g, observándose diferencias significativas (P<0,05) entre el valor obtenido para la galleta B₃ con respecto a los correspondientes para las galletas A₃ y C₃. Estos resultados se corresponden con los reportados por Benítez y col. [8] en galletas formuladas con harina de yuca y plasma bovino (393,14 ± 1,87 Kcal/100g).

Basado en la caracterización físico-química y el aporte calórico de 2000 Kcal, se obtuvo el aporte de energía de 30 g de cada tipo de galleta, siendo de 130,79 Kcal con un VER de 6,53% para la galleta A₃, mientras que para la galleta B₃ correspondió a 133,12 Kcal, con un VER de 6,65% y para la galleta C₃ fue de 131,28 Kcal con un VER de 6,56%.

Granito y col. [25] han señalado que, el aporte energético de una merienda tipo galleta podría estimarse en un 10% del aporte energético diario. Todas las galletas formuladas en este estudio presentaron valores de VER cercanos al 7% por lo que ofrecen una alternativa factible para su consumo como merienda.

Vida útil

El periodo de tiempo durante el cual las galletas se conservan aptas para el consumo, manteniendo estables las características sensoriales y fisicoquímicas se conoce como vida útil.

Existe una estrecha relación entre la vida útil y la evaluación sensorial de muchos alimentos. En galletas, este parámetro está definido por el cambio en sus propiedades sensoriales determinadas por la estabilidad microbiológica de las mismas.

En la TABLA III se muestran los resultados de los análisis microbiológicos realizados a los tres tipos de galletas enriquecidas al 7,5% con SDo, cpSD y aGMP (A₃, B₃ y C₃) desde el día (d) de su elaboración (d 0) y luego a los 14 y 21 d.

TABLA III

PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS DE LAS GALLETAS ENRIQUECIDAS AL 7,5% CON SDo, cpSD Y aGMP

| Día | Galletas | Aerobios Mesófilos (AM)* | Coliformes Totales (CT)** | Coliformes fecales (CF)** | <i>E.coli</i> *** | <i>Salmonella</i> | <i>S. aureus</i> | Mohos* | Levaduras* |
|-----|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------|-------------------|------------------|--------|------------|
| 0 | A ₃ | 2 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | <1*** | <1*** |
| | B ₃ | 2 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | <1*** | <1*** |
| | C ₃ | 2,7 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | <1*** | <1*** |
| 14 | A ₃ | 2,7 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | <1*** | 1 |
| | B ₃ | 2,3 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | 1 | <1*** |
| | C ₃ | 2,6 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | 1 | 1 |
| 21 | A ₃ | 2,9 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | 3 | 3 |
| | B ₃ | 2,6 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | 4 | <1*** |
| | C ₃ | 2,6 | <1*** | <1*** | <1*** | Ausente | <1*** | 1 | <1*** |
| | Norma COVENIN (1483:2001) | 4 | 1,96 | - | - | Ausente | 3 | 3 | 3 |

* Log₁₀ UFC/g. **Log₁₀ NMP/g.(-): indica que la norma no contempla este parámetro.

***: No hubo crecimiento del microorganismo.

Para el día cero (0), el recuento de aerobios mesófilos varió de 2 a 2,70 log UFC/g, (4 Log UFC/g según COVENIN). Estos valores se corresponden a los obtenidos por Benítez y col. [9], donde el recuento de aerobios mesófilos en galletas formuladas a base de harina de yuca y plasma de bovino fue de 2,04 Log UFC/g. El conteo de Coliformes Totales, Coliformes Fecales y *E.coli* fue <1 Log NMP/g para los tres tipos de galletas. *Salmonella* estuvo ausente en los tres tipos de galletas y no se observó crecimiento de *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras en ninguna de las galletas para el día de elaboración, encontrándose todos estos parámetros dentro de lo establecido por la Norma COVENIN 1483 [18].

Para el día 14 el comportamiento de las variables estudiadas fue muy similar al día 0, con excepción del conteo de aerobios mesófilos, donde se observa que en las galletas A₃ y B₃ hubo un leve aumento (2,70-2,30 Log₁₀ UFC/g), mientras que para la galleta C₃ este conteo descendió a 2,60 Log₁₀ UFC/g. Para las galletas B₃ y C₃ comienza a aparecer un leve crecimiento de Moho (1 Log₁₀ UFC/g). El conteo de levaduras presentó un valor de 1 Log₁₀ UFC/g para las galletas A₃ y C₃. A pesar de los leves incrementos en estos parámetros microbiológicos, todos se encuentran por debajo de lo establecido por la Norma COVENIN 1483 [18].

Para el día 21 se observa que el recuento de aerobios mesófilos fue de 2,90 para la galleta A₃ y de 2,60 Log₁₀ UFC/g para las galletas B₃ y C₃. A pesar que los valores fueron ligeramente mayores a los encontrados el día 14, aún se encuentran dentro de lo establecido por la norma. El resto

de los parámetros microbiológicos se mantuvieron dentro del parámetro referencial para este tipo de producto establecido por la Norma COVENIN 1483 [18] a excepción del recuento de mohos en la galleta B₃ el cuál superó dicho valor. Cabe resaltar que, a pesar que la galleta B₃ presentó valores aceptables de humedad fue la que presentó el mayor contenido de grasa, que junto al alto contenido de proteínas que presenta, la convierte en un medio más propicio y susceptible al crecimiento de este tipo de microorganismos. En tal sentido, la galleta B₃ excedió los valores mínimos referenciales de la normativa y en consecuencia, no reúne las condiciones microbiológicas establecidas para este tipo de producto a este tiempo de almacenamiento.

Estos resultados se corresponden con los reportados por Benítez y col. [9] en su investigación sobre la calidad microbiológica de una galleta formulada a base de harina de yuca y plasma de bovino, cuyos valores para el recuento de aerobios mesófilos correspondieron para el día 0 de 2,04 ± 0,12 y 4,29 ± 0,23 para el día 20 y para los otros indicadores microbiológicos como Mohos y levaduras, Coliformes totales y *E.coli* fue de <1 UFC/g para todos los días.

Evaluación sensorial de galleta con 7,5% de enriquecimiento (Tipo 3)

Los resultados obtenidos en la evaluación sensorial realizada a los tres tipos de galletas (A, B y C) enriquecidas, respectivamente, con 7,5% de SDo, cpSD y aGMP, se muestran en la TABLA IV.

TABLA IV

ANÁLISIS SENSORIAL DE LAS GALLETAS ENRIQUECIDAS AL 7,5% CON SDo, cpSD Y aGMP

| Atributo | Galleta tipo A | Puntuación * | |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|
| | | Galleta tipo B | Galleta tipo C |
| Color | 6,18 ± 2,14 ^a | 6,96 ± 1,91 ^a | 6,601 ± 2,37 ^a |
| Olor | 6,34 ± 1,76 ^a | 7,18 ± 1,80 ^a | 6,23 ± 2,28 ^a |
| Textura | 6,98 ± 2,02 ^a | 7,84 ± 1,70 ^a | 6,72 ± 2,66 ^a |
| Sabor | 4,21 ± 2,60 ^a | 6,05 ± 2,72 ^b | 5,46 ± 3,27 ^{a,b} |
| Aceptación global | 5,75 ± 1,87 ^a | 6,33 ± 2,17 ^a | 5,80 ± 2,89 ^a |

Nota: Los resultados están expresados en promedio ± desviación estándar.

*Superíndices diferentes indican diferencias significativas (P<0,05)

Los resultados muestran que la galleta tipo B fue la que resultó con mayor puntaje en todos los atributos estudiados (color, olor, textura, sabor y aceptación global), seguida por la tipo C, y la tipo A; sin embargo, los análisis estadísticos indican que no existen diferencias significativas (P>0,05) entre los valores encontrados para los tres tipos de galletas en cuanto al color, olor y textura.

El parámetro sabor, mostró diferencias significativas (P<0,05) entre la galleta tipo B con respecto a los valores obtenidos en la galleta tipo A, pero no así con los correspondientes a la galleta tipo C. El tratamiento a través del cual se obtiene el cpSD posiblemente potencie el sabor, haciendo a esta galleta más palatable al consumidor.

Resultados similares fueron encontrados por Lopez-Villafuerte y col. [37], al investigar el impacto nutricional y la aceptación organoléptica de galletas enriquecidas con LS, soya y nuez de macadamia en preescolares. Benítez y col. [8] obtuvieron similares hallazgos en una evaluación sensorial realizada en galletas elaboradas con harina de yuca y plasma de bovino, donde los atributos evaluados, el sabor ocupó el primer lugar en puntuación en la escala hedónica empleada.

CONCLUSIONES

Una ración de 30g de cualquiera de las tres galletas enriquecidas con 7,5% de subproductos lácteos, aportan lo siguiente: 130,79 Kcal con un valor energético recomendado (VER) de 6,53%, para la galleta A₃; 133,12 Kcal, con un VER de 6,65% para la galleta B₃ y 131,28 Kcal con un VER de 6,56% para la galleta C₃. Esto sugiere que los tres tipos de galletas formuladas en este estudio, representan una alternativa factible para su consumo como merienda, ya que el aporte energético diario de una merienda se ubica en el 10%, además que reúnen todas las características nutricionales para ser consumidas como una merienda dentro de un menú habitual. Sin embargo, la galleta B₃, enriquecida con 7,5%, de concentrado proteico de suero dulce de quesería puede considerarse la merienda más adecuada, basado en sus características fisicoquímicas, aporte nutricional y aceptabilidad satisfactoria para su consumo. Es importante sugerir que esta galleta puede ser almacenada para su comercialización y consumo en un tiempo máximo de 14 d.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Humanístico y Científico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) por

parte del financiamiento de esta investigación, y la colaboración prestada por el laboratorio de Investigación y Desarrollo en Nutrición (LIDN) de la Escuela de Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALEMÁN-GUEVARA, S E. Evaluación físico-química y sensorial de galletas de trigo y linaza (*linum usitatissimum*) como fuente de fibra dietética y ácido alfa-linolénico. Facultad de Ingeniería, Escuela de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. Tesis de Grado. Pp 48-83. 2005
- [2] ALVARADO, C. Aislamiento y aplicación de péptidos bioactivos del lactosuero en un yogurt funcional. Doctorado en Ciencia de los Alimentos. Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela. Tesis Doctoral. Pp 76-100.2012.
- [3] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C). Official Methods of Analysis. 15th Ed. Washington, DC. 1298 pp. 1990.
- [4] BARBOZA, Y.; ARÉVALO, E.; MÁRQUEZ, E.; PIÑERO, M.; PARRA, K.; ANDERSON, H. Efecto de la incorporación de proteínas plasmáticas, sobre la composición química y calidad proteica de un producto formulado con maíz tierno. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XV (6): 536-542. 2005.
- [5] BARO, L.; J.JIMENES, A.; MARTINEZ, Y.; BOUZA, J. Péptidos y proteínas de la leche con propiedades funcionales. **J.Ars. Pharma**. 42 (3-4):135-145. 2001.
- [6] BAUTISTA, M.; BARBOZA, E. Alimentos Bajos en energía ¿Qué es lo que debemos saber de ellos? Acta Universitaria Universidad de Guanajuato. Guanajuato - México. Septiembre - Diciembre. **Acta Univers**. 15 (3): 25-33. 2005.
- [7] BELITZ, H.W.; GROSCH, W. Leche y productos lácteos. **Química de los Alimentos**. Acribia. Zaragoza, España. 813 pp.1985.
- [8] BENÍTEZ, B.; ARCHILE, A.; RANGEL, L.; FERRER, K.; BARBOZA, Y.; MARQUEZ, E. Composición proximal, evaluación microbiológica y sensorial de una galleta formulada a base de harina de yuca y plasma bovino.

- Intercien.** 33 (1): 61-65. 2008.
- [9] BENÍTEZ, B.; FERRER, K.; ARCHILE, A.; BARBOZA, Y.; RANGEL, L.; MARQUEZ, E.; DEL MONTE, M.L. Calidad microbiológica de una galleta formulada a base de harina de yuca y plasma de bovino. **Rev. Fac. Agron. LUZ.** 28: 260-272. 2011.
- [10] BRODY, E. Biological activities of bovine glycomacropeptide. **British J. Nutr.** 84 (Suppl.1): S39-S46. 2000.
- [11] CHUNG CHUN LAM, S.; MOUGHAN, P.; AWATI, A.; MORTON, H. The influence of whey protein and glycomacropeptide on satiety in adult humans. **Physiol & Behav.** 96: 162-168. 2009.
- [12] COVENIN. Comisión Venezolana de normas industriales. Norma N° 1104-96 alimentos. Determinación del número más probable de Coliformes, Coliformes fecales y de *E. coli*. Caracas, Venezuela: Fondonorma. 1996.
- [13] COVENIN. Comisión Venezolana de normas industriales. Norma N° 902-87 alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de petri. Caracas, Venezuela: Fondonorma. 1987.
- [14] COVENIN. Comisión Venezolana de normas industriales. Norma N° 1292 alimentos. Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* en alimentos. Caracas, Venezuela: Fondonorma. 1989.
- [15] COVENIN. Comisión Venezolana de normas industriales. Norma N° 1291-88 alimentos. Aislamiento e identificación de *Salmonella*. Caracas, Venezuela: Fondonorma. 1988.
- [16] COVENIN. Comisión Venezolana de normas industriales. Norma N° 1337-90 alimentos. Recuento de Mohos y Levaduras. Caracas, Venezuela: Fondonorma. 1990.
- [17] COVENIN. Comisión Venezolana de Normas industriales. Norma N° 1126-89 alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. Caracas, Venezuela. 1989.
- [18] COVENIN. Comisión Venezolana de normas industriales. Norma N°1483:2001 alimentos. Galletas. Caracas, Venezuela: Fondonorma. 2001.
- [19] CORI, M; PACHECO, E; SINDONI, E. Efecto de la suplementación de galletas dulces tipo oblea con harina desgrasada de girasol sobre las propiedades físico-químicas y sensoriales. **Rev. Fac. Agron. UCV.** 30: 109-112. 2004.
- [20] DOMAGK, G.F. Preparation of lactose-free milk by ultrafiltration. **Milchwissenschaft.**36 (10): 603-604. 1981
- [21] FARÍA, J.; GARCÍA, A.; AIZA, G. Eficiencia en la concentración de la proteína de lactosuero con una planta móvil de ultrafiltración y nanofiltración. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XIII (5): 347-351. 2003.
- [22] GÓMEZ-CANDELA, C; DE COS BLANCO, A. Nutrición en atención primaria. **Salud Rural.** N°17. 2001.
- [23] GONZÁLEZ, M. Aplicaciones de la Tecnología de ultrafiltración en la elaboración industrial del queso. **Mundo Pec.**VII (3): 104-115. 2011.
- [24] GRANITO, M.; VALERO, Y.; ZAMBRANO, R.; GUERRA, M. Desarrollo y caracterización de una galleta extendida con carotas blancas. **Agro.Trop.**56 (4):539-546. 2006.
- [25] GRANITO, M.; VALERO, Y.; ZAMBRANO, R. Desarrollo de productos horneados a base de leguminosas fermentadas y cereales destinados a la merienda escolar. **Archiv. Latinoam. de Nutr.** 60 (1): 85-92. 2010.
- [26] GRASELLI, M.; NAVARRO, A.; FERNÁNDEZ-LAHOPE, H.; MIRANDA, M.; CAMPERI-SILVIA, A.; CASCONO, O. Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología. FF y B. UBA. Artículo “¿Qué hacer con el suero del queso? **Rev. Cien. Hoy.** 8 (43):1-3. 1997.
- [27] HA, E.; ZEMEL, M. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. **The J. of Nutri. Biochem.** 14(5):251-258. 2003.
- [28] IBRAHIM, F.; BABIKER, E.; YOUSIF, N.; ELTINAY, A. Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplements with whey protein. **Food Chem.** 92(2):285-292. 2005.
- [29] INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN (INN). Tabla de alimentos e información nutricional. 2014. En Línea: <http://www.medicinainformacion.com/17/02/2014>.
- [30] INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN MEXICANO. Norma Mexicana 1983 .Dirección General de Normas NMX-F-006-1983.
- [31] KORHONEN, H.; PILHLANTO, A. Bioactive peptides: Production and functionality. **Intern. Dairy J.** 16: 945-960. 2006.
- [32] KYUNGWHA, L.; SANDRA, C; VAN, C.; KATHRYN, L.; NELSON, S. Acceptable low-phenylalanine foods and beverages can be made with glycomacropeptide from cheese whey for individuals with PKU. **Molec. Genet. and Metabol.** 92: 176-178. 2007.
- [33] LEÓN, A.; JOVANOVICH, G.; AÑÓN, M. Gelatinization profiles of triticale starch in cookies as influenced by moisture and solutes. **Cereal Chem.** 75 (5): 617-623. 1998.
- [34] LIM, K.; VAN, S.; NELSON, K.; GLEASON, S.; NEY, D. Acceptable low-phenylalanine foods and beverages can be made with glycomacropeptide from cheese whey for individuals with PKU. **Molec. Genet. and Metabol.** 92:176-178. 2007.
- [35] LINARI, J. Oportunidades de acceso vía negociaciones internacionales. Caso específico para productos lácteos. Informe final. Programa de Inserción Agrícola. BID-FOMIN. Pp 74-77. 2014.

- [36] LIVESEY, G. Metabolizable energy of macronutrients. **Am.J.Clin.Nutr.**62:1135-1142. 1995.
- [37] LOPEZ-VILLAFUERTE, K.; CABRERA-MARTINEZ, D.; AGUILAR-NAJERA, O.; SOL-GONZALEZ, W.; LOPEZ-ZUÑIGA, E.; VELA-GUTIERREZ, G. Evaluación del impacto nutricional y la aceptación organoléptica de galletas enriquecidas con lactosuero, soya y nuez de macadamia en preescolares de una comunidad de Chiapas, México. **Ciencia UAT.** 26(2):33-41. 2013.
- [38] LORENZ, K. Protein fortification of cookies. **Cereal Foods World.** 28(8): 449-452. 1983.
- [39] MIGUEL, M.; MANSO, M.; LOPEZ, R.; ALONSO, M.; SALAICES, M. Vascular effects and antihypertensive properties of *k*-casein macropeptide. **Intern. Dairy J.** 17: 1473-1477. 2007.
- [40] MUÑÍ, A.; PAÉZ, G.; FARÍA, J.; FERRER, J.; RAMONES, E. Eficiencia de un sistema de nanofiltración/ultrafiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XV (4): 361-367. 2005.
- [41] OLIVA, Y.; ESCOBAR, A.; PONCE, P. Caseinomacropéptido bovino una alternativa para la salud). **Rev. Salud Anim.** 24 (2): 73-81. 2002.
- [42] PACHECO-DELAHAYE, E.; TESTA, G. Evaluación nutricional, física y sensorial de panes de trigo y plátano verde. **Intercien.** 30(5): 300-304. 2005.
- [43] PEDRERO, F.; PANGBORN, R.M. Evaluación sensorial de los alimentos. **Métodos analíticos.** Segunda reimpresión, Editores, S.A. de C.V y Alambra Mexican, México, D.F. Longman de México. Pp 17. 1997.
- [44] PHELAN, M.; AHERNE, A.; FITZGERALD, R.; O'BRIEN, N. Casein-derived bioactive peptides: Biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. **Intern. Dairy J.** 19: 643-654. 2009.
- [45] PLUMMER, D. Reacciones de identificación de aminoácidos y proteínas. **Bioquímica Práctica.** 2da Edición. McGraw-Hill. Colombia. Pp 128-137. 1981.
- [46] PRAZERES, A.R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: A review. **J. Environm. Manag.** 110: 48-68. 2012.
- [47] SERRALDA-ZUÑIGA, A.; MELENDEZ-MIER, G.; PASGUETTI-CEOCATELLI, A. Requerimientos y recomendaciones proteicas referencias internacionales y mexicanas. **Rev. Endocrinol. y Nutr.** 11 (2): 73-79. 2003.
- [48] SCHMIDT, R.; PACKARD, V.; MORRIS, H. Effect of processing on whey protein functionality. **J. Dairy Sci.** 67:2723-33. 1984.
- [49] TAYLOR, C.M.; WOONTON, B.W. Quantity and carbohydrate content of glycomacropeptide fractions isolated from raw and heat treated milk. **Intern. Dairy J.** 19: 709-714. 2009.
- [50] THOMA-WORRINGER, C.; SORENSEN, J.; LOPEZ-FANDIÑO, R. Health effects and technological features of caseinomacropeptide. **Intern. Dairy J.** 16:1324-1333. 2006.
- [51] VAN HOOYDONK, A.C.M.; OLIEMAN, C.; HAGEDOORN, H.G. Kinetics of the Chymosin-catalyzed proteolysis of *k*-casein in milk. **Neth. Milk Dairy J.** 37: 207-222. 1984.
- [52] VEISSEYRE, R. Principios fundamentales de la tecnología quesera. **Lactología Técnica.** 2da. Ed. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 629pp. 1988.
- [53] WALSTRA, P.; JENNES, R. Composición y estructura de la leche. **Química y Física Lactológica.** 1ª Ed. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 423pp. 1987.
- [54] WARREN, A.; HNAT, D; MICHNOWSKI, J. Protein fortification of cookies, crackers and snaksbars: uses and needs. **Cereal Food World.** 28:441. 1983.