

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**OBTENCIÓN DE CLARA DE HUEVO EN POLVO POR MEDIO DE LA TÉCNICA  
DE SECADO UTILIZANDO UN EQUIPO QUE OPERA POR ASPERSIÓN**

PROYECTO DE GRADUACIÓN SOMETIDO A LA CONSIDERACIÓN DE LA ESCUELA DE  
INGENIERÍA QUÍMICA COMO REQUISITO FINAL PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA

**MARCO VINICIO MARTÍNEZ MORALES**

CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO  
SAN JOSÉ, COSTA RICA  
2016

**“Si A es el éxito en la vida, entonces  $A = X + Y + Z$ . Donde X es trabajo, Y es placer y Z es mantener la boca cerrada.”**

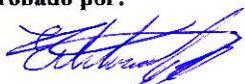
Albert Einstein

Proyecto de Graduación sometido a la consideración de la Escuela de Ingeniería Química como requisito final para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería Química

**Sustentante:**

*Marco Vinicio Martínez Morales*

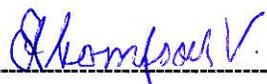
**Aprobado por:**

  
-----  
Ing. Esteban Gamboa Gamboa  
Profesor  
Escuela de Ingeniería Química

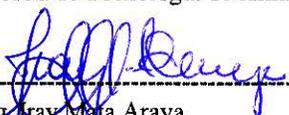
Presidente del Tribunal

  
-----  
Ing. Manuel Molina Córdoba  
Profesor  
Escuela de Ingeniería Química

Director del Proyecto

  
-----  
Ing. Eduardo Thompson Vicente  
Profesor  
Escuela de Tecnología de Alimentos

Lector del Proyecto

  
-----  
Ing. Nay Maía Araya  
Coordinadora Unidad de Bioprocesos  
Centro Nacional de Innovaciones  
Biotecnológicas

Lectora del Proyecto

  
-----  
Ing. Laura Saborio Marín  
Profesora  
Escuela de Ingeniería Química

Miembro Invitado

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio  
2016

A DIOS, POR DARMER LAS FUERZAS  
PARA SIEMPRE SEGUIR ADELANTE

A MIS PADRES POR BRINDARME SIEMPRE LOS  
MEDIOS Y EL APOYO PARA LLEGAR HASTA ACÁ

A SILVIA POR SU APOYO Y AYUDA INCONDICIONALES

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente agradecer a los miembros del comité asesor por brindarme en todo momento su confianza, ayuda y paciencia.

Al personal del CENIBiot por el apoyo y colaboración que me brindaron a lo largo de mi trabajo experimental.

A Geannina, Mariana, Natasha y Verónica por la colaboración que me brindaron con el análisis estadístico del proyecto así como las posteriores dudas que me aclararon a lo largo del proceso de redacción de este trabajo.

A la directora del CITA Carmela Velásquez por ayudarme a realizar las pruebas de corroboración en el laboratorio.

A la Dra. María Laura Arias Echandi por su colaboración para poder realizar análisis de comprobación en la Escuela de Microbiología.

A Giovanni González y demás trabajadores del laboratorio de Tecnología de Alimentos por su colaboración y guía en el uso de los equipos.

Y a todas las personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de este proyecto.

## RESUMEN

El objetivo de este proyecto fue determinar las mejores condiciones de operación para la obtención de clara de huevo en polvo por medio de la técnica de secado utilizando un equipo que opera por aspersión.

A partir de una revisión bibliográfica de condiciones de secado de la clara de huevo que han sido empleadas por otros investigadores, se iniciaron las pruebas preliminares con el fin de lograr alcanzar en el producto las condiciones de calidad que se indican en la literatura y obtener una humedad de aproximadamente 7 % a 8 %.

Para el estudio se empleó un diseño central compuesto, el cual genera una superficie de respuesta para el análisis de los resultados. Tras obtener los resultados del modelo, se tiene que una de las posibles combinaciones de las condiciones de operación para poder obtener un producto que se adecúe a las normas de calidad dadas internacionalmente es que la temperatura del aire de entrada esté a 164 °C, un flujo de aproximadamente 7,94 mL/min (24 % en la bomba peristáltica que alimenta el producto), y 45 mm de altura del rotámetro del flujo de aire de ingreso. Para una materia prima que cuenta con un 75 % de dilución másica y teniendo en cuenta las condiciones de operación anteriormente mencionadas se obtiene un producto cuya humedad estará entre 5,43 % y 8,62 %, una actividad del agua entre 0,120 y 0,228 y cuyo promedio de recuperación de masa se va a encontrar entre 4,227 g a 6,301 g. Estos resultados obtenidos a un 95 % de confianza. Bajo dichas condiciones de operación se tiene un flujo de aire de 831 L/h a condiciones estándar, y el flujo de producto es de aproximadamente 8,08 mL/min. Con lo cual se puede obtener una producción másica de 20,76 g/h a 30,59 g/h. En los resultados del plan experimental no se logró obtener un modelo apropiado para la recuperación de la proteína por el secado por aspersión.

En la etapa de las corridas de comprobación se utilizaron las condiciones de operación dadas por el programa estadístico empleado para el análisis. Se realizaron tres corridas de comprobación, en las cuales los resultados obtenidos en el laboratorio se adecúan al intervalo predicho por el programa estadístico. Operando el equipo a una temperatura de 176 °C, 7,94 mL/min en el flujo de la bomba peristáltica y 50 mm en el rotámetro del flujo de aire se obtuvieron valores de humedad de 6,23 %, 6,15 % y 6,15 %, a su vez en el valor de la actividad del agua se obtuvieron valores de 0,1446; 0,1352 y 0,1370; y por último la recuperación de masa en los tres ensayos de comprobación es de 6,84 g, 6,30 g y 6,51 g. Con el programa estadístico bajo las condiciones de operación mencionadas anteriormente se predice que la humedad va a estar en un rango entre 4,671 % y 8,295 %, el valor de actividad del agua entre 0,0899 y 0,2109, así como la recuperación de masa entre 5,410 g y 7,771 g. Los resultados se ajustan a los predichos.

Se realizó a una muestra el análisis por *Salmonella* sp., el cual resultó negativo y de igual manera se realizó una prueba para determinar la cantidad de proteína en la muestra analizada, en la cual se obtuvo un contenido de proteína de 79,04 g de proteína por cada 100 g de producto seco. Lo cual es bastante cercano a la especificación brindada por los fabricantes a nivel internacional del producto.

Se tuvo la dificultad de re dispersar el producto, lo cual puede ser evitado agregando al mismo un emulsificante como lo puede ser el ácido cólico o ácido desoxicólico. Para futuras investigaciones se recomienda para poder analizar el modelo de recuperación de proteína, emplear otras variables predictoras que logren explicar la variabilidad de respuesta.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
AGRADECIMIENTOS .....	v
RESUMEN .....	vi
Índice general.....	vii
Índice de cuadros .....	xii
Índice de figuras.....	xix
Capítulo 1 Introducción .....	1
1.1. Alcances del proyecto .....	2
Capítulo 2 Aspectos generales .....	3
2.1. Secado .....	3
2.2. Generalidades del secado por aspersión.....	5
2.3. Componentes principales del equipo de secado por aspersión .....	7
2.3.1 Equipo de Atomización .....	9
2.3.2 Equipo para el contacto del “spray” con el aire .....	10
2.3.3 Equipo para calentamiento del aire .....	12
2.3.4 Sistema de recolección del producto seco .....	13
2.3.5 Sistemas de control.....	13
2.3.6 Ventiladores.....	14
2.4. Efectos del secado por aspersión en los alimentos.....	14
2.4.1 Eliminación del contenido de humedad hasta un nivel seguro.....	16
2.4.2 Efecto de la aplicación de calor en los microorganismos.....	18
2.4.3 Efecto del procesamiento en las propiedades nutricionales .....	19
2.4.4 Cambios en el color .....	20
2.4.5 Cambios en la textura .....	20
2.4.6 Transformaciones físicas durante el proceso de secado .....	21
2.4.7 Reacciones bioquímicas inducidas por el secado .....	21
2.5. Huevo y sus características .....	21
2.5.1 Yema.....	22
2.5.2 Clara .....	22
2.5.3 Cáscara .....	22
2.5.4 Cambios durante el envejecimiento.....	23
2.5.5 Buenas prácticas de manufactura .....	23
2.6. Secado del huevo.....	24
2.6.1 Reacciones químicas durante el secado del huevo .....	24
2.6.2 Condiciones de operación del secado por aspersión .....	25

2.7. Calidad y composición del huevo líquido: influencia en las propiedades del huevo en polvo .....	26
2.8. Pasos de pretratamiento antes del secado del huevo.....	27
2.8.1 Eliminación de azúcares .....	27
2.8.2 Pasteurización.....	27
2.8.3 Conservantes .....	28
2.8.4 Buenas prácticas de manufactura durante el tratamiento del producto .....	28
2.9. Impacto del secado en los parámetros de calidad del huevo y características finales de calidad.....	28
2.9.1 Aspersión.....	29
2.9.2 Secado.....	29
2.9.3 Propiedades del polvo.....	29
2.10. Métodos para determinar la cantidad de proteína .....	30
2.10.1 Método de Kjeldahl .....	30
2.10.2 Método de Dumas.....	31
2.10.3 Ensayo de Biuret.....	31
2.10.4 Ensayo de Lowry.....	32
2.10.5 Ácido bicinónico (BCA).....	32
2.10.6 Colorante Coomassie Blue (Bradford) .....	32
2.10.7 Absorbancia ultravioleta de las proteínas.....	33
2.10.8 Inmunoabsorción de enzimas ligadas .....	34
2.10.9 Espectroscopía infrarrojo.....	34
2.10.10 Métodos de electroforesis.....	35
2.11. Propiedades de calidad en la clara de huevo en polvo .....	35
2.12. Emulsiones .....	36
<b>CAPÍTULO 3 Materiales, equipo y metodología experimental .....</b>	<b>38</b>
3.1. Materiales.....	38
3.1.1 Materia prima.....	38
3.1.2 Reactivos.....	39
3.1.3 Equipo experimental.....	39
3.2. Primera Etapa.....	41
3.3. Variables de respuesta y su determinación.....	44
3.3.1 Determinación de humedad.....	44
3.3.2 Determinación del $a_w$ .....	44
3.3.3 Determinación del contenido de proteína.....	44
3.3.4 Determinación del pH.....	45
3.4. Variables de diseño, niveles y variables de respuesta seleccionadas tras los ensayos preliminares.....	45
3.5. Segunda etapa: diseño estadístico experimental.....	45
3.6. Segunda etapa: ejecución del plan experimental.....	48
3.7. Tercera etapa: Corridas de comprobación.....	49
3.7.1 Corridas de comprobación del modelo.....	50

3.7.2 Obtención de muestra para la prueba de <i>Salmonella</i> sp. y la determinación del color de la muestra.....	51
Capítulo 4 Análisis de resultados experimentales .....	53
4.1. Primera etapa: Ensayos preliminares .....	53
4.1.1 Primera etapa preliminar .....	56
4.1.2 Segunda etapa preliminar .....	58
4.1.3 Tercera etapa preliminar.....	60
4.1.4 Cuarta etapa preliminar .....	61
4.1.5 Quinta etapa preliminar .....	62
4.1.6 Sexta etapa preliminar .....	63
4.1.7 Séptima etapa preliminar.....	65
4.1.8 Octava etapa preliminar.....	66
4.1.9 Novena etapa preliminar.....	67
4.1.10 Décima etapa preliminar.....	71
4.2. Segunda etapa: Selección y ejecución del plan experimental.....	72
4.2.1 Resultados del plan experimental.....	74
4.3. Tercera etapa: Corridas de comprobación.....	89
Capítulo 5 Conclusiones y recomendaciones .....	96
5.1. Conclusiones .....	96
5.2. Recomendaciones.....	97
Nomenclatura.....	98
Bibliografía .....	100
Apéndices.....	105
Apéndice A Datos experimentales.....	106
Apéndice B Resultados intermedios.....	127
Apéndice C Muestra de cálculo .....	143
C.1 Cálculo de la ecuación de mejor ajuste para las curvas de calibración del método para determinar los contenidos de proteína.....	143
C.2 Cálculo de la masa para la preparación de la disolución.....	143
C.3 Cálculo del flujo de producto al equipo .....	144
C.4 Cálculo de la masa del re dispersado para los primeros ensayos preliminares ..	144
C.5 Cálculo de la masa del re dispersado para el resto de ensayos preliminares, corridas del plan experimental y corridas de comprobación.....	145
C.6 Cálculo de la concentración de proteína de la clara pura diluida y concentración de proteína del producto re dispersado, diluido .....	145

C.7 Cálculo de la concentración de proteína total en la disolución de clara pura de los primeros ensayos preliminares.....	145
C.8 Cálculo de la concentración de proteína total en el producto re dispersado de los primeros ensayos preliminares, así como de la clara pura y re dispersado de los segundos ensayos preliminares .....	146
C.9 Cálculo de valores promedio .....	146
C.10 Cálculo de la concentración de proteína total en la clara pura y en el producto re dispersado de los quintos y sextos ensayos preliminares.....	147
C.11 Cálculo de la concentración de proteína total en la clara pura de tres huevos diferentes, así como la clara pura de los octavos y novenos ensayos preliminares ..	147
C.12 Cálculo de la concentración de proteína total en el producto re dispersado de los octavos y novenos ensayos preliminares .....	147
C.13 Cálculo de la concentración de proteína total en la clara pura de las corridas del plan experimental y las corridas de comprobación .....	148
C.14 Cálculo de la concentración de proteína total en el producto re dispersado de las corridas del plan experimental y las corridas de comprobación .....	148
C.15 Cálculo de la razón de recuperación de la proteína.....	149
C.16 Cálculo de la densidad de los productos re dispersados en las corridas de comprobación.....	149
C.17 Cálculo de los parámetros para la prueba de comparación de dos medias poblacionales.....	150
Apéndice D Procedimiento experimental .....	151
D.1 Procedimiento experimental.....	151
D.2 Determinación de la humedad.....	152
D.3 Determinación del $a_w$ .....	152
D.4 Determinación del contenido de proteína.....	152
D.5 Determinación del pH .....	153
D.6 Determinación del color de la muestra.....	153
Anexos .....	154
Anexo 1. Mezcla para la preparación del alimento de las gallinas en producción ...	155
Anexo 2. Resultado del análisis del contenido de proteína de la clara de huevo en polvo.....	156
Anexo 3. Resultado prueba de <i>Salmonella</i> sp. ....	157
Anexo 4. Procedimiento para la determinación de la humedad de las muestras .....	158
Anexo 5. Procedimiento para la determinación de la actividad del agua de las muestras.....	159

Anexo 6. Procedimiento para la determinación del contenido de proteína de las muestras.....	160
---	-----

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
<b>Cuadro 2.1.</b> Composición química de los huevos .....	22
<b>Cuadro 2.2.</b> Parámetros de calidad de la clara de huevo en polvo .....	35
<b>Cuadro 2.3.</b> Parámetros de calidad de la clara de huevo en polvo según especificaciones de F.O.F. ....	36
<b>Cuadro 2.4.</b> Información nutricional de la clara de huevo en polvo. ....	36
<b>Cuadro 3.1.</b> Reactivos utilizados para el desarrollo de las etapas experimentales del proyecto. ....	39
<b>Cuadro 3.2.</b> Equipo empleado para la realización del proyecto. ....	40
<b>Cuadro 3.3.</b> Definición de los niveles preliminares de las variables, según las referencias bibliográficas. ....	41
<b>Cuadro 3.4.</b> Variables predictoras a ser estudiadas y rango de estudio de las mismas. ....	45
<b>Cuadro 3.5.</b> Condiciones de operación para el plan definitivo, según las variables codificadas. ....	47
<b>Cuadro 3.6.</b> Ensayos a realizar con un diseño central compuesto de tres factores. ....	47
<b>Cuadro 3.7.</b> Condiciones de optimización de las variables de respuesta. ....	49
<b>Cuadro 3.8.</b> Condiciones de operación de las variables de diseño, predichas por el programa. ....	50
<b>Cuadro 4.1.</b> Datos de operación del rotámetro del flujo de aire .....	55
<b>Cuadro 4.2.</b> Condiciones de operación y resultados de los primeros ensayos preliminares. ....	56
<b>Cuadro 4.3.</b> Condiciones de operación y resultados de los segundos ensayos preliminares. ....	59
<b>Cuadro 4.4.</b> Condiciones de operación y resultados de los terceros ensayos preliminares. ....	60
<b>Cuadro 4.5.</b> Condiciones de operación y resultados de los cuartos ensayos preliminares. ....	61
<b>Cuadro 4.6.</b> Condiciones de operación y resultados de los quintos ensayos preliminares. ....	63
<b>Cuadro 4.7.</b> Condiciones de operación y resultados de la sexta etapa preliminar. ....	64

<b>Cuadro 4.8.</b> Resultados de las pruebas de Bradford de la séptima etapa preliminar.....	66
<b>Cuadro 4.9.</b> Condiciones de operación y resultados de la octava etapa preliminar. ....	67
<b>Cuadro 4.10.</b> Condiciones de operación y resultados de la novena etapa preliminar. ..	68
<b>Cuadro 4.11.</b> Resultados de la prueba de “Levene” en el programa R. ....	69
<b>Cuadro 4.12.</b> Principales resultados de la prueba de comparación de medias poblacionales de la octava y novena etapa preliminar.....	69
<b>Cuadro 4.13.</b> Valores de $a_w$ para las diferentes réplicas.....	72
<b>Cuadro 4.14.</b> Corridas experimentales a realizar.....	73
<b>Cuadro 4.15.</b> Resultados para la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov según la variable de respuesta de cada modelo.....	80
<b>Cuadro 4.16.</b> Resultados para la prueba de la homoscedasticidad de Breusch Pagan. .	81
<b>Cuadro 4.17.</b> Valores de $R^2$ y valor p de la prueba de falta de ajuste para las variables de respuesta.....	82
<b>Cuadro 4.18.</b> Propósito inicial, propósito final, punto estacionario y resultado del mismo según la variable respuesta de cada modelo .....	85
<b>Cuadro 4.19.</b> Intervalos de confianza para humedad y $a_w$ .....	87
<b>Cuadro 4.20.</b> Intervalos para la humedad y $a_w$ obtenidos por medio de Minitab® .....	89
<b>Cuadro 4.21.</b> Resultados de las corridas de comprobación.....	89
<b>Cuadro 4.22.</b> Proteínas presentes en la clara del huevo .....	91
<b>Cuadro 4.23.</b> Resultados de la determinación de color .....	92
<b>Cuadro A.1.</b> Datos para la elaboración de las disoluciones de los primeros ensayos preliminares. ....	106
<b>Cuadro A.2.</b> Condiciones de operación de los primeros ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL. ....	106
<b>Cuadro A.3.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de los primeros ensayos preliminares. ....	107
<b>Cuadro A.4.</b> Datos para la elaboración de las disoluciones de los segundos ensayos preliminares. ....	108
<b>Cuadro A.5.</b> Condiciones de operación de los segundos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL. ....	108

<b>Cuadro A.6.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de los segundos ensayos preliminares. ....	108
<b>Cuadro A.7.</b> Datos para la elaboración de las disoluciones de los terceros ensayos preliminares. ....	109
<b>Cuadro A.8.</b> Condiciones de operación de los terceros ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL. ....	110
<b>Cuadro A.9.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de los terceros ensayos preliminares. ....	110
<b>Cuadro A.10.</b> Datos para la elaboración de las disoluciones de los cuartos ensayos preliminares. ....	111
<b>Cuadro A.11.</b> Condiciones de operación de los cuartos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL. ....	112
<b>Cuadro A.12.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de los cuartos ensayos preliminares. ....	112
<b>Cuadro A.13.</b> Datos para la elaboración de las disoluciones de los quintos ensayos preliminares. ....	113
<b>Cuadro A.14.</b> Condiciones de operación de los quintos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL. ....	113
<b>Cuadro A.15.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de los quintos ensayos preliminares. ....	113
<b>Cuadro A.16.</b> Datos para la elaboración de las disoluciones de los sextos ensayos preliminares. ....	114
<b>Cuadro A.17.</b> Condiciones de operación de los sextos ensayos preliminares, en todas se utilizó una muestra de 100 mL. ....	114
<b>Cuadro A.18.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de los sextos ensayos preliminares. ....	115
<b>Cuadro A.19.</b> Determinación del contenido de proteína en tres diferentes huevos. ...	115
<b>Cuadro A.20.</b> Datos para la elaboración de la disolución de los octavos ensayos preliminares. ....	116
<b>Cuadro A.21.</b> Condiciones de operación de las tres réplicas de los octavos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL. ....	116
<b>Cuadro A.22.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de los octavos ensayos preliminares. ....	116

<b>Cuadro A.23.</b> Datos para la elaboración de la disolución de los novenos ensayos preliminares. ....	117
<b>Cuadro A.24.</b> Condiciones de operación de las tres réplicas de los novenos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL.....	117
<b>Cuadro A.25.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de los novenos ensayos preliminares. ....	117
<b>Cuadro A.26.</b> Determinación de la actividad del agua para una muestra del producto seco. ....	118
<b>Cuadro A.27.</b> Condiciones de operación de las corridas del plan experimental. ....	119
<b>Cuadro A.28.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 13 y 15. ....	119
<b>Cuadro A.29.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 13 y 15. ....	119
<b>Cuadro A.30.</b> Datos para la elaboración de la disolución de la corrida 16. ....	120
<b>Cuadro A.31.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 6 y 2. ....	120
<b>Cuadro A.32.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 12, 14 y 18. ....	120
<b>Cuadro A.33.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 19, 7 y 1. ....	120
<b>Cuadro A.34.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 11, 10 y 20. ....	120
<b>Cuadro A.35.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 8 y 4. ....	121
<b>Cuadro A.36.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 5, 3, 17 y 9. ....	121
<b>Cuadro A.37.</b> Datos de temperatura de salida del producto, vacío, tiempo de operación y flujo de producto. ....	121
<b>Cuadro A.38.</b> Datos de humedad y $a_w$ para las corridas del plan experimental. ....	122
<b>Cuadro A.39.</b> Datos de recuperación de masa, masa empleada para la re dispersión y pH.....	122
<b>Cuadro A.40.</b> Datos de masa empleada para la re dispersión, absorbancia de la clara pura y del producto re dispersado. ....	123
<b>Cuadro A.41.</b> Datos para la elaboración de la disolución de las corridas de comprobación.....	123
<b>Cuadro A.42.</b> Condiciones de operación de las tres réplicas de las corridas de comprobación, en todas se utilizó una muestra de 100 mL. ....	124
<b>Cuadro A.43.</b> Resultados del secador y las pruebas de calidad de las corridas de comprobación.....	124

<b>Cuadro A.44.</b> Datos para el cálculo de la densidad de los productos re dispersados en las corridas de comprobación. ....	125
<b>Cuadro A.45.</b> Datos para la elaboración de la disolución para la prueba de <i>Salmonella</i> sp.....	125
<b>Cuadro A.46.</b> Datos de la prueba de color del producto seco. ....	126
<b>Cuadro B.1.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los primeros ensayos preliminares. ....	127
<b>Cuadro B.2.</b> Valores de los parámetros de le ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los primeros ensayos preliminares. ....	127
<b>Cuadro B.3.</b> Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los primeros ensayos preliminares.....	128
<b>Cuadro B.4.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los segundos ensayos preliminares. ....	128
<b>Cuadro B.5.</b> Valores de los parámetros de le ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los segundos ensayos preliminares. ....	129
<b>Cuadro B.6.</b> Valores promedio de absorbancia de las muestras de clara pura y producto re dispersado de los segundos ensayos preliminares. ....	129
<b>Cuadro B.7.</b> Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los segundos ensayos preliminares. ....	129
<b>Cuadro B.8.</b> Masa del producto re dispersado para los terceros ensayos preliminares. ....	129
<b>Cuadro B.9.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los quintos y sextos ensayos preliminares. ....	129
<b>Cuadro B.10.</b> Valores de los parámetros de le ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los quintos y sextos ensayos preliminares...	130
<b>Cuadro B.11.</b> Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los quintos ensayos preliminares. ....	131
<b>Cuadro B.12.</b> Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los sextos ensayos preliminares.....	131
<b>Cuadro B.13.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para la determinación del contenido de proteína en tres claras diferentes. ....	131

<b>Cuadro B.14.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para tres claras diferentes.....	132
<b>Cuadro B.15.</b> Concentración de proteína en las tres claras de huevo diluidas para ajustarlas a la curva de calibración.....	132
<b>Cuadro B.16.</b> Concentración de proteína en las tres claras de huevo.....	132
<b>Cuadro B.17.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los octavos ensayos preliminares.....	133
<b>Cuadro B.18.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los octavos ensayos preliminares.....	133
<b>Cuadro B.19.</b> Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los octavos ensayos preliminares.....	134
<b>Cuadro B.20.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los novenos ensayos preliminares.....	134
<b>Cuadro B.21.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los novenos ensayos preliminares.....	135
<b>Cuadro B.22.</b> Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los novenos ensayos preliminares.....	135
<b>Cuadro B.23.</b> Valores promedio de humedad, $a_w$ y absorbancias.....	135
<b>Cuadro B.24.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas 13, 15 y 16. ..	136
<b>Cuadro B.25.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas 13, 15 y 16.....	136
<b>Cuadro B.26.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas 6, 2, 12, 14 y 18.....	137
<b>Cuadro B.27.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas 6, 2, 12, 14 y 18.....	137
<b>Cuadro B.28.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas 19, 7, 1, 11, 10 y 20.....	138
<b>Cuadro B.29.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas 19, 7, 1, 11, 10 y 20.....	138

<b>Cuadro B.30.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas 8, 4, 5, 3, 17 y 9. ....	139
<b>Cuadro B.31.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas 8, 4, 5, 3, 17 y 9. ....	139
<b>Cuadro B.32.</b> Masa de la disolución de producto re dispersado, concentración de proteína en la clara pura y en el producto re dispersado y razón de recuperación. ....	140
<b>Cuadro B.33.</b> Valores promedio de los resultados obtenidos en las corridas de comprobación.....	140
<b>Cuadro B.34.</b> Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas de comprobación. ....	140
<b>Cuadro B.35.</b> Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas de comprobación.....	141
<b>Cuadro B.36.</b> Masa de la disolución de producto re dispersado, concentración de proteína en la clara pura y en el producto re dispersado y razón de recuperación para las corridas de comprobación.....	141
<b>Cuadro B.37.</b> Densidad de los productos re dispersados en las corridas de comprobación.....	142
<b>Cuadro B.38.</b> Datos de medias y varianzas de las variables de respuesta de la octava etapa preliminar. ....	142
<b>Cuadro B.39.</b> Principales resultados de la prueba t de comparación de dos medias poblacionales (octava y novena etapas preliminares).....	142

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 2.1.</b> Diagrama de flujo típico de un equipo de secado por aspersión.....	8
<b>Figura 2.2.</b> Equipo de secado por aspersión .....	8
<b>Figura 2.3.</b> Operación de un atomizador centrífugo .....	9
<b>Figura 2.4.</b> Representación de la cámara de secado .....	11
<b>Figura 2.5.</b> Diagrama de formas de operación de la cámara de secado: F, alimentación; G, aire de secado; P, producto; S, “spray” .....	12
<b>Figura 2.6.</b> Mapa de estabilidad de los alimentos.....	17
<b>Figura 2.7.</b> Curva de tasa de muerte .....	18
<b>Figura 3.1.</b> Equipos utilizados para el secado, medición de humedad y determinación del $a_w$ , a) Secador por aspersión, b) Medidor de $a_w$ , c) Balanza de humedad. ....	40
<b>Figura 3.2.</b> Geometría de un diseño central compuesto de tres factores .....	46
<b>Figura 4.1.</b> Curva de calibración de la bomba peristáltica .....	55
<b>Figura 4.2.</b> Valores de los coeficientes del modelo de humedad a partir del programa JMP <sup>®</sup> .....	76
<b>Figura 4.3.</b> Valores de los coeficientes del modelo de actividad del agua a partir del programa JMP <sup>®</sup> .....	77
<b>Figura 4.4.</b> Valores de los coeficientes del modelo de recuperación de masa a partir del programa JMP <sup>®</sup> .....	78
<b>Figura 4.5.</b> Valores de los coeficientes del modelo de la fracción de recuperación de proteína a partir del programa JMP <sup>®</sup> .....	79
<b>Figura 4.6.</b> Número de observación contra variables respuesta según cada una de dichas variables respuesta. ....	82
<b>Figura 4.7.</b> Relación entre la actividad del agua y el contenido de humedad.....	86
<b>Figura 4.8.</b> Gráficos de superficie de respuesta con el flujo de aire igual a 40 mm. ....	86
<b>Figura 4.9.</b> Ejes de color para la medición del equipo Colorflex .....	93
<b>Figura 4.10.</b> Muestra del color del producto seco obtenido en las corridas de comprobación.....	94

<b>Figura B.1.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los primeros ensayos preliminares. ....	127
<b>Figura B.2.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los segundos ensayos preliminares (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.4).....	128
<b>Figura B.3.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los quintos y sextos ensayos preliminares.....	130
<b>Figura B.4.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford en tres claras diferentes. ....	132
<b>Figura B.5.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los octavos ensayos preliminares. ....	133
<b>Figura B.6.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los novenos ensayos preliminares. ....	134
<b>Figura B.7.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas 13, 15,y 16 (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.24).....	136
<b>Figura B.8.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas 6, 2, 12, 14 y 18 (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.26). ....	137
<b>Figura B.9.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas 19, 7, 1, 11, 10 y 20 (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.28).....	138
<b>Figura B.10.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas 8, 4, 5, 3, 17 y 9 (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.30). ....	139
<b>Figura B.11.</b> Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas de comprobación (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.34). ....	141

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUCCIÓN**

Muchos productos alimenticios tienen altos valores nutricionales y propiedades de gran interés para el ser humano; sin embargo, algunos son sensibles a las condiciones ambientales como lo son la humedad, el oxígeno y la temperatura. Dichas condiciones ambientales pueden causar que los productos alimenticios pasen por un proceso rápido de descomposición, o bien que sufran pérdidas en sus componentes nutricionales (Bhandari, Bansal, Zhang, & Schuck, 2013). También, en muchos otros casos el manejo o almacenamiento de los productos es complejo debido a las propiedades que presentan los mismos. Tal es el caso del huevo, donde tanto el transporte como su almacenamiento son difíciles debido a la fragilidad del producto. Estos procesos de almacenamiento y transporte se pueden realizar de manera más segura y con una menor inversión si el producto puede transportarse deshidratado, en estado sólido, así puede ser transportado simplemente en un recipiente sin tener que velar por que el mismo llegue a sufrir algún deterioro, y bajo esta condición de sólido es mucho menor el volumen necesario para transportar una cierta cantidad de producto.

Es importante destacar que al procesar un producto líquido, mediante una operación de secado, para obtenerlo como un sólido en forma de pequeñas partículas (polvo), debe conservar las propiedades que presentaba originalmente en su forma líquida, o bien, que las mismas se vean alteradas en la menor medida por la aplicación de calor en el proceso de secado. La operación de secado como tal presenta la ventaja de que permite el uso del producto en polvo como ingrediente en formulaciones de alimentos como un valor nutricional agregado. Como ejemplo, puede mencionarse el caso del aceite de omega 3, el cual es secado y micro encapsulado para posteriormente agregarlo a otros productos alimenticios como un valor nutricional agregado, y al tenerlo micro encapsulado se evitan problemas de malos olores o sabores en el producto final. También, las partículas de sólido recuperadas del proceso de secado posteriormente pueden ser rehidratadas y darles el mismo uso que se le da al producto fresco (Chen & Mujumdar, 2008).

En la actualidad el huevo en polvo se utiliza en una gran cantidad de empresas como lo son las panaderías y otros negocios de venta de productos alimenticios, los cuales por facilidad tanto de almacenamiento como de manipulación a la hora de hacer uso del producto, prefieren utilizar huevo en presentación de sólido que emplear huevo fresco. Sin embargo, en el país no existe ninguna empresa que se dedique al procesamiento del huevo para tenerlo en forma de polvo. Solo se cuenta con empresas que venden las partes del huevo por separado, pero en su forma líquida.

### **1.1. ALCANCES DEL PROYECTO**

El objetivo del presente proyecto es obtener clara de huevo en polvo por medio de secado por aspersión, utilizando el secador “Mini Spray Dryer B-290” de la marca Büchi (Suiza), que responda a parámetros de calidad establecidos internacionalmente.

Se realizaron tres etapas experimentales. El objetivo de la primera etapa fue determinar los niveles de flujo de aire, flujo de producto y temperaturas a emplear para el secado de la clara de huevo.

La segunda etapa se realizó con el objetivo de obtener un modelo estadístico que describa el efecto de las variables estudiadas (flujo de producto, temperatura del aire de secado y flujo de aire) sobre las propiedades del producto terminado (humedad,  $a_w$ , contenido de proteína, etc.), además que dicho modelo ayude en la predicción de resultados. Para ello se aplicó un diseño central compuesto para generar un modelo de superficie de respuesta para obtener las condiciones óptimas de secado de la clara de huevo.

La tercera etapa se realizó con el objetivo de comprobar los resultados obtenidos del modelo estadístico desarrollado con las corridas de la segunda etapa; a la vez dichas corridas sirvieron para comprobar ciertos parámetros de calidad internacionales a los cuales debe apegarse el producto obtenido.

## **CAPÍTULO 2**

### **ASPECTOS GENERALES**

En el presente capítulo se describe la operación de secado, así como el equipo de secado por aspersión, y se describen los cambios en las propiedades físico-químicas del producto generadas por un proceso de este tipo de secado. Se detallan las propiedades de calidad de la materia prima y del producto final, las condiciones de operación reportadas en la literatura para el secado de dicha materia. Además se describen los métodos utilizados para la determinación de las propiedades de calidad tanto en la materia prima como en el producto final.

#### **2.1. SECADO**

Esta operación está definida como la transferencia de calor y de masa simultáneas bajo condiciones controladas para lograr de esta manera una eliminación de la mayor cantidad de agua que se presenta en un producto inicial. Se diferencia dicha operación de otras como lo son la separación mecánica, la concentración por medio de membranas, evaporación y cocción ya que éstas tienen una menor remoción de agua que el secado. El propósito principal de la operación de secado, es lograr extender la vida útil de los alimentos por medio de la reducción en la actividad del agua ( $a_w$ ). Dicha disminución en la actividad del agua trae consigo una inhibición de la actividad, tanto enzimática como de los microorganismos. Cualquier infiltración de humedad que se presente en el producto provocará una activación de enzimas en el producto, lo cual trae consigo el deterioro del producto (Fellows, 2000).

El secado es empleado en la remoción de humedad de productos como (Seader, Henkey, & Roper, 2010; Mujumdar, 2014):

- Partículas cristalinas de sales orgánicas, así como de otros componentes orgánicos.
- Materiales biológicos.
- Productos farmacéuticos.
- Madera, productos derivados del papel, así como algunos materiales fibrosos.
- Colorantes.

- Productos lácteos leche, suero.
- Industria alimenticia en general.
- Plasma sanguíneo.
- Cerámicas.
- Detergentes.
- Otros productos en los cuales un exceso de humedad se traduce en un exceso de costos de transporte y distribución.

Otros de los beneficios del secado es la facilidad en el manejo y transporte de los productos generados. Además, en muchos casos trae un manejo más fácil del producto por parte de los clientes. Cabe señalar que en la operación de secado se pueden presentar una serie de cambios en el producto, los que se relacionan con el sabor final y el contenido nutricional del mismo. Por lo tanto, se debe tener un especial cuidado en la selección de las condiciones de operación para lograr reducir al máximo dicho efectos (Fellows, 2000).

Se debe tener en consideración el costo del proceso de secado, ya que el mismo puede ser excesivamente caro. En caso que el producto cuente con cantidades excesivas de agua, se debe contar con un proceso de pre secado o concentración, para lo cual se tienen una serie de operaciones tales como la evaporación al vacío, filtración por presión, centrifugación, entre otros (Seader, Henkey, & Roper, 2010).

Cuando se somete un producto a un proceso de secado se debe tener en consideración la forma en la cual se llevará a cabo la transferencia de calor. Para dicho proceso se tienen 4 formas principales de realizarla (Seader, Henkey, & Roper, 2010):

- Convección desde un gas caliente el cual se pone en contacto con el material a secar.
- Conducción desde una superficie sólida que se encuentra caliente y se pone en contacto la misma con el material a secar.
- Radiación desde una superficie caliente o un gas caliente.
- Generación de calor por medio de una fuente dieléctrica, radio frecuencia o bien microondas.

## **2.2. GENERALIDADES DEL SECADO POR ASPERSIÓN**

Según Seader, Henkey y Roper (2010) cuando se cuenta con un producto que contiene más de 50 % en peso de humedad, y las cantidades a secar superan los 455 kg/h se debe considerar emplear un secador por aspersión. La operación de secado por aspersión es ampliamente utilizada en la producción de café instantáneo, leche en polvo, suero deshidratado, entre otros.

La operación de secado por aspersión consiste en la atomización de un flujo de alimentación para formar pequeñas partículas que luego entran en contacto con una corriente de aire caliente; este contacto de ambas fases (alimentación y aire caliente) puede presentarse a co-corriente o a contra corriente. Normalmente se opera el equipo en un rango de temperatura de 150 °C a 300 °C, con tiempos de residencia cortos (Fellows, 2000).

Es un proceso continuo donde mediante transferencia de masa, la humedad del sustrato alimentado pasa al gas caliente provocando su deshidratación. El producto puede obtenerse como partículas individuales o también puede ser producido como conglomerados. Por su parte, la alimentación puede ser una disolución, una pasta, o una suspensión (Passos & Ribeiro, 2009).

Como lo menciona Fellows (2010) el proceso de secado en este tipo de equipos se da de manera efectiva debido a que al atomizar se forman pequeñas gotas que producen gran área de contacto del producto con el aire. Se debe tener especial cuidado con la temperatura de salida del producto para evitar daños a causa de la temperatura en el mismo. También, cabe destacar que el proceso trabaja bien con soluciones que sean bajas en grasa, y no es bueno con productos que contengan un alto contenido de grasa o aceite ya que dichos productos no sufren de un proceso de secado rápido.

Las mayores ventajas que presenta la técnica de secado por aspersión son (Passos & Ribeiro, 2009):

- Se puede tener un mayor control de las propiedades y calidad de los productos.

- Es muy útil su aplicación en productos que son sensibles a la temperatura ya que los mismos pueden ser secados a presión atmosférica y baja temperatura; en caso de ser necesario se puede emplear una atmósfera inerte.
- El secado por aspersión permite trabajar con altos flujos en una operación continua, con un equipo que es relativamente simple.
- El producto que entra en contacto con las superficies del equipo lo hace en una condición anhidra lo cual simplifica problemas de corrosión, y con esto se simplifica la selección de los materiales de construcción del equipo.
- El secado por aspersión resulta en un producto relativamente uniforme, de partículas esféricas las cuales contienen una proporción similar de componentes no volátiles que los que contenía la alimentación.
- Posee un alto rango de operación en lo referente a la temperatura de ingreso del aire ya que la misma puede ir de 150 °C hasta 750 °C, y la eficiencia del proceso es comparable a la que se logra obtener con secadores de contacto directo.

Por otra parte, esta operación también presenta una serie de desventajas las cuales se enuncian seguidamente (Passos & Ribeiro, 2009):

- No resulta una operación conveniente cuando se desea que el producto final cuente con una alta densidad aparente.
- El equipo no es flexible ya que es diseñado para tener una atomización fina y no es capaz de llegar a producir un producto grueso y viceversa.
- Para una capacidad dada las tasas de evaporación de dichos equipos son mayores que las tasas de otros tipos de secadores, y la alimentación debe ser bombeada, en donde la potencia de bombeo requerida es alta.
- El equipo por lo general requiere de una inversión inicial alta en comparación con otros tipos de equipos de secado.
- La recuperación del producto y los polvos del mismo incrementan el costo de secado.

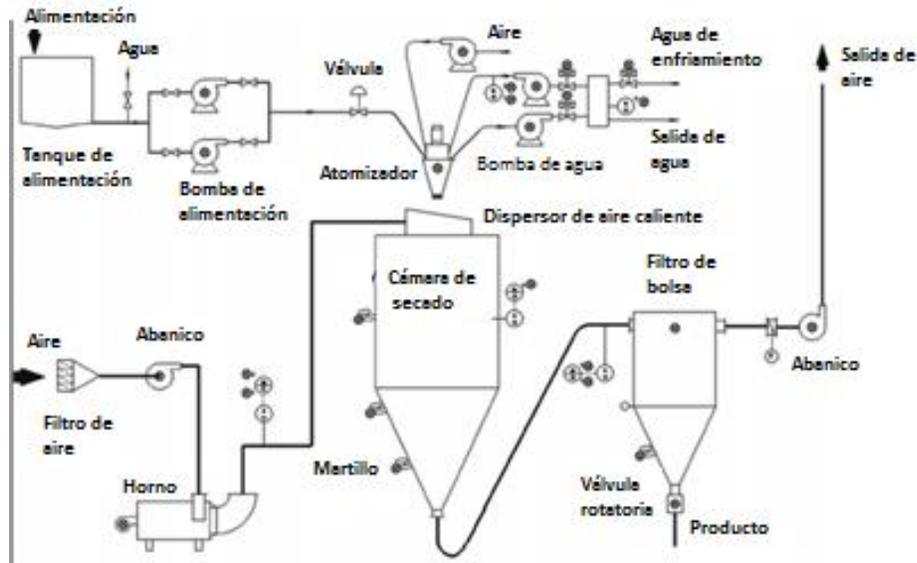
Dicha técnica es ampliamente empleada actualmente y su uso data desde los años 1800, sin embargo, no fue sino hasta 1850 cuando fue posible secar la leche a escala industrial. Desde ese momento la tecnología ha crecido y se ha expandido a una serie de productos alimenticios que actualmente son secados con gran éxito por medio de una aspersión de los mismos. Actualmente la aplicación de dichos secadores va desde la industria de los agroquímicos, químicos finos y pesados, alimentos, concentrados minerales, así como en la industria farmacéutica. Dichos procesos tienen una capacidad de evaporación que va desde unos cuantos kilogramos por hora hasta 50 000 kg/h (Mujumdar, 2014).

### **2.3. COMPONENTES PRINCIPALES DEL EQUIPO DE SECADO POR ASPERSIÓN**

Entre los principales componentes de un sistema de secado por aspersión destacan: un sistema que propicia el calentamiento del aire y la distribución del mismo, un sistema de bombeo de la alimentación, un atomizador, un sistema para el contacto del producto como un “spray” con el aire caliente, así como un sistema para la recolección de las partículas del producto de interés. En la Figura 2.1 se presenta un esquema básico de una línea industrial para el secado por aspersión (Passos & Ribeiro, 2009).

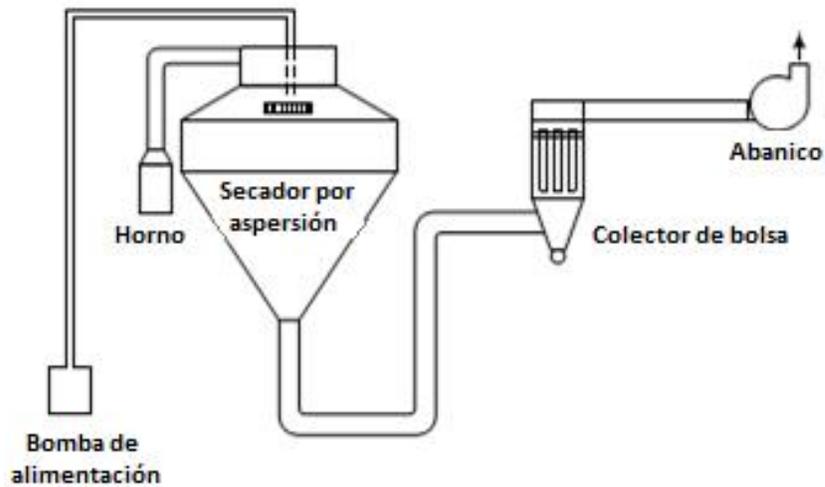
El diagrama presentado en la Figura 2.1 ejemplifica un proceso de ciclo abierto en el cual el aire se obtiene de la atmósfera, se hace pasar por un sistema de calentamiento y luego es devuelto ya exhausto a la atmósfera. En caso de estar trabajando con algún producto alimenticio el cual sufra de procesos oxidativos y el mismo haya sido disuelto en un componente orgánico se prefiere utilizar el ciclo cerrado de secado en el cual se utiliza un gas inerte para propiciar el secado (Passos & Ribeiro, 2009).

En la Figura 2.1 se observa que el proceso de secado por aspersión consiste en cuatro etapas principales las cuales son: calentamiento del aire y distribución del mismo, transporte de la alimentación y atomización de la misma, equipo de contacto del producto y el aire caliente, finalmente se cuenta con un equipo que permite la recuperación del producto final ya seco. A su vez en la Figura 2.2 se presenta lo que es propiamente el equipo de secado por aspersión y la forma de operación de un atomizador de tipo disco centrífugo.



**Figura 2.1.** Diagrama de flujo típico de un equipo de secado por aspersión

Fuente: Passos & Ribeiro, 2009.



**Figura 2.2.** Equipo de secado por aspersión

Fuente: Seader, Henkey, & Roper, 2010.

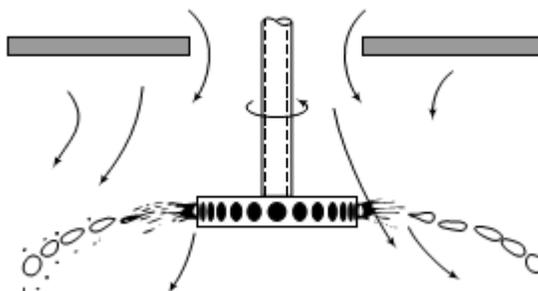
### 2.3.1 EQUIPO DE ATOMIZACIÓN

Según Mujumdar (2014), la atomización es la parte más importante del proceso de secado por aspersión, donde el tipo de atomizador no solo determina la energía requerida para formar el “spray” sino el tamaño y la distribución de tamaños de partícula así como su trayectoria y velocidad dentro de la cámara de secado.

La correcta selección del atomizador es crucial, se deben tener muy presentes las ventajas y limitaciones existentes entre los diversos tipos de atomizadores. En el mercado se pueden encontrar atomizadores de tipo centrífugo, que operan por medio de presión, neumáticos, o ultrasónicos siendo estos últimos los más caros y también los que poseen una baja capacidad de procesamiento. El tipo de atomizador tiene una influencia directa en las propiedades del producto final como su densidad aparente, tamaño de partícula, entre otros. (Passos & Ribeiro, 2009).

Seguidamente, se explica el principio de operación de algunos de los atomizadores (Fellows, 2000):

- Atomizador centrífugo: el líquido se alimenta al centro de un disco rotatorio el cual tiene una velocidad de 90 m/s a 200 m/s que tiene una capacidad de producir partículas con un tamaño de 50  $\mu\text{m}$  a 60  $\mu\text{m}$  de diámetro. En la Figura 2.3 se ilustra la operación de un atomizador de este tipo.



**Figura 2.3.** Operación de un atomizador centrífugo

Fuente: Seader, Henkey, & Roper, 2010.

- Atomizador de presión: el líquido es forzado con ayuda de una presión muy alta (700 kPa a 2 000 kPa) a pasar por medio de una pequeña abertura formando de esta

manera partículas con un tamaño que va de 180  $\mu\text{m}$  a 250  $\mu\text{m}$ . Dicho tipo de aspersor cuenta con una serie de surcos en su interior los cuales hacen que el “spray” salga en forma de cono con lo cual se logra que el mismo logre cubrir todo el volumen de la cámara de secado.

- Atomizador de dos fluidos: por medio de la utilización de aire comprimido se crea una turbulencia para lograr atomizar el líquido. Se trabaja con una presión menor que el atomizador de presión y se generan partículas de tamaños similares al del atomizador de presión.
- Boquilla de atomización ultrasónica: es un atomizador de dos etapas en el cual el líquido es primero atomizado por una boquilla y luego por medio del uso de energía ultrasónica se le introduce al sistema cavitación.

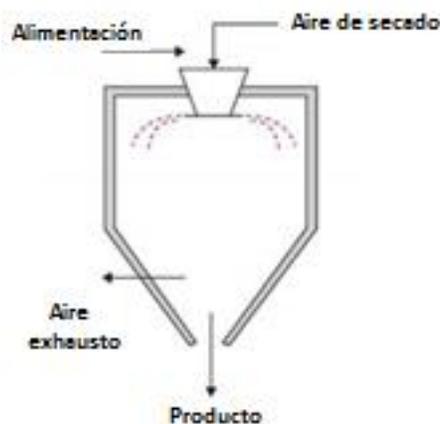
Los aspersores son partes del equipo que se encuentran muy propensos a sufrir un bloqueo por alguna partícula del líquido que está siendo alimentado, por lo que se debe tener un sistema de limpieza de los mismos ya sea por medio de un pulso o algún otro método que permita la correcta limpieza y mantenimiento de la abertura de salida (Fellows, 2000).

La selección del atomizador comúnmente hace referencia a la selección entre un atomizador centrífugo y uno de presión. La selección del mismo debe basarse en una serie de consideraciones como lo son la disponibilidad de los mismos, el consumo energético y la distribución de los tamaños de partícula (Mujumdar, 2014).

### 2.3.2 EQUIPO PARA EL CONTACTO DEL “SPRAY” CON EL AIRE

El contacto del “spray” y el aire caliente determina la evaporación de los componentes volátiles que contiene la alimentación, así como la ruta que seguirán las partículas; también, determina el tiempo de residencia de las partículas en la cámara de secado, así como la deposición de partículas en las paredes de dicha cámara. La correcta selección de la cámara es importante ya que la misma tendrá un efecto directo en las propiedades finales del producto (Passos & Ribeiro, 2009).

El sistema que dispersa o distribuye aire caliente tiene una importancia crucial en el sistema de secado por aspersión. Se cuenta en el mercado con una amplia gama de boquillas de dispersión que son fabricadas según los requerimientos de cada producto y el tipo de contacto que deba tener el producto alimentado con el aire. Dicho distribuidor de aire debe ser afín a la cámara de secado en la cual se trabajará, la cual generalmente tiene un diseño cilíndrico con un fondo cónico. Es importante en el diseño de la misma tener en cuenta el tiempo de residencia que tendrá el producto. También en la industria alimentaria es posible encontrar cámaras de secado de tipo caja horizontal (Passos & Ribeiro, 2009). En la Figura 2.4 se presenta un esquema de la cámara de secado.



**Figura 2.4.** Representación de la cámara de secado

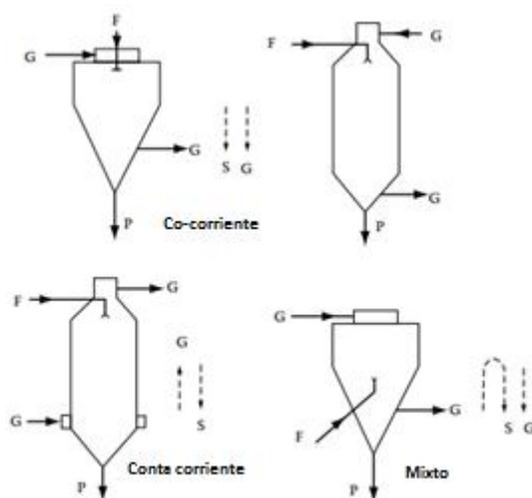
Fuente: Singh & Heldman, 2009.

Hay tres tipos de configuración básicos para la operación de la cámara de secado, los cuales se describen a continuación (Mujumdar, 2014):

- Contacto a co-corriente: ocurre cuando el flujo de las partículas se produce de la parte superior hacia la parte baja de la cámara de secado, y a su vez, el aire fluye en la misma dirección.
- Contacto a contracorriente: se produce cuando el aire de secado fluye en sentido opuesto respecto a las partículas líquidas que caen. Este proceso es empleado con aquellos productos que presentan una mayor sensibilidad a la temperatura.

- Flujo mixto: en este tipo de configuración el aire fluye hacia abajo y el producto es asperjado hacia arriba y luego es arrastrado hacia abajo por el aire. Es empleado cuando se requiere un producto poco puro, y el espacio en la cámara de secado es limitado. Además es un método que se emplea por su bajo costo cuando el producto puede estar expuesto a altas temperaturas cuando está seco.

En la Figura 2.5 se muestran de manera gráfica los tres principios de operación que se pueden presentar en la cámara de secado.



**Figura 2.5.** Diagrama de formas de operación de la cámara de secado: F, alimentación; G, aire de secado; P, producto; S, “spray”

Fuente: Mujumdar, 2014.

Tanto la dirección del aire como la uniformidad del mismo a través de toda la sección de la cámara de secado son parámetros de suma importancia para la calidad del producto final. Se debe tener cuidado en el diseño de dicha cámara ya que se deben evitar los calentamientos por zonas, secado ineficiente en algunas partes de la cámara y se debe prever que las partículas estén secas cuando lleguen a la pared de la cámara (Mujumdar, 2014).

### 2.3.3 EQUIPO PARA CALENTAMIENTO DEL AIRE

Se pueden utilizar sistemas de calentamiento directos o indirectos. En los calentadores directos, tal como un horno, los gases de combustión entran en contacto con el producto.

Cuando los productos de la combustión representan un problema de contaminación en el producto a secar, como en el caso de los alimentos, entonces se hace uso de un calentador indirecto, el cual puede funcionar por medio de electricidad (Passos & Ribeiro, 2009).

#### 2.3.4 SISTEMA DE RECOLECCIÓN DEL PRODUCTO SECO

El producto seco se recupera normalmente en el sistema principal de recolección el cual se localiza a la salida de la cámara de secado. Dicho sistema puede ser un separador de ciclón o bien un sistema filtrante de mangas. Sin embargo, el aire que sale de este sistema principal de recolección todavía arrastra partículas del producto. Por ello para la recolección de dichas partículas provenientes del sistema principal de recolección se cuenta generalmente con dos tipos de dispositivos de recolección secundaria del producto seco que son los colectores secos o los húmedos. Los colectores secos incluyen los ciclones, bolsas filtrantes o precipitadores electroestáticos, mientras que los colectores húmedos hacen referencia a depuradores húmedos, ciclones húmedos y torres de aspersion (Passos & Ribeiro, 2009).

Los recolectores secos son utilizados para la primera etapa de recolección y el equipo más utilizado para dicho fin son los ciclones, debido a su bajo costo inicial y de mantenimiento. Sin embargo, dichos equipos tienen una baja eficiencia en la recolección. Por esta condición se hace uso de una bolsa filtro como segundo medio de recolección, o bien puede ser utilizado también un medio de recolección húmedo. El problema de las bolsas es que el proceso de limpieza de las mismas es muy complicado, y en caso de que las mismas se rompan se tendrá una pérdida del producto (Passos & Ribeiro, 2009). Con el manejo de ciclones es importante ser consciente de la rigurosidad que requiere la selección del mismo; las curvas de eficiencia vienen dadas por los fabricantes, y por tanto una correcta selección del equipo es crucial para obtener una alta eficiencia de remoción para el tamaño de partícula con el cual se va a trabajar.

#### 2.3.5 SISTEMAS DE CONTROL

El sistema completo puede ser controlado ya sea de manera manual o automática y se debe tener especial control sobre la temperatura de salida, con el fin de evitar algún daño térmico

en el producto. Para ello, se puede contar con un sistema de control para mantener la temperatura de salida uniforme por medio de una modificación en la tasa de alimentación. El otro tipo de control que se emplea, logra mantener la temperatura de salida por medio de la regulación de la temperatura del aire de secado, manteniendo la tasa de alimentación del producto constante (Passos & Ribeiro, 2009). Por lo tanto, a la hora de diseñar un equipo de secado por aspersión y su sistema de control se debe tomar en consideración cuales son las condiciones más adecuadas a modificar para mantener la calidad del producto final. Teniendo en consideración cuales son las condiciones más adecuadas o que presentan una mayor facilidad para su modificación se escoge entre uno u otro sistema de control para ser implementado.

#### **2.3.6 VENTILADORES**

Para altos niveles de flujo del aire de secado normalmente se emplean abanicos centrífugos. Usualmente se emplean sistemas de dos abanicos, en donde el abanico principal se localiza después del colector de producto y el abanico de ingreso se ubica al ingreso de la cámara de secado (Mujumdar, 2014).

Si se trabaja con solo un abanico ubicado después del ciclón, el sistema de secado completo opera bajo una alta presión negativa. A su vez la presión de operación en un sistema de secado determina la cantidad de polvo en el aire de salida y al mismo tiempo determina la eficiencia del ciclón y del colector de producto. La presión que puede entregar un abanico depende únicamente del diseño de las aspas (Mujumdar, 2014).

#### **2.4. EFECTOS DEL SECADO POR ASPERSIÓN EN LOS ALIMENTOS**

Todos los productos alimenticios sufren una serie de cambios durante el proceso de secado, por lo que representa un reto tecnológico el tratar de minimizar dichos efectos. Los mayores cambios se presentan en el sabor y el aroma del producto, pero también los cambios en el color y el valor nutricional son importantes en algunos alimentos (Fellows, 2000).

Durante el proceso de secado y dependiendo de las propiedades del producto, se suele realizar la asociación de que al trabajar a mayores temperaturas se produce un mayor deterioro en las propiedades nutricionales de los alimentos. Es en este punto es donde surge la mayor interrogante, la cual está relacionada con los parámetros que determinan la calidad de los productos secos (Bhandari, Bansal, Zhang, & Schuck, 2013). Sin embargo, las condiciones de operación se relacionan con el tipo de producto con que se está trabajando, ya que en muchos casos es necesario contar con procesos que tengan un tiempo de residencia corto en la cámara de secado, pero que durante el cual se cuente con una alta temperatura.

Los agentes microbiológicos en un alimento pueden ser separados como beneficiosos, de deterioro y patógenos. En la categoría de los beneficiosos están aquellos como los probióticos que son agregados de manera intencional a los alimentos para aumentar su valor nutricional. Los agentes microbiológicos patógenos son los microorganismos causantes de problemas de salud en los consumidores, donde algunos de estos agentes son: *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* (Ortega-Rivas, 2009). Los microorganismos de deterioro son aquellos que generan una alteración en las propiedades de calidad sensorial de productos como cambios de color, sabor, textura, entre otros.

Cuando los alimentos son expuestos a condiciones de secado el estado físico del producto se ve alterado, y se presentan cambios en la micro estructura, calidad y seguridad de los alimentos. El secado a baja temperatura mantiene muchas de las cualidades originales del producto y limita la actividad del agua; sin embargo a estas condiciones se puede propiciar el desarrollo de microorganismos patógenos o de deterioro que afecten las características de calidad del producto seco. Por tanto, no se tiene la seguridad de que al exponer un producto a condiciones de secado, las mismas sean adecuadas para mantener la calidad deseada (Ortega-Rivas, 2009).

#### 2.4.1 ELIMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD HASTA UN NIVEL SEGURO

El secado conlleva una remoción del exceso de agua hasta un nivel seguro de humedad, con un mínimo de reacciones físicas, químicas y microbiológicas. Este nivel seguro de humedad que se requiere en los productos secos es aquel que previene el crecimiento de los microorganismos de deterioro que pueden llegar a causar un daño en el producto (Ortega-Rivas, 2009). El nivel de humedad recomendado es dependiente del producto y en el caso de la clara de huevo se recomienda que el producto seco tenga un contenido de humedad entre 8 % y 9 % (F.O.F International, 2010).

La disponibilidad de agua para actividad microbiana, enzimática o química determina la vida útil de un alimento, y este parámetro se establece en términos de la actividad del agua ( $a_w$ ) de un alimento, la que se representa por medio de la Ecuación 2.1 (Fellows, 2000):

$$a_w = \frac{P_F}{P_w} \quad (2.1)$$

Donde:

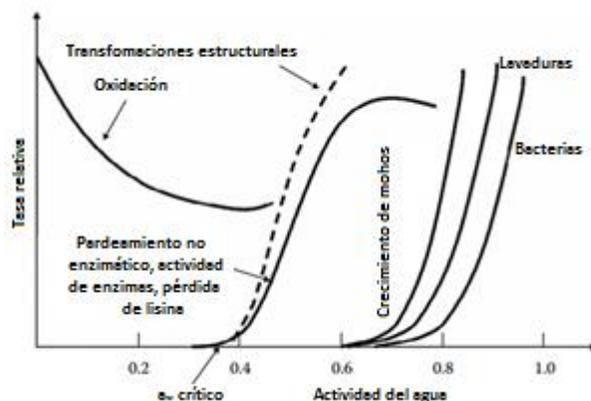
$a_w$ : actividad del agua.

$P_F$ : presión de vapor del alimento, Pa.

$P_w$ : presión de vapor del agua pura a la misma temperatura, Pa.

En la Figura 2.6 se muestran de manera gráfica los niveles de  $a_w$  que son seguros para los alimentos, basándose en el crecimiento de diversos microorganismos.

Por medio del secado se busca reducir la actividad del agua ( $a_w$ ) a valores menores a 0,5. La importancia de dicho parámetro es que el mismo controla el crecimiento de microorganismos, reduce el nivel de reacciones químicas y también inhibe la actividad de algunas de las enzimas, todas causas del deterioro de los alimentos. El  $a_w$  es también útil como método para lograr predecir el contenido final de humedad en el equilibrio respecto a las condiciones de secado (Tsotsas & Mujumdar, 2011).



**Figura 2.6.** Mapa de estabilidad de los alimentos

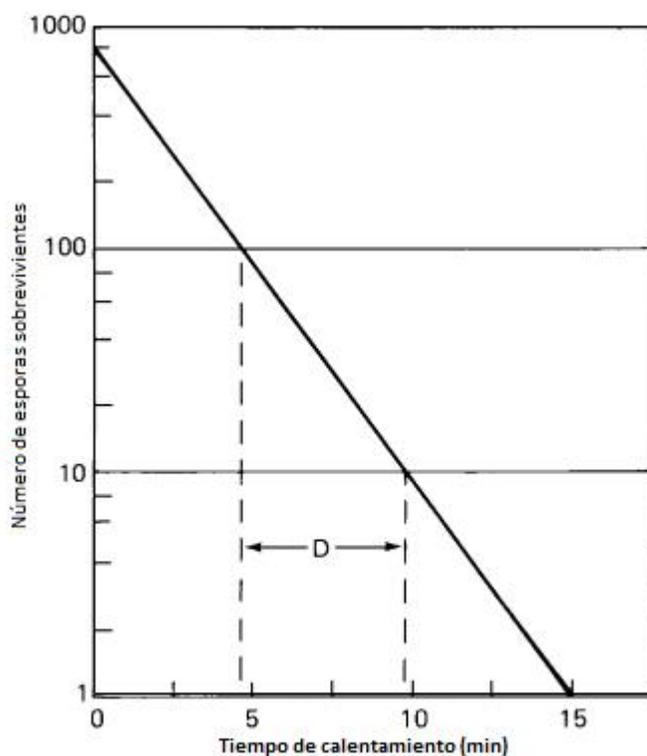
Fuente: Ortega-Rivas, 2009.

Las bacterias patógenas no pueden crecer a un nivel de  $a_w$  menor a 0,85-0,86. A su vez, las levaduras y mohos son más resistentes y los mismos ven inhibido su crecimiento a niveles de  $a_w$  menores a 0,8. Usualmente el crecimiento microbiano es inhibido por completo a un nivel de  $a_w$  menor a 0,62 (Ortega-Rivas, 2009). La proliferación de la *Salmonella* se ve inhibida a un  $a_w$  menor a 0,93 (Jung & Beuchat, 1999). Es importante destacar que dichos límites pueden variar dependiendo de diversos factores como por ejemplo el pH, el contenido de sal, aditivos, tratamiento térmico, así como la temperatura a la que se efectuó dicho tratamiento (Ortega-Rivas, 2009).

En la industria del huevo, la *Salmonella* ha sido la mayor preocupación sobre los microorganismos que pueden llegar a contaminar a los mismos, y a su vez los métodos para evitar la contaminación han sido ampliamente estudiados. La *Salmonella* es de tanto interés ya que el huevo se puede contaminar en el proceso de postura o luego de la postura por un contacto con heces contaminadas, o también se puede dar el caso que la gallina tenga una infección transovárica y los huevos que pone pueden llegar a estar contaminados con *Salmonella* (Howard, O'Bryan, Crandall, & Ricke, 2012). Por medio de estudios de la supervivencia de la *Salmonella* en productos secos se logró revelar que la composición química del producto llega a tener un efecto directo en las tasas de inactivación. La *Salmonella* es más resistente a la inactivación a valores reducidos de  $a_w$  (Jung & Beuchat, 1999).

#### 2.4.2 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CALOR EN LOS MICROORGANISMOS

El procesamiento térmico de un producto tiene un efecto preservante en el mismo, por la eliminación de los microorganismos presentes y por la disminución en la actividad enzimática. La tasa de destrucción térmica de los microorganismos se puede establecer como un modelo de primer orden, la cual tiene una constante de velocidad que es directamente dependiente de la temperatura. La muerte de los microorganismos se puede representar como un orden logarítmico de muerte, tal como se puede apreciar en la Figura 2.7. En dicha figura el parámetro D se conoce como el tiempo de reducción decimal, ya que es el tiempo necesario para reducir la población microbiana en un 90 %, a la temperatura empleada (Fellows, 2000).



**Figura 2.7.** Curva de tasa de muerte

Fuente: Fellows, 2000.

Como la destrucción microbiana se lleva a cabo de manera logarítmica, teóricamente es posible la destrucción de todos los microorganismos si se da un calentamiento por un tiempo infinito, pero en el procesamiento de alimentos esto lógicamente no es posible. Por lo tanto, en el procesamiento se busca reducir el número de microorganismos sobrevivientes a un valor predeterminado, donde no se presente la reproducción de los mismos, y es acá donde toma fuerza el concepto de esterilidad comercial (Fellows, 2000). La cual según lo define el CODEX Alimentarius es la condición que se logra por aplicación de calor suficiente, solo o en combinación con otros tratamientos apropiados, con el objeto de liberar a ese alimento de microorganismos capaces de reproducirse en él en unas condiciones normales no refrigeradas en las que se mantendrá probablemente el alimento durante su distribución y almacenamiento.

Es importante en la aplicación de calor a un producto tomar en consideración el tipo de microorganismo, las condiciones de incubación, las condiciones durante el tratamiento térmico (Fellows, 2000).

#### 2.4.3 EFECTO DEL PROCESAMIENTO EN LAS PROPIEDADES NUTRICIONALES

Hay operaciones unitarias como por ejemplo el mezclado, la limpieza o la separación por tamizado o filtración, las cuales casi no afectan las propiedades nutricionales de un producto. Sin embargo, la aplicación de calor trae consigo una elevada alteración en las propiedades nutricionales del producto. Como ejemplo de dichos cambios se pueden mencionar: la gelatinización de almidones, la coagulación de una serie de proteínas que ayudan a mejorar el proceso digestivo de un producto. La aplicación de calor también puede ser la causa de destrucción de vitaminas, la reducción en el número de proteínas, así como la oxidación de lípidos (Fellows, 2000).

El proceso oxidativo que sufren los alimentos es también, otra de las principales causas de los cambios nutricionales en los mismos. Este proceso tiene lugar cuando el alimento es expuesto al contacto con el aire y los principales efectos de la oxidación son: la degeneración de los lípidos y la destrucción de vitaminas que son sensibles al oxígeno (Fellows, 2000).

La importancia de la pérdida de nutrientes en un producto depende del valor nutricional de dicho producto en la dieta. La pérdida en vitaminas depende directamente de cada operación unitaria. Pero siempre está el hecho de que los fabricantes utilizan diversas materias primas, así como el tipo de procesado y el equipo utilizado (Fellows, 2000).

#### 2.4.4 CAMBIOS EN EL COLOR

El color es uno de los primeros parámetros que toma en cuenta el consumidor para dar una opinión sobre la calidad que presenta un producto, y decidir si el mismo se ve apetitoso o no. No está clara la relación que se tiene entre la cantidad de agua contenida en el producto y el color del mismo; sin embargo, en algunos casos el color se puede intensificar, debido a la pérdida de agua. En otros casos, debido a la temperatura a la que es sometido el producto en su procesamiento, se presentan una serie de reacciones indeseables como la reacción de Maillard, que genera en el producto una coloración oscura. El color como parámetro de calidad de un producto es un efecto de superficie, por lo tanto la temperatura de la superficie y la humedad en la misma deben ser parámetros altamente controlados (Ortega-Rivas, 2009).

La presencia de altas temperaturas trae consigo la destrucción de muchos pigmentos de origen natural, estos también se pueden ver alterados de manera química debido a cambios en el pH. Por otro lado, los pigmentos sintéticos suelen ser más estables a la presencia de luz y cambios en el pH. Estos pigmentos sintéticos normalmente se agregan a los alimentos con el fin de lograr mantener el color durante el procesamiento del producto (Fellows, 2000).

#### 2.4.5 CAMBIOS EN LA TEXTURA

La textura de un producto está determinada principalmente por el contenido de humedad, grasa, carbohidratos estructurales y cantidad de proteínas. Los cambios que presenta un producto son debidos a pérdidas en la cantidad de humedad o de grasa, así como la formación o desintegración de emulsiones, geles, hidrólisis de carbohidratos poliméricos y la coagulación o hidrólisis de proteínas (Fellows, 2000).

#### 2.4.6 TRANSFORMACIONES FÍSICAS DURANTE EL PROCESO DE SECADO

Diferentes fenómenos físicos están relacionados con la pérdida de agua y la temperatura empleada durante el secado. Algunas de dichas transformaciones físicas son (Tsotsas & Mujumdar, 2011):

- Baja en el  $a_w$ .
- Transición vítrea, cristalización.
- Fusión de las grasas.
- Evaporación de componentes volátiles.
- Migración o retención de componentes, sean los mismos volátiles o no.

Las consecuencias producidas en las características de los productos son complejas y se encuentran interconectadas. Los componentes del aroma y el sabor son químicos volátiles que pueden evaporarse durante el secado, por aplicación de calor o remoción del agua (Tsotsas & Mujumdar, 2011).

#### 2.4.7 REACCIONES BIOQUÍMICAS INDUCIDAS POR EL SECADO

Las altas temperaturas de secado tienden a reducir la calidad de los productos alimenticios. Sin embargo, es mejor hablar de dichos cambios en relación del tiempo y la temperatura. Ambos parámetros aumentan las tasas de reacción y también presentan dependencia con el  $a_w$  del producto. Algunas de estas reacciones que se ven influenciadas por la temperatura son, por ejemplo, la reacción de Maillard, la degradación de vitaminas, la oxidación de grasas, la desnaturalización de proteínas y las reacciones enzimáticas. Algunas de estas reacciones se ven reflejadas en una secuela negativa en el valor nutricional del producto, así como otras presentan su efecto negativo en las propiedades sensoriales del producto (Tsotsas & Mujumdar, 2011).

### 2.5. HUEVO Y SUS CARACTERÍSTICAS

Los huevos se encuentran naturalmente protegidos con una cáscara la cual cumple la función de proteger a los embriones. Al ser utilizados como parte de la dieta de los humanos, los huevos son un gran aporte nutricional. La calidad y frescura de los huevos

son parámetros de suma importancia para las agencias reguladoras de alimentos. Algunos de estos parámetros de calidad son: la edad del huevo, la temperatura, la humedad y el tipo de manejo que han recibido (Vaclavik & Christian, 2008).

En el Cuadro 2.1 se presenta la composición química típica que suelen presentar los huevos.

**Cuadro 2.1.** Composición química de los huevos (Vaclavik & Christian, 2008).

<b>Componente</b>	<b>%</b>	<b>Agua/(%)</b>	<b>Proteína/(%)</b>	<b>Grasa/(%)</b>	<b>Ceniza/(%)</b>
Huevo entero	100	65,5	11,8	11,0	11,7
Clara	58	88,0	11,0	0,2	0,8
Yema	31	48,0	17,5	32,5	2,0
Cáscara	11				

#### 2.5.1 YEMA

Ésta representa aproximadamente un 31 % del peso de un huevo, y en ella se encuentra todo el colesterol presente en el huevo y casi que toda la grasa. Presenta una mayor cantidad de nutrientes y una mayor densidad que la clara, además de contener todas las vitaminas conocidas excepto la vitamina C. Las yemas contienen triglicéridos, grasas, aceites y fosfolípidos (Vaclavik & Christian, 2008).

#### 2.5.2 CLARA

También es conocida como albúmina, y esta parte del huevo representa aproximadamente un 58 % del peso del mismo. Las claras de los huevos tienen un contenido de proteína mayor que la yema, por lo tanto es común ver personas que consumen solo la clara para darle a su dieta una mayor cantidad de proteína y evitar así una alta cantidad de grasa y de colesterol (Vaclavik & Christian, 2008). Más de la mitad de la proteína de la clara es albúmina.

#### 2.5.3 CÁSCARA

La cáscara representa el 11 % del peso del huevo y su composición en base seca contiene lo siguiente (Vaclavik & Christian, 2008):

- 94 % de carbonato de calcio.

- 1 % de carbonato de magnesio.
- 1 % de fosfato de calcio.
- 4 % de matriz orgánica, constituida principalmente por proteína.

La cáscara tiene la particularidad de ser porosa, con el fin de que cuando el huevo esté fecundado se dé el crecimiento del pollo y un intercambio gaseoso con el medio que lo rodea. También presenta la ventaja que por medio de dichos poros se producen pérdidas de contaminantes y CO<sub>2</sub>, y a la vez, se da el ingreso de O<sub>2</sub>. Además, la cáscara tiene la función de ser una barrera contra bacterias, que se logra por medio de una capa de queratina la cual genera un sello en los poros (Vaclavik & Christian, 2008).

#### 2.5.4 CAMBIOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO

Conforme el huevo envejece, se producen un gran número de cambios; por ejemplo se presenta una pérdida de agua, y además el pH se vuelve más alcalino, ya que pasa de un promedio de 7,6 a 9,6 lo cual favorece el crecimiento de un gran número de bacterias (Vaclavik & Christian, 2008).

#### 2.5.5 BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA

Las buenas prácticas de manufactura son regulaciones dadas por la Oficina de Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) las cuales tienen peso de ley. Estas regulaciones dictan que los fabricantes, procesadores y empacadores de medicamentos, dispositivos médicos, algunos alimentos y sangre tomen medidas pro activas para asegurar que sus productos sean seguros, puros y efectivos. Estas medidas dictan una manera de fabricación guiada por la calidad, que permiten minimizar o eliminar completamente fuentes de contaminación, contaminación cruzada y errores en el proceso (International Society for Pharmaceutical Engineering, 2016).

Estas prácticas se aplican al procesamiento del huevo, ya que se debe evitar que durante el procesamiento o empaque del mismo, el producto o bien producto derivado sufran de una contaminación.

## 2.6. SECADO DEL HUEVO

Para la obtención de huevo en polvo se puede llevar a cabo dicho proceso utilizando el huevo entero, o bien la clara y la yema por separado. En el caso de la clara se parte de un producto con un contenido inicial de agua de 88 %, para llegar a obtener un producto seco con un contenido de humedad de 8 % a 9 %. El uso de los productos secos de huevo se ha popularizado en las panaderías, debido a la serie de ventajas, anteriormente mencionadas, que tienen los productos deshidratados frente a los productos frescos. El huevo completo y la yema pueden ser llevados a un 5 % o 6 % de contenido de humedad. Mientras que la clara se deshidrata a un mayor contenido de humedad debido a la alta viscosidad y la capacidad de generar espuma (Chen & Mujumdar, 2008).

### 2.6.1 REACCIONES QUÍMICAS DURANTE EL SECADO DEL HUEVO

La reacción de Maillard es deseable en algunos procesos tales como: la cocción, fritura y tostado de alimentos, ya que estos procesos se basan en esta reacción para el desarrollo de las propiedades de sabor, aroma y color. La reacción es deseable en procesos tales como la producción de carne, café, té, chocolate, semillas, cerveza y en la cocción de pan. A su vez, este fenómeno no es deseado en procesos tales como la pasteurización, esterilización, secado y almacenaje en los cuales la reacción causa pérdidas en los valores nutricionales y sensoriales (Simpson et al., 2012).

Dicha reacción se lleva a cabo ante la presencia de un azúcar reductor y un grupo amino libre, el cual puede provenir de una proteína. La clara del huevo contiene cierta cantidad de glucosa que normalmente se remueve de la misma por medio de fermentación, con el fin de evitar que se dé la reacción de oscurecimiento de Maillard, que produce un cambio en la coloración natural que presenta el producto y le genera una tonalidad oscura. La remoción de la glucosa se puede producir por medio de la adición de bacterias, enzimas o levaduras. Normalmente el nivel de glucosa se debe reducir a un 0,1 %. Luego de la eliminación de dicho azúcar, el huevo se somete a un proceso de pasteurización; posteriormente se le adiciona sal al producto para evitar un daño en la proteína (Chen & Mujumdar, 2008).

A su vez, la tasa a la cual se lleva a cabo la reacción de Maillard depende de las propiedades del alimento, en las cuales se incluye el  $a_w$ , pH y composición química del alimento, así como la temperatura de procesamiento, la cual es el factor de análisis más importante. La tasa de reacción se ve incrementada con un aumento en el pH. Por otro lado, altas concentraciones de cloruro de sodio hacen que la tasa de reacción se disminuya. El tipo de azúcar reductor presente en el producto tiene gran influencia en la reacción de Maillard. A su vez, se han realizado muchos estudios sobre la reacción, ya que la matriz de los alimentos es sumamente compleja. En estudios realizados del efecto del tiempo y la temperatura de proceso, se ha demostrado que un aumento en la temperatura incrementa el oscurecimiento del producto. El  $a_w$  también presenta una gran influencia en la tasa de reacción, ya que la reacción se produce de manera más lenta en los productos que presentan un  $a_w$  alto debido a que los reactivos se encuentran muy diluidos y por lo tanto en baja concentración afectan de manera directa la tasa de reacción (Simpson et al., 2012).

#### 2.6.2 CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL SECADO POR ASPERSIÓN

La temperatura de entrada a la cámara de secado suele estar en el rango de 145 °C a 200 °C, mientras la temperatura de salida se encuentra de 80 °C a 90 °C, lo cual resulta en un contenido final de humedad del 4 % al 9 % en el producto seco. Se debe destacar que los productos que se obtienen a partir del huevo por medio del secado no deben estar cocinados, y por lo tanto, los esfuerzos durante el procesamiento del producto se enfocan en mantener las propiedades del mismo. En el momento de usar el producto deshidratado el consumidor debe encontrar propiedades del huevo fresco tales como la formación de espuma al batir, la capacidad de coagular en presencia de calor, su capacidad emulsificante, así como su sabor y color. Al procesar el huevo completo o la yema estos dos presentan una mayor susceptibilidad a sufrir un daño por una causa térmica que si se procesa solo la clara (Bhandari, Bansal, Zhang, & Schuck, 2013).

## **2.7. CALIDAD Y COMPOSICIÓN DEL HUEVO LÍQUIDO: INFLUENCIA EN LAS PROPIEDADES DEL HUEVO EN POLVO**

La composición fisicoquímica natural del huevo no favorece la rehidratación del producto seco. El bajo contenido de componentes higroscópicos, como azúcares y cenizas (4 % a 6 % en los productos en polvo) evita la migración eficiente del agua en el producto en polvo (Bhandari et al., 2013).

Alrededor de un 20 % de los carbohidratos presentes en el huevo pueden llegar a generar descomposiciones sensoriales, las cuales se perciben a través de los sentidos. El producto en polvo llegará a tener mejores propiedades sensoriales si el mismo es modificado por medio de la adición de maltodextrinas y sirope de glucosa (Bhandari, et al., 2013).

Una característica de especial cuidado en el huevo líquido es el nivel de pH que presenta el mismo, ya que un pH alcalino incrementa las reacciones de los tioles. Por otra parte, un nivel de pH mayor a 9,5 disminuye la solubilidad de la proteína, y además produce componentes volátiles sulfurados durante el calentamiento. Un nivel elevado de espuma en la clara se presenta con un pH ligeramente ácido, y el mejor nivel de espuma en la clara se obtiene para un pH que ha sido ajustado a un valor de 6,5 (Bhandari et al., 2013).

Hay que tener especial cuidado con las condiciones de almacenamiento de los huevos ya que las mismas pueden originar pérdidas significativas de humedad, lo que resulta en un incremento en el pH. Esto a futuro puede provocar problemas con el proceso de pasteurización (Nys, Bain, & Van Immerseel, 2011).

Las propiedades espumantes de la clara bajan luego de almacenar los huevos por 8 semanas a 4 °C, y por el contrario, estas propiedades se incrementan cuando los huevos han sido almacenados por 10 días a 21 °C. A su vez, las propiedades gelificantes de la clara son máximas al almacenar los huevos por 14 días a 4 °C lo cual hace que el pH tenga un valor aproximado de 9 (Nys, Bain, & Van Immerseel, 2011).

La membrana que separa la clara de la yema se ve afectada por la vibración durante el transporte y almacenaje de los huevos, especialmente si ambos procesos se llevan a cabo a altas temperaturas (Nys, Bain, & Van Immerseel, 2011).

## **2.8. PASOS DE PRETRATAMIENTO ANTES DEL SECADO DEL HUEVO**

Industrialmente previo al secado por aspersion es importante que se apliquen procesos para la preservación de las propiedades del huevo, así como procesos de concentración para evitar costos excesivos durante el proceso de secado. La ultrafiltración es un proceso no térmico que ayuda a la preservación de la clara y sus propiedades. Para la concentración de la materia prima se ha demostrado que más del 50 % del agua puede ser removida de la clara sin tener ningún tipo de efecto en las propiedades de la misma, este proceso puede ser llevado a cabo por ejemplo en equipos de evaporación (Bhandari, Bansal, Zhang, & Schuck, 2013). Otro proceso para la preservación de las propiedades espumantes y gelificantes de la clara es la ósmosis inversa, sin embargo se obtienen mejores propiedades espumantes por medio de la aplicación de una evaporación por vacío (Ma et al., 2013)

### **2.8.1 ELIMINACIÓN DE AZÚCARES**

Este paso se lleva a cabo para preservar el color y sabor en la clara, ya que como se discutió anteriormente se evita la ocurrencia de la reacción de Maillard: en estudios realizados se ha demostrado que una eliminación de los azúcares por medio de una oxidación enzimática conlleva unas mejores propiedades espumantes en el producto final. La eliminación de los azúcares no presenta ninguna ventaja en las propiedades gelificantes de la clara (Bhandari, Bansal, Zhang, & Schuck, 2013).

### **2.8.2 PASTEURIZACIÓN**

Por medio de la pasteurización se busca la destrucción de todos los microorganismos patógenos y de la mayoría de la flora que puede deteriorar el producto. Los productos pasteurizados pueden ser almacenados a 4 °C desde unos días hasta unas cuantas semanas (Nys, Bain, & Van Immerseel, 2011). Es comúnmente aplicado al producto cuando lo que se está procesando es la yema o el huevo completo. Con dicho proceso lo que se busca es

tener una correcta preservación de las propiedades relevantes del huevo (Vaclavik & Christian, 2008).

Los microorganismos de mayor cuidado en el huevo son la *Salmonella enteritidis* y la *Listeria monocytogenes*. Para la *Salmonella enteritidis* en Estados Unidos se recomienda la pasteurización, por un tratamiento térmico de una temperatura de 60 °C por aproximadamente 3,5 min con el fin de lograr una reducción de 5 niveles logarítmicos ( $10^5$ ) del microorganismo. En Europa las recomendaciones son de 5 min a 6 min a 65 °C (Nys, Bain, & Van Immerseel, 2011).

### 2.8.3 PRESERVANTES

Productos como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), polifosfatos, ácido láctico, nisina, son aditivos que aumentan la sensibilidad térmica de los microorganismos. Sin embargo, su uso está limitado por cuestiones de costo, restricciones legales y comportamientos de los consumidores ante ciertos aditivos (Nys, Bain, & Van Immerseel, 2011).

### 2.8.4 BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA DURANTE EL TRATAMIENTO DEL PRODUCTO

En el Codex Alimentarius (Codex Alimentarius, 2007) se hace una referencia enfática a la posibilidad de contraer enfermedades por el consumo de productos contaminados con algún tipo de especie de *Salmonella*, o de otros tipos de patógenos, así como otros contaminantes. Se habla en el documento que para que un producto sea apto para el consumo humano debe ser obtenido aplicando buenas prácticas higiénicas, de agricultura y manufactura en la granja. Además, se hace énfasis en que las buenas prácticas de higiene también deben ser aplicadas a la hora de manejar los huevos y en la preparación de los alimentos.

## **2.9. IMPACTO DEL SECADO EN LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DEL HUEVO Y CARACTERÍSTICAS FINALES DE CALIDAD**

El proceso de secado por aspersion del huevo tiene efecto sobre la calidad final del producto, entre ellos:

### 2.9.1 ASPERSIÓN

Las propiedades de la clara no se ven modificadas por el proceso de aspersión, ya que no se ha visto que dicho proceso llegue a tener un impacto directo en las propiedades espumantes y de gelificación por el contacto con el aire caliente en una amplia superficie (Bhandari, Bansal, Zhang, & Schuck, 2013).

### 2.9.2 SECADO

La densidad del polvo depende netamente de la presión en la boquilla de aspersión, la geometría de la misma y la temperatura de ingreso del aire. Como dichos parámetros alteran la cinética de secado, la densidad del producto aumenta cuando baja la velocidad de secado. Si la temperatura de ingreso del aire es muy alta, combinado con unas condiciones incorrectas en la boquilla de aspersión esto trae consigo polvos de baja densidad. Para poder obtener productos con una densidad entre  $400 \text{ kg/m}^3$  a  $500 \text{ kg/m}^3$  se debe encontrar una relación entre la productividad del secador y la calidad del producto final (Bhandari, Bansal, Zhang, & Schuck, 2013).

Los polvos obtenidos del huevo suelen ser finos, con lo cual se incrementa el área de contacto. Las propiedades de gelificación del huevo son máximas cuando la temperatura de ingreso del aire es alta y se tiene un alto tiempo de residencia del producto en el secador alrededor de  $125 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $0,2 \text{ L/h}$ . Por otra parte, las propiedades de la espuma son máximas al tener un tratamiento a bajas temperaturas ( $110 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y tiempos de residencia altos, tales como los mencionados anteriormente.

### 2.9.3 PROPIEDADES DEL POLVO

La densidad del polvo es importante para una reducción del costo de transporte y almacenaje, y como se mencionó anteriormente depende de las condiciones de operación (Nys, Bain, & Van Immerseel, 2011). La densidad promedio de la clara de huevo en polvo corresponde a  $426,09 \text{ kg/m}^3$  (Ballas Egg products Corp, 2006).

A su vez, las características de rehidratación de la clara de huevo en polvo afectan las propiedades finales del redispersado, ya que la composición fisicoquímica del huevo no

promueve una rápida rehidratación, lo cual puede causar que el producto no se re disperse de manera completa (Nys, Bain, & Van Immerseel, 2011).

## **2.10. MÉTODOS PARA DETERMINAR LA CANTIDAD DE PROTEÍNA**

Las proteínas son polímeros de aminoácidos o polipéptidos encargadas de diversas funciones en los seres humanos. La determinación del contenido de proteína en los alimentos es fundamental para poder determinar el aporte nutricional en los seres humanos, la formulación de productos, el cumplimiento de ciertos requerimientos legales de los productos, así como para la investigación del rol de una proteína en específico en un proceso biológico (Nollet & Toldrá, 2008).

Se utilizan varios métodos para la determinación del contenido de proteína; entre ellos:

### **2.10.1 MÉTODO DE KJELDAHL**

Este es el primer método de análisis ampliamente utilizado para la determinación de proteínas. Sus inicios se remontan al químico danés Gustav Christoffer Thorsager Kjeldahl, quien fue contratado por los laboratorios asociados con la cervecería Carlsbad, y se le asignó la labor de determinar la cantidad de proteína presente en varias fuentes de granos. Y es en el año de 1883 cuando Kjeldahl publica su método para la medición de nitrógeno en una muestra (Nollet & Toldrá, 2008).

Dicha determinación cuenta con bastantes aplicaciones ya que con la misma se puede determinar el contenido total de nitrógeno en muestras de tejidos, orina, heces y otros tipos de muestras fisiológicas (Emery & Sanders, 2003).

El método es bastante robusto además de poseer la ventaja de que muestra un buen comportamiento frente a sustancias contaminantes presentes en la muestra. Es un procedimiento fácil de reproducir, por lo tanto fue adoptado como el método oficial para la determinación de proteína en la carne y productos derivados de la carne (Nollet & Toldrá, 2008).

Sin embargo, el método cuenta con una serie de limitantes tales como: que se cuantifica todo el nitrógeno incluyendo aquel que se encuentra en otras moléculas que no son

proteínas, además, no todo el nitrógeno se convierte de manera eficiente en amoníaco, como por ejemplo en los casos en los cuales el nitrógeno está ligado al oxígeno (Emery & Sanders, 2003).

#### 2.10.2 MÉTODO DE DUMAS

Este método es útil para la determinación de la cantidad de proteína en materiales orgánicos, y fue desarrollado por el químico francés Jean-Baptiste Dumas. Él encontró que el nitrógeno puede ser analizado por medio de la combustión de la muestra utilizando calor elevado y presencia de oxígeno, para posteriormente medir la cantidad de gas nitrógeno que se desprende de la reacción. Este método fue descrito en el año de 1833; sin embargo, sus resultados son variables y el método de Kjeldahl ha probado ser mucho más confiable (Nollet & Toldrá, 2008).

El método de Dumas toma alrededor de 5 minutos por muestra, contrario a las 2 a 3 horas que se requieren al emplear el método de Kjeldahl. Las desventajas de este método son que el equipo que se utiliza es mucho más costoso que el requerido para el método de Kjeldahl, sólo se puede analizar una muestra a la vez, y las mismas deben ser preparadas de manera secuencial, de forma que toma el mismo tiempo analizar un conjunto de 15 a 20 muestras por ambos métodos (Nollet & Toldrá, 2008).

#### 2.10.3 ENSAYO DE BIURET

El término Biuret proviene del compuesto que se forma de la condensación de dos moléculas de urea, las cuales al estar mezcladas con cobre producen un color similar al que se obtiene con el cambio presentado por las proteínas. El contenido de proteína se obtiene por medio de una curva de calibración que se prepara a partir de albúmina bovina o inmunoglobulinas como un patrón. El ensayo no es sensible a sustancias contaminantes, pero requiere concentraciones de proteína altas para producir una señal confiable. Una alta concentración alcalina reduce los problemas de turbidez, pero las altas cantidades de lípidos causan turbidez (Nollet & Toldrá, 2008).

#### 2.10.4 ENSAYO DE LOWRY

Este método combina la reacción del cobre del ensayo de Biuret con la adición de otra solución, con el fin de mejorar la precisión del ensayo. Además, este ensayo es sensible a interferencias con ácidos o bases fuertes, agentes quelantes o reductores que pueden afectar el estado de oxidación de cobre. Entre las desventajas de este ensayo se tiene que requiere la adición de dos reactivos por separado, las curvas de los estándares no son lineales, y además, de que los tiempos de adición de los reactivos son críticos para obtener resultados reproducibles (Nollet & Toldrá, 2008).

El método presenta la particularidad de ser altamente dependiente del pH, el cual se debe mantener en un rango entre 10 y 10,5 y el reactivo utilizado es inestable a estas condiciones de pH, por lo tanto, se requieren altas precisiones en el tiempo empleado en cada uno de los pasos del ensayo, para poder garantizar resultados exitosos (Nollet, 2004).

Este ensayo al ser propuesto originalmente demandaba un tiempo de alrededor de 40 minutos por muestra, sin embargo por medio de un aumento en la temperatura de trabajo durante la incubación este tiempo se puede reducir a tan solo 15 minutos (Nollet, 2004).

#### 2.10.5 ÁCIDO BICINCONÍNICO (BCA)

Este ensayo representa otra modificación al ensayo de Biuret, donde en este caso el BCA reemplaza el segundo reactivo usado. El reactivo BCA es estable bajo condiciones alcalinas, característica que el ensayo de Lowry no presenta, además, que en el ensayo con BCA la adición de reactivos se puede dar en un solo paso. Otra de las ventajas de este ensayo es que es más tolerante a altas concentraciones de detergentes (Nollet & Toldrá, 2008).

#### 2.10.6 COLORANTE COOMASSIE BLUE (BRADFORD)

Este ensayo de Bradford utiliza el colorante hidrofóbico Coomassie Blue G-250, el cual se adhiere a las proteínas, lo cual se utiliza para poder determinar la concentración de las mismas. El tinte debe disolverse en una solución de ácido fuerte (8,5 % de ácido fosfórico). La fijación de este tinte a las proteínas provoca un cambio de color de rojo a azul, siendo esta reacción rápida (alrededor de 2 minutos). La fijación del tinte en la proteína provoca un

cambio en la absorbancia máxima la cual pasa de 465 nm a 595 nm. Este ensayo presenta una menor cantidad de problemas que los ensayos de Lowry o con BCA, en relación con las sustancias que interfieren en la absorbancia. Un problema de este ensayo es que el tinte tiende a pegarse en las paredes de la cubeta en la cual se realiza el ensayo, por lo tanto es necesario realizar una serie de lavados con acetona y ácido para lograr remover el tinte de las paredes (Nollet & Toldrá, 2008).

La popularidad de este método radica en su facilidad y rapidez de aplicación, además el colorante empleado es altamente sensible como un compuesto de unión en la determinación de contenido de proteína. El método ha sido criticado ya que es altamente dependiente de la composición de la proteína, y que además, tiende a generar estándares no lineales. Sin embargo, con la selección del estándar correcto para el trabajo el método es muy exacto y preciso (Nollet, 2004).

Para llevar a cabo este ensayo se debe construir una curva de calibración con la proteína albúmina de suero bovino. Este método depende de la interacción del colorante con las proteínas, principio que hace que el ensayo sea sumamente sensible a la presencia de contaminantes como restos de detergentes y líquidos orgánicos como el metanol (Araya, 2013).

#### 2.10.7 ABSORBANCIA ULTRAVIOLETA DE LAS PROTEÍNAS

Los ensayos de Biuret, Lowry, BCA y Bradford son todos ensayos destructivos para la muestra. Un tipo de ensayo no destructivo es la medición directa de la absorbancia en un rango ultravioleta (275 nm a 280 nm). Sin embargo, este ensayo solo puede ser llevado a cabo con éxito si se reúnen una serie de condiciones como lo son: conocer el coeficiente de extinción para poder convertir la absorbancia en concentración, el método es válido sólo con proteínas puras, la solución de proteínas debe tener una mínima turbidez visible, la proteína debe ser disuelta en una solución que contenga trazas de componentes que absorban a la misma longitud de onda que la proteína (Nollet & Toldrá, 2008).

Una ventaja que presenta este tipo de ensayo es que no es necesario utilizar ningún tipo de reactivo para la cuantificación de las proteínas. Sin embargo, si el disolvente que se utiliza

absorbe a 280 nm se debe analizar un blanco. Este método es poco sensible y además sufre interferencia por compuestos tales como: la purina, los anillos primarios de pirimidina, que se encuentran, por ejemplo, en ácidos nucleicos y nucleótidos (Nollet, 2004).

#### 2.10.8 INMUNOABSORCIÓN DE ENZIMAS LIGADAS

Este ensayo es conocido como ELISA por sus siglas en inglés. En este ensayo un anticuerpo reacciona con la proteína. La proteína debe ser colocada en una placa de micro titulación de poliestireno donde la muestra se une fuertemente a la superficie plástica, luego, se realiza un lavado a las proteínas que no se enlazaron y el plato es tratado con una proteína inerte con el fin de bloquear el resto de sitios en el plástico, y de ahí las placas son incubadas con un anticuerpo, el cual forma un complejo con la proteína específica. Posteriormente, el exceso de anticuerpos es lavado y las proteínas se ven expuestas a un anticuerpo de enzima ligada el cual reconoce el enlace con el anticuerpo, luego se lava el segundo anticuerpo. Y seguidamente, se someten los platos a un sustrato adecuado para la enzima. Finalmente, se mide la absorbancia a la muestra y se compara contra un patrón para determinar de este modo la cantidad de proteína presente en la muestra (Nollet & Toldrá, 2008).

#### 2.10.9 ESPECTROSCOPIA INFRARROJO

La zona del IR va de  $14\ 000\text{ cm}^{-1}$  hasta los  $10\text{ cm}^{-1}$  lo cual corresponde a la transición del estado basal hasta el primer nivel de excitación de las vibraciones moleculares. Sin embargo, la región de mayor utilidad para los análisis se ubica en el cercano IR entre  $13\ 000\text{ cm}^{-1}$  y  $4\ 000\text{ cm}^{-1}$  lo cual corresponde a los sobretonos y combinaciones de modos vibracionales los cuales involucran C-H, O-H y N-H, esto en la región intermedia del IR (Nollet, 2004).

Aparte de los métodos anteriormente descritos, los cuales son útiles cuando se desea una cuantificación de la cantidad total de proteína también se cuenta con métodos de análisis para una proteína en específico. Estos métodos suelen utilizar cromatografía o electroforesis para su respectiva caracterización. A continuación se hace referencia a uno de dichos métodos.

### 2.10.10 MÉTODOS DE ELECTROFORESIS

El gel de poliacrilamida de electroforesis ha sido ampliamente empleado en la determinación de la cantidad de proteínas presentes en los músculos. Primeramente, las proteínas deben ser disueltas en dodecilsulfato sódico el cual disocia las proteínas en sus subunidades poli peptídicas. Cuando se coloca un extracto de proteínas en la base de un gel de poliacrilamida y se le aplica corriente, las proteínas migran por el gel con una velocidad de migración que es relativa al tamaño que tenga la subunidad. Luego de la corrida con electroforesis se toma el gel y se baña con el colorante Coomassie Blue o con plata, y luego la cantidad de proteína puede ser determinada por medio de un escaneo de las líneas en el gel, se compara el área bajo las curvas con una serie de patrones y luego se calculan los porcentajes de las áreas de una banda y de ahí se procede a obtener la cantidad de proteína presente en la muestra (Nollet & Toldrá, 2008).

### 2.11. PROPIEDADES DE CALIDAD EN LA CLARA DE HUEVO EN POLVO

La información presentada corresponde a propiedades nutricionales y de calidad de producto suministrada por una empresa polaca llamada “Ovovita”. En dicha compañía se suministra la información para un producto sin azúcares en el cual su tecnología de procesamiento consiste en quebrado de los huevos, separación de la clara, filtración, proceso de eliminación de los azúcares, pasteurización, secado, empaque y almacenado (Ovovita, 2009).

Dicho fabricante también brinda otra serie de especificaciones sobre el producto tales como las presentadas en el Cuadro 2.2.

**Cuadro 2.2.** Parámetros de calidad de la clara de huevo en polvo (Ovovita, 2009).

<b>Parámetro.</b>	<b>Valor típico.</b>	<b>Valor asegurado.</b>
pH	6,0-8,0	6,0-8,5
Humedad (%)	5-8	máx. 9
Solubilidad (%)	92-95	mín. 92
Contenido de grasa (%)	0,1	máx. 0,2
Contenido de ácido butírico	máx. 10 mg/kg en el producto seco	
Contenido de ácido láctico	máx. 1 g/kg en el producto seco	
Contenido de proteína	82 g a 86 g en cada 100 g de producto seco	

En las propiedades sensoriales se especifica que el producto es un sólido homogéneo el cual no presenta ningún tipo de partícula contaminante y su coloración es homogénea de blanca a crema (Ovovita, 2009).

La página de “Farmers Organic Foods” indica que trabajando un producto pasteurizado, cuyo tamaño de partícula atraviesa en un 100 % el tamiz 80 (0,18 mm) y un 90 % del producto atraviesa el tamiz 100 (0,15 mm). En el Cuadro 2.3 se detallan los parámetros de calidad que presenta el producto de dicha empresa.

**Cuadro 2.3.** Parámetros de calidad de la clara de huevo en polvo según especificaciones de F.O.F.

<b>Parámetro</b>	<b>Valor aproximado</b>
Humedad (%)	8 máximo
Proteína (%)	80 mínimo
pH	6 a 8,8
Azúcares reductores (%)	Menos de 0,1
Coliformes	10/g máximo

\*Fuente: F.O.F International, 2010.

En el Cuadro 2.4 se presentan las propiedades nutricionales del producto comercial.

**Cuadro 2.4.** Información nutricional de la clara de huevo en polvo.

<b>Información nutricional</b>	
<b>Tamaño de la porción: 100 g</b>	
Calorías	376
Calorías de grasa	0
Grasa total (g)	0
Grasa saturada (g)	0
Colesterol (mg)	0
Sodio (mg)	1238
Calcio (mg)	89
Proteína (g)	82,40

\*Fuente: F.O.F International, 2010.

## **2.12. EMULSIONES**

Una emulsión se genera cuando se dispersa un material difícil de mezclar en otro por medio de mezcla, molino coloidal u homogenización. Las cualidades activas de la superficie de productos por ejemplo la lecitina las hacen agentes emulsificantes muy efectivos, ya que

reducen el tiempo de mezclado y a la vez mantienen la estabilidad de la mezcla. Las propiedades que hacen a la lecitina tan efectiva son que en su superficie posee propiedades hidrofóbicas e hidrofílicas a la vez, lo cual hace que sea un buen agente para la dispersión de otra sustancia (American Lecithin Company, 2009).

## **CAPÍTULO 3**

### **MATERIALES, EQUIPO Y METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

En este capítulo se describen los materiales, el equipo y la metodología experimental que fue empleada para cumplir con el objetivo del presente proyecto. Además, se incluyen las características de las materias primas, los equipos y reactivos que fueron utilizados.

El objetivo general de este proyecto es obtener clara de huevo en polvo por medio de secado por aspersión, utilizando el secador “Mini Spray Dryer B-290” de la marca Büchi (Suiza), que responda a parámetros de calidad establecidos internacionalmente. Se evaluarán por medio de un diseño experimental de superficie de respuesta cuáles son las condiciones de operación para la obtención del producto. Los procesos de secado y las determinaciones posteriores de calidad se realizaron en el Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot).

Para cumplir con dicho objetivo se plantearon y realizaron tres etapas. La primera de ellas, consistió en una serie de ensayos preliminares con el fin de establecer el método para la preparación de las muestras y las condiciones de operación del equipo de secado. La segunda, consistió en la ejecución del plan experimental que se definió con las condiciones de operación obtenidas de las pruebas preliminares. Y por último, en la tercera etapa, se realizaron una serie de corridas de comprobación del modelo obtenido.

### **3.1. MATERIALES**

En esta sección se detallan los diferentes materiales que fueron empleados durante la realización del proyecto, entre ellos se destacan los huevos, los reactivos y los equipos empleados.

#### **3.1.1 MATERIA PRIMA**

Como principal materia prima se tienen los huevos, los cuales fueron adquiridos en la misma granja, con el fin de tener una mayor homogeneidad en la materia prima empleada. De los mismos se empleó únicamente la clara, para separar la clara se tomaban los huevos, se quebraban y por medio de un instrumento de cocina se separaba la clara de la yema, al

tener el producto separado se aplicaba en el mismo la dilución másica con la cual se trabajaría en el proceso de secado. La granja de la cual fueron adquiridos es la “Granja Avícola Don Antonio”, ubicada en Turrúcares de Alajuela, en dicha granja se tiene la particularidad que ellos producen el alimento de las aves según la especificación que se presenta en el Anexo 1, con lo cual se garantiza que las aves siempre comen el mismo tipo de alimento lo que aporta una mayor homogeneidad a la calidad de los huevos. Las razas de gallinas en la granja son: Isa Brown y Hy Line.

### 3.1.2 REACTIVOS

Para las diferentes etapas y los correspondientes análisis, se utilizaron una serie de reactivos cuyas características se detallan en el Cuadro 3.1.

**Cuadro 3.1.** Reactivos utilizados para el desarrollo de las etapas experimentales del proyecto.

<b>Reactivo</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Pureza</b>	<b>Calidad</b>
Agua de ósmosis	CENIBiot	4 $\mu$ S	Pro-análisis
Brilliant Blue G 250	Sigma-Aldrich	-	Para microscopia
Metanol	Merck	95 %	Pro-análisis
Ácido fosfórico A.C.S	Fermont	85 %	Pro-análisis
Albúmina de suero bovino (BSA)	Sigma-Aldrich	---	Pro-análisis
Etanol	Fanal	70 %	---
Alconox	Sigma-Aldrich	---	---

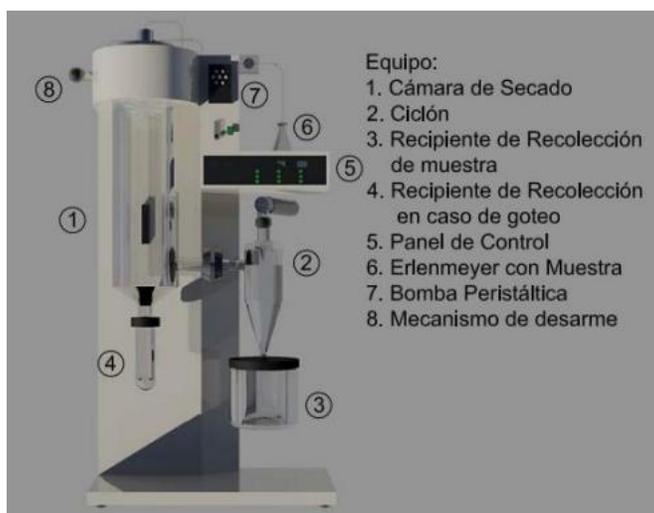
### 3.1.3 EQUIPO EXPERIMENTAL

En el Cuadro 3.2 se especifican los principales equipos requeridos en las diferentes etapas de la experimentación. Además de dichos equipos, se utilizó la cristalería del CENIBiot.

En la Figura 3.1 se ilustran los principales equipos utilizados en la realización del presente proyecto.

**Cuadro 3.2.** Equipo empleado para la realización del proyecto.

Equipo	Fabricante	Ámbito
Secador por aspersión	Büchi	0-1 L/h H <sub>2</sub> O
Balanza de humedad	Shimadzu	0-60 g
Micropipeta	Eppendorf	0,5-5 mL
Micropipeta	Thermo Scientific	5-50 $\mu$ L
Medidor de actividad del agua	AquaLab	0,03-1,000
Autoclave	Tuttnauer	0-2,81 kg/cm <sup>2</sup>
pH-metro	WTW InoLab	0,00-14,00
ColorFlex EZ	Hunterlab	400-700 nm
Balanza	Mettler Toledo	0-220 g
Balanza	A&D	0-1 210 g
Cámara de flujo laminar	ESCO	---
Agitador magnético con control de temperatura	Fisher Scientific	0-1 200 rev/min; 0-300 °C
Agitador vortex	Velp Scientifica	0-3 000 rev/min
Espectrofotómetro	PerkinElmer	190-1 100 nm
Baño ultrasónico	Fisher Scientific	---



a.



b.



c.

**Figura 3.1.** Equipos utilizados para el secado, medición de humedad y determinación del  $a_w$ , a) Secador por aspersión, b) Medidor de  $a_w$ , c) Balanza de humedad.

### 3.2. PRIMERA ETAPA

Durante la primera etapa, tras la revisión bibliográfica, se determinaron cuáles son las condiciones de secado indicadas en la literatura para la obtención de clara de huevo en polvo. Tras la revisión, se plantean una serie de ensayos preliminares con el fin de poder ajustar los niveles de las variables, y poder decidir cuáles de las mismas serán empleadas en el diseño estadístico que será seleccionado. En el Cuadro 3.3 se presentan las variables que se analizaron como variables predictoras y los niveles encontrados en la literatura. Estas condiciones de operación se muestran en el Cuadro 3.3, y fueron tomadas como referencia para realizar las pruebas preliminares de secado, con el fin de establecer de manera experimental los rangos de operación con los cuales se realizó el diseño estadístico experimental que se plantea en la sección 3.5.

**Cuadro 3.3.** Definición de los niveles preliminares de las variables, según las referencias bibliográficas.

<b>Variable</b>	<b>Niveles empleados</b>	<b>Referencia bibliográfica</b>
Nivel de dilución de la clara	25 %/50 % (dilución másica). 50 %/50 % (dilución másica).	Ignário & Caetano da Silva Lannes, 2007.
Flujo en la bomba peristáltica	1,7 mL/min. 3,2 mL/min.	Ignário & Caetano da Silva Lannes, 2007.
Temperatura	Se menciona una temperatura máxima de trabajo de 180 °C esto en la primera y segunda referencia y en la tercera se menciona una temperatura de trabajo de 165 °C.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bhandari, Bansal, Zhang, &amp; Schuck, 2013.</li> <li>• Nys, Bain, &amp; Van Immerseel, 2011.</li> <li>• Belitz, Grosch, &amp; Schieberle, 2009.</li> </ul>
Flujo de aire de secado	En las dos primeras referencias no se toma el flujo de aire como una variable relevante al proceso. En la tercera referencia se toma el flujo de aire como un valor fijo en el estudio que se realiza.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ignário &amp; Caetano da Silva Lannes, 2007.</li> <li>• Ayadi, Khemakhem, Belgith, &amp; Attia, 2008.</li> <li>• Rannou et al, 2015.</li> </ul>

Para los ensayos preliminares se empleó la metodología que se describe a continuación:

1. Se separó la clara de la yema por medio de un instrumento de cocina, las claras de tres huevos fueron colocadas en un beaker. Posteriormente al tener las claras ya

separadas por medio de un instrumento para medición de masa se procedió a remover la chalaza, la cual es un cordón enrollado que mantiene la yema en el centro del huevo (Vaclavik & Christian, 2008). Se removió dicho componente con el fin de evitar problemas de obstrucción en la boquilla de aspersión.

2. De manera paralela se pone en operación el equipo de secado: se enciende el equipo de secado, luego el deshumidificador y por último se abre la línea de aire. Posteriormente, se regula el flujo de aire por medio de un rotámetro y se pone en operación el soplador localizado a la salida del ciclón de separación del equipo. Tras la estabilización del soplador se realiza una revisión de la presencia de fugas en las conexiones del equipo, por medio del empleo de un atomizador con alcohol. Si el equipo no presenta fugas se arranca el sistema de calentamiento para iniciar a una temperatura de 120 °C.
3. Se pesó un erlenmeyer y en el mismo se agregó la matriz obtenida en el paso 1 y en un beaker se coloca una muestra de clara y se le mide el pH. A la matriz se le agrega agua de ósmosis con el fin de obtener la dilución requerida en una proporción masa/masa. Esta condición de dilución varía según las condiciones de la prueba que se estuvieran llevando a cabo. Luego se coloca una pastilla de agitación y se agita por al menos 5 minutos, para homogeneizar la muestra. De la disolución obtenida se conserva una cierta muestra en un tubo tipo Falcón para realizar una determinación del contenido proteico de la muestra. Dicho tubo tipo Falcón fue colocado en congelación, para su conservación. Se debe señalar que solo para los primeros ensayos preliminares se guardó el producto con la dilución másica, para el resto de corridas se procedió a guardar la clara sin diluir.
4. De la disolución obtenida en el paso 3, se miden 100 mL en un balón aforado y se colocan en un erlenmeyer de 125 mL en el cual también se coloca una pastilla de agitación. Esta es la muestra que se alimenta al equipo. Dicha muestra debe mantenerse en una plantilla con agitación.
5. Cuando el equipo alcanza una temperatura de 120 °C se inicia la alimentación con agua de ósmosis por medio de la bomba peristáltica. De manera paralela se aumenta

de forma periódica la temperatura en intervalos de 20 °C hasta lograr conseguir la temperatura a la cual debe operar el equipo.

6. Cuando el equipo alcanza la temperatura de operación se regulan las pulsaciones de limpieza de la boquilla de aspersión en el valor deseado, y por 5 minutos se permite que el equipo se estabilice en las condiciones de operación.
7. Transcurridos los 5 minutos de estabilización de las condiciones de operación se cambia la manguera de alimentación al erlenmeyer que contiene el producto que va a ser secado, el cual se debe mantener a lo largo de todo el tiempo de secado bajo constante agitación. El momento en que la manguera es colocada en el erlenmeyer del producto se toma como el tiempo inicial del proceso de secado.
8. Tras acabar de pasar la muestra, se debe cambiar nuevamente la manguera de alimentación de la bomba peristáltica a un erlenmeyer que contiene agua de ósmosis y se permite que el equipo opere por 5 minutos con el agua, con el fin de realizar una limpieza de la línea de alimentación.
9. Transcurridos los 5 minutos se apaga la bomba peristáltica y seguidamente se inicia el enfriamiento del equipo bajando la temperatura en intervalos de 20 °C, hasta alcanzar la temperatura de 120 °C en la cual se apaga el calentador de aire y se permite que el equipo se enfríe únicamente por medio del flujo de aire. Se permite este enfriamiento hasta que se alcance una temperatura a la salida de aproximadamente 55 °C que permite la manipulación del ciclón y el recipiente de recolección de muestra.
10. Se desmonta el ciclón separador, y se traslada a la cámara de flujo laminar donde se cuenta con una serie de tubos tipo Falcón, previamente pesados y esterilizados. Se abre el ciclón y se procede a recuperar el producto seco en los tubos tipo Falcón y se determina su masa. Los tubos con el producto seco se almacenan para realizar pruebas de calidad posteriormente.
11. En la mayoría de los casos tras cada corrida se desmontó y lavó únicamente la parte del equipo que corresponde al ciclón y al recipiente de recuperación de la muestra.

### **3.3. VARIABLES DE RESPUESTA Y SU DETERMINACIÓN**

Tras la operación de secado y la recuperación del producto en polvo, al mismo se le realizó la determinación de humedad, de actividad del agua y a la redispersión en agua de dicho producto en polvo se le determinó su contenido de proteína y su pH. Seguidamente, se presenta una breve descripción de cómo se llevaron a cabo dichas determinaciones y las condiciones empleadas en las mismas.

#### **3.3.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD**

A las muestras obtenidas durante los ensayos preliminares se les determinó el contenido de humedad final con el fin de comparar con los valores recomendados la efectividad de las condiciones de secado empleadas. Dicho ensayo se llevó a cabo en una balanza de humedad de la marca Shimadzu, empleada en modo automático de manera que cuando no se presenta un cambio en la masa de la muestra por 30 s, finaliza la determinación. Esta balanza para el secado de la muestra utiliza una lámpara de halógeno, la cual garantiza una medición muy precisa. El procedimiento para la utilización de dicho equipo se detalla en el Anexo 4.

#### **3.3.2 DETERMINACIÓN DEL $A_w$**

Para la determinación del  $a_w$ , se empleó el medidor de actividad del agua descrito en el Cuadro 3.2. Al cual antes de la medición del producto seco se le debe realizar una verificación de la calibración, esto por medio de la determinación de una muestra de agua de osmosis, la cual debe presentar un resultado de  $1,000 \pm 0,003$ . Para realizar las determinaciones de la actividad del agua en las muestras se debe seguir la metodología que se presenta en el Anexo 5.

#### **3.3.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA**

Para la determinación del contenido de proteínas en la muestra se utilizó el método de Bradford, siguiendo la metodología descrita por Araya Matthey (2013). En el mismo, las absorbancias de las muestras se miden a 590 nm. Previo a las mediciones debe hacerse una curva de calibración de la absorbancia en función de la concentración de proteína,

utilizando un patrón de albúmina de suero bovino (BSA). El procedimiento para la determinación del contenido de proteína se describe en el Anexo 6.

### 3.3.4 DETERMINACIÓN DEL PH

Se le determinó el pH a la muestra tanto de producto puro como al producto redispersado. Se verifica que el pH-metro esté calibrado y posteriormente se realiza la medición a la muestra, en el equilibrio. Entre muestra y muestra se lava por triplicado con agua de ósmosis la membrana de medición.

## 3.4. VARIABLES DE DISEÑO, NIVELES Y VARIABLES DE RESPUESTA SELECCIONADAS TRAS LOS ENSAYOS PRELIMINARES

Tras los ensayos preliminares se establecieron las variables respuesta a analizar: contenido de humedad del producto seco, actividad del agua, determinación del contenido de proteína y del pH del producto redispersado. A su vez, en el Cuadro 3.4 se presentan las variables predictoras que fueron tomadas en cuenta para el diseño estadístico experimental, y el rango de operación en el cual se estudiaron.

**Cuadro 3.4.** Variables predictoras a ser estudiadas y rango de estudio de las mismas.

<b>Variable</b>	<b>Valor mínimo</b>	<b>Valor máximo</b>
Temperatura del aire (°C)	162	180
Flujo de producto (% bomba peristáltica)	10	24
Flujo del aire (mm del rotámetro)	30	50

## 3.5. SEGUNDA ETAPA: DISEÑO ESTADÍSTICO EXPERIMENTAL

Como objetivo de la segunda etapa del proyecto se tuvo la definición de un diseño estadístico, que permite evaluar el efecto de las variables predictoras sobre las variables de respuesta. Dichas variables fueron previamente seleccionadas en base a los resultados obtenidos de los ensayos preliminares.

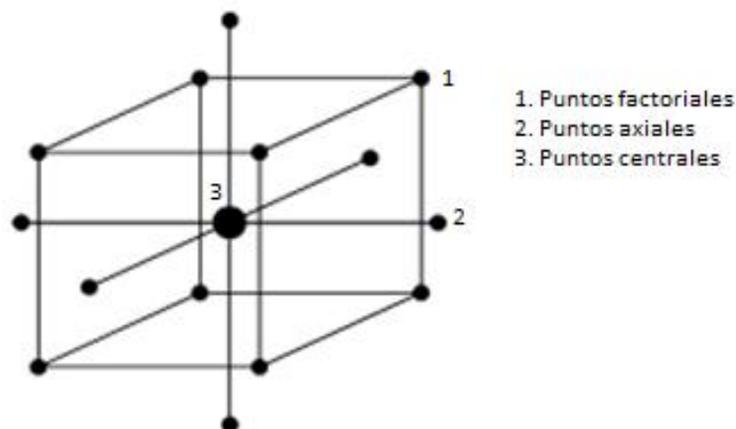
El diseño planteado es un diseño central compuesto (DCC), el cual, según indica Hui (2005) consiste en un diseño factorial completo del tipo  $2^k$  con una serie de puntos estrella, o axiales ( $2k$ ),  $n_c$  puntos centrales y  $2^k$  puntos factoriales (donde  $k$  representa el número de

factores independientes del diseño experimental). Donde los puntos estrella están localizados en los ejes principales, a la misma distancia del centro que los puntos factoriales. Se tiene entonces que tanto los puntos factoriales como los puntos estrellas se localizan en una hiper-esfera alrededor del centro del diseño. En la Figura 3.2 se muestra la distribución de los tratamientos alrededor del cubo.

El punto central es a su vez replicado con el fin de poder determinar el error estadístico. En este tipo de diseño se ven implicados cinco niveles diferentes para cada factor, estos se codifican como  $(-\alpha, -1, 0, 1, \alpha)$ . Donde  $\alpha$  corresponde a la distancia que hay del centro a un punto estrella (Hui, 2005).

Como se mostró en la sección anterior se decidió emplear tres variables predictoras, las cuales son: flujo de producto, flujo de aire y temperatura de ingreso del aire. Para un modelo en que se tienen tres factores, se cuenta con las siguientes condiciones (Hui, 2005):

- El valor de  $\alpha$  corresponde a 1,68.
- Se deben realizar 8 tratamientos factoriales.
- Se cuenta con 6 puntos estrella o axiales.
- Hay 6 repeticiones al centro del diseño.
- El número total de tratamientos corresponde a 20.



**Figura 3.2.** Geometría de un diseño central compuesto de tres factores

Fuente: Hui, 2005.

En el Cuadro 3.5 se muestran las variables que serán empleadas en el análisis, junto con sus niveles en tanto que en el Cuadro 3.6, se presentan las 20 corridas que se realizaron según el diseño elegido.

**Cuadro 3.5.** Condiciones de operación para el plan definitivo, según las variables codificadas.

Variable independiente	Magnitud				
	-1,68	-1	0	1	1,68
Flujo de producto/(% Bomba Peristáltica)	10	12,83 (13)	17	21,17 (21)	24
Temperatura de alimentación/(°C)	162	165,64 (166)	171	176,36 (176)	180
Flujo de aire/(mm Rotámetro)	30	34,05 (34)	40	45,95 (46)	50

**Cuadro 3.6.** Ensayos a realizar con un diseño central compuesto de tres factores (Hui, 2005).

Tratamiento	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	1,00	1,00	-1,00
2	-1,00	1,00	-1,00
3	1,00	-1,00	-1,00
4	-1,00	-1,00	-1,00
5	1,00	1,00	1,00
6	-1,00	1,00	1,00
7	1,00	-1,00	1,00
8	-1,00	-1,00	1,00
9	1,68( $\alpha$ )	0,00	0,00
10	-1,68(- $\alpha$ )	0,00	0,00
11	0,00	1,68( $\alpha$ )	0,00
12	0,00	-1,68(- $\alpha$ )	0,00
13	0,00	0,00	1,68( $\alpha$ )
14	0,00	0,00	-1,68(- $\alpha$ )
15	0,00	0,00	0,00
16	0,00	0,00	0,00
17	0,00	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00

Con las variables ya seleccionadas y el diseño definido se utilizó un generador aleatorio de números con el fin de darle aleatoriedad a las corridas experimentales. De la experiencia con los ensayos preliminares se encontró que es posible realizar tres corridas por día. Por lo tanto de las corridas presentadas en la Cuadro 3.6, se aleatorizaron las corridas de la 1 a la 14, y para los puntos centrales los mismos se decidieron correr uno cada día. Con el fin de poder ver el comportamiento de los puntos centrales día a día.

El análisis de los resultados fue llevado a cabo por medio del software estadístico Minitab<sup>®</sup>, R, así como por medio del programa JMP<sup>®</sup>.

### **3.6. SEGUNDA ETAPA: EJECUCIÓN DEL PLAN EXPERIMENTAL**

La metodología empleada en la ejecución del plan experimental no difiere sustancialmente a la descrita en la sección 3.2, y únicamente se modificaron los puntos que se detallan a continuación:

1. La separación inicial de la clara de los huevos se realizó para aproximadamente 9 o 10 huevos por día, para poder tener una sola matriz de producto para las tres corridas del día. Dicha matriz de producto entre corrida y corrida se almacenó en refrigeración en un erlenmeyer de 500 mL tapado con papel aluminio, con el fin de evitar una degradación de la proteína y una evaporación del producto. Como la matriz de producto se encuentra refrigerada se debe tomar la previsión de obtener las muestras con suficiente tiempo antes de dar inicio al proceso de secado, con el fin de que todas las muestras tengan la misma temperatura al dar inicio al proceso de secado.
2. A la hora de recuperar la muestra de producto sólido en la cámara de flujo laminar se utilizaron 7 tubos tipo Falcon de 15 mL (previamente autoclavados). En 6 de ellos se colocó aproximadamente 0,5 g del producto seco y en el séptimo tubo se colocó el restante producto. Dicha distribución, se realiza ya que en pruebas preliminares se encontró que el producto es sumamente higroscópico. Por ende, para no estar abriendo y cerrando el tubo varias veces para las pruebas de calidad, y

afectar los resultados entre prueba y prueba, se decidió separar la muestra en tubos diferentes los cuales serán empleados una única vez.

3. Entre una corrida y otra se desmontaron todas las partes de vidrio del equipo y se lavaron.
4. La determinación de la humedad y el  $a_w$  se realizó por triplicado, utilizando una masa de 0,5 g para cada determinación. La masa para la determinación de humedad se midió en la misma balanza de humedad, y la masa para la determinación del  $a_w$  se midió en una balanza analítica.
5. Se realizaron 2 días continuos de corridas en el secador y posteriormente el tercer día fue empleado para aplicar el método de Bradford en la determinación de la cantidad de proteína. Las muestras tanto de clara pura como de producto seco se conservaron en congelación.

### 3.7. TERCERA ETAPA: CORRIDAS DE COMPROBACIÓN

Tras la conclusión de la segunda etapa del proyecto, los datos experimentales fueron introducidos y analizados en el software Minitab® y luego, se realizó una optimización de la función de superficie de respuesta obtenida. Para dicha optimización se introducen al programa las condiciones finales u objetivo que se desean obtener en cada una de las variables de respuesta y el programa muestra las condiciones a las que se debe operar el equipo, en las variables de diseño estudiadas y finalmente muestra intervalos con las respuestas que se deben obtener de dicha corrida. En el Cuadro 3.7 se presentan las condiciones que se introdujeron para cada variable de respuesta.

**Cuadro 3.7.** Condiciones de optimización de las variables de respuesta.

<b>Variable respuesta</b>	<b>Condición de optimización</b>
Humedad	Valor objetivo de 8 %
$a_w$	Valor mínimo
Recuperación de masa	Valor máximo

En el Cuadro 3.8 se detallan los valores a los cuales se debe operar el equipo, para obtener las condiciones solicitadas, dichas condiciones de operación son las que serán empleadas en

las corridas de comprobación del modelo, cuya metodología se detalla en la siguiente sección.

**Cuadro 3.8.** Condiciones de operación de las variables de diseño, predichas por el programa.

<b>Variable de diseño</b>	<b>Condición de operación</b>
Flujo de aire (Rotámetro)	50 mm
Flujo de producto (Bomba peristáltica)	24 %
Temperatura	176 °C

### 3.7.1 CORRIDAS DE COMPROBACIÓN DEL MODELO

Tras la obtención de las condiciones de operación mostradas en el Cuadro 3.8, y siguiendo la metodología descrita en la sección 3.6 se llevaron a cabo 3 corridas de comprobación del modelo. Dichas corridas se realizaron a las mismas condiciones de operación (Cuadro 3.8) ya sea para obtener un promedio, o bien analizar las 3 por separado. A las muestras de producto seco obtenidas se les determinaron las mismas pruebas de calidad que a las muestras de las corridas del plan experimental.

Posteriormente, se realizó una corrida adicional en la cual se secaron alrededor de 600 mL de producto con las condiciones de operación descritas en el Cuadro 3.8. La única variante fue la cantidad del producto a secar y, que en esta etapa, se realizó un lavado a los huevos antes de abrirlos para separarlos. Dicha muestra fue almacenada en 5 tubos tipo Falcon de 50 mL, previamente autoclavados. De dicho producto seco se tomó una muestra de aproximadamente 25 g y se envió a la escuela de Microbiología de la Universidad de Costa Rica para evaluar la presencia o ausencia de *Salmonella* sp. en el producto. Además, a una muestra de aproximadamente 12 g se le realizó una prueba de color en la escuela de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, dicha prueba fue llevada a cabo por medio del equipo ColorFlex EZ del fabricante Hunterlab.

### 3.7.2 OBTENCIÓN DE MUESTRA PARA LA PRUEBA DE *SALMONELLA* SP. Y LA DETERMINACIÓN DEL COLOR DE LA MUESTRA

Como parte de las pruebas de calidad para las muestras de las corridas de comprobación se determinó el color de ellas. Para la preparación de la disolución para el secado, el día que se preparó la muestra se lavó cada uno de los huevos justo antes de abrirlo con el fin de poder retirar cualquier tipo de contaminación que estuviera presente en la cáscara y evitar así que por contacto de la misma con la clara se diera algún tipo de contaminación cruzada. A su vez, antes de la preparación de la disolución y durante la manipulación de la misma se tuvo un lavado constante de manos. Esto debido a que parte de la muestra de producto seco obtenida en esta corrida se envió a un laboratorio especializado para que sea analizada la presencia o ausencia de *Salmonella* sp.

Para la determinación del color se utiliza el equipo ColorFlex EZ. Dicho equipo mide el color de la muestra por medio de tres ejes, el eje a en sus valores negativos representa tonalidades verdes, y en sus valores positivos representa el color rojo, a su vez los valores negativos del eje b representan el color azul y los valores positivos representan el color amarillo. Por último, el eje L el cual tiene una escala de 0 a 100, para la cual el 0 equivale a color negro y el 100 al blanco. Dicho equipo realiza las determinaciones en una geometría de 45°/0°, lo cual hace que las muestras se vean tal como lo hace el ojo humano. Para dicha medición se sigue la metodología que se presenta:

1. Primeramente se enciende tanto el equipo como la computadora en la cual se realizará la adquisición de datos. Se abre el programa que permite la operación del equipo.
2. Se toman los patrones de calibración de la caja y se revisa que los mismos se encuentren limpios, y libres de polvo y de cualquier tipo de rayón. En caso de estar sucios deben ser limpiados por medio de una toalla de papel.
3. Posteriormente, del menú principal se selecciona la opción de estandarización, y en la pantalla de la computadora se presentan los cuadros de diálogo que indican que se debe colocar el patrón negro y luego el patrón blanco.

4. Tras la calibración con los patrones se toma de la caja un estándar y se le indica al equipo que se realizará la lectura de un estándar. Dicho estándar cuenta con un valor y ciertos valores de tolerancia aceptable en la medición. Es por medio de esta lectura que se corrobora la correcta calibración del equipo.
5. Se procede a tomar una de las cápsulas de vidrio grandes, la misma se limpia con papel toalla para evitar cualquier tipo de suciedad. En dicha cápsula se colocan 2 g del producto en polvo y por medio de una serie de golpes en la cápsula se asegura que el producto cubra toda la superficie de la misma.
6. Se coloca la cápsula en el espacio para la medición y la misma se cubre con el protector del equipo con el fin de evitar interferencias en la medición por la luz externa.
7. Se realiza el procedimiento de medición por triplicado.

## CAPÍTULO 4

### ANÁLISIS DE RESULTADOS EXPERIMENTALES

En la presente investigación se llevó a cabo el secado de la clara de huevo a partir de huevos enteros los cuales se separaron de manera manual, y se les dio un tratamiento para el secado. Para cumplir con tal fin fue necesario dividir el proyecto en las etapas descritas en el apartado anterior.

En el presente capítulo se presenta el análisis de los resultados experimentales de cada una de las etapas que fueron llevadas a cabo.

#### 4.1. PRIMERA ETAPA: ENSAYOS PRELIMINARES

Estos ensayos tuvieron como propósito establecer una metodología de preparación de las muestras y análisis de los productos obtenidos, definir cuáles iban a ser las variables que serían empleadas, así como establecer los niveles que se les asignaría a las mismas.

Para conseguir dicho objetivo lo primero que se realizó fue una revisión bibliográfica en la cual a partir de trabajos previos con equipos de secado similares y productos similares se procedió a tomar una base para dar inicio a los ensayos preliminares. Inicialmente se tenía claro que por cuestiones del equipo y del producto se podrían tener 3 o 4 variables para el análisis, las cuales corresponden a: flujo de aire, flujo de producto, temperatura de ingreso del aire y razón de dilución del producto. Por consiguiente con las variables que afectan el proceso se proponía realizar un diseño experimental que fuera del tipo factorial o factorial fraccionado  $2^3$  ó  $2^{4-1}$  respectivamente.

Por medio de la revisión de los artículos “Preparation of powdered egg yolk using a mini spray dryer” de Ignário y Caetano (2007) y “Effect of Moderate Spray Drying Conditions on Functionality of Dried Egg White and Whole Egg” presentado por Ayadi et al., (2008), en los cuales se trabaja con equipos de secado de la compañía Büchi, se observó que en ninguno de estos dos artículos se toma el flujo de aire como una variable trascendental de análisis del proceso. En el primer artículo mencionado se toman en cuenta como variables de estudio la temperatura de ingreso del aire, el flujo de producto, el vacío y la dilución del

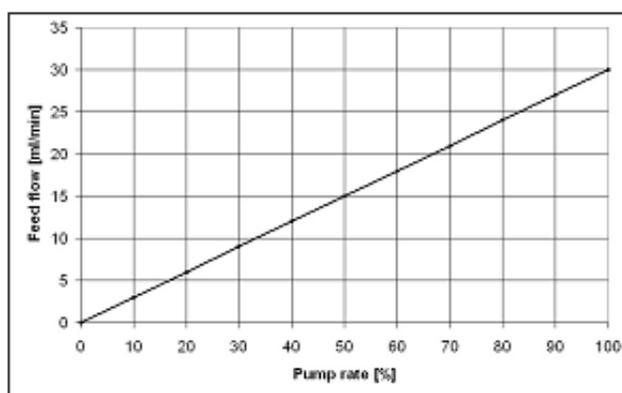
producto. En el segundo artículo las variables de estudio son la temperatura de ingreso y el tiempo de residencia del producto en la cámara de secado, el cual está relacionado con el flujo de producto a secar que se alimenta. En la revisión del artículo presentado por Rannou et al., (2015) titulado: “Effect of spray-drying and storage conditions on the physical and functional properties of standard and n-3 enriched egg yolk powders” se encontró que el flujo de aire durante el proceso de secado se mantuvo como una variable fija.

Considerando la información anterior, se decidió que para los ensayos preliminares el flujo de aire sería tomado como una variable fija. Dicha variable se tomó como la lectura de altura del rotámetro a 30 mm, y como se puede apreciar en el Cuadro 4.1 tomado del manual del secador por aspersión este valor corresponde a un flujo de aire de 439 L/h a condiciones estándar de temperatura y presión.

Para lo referente a los parámetros de flujo de producto y dilución del mismo se procede a realizar una consulta nuevamente en el artículo “Preparation of powdered egg yolk using a mini spray dryer” en el cual hacen uso de unos factores de dilución másica del 25 % y del 50 %, ellos utilizan la yema del huevo. Sin embargo, para evitar problemas de bloqueo en la boquilla por aspersión se trabajaron los ensayos preliminares a estas mismas condiciones de dilución. En lo referente al flujo de producto, Ignário y Caetano da Silva (2007) en su artículo emplean valores de 1,7 mL/min y 3,2 mL/min. En consecuencia para los ensayos preliminares se utilizaron niveles de 2,0 mL/min y 3,5 mL/min. El porcentaje al que debe ser colocada la bomba peristáltica para poder obtener dichos flujos se puede obtener por medio del uso de la curva de calibración que se muestra en la Figura 4.1.

**Cuadro 4.1.** Datos de operación del rotámetro del flujo de aire (Büchi, s.f).

Altura (mm)	Flujo de aire/(L/h)	Caída de presión (bar)	Flujo volumétrico (a presión y temperatura estándar)/L/h
5	84		
10	138		
15	192		
20	246	0,15	283
25	301	0,18	355
30	357	0,23	439
35	414	0,30	538
40	473	0,41	667
45	536	0,55	831
50	601	0,75	1052
55	670	1,05	1374
60	742	1,35	1744
65	819	1,80	2293

**Figura 4.1.** Curva de calibración de la bomba peristáltica

Fuente: Büchi, s.f

En lo que respecta a la temperatura de ingreso del aire de secado según lo indicado por Bhandari et al., (2013) esta variable en el proceso de secado del huevo rara vez suele exceder los 180 °C. A su vez Nys, Bain y Van Immerseel (2011) mencionan que la temperatura típica de trabajo para la clara del huevo es de 180 °C. De la revisión del libro Food Chemistry (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009) se menciona que la condición de secado por aspersión de la clara del huevo se lleva a cabo a una temperatura de 165 °C. Por ende, las condiciones de temperatura que se proponen abarcan un rango que va de los 165 °C a los 180 °C. Para la selección de la temperatura de alimentación del aire de secado

se revisó una ficha técnica de la compañía Ballas Egg Products Corp, en la cual se indica que el producto no es inflamable, por lo tanto no se debe tener ningún cuidado especial con la temperatura de alimentación del aire para evitar que el producto se inflame en el secador.

#### 4.1.1 PRIMERA ETAPA PRELIMINAR

En el Cuadro 4.2 se presentan los resultados de los cuatro ensayos preliminares, en los cuales se emplearon las condiciones de operación que se mencionaron previamente, así como otras condiciones que se probaron.

**Cuadro 4.2.** Condiciones de operación y resultados de los primeros ensayos preliminares.

Ensayo	Condiciones	Pruebas iniciales	Pruebas tras el secado
1.1	Temperatura: 170 °C	Contenido de	Humedad: 9,98 %
	Flujo: 3,43 mL/min (10 %)	proteína:	$a_w$ : 0,455 y 0,4944
	Dilución: 50 %/50 %	925,33 mg/mL	pH: 10,29
	Flujo de aire, rotámetro: 30 mm	pH: 9,32	Contenido de proteína: 628 mg/mL
1.2	Temperatura: 155 °C	Contenido de	Humedad: 13,66 %
	Flujo: 1,79 mL/min (5 %)	proteína:	$a_w$ : 0,4741
	Dilución: 25 %/75 %	1302,01 mg/mL	pH: 10,5
	Flujo de aire, rotámetro: 30 mm	pH: 9,28	Contenido de proteína: 704,69 mg/mL
1.3	Temperatura: 155 °C	Contenido de	Humedad: 12,78 %
	Flujo: 3,49 mL/min (10 %)	proteína:	$a_w$ : 0,4580
	Dilución: 25 %/75 %	437,88 mg/mL	pH: 9,77
	Flujo de aire, rotámetro: 30 mm	pH: 9,33	Contenido de proteína: 1118,10 mg/mL
1.4	Temperatura: 163 °C	Contenido de	Humedad: 11,7 %
	Flujo: Indeterminado (7 %)	proteína:	$a_w$ : 0,4551
	Dilución: 37,5 %/62,5 %	987,66 mg/mL	pH: 10,43
	Flujo de aire, rotámetro: 30 mm	pH: 9,30	Contenido de proteína: 721,31 mg/mL

Nota: Cabe resaltar que para las pruebas tras el secado tanto en este caso, como en los demás ensayos y corridas definitivas la humedad y el  $a_w$  se determinaron en el producto seco y el pH y contenido de proteína se hacen respecto al producto re dispersado. Todas las relaciones de dilución de estos ensayos como de los posteriores hacen referencia a clara/agua.

En el cuarto ensayo preliminar se presentó un problema con la boquilla de aspersión del equipo, la cual se bloqueó, por lo que no fue posible llegar a determinar el flujo del equipo ya que no se pudo llegar a pasar toda la muestra; sin embargo, no se repitió el ensayo dado que la muestra con la que se contaba en ese momento era suficiente para poder realizar todas las pruebas de calidad necesarias.

En dichos ensayos se pudo notar que se estaba presentando un problema en la forma en la que se calculaba la concentración de proteína en la muestra inicial, ya que se había guardado la clara pero con agua, tras el proceso de dilución másica. Y tras la determinación de la proteína aplicando el método de Bradford, para poder llegar al contenido de proteína en la clara pura se contaba con dos factores de dilución uno másico y el otro volumétrico, lo cual llevó a un problema por falta de datos de la matriz con la dilución. Era necesario haber determinado la densidad de dicha matriz para poder tener el contenido de proteína inicial real, procedimiento que no se realizó. Debido a dicha situación se decidió que para ensayos posteriores se guardaba la clara en su estado puro, y con esto se realizaba únicamente una dilución volumétrica para evitar el problema de tener que determinar la densidad de la muestra.

Debido al problema que se presentó con el bloqueo de la boquilla de aspersión se consultó en la escuela de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, en donde se cuenta con un equipo igual. En dicho lugar ya habían sufrido previamente el problema del bloqueo de la boquilla de aspersión. Entonces con ellos se recibió una capacitación de como desarmar la boquilla para poder colocarla en el baño ultrasónico con el detergente Alconox, y de esta manera realizar una correcta limpieza de la misma y evitar bloqueos. Este tipo de limpieza se aplicó en los siguientes ensayos preliminares.

Para el análisis de los resultados de los ensayos preliminares se tomó como base el parámetro de la humedad, el cual se considera de importancia para el análisis de los resultados. Con los ensayos llevados a cabo en la primera etapa preliminar se puede notar que el valor de  $a_w$  asegura que el producto sea seguro para el consumo humano. Según se indica en la Figura 2.6, a valores de  $a_w$  menores a 0,6 se inhibe el crecimiento de mohos,

levaduras y bacterias. Y como se explica más adelante de revisión de fichas técnicas se espera que el producto seco presente valores de humedad menores a los obtenidos en los primeros ensayos preliminares, por ende se esperan valores menores o similares de  $a_w$ . El parámetro de contenido de proteína no fue tomado como una base confiable de análisis de los resultados ya que como se puede notar en la Figura B.6 en este punto de la investigación aún no se había completado la curva de aprendizaje del método de Bradford, por ende sus resultados no serían los más confiables en las etapas preliminares.

Tomando como base las fichas nutricionales que fueron descritas en el Capítulo 2, para la humedad del huevo se cuenta con que los valores máximos permitidos que van de un 8 % a un 9 %. Como es notorio en el Cuadro 4.2 ninguno de los ensayos realizados cumple con dicho parámetro. Dado que los ensayos de mayor temperatura 1.1 y 1.4 presentaron los valores más bajos de humedad se procedió para la siguiente etapa de ensayos preliminares a emplear condiciones similares en temperatura, solo que esta vez empleando un flujo de aire mayor. Dichos resultados se presentan en el Cuadro 4.3.

#### 4.1.2 SEGUNDA ETAPA PRELIMINAR

Antes de iniciar con los segundos ensayos preliminares se procedió a realizar una limpieza a la boquilla de aspersión, sometiendo sus partes a un baño ultrasónico, utilizando el producto detergente Alconox. Al abrir la boquilla la misma contaba con una importante acumulación de material, el cual no presentaba un buen olor. Por lo tanto, el proceso de lavado en el baño ultrasónico se repitió varias veces. Al dar inicio con el primer ensayo se pudo notar que aún se presentaba la salida de material negro por la boquilla el cual se adhería a las paredes de la cámara de secado. En el segundo ensayo la boquilla también presentó el problema de aspersión de material negro y al final del mismo se presentó un nuevo problema de atascamiento.

**Cuadro 4.3.** Condiciones de operación y resultados de los segundos ensayos preliminares.

<b>Ensayo</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Pruebas iniciales</b>	<b>Pruebas tras el secado</b>
<b>2.1</b>	Temperatura: 180 °C	Contenido de proteína: 265,84 mg/mL	Humedad: 10,05 %
	Flujo: 3,31 mL/min (10 %)		$a_w$ : 0,4061
	Dilución: 50 %/50 %		pH: 10,05
	Flujo de aire, rotámetro: 30 mm		Contenido de proteína: 109,47 mg/mL
<b>2.2</b>	Temperatura: 163 °C	Contenido de proteína: 183,72 mg/mL	Humedad: 8,37 %
	Flujo: 2,51 mL/min (7%)		$a_w$ : 0,2555
	Dilución: 37,5 %/62,5 %		pH: 10,26
	Flujo de aire, rotámetro: 40 mm		Contenido de proteína: 100,52 mg/mL
<b>2.3</b>	Temperatura: 170 °C	pH: 9,35	Humedad: 7,03 %
	Flujo: 3,52 mL/min (10 %)		$a_w$ : 0,2478
	Dilución: 50 %/50 %		pH: 10,27
	Flujo de aire, rotámetro: 40 mm		Contenido de proteína: 98,20 mg/mL

Nota: en dicha etapa y en las posteriores, tal como se mencionó anteriormente, el producto fresco que se almacenó para la posterior determinación del contenido de proteína fue la clara pura.

Como se puede notar de la comparación de los ensayos 2.1 respecto al 1.1 la única condición de operación que se varió fue que se aumentó la temperatura en 10 °C y con respecto a la humedad no se presenta un cambio en la misma, el valor se mantuvo prácticamente igual a pesar de la temperatura más alta que se manejó. De hecho más bien aumenta en el ensayo 2.1 en la cual se esperaba obtener un valor menor. Pareciera que la temperatura no es un factor definitivo si se mantiene fijo el flujo de aire, tal como se estableció en 30 mm del rotámetro. Al realizar una comparación del ensayo 2.2 con respecto al 1.4 se puede notar que el cambio en las condiciones de operación fue de 10 mm más en la lectura del rotámetro del flujo de aire, y con esto en el ensayo 2.2 se obtiene un 4,67 % menos de humedad respecto a la obtenida en el ensayo 1.4. Al comparar el ensayo 2.3 con el 1.1 de igual manera se aumentó el flujo de aire en 10 mm de la escala del rotámetro y con esto se obtuvo un 2,95 % menos de humedad.

De dichas variaciones en las condiciones de operación se puede notar que la variable de flujo de aire es de suma importancia en el proceso y que el mismo presenta una gran influencia en los resultados. A partir de estos resultados se decide incluir el flujo de aire en las siguientes etapas.

#### 4.1.3 TERCERA ETAPA PRELIMINAR

Se plantearon otra serie de ensayos en los cuales se emplearon flujos de aire más altos, con el fin de encontrar cuales son las condiciones máximas de operación con el aire. Además, como se muestra en el Cuadro 4.4 se efectuaron pruebas con valores de dilución más altos esto con el fin de obtener un valor máximo de dilución y fijar esta variable.

**Cuadro 4.4.** Condiciones de operación y resultados de los terceros ensayos preliminares.

Ensayo	Condiciones	Pruebas iniciales	Pruebas tras el secado
3.1	Temperatura: 170 °C Flujo: 3,45 mL/min (10 %) Dilución: 60 %/40 % Flujo de aire, rotámetro: 40 mm	pH: 9,29	Humedad: 7,28 % a <sub>w</sub> : 0,2282 pH: 10,12 Muestra: 4,07 g
3.2	Temperatura: 170 °C Flujo: 3,47 mL/min (10 %) Dilución: 50 %/50 % Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	pH: 9,32	Humedad: 6,65 % a <sub>w</sub> : 0,3357 pH: 10,18 Muestra: 5,26 g
3.3	Temperatura: 170 °C Flujo: 4,81 mL/min (14 %) Dilución: 50 %/50 % Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	pH: 9,37	Humedad: 6,15 % a <sub>w</sub> : 0,1898 pH: 10,23 Muestra: 5,05 g

Como es notorio en el Cuadro 4.4 si se compara el ensayo 3.1 con la 2.3 se puede notar que se disminuye la dilución másica, con lo cual se contó con un producto más concentrado. Al comparar las humedades se puede notar que en el ensayo 3.1 se presenta una humedad ligeramente mayor que en el 2.3 a pesar de tener el producto más concentrado. Dicho resultado se puede deber entre otros motivos a que el flujo de aire se mantuvo como un valor fijo en estas dos corridas y a que a este valor de flujo, el aire de salida sale saturado, sin la capacidad de remover más humedad del producto.

Dichos ensayos presentan humedades muy similares entre sí, además, el ensayo 3.1 se realizó sin ningún tipo de inconveniente tanto en la boquilla como en la cámara de secado. Con ello, se comprobó que el problema de la boquilla de aspersion que se había venido presentando en ensayos anteriores se logró solucionar. Al comparar el ensayo 3.2 con el 2.3 se observa que la humedad disminuyó al tener un mayor flujo, tal como se mencionó anteriormente a mayor flujo de aire mayor capacidad de secado, y por lo tanto, el producto final se obtiene con una menor humedad. Por su parte, en la corrida 3.3 se aumentó el flujo en la bomba peristáltica con lo cual no se tuvo ningún inconveniente de bloqueo de la boquilla.

#### 4.1.4 CUARTA ETAPA PRELIMINAR

Para el caso de los ensayos de la cuarta etapa, los mismos se realizaron con el fin de probar una razón de dilución clara/agua menor, así como flujos de aire menores. También, se incrementó el flujo de producto en la bomba peristáltica todo esto con el fin de poner a prueba cuales son las condiciones máximas a las que se puede operar el equipo. Los resultados de los ensayos preliminares de esta etapa se presentan en el Cuadro 4.5.

**Cuadro 4.5.** Condiciones de operación y resultados de los cuartos ensayos preliminares.

<b>Ensayo</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Luego del secado</b>
<b>4.1</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: 3,51 mL/min (10 %) Dilución: 70 %/30 %	Humedad: 6,23 % a <sub>w</sub> : 0,1723
	Flujo de aire, rotámetro: 40 mm	Muestra: 4,94 g
<b>4.2</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: 4,86 mL/min (14 %) Dilución: 70 %/30 %	Humedad: 6,17 % a <sub>w</sub> : 0,1928
	Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	Muestra: 6,76 g
<b>4.3</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: 6,41 mL/min (18 %) Dilución: 70 %/30 %	Humedad: 7,06 % a <sub>w</sub> : 0,2098
	Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	Muestra: 6,11 g
<b>4.4</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: Indeterminado (14 %) Dilución: 70 %/30 %	Humedad: 8,01 % a <sub>w</sub> : 0,2516
	Flujo de aire, rotámetro: 60 mm	Muestra: indeterminada

En dichos ensayos al igual que en los anteriores no se llevó a cabo la prueba de Bradford. En el primer ensayo (4.1), la boquilla realizó el proceso de aspersión únicamente por un lado, esto se pudo notar porque la impregnación del producto se dio únicamente en uno de los lados de la cámara de secado. Dicho proceso provocó la acumulación de una gran cantidad de masa en el recipiente de la parte baja de la cámara de secado y por esto la diferencia de masa que se aprecia entre el ensayo 4.1 y el resto de ensayos de esta etapa.

La acumulación de material en las paredes de la cámara de secado del primer ensayo fue producto de una mala atomización de la boquilla y no producto del factor de dilución al cual se trabajó, ya que para el resto de corridas se trabajó a la misma dilución y no se presentó dicho problema. Para estos ensayos se lograron obtener humedades adecuadas que cumplen con la norma internacional establecida. En el último ensayo (4.4), trabajando a un flujo de aire de 60 mm en el rotámetro costó mucho estabilizar el equipo y las condiciones de operación. Dicho problema puede deberse a que el máximo valor de flujo de aire del rotámetro es de 65 mm, y al trabajar en los valores límites se presentan lecturas erróneas o bien lecturas oscilantes, lo que repercute en la estabilización de las condiciones de operación. En el ensayo 4.4 el secador en cierto punto del proceso se reinició mostrando en la pantalla el siguiente mensaje “Err 101”. Este error que se presentó puede tener una relación directa con el valor de humedad que se obtuvo en dicha corrida, ya que se trabajó al mayor flujo de aire, por lo cual se esperaba obtener una menor humedad. Y comparando el ensayo 4.4 con el 4.2 se nota que el 4.4 presenta una humedad mucho mayor.

Para el día siguiente de que se presentó esta situación, ya se tenía coordinada la visita del técnico del equipo para una revisión del mismo. Se consultó con el mismo sobre el flujo del aire y el error que se había presentado y la recomendación fue no utilizar flujos superiores a 50 mm del rotámetro, ya que se pueden presentar este tipo de situaciones por la gran cantidad de aire que debe manejar el equipo.

#### 4.1.5 QUINTA ETAPA PRELIMINAR

Posterior a las recomendaciones técnicas se realizaron dos ensayos más en los cuales se trabajó con menor dilución en el producto, así como un mayor flujo de producto que se

alimenta al sistema, con el fin de comprobar si a dichas condiciones se presentan problemas ya sea de aspersión del producto o bien de recuperación del mismo. Los resultados de dichos ensayos se presentan en el Cuadro 4.6.

**Cuadro 4.6.** Condiciones de operación y resultados de los quintos ensayos preliminares.

<b>Ensayo</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Inicio</b>	<b>Luego del secado</b>
<b>5.1</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: 5,06 mL/min (14 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 223,43 mg/mL	Humedad: 4,86 %  a <sub>w</sub> : 0,174  pH: 10,22 Contenido de proteína:
	Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	pH: 9,02	180,23 mg/mL Muestra: 6,9 g
<b>5.2</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: 7,69 mL/min (22 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 223,92 mg/mL	Humedad: 5,14 %  a <sub>w</sub> : 0,1765  pH: 10,18 Contenido de proteína:
	Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	pH: 9,22	-122,49 mg/mL Muestra: 6,58 g

Como se observa en los ensayos que se presentan en el Cuadro 4.6, ambos cumplen con la humedad final requerida y no se presentaron problemas de bloqueo en la boquilla de aspersión, ni con la recuperación del producto. Además, para las mismas condiciones de operación debe obtenerse una humedad mayor en el ensayo cuando se trabaja a un mayor flujo, situación que si se dio tal como se observa en el Cuadro 4.6.

#### 4.1.6 SEXTA ETAPA PRELIMINAR

Debido a que en los ensayos de la quinta etapa preliminar no se presentaron problemas de aspersión ni de recuperación del producto entonces se procedió a buscar una condición de operación en la cual la dilución fuese menor y el flujo de producto mayor. Por lo tanto, se llevaron a cabo ensayos de la sexta etapa preliminar cuyos resultados se presentan en el Cuadro 4.7.

**Cuadro 4.7.** Condiciones de operación y resultados de la sexta etapa preliminar.

<b>Ensayo</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Inicio</b>	<b>Luego del secado</b>
<b>6.1</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: 8,83 mL/min (26 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 333,57 mg/mL	Humedad: 7,41 %  a <sub>w</sub> : 0,2295  pH: 10,26 Contenido de proteína:
	Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	pH: 9,33	166,71 mg/mL Muestra: 6,33 g
<b>6.2</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: 7,05 mL/min (22 %) Dilución: 80 %/20 %	Contenido de proteína: 94,82 mg/mL	Humedad: 5,61 %  a <sub>w</sub> : 0,1852  pH: 10,26 Contenido de proteína:
	Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	pH: 9,31	151,54 mg/mL Muestra: 7,04 g
<b>6.3</b>	Temperatura: 170 °C Flujo: 9,76 mL/min (22 %) Dilución: 85 %/15 %	Contenido de proteína: 199,36 mg/mL	Humedad: 4,47 %  a <sub>w</sub> : 0,1868  pH: 10,2 Contenido de proteína:
	Flujo de aire, rotámetro: 50 mm	pH: 9,34	317,24 mg/mL Muestra: 7,35g

En dichos ensayos se probaron porcentajes de dilución mayores. En los ensayos 6.2 y 6.3 se trabajó con diluciones máxicas del 80 % y 85 % respectivamente, y en los mismos se comenzaron a presentar problemas con el proceso de secado. Problemas tales como acumulación de producto seco tanto en el recipiente del fondo de la cámara de secado así como una gran acumulación de material en las paredes de la cámara de secado. Dada esta situación se determinó que la dilución máxima a la que se puede trabajar es de 75 %.

En los ensayos preliminares la metodología para determinar proteínas no fue la correcta, ya que para el caso de las muestras de clara pura se tienen valores de concentración que van desde 94,82 mg/mL hasta los 1 302,01 mg/mL y en el caso de las muestras redispersadas se

tienen valores que van de los -122,49 mg/mL hasta los 1 118,10 mg/mL, por lo cual dicha metodología se tuvo que ajustar para obtener resultados confiables.

Por lo tanto, se determinó cuál es el contenido real de proteína en la clara de huevo fresco. En el sitio web del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, (USDA por sus siglas en inglés), se indica que el contenido de proteína para la clara de huevo es de aproximadamente 112 mg/mL (United States Department of Agriculture, 2015). Con este dato se tiene un punto de referencia del contenido real de proteína presente en el huevo. Por ende, se procedió a realizar una serie de ensayos preliminares empleando únicamente el método de Bradford en clara de huevo pura, tales ensayos se describen en la sección posterior.

#### 4.1.7 SÉPTIMA ETAPA PRELIMINAR

Tras consultas con los expertos del CENIBiot se estableció que las variaciones obtenidas en los contenidos de proteína se pueden deber a la cantidad que se había estado pipeteando de la muestra de clara de la cual se había estado tomando únicamente 1  $\mu\text{L}$ . Por lo tanto, para los siguientes ensayos preliminares se tomó una muestra de 20  $\mu\text{L}$ , la cual se llevó a aforo en un balón de 10 mL. Con dicho procedimiento se estandariza el error en el balón, y se elimina la variación tan grande que se tiene por tomar un volumen tan pequeño con la micropipeta. Este procedimiento se explicó en el Capítulo 3, en la correspondiente sección de determinación de la cantidad de proteína. Las comprobaciones se realizaron para tres huevos diferentes realizando la determinación para cada unidad por triplicado. A su vez, es importante destacar que para la construcción de la curva de calibración del método de Bradford, solo se determinó la absorbancia de cada patrón una vez, así como la absorbancia de cada réplica se determinó una única vez. Los resultados de las determinaciones de Bradford realizadas se presentan en el Cuadro 4.8.

**Cuadro 4.8.** Resultados de las pruebas de Bradford de la séptima etapa preliminar.

Muestra	Absorbancia	Contenido de		
		proteínas Bradford/(mg/mL)	Proteínas en la clara/(mg/mL)	
1.1	0,3972	0,5195	259,7660	
1.2	0,3767	0,4950	247,5101	
1.3	0,3803	0,4993	249,6624	
2.1	0,3631	0,4788	239,3793	
2.2	0,3550	0,4691	234,5368	
2.3	0,3615	0,4768	238,4228	
3.1	0,3722	0,4896	244,8198	
3.2	0,3614	0,4767	238,3630	
3.3	0,3560	0,4703	235,1346	
Valores promedio				
Muestra	Absorbancia	Contenido de proteínas Bradford/(mg/mL)	Proteínas en la clara/(mg/mL)	Desviación estándar de proteínas en la clara/(mg/mL)
1	0,3847	0,5046	252,3128	6,54
2	0,3599	0,4749	237,4463	2,56
3	0,3632	0,4789	239,4391	4,93

La concentración de proteínas en las tres unidades de huevo es bastante más elevada que la reportada por la USDA, las variaciones entre réplicas se minimizaron con respecto a los resultados que se habían venido reportando en corridas previas. Con base en estos resultados se encuentra que el método que se empleó en dichas determinaciones permite representar de manera asertiva el contenido de proteína en una muestra, y para la parte del contenido de proteína tan elevado se planea realizar una serie de ensayos preliminares más para determinar si esto se debe a errores en los reactivos o bien este es el contenido real de proteína en la clara de los huevos con los cuales se está trabajando.

#### 4.1.8 OCTAVA ETAPA PRELIMINAR

Tras los cambios propuestos para el método de determinación de proteína se realizó una serie más de ensayos preliminares para determinar cuál es la variación que introduce el secador por aspersión en los resultados obtenidos. Estas series de ensayos se realizan ya que para el diseño estadístico propuesto (superficie de respuesta) es importante que la

varianza que introducen los equipos, tanto de trabajo como de medición, sea mínima. Por ende se proponen tres ensayos a las mismas condiciones, en dichos ensayos entre cada uno no se lavó la cámara de secado. Los resultados de dichos ensayos se presentan en el Cuadro 4.9.

**Cuadro 4.9.** Condiciones de operación y resultados de la octava etapa preliminar.

<b>Ensayo</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Inicio</b>	<b>Luego del secado</b>
<b>8.1</b>	Temperatura: 173 °C Flujo: 5,83 mL/min (18 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 118,40 mg/mL	Humedad: 4,55 %  a <sub>w</sub> : 0,1836
	Flujo de aire, rotámetro: 47 mm	pH: 9,21	Contenido de proteína: 58,91 mg/mL Muestra: 6,5 g
<b>8.2</b>	Temperatura: 173 °C Flujo: 5,86 mL/min (18 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 118,40 mg/mL	Humedad: 5,20 %, desviación estándar 1,14 %  a <sub>w</sub> : 0,1593
	Flujo de aire, rotámetro: 47 mm	pH: 9,21	Contenido de proteína: 50,03 mg/mL Muestra: 6,62 g
<b>8.3</b>	Temperatura: 173 °C Flujo: 6,09 mL/min (18 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 118,40 mg/mL	Humedad: 4,33 %  a <sub>w</sub> : 0,1279
	Flujo de aire, rotámetro: 47 mm	pH: 9,21	Contenido de proteína: 64,06 mg/mL Muestra: 5,9 g

#### 4.1.9 NOVENA ETAPA PRELIMINAR

En la siguiente serie de ensayos mostrados en el Cuadro 4.10, estos se realizaron a las mismas condiciones de las presentadas en el Cuadro 4.9. excepto que se retiró y lavó la cámara de secado entre cada corrida.

**Cuadro 4.10.** Condiciones de operación y resultados de la novena etapa preliminar.

<b>Ensayo</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Inicio</b>	<b>Luego del secado</b>
<b>9.1</b>	Temperatura: 173 °C Flujo: Indeterminado (18 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 51,89 mg/mL	Humedad: 7,24 %  a <sub>w</sub> : 0,2708  pH: 10,05 Contenido de proteína:
	Flujo de aire, rotámetro: 47 mm	pH: 9,27	46,07 mg/mL Muestra: 6,24 g
<b>9.2</b>	Temperatura: 173 °C Flujo: 6,28 mL/min (18 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 51,89 mg/mL	Humedad: 4,28 %  a <sub>w</sub> : 0,1558  pH: 10,22 Contenido de proteína:
	Flujo de aire, rotámetro: 47 mm	pH: 9,27	50,69 mg/mL Muestra: 6,42 g
<b>9.3</b>	Temperatura: 173 °C Flujo: 6,19 mL/min (18 %) Dilución: 75 %/25 %	Contenido de proteína: 51,89 mg/mL	Humedad: 4,29 %  a <sub>w</sub> : 0,1398  pH: 10,21 Contenido de proteína:
	Flujo de aire, rotámetro: 47 mm	pH: 9,27	50,77 mg/mL Muestra: 6,47 g

Dado que entre la octava y novena etapa preliminar lo único que se varió fue que en la novena se dio un lavado completo de la cristalería del equipo de secado entre cada ensayo, se realizó una comparación estadística para cada variable de respuesta con el fin de determinar si lavar la cristalería presenta un efecto significativo en la respuesta. Lo primero que se debe hacer es conocer si las varianzas de los dos tratamientos son iguales o no (Gutiérrez & De la Vara, 2008). Para ello, se plantea una hipótesis nula y una alternativa tal como se muestra a continuación:

- H<sub>0</sub>:  $\sigma_x^2 = \sigma_y^2$ .
- H<sub>i</sub>:  $\sigma_x^2 \neq \sigma_y^2$ .

Por medio del programa R se llevó a cabo la prueba de “Levene”, con la cual se puede probar la homogeneidad de las varianzas. Para el caso de la humedad del ensayo 8.2 como la misma se determinó por triplicado, se tomó un promedio de dicho valor para ser comparado con el resto de valores. Los resultados de dichos ensayos se presentan en el Cuadro 4.11.

**Cuadro 4.11.** Resultados de la prueba de “Levene” en el programa R.

<b>Variable de respuesta</b>	<b>Valor p</b>
Humedad	0,5244
$a_w$	0,5368
Contenido de proteína	0,3575
Recuperación de masa	0,4406

A partir de la información presentada en el Cuadro 4.11 se puede afirmar, con un 95 % de confianza, que no se cuenta con suficiente evidencia estadística como para rechazar la hipótesis nula de que las varianzas son iguales. Esto debido a que en ninguno de los casos de análisis el valor de p es menor a 0,05.

Conociendo que ambos tratamientos poseen igualdad de varianzas se realizó una prueba para la comparación de medias de dos tratamientos (Gutiérrez & De la Vara, 2008), para la cual se tienen las siguientes hipótesis nula y alternativa:

- $H_0: \mu_x = \mu_y$ .
- $H_1: \mu_x \neq \mu_y$ .

Seguidamente en el Cuadro 4.12 se presentan los principales resultados de la prueba de comparación de medias poblacionales.

**Cuadro 4.12.** Principales resultados de la prueba de comparación de medias poblacionales de la octava y novena etapa preliminar.

<b>Variable de respuesta</b>	<b>Valor <math>t_0</math></b>
Humedad	-0,566
$a_w$	-0,719
Contenido de proteína	1,937
Recuperación de masa	-0,157

Al igual que para la prueba de igualdad de varianzas en el caso de los valores de humedad del ensayo 8.2 se obtuvo un promedio de los tres valores y este fue el que se comparó con el resto. De la tabla de distribución T de Student con 4 grados de libertad se obtiene un punto crítico de  $t_{(0,025;4)}=2,776$ . Como en todos los casos analizados el valor de  $|t_0| < t_{(0,025;4)}$ , no se cuenta con suficiente evidencia estadística como para rechazar  $H_0$ . Al no rechazar la hipótesis nula se puede asegurar que lavar la cristalería del equipo de secado entre corrida y corrida no provoca una diferencia significativa en la media de las variables de respuesta comparado a la media obtenida al no lavar la cristalería entre cada ensayo.

Sin embargo, a pesar de que estadísticamente no se presenta diferencia, a partir de los ensayos de la octava y novena etapa preliminar, en la operación del equipo de secado en los ensayos 8.2 y 8.3 se presentó un arrastre del material que se acumuló en las paredes de la cámara de secado. Este arrastre generaba que tanto el color como la distribución de partículas en el producto final cambiara, ya que el mismo se podía notar más oscuro que el recuperado en el ensayo 8.1 y en los ensayos de la novena etapa preliminar. En cuanto al tamaño de partícula en dichos ensayos (8.2 y 8.3) se pudo observar la presencia de partículas de mayor tamaño que para el resto de ensayos. Debido a estas situaciones, se decidió que para las corridas del plan experimental se lavará la cámara de secado entre corrida y corrida.

Lo más relevante de los resultados presentados en el Cuadro 4.9 es el contenido inicial de proteína en la clara pura el cual tiene un valor muy cercano a lo reportado por el USDA. Es notorio que hay una variación grande en los ensayos de la octava etapa preliminar. Por ejemplo, en el tema de la recuperación de masa la misma fue muy variable ya que en la segunda réplica se obtuvo más masa que en la primera y a su vez en la tercera se obtuvo una cantidad mucho menor de masa que en la segunda. A la vez, los valores de humedad varían mucho ya que van desde un 3,93 % hasta 5,55 %, lo mismo sucede con el  $a_w$  el cual presenta valores que van desde 0,1279 hasta 0,1836.

En la novena etapa preliminar se puede señalar que en el primer ensayo cuando se habían secado alrededor de unos 25 mL de la muestra del producto se presentó en la pantalla del

equipo nuevamente el mensaje “Err 101” por lo cual se procedió a reiniciar el equipo y posterior a esto se terminó de pasar el volumen restante de la muestra. Dicho proceso puede ser el que provoca los resultados tan diferentes al comparar los obtenidos en la primera réplica con respecto a las otras dos. Por lo tanto, los datos resultantes de esta primera réplica no se tomaron en cuenta para la comparación. A su vez, la determinación de proteína mediante el método de Bradford presentó el inconveniente de que la curva se montó dos veces, y en ambas uno de los puntos dio un error, lo cual resulta en un mal ajuste de la curva. Esto puede deberse entre otros motivos a la antigüedad del patrón de proteína que se está empleando.

En el Cuadro 4.10 se observa que el valor de humedad de los ensayos 9.2 y 9.3 presenta un valor muy similar. De igual manera, la recuperación de masa en estas dos réplicas presentó valores muy cercanos de 6,42 g y 6,47 g respectivamente. El valor del  $a_w$  fue el que presentó una variación mayor, por lo cual posteriormente se proponen una serie de determinaciones con el equipo de medición de actividad de agua para poder determinar la precisión de dicho instrumento. A pesar del error que se tuvo en la construcción de la curva de calibración para el método de Bradford, la variación en la concentración de la proteína final fue mínima.

#### 4.1.10 DÉCIMA ETAPA PRELIMINAR

Como se mencionó anteriormente tras la revisión de los resultados de la octava y novena etapas preliminares, se pudo notar que el  $a_w$  presenta grandes variaciones. Para determinar si las variaciones que se presentaron en los ensayos anteriores provienen del equipo de medición o bien del producto, se procedió a tomar una muestra del producto y a dicha muestra, tal como se describe en el Anexo 5, se le determinó el valor de la actividad del agua cuatro veces. Los resultados se presentan en el Cuadro 4.13.

**Cuadro 4.13.** Valores de  $a_w$  para las diferentes réplicas.

<b>Réplica</b>	<b>Actividad del agua</b>
1	0,5181
2	0,5203
3	0,5240
4	0,5281

Como parte de la rutina del equipo de manera periódica se realizan calibraciones del mismo con soluciones patrón, y además antes de cada medición se realiza tal como se menciona en el Capítulo 3 la determinación del  $a_w$  del agua de ósmosis. Tal como se muestra en el Cuadro 4.13 los valores de  $a_w$  van en aumento tras cada medición, debido a que el producto es sumamente higroscópico. Como el recipiente que lo contenía se abre y cierra entre medición y medición esto pudo afectar los resultados obtenidos. Es notorio lo higroscópico que es el producto, por el hecho de que al dejarlo en la balanza analítica para determinar los 0,5 g necesarios la masa iba aumentando con el tiempo, debido a la absorción de agua ambiental. Con el fin de evitar esta interferencia ambiental en la muestra para las corridas definitivas el producto será almacenado en diversos tubos con el fin de abrir solamente un tubo para realizar la determinación y que para la siguiente determinación se emplee un tubo con muestra que sea abierta por primera vez.

#### **4.2. SEGUNDA ETAPA: SELECCIÓN Y EJECUCIÓN DEL PLAN EXPERIMENTAL**

El diseño seleccionado fue un diseño central compuesto (DCC), con las condiciones de operación que se mencionaron en el Cuadro 3.3, y a su vez tomando como guía la teoría, las limitaciones operativas del equipo y sobre todo los resultados obtenidos en los ensayos preliminares. La serie de condiciones de operación evaluadas se presentan en el Cuadro 4.14.

**Cuadro 4.14.** Corridas experimentales a realizar.

Tipo de punto	Factor		
	Temperatura de alimentación/(°C)	Flujo de producto/(% Bomba Peristáltica)	Flujo de aire/(mm rotámetro)
Puntos de diseño	176	21	34
	166	21	34
	176	13	34
	166	13	34
	176	21	46
	166	21	46
	176	13	46
	166	13	46
Puntos axiales	180	17	40
	162	17	40
	171	24	40
	171	10	40
	171	17	50
	171	17	30
Puntos centrales	171	17	40
	171	17	40
	171	17	40
	171	17	40
	171	17	40
	171	17	40

Los puntos axiales fueron situados en valores de 1,68 y -1,68 en cada uno de los ejes de los correspondientes factores. Lo anterior con el fin de poder brindarle rotabilidad a la superficie de respuesta. Según Montgomery (2005) es de suma importancia que un modelo de segundo orden presente rotabilidad, ya que esto garantiza buenas predicciones a lo largo de toda la región de interés. Box y Hunter (1957) establecen que un diseño de segundo orden debe ser rotatable, ya que esto garantiza que la varianza de las variables de respuesta sea constante en esferas. La rotabilidad es la base de la selección de una optimización por medio de una superficie de respuesta, y de la localización de unas condiciones óptimas, ya que se requiere un diseño que presente igual precisión de estimación en cualquier sección de la superficie en estudio (Montgomery, 2005).

Un diseño central compuesto es rotatable por la correcta selección de  $\alpha$ , y a su vez, el valor de  $\alpha$  depende del número de puntos que se trabajaran en la región del factorial, esto puede expresarse mediante la Ecuación 4.1 (Montgomery, 2005):

$$\alpha=(nf)^{1/4} \quad (4.1)$$

Donde:

$\alpha$ : distancia de los puntos axiales de las variables desde el centro del cubo, adimensional.

nf: número de puntos de la porción factorial del diseño, adimensional.

#### 4.2.1 RESULTADOS DEL PLAN EXPERIMENTAL

Una vez que se obtuvieron los resultados que se presentan en el Cuadro A.39, se observa que los valores de pH de la clara de huevo fresca concuerdan con los indicados en la teoría, ya que para productos que han sufrido un proceso de almacenaje el pH ronda valores de 8,9 a 9,4 (British Egg Information Service, 2015). Sin embargo, para los valores de pH evaluados en la redispersión del huevo seco ninguno se ajusta a los valores que se presentaron en el capítulo de aspectos generales, sino que están muy por encima de los valores recomendados por los fabricantes. Se puede notar en dicho cuadro que la diferencia entre el pH inicial y final es muy similar para todas las corridas realizadas. Para obtener un pH con valores tales como los presentados en las fichas nutricionales del producto se debe realizar un ajuste inicial al pH de la clara pura tal como lo mencionan Christ et al., (2012) los cuales mediante una solución de 2N de HCl, ajustan el pH de la clara pura antes de someterla a los procesos de tratamiento térmico. Como este ajuste en el pH no se realizó, los resultados de pH final no podrán ser comparados con los de la ficha nutricional de un fabricante. Dichos resultados, solo pueden ser comparados entre sí. Por lo tanto, el parámetro de calidad de pH no será tomado en consideración para el análisis estadístico de las propiedades de nutricionales del producto final. El aumento que sufre el pH del inicial de la clara pura al del producto re dispersado que se obtuvo en cada corrida, se da por un efecto de evaporación, con lo cual se presenta la pérdida de dióxido de carbono que es soluble en la clara de huevo líquido y provoca este aumento en el nivel de pH (Mine, 1996).

Los resultados obtenidos de los parámetros de calidad del producto final se presentan en el Cuadro B.23 y Cuadro B.32, los mismos fueron analizados por medio del programa JMP<sup>®</sup> 7, en el cual se corrió un modelo de segundo orden, para satisfacer la Ecuación 4.2 (Myers, Montgomery, & Anderson-Cook, 2009):

$$\eta = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad (4.2)$$

Donde:

$\eta$ : Valor de cada atributo de calidad medido.

$\beta$ : Coeficientes de regresión del modelo.

$x$ : Corresponde a los factores empleados en el diseño.

En el programa JMP<sup>®</sup> los métodos que se emplearon para el análisis fueron la función de superficies de respuesta, la prueba de falta de ajuste, el cálculo del  $R^2$ , gráfico de superficie de respuesta, el cálculo de las raíces características o valores propios y cálculo de los intervalos de confianza. Por otro lado, por medio del programa R<sup>®</sup> se realizó el análisis de los supuestos de normalidad, por medio de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, la evaluación de la homoscedasticidad con la prueba de Breusch Pagan y la independencia de los errores gráficos.

Para las pruebas realizadas en el presente estudio en cada una de ellas se empleó un nivel de significancia del 5 %. Se ajustaron cuatro modelos, uno por cada variable de respuesta evaluada. En la Ecuación 4.3 se presenta el modelo de humedad como ejemplo de los resultados obtenidos por medio del programa, los valores de las constantes predichos por el programa para cada variable de respuesta se presentan en las Figuras 4.2 a 4.5 (Estimate).

$$\begin{aligned} \text{Humedad} = & \beta_0 + \beta_1 \text{Aire} + \beta_1 \text{Temperatura} + \beta_3 \text{Bomba} + \beta_{12} \text{AireTemperatura} + \\ & \beta_{13} \text{AireBomba} + \beta_{23} \text{TemperaturaBomba} + \beta_{11} \text{Aire}^2 + \beta_{22} \text{Temperatura}^2 + \\ & \beta_{33} \text{Bomba}^2 + \varepsilon \end{aligned} \quad (4.3)$$

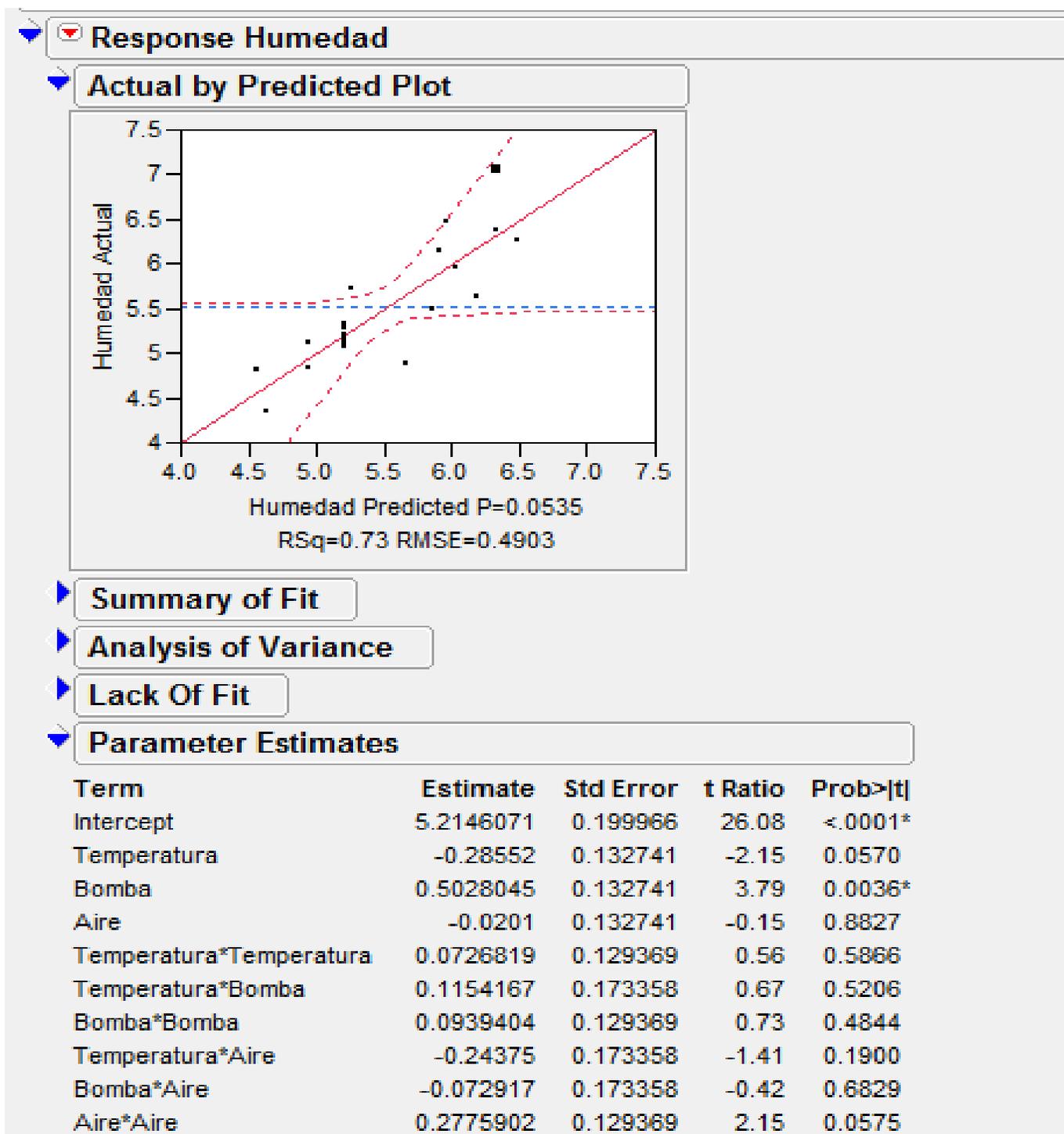


Figura 4.2. Valores de los coeficientes del modelo de humedad a partir del programa JMP®.

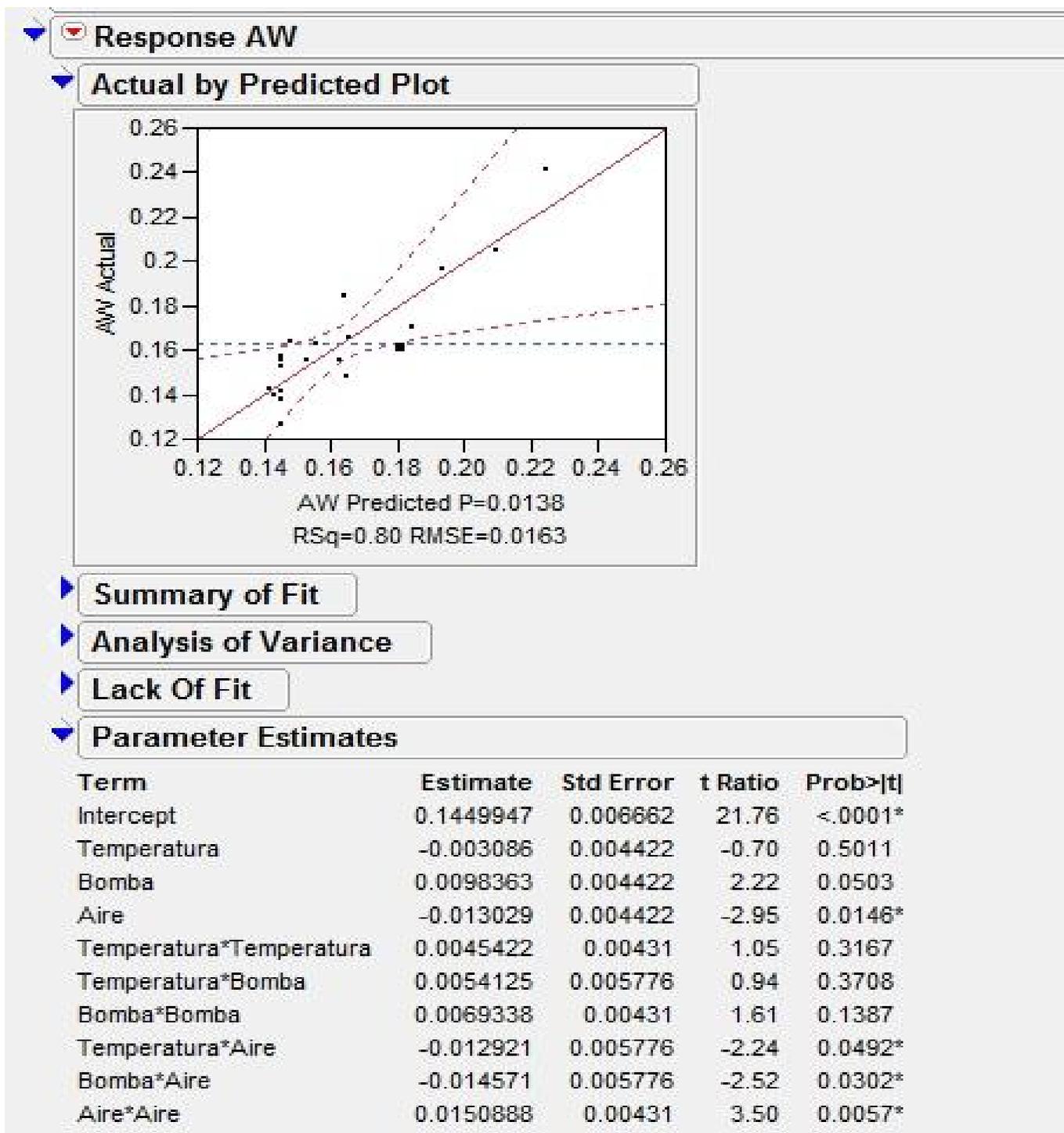


Figura 4.3. Valores de los coeficientes del modelo de actividad del agua a partir del programa JMP®.

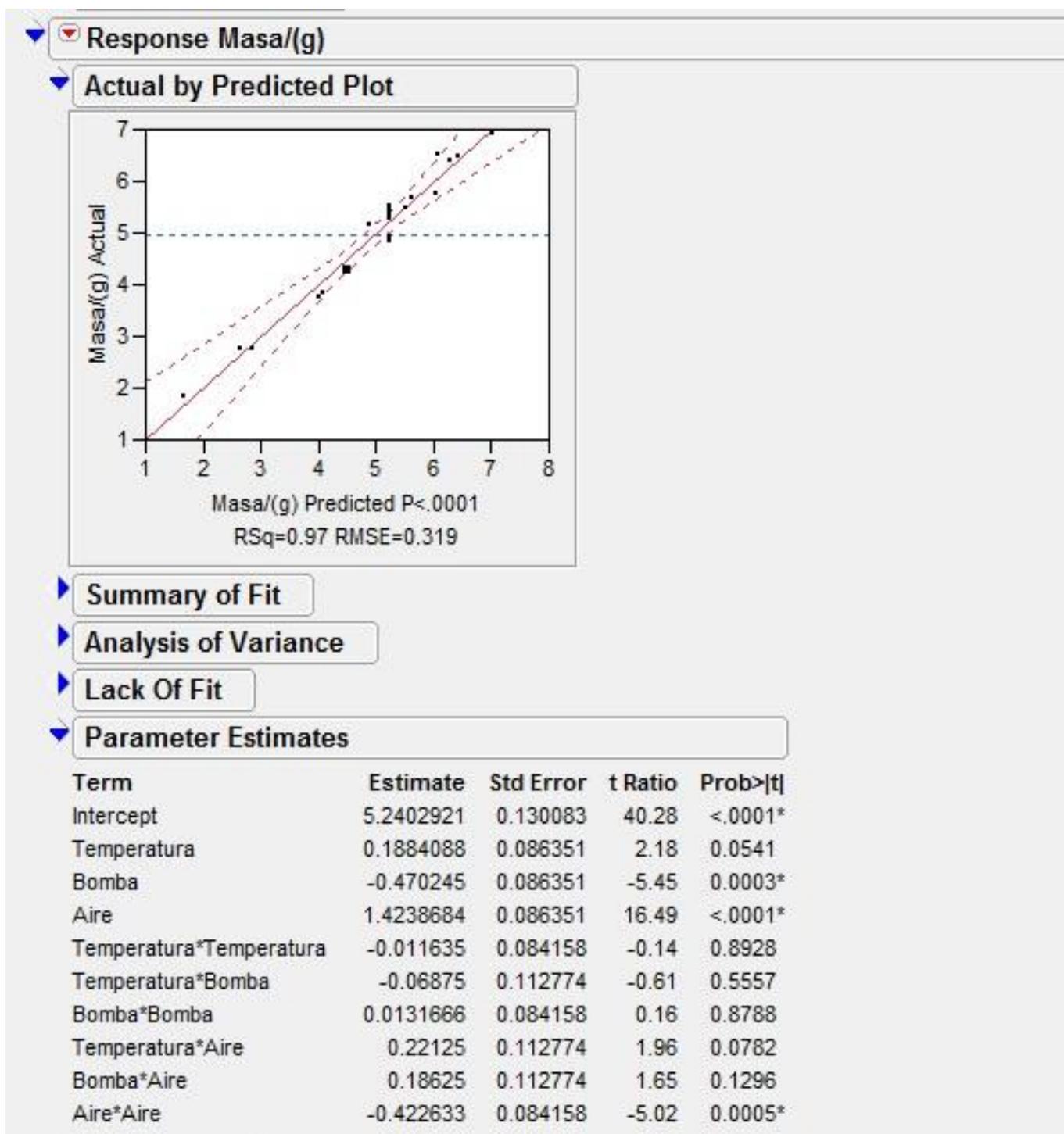


Figura 4.4. Valores de los coeficientes del modelo de recuperación de masa a partir del programa JMP®.

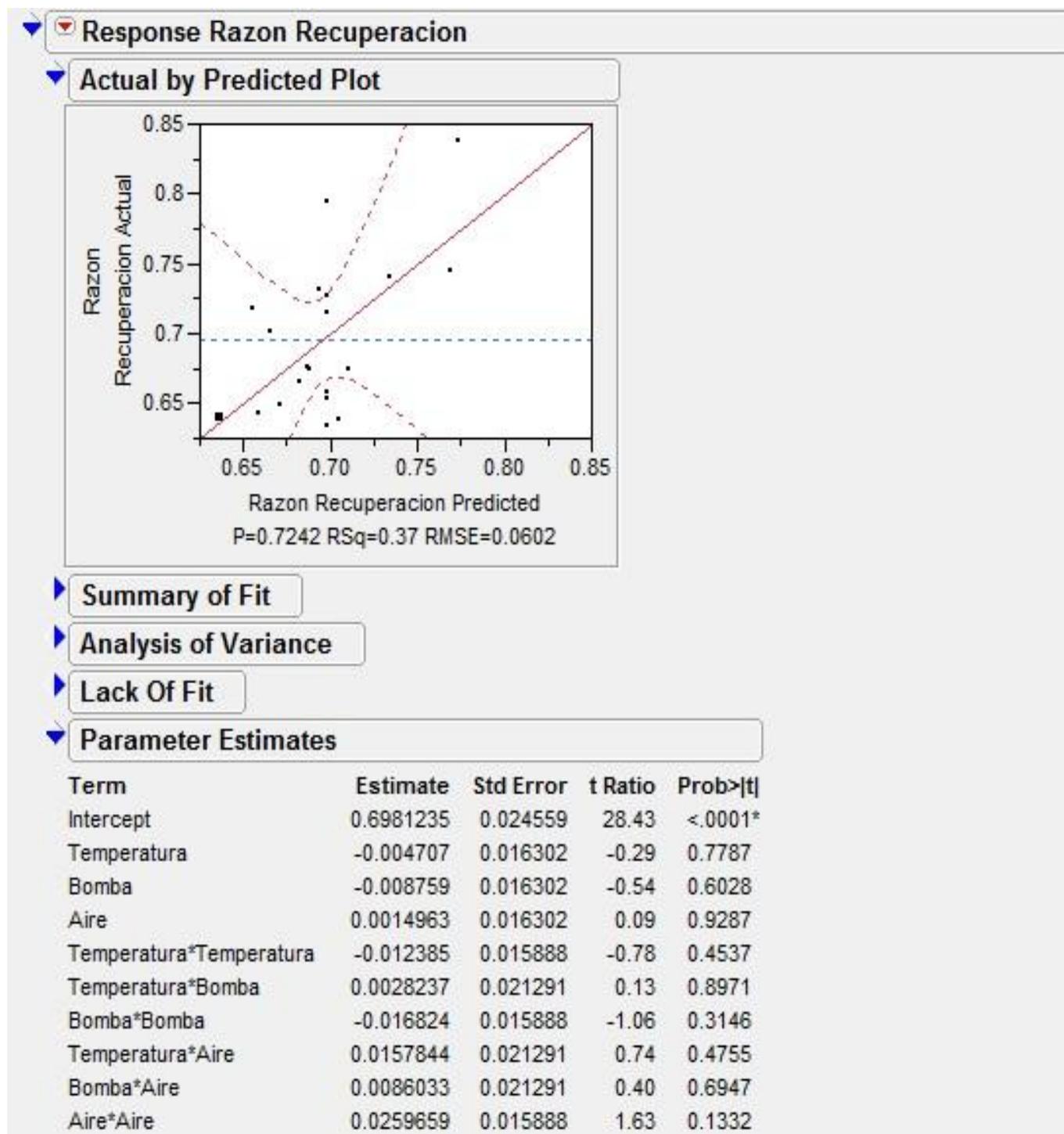


Figura 4.5. Valores de los coeficientes del modelo de la fracción de recuperación de proteína a partir del programa JMP®.

Una vez que se obtuvieron los resultados en el programa JMP<sup>®</sup> se procedió a aplicar la prueba de Kolmogorov-Smirnov a los cuatro modelos, con el fin de evaluar el supuesto de normalidad. Los residuales fueron tomados del programa JMP<sup>®</sup> y la prueba se corrió en R. Para la cual se definieron las siguientes hipótesis nula y alternativa:

- $H_0$ : los errores siguen una distribución normal con media 0 y varianza  $\sigma^2$ .
- $H_1$ : los errores no siguen una distribución normal con media 0 y varianza  $\sigma^2$ .

Los resultados obtenidos para dicha prueba de normalidad se presentan en el Cuadro 4.15.

**Cuadro 4.15.** Resultados para la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov según la variable de respuesta de cada modelo.

Variable respuesta	Valor p
Humedad	0,611
$a_w$	0,933
Masa	0,924
Razón de recuperación de proteína	0,743

Con la información del Cuadro 4.15 y sabiendo que la hipótesis nula se rechaza para un valor de  $p < 0,05$ , se puede concluir que en todos los casos no hay suficiente evidencia estadística como para rechazar la hipótesis nula de que los residuales siguen una distribución normal con una media de cero y varianza  $\sigma^2$ .

Esta prueba de normalidad debe ser realizada, ya que para asegurar que existe normalidad multivariable, todas las variables dependientes deben ser normales. Es por esto que se aplica la prueba de Kolmogorov-Smirnov, la cual compara la distribución teórica con la empírica (Pedroza & Dicovskyi, 2006).

En el mismo programa R<sup>®</sup>, a los modelos presentados anteriormente se les aplicó la prueba de Breusch Pagan con el fin de evaluar el supuesto de homoscedasticidad. La importancia de comprobar la homoscedasticidad radica en que por medio de dicha prueba se puede comprobar la hipótesis de que las matrices de varianzas-covarianzas son iguales en todos los niveles del factor de estudio (Pedroza & Dicovskyi, 2006).

Se definieron en este caso las siguientes hipótesis:

- $H_0$ : los errores tienen una varianza constante para todos los valores de las variables predictoras.
- $H_1$ : los errores no tienen una varianza constante para todos los valores de las variables predictoras.

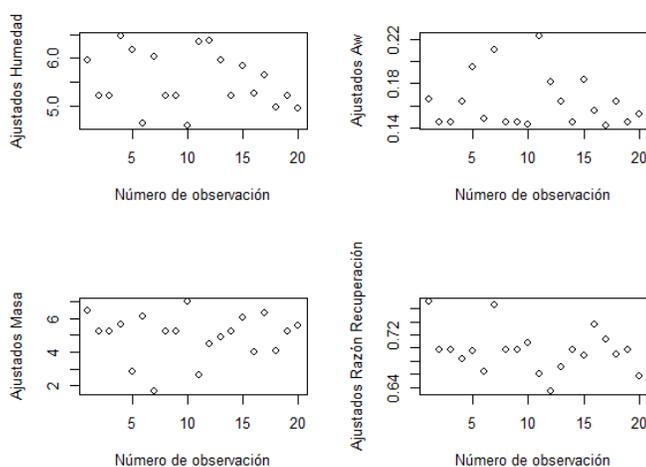
Los resultados de dicha prueba se presentan en el Cuadro 4.16, en el cual se muestran los valores obtenidos para cada una de las variables respuesta.

**Cuadro 4.16.** Resultados para la prueba de la homoscedasticidad de Breusch Pagan.

<b>Variable respuesta</b>	<b>Valor p</b>
Humedad	0,113
$a_w$	0,776
Masa	0,915
Razón de recuperación de proteína	0,893

Para dicha prueba el criterio de rechazo de la hipótesis nula es si el valor  $p < 0,05$ , y como se observa en el Cuadro 4.16, para cada una de las variables de respuesta no se cuenta con suficiente evidencia estadística para poder rechazar la hipótesis nula, por lo cual se asume que se cumple el supuesto de homoscedasticidad para todos los modelos de las variables de respuesta.

De manera paralela, se analizó de manera gráfica el supuesto de independencia de los errores, los resultados se presentan en la Figura 4.6.



**Figura 4.6.** Número de observación contra variables respuesta según cada una de dichas variables respuesta.

En la Figura 4.6, obtenido del programa JMP<sup>®</sup> se muestra que para los cuatro modelos los errores son independientes, ya que no existe ningún tipo de tendencia en los gráficos.

Posterior a la comprobación de los supuestos de los cuatro modelos, se realizó el análisis del ajuste de cada modelo, donde se tomó en consideración el coeficiente de correlación  $R^2$ , así como la prueba de falta de ajuste de cada modelo. Los resultados de dichos análisis se presentan en el Cuadro 4.17.

**Cuadro 4.17.** Valores de  $R^2$  y valor p de la prueba de falta de ajuste para las variables de respuesta.

	<b>Modelo 1 (Humedad)</b>	<b>Modelo 2 (<math>a_w</math>)</b>	<b>Modelo 3 (Masa)</b>	<b>Modelo 4 (Razón de recuperación de proteína)</b>
$R^2$	0,726	0,802	0,971	0,374
Falta de ajuste (valor p)	$3,00 \cdot 10^{-4}$	0,156	0,314	0,490

De igual manera que para las pruebas descritas anteriormente, para la prueba de falta de ajuste se deben plantear una serie de hipótesis, las cuales se describen seguidamente:

- $H_0$ : el modelo de segundo orden ajusta bien.
- $H_i$ : el modelo de segundo orden no ajusta bien.

En el presente caso se rechaza la hipótesis nula si el valor de  $p < 0,05$ . En el Cuadro 4.17 para el modelo que describe la humedad se tiene suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula de que el modelo ajusta bien. Sin embargo el  $R^2$  indica que las variables predictoras explican una buena parte del comportamiento de la variabilidad de humedad. Se cuenta con un  $R^2$  de 72,6 %, esto se puede deber entre otros motivos a que el error experimental con que se cuenta es pequeño, lo cual es deseable. Por lo tanto, dada esta situación se establece que el modelo si ajusta de manera adecuada a los datos.

Como se mencionó en el párrafo anterior el  $R^2$  es utilizado como un indicador para explicar la capacidad de predicción global del modelo. Sin embargo, este coeficiente no solo mide la exactitud del modelo, ya que  $R^2$  se define como el cociente de la variación explicado a la variación total y es una medida del grado de ajuste (Granato & de Araújo Calado, 2014).

Si un modelo presenta un  $R^2$  de 90 % o más es considerado excelente. Si el valor del coeficiente es bajo ( $< 70$  %), el modelo matemático no es bueno. Los autores también hacen énfasis en que según el análisis, un valor de  $R^2$  mayor al 70 % es considerado bueno. En los artículos presentados por Granato et al., (2010a, 2010b) se establece que un valor  $\geq 70$  % se considera apropiado para propiedades sensoriales, colorimétricas y resultados de caracterizaciones físico-químicas. Por consiguiente para el presente análisis se tomará que un valor de  $R^2 \geq 70$  %, se traduce en que el modelo describe de manera adecuada los datos.

Para el caso del modelo del  $a_w$  tal como se presenta en el Cuadro 4.17, no hay suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula de que el modelo ajusta bien. Del análisis del valor de  $R^2$  se nota que la variabilidad del  $a_w$  es explicada por las variables predictoras, debido al alto valor que presenta este índice (80,2 %). Con lo anterior se evidencia que el modelo ajusta bien.

Para el caso del modelo de masa el mismo es el que presenta del valor de  $R^2$  más alto con un 97,1 %, lo cual indica que la mayor parte de la variabilidad está siendo explicada por las tres variables predictoras. Además, por medio del análisis del valor de  $p$  en la prueba de falta de ajuste se nota que se cuenta con suficiente evidencia significativa como para aceptar la hipótesis nula de que el modelo ajusta bien.

Para el análisis del modelo de razón de recuperación de proteína se puede notar en el Cuadro 4.17 que el  $R^2$  presenta un valor de 37,4 %, lo cual significa que poca de la variabilidad de la respuesta está explicada por las variables predictoras. Sin embargo no se rechaza la hipótesis nula de que el modelo tiene buen ajuste según el valor p. Pese a esto el modelo no es bueno ya que aunque el modelo ajusta los datos, la variabilidad que realmente está siendo explicada por las variables predictoras es muy baja. En el modelo ajustado son las variables predictoras las que no logran explicar la variabilidad de la respuesta. Una posible solución a esta situación sería incluir otras variables o bien dejar por fuera algunas que no presenten un aporte significativo a los resultados. También, puede pensarse que esta situación se da a raíz del método de determinación de proteínas que fue empleado, podría emplearse otro método que presente una variabilidad menor. Por esta falta de ajuste para los análisis posteriores se decide no tomar en consideración dicho modelo, y trabajar únicamente con los modelos que sí ajustan bien las respuestas.

Por medio del programa JMP<sup>®</sup> se realizó una optimización de los modelos obtenidos con el fin de obtener las condiciones de operación óptimas para que las variables respuesta se ajusten a las condiciones que se indican en las fichas técnicas de la clara de huevo en polvo. Los valores de humedad reportados en las fichas técnicas rondan valores entre 8 % a 9 % máximo. Con respecto al  $a_w$  no se hace ninguna referencia en las fichas, ni en el sitio web del USDA, sin embargo se espera minimizar este valor. Y para la masa, por rendimiento económico se espera un máximo. Por lo tanto se plantean los “propósitos iniciales” que se presentan en el Cuadro 4.18 con los cuales se obtienen los puntos estacionales.

**Cuadro 4.18.** Propósito inicial, propósito final, punto estacionario y resultado del mismo según la variable respuesta de cada modelo

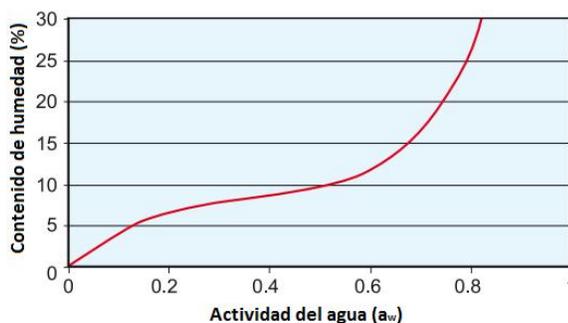
	<b>Modelo con humedad</b>	<b>Modelo con <math>a_w</math></b>	<b>Modelo con masa</b>
Propósito inicial	Meta de 8 %	Mínimo	Máximo
Punto estacionario	-9,026 %	0,129	3,413 g
Resultado de punto estacionario	Punto silla (fuera de rango)	Mínimo (fuera de rango)	Punto silla (fuera de rango)
Propósito final	Meta entre 7 % y 8 %	Meta: entre 0,15 y 0,20	Meta de máximo en el rango

De la información presentada en el Cuadro 4.18 dadas las condiciones de optimización que se solicitaron al programa de los modelos se cuenta con un valor de humedad negativo lo cual no tiene sentido físico. El mismo es un punto estacionario de silla y en el cual las variables predictoras se encuentran fuera de rango. Es importante aclarar que en los modelos de superficie de respuesta las variables predictoras no pueden ser extrapoladas fuera de los niveles a los que fueron estudiadas. Por ende para las optimizaciones posteriores se fijó el valor a encontrar como una meta entre 7 % y 8 % de contenido de humedad.

En el caso del  $a_w$  con el fin de darle la mayor estabilidad posible al producto se fijó la meta como un mínimo en dicha variable, tras el análisis se logró obtener un mínimo. Sin embargo, al igual que en el caso anterior el mismo se encuentra fuera del rango de las variables predictoras.

Como se puede ver en la Figura 4.7 existe una relación directa entre la actividad del agua y el contenido de humedad de un producto, al analizar dicha relación y buscar una humedad entre 7 % y 8 %, es lógico que se lleguen a obtener valores muy cercanos a 0,20 en el  $a_w$ . Por tratarse de un producto de baja humedad y tras el análisis de la Figura 4.7 se decide tomar como valor de propósito final un valor de  $a_w$  entre 0,15 y 0,20, con ello se garantiza que se está obteniendo un valor de humedad cercano al que se fijó como propósito final, y a la vez, se está cumpliendo en el valor de actividad del agua típico para los productos

comerciales alimenticios en polvo, el cual garantiza que los mismos mantienen su inocuidad y conservarán sus propiedades de calidad.

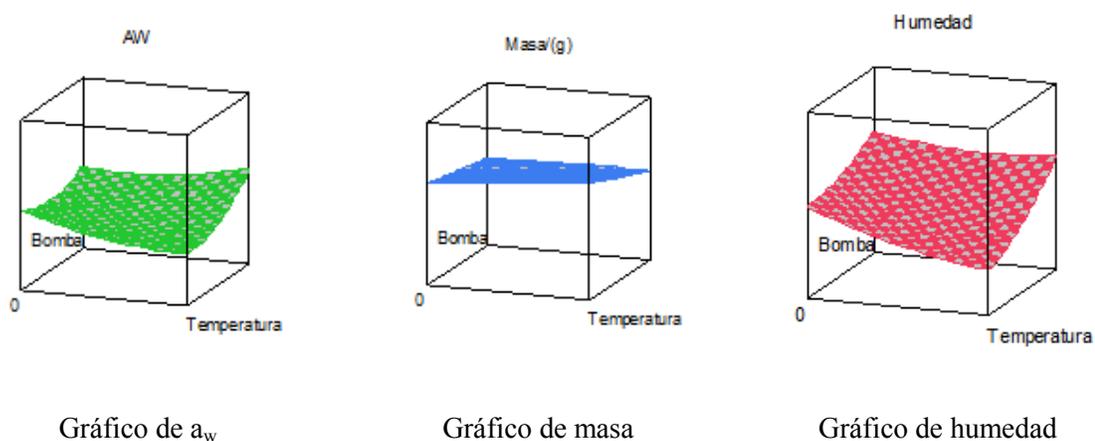


**Figura 4.7.** Relación entre la actividad del agua y el contenido de humedad.

Fuente: Rotronic Instrument Corp, 2015.

En el caso del modelo que contempla la masa como variable de respuesta por una cuestión de economía y rendimiento se busca que la recuperación de masa sea máxima. Como se puede notar en el Cuadro 4.18 el punto estacionario encontrado es un punto de silla, pero se localiza fuera del rango estudiado para las variables predictoras. Como meta final se plantea entonces la recuperación de masa máxima, pero dentro del rango.

En la Figura 4.8 se presentan las superficies de respuesta para los tres modelos, fijando una de las variables predictoras. Como los puntos de silla y el mínimo se encuentran fuera de rango no se pueden visualizar en los gráficos de la superficie de respuesta.



**Figura 4.8.** Gráficos de superficie de respuesta con el flujo de aire igual a 40 mm.

Por medio del uso de las superficies de respuesta que toman en cuenta las tres variables de respuesta se eligieron las combinaciones de las variables predictoras que se aproximan a las metas planteadas. Las combinaciones que se obtuvieron se reportan con los intervalos de confianza respectivos en el Cuadro 4.19. Se muestran en dicho cuadro las mejores cinco combinaciones que se obtuvieron. De manera conjunta se presenta la combinación que se debe manejar en las variables predictoras para lograr alcanzar dichos resultados.

**Cuadro 4.19.** Intervalos de confianza para humedad y  $a_w$ .

Opción	Combinación de variables predictoras			Humedad/(%)	$a_w$	Masa / (g)
	Temperatura /( $^{\circ}$ C)	Bomba /(%)	Aire /(mm)	Intervalo	Intervalo	Intervalo
1	175	24	46	6,305 $\pm$ 1,296	0,156 $\pm$ 0,045	6,041 $\pm$ 0,845
2	162	21	49	7,522 $\pm$ 1,777	0,199 $\pm$ 0,062	5,435 $\pm$ 1,159
3	180	24	49	6,238 $\pm$ 2,314	0,149 $\pm$ 0,080	6,820 $\pm$ 1,509
4	164	24	45	6,984 $\pm$ 1,553	0,174 $\pm$ 0,054	5,289 $\pm$ 1,012
5	170	24	50	7,016 $\pm$ 1,612	0,164 $\pm$ 0,055	6,123 $\pm$ 1,051

En los cinco escenarios presentados, el significado de los intervalos es que al trabajar al 95 % de confianza, de cada 100 corridas que se lleven a cabo 95 de ellas tendrán los resultados en el intervalo que se presenta. Se trataron de obtener las condiciones en las variables predictoras que provoquen que las variables respuesta se adecúen a los rangos de la ficha técnica del producto y los valores presentados por el USDA. Como se puede notar, en la opción 2 el límite superior excede el 9 % máximo de humedad que se menciona en la ficha técnica, y de igual manera, el valor del límite superior del  $a_w$  excede el 0,20 elegido como límite para que se garantice que el producto es seguro para el consumo humano. En consecuencia la opción dos no es recomendable ya que algunas de las corridas que se lleven a cabo pueden llegar a exceder los límites permitidos.

Por otra parte, al analizar la opción cuatro que se presenta en el Cuadro 4.19 se observa que los valores de humedad y  $a_w$  se encuentran dentro de los límites que fueron establecidos

para asegurar la calidad e inocuidad del producto. A su vez, si se comparan los valores de la recuperación de masa con los mostrados en el Cuadro A.39 se nota que la recuperación de masa es buena en comparación con el promedio obtenido en todas las corridas. Al realizar una comparación entre las opciones cuatro y cinco, se puede notar que para ambos casos los valores de humedad y  $a_w$  son bastante similares, y se diferencian únicamente en que la recuperación de masa para la corrida cinco es de aproximadamente un gramo más para cada punto del intervalo. Pero si se comparan las condiciones de operación de las variables predictoras se puede notar que en la corrida cinco el equipo se opera a una temperatura 6 °C mayor a la opción cuatro. El flujo de producto es el mismo en ambos casos, sin embargo el flujo de aire es 5 mm mayor en la escala del rotámetro para la corrida cinco. Para poder elegir entre estas dos opciones en que se presenta un flujo grande de aire y una alta temperatura, que demanda altos requerimientos energéticos, por ende es necesario realizar un análisis para determinar la viabilidad económica del proyecto. Además al analizar la opción 3 se puede notar que es en la que se obtiene una recuperación de masa mayor, sin embargo es la que emplea la mayor temperatura y uno de los flujos de aire más alto, al igual que las opciones anteriores se debe realizar un análisis económico para determinar la viabilidad del proyecto.

Para el caso de la opción cuatro se interpreta que al utilizar la técnica de secado por aspersión utilizando el “Mini Spray Dryer B-290” operando bajo las condiciones de 164 °C, 24 % de flujo en la bomba peristáltica y 45 mm del rotámetro de flujo de aire se obtendrá la clara de huevo en polvo cuyo promedio de humedad va a estar entre 5,43 % y 8,63 % con un 95 % de confianza, cuyo promedio de actividad del agua va a estar entre 0,120 y 0,228 con un 95 % de confianza y cuyo promedio de masa va a estar entre 4,277 g y 6,301 g con un 95 % de confianza. Estos resultados corresponden a muestras de clara pura de 100 mL, con un factor de dilución másico del 75 % en agua. De igual manera, se interpretan el resto de opciones. Para la opción cuatro por medio del Cuadro 4.1 se puede notar que el flujo de aire es de 831 L/h a condiciones estándar. Y por medio de la Figura 4.1 y los valores de las corridas presentados en el Cuadro A.37 se observa que el flujo de producto es de

aproximadamente 8 mL/min. Estos datos son de gran utilidad en el caso de que se considere realizar un escalamiento a nivel industrial del proceso estudiado.

Como se presenta en el Cuadro A.37, para la corrida 11 el tiempo de operación del equipo a un flujo de 24 % de la bomba peristáltica es de 12 min con 38 s, para una muestra de 100 mL. Por ende para la opción cuatro del Cuadro 4.20 se tendrían una producción másica con un promedio entre 20,76 g/h a 30,59 g/h.

### 4.3. TERCERA ETAPA: CORRIDAS DE COMPROBACIÓN

Inicialmente, los resultados fueron analizados con el software Minitab<sup>®</sup>, por medio del cual se realizó la optimización de las respuestas donde se buscó que la recuperación de masa fuera máxima, el valor de  $a_w$  mínimo y la humedad en un valor objetivo de 8 %. Con dichas condiciones impuestas al software se presenta en el Cuadro 4.20 los resultados obtenidos para las variables predictoras, así como los intervalos de las variables de respuesta.

**Cuadro 4.20.** Intervalos para la humedad y  $a_w$  obtenidos por medio de Minitab<sup>®</sup>.

Combinación de variables predictoras			Humedad/(%)	$a_w$	Masa/(g)
Temperatura /( <sup>o</sup> C)	Bomba/(%)	Aire/(mm)	Intervalo	Intervalo	Intervalo
176	24	50	6,483 ± 1,812	0,1504 ± 0,0605	6,590 ± 1,181

Bajo dichas condiciones de operación de llevaron a cabo tres corridas para comprobar que los valores predichos por el programa se ajustan a los obtenidos realmente. En el Cuadro 4.21 se presentan los resultados.

**Cuadro 4.21.** Resultados de las corridas de comprobación.

Réplica	Humedad/(%)	$a_w$	Masa/(g)
1	6,23	0,1446	6,84
2	6,15	0,1352	6,30
3	6,15	0,1370	6,51
Promedio	6,18	0,1389	6,55
Desviación estándar	0,05	0,0050	0,27

Al realizar la comparación de los resultados obtenidos en el Cuadro 4.21, contra los intervalos de respuesta presentados en el Cuadro 4.20 se encuentra que los resultados obtenidos en las réplicas de comprobación se encuentran dentro de los correspondientes intervalos de confianza, lo que confirma que el modelo utilizado es adecuado para describir el proceso y que sirve para predecir los resultados dentro del intervalo de confianza.

Se debe mencionar que para todos los ensayos el producto presentaba una gran dificultad para ser redispersado, y que además, la velocidad de agitación no podía ser muy alta ya que se daba la formación de abundante espuma. Para evitar este problema en las industrias es común emplear algún tipo de sustancia dispersante. Según lo menciona Packard Jr. (1976) hay una serie de agentes dispersantes que pueden ser empleados, como el ácido cítrico y ácido desoxicítrico. Según la FDA otro agente que puede ser empleado como agente dispersante en la clara de huevo en polvo es el estearoil-2-lactilato de calcio.

En estas corridas de comprobación, se determinó la densidad de la muestra redispersada y tal como se presenta en el Cuadro B.37 el valor promedio de las tres réplicas realizadas es de 1,025 g/mL. El valor reportado en el sitio web del USDA, para la densidad de la clara de huevo pura es de 1,027 g/mL. De dicho análisis se puede observar que la densidad del producto redispersado es muy similar a la densidad reportada para la clara pura, y que por tanto, el proceso de redispersión se llevó aplicando una metodología apropiada.

Al producto obtenido de estas tres corridas de comprobación se le determinó el contenido de proteínas. Tal como se aprecia en el Cuadro B.36, para la clara pura el contenido inicial corresponde a 115,57 mg/mL de proteína, en tanto que para el caso de los productos redispersados el valor promedio del contenido de proteína es de 74,47 mg/mL, que corresponde a una recuperación de 64,44 %. Dicho valor que es muy similar a las recuperaciones que se obtuvieron en el resto de corridas del plan experimental tal como se muestra en el Cuadro B.32. Dicha recuperación de proteína tan pobre se puede deber entre otros motivos a una desnaturalización de la misma o bien a una pérdida por acumulación en las paredes de la cámara de secado.

La proteína más importante en el huevo es la albúmina. Por otro lado, muchas de las proteínas de albumen tienen actividad biológica como enzimas. La actividad biológica se ve relacionada con la protección del huevo de un deterioro microbiológico (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009). En el Cuadro 4.22 se muestran las proteínas que constituyen el huevo así como sus temperaturas de desnaturalización.

**Cuadro 4.22.** Proteínas presentes en la clara del huevo (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009).

<b>Proteína</b>	<b>Porcentaje del total de proteína/(%)</b>	<b>Temperatura de desnaturalización/(°C)</b>
Ovoalbúmina	54	84,5
Conalbúmina (Ovotransferrina)	12	61,5
Ovomucoide	11	70
Ovomucina	3,5	---
Lisozima (Ovoglobulina G1)	3,4	75
Ovoglobulina G2	4,0	92,5
Ovoglobulina G3	4,0	---
Flavoproteína	0,8	---
Ovoglicoproteína	1,0	---
Ovomacroglobulina	0,5	---
Ovoinhibidor	1,5	---
Avidina	0,05	---
Cistatina	0,05	---

Nota: Los valores de los porcentajes son promedios.

Tal como se presenta en el Cuadro 4.22 la temperatura de desnaturalización de las proteínas es mucho más baja que las temperaturas a las cuales se operó el equipo en las corridas del plan experimental. Estas temperaturas de operación tan elevadas causan que las proteínas recuperadas tras el proceso de secado se encuentren no en su estado original sino desnaturalizadas. Como se observa en el Cuadro A.37 en la mayoría de las corridas del plan experimental la temperatura de salida del producto final supera la temperatura de desnaturalización de las proteínas con lo cual se puede asegurar que a la salida del producto seco se presentaba una desnaturalización de las proteínas.

Luego de las corridas de comprobación se procesó en el equipo de secado por atomización una cantidad de aproximadamente 550 mL de producto líquido. Para el secado de dicha

muestra se operó el equipo a las condiciones que se mencionan en el Cuadro 4.2. Al producto seco obtenido se le realizó una prueba de presencia de *Salmonella* sp., en la Escuela de Microbiología de la Universidad de Costa Rica. Para este análisis se requiere una muestra de 25 g mínimo. Además se realizó una prueba de color del producto en la Escuela de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica.

Para la obtención de dicho producto para las pruebas microbiológicas y de color se siguieron buenas prácticas higiénicas para huevos y productos del huevo, según el Codex Alimentarius. Se debe tomar en consideración que la granja de donde se obtuvieron los huevos cumple con todas las normas de salubridad que se exigen en el país para evitar la contaminación de los huevos durante su formación, recolección, almacenamiento y transporte.

A su vez, dentro de los parámetros de calidad del producto final se realizan pruebas de perfil microbiológico de coliformes, levaduras y mohos, *Salmonella*, *Listeria*, recuento en plato, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, como se mencionó anteriormente para el presente estudio se realizaron pruebas únicamente para descartar la presencia de *Salmonella* sp. Sólo se realiza esta prueba por una cuestión de recursos. Tal como se muestra en el informe del laboratorio de microbiología de alimentos que se presenta en el Anexo 3 la muestra resultó negativa a la presencia de *Salmonella* sp. De este resultado negativo de dicho análisis se puede inferir que se obtuvo un producto que asegura la salud del consumidor, al menos en lo que al *Salmonella* sp. respecta.

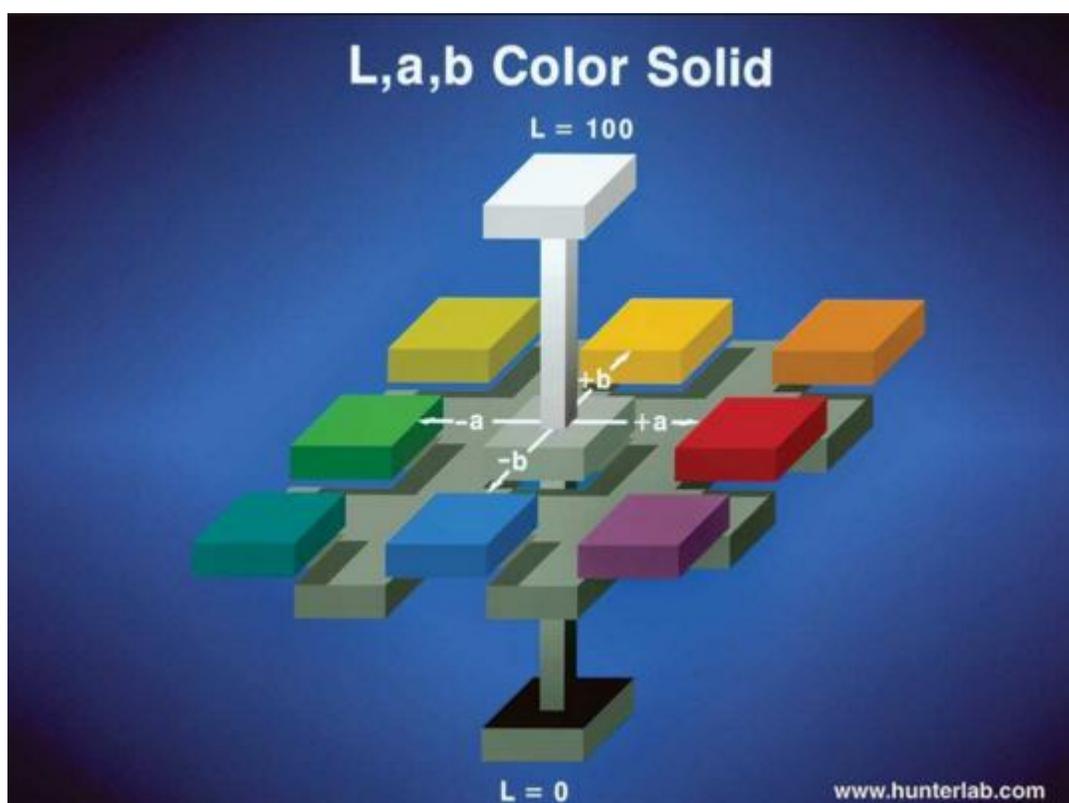
La determinación del color del producto en polvo se realizó por triplicado. Los resultados promedio se presentan en el Cuadro 4.23.

**Cuadro 4.23.** Resultados de la determinación de color

Muestra	Eje de color		
	L	a	b
Valor promedio	97,23	-3,36	7,83

Cada uno de los ejes mostrados en el Cuadro 4.23 se ven representados en la Figura 4.9. En la cual el eje “L” (Luminosidad) corresponde a la escala de negro a blanco siendo el valor

de 0 negro y 100 el color blanco, a su vez el eje “a” corresponde a la gamma de verde en el eje negativo y rojo en el eje positivo, y por último el eje “b” representa azul en su valor negativo y amarillo en su valor positivo.

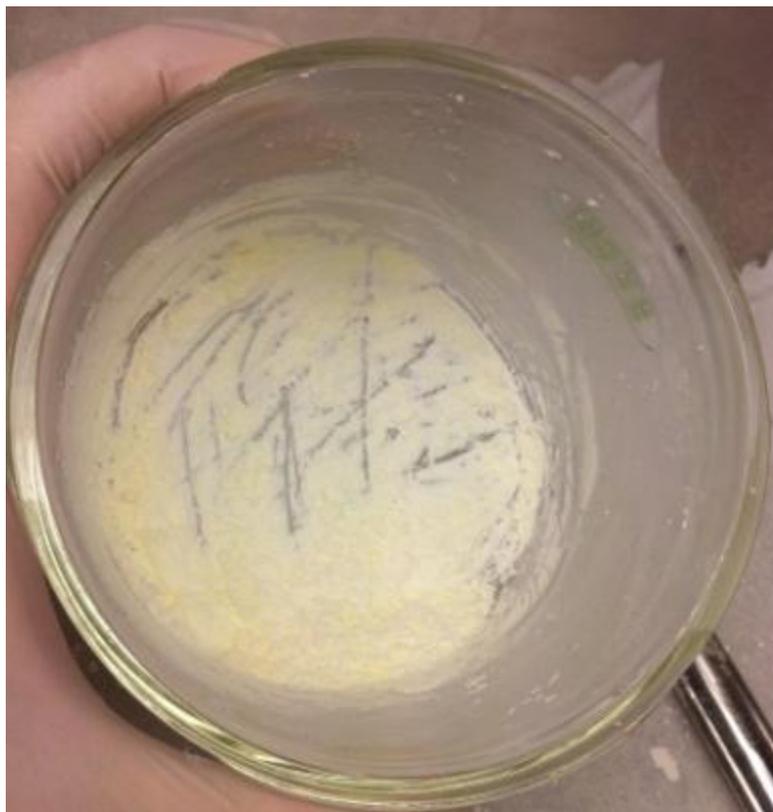


**Figura 4.9.** Ejes de color para la medición del equipo Colorflex

Fuente: Hunter associates laboratory, Inc, 2015.

Al analizar los resultados presentados en el Cuadro 4.23 se puede ver que el producto muestra un color blanco, con una tonalidad un poco crema por la combinación de los parámetros “a” y “b”. Una muestra del color real que se obtuvo en el producto se puede apreciar en la Figura 4.10. El color obtenido se adecúa a lo reportado en la ficha técnica de F.O.F International en la cual se reporta que el producto en polvo debe presentar un color blanco a cremoso. Aún sin haber eliminado previamente los azúcares reductores tal como se explicó en el Capítulo 2, no hubo un efecto significativo de la reacción de Maillard.

En el presente estudio, como se mencionó anteriormente, no se presentó un efecto de oscurecimiento del producto lo cual puede deberse a que como la cinética de la reacción presenta una constante la cual depende de la temperatura y la concentración de los azúcares reductores y grupos amino, se pudo dar que la temperatura y las concentraciones de los azúcares y grupos amino no fueran los adecuados para favorecer la reacción, también el bajo tiempo de residencia en el equipo hace que se reduzca el efecto de la reacción.



**Figura 4.10.** Muestra del color del producto seco obtenido en las corridas de comprobación.

Por otra parte, al producto obtenido de las corridas de comprobación se le realizó un análisis del contenido de proteína, dicho análisis fue llevado a cabo en el Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica y el reporte se presenta en el Anexo 2. El producto cuenta con  $(79,04 \pm 0,53)$  g de proteína por cada 100 g del producto seco, con una humedad de  $(7,691 \pm 0,055)$  g de humedad por cada 100 g de producto. Al comparar este valor con los presentados por los fabricantes internacionales del

producto seco mostrados en el Cuadro 2.2 y Cuadro 2.4, es notorio que el valor obtenido de proteína es ligeramente menor al asegurado por los fabricantes, puede deberse entre otros motivos a una pérdida por adherencia de producto a la pared de la cámara de secado. Como se mencionó anteriormente, si para futuros análisis se toman en cuenta variables que logren predecir de mejor manera el comportamiento del contenido de proteína en el producto, tal vez se logre llegar al valor del contenido de proteína que debe ser asegurado en el producto comercial.

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. CONCLUSIONES

- Al emplear la técnica de secado por aspersión utilizando el equipo “Mini Spray Dryer B-290” operando bajo los niveles de 164 °C, 24 % en la bomba peristáltica y 45 mm de flujo de aire en el rotámetro se obtiene clara de huevo en polvo cuyo promedio de humedad estará entre 5,432 % y 8,628 %, la actividad del agua tendrá un promedio entre 0,120 y 0,228, y a su vez la recuperación de masa tendrá un promedio de 4,277 g y 6,301 g, todo esto con un 95 % de confianza y para una muestra de clara de huevo de 100 mL con una dilución másica del 75 % en agua.
- El producto final obtenido, clara de huevo deshidratada cumple con los siguientes parámetros de calidad a nivel internacional: contenido de humedad, nivel de  $a_w$ , color y ausencia de *Salmonella* sp. como microorganismo patógeno.
- La dificultad de re dispersión del producto en polvo se debe a la ausencia de un producto dispersante tal como el ácido cítrico y el ácido desoxicólico.
- Se comprobó para cada uno de los modelos de segundo orden desarrollados los supuestos de normalidad por medio de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, el supuesto de homoscedasticidad por medio de la prueba de Breusch Pagan, así como el supuesto de independencia de los errores gráficos.
- Por medio del análisis de los valores de  $R^2$  y la prueba de falta de ajuste de cada modelo se concluye que el modelo de humedad no ajusta bien los datos; sin embargo un valor alto de 72,6 % en el  $R^2$ , da a entender que el error experimental es pequeño, lo cual es deseable.
- Los modelos de  $a_w$  y masa describen bien el proceso de obtención de  $a_w$  y de recuperación de masa, dado que presentan valores de  $R^2$ : 80,2 % y 97,1 % respectivamente. Además para ambos modelos se cuenta con suficiente evidencia estadística de que los modelos ajustan bien.

- Para el caso del modelo de fracción de recuperación de la proteína se tiene un  $R^2$  de 37,4 %, y el modelo ajusta bien, pese a esto se concluye que el modelo no es bueno ya que las variables predictoras no logran explicar la variabilidad de la respuesta. Por lo tanto se decide no tomar en consideración este modelo para el análisis de los resultados.
- Por medio de la elección de los puntos axiales se garantiza que la superficie de respuesta presente rotabilidad, lo cual a su vez garantiza buenas predicciones a lo largo de toda la región de interés.

## **5.2. RECOMENDACIONES**

- Para emplear el modelo de fracción de recuperación de proteínas se deben utilizar otras variables predictoras, tales como porcentaje de dilución, presión de aspersion, temperatura de salida, que logren explicar la variabilidad de la respuesta. O dejar por fuera del estudio algunas de las variables predictoras que no aporten algo significativo.
- Para futuros experimentos es necesario aumentar el número de muestras tomando en cuenta los recursos de capital y tiempo requeridos, esto con el fin de obtener una mejor estimación de la varianza del error, y con esto obtener intervalos de confianza más estrechos y precisos.
- Emplear un método de determinación de la proteína que presente una menor variabilidad entre cada día de determinación, para evitar que el método de análisis tenga una influencia en la variabilidad de los resultados.
- Para futuras investigaciones es deseable la adición al producto en polvo algún agente de dispersión o humectación el cual facilite la posterior redispersión en agua del mismo.

## NOMENCLATURA

Cn	Concentración	mg/mL
H	Hipótesis estadísticas	Adimensional
N	Número total de datos	Adimensional
P	Presión de vapor	Pa
RR	Razón de recuperación	Adimensional
Sp	Estimador de varianza muestral común	Dependiente del dato
X	Dato obtenido	Dependiente del dato
a	Actividad	Adimensional
b	Intercepto	mg/mL
m	Pendiente	mg/mL/absorbancia
nf	Número de puntos de la porción factorial del diseño	Adimensional
p	Estimador estadístico	Adimensional
t	Estimador estadístico	Adimensional
x	Corresponde a los factores empleados en el diseño	Dependiente del factor
y	Variable dependiente	mg/mL
z	Variable independiente	Adimensional
$\alpha$	Distancia del centro a un punto estrella	Adimensional
$\beta$	Coefficientes de regresión del modelo	Adimensional
$\varepsilon$	Valor residual del modelo	Adimensional
$\eta$	Valor de cada atributo de calidad medido	Adimensional
$\mu$	Promedio	Dependiente del análisis
$\rho$	Densidad	g/mL
$\sigma$	Varianza	Adimensional

### Subíndices

DP	Referente a proteína diluida
F	Referente al alimento
O	Referente al calculado
TP	Referente a proteína total
i	Referente a la nula
j	Referente a cada dato
o	Referente a la alternativa
w	Referente a agua
x	Referente a la muestra x
y	Referente a la muestra y
0	Referente al coeficiente numeral
1	Referente al coeficiente que acompaña al primer factor y al primer factor

2	Referente al coeficiente que acompaña al segundo factor y al segundo factor
11	Referente al coeficiente que acompaña al primer factor al cuadrado
22	Referente al coeficiente que acompaña al segundo factor al cuadrado

## BIBLIOGRAFÍA

- American Lecithin Company. (2009). Obtenido de American Lecithin Company:  
[http://www.americanlecithin.com/lecithin\\_2009](http://www.americanlecithin.com/lecithin_2009)
- Araya, J. (2013). *Determinación de proteínas totales por el método de Bradford*. San José: CENIBiot.
- Ayadi, M. A., Khemakhem, M., Belgith, H., & Attia, H. (2008). Effect of Moderate Spray Drying Conditions on Functionality of Dried Egg White and Whole Egg. *Journal of Food Science*, E281-E287.
- Ballas Egg products Corp. (16 de Diciembre de 2006). Obtenido de Ballas:  
<http://www.ballasegg.com/assets/pdfs/msds>
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food chemistry*. Berlin: Springer-Verlag.
- Bhandari, B., Bansal, N., Zhang, M., & Schuck, P. (2013). *Handbook of food powders processes and properties*. Estados Unidos: Woodhead Publishing Limited.
- Box, G. E., & Hunter, J. S. (1957). Multi-Factor Experimental Designs for Exploring Response Surfaces. *The Annals of Mathematical Statistics*, 195-242.
- British Egg Information Service. (2015). *Egginfo*. Obtenido de  
<https://www.egginfo.co.uk/egg-facts-and-figures/faqs#nutrition-chemistry>
- Büchi. (s.f). *Operation manual mini spray dryer B-290*. Suiza : Büchi.
- Chen, X. D., & Mujumdar, A. S. (2008). *Drying technologies in food processing*. Singapur: Blackwell publishing Ltd.
- Codex Alimentarius. (2007). *Codex Alimentarius*. Obtenido de  
[http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/73/CXP\\_015e.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/73/CXP_015e.pdf)

- Datta, A. K., Sablani, S. S., Rahman, M. S., & Mujumdar, A. S. (2007). *Handbook of Food and Bioprocess Modeling Techniques*. Florida: CRC Press.
- Emery, P., & Sanders, T. (2003). *Molecular Basis Of Human Nutrition*. New York: CRC Press.
- F.O.F International. (2010). *Farmers Organic Foods*. Obtenido de [http://www.farmersorganicfoods.com/uploads/1/0/2/3/10239332/organic\\_egg\\_powder\\_12-26-12.pdf](http://www.farmersorganicfoods.com/uploads/1/0/2/3/10239332/organic_egg_powder_12-26-12.pdf)
- Fellows, P. (2000). *Food processing technology principles and practice*. Florida: CRC Press.
- Granato, D., & de Araújo Calado, V. M. (2014). *Mathematical and Statistical Methods in Food Science and Technology*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.
- Granato, D., Bigaski, J., Castro, I. A., & Masson, M. L. (2010 a). Sensory evaluation and physicochemical optimization of soy-based desserts using response surface methodology. *Food Chemistry*, 899-906.
- Granato, D., Castro, I. A., Ellendersen, L. S., & Masson, M. L. (2010 b). Physical stability assessment and sensory optimization of a dairy-free emulsion using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 149-155.
- Guerrero-Legarreta, I. (2010 ). *Handbook of poultry science and technology, secondary processing*. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.
- Gutiérrez, H., & De la Vara, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos*. México, D.F: McGraw-Hill.
- Howard, Z. R., O'Bryan, C. A., Crandall, P. G., & Ricke, S. C. (2012). Salmonella Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control. *Food research international*, 755-764.

- Hui, Y. H. (2005). *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*. Florida: CRC Press.
- Hunter associates laboratory, Inc. (2015). *HunterLab*. Obtenido de <http://www.hunterlab.com/>
- Ignário, R. M., & Caetano da Silva Lannes, S. (2007). Preparation of egg yolk using a mini spray dryer. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 729-732.
- International Society for Pharmaceutical Engineering . (2016). Obtenido de ISPE: <http://www.ispe.org/gmp-resources/what-is-gmp>
- Jung, Y. S., & Beuchat, L. R. (1999). Survival of multidrug-resistant Salmonella tythimurium DT104 in egg powders as affected by water activity and temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 1-8.
- Ma, S., Zhao, S., Zhang, Y., Yu, Y., Liu, J., & Xu, M. (2013). Quality of spray-drying egg white powders. *Molecular Biology Reports*, 5677-5683.
- Mine, Y. (1996). Effect of pH during the dry heating on the gelling properties of egg white proteins. *Food Research International*,, 155-161.
- Montgomery. (2005). *Analysis of experiments*. Arizona: John Wiley and Sons, INC.
- Montgomery, D. C. (2009). *Design and analysis of experiments*. Hoboken: John Wiley and Sons.
- Mujumdar, A. S. (2014). *Handbook of industrial drying*. Florida: CRC Press.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2009). *Response surface methodology Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. New Yersey: John Wiley and Sons.
- Nollet, L. (2004). *Handbook of food analysis*. New York: CRC Press.

- Nollet, L. L., & Toldrá, F. (2008). *Handbook of muscle foods analysis*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Nys, Y., Bain, M., & Van Immerseel, F. (2011). *Improving the safe and quality of eggs and egg products, egg chemistry, production and consumption*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Ortega-Rivas, E. (2009). *Processing effects on safety and quality of foods*. Florida: CRC Press.
- Ovovita. (2009). *Ovovita*. Obtenido de <http://www.ovovita.pl/html/en/download/egg%20white%20powder%20-%20whip.pdf>
- Packard Jr, V. S. (1976). *Processed Foods and the Consumer: Additives, Labeling, Standards, and Nutrition*. Minnesota: University of Minnesota.
- Passos, M. L., & Ribeiro, C. P. (2009). *Innovation in food engineering: new techniques and products*. Estados Unidos: CRC Press.
- Pedroza, H., & Dicovskyi, L. (2006). *Sistema de análisis estadístico con SPSS*. Managua: LITONIC.
- Rannou, C., Queveau, D., Beaumal, V., David-Briand, E., Le Borgne, C., Meynier, A., Anton, M., Prost, C., Schuck, P., Loisel, C. (2015). Effect of spray-drying and storage conditions on the physical and. *Journal of Food Engineering*, 58-68.
- Rotronic Instrument Corp. (2015). *Rotronic measurement solutions*. Obtenido de <http://www.rotrotronc-usa.com/products/water-activity/hygrolab-c1/>
- Seader, J., Henkey, E., & Roper, K. (2010). *Separation Process Principles Chemical and Biochemical Operations-3era ed*. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.

- Simpson, B. K., Nollet, L., Toldrá, F., Benjakul, S., Paliyath, G., & Hui, Y. H. (2012). *Food Biochemistry and food processing*. New Delhi: John Wiley & Sons.
- Singh, R. P., & Heldman, D. R. (2009). *Introduction to food engineering*. China: ELVESIER.
- Tsotsas, E., & Mujumdar, A. S. (2011). *Modern drying technology volumen 3: product quality and formulation*. Alemania: Wiley-VCH Verlag and Co.
- United States Department of Agriculture. (01 de Septiembre de 2015). *United States Department of Agriculture*. Obtenido de <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/113?fgcd=&manu=&lfacet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=01124>
- Vaclavik, V. A., & Christian, E. W. (2008). *Essentials of food science*. New York: Springer.

## APÉNDICES

## APÉNDICE A

### DATOS EXPERIMENTALES

**Cuadro A.1.** Datos para la elaboración de las disoluciones de los primeros ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
1.1	Erlenmeyer	80,98
	Erlenmeyer y clara pura	145,09
	Clara	64,11
	Masa total de la disolución al 50 % en masa	128,22
	Masa de la disolución y erlenmeyer	209,20
1.2	Erlenmeyer	144,09
	Erlenmeyer y clara pura	178,96
	Clara	34,87
	Masa total de la disolución al 25 % en masa	139,48
	Masa de la disolución y erlenmeyer	283,57
1.3	Erlenmeyer	146,96
	Erlenmeyer y clara pura	176,98
	Clara	30,02
	Masa total de la disolución al 25 % en masa	120,08
	Masa de la disolución y erlenmeyer	267,04
1.4	Erlenmeyer	144,09
	Erlenmeyer y clara pura	189,10
	Clara	45,01
	Masa total de la disolución al 37,5 % en masa	120,03
	Masa de la disolución y erlenmeyer	264,12

**Cuadro A.2.** Condiciones de operación de los primeros ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
1.1	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 10 % Rotámetro de aire: 30 mm
1.2	Temperatura de ingreso: 155 °C Bomba peristáltica: 5 % Rotámetro de aire: 30 mm
1.3	Temperatura de ingreso: 155 °C Bomba peristáltica: 10 % Rotámetro de aire: 30 mm
1.4	Temperatura de ingreso: 163 °C Bomba peristáltica: 7 % Rotámetro de aire: 30 mm

**Cuadro A.3.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los primeros ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
1.1	Temperatura de salida: 97 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 29,15 min Flujo: 3,43 mL/min Muestra: 2,30 g Humedad: 9,98 % pH inicial: 9,32 pH del re dispersado: 10,29 $a_w$ 0,4550 0,4944 Masa empleada para la re dispersión: 0,42 g Absorbancia de la disolución de clara: 0,3786 Absorbancia del re dispersado: 0,2623
1.2	Temperatura de salida: 98 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 55,93 min Flujo: 1,79 mL/min Humedad: 13,66 % pH inicial: 9,28 pH del re dispersado: 10,50 $a_w$ : 0,4741 Masa empleada para la re dispersión: 0,96 g Absorbancia de la disolución de clara: 0,2713 Absorbancia del re dispersado: 0,2923
1.3	Temperatura de salida: 93 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 28,62 min Flujo: 3,49 mL/min Humedad: 12,78 % pH inicial: 9,33 pH del re dispersado: 9,77 $a_w$ : 0,4580 Masa empleada para la re dispersión: 0,44 g Absorbancia de la disolución de clara: 0,1023 Absorbancia del re dispersado: 0,4540
1.4	Temperatura de salida: 104 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: indeterminado Flujo: indeterminado Humedad: 11,70 % $a_w$ : 0,4551 Masa empleada para la re dispersión: 0,62 g Absorbancia de la disolución de clara: 0,3064 Absorbancia del re dispersado: 0,2988

**Cuadro A.4.** Datos para la elaboración de las disoluciones de los segundos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
2.1	Erlenmeyer	89,79
	Erlenmeyer y clara pura	141,02
	Clara	51,23
	Masa total de la disolución al 50 % en masa	102,46
	Masa de la disolución y erlenmeyer	192,25
2.2	Erlenmeyer	80,78
	Erlenmeyer y clara pura	122,50
	Clara	41,72
	Masa total de la disolución al 37,5 % en masa	111,25
	Masa de la disolución y erlenmeyer	192,03
2.3	Erlenmeyer	89,36
	Erlenmeyer y clara pura	153,98
	Clara	64,62
	Masa total de la disolución al 50 % en masa	129,24
	Masa de la disolución y erlenmeyer	218,60

**Cuadro A.5.** Condiciones de operación de los segundos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
2.1	Temperatura de ingreso: 180 °C Bomba peristáltica: 10 % Rotámetro de aire: 30 mm
2.2	Temperatura de ingreso: 163 °C Bomba peristáltica: 7 % Rotámetro de aire: 40 mm
2.3	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 10 % Rotámetro de aire: 40 mm

**Cuadro A.6.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los segundos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
2.1	Temperatura de salida: 109 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 30,23 min Flujo: 3,31 mL/min Humedad: 10,05 % pH inicial: 8,89 pH del re dispersado: 10,05 $a_w$ : 0,4061 Masa empleada para la re dispersión: 0,77 g

**Cuadro A.6. (Continuación)** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los segundos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>	
2.1	Absorbancia de la clara pura:	0,1202
		0,1260
		0,0046
	Absorbancia del re dispersado:	0,0550
		0,0675
2.2	Temperatura de salida: 101 °C	
	Vacío: -60 mbar	
	Tiempo de operación: 39,88 min	
	Flujo: 2,51 mL/min	
	Humedad: 8,37 %	
	pH inicial: 9,36	
	pH del re dispersado: 10,26	
	a <sub>w</sub> : 0,2555	
	Masa empleada para la re dispersión: 0,81 g	
	Absorbancia de la clara pura:	0,0736
		0,0878
Absorbancia del re dispersado:	0,0398	
	0,0357	
2.3	Temperatura de salida: 97 °C	
	Vacío: -60 mbar	
	Tiempo de operación: 28,37 min	
	Flujo: 3,52 mL/min	
	Humedad: 7,03 %	
	pH inicial: 9,35	
	pH del re dispersado: 10,27	
	a <sub>w</sub> : 0,2478	
	Masa empleada para la re dispersión: 0,96 g	
	Absorbancia de la clara pura: indeterminada	
	Absorbancia del re dispersado:	0,0329
	0,0402	

**Cuadro A.7.** Datos para la elaboración de las disoluciones de los terceros ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
3.1	Erlenmeyer	140,19
	Erlenmeyer y clara pura	223,85
	Clara	83,66
	Masa total de la disolución al 60 % en masa	139,43
	Masa de la disolución y erlenmeyer	279,62

**Cuadro A.7. (Continuación)** Datos para la elaboración de las disoluciones de los terceros ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
3.2	Erlenmeyer	89,33
	Erlenmeyer y clara pura	176,60
	Clara	87,27
	Masa total de la disolución al 50 % en masa	174,54
	Masa de la disolución y erlenmeyer	263,87
3.3	Erlenmeyer	114,03
	Erlenmeyer y clara pura	203,79
	Clara	89,76
	Masa total de la disolución al 50 % en masa	179,52
	Masa de la disolución y erlenmeyer	293,55

**Cuadro A.8.** Condiciones de operación de los terceros ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
3.1	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 10 % Rotámetro de aire: 40 mm
3.2	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 10 % Rotámetro de aire: 50 mm
3.3	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 14 % Rotámetro de aire: 50 mm

**Cuadro A.9.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los terceros ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
3.1	Temperatura de salida: 97 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 29 min Flujo: 3,45 mL/min Humedad: 7,28 % Masa de la muestra: 4,07 g pH inicial: 9,29 pH del re dispersado: 10,12 $a_w$ : 0,2282 Masa empleada para la re dispersión: 1,18 g

**Cuadro A.9. (Continuación)** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los terceros ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
3.2	Temperatura de salida: 97 °C
	Vacío: -60 mbar
	Tiempo de operación: 28,85 min
	Flujo: 3,47 mL/min
	Humedad: 6,65 %
	Masa de la muestra: 5,26 g
	pH inicial: 9,32
	pH del re dispersado: 10,18
	$a_w$ : 0,3357
	Masa empleada para la re dispersión: 1,28 g
3.3	Temperatura de salida: 89 °C
	Vacío: -60 mbar
	Tiempo de operación: 20,78 min
	Flujo: 4,81 mL/min
	Humedad: 6,15 %
	Masa de la muestra: 5,05 g
	pH inicial: 9,37
	pH del re dispersado: 10,23
	$a_w$ : 0,1898
	Masa empleada para la re dispersión: 1,88 g

**Cuadro A.10.** Datos para la elaboración de las disoluciones de los cuartos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
4.1	Erlenmeyer	130,10
	Erlenmeyer y clara pura	229,06
	Clara	98,96
	Masa total de la disolución al 70 % en masa	141,37
	Masa de la disolución y erlenmeyer	271,47
4.2	Erlenmeyer	130,14
	Erlenmeyer y clara pura	240,17
	Clara	110,03
	Masa total de la disolución al 70 % en masa	157,19
	Masa de la disolución y erlenmeyer	287,33
4.3	Erlenmeyer	130,17
	Erlenmeyer y clara pura	235,86
	Clara	105,69
	Masa total de la disolución al 70 % en masa	150,99
	Masa de la disolución y erlenmeyer	281,16
4.4	Erlenmeyer	130,19
	Erlenmeyer y clara pura	238,36
	Clara	108,17
	Masa total de la disolución al 70 % en masa	154,53
	Masa de la disolución y erlenmeyer	284,72

**Cuadro A.11.** Condiciones de operación de los cuartos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
4.1	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 10 % Rotámetro de aire: 40 mm
4.2	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 14 % Rotámetro de aire: 50 mm
4.3	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 18 % Rotámetro de aire: 50 mm
4.4	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 14 % Rotámetro de aire: 60 mm

**Cuadro A.12.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los cuartos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
4.1	Temperatura de salida: 94 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 28,52 min Flujo: 3,51 mL/min Humedad: 6,23 % Masa de la muestra: 4,94 g $a_w$ : 0,1723
4.2	Temperatura de salida: 89 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 28,58 min Flujo: 3,86 mL/min Humedad: 6,17 % Masa de la muestra: 6,76 g $a_w$ : 0,1928
4.3	Temperatura de salida: 84 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 15,60 min Flujo: 6,41 mL/min Humedad: 7,06 % Masa de la muestra: 6,11 g $a_w$ : 0,2098
4.4	Temperatura de salida: 84 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: indeterminado Flujo: indeterminado Humedad: 8,01 % Masa de la muestra: indeterminada $a_w$ : 0,2516

**Cuadro A.13.** Datos para la elaboración de las disoluciones de los quintos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
5.1	Erlenmeyer	130,01
	Erlenmeyer y clara pura	220,32
	Clara	90,22
	Masa total de la disolución al 75 % en masa	120,29
	Masa de la disolución y erlenmeyer	250,39
5.2	Erlenmeyer	130,17
	Erlenmeyer y clara pura	230,05
	Clara	99,88
	Masa total de la disolución al 75 % en masa	133,17
	Masa de la disolución y erlenmeyer	263,34

**Cuadro A.14.** Condiciones de operación de los quintos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
5.1	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 14 % Rotámetro de aire: 50 mm
5.2	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 22 % Rotámetro de aire: 50 mm

**Cuadro A.15.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los quintos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
5.1	Temperatura de salida: 92 °C Vacío: -17 mbar Tiempo de operación: 19,77 min Flujo: 5,06 mL/min Humedad: 4,86 % Masa de la muestra: 6,90 g pH inicial: 9,02 pH del re dispersado: 10,22 $a_w$ : 0,1740 Masa empleada para la re dispersión: 1,14 g Absorbancia de la clara pura: 0,2223 Absorbancia del re dispersado: 0,1961

**Cuadro A.15. (Continuación)** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los quintos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
5.2	Temperatura de salida: 88 °C Vacío: -17 mbar Tiempo de operación: 13,10 min Flujo: 7,69 mL/min Humedad: 5,14 % Masa de la muestra: 6,58 g pH inicial: 9,22 pH del re dispersado: 10,18 a <sub>w</sub> : 0,1765 Masa empleada para la re dispersión: 1,01 g Absorbancia de la clara pura: 0,2226 Absorbancia del re dispersado: 0,0125

**Cuadro A.16.** Datos para la elaboración de las disoluciones de los sextos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
6.1	Erlenmeyer	114,91
	Erlenmeyer y clara pura	204,91
	Clara	90,00
	Masa total de la disolución al 75 % en masa	120,00
	Masa de la disolución y erlenmeyer	234,91
6.2	Erlenmeyer	116,09
	Erlenmeyer y clara pura	202,66
	Clara	86,57
	Masa total de la disolución al 80 % en masa	108,21
	Masa de la disolución y erlenmeyer	224,30
6.3	Erlenmeyer	115,09
	Erlenmeyer y clara pura	211,31
	Clara	96,22
	Masa total de la disolución al 50 % en masa	113,20
	Masa de la disolución y erlenmeyer	228,29

**Cuadro A.17.** Condiciones de operación de los sextos ensayos preliminares, en todas se utilizó una muestra de 100 mL.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
6.1	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 26 % Rotámetro de aire: 50 mm
6.2	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 22 % Rotámetro de aire: 50 mm
6.3	Temperatura de ingreso: 170 °C Bomba peristáltica: 22 % Rotámetro de aire: 50 mm

**Cuadro A.18.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los sextos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
6.1	Temperatura de salida: 81 °C Vacío: -55 mbar Tiempo de operación: 11,33 min Flujo: 8,83 mL/min Humedad: 7,41 % Masa de la muestra: 6,33 g pH inicial: 9,33 pH del re dispersado: 10,26 $a_w$ : 0,2295 Masa empleada para la re dispersión: 1,18 g Absorbancia de la clara pura: 0,2891 Absorbancia del re dispersado: 0,1879
6.2	Temperatura de salida: 85 °C Vacío: -55 mbar Tiempo de operación: 14,18 min Flujo: 7,05 mL/min Humedad: 5,61 % Masa de la muestra: 7,04 g pH inicial: 9,31 pH del re dispersado: 10,26 $a_w$ : 0,1852 Masa empleada para la re dispersión: 1,30 g Absorbancia de la clara pura: 0,1443 Absorbancia del re dispersado: 0,1787
6.3	Temperatura de salida: 83 °C Vacío: -55 mbar Tiempo de operación: 10,25 min Flujo: 9,76 mL/min Humedad: 4,47 % Masa de la muestra: 7,35 g pH inicial: 9,34 pH del re dispersado: 10,20 $a_w$ : 0,1868 Masa empleada para la re dispersión: 1,19 g Absorbancia de la clara pura: 0,2077 Absorbancia del re dispersado: 0,2792

**Cuadro A.19.** Determinación del contenido de proteína en tres diferentes huevos.

<b>Clara de huevo</b>	<b>Absorbancia 1/(adim)</b>	<b>Absorbancia 2/(adim)</b>	<b>Absorbancia 3/(adim)</b>
1	0,3972	0,3767	0,3803
2	0,3631	0,3550	0,3615
3	0,3722	0,3614	0,3560

**Cuadro A.20.** Datos para la elaboración de la disolución de los octavos ensayos preliminares.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	318,43
Erlenmeyer y clara pura	614,58
Clara	296,15
Masa total de la disolución al 75 % en masa	394,87
Masa de la disolución y erlenmeyer	713,30

**Cuadro A.21.** Condiciones de operación de las tres réplicas de los octavos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL.

<b>Condiciones de operación</b>	<b>Valor</b>
Temperatura de ingreso	173 °C
Bomba peristáltica	18 %
Rotámetro de aire	47 mm

**Cuadro A.22.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los octavos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
8.1	Temperatura de salida: 91 °C
	Vacío: -60 mbar
	Tiempo de operación: 17,15 min
	Flujo: 5,83 mL/min
	Humedad: 4,55 %
	Masa de la muestra: 6,50 g
	pH inicial: 9,21
	$a_w$ : 0,1836
	Masa empleada para la re dispersión: 1,14 g
	Absorbancia de la clara pura: 0,2928
Absorbancia del re dispersado: 0,3465	
8.2	Temperatura de salida: 89 °C
	Vacío: -60 mbar
	Tiempo de operación: 17,07 min
	Flujo: 5,86 mL/min
	3,93 %
	Humedad: 6,13 %
	5,22 %
	Masa de la muestra: 6,62 g
	pH inicial: 9,21
	$a_w$ : 0,1593
Masa empleada para la re dispersión: 1,08 g	
Absorbancia de la clara pura: 0,2928	
Absorbancia del re dispersado: 0,3052	

**Cuadro A.22. (Continuación)** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los octavos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
8.3	Temperatura de salida: 89 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 16,42 min Flujo: 6,09 mL/min Humedad: 4,33 % Masa de la muestra: 5,90 g pH inicial: 9,21 $a_w$ : 0,1279 Masa empleada para la re dispersión: 1,01 g Absorbancia de la clara pura: 0,2928 Absorbancia del re dispersado: 0,3704

**Cuadro A.23.** Datos para la elaboración de la disolución de los novenos ensayos preliminares.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	318,43
Erlenmeyer y clara pura	614,06
Clara	295,63
Masa total de la disolución al 75 % en masa	394,17
Masa de la disolución y erlenmeyer	712,60

**Cuadro A.24.** Condiciones de operación de las tres réplicas de los novenos ensayos preliminares, en todos se utilizó una muestra de 100 mL.

<b>Condiciones de operación</b>	<b>Valor</b>
Temperatura de ingreso	173 °C
Bomba peristáltica	18 %
Rotámetro de aire	47 mm

**Cuadro A.25.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los novenos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
9.1	Temperatura de salida: 87 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: indeterminado Flujo: indeterminado Humedad: 7,24 % Masa de la muestra: 6,24 g pH inicial: 9,27 pH del re dispersado: 10,05 $a_w$ : 0,2708 Masa empleada para la re dispersión: 1,21 g Absorbancia de la clara pura: 0,2209 Absorbancia del re dispersado: 0,3819

**Cuadro A.25. (Continuación)** Resultados del secador y las pruebas de calidad de los novenos ensayos preliminares.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
9.2	Temperatura de salida: 88 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 15,93 min Flujo: 6,28 mL/min Humedad: 4,28 % Masa de la muestra: 6,42 g pH inicial: 9,27 pH del re dispersado: 10,22 a <sub>w</sub> : 0,1558 Masa empleada para la re dispersión: 1,19 g Absorbancia de la clara pura: 0,2209 Absorbancia del re dispersado: 0,4113
9.3	Temperatura de salida: 87 °C Vacío: -60 mbar Tiempo de operación: 16,13 min Flujo: 6,20 mL/min Humedad: 4,29 % Masa de la muestra: 6,47 g pH inicial: 9,27 pH del re dispersado: 10,21 a <sub>w</sub> : 0,1398 Masa empleada para la re dispersión: 1,19 g Absorbancia de la clara pura: 0,2209 Absorbancia del re dispersado: 0,4118

**Cuadro A.26.** Determinación de la actividad del agua para una muestra del producto seco.

<b>Réplica</b>	<b>Actividad del agua</b>
1	0,5181
2	0,5203
3	0,5240
4	0,5281

**Cuadro A.27.** Condiciones de operación de las corridas del plan experimental.

<b>Corrida</b>	<b>Temperatura/(°C)</b>	<b>Bomba peristáltica/(%)</b>	<b>Rotámetro del aire/(mm)</b>
1	176	21	34
2	166	21	34
3	176	13	34
4	166	13	34
5	176	21	46
6	166	21	46
7	176	13	46
8	166	13	46
9	180	17	40
10	162	17	40
11	171	24	40
12	171	10	40
13	171	17	50
14	171	17	30
15	171	17	40
16	171	17	40
17	171	17	40
18	171	17	40
19	171	17	40
20	171	17	40

**Cuadro A.28.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 13 y 15.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	320,45
Erlenmeyer y clara pura	635,61
Clara	315,16
Masa total de la disolución al 75 % en masa	420,21
Masa de la disolución y erlenmeyer	740,66

**Cuadro A.29.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 13 y 15.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	320,45
Erlenmeyer y clara pura	635,61
Clara	315,16
Masa total de la disolución al 75 % en masa	420,21
Masa de la disolución y erlenmeyer	740,66

**Cuadro A.30.** Datos para la elaboración de la disolución de la corrida 16.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	312,82
Erlenmeyer y clara pura	623,37
Clara	310,55
Masa total de la disolución al 75 % en masa	414,07
Masa de la disolución y erlenmeyer	726,89

**Cuadro A.31.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 6 y 2.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	324,29
Erlenmeyer y clara pura	631,60
Clara	307,31
Masa total de la disolución al 75 % en masa	409,75
Masa de la disolución y erlenmeyer	734,04

**Cuadro A.32.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 12, 14 y 18.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	325,07
Erlenmeyer y clara pura	644,44
Clara	319,37
Masa total de la disolución al 75 % en masa	425,83
Masa de la disolución y erlenmeyer	750,90

**Cuadro A.33.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 19, 7 y 1.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	315,80
Erlenmeyer y clara pura	589,35
Clara	282,25
Masa total de la disolución al 75 % en masa	376,73
Masa de la disolución y erlenmeyer	692,53

**Cuadro A.34.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 11, 10 y 20.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	320,45
Erlenmeyer y clara pura	613,85
Clara	293,40
Masa total de la disolución al 75 % en masa	391,20
Masa de la disolución y erlenmeyer	711,65

**Cuadro A.35.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 8 y 4.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	318,43
Erlenmeyer y clara pura	620,99
Clara	302,56
Masa total de la disolución al 75 % en masa	403,41
Masa de la disolución y erlenmeyer	721,84

**Cuadro A.36.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas 5, 3, 17 y 9

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	322,55
Erlenmeyer y clara pura	663,30
Clara	340,75
Masa total de la disolución al 75 % en masa	454,33
Masa de la disolución y erlenmeyer	776,88

**Cuadro A.37.** Datos de temperatura de salida del producto, vacío, tiempo de operación y flujo de producto.

<b>Corrida</b>	<b>Temperatura de salida/(°C)</b>	<b>Vacío/(mbar)</b>	<b>Tiempo de operación/(min)</b>	<b>Flujo de producto/(mL/min)</b>
1	92	-65	14,03	7,13
2	88	-65	14,27	7,01
3	97	-65	22,70	4,41
4	91	-65	22,08	4,53
5	85	-65	14,28	7,00
6	82	-65	14,28	7,00
7	94	-65	22,00	4,55
8	86	-65	21,82	4,57
9	91	-65	17,52	5,71
10	82	-65	17,07	5,86
11	81	-65	12,38	8,08
12	97	-65	28,95	3,45
13	88	-60	17,02	5,88
14	93	-65	17,03	5,87
15	92	-60	17,02	5,88
16	89	-65	17,03	5,87
17	86	-65	17,50	5,71
18	89	-65	17,02	5,88
19	90	-65	16,93	5,91
20	91	-65	17,07	5,86

**Cuadro A.38.** Datos de humedad y  $a_w$  para las corridas del plan experimental.

Corrida	Humedad			$a_w$		
	1/(%)	2/(%)	3/(%)	1/(adim)	2/(adim)	3/(adim)
1	5,81	6,72	6,63	0,2413	---	---
2	5,91	5,37	5,60	0,1968	---	---
3	3,98	4,95	5,62	0,1414	0,1550	---
4	4,94	5,92	6,31	0,1600	0,1564	0,1715
5	4,17	4,85	5,63	0,1383	0,1305	0,1497
6	6,18	6,27	6,36	0,1403	0,1568	0,2548
7	4,52	4,86	5,05	0,1364	0,1422	0,1473
8	4,67	5,90	5,89	0,1624	0,1693	0,1807
9	4,20	5,66	5,52	0,1517	0,1574	0,1586
10	5,89	6,08	6,48	0,1543	0,1614	0,1500
11	6,50	7,10	7,57	0,1604	0,1592	0,1640
12	4,37	4,31	---	0,1411	0,1539	0,1953
13	6,76	6,58	6,08	0,1596	0,1683	0,1700
14	5,49	6,43	---	0,2047	---	---
15	5,20	5,28	5,19	0,1415	0,1603	0,1566
16	5,04	5,76	5,03	0,1536	0,1635	0,1499
17	4,57	5,11	5,53	0,1184	0,1459	0,1145
18	4,86	4,89	5,64	0,1480	0,1576	0,1651
19	3,92	5,37	6,22	0,1461	0,1351	0,1441
20	4,12	6,05	5,85	0,1286	0,1479	0,1356

**Cuadro A.39.** Datos de recuperación de masa, masa empleada para la re dispersión y pH.

Corrida	Masa recuperada/(g)	pH de la clara pura/(adim)	pH del producto re dispersado/(adim)	Masa re dispersada/(g)
1	2,77	9,31	10,43	0,75
2	2,75	8,87	10,01	1,01
3	3,86	9,32	10,01	0,90
4	3,74	9,25	9,94	0,86
5	6,41	9,32	10,11	1,11
6	5,68	8,87	10,06	1,23
7	6,93	9,31	10,50	1,16
8	5,75	9,25	10,01	1,11
9	5,48	9,32	10,11	1,18
10	5,17	9,11	10,13	1,12
11	4,28	9,11	10,21	0,90
12	6,51	9,07	10,15	1,14
13	6,48	8,89	10,03	1,30
14	1,85	9,07	10,22	0,77
15	4,92	8,89	10,01	0,87
16	5,28	9,04	10,14	0,37
17	5,35	9,32	10,01	1,10

**Cuadro A.39. (Continuación)** Datos de recuperación de masa, masa empleada para la re dispersión y pH.

Corrida	Masa recuperada/(g)	pH de la clara pura/(adim)	pH del producto re dispersado/(adim)	Masa re dispersada/(g)
18	5,45	9,07	10,21	1,37
19	5,54	9,31	10,42	1,12
20	4,86	9,11	10,28	1,18

**Cuadro A.40.** Datos de masa empleada para la re dispersión, absorbancia de la clara pura y del producto re dispersado.

Corrida	Absorbancia clara pura 1/(adim)	Absorbancia clara pura 2/(adim)	Absorbancia clara pura 3/(adim)	Absorbancia a re dispersado 1/(adim)	Absorbancia a re dispersado 2/(adim)	Absorbancia a re dispersado 3/(adim)
1	0,2191	0,2303	0,2275	0,3770	0,3886	0,3923
2	0,2198	0,2283	0,2245	0,4088	0,4545	0,4521
3	0,2267	0,2333	0,2274	0,3666	0,3913	0,3945
4	0,2178	0,2214	0,2221	0,3802	0,4117	0,4216
5	0,2267	0,2333	0,2274	0,3629	0,3920	0,3962
6	0,2198	0,2283	0,2245	0,3737	0,4067	0,4076
7	0,2191	0,2303	0,2275	0,3689	0,3880	0,3921
8	0,2178	0,2214	0,2221	0,3438	0,3810	0,3817
9	0,2267	0,2333	0,2274	0,3847	0,4147	0,4238
10	0,2273	0,2287	0,2290	0,3847	0,3973	0,4011
11	0,2273	0,2287	0,2290	0,3767	0,3925	0,3948
12	0,2014	0,2125	0,2085	0,3709	0,3985	0,4016
13	0,1700	0,1872	0,1784	0,3536	0,3922	0,4003
14	0,2014	0,2125	0,2085	0,3819	0,4316	0,4354
15	0,1700	0,1872	0,1784	0,3310	0,3714	0,3813
16	0,2059	0,2471	0,2482	0,3628	0,3762	0,3848
17	0,2267	0,2333	0,2274	0,3880	0,4240	0,4270
18	0,2014	0,2125	0,2085	0,3688	0,4068	0,4188
19	0,2191	0,2303	0,2275	0,3700	0,4070	0,4105
20	0,2273	0,2287	0,2290	0,3884	0,4006	0,4026

**Cuadro A.41.** Datos para la elaboración de la disolución de las corridas de comprobación.

Muestra o cristalería	Masa/(g)
Erlenmeyer	320,45
Erlenmeyer y clara pura	591,98
Clara	271,53
Masa total de la disolución al 75 % en masa	362,04
Masa de la disolución y erlenmeyer	682,49

**Cuadro A.42.** Condiciones de operación de las tres réplicas de las corridas de comprobación, en todas se utilizó una muestra de 100 mL.

Condiciones de operación	Valor
Temperatura de ingreso	176 °C
Bomba peristáltica	24 %
Rotámetro de aire	50 mm

**Cuadro A.43.** Resultados del secador y las pruebas de calidad de las corridas de comprobación.

Réplica	Condiciones de operación
C.1	Temperatura de salida: 75 °C
	Vacío: -60 mbar
	Tiempo de operación: 12,65
	Flujo: 7,91 mL/min
	5,83 %
	Humedad: 6,23 %
	6,64 %
	Masa de la muestra: 6,84 g
	pH inicial: 9,29
	pH del re dispersado: 10,03
	0,1315
	a <sub>w</sub> : 0,1509
	0,1513
	Masa empleada para la re dispersión: 1,16 g
	0,2446
	Absorbancia de la clara pura: 0,2602
	0,2634
0,4201	
Absorbancia del re dispersado: 0,4461	
0,4542	
C.2	Temperatura de salida: 74 °C
	Vacío: -60 mbar
	Tiempo de operación: 12,57 min
	Flujo: 7,96 mL/min
	5,44 %
	Humedad: 6,49 %
	6,53 %
	Masa de la muestra: 6,30 g
	pH inicial: 9,29
	pH del re dispersado: 10,08
	0,1243
	a <sub>w</sub> : 0,1373
	0,1441
	Masa empleada para la re dispersión: 1,16 g
	0,2446
	Absorbancia de la clara pura: 0,2602
	0,2634
0,4105	
Absorbancia del re dispersado: 0,4266	
0,4358	

**Cuadro A.43. (Continuación)** Resultados del secador y las pruebas de calidad de las corridas de comprobación.

<b>Réplica</b>	<b>Condiciones de operación</b>
C.3	Temperatura de salida: 75 °C
	Vacío: -60 mbar
	Tiempo de operación: 12,57 min
	Flujo: 7,96 mL/min
	Humedad: 5,60 %
	6,05 %
	6,80 %
	Masa de la muestra: 6,51 g
	pH inicial: 9,29
	pH del re dispersado: 10,06
	0,1537
	a <sub>w</sub> : 0,1288
	0,1285
	Masa empleada para la re dispersión: 1,09 g
0,2446	
Absorbancia de la clara pura: 0,2602	
0,2634	
0,3836	
Absorbancia del re dispersado: 0,4006	
0,4106	

**Cuadro A.44.** Datos para el cálculo de la densidad de los productos re dispersados en las corridas de comprobación.

<b>Réplica</b>	<b>Masa/(g)</b>	<b>Volumen/(mL)</b>
C.1	5,1870	5
C.2	5,1067	5
C.3	5,0902	5

**Cuadro A.45.** Datos para la elaboración de la disolución para la prueba de *Salmonella* sp.

<b>Muestra o cristalería</b>	<b>Masa/(g)</b>
Erlenmeyer	320,45
Erlenmeyer y clara pura	738,45
Clara	418,00
Masa total de la disolución al 75 % en masa	557,33
Masa de la disolución y erlenmeyer	877,78

**Cuadro A.46.** Datos de la prueba de color del producto seco.

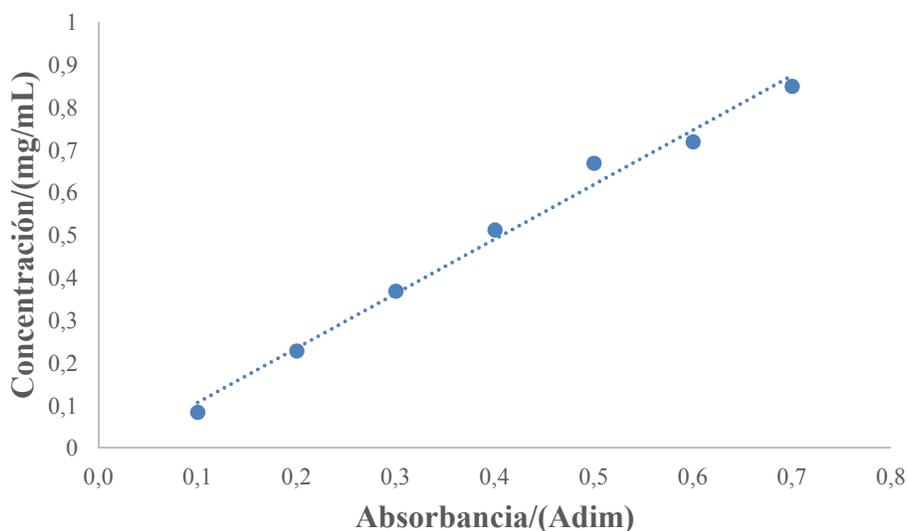
<b>Número de prueba</b>	<b>L</b>	<b>a</b>	<b>b</b>
1	96,95	-2,42	7,14
2	97,67	-3,84	8,34
3	97,06	-3,83	8,01

## APÉNDICE B

### RESULTADOS INTERMEDIOS

**Cuadro B.1.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los primeros ensayos preliminares.

Muestra	Concentración/(mg/mL)	Absorbancia/(adim)
1	0,10	0,0839
2	0,20	0,2280
3	0,30	0,3684
4	0,40	0,5122
5	0,50	0,6688
6	0,60	0,7191
7	0,70	0,8494



**Figura B.1.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los primeros ensayos preliminares.

**Cuadro B.2.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los primeros ensayos preliminares.

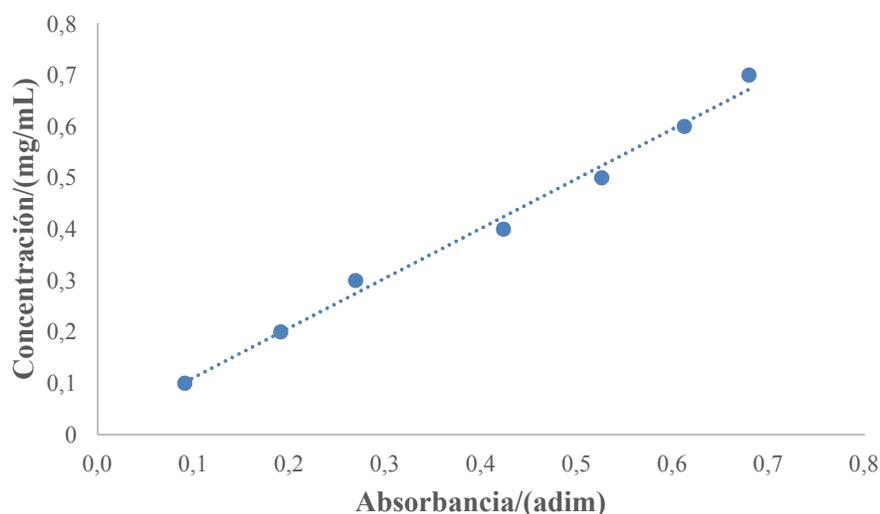
Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
1,2783	-0,0213	0,9893

**Cuadro B.3.** Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los primeros ensayos preliminares.

Parámetro	Réplica			
	1.1	1.2	1.3	1.4
Masa de la disolución re dispersada/(g)	2,00	3,89	1,85	2,73
Concentración de proteína en la disolución de la clara pura, diluida/(mg/mL)	0,4627	0,3255	0,1095	0,3704
Concentración total de proteína en la disolución de la clara pura/(mg/mL)	925,33	1302,01	437,88	987,66
Concentración de proteína en el producto re dispersado, diluido/(mg/mL)	0,3140	0,3523	0,5590	0,3607
Concentración total de proteína en el producto re dispersado /(mg/mL)	628,00	704,69	1118,10	721,31

**Cuadro B.4.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los segundos ensayos preliminares.

Muestra	Concentración /(mg/mL)	Absorbancia 1/(adim)	Absorbancia 2/(adim)	Absorbancia 3/(adim)	Absorbancia promedio/(adim)
1	0,10	0,1069	0,0862	0,0800	0,0910
2	0,20	0,1962	0,1959	0,1809	0,1910
3	0,30	0,2678	0,2738	0,2659	0,2692
4	0,40	0,4092	0,4341	0,4268	0,4234
5	0,50	0,5114	0,5383	0,5280	0,5259
6	0,60	0,5875	0,6279	0,6208	0,6121
7	0,70	0,6510	0,6977	0,6897	0,6795



**Figura B.2.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los segundos ensayos preliminares (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.4).

**Cuadro B.5.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los segundos ensayos preliminares.

<b>Pendiente (L/g)</b>	<b>Intercepto</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
0,9685	0,0137	0,9907

**Cuadro B.6.** Valores promedio de absorbancia de las muestras de clara pura y producto re dispersado de los segundos ensayos preliminares.

<b>Muestra</b>	<b>Absorbancia promedio/(adim)</b>
Clara pura réplica 2.1	0,1231
Clara pura réplica 2.2	0,0807
Clara pura réplica 2.3	Indeterminada
Re dispersado réplica 2.1	0,0424
Re dispersado réplica 2.2	0,0378
Re dispersado réplica 2.3	0,0366

**Cuadro B.7.** Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los segundos ensayos preliminares.

<b>Parámetro</b>	<b>Réplica</b>		
	<b>2.1</b>	<b>2.2</b>	<b>2.3</b>
Masa de la disolución re dispersada/(g)	6,30	6,75	8,11
Concentración de proteína de la clara pura, diluida/(mg/mL)	0,1329	0,0919	---
Concentración total de proteína en la clara pura/(mg/mL)	265,84	183,72	---
Concentración de proteína en el producto re dispersado, diluido/(mg/mL)	0,0547	0,0503	0,0366
Concentración total de proteína en el producto re dispersado/(mg/mL)	109,47	100,52	98,20

**Cuadro B.8.** Masa del producto re dispersado para los terceros ensayos preliminares.

<b>Parámetro</b>	<b>Réplica</b>		
	<b>3.1</b>	<b>3.2</b>	<b>3.3</b>
Masa de la disolución re dispersada/(g)	9,95	10,86	16,04

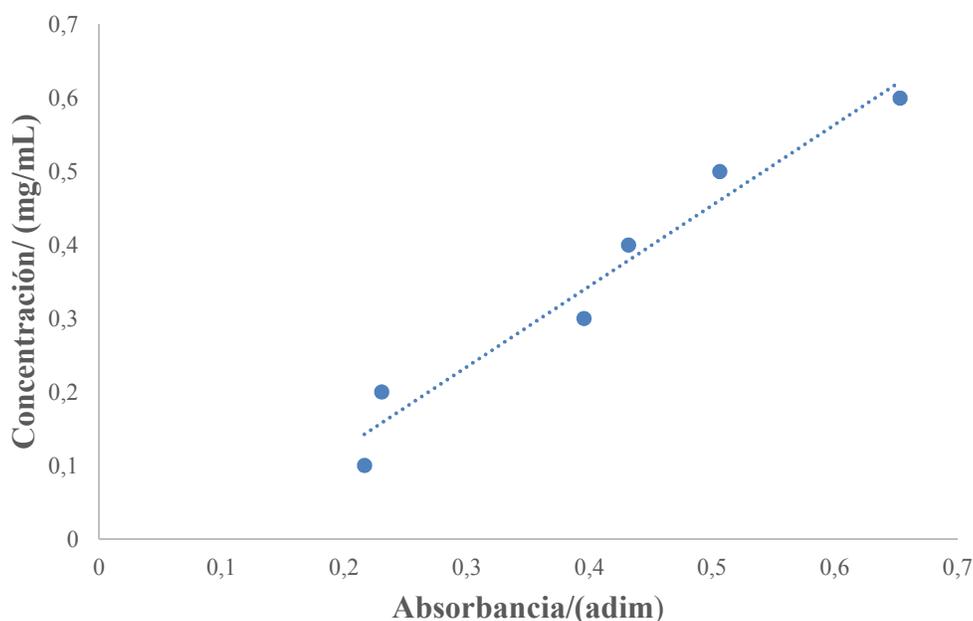
**Cuadro B.9.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los quintos y sextos ensayos preliminares.

<b>Muestra</b>	<b>Concentración/(mg/mL)</b>	<b>Absorbancia/(adim)</b>
1	0,10	0,2162
2	0,20	0,2302
3	0,30	0,3951
4	0,40	0,4314

**Cuadro B.9. (Continuación)** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los quintos y sextos ensayos preliminares.

Muestra	Concentración/(mg/mL)	Absorbancia/(adim)
5	0,50	0,5058
6	0,60	0,6528
7	0,70	0,6274

Nota: para la construcción de la curva de calibración se descartó el séptimo patrón, esto con el fin de obtener un mejor ajuste lineal.



**Figura B.3.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los quintos y sextos ensayos preliminares.

**Cuadro B.10.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los quintos y sextos ensayos preliminares.

Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
1,0992	-0,0954	0,9566

**Cuadro B.11.** Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los quintos ensayos preliminares.

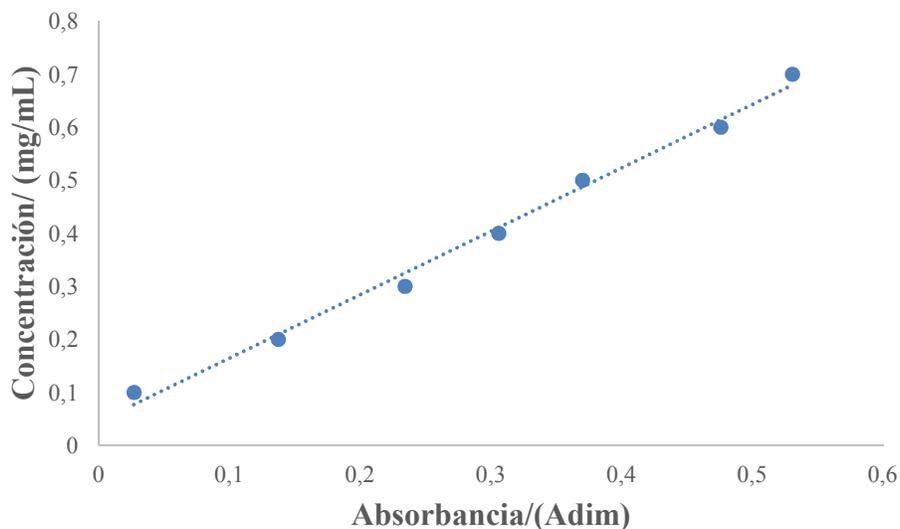
Parámetro	Réplica	
	5.1	5.2
Masa de la disolución re dispersada/(g)	9,86	8,71
Concentración de proteína de la clara pura, diluida/(mg/mL)	0,1490	0,1493
Concentración total de proteína en la disolución de la clara pura/(mg/mL)	223,43	223,92
Concentración de proteína en el producto re dispersado, diluido/(mg/mL)	0,1202	-0,0817
Concentración total de proteína en el producto re dispersado /(mg/mL)	180,23	-122,49

**Cuadro B.12.** Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los sextos ensayos preliminares.

Parámetro	Réplica		
	6.1	6.2	6.3
Masa de la disolución re dispersada/(g)	9,93	11,16	10,33
Concentración de proteína de la clara pura, diluida/(mg/mL)	0,2224	0,0632	0,1329
Concentración total de proteína en la disolución de la clara pura/(mg/mL)	333,57	94,82	199,36
Concentración de proteína en el producto re dispersado, diluido/(mg/mL)	0,1111	0,1010	0,2115
Concentración total de proteína en el producto re dispersado /(mg/mL)	166,71	151,54	317,24

**Cuadro B.13.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para la determinación del contenido de proteína en tres claras diferentes.

Muestra	Concentración/(mg/mL)	Absorbancia/(adim)
1	0,10	0,0269
2	0,20	0,1373
3	0,30	0,2342
4	0,40	0,3059
5	0,50	0,3700
6	0,60	0,4758
7	0,70	0,5306



**Figura B.4.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford en tres claras diferentes.

**Cuadro B.14.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para tres claras diferentes.

Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
1,1957	0,0446	0,9924

**Cuadro B.15.** Concentración de proteína en las tres claras de huevo diluidas para ajustarlas a la curva de calibración.

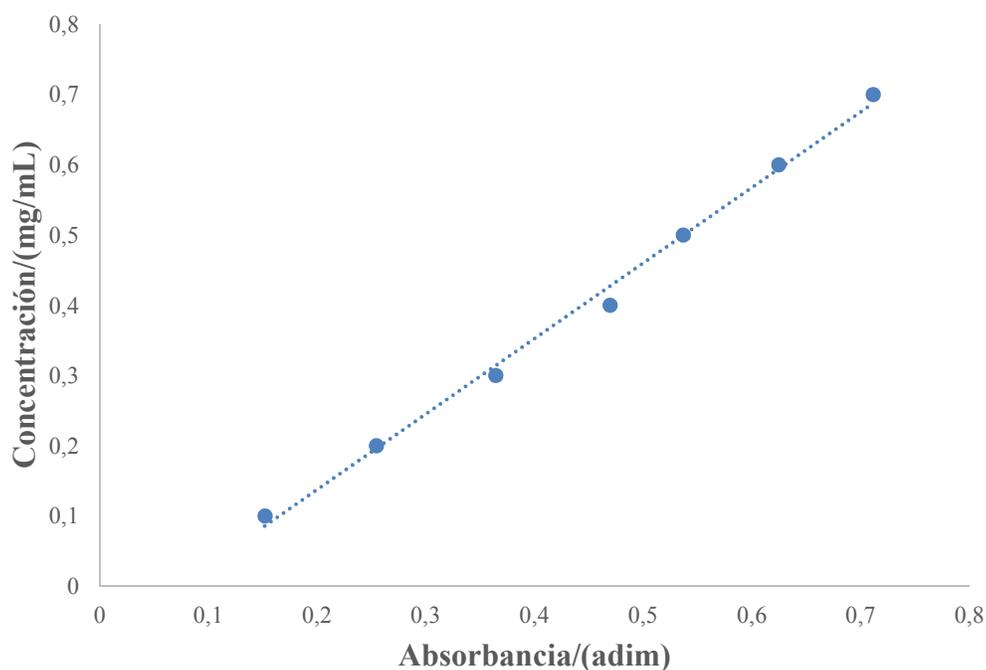
Clara de huevo	Concentración 1/(mg/mL)	Concentración 1/(mg/mL)	Concentración 1/(mg/mL)	Concentración promedio/(mg/mL)
1	0,5195	0,4950	0,4993	0,5046
2	0,4788	0,4691	0,4768	0,4749
3	0,4896	0,4767	0,4703	0,4789

**Cuadro B.16.** Concentración de proteína en las tres claras de huevo.

Clara de huevo	Concentración 1/(mg/mL)	Concentración 1/(mg/mL)	Concentración 1/(mg/mL)	Concentración promedio/(mg/mL)
1	259,77	247,51	249,66	252,31
2	239,38	234,54	238,42	237,45
3	244,82	238,36	235,13	239,44

**Cuadro B.17.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los octavos ensayos preliminares.

Muestra	Concentración/(mg/mL)	Absorbancia/(adim)
1	0,10	0,1519
2	0,20	0,2543
3	0,30	0,3641
4	0,40	0,4692
5	0,50	0,5365
6	0,60	0,6243
7	0,70	0,7112



**Figura B.5.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los octavos ensayos preliminares.

**Cuadro B.18.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los octavos ensayos preliminares.

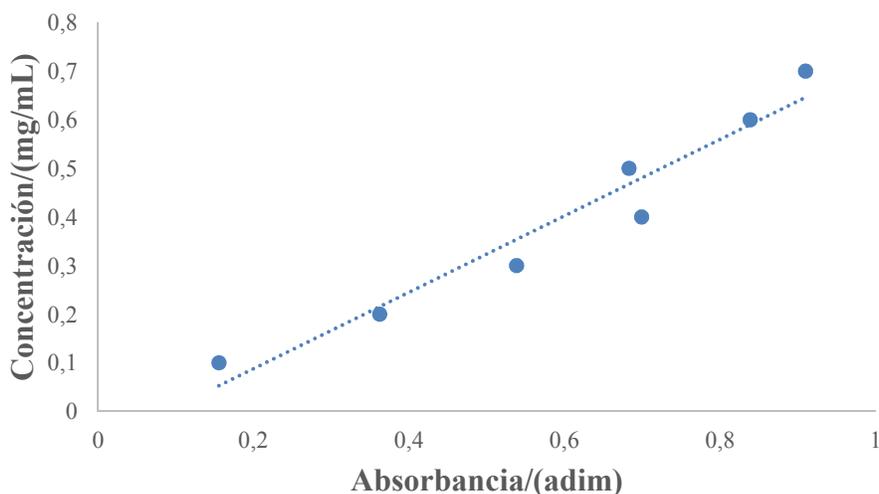
Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
1,0758	-0,0782	0,9952

**Cuadro B.19.** Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los octavos ensayos preliminares.

Parámetro	Réplica		
	8.1	8.2	8.3
Masa de la disolución re dispersada/(g)	9,89	9,43	8,78
Concentración de proteína de la clara pura, diluida/(mg/mL)	0,2368	0,2368	0,2368
Concentración total de proteína en la disolución de la clara pura/(mg/mL)	118,40	118,40	118,40
Concentración de proteína en el producto re dispersado, diluido/(mg/mL)	0,2946	0,2501	0,3203
Concentración total de proteína en el producto re dispersado/(mg/mL)	58,91	50,03	64,06

**Cuadro B.20.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para los novenos ensayos preliminares.

Muestra	Concentración/(mg/mL)	Absorbancia/(adim)
1	0,10	0,1553
2	0,20	0,362
3	0,30	0,5379
4	0,40	0,6987
5	0,50	0,6825
6	0,60	0,8383
7	0,70	0,9095



**Figura B.6.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para los novenos ensayos preliminares.

**Cuadro B.21.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para los novenos ensayos preliminares.

<b>Pendiente (L/g)</b>	<b>Intercepto</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
0,7862	-0,0699	0,9434

**Cuadro B.22.** Masa del producto re dispersado y concentración de proteína de las muestras tanto puras como re dispersadas para los novenos ensayos preliminares.

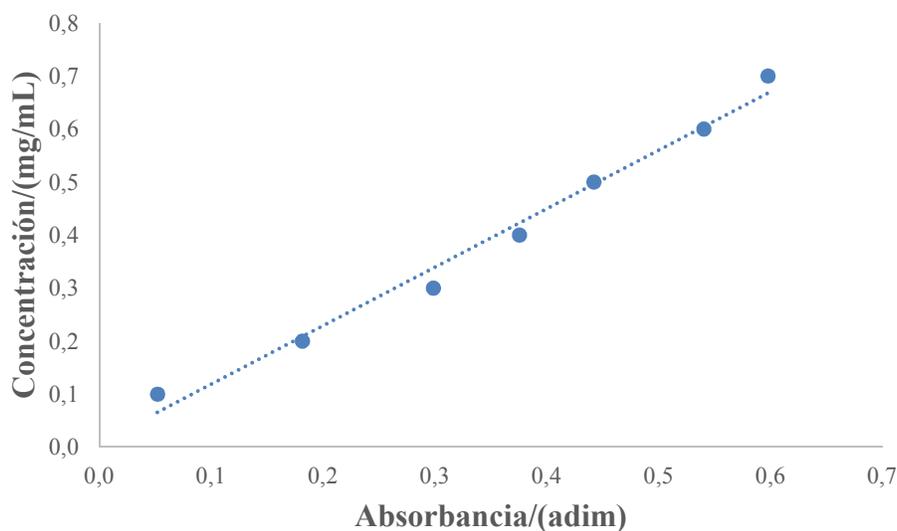
<b>Parámetro</b>	<b>Réplica</b>		
	<b>9.1</b>	<b>9.2</b>	<b>9.3</b>
Masa de la disolución re dispersada/(g)	10,20	10,36	8,78
Concentración de proteína de la clara pura, diluida/(mg/mL)	0,1038	0,1038	0,1038
Concentración total de proteína en la disolución de la clara pura/(mg/mL)	51,88	51,88	51,88
Concentración de proteína en el producto re dispersado, diluido/(mg/mL)	0,2303	0,2535	0,2539
Concentración total de proteína en el producto re dispersado/(mg/mL)	46,07	50,69	50,77

**Cuadro B.23.** Valores promedio de humedad,  $a_w$  y absorbancias.

<b>Corrida</b>	<b>Humedad/(%)</b>	<b><math>a_w</math>/(adim)</b>	<b>Absorbancia de la clara pura/(adim)</b>	<b>Absorbancia del re dispersado/(adim)</b>
1	6,39	0,2413	0,2256	0,3860
2	5,63	0,1968	0,2242	0,4385
3	4,85	0,1482	0,2291	0,3841
4	5,72	0,1626	0,2204	0,4045
5	4,88	0,1395	0,2291	0,3837
6	6,27	0,1840	0,2242	0,396
7	4,81	0,1420	0,2256	0,3830
8	5,49	0,1708	0,2204	0,3688
9	5,13	0,1559	0,2291	0,4077
10	6,15	0,1552	0,2283	0,3944
11	7,06	0,1612	0,2283	0,3880
12	4,34	0,1634	0,2075	0,3903
13	6,47	0,1660	0,1785	0,3820
14	5,96	0,2047	0,2075	0,4163
15	5,22	0,1528	0,1785	0,3612
16	5,28	0,1557	0,2337	0,3746
17	5,07	0,1263	0,2291	0,4130
18	5,13	0,1569	0,2075	0,3981
19	5,17	0,1418	0,2256	0,3958
20	5,34	0,1374	0,2283	0,3972

**Cuadro B.24.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas 13, 15 y 16.

Muestra	Concentración /(mg/mL)	Absorbancia 1/(adim)	Absorbancia 2/(adim)	Absorbancia 3/(adim)	Absorbancia promedio/(adim)
1	0,10	0,0505	0,0567	0,0488	0,0520
2	0,20	0,1771	0,1869	0,1802	0,1814
3	0,30	0,2911	0,3045	0,2998	0,2985
4	0,40	0,3651	0,3823	0,3789	0,3754
5	0,50	0,4421	0,4433	0,4403	0,4419
6	0,60	0,5336	0,5443	0,5427	0,5402
7	0,70	0,5859	0,6013	0,6054	0,5975



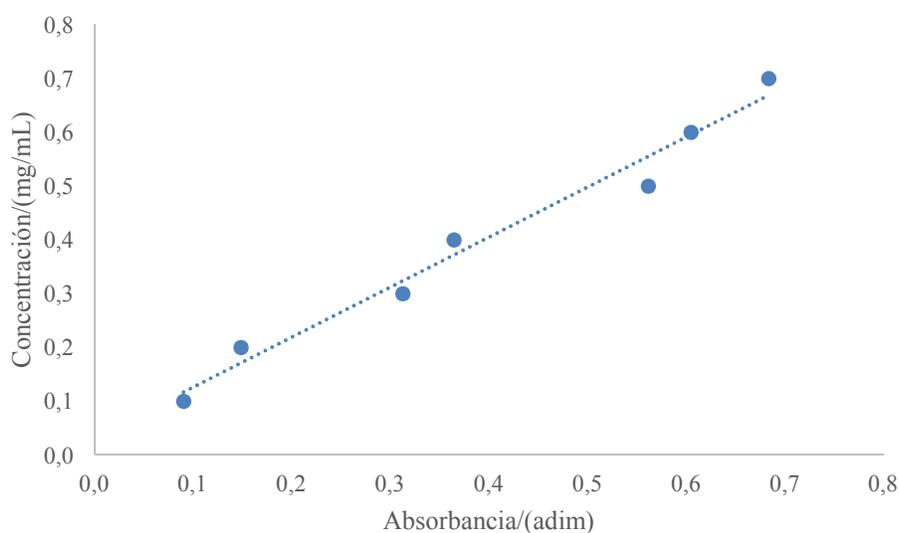
**Figura B.7.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas 13, 15, y 16 (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.24).

**Cuadro B.25.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas 13, 15 y 16.

Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
1,104	0,0078	0,9848

**Cuadro B.26.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas 6, 2, 12, 14 y 18.

Muestra	Concentración /(mg/mL)	Absorbancia 1/(adim)	Absorbancia 2/(adim)	Absorbancia 3/(adim)	Absorbancia promedio/(adim)
1	0,10	0,0976	0,0902	0,0840	0,0906
2	0,20	0,1491	0,1505	0,1465	0,1487
3	0,30	0,3101	0,3175	0,3106	0,3127
4	0,40	0,3603	0,3694	0,3641	0,3646
5	0,50	0,5583	0,5643	0,5620	0,5615
6	0,60	0,6016	0,6075	0,6053	0,6048
7	0,70	0,6870	0,6842	0,6795	0,6836



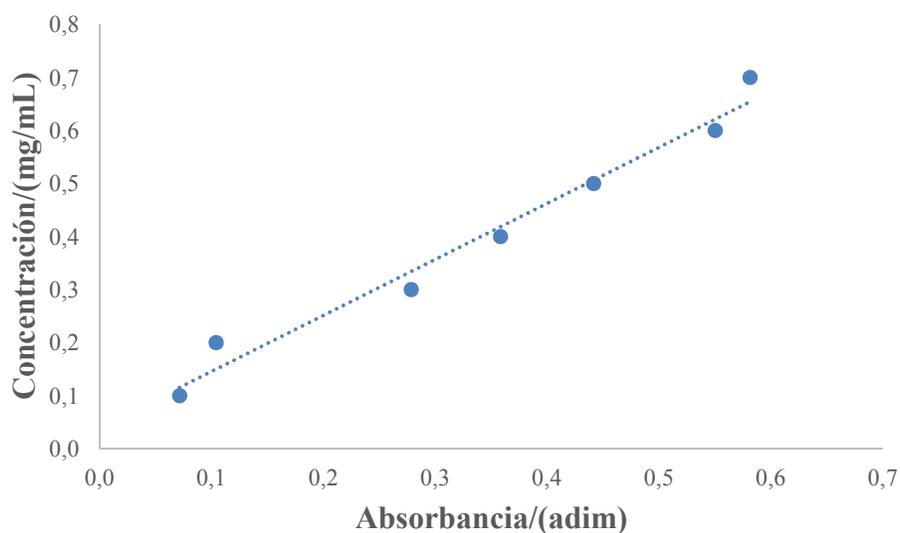
**Figura B.8.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas 6, 2, 12, 14 y 18 (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.26).

**Cuadro B.27.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas 6, 2, 12, 14 y 18.

Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
0,9302	0,0323	0,9767

**Cuadro B.28.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas 19, 7, 1, 11, 10 y 20.

Muestra	Concentración /(mg/mL)	Absorbancia 1/(adim)	Absorbancia 2/(adim)	Absorbancia 3/(adim)	Absorbancia promedio/(adim)
1	0,10	0,0766	0,0692	0,0680	0,0713
2	0,20	0,1086	0,1032	0,0999	0,1039
3	0,30	0,2739	0,2823	0,2785	0,2782
4	0,40	0,3559	0,3602	0,3580	0,3580
5	0,50	0,4306	0,4470	0,4462	0,4413
6	0,60	0,5355	0,5552	0,5590	0,5499
7	0,70	0,5674	0,5857	0,5902	0,5811



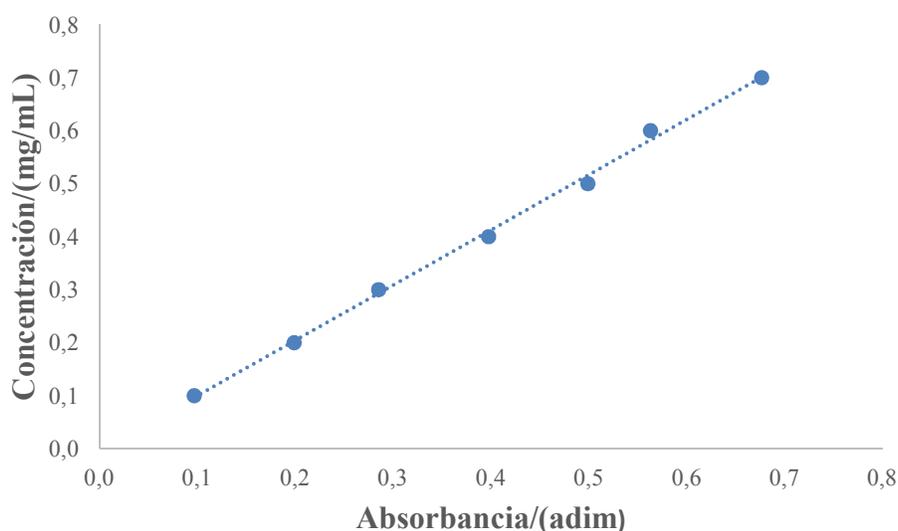
**Figura B.9.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas 19, 7, 1, 11, 10 y 20 (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.28).

**Cuadro B.29.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas 19, 7, 1, 11, 10 y 20.

Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
1,0569	0,0401	0,9756

**Cuadro B.30.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas 8, 4, 5, 3, 17 y 9.

Muestra	Concentración /(mg/mL)	Absorbancia 1/(adim)	Absorbancia 2/(adim)	Absorbancia 3/(adim)	Absorbancia promedio/(adim)
1	0,10	0,0982	0,0988	0,0935	0,0968
2	0,20	0,1984	0,2020	0,1963	0,1989
3	0,30	0,2829	0,2890	0,2837	0,2852
4	0,40	0,3982	0,3989	0,3955	0,3975
5	0,50	0,4991	0,5006	0,4969	0,4989
6	0,60	0,5612	0,5661	0,5613	0,5629
7	0,70	0,6568	0,6841	0,6883	0,6764



**Figura B.10.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas 8, 4, 5, 3, 17 y 9 (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.30).

**Cuadro B.31.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas 8, 4, 5, 3, 17 y 9.

Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
1,0419	-0,0044	0,9974

**Cuadro B.32.** Masa de la disolución de producto re dispersado, concentración de proteína en la clara pura y en el producto re dispersado y razón de recuperación.

Corrida	Masa de la disolución re dispersada/(g)	Contenido de proteína en la clara pura/(mg/mL)	Contenido de proteína en el re dispersado/(mg/mL)	Razón de recuperación
1	6,38	139,29	89,61	0,6433
2	8,67	120,43	88,03	0,7310
3	7,79	117,17	79,17	0,6757
4	7,37	112,63	83,41	0,7406
5	9,60	117,17	79,08	0,6749
6	10,48	120,43	80,13	0,6654
7	10,04	139,29	88,98	0,6388
8	9,54	112,63	75,98	0,6746
9	10,18	117,17	84,08	0,7176
10	9,56	140,71	91,38	0,6494
11	7,60	140,71	90,04	0,6399
12	9,91	112,64	79,08	0,7021
13	11,05	102,45	85,91	0,8386
14	6,58	112,64	83,91	0,7449
15	7,50	102,45	81,32	0,7938
16	3,19	132,92	84,27	0,6340
17	9,49	117,17	85,18	0,7270
18	11,82	112,64	80,52	0,7148
19	9,66	139,29	91,69	0,6583
20	10,15	140,71	91,98	0,6537

**Cuadro B.33.** Valores promedio de los resultados obtenidos en las corridas de comprobación.

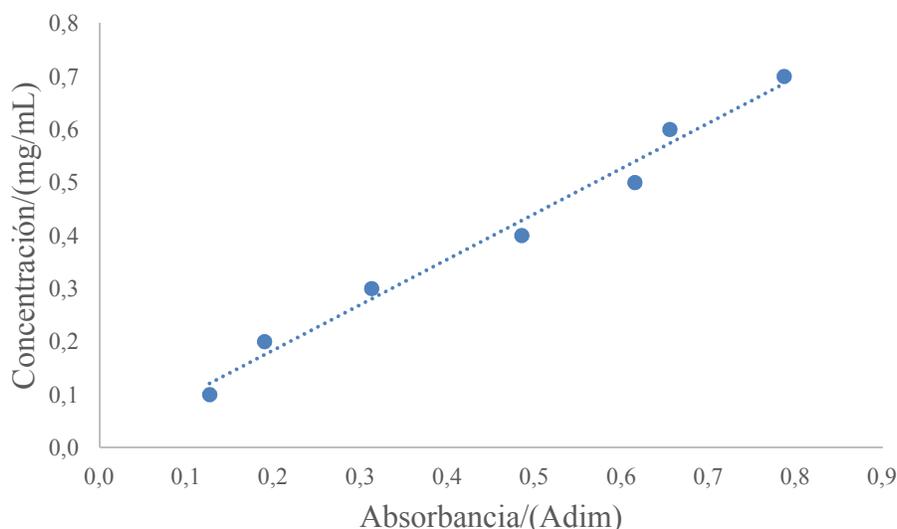
Réplica	Humedad/(%)	$a_w$ /(adim)	Absorbancia de la clara pura/(adim)	Absorbancia del re dispersado/(adim)
C.1	6,23	0,1446	0,2561	0,4542
C.2	6,15	0,1352	0,2561	0,4243
C.3	6,15	0,1370	0,2561	0,3983

**Cuadro B.34.** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas de comprobación.

Muestra	Concentración/(mg/mL)	Absorbancia 1/(adim)	Absorbancia 2/(adim)	Absorbancia 3/(adim)	Absorbancia promedio/(adim)
1	0,10	0,1368	0,1229	0,1205	0,1267
2	0,20	0,1933	0,1879	0,1880	0,1897
3	0,30	0,3097	0,3151	0,3137	0,3128
4	0,40	0,4804	0,4904	0,4851	0,4853

**Cuadro B.34. (Continuación)** Datos para la elaboración de la curva de calibración para determinar la concentración de proteína por el método de Bradford para las corridas de comprobación.

Muestra	Concentración /(mg/mL)	Absorbancia 1/(adim)	Absorbancia 2/(adim)	Absorbancia 3/(adim)	Absorbancia promedio/(adim)
5	0,50	0,6131	0,6193	0,6135	0,6153
6	0,60	0,6521	0,6581	0,6561	0,6554
7	0,70	0,7762	0,7943	0,7899	0,7868



**Figura B.11.** Curva de calibración para la determinación del contenido de proteína mediante el método de Bradford para corridas de comprobación (elaborada empleando los valores promedio del Cuadro B.34).

**Cuadro B.35.** Valores de los parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la curva de calibración del método de Bradford para las corridas de comprobación.

Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
0,8566	0,0118	0,9833

**Cuadro B.36.** Masa de la disolución de producto re dispersado, concentración de proteína en la clara pura y en el producto re dispersado y razón de recuperación para las corridas de comprobación.

Réplica	Masa de la disolución re dispersada/(g)	Contenido de proteína en la clara pura/(mg/mL)	Contenido de proteína en el re dispersado/(mg/mL)
C.1	9,89	115,57	77,76
C.2	9,90	115,57	75,05
C.3	9,30	115,57	70,59

**Cuadro B.37.** Densidad de los productos re dispersados en las corridas de comprobación.

Réplica	Densidad/(g/mL)
C.1	1,037
C.2	1,021
C.3	1,018
Promedio	1,025

**Cuadro B.38.** Datos de medias y varianzas de las variables de respuesta de la octava etapa preliminar.

Variable	Etapa preliminar	Media	Varianza
Humedad	Octava	4,69 %	0,21 %
	Novena	5,27 %	2,91 %
$a_w$	Octava	0,1569	0,0008
	Novena	0,1888	0,0051
Contenido de proteína	Octava	57,67 mg/mL	50,37 mg/mL
	Novena	49,18 mg/mL	7,24 mg/mL
Recuperación de masa	Octava	6,34 g	0,15 g
	Novena	6,37 g	0,015 g

Nota: para el ensayo 8.2 como la humedad se determinó por triplicado se obtuvo un promedio de dichos datos para el correspondiente análisis.

**Cuadro B.39.** Principales resultados de la prueba t de comparación de dos medias poblacionales (octava y novena etapas preliminares).

Variable de respuesta	$S_p$	$t_o$	$N_x$	$N_y$
Humedad	1,2481	-0,56589	3	3
$a_w$	0,05425	-0,71938	3	3
Contenido de proteína	5,36702	1,93740	3	3
Recuperación de masa	0,28586	-0,15709	3	3

## APÉNDICE C

### MUESTRA DE CÁLCULO

#### C.1 CÁLCULO DE LA ECUACIÓN DE MEJOR AJUSTE PARA LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINAR LOS CONTENIDOS DE PROTEÍNA

La ecuación de mejor ajuste para el método de Bradford para cuantificar el contenido de proteína se obtuvieron mediante el método de mínimos cuadrados utilizando el programa Microsoft Excel.

#### C.2 CÁLCULO DE LA MASA PARA LA PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN

Para lograr obtener la masa de clara pura se realiza la operación mostrada en la Ecuación C.1:

$$\text{Masa de clara pura} = \text{masa de erlenmeyer y clara pura} - \text{masa de erlenmeyer} \quad (\text{C.1})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro A.1, filas 2 y 3, columna 3:

$$\text{Masa de clara pura} = 145,09 \text{ g} - 80,98 \text{ g} = 64,11 \text{ g}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro A.1, fila 4, columna 3.

La masa total de la disolución a un porcentaje másico dado, teniendo la masa de la clara pura, se calcula por medio de la Ecuación C.2:

$$\text{Masa total de disolución} = \frac{\text{masa clara pura} * 100}{\text{porcentaje másico de disolución}} \quad (\text{C.2})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro A.1, fila 4, columna 3, con una dilución másica del 50 %, tal como se indica en el Cuadro A.1 fila 5, columna 2:

$$\text{Masa total de disolución} = \frac{64,11 \text{ g} * 100 \%}{50 \%} = 128,22 \text{ g}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro A.1, fila 5, columna 2.

Para finalmente obtener la masa de la disolución y el erlenmeyer se emplea la Ecuación C.3:

$$\text{Masa total a medir} = \text{masa clara pura} + \text{masa erlenmeyer} \quad (\text{C.3})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro A.1, filas 2 y 5, columna 3:

$$\text{Masa total a medir} = 128,22 \text{ g} + 80,98 \text{ g} = 209,20 \text{ g}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro A.1, fila 6, columna 3.

### **C.3 CÁLCULO DEL FLUJO DE PRODUCTO AL EQUIPO**

Para el cálculo del flujo de producto que ingresa al equipo, sabiendo que en cada una de las corridas se empleó una muestra de 100 mL, se tiene por medio de la Ecuación C.4:

$$\text{Flujo de producto} = \frac{\text{volumen de disolución}}{\text{tiempo de operación}} \quad (\text{C.4})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro A.3, fila 4, columna 2:

$$\text{Flujo de producto} = \frac{100 \text{ mL}}{29,15 \text{ min}} = 3,43 \frac{\text{mL}}{\text{min}}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro A.3, fila 5, columna 2.

### **C.4 CÁLCULO DE LA MASA DEL RE DISPERSADO PARA LOS PRIMEROS ENSAYOS PRELIMINARES**

En dichas corridas se sabe que la clara pura tiene un 11 % de proteína en masa, y además el producto seco contiene cierta humedad entonces para el cálculo del total de masa del re dispersado se tiene la Ecuación C.5:

$$\text{Masa del re dispersado} = \frac{\text{Masa del producto seco} * 100 \%}{11 \% + \text{humedad del producto}} \quad (\text{C.5})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro A.3, filas 6 y 11, columna 2:

$$\text{Masa del re dispersado} = \frac{0,42 \text{ g} * 100 \%}{11 \% + 9,98 \%} = 2,00 \text{ g}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.3, fila 3, columna 2.

### **C.5 CÁLCULO DE LA MASA DEL RE DISPERSADO PARA EL RESTO DE ENSAYOS PRELIMINARES, CORRIDAS DEL PLAN EXPERIMENTAL Y CORRIDAS DE COMPROBACIÓN**

En dicho cálculo se sabe que la clara pura contiene 11 % de proteína, entonces se obtiene la masa del producto seco, sin humedad, la cual debe corresponder a un 11 % del producto final re dispersado. Dicho cálculo se realiza por medio de la Ecuación C.6:

$$\text{Masa del re dispersado} = \text{masa del producto seco} * \frac{100 \% - \text{humedad}}{100 \%} * \frac{100 \%}{11 \%} \quad (\text{C.6})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro A.39, fila 2, columna 5, así como el Cuadro B.23, fila 2, columna 2:

$$\text{Masa del re dispersado} = 0,75 * \frac{100 \% - 6,39 \%}{100 \%} * \frac{100 \%}{11 \%} = 6,38 \text{ g}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.32, fila 2, columna 2.

### **C.6 CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA DE LA CLARA PURA DILUIDA Y CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA DEL PRODUCTO RE DISPERSADO, DILUIDO**

Para dicho cálculo el valor de absorbancia de la muestra es ajustado a la línea de mejor ajuste de la curva de calibración esto por medio del uso de la Ecuación C.7:

$$y = m * z + b \quad (\text{C.7})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro A.3, fila 13, columna 2, así como el Cuadro B.2, fila 2, columnas 1 y 2:

$$C_{n_{DP}} = 1,2783 * 0,3786 - 0,0213 = 0,4627 \text{ mg/mL}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.3, fila 3, columna 2.

### **C.7 CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL EN LA DISOLUCIÓN DE CLARA PURA DE LOS PRIMEROS ENSAYOS PRELIMINARES**

Para la determinación de la absorbancia se le realizó una dilución volumétrica de 1 000 veces a la disolución que se había almacenado, la cual presentaba una dilución másica al 50 %, por ende por medio de la Ecuación C.8 se calcula la concentración total:

$$C_{n_{TP}} = C_{n_{DP}} * 1\ 000 * \frac{100\ \%}{50\ \%} \quad (C.8)$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.3, fila 4, columna 2:

$$C_{n_{TP}} = 0,4627\ \text{mg/mL} * 1\ 000 * \frac{100\ \%}{50\ \%} = 925,33\ \text{mg/mL}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.3, fila 5, columna 2.

### **C.8 CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL EN EL PRODUCTO RE DISPERSADO DE LOS PRIMEROS ENSAYOS PRELIMINARES, ASÍ COMO DE LA CLARA PURA Y RE DISPERSADO DE LOS SEGUNDOS ENSAYOS PRELIMINARES**

Para la determinación de la absorbancia se le realizó una dilución volumétrica de 2 000 veces a la disolución. En el caso de los segundos ensayos preliminares se almacenó la clara pura. Por ende por medio de la Ecuación C.9 se calcula la concentración total:

$$C_{n_{TP}} = C_{n_{DP}} * 2\ 000 \quad (C.9)$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.3, fila 6, columna 2:

$$C_{n_{TP}} = 0,3140\ \text{mg/mL} * 2\ 000 = 628,00\ \text{mg/mL}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.3, fila 7, columna 2.

### **C.9 CÁLCULO DE VALORES PROMEDIO**

Para el cálculo de un valor promedio de datos se tiene la Ecuación C.10:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{N} \quad (C.10)$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.4, fila 2, columnas 3, 4 y 5:

$$\bar{X} = \frac{0,1069 + 0,0862 + 0,0800}{3} = 0,0910$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.4, fila 2, columna 6.

### **C.10 CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL EN LA CLARA PURA Y EN EL PRODUCTO RE DISPERSADO DE LOS QUINTOS Y SEXTOS ENSAYOS PRELIMINARES**

Para la determinación de la absorbancia se le realizó una dilución volumétrica de 1 500 veces a la disolución. Por medio de la Ecuación C.11 se calcula la concentración total:

$$C_{n_{TP}} = C_{n_{DP}} * 1\ 500 \quad (C.11)$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.11, fila 4, columna 2:

$$C_{n_{TP}} = 0,1490 \text{ mg/mL} * 1\ 500 = 223,43 \text{ mg/mL}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.11, fila 5, columna 2.

### **C.11 CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL EN LA CLARA PURA DE TRES HUEVOS DIFERENTES, ASÍ COMO LA CLARA PURA DE LOS OCTAVOS Y NOVENOS ENSAYOS PRELIMINARES**

En dichas corridas se tomó una alícuota de 20  $\mu$ L de la clara pura y se llevó a un volumen de 10 mL. Por medio de la Ecuación C.12, se puede obtener la concentración total del producto luego de aplicar el factor de dilución a la concentración obtenida por medio de la curva de calibración:

$$C_{n_{TP}} = C_{n_{DP}} * \frac{10 \text{ mL}}{0,02 \text{ mL}} \quad (C.12)$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.15, fila 2, columna 3:

$$C_{n_{TP}} = 0,4950 \text{ mg/mL} * \frac{10 \text{ mL}}{0,02 \text{ mL}} = 247,51 \text{ mg/mL}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.16, fila 2, columna 3.

### **C.12 CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL EN EL PRODUCTO RE DISPERSADO DE LOS OCTAVOS Y NOVENOS ENSAYOS PRELIMINARES**

En dichas corridas se tomó una alícuota de 50  $\mu$ L del producto y se llevó a un volumen de 10 mL. Por medio de la Ecuación C.13, se puede obtener la concentración total del producto

luego de aplicar el factor de dilución a la concentración obtenida por medio de la curva de calibración:

$$C_{n_{TP}} = C_{n_{DP}} * \frac{10 \text{ mL}}{0,05 \text{ mL}} \quad (\text{C.13})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.19, fila 6, columna 2:

$$C_{n_{TP}} = 0,2946 \text{ mg/mL} * \frac{10 \text{ mL}}{0,05 \text{ mL}} = 58,91 \text{ mg/mL}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.19, fila 7, columna 2.

### **C.13 CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL EN LA CLARA PURA DE LAS CORRIDAS DEL PLAN EXPERIMENTAL Y LAS CORRIDAS DE COMPROBACIÓN**

Para dicho cálculo el valor de absorbancia promedio de la muestra es ajustado a la línea de mejor ajuste de la curva de calibración. A su vez se tiene que para la determinación del contenido de proteína en la clara pura se tomó una alícuota de 20  $\mu\text{L}$  y se llevó a 10 mL. Por lo tanto con la Ecuación C.14 se realiza el cálculo final:

$$C_{n_{TP}} = m * z + b * \frac{10}{0,02} \quad (\text{C.14})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.23, fila 2, columna 4, y a su vez los datos del Cuadro B.29, fila 2, columnas 1 y 2:

$$C_{n_{DP}} = 1,0569 * 0,2256 + 0,0401 * \frac{10}{0,02} = 139,29 \text{ mg/mL}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.32, fila 2, columna 3.

### **C.14 CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL EN EL PRODUCTO RE DISPERSADO DE LAS CORRIDAS DEL PLAN EXPERIMENTAL Y LAS CORRIDAS DE COMPROBACIÓN**

Para dicho cálculo el valor de absorbancia promedio de la muestra es ajustado a la línea de mejor ajuste de la curva de calibración. A su vez se tiene que para la determinación del contenido de

proteína en el re dispersado se tomó una alícuota de 50  $\mu$ L y se llevó a 10mL. Por lo tanto con la Ecuación C.15 se realiza el cálculo final:

$$Cn_{TP} = m*z + b*\frac{10}{0,02} \quad (C.15)$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.23, fila 2, columna 5, y a su vez los datos del Cuadro B.29, fila 2, columnas 1 y 2:

$$Cn_{DP} = 1,0569 * 0,3860 + 0,0401*\frac{10}{0,05} = 89,61 \text{ mg/mL}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.32, fila 2, columna 4.

### **C.15 CÁLCULO DE LA RAZÓN DE RECUPERACIÓN DE LA PROTEÍNA**

Para calcular la razón de recuperación de la proteína se tiene la Ecuación C.16:

$$RR = \frac{Cn_{Final}}{Cn_{Inicial}} \quad (C.16)$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.32, fila 2, columnas 3 y 4:

$$RR = \frac{89,61 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}}{139,29 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}} = 0,6433$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.32, fila 2, columna 5.

### **C.16 CÁLCULO DE LA DENSIDAD DE LOS PRODUCTOS RE DISPERSADOS EN LAS CORRIDAS DE COMPROBACIÓN**

Para el cálculo de la densidad se tiene la siguiente Ecuación C.17:

$$\rho = \frac{\text{Masa}}{\text{Volumen}} \quad (C.17)$$

Sustituyendo los datos del Cuadro A.44, fila 2, columnas 2 y 3:

$$\rho = \frac{5,1870 \text{ g}}{5,00 \text{ mL}} = 1,037 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.37, fila 2, columna 2.

### C.17 CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS PARA LA PRUEBA DE COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS POBLACIONALES

Los datos de medias poblacionales y varianzas de las variables de respuesta de los ensayos de la octava y de la novena etapa preliminar se obtuvieron mediante el programa Microsoft Excel.

Para el cálculo del estimador de varianza muestral se tiene la Ecuación C.18:

$$S_p = \sqrt{\frac{(N_x - 1)\sigma_x^2 + (N_y - 1)\sigma_y^2}{N_x + N_y - 2}} \quad (\text{C.18})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.38, filas 2 y 3, columna 4, además los datos del Cuadro B.39 fila 2, columnas 4 y 5, se tiene:

$$S_p = \sqrt{\frac{(3 - 1) * 0,21 + (3 - 1) * 2,91}{3 + 3 - 2}} = 1,2481$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.39, fila 2, columna 2.

Con el valor de  $S_p$  se procede a obtener el valor de  $t_0$ , por medio de la Ecuación C.19:

$$t_0 = \frac{\mu_x - \mu_y}{S_p \sqrt{\frac{1}{N_x} + \frac{1}{N_y}}} \quad (\text{C.19})$$

Sustituyendo los datos del Cuadro B.38 filas 2 y 3, columna 3, además de los datos del Cuadro B.39 fila 2, columnas 2, 4 y 5, se tiene:

$$t_0 = \frac{4,69 - 5,27}{1,2481 \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{3}}} = -0,56589$$

Se obtiene el resultado que se reporta en el Cuadro B.39, fila 2, columna 3.

## APÉNDICE D

### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

#### D.1 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

A continuación se detalla el procedimiento correspondiente para el secado de la clara de huevo:

- Separar la clara de la yema del huevo, así como remover todas las impurezas presentes en la clara. Almacenar en un tubo tipo Falcon una porción de la clara pura para posteriores análisis.
- Encender el equipo de secado y revisar que el mismo no presente fugas en las uniones de las piezas de vidrio, colocar unas condiciones de operación intermedias en el equipo para su calentamiento.
- Con la clara pura preparar la disolución a la concentración correspondiente  $\%(m/m)$ , y colocar la misma en agitación.
- Tomar una muestra de 100 mL de la disolución preparada en el paso anterior, colocarla en un erlenmeyer con una pastilla de agitación en una plantilla de agitación cerca del equipo de secado.
- Al alcanzar la temperatura indicada para el calentamiento del equipo se debe iniciar la alimentación de agua e ir de manera paralela aumentando la temperatura hasta alcanzar la temperatura de operación necesaria.
- Se permite que el equipo opere por 5 minutos a las condiciones de operación correspondientes con agua, esto con el fin de estabilizar las condiciones en el equipo.
- Transcurridos los 5 minutos se inicia con la alimentación del producto y se inicia con el registro del tiempo.
- Al concluir el secado de la muestra se alimenta nuevamente agua por 5 minutos con el fin de limpiar la línea de alimentación.
- Tras la limpieza del equipo se inicia con el enfriamiento del mismo, esto se logra por medio de una reducción periódica de la temperatura.
- Al alcanzar el equipo una temperatura adecuada para su manipulación se desmonta el equipo y en la cámara de flujo laminar se procede a la recuperación del mismo.

- Seguidamente se procede a lavar todos los cristales que componen el equipo de secado, en conjunto con la boquilla de aspersion.

## **D.2 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD**

### Procedimiento

- Encender la balanza de humedad al menos 30 minutos antes de utilizarla.
- Para la medición se debe colocar en la balanza un plato metálico, se debe tapar la balanza y posteriormente tarar la misma.
- Colocar 0,5 g del producto seco lo más uniforme posible en el plato.
- Cerrar la tapa de la balanza y de manera automática se iniciará la determinación de la humedad.
- Al finalizar la balanza emitirá un sonido, posterior a esto se debe anotar el dato, retirar la muestra y presionar el botón “ESC” con el fin de que la balanza quede lista para la siguiente determinación.

## **D.3 DETERMINACIÓN DEL $A_w$**

### Procedimiento

- Encender el medidor al menos 30 minutos antes de utilizarlo.
- Colocar la muestra en el porta muestras correspondiente, y colocar la misma lo más uniforme posible.
- Colocar el porta muestras en el equipo y cerrar el mismo para iniciar con la medición.
- Realizar una comprobación del estado de calibración del equipo con agua de ósmosis.

## **D.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA**

### Procedimiento

- Encender el equipo de medición al menos 30 minutos antes de utilizarlo.
- Generar una curva de calibración con albúmina bovina.
- Preparar las muestras a la disolución correcta.
- Medir la absorbancia tanto de los patrones de la curva como de las muestras, por triplicado a una longitud de onda de 590 nm.

## **D.5 DETERMINACIÓN DEL PH**

### Procedimiento

- Encender el pH-metro y asegurarse de que el mismo se encuentra correctamente calibrado.
- Realizar lavados con agua de ósmosis al sensor y determinar el pH de la muestras a analizar.
- Realizar lavados del sensor posterior a la medición y al finalizar almacenar el mismo siempre húmedo.

## **D.6 DETERMINACIÓN DEL COLOR DE LA MUESTRA**

### Procedimiento

- Encender el equipo de medición y la computadora a la que está conectado el mismo.
- Abrir el programa de adquisición de datos.
- Colocar los títulos de calibración de la caja y limpiar los mismos.
- Realizar una calibración del equipo con los patrones.
- Colocar en el porta muestras correspondiente una cantidad de muestra adecuada que cubra toda la superficie de la misma y colocar dicha muestra de manera uniforme.
- Realizar la medición del color de las muestras por triplicado.

## **ANEXOS**

**ANEXO 1. MEZCLA PARA LA PREPARACIÓN DEL ALIMENTO DE LAS GALLINAS EN PRODUCCIÓN**

<b>Granja Don Antonio</b>			
<b>Fórmula Ponedora 18 %</b>			
<b>Ingredientes</b>	<b>Kg</b>	<b>qq/TM</b>	<b>kg/TM</b>
Maíz	506,65	11	0,650
Harina de soya	242,81	5	12,8
Destilado	30,07		30,1
Aceite de soya-Palma	23,64		23,6
Carbonato de calcio fino	18,40		18,4
Carbonato de calcio grueso	72,12		72,1
Fosfato monodivaleante 21 %	8,44		8,4
Sal fina	2,88		2,9
Núcleo ponedora especial	15,00		15,0
Totales		920,00	

## ANEXO 2. RESULTADO DEL ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA DE LA CLARA DE HUEVO EN POLVO



1 de 1  
Q-28-2016  
R-SA-029 Emisión 5 17/02/14

### REPORTE DE ANALISIS QUÍMICO

<b>TIPO DE SOLICITUD:</b>	PIN	<b>SOLICITANTE:</b>	EDUARDO THOMPSON
<b>OFERTA N°:</b>	002-2016	<b>EMPRESA O PROYECTO:</b>	CITA-UCR
<b>FECHA ENTRADA:</b>	07/01/2016	<b>DIRECCIÓN:</b>	SAN JOSÉ
<b>FECHA ANÁLISIS:</b>	11/01/2016	<b>TELÉFONO:</b>	2511-7232
<b>FECHA EMISIÓN:</b>	14/01/2016	<b>FAX:</b>	---

### RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS POR NÚMERO DE MUESTRA (Simbología: \*ensayo acreditado, \*\*ensayo no acreditado)

\*ver alcance en: [www.eca.or.cr](http://www.eca.or.cr)

# MUESTRA	28	MÉTODO EMPLEADO
DESCRIPCIÓN	CLARA DE HUEVO DESHIDRATADA	
ANÁLISIS		
HUMEDAD (g/ 100 g)	7,691 ± 0,055	925.30 AOAC 2012, P-SA-MQ-002*
PROTEÍNA (N × 6,25) g/ 100 g	79,04 ± 0,53	925.31 AOAC 2012, P-SA-MQ-003*

#### NOTA:

1. Este informe de análisis se refiere únicamente a las muestras ensayadas que fueron recibidas en las instalaciones del CITA. El proceso de muestreo ha sido responsabilidad del cliente.
2. Este reporte no debe ser reproducido parcialmente, sin autorización expresa del responsable del laboratorio.
3. Para cualquier consulta sobre los resultados de estos análisis, por favor comuníquese con el responsable de este reporte al (506) 2511-7215.
4. Envíenos sus comentarios sobre nuestros servicios al correo: [suopinion.cita@ucr.ac.cr](mailto:suopinion.cita@ucr.ac.cr) o comuníquese al teléfono: (506) 2511-8849.

#### OBSERVACIONES:

Emitido por: Lic. Graciela Artavia González  
**GERENTE TÉCNICO**  
**LABORATORIO FÍSICO-QUÍMICO DE ALIMENTOS**  
**LABORATORIO CROMATOGRÁFICO DE ALIMENTOS**



LABORATORIOS CON ENSAYOS QUÍMICOS Y SENSORIALES ACREDITADOS  
POR EL ENTE COSTARRICENSE DE ACREDITACIÓN - ECA-  
DE ACUERDO CON LA NORMA INTE-ISO/IEC 17025:2005

CENTRO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

TEL: 2511-7223, FAX: 2253-3762

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio 100 m oeste detrás de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias



ANEXO 3. RESULTADO PRUEBA DE *SALMONELLA* SP.

	<b>UNIVERSIDAD DE COSTA RICA</b> <b>FACULTAD DE MICROBIOLOGIA</b> <b>LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS</b> <b>INFORME DE ENSAYO</b>	Laboratorio de Microbiología de Alimentos  Facultad de Microbiología Universidad de Costa Rica
<b>LAMA-INF-159-15</b>		

Solicitante: Marco Martínez

Dirección: no indica

Número de muestras: 1

Fecha de muestreo  
suministrada por el cliente: no indicaFecha de ingreso  
de la muestra: 5 de noviembre, 2015Fecha de emisión  
del informe: 20 de noviembre, 2015**RESULTADOS**

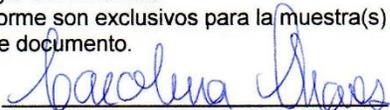
Descripción de la muestra	Presencia/ausencia <i>Salmonella</i> sp.
Clara de huevo en polvo (27 g)	Negativo

**Metodología:** Pouch. 2003. Compendium of methods for the examination of food. APHA

Muestra traída por el interesado

**Notas:**

- El laboratorio no se hace responsable de la representatividad de las muestras traídas por el cliente.
- Informe de ensayo nulo sin el sello del LAMA y sin la firma correspondiente.
- El informe de ensayo no puede reproducirse parcial ni totalmente sin la autorización del Laboratorio de Microbiología de Alimentos.
- Los resultados de este informe son exclusivos para la muestra(s) analizada(s) que corresponde(n) al presente documento.

  
**Dra. Carolina Chaves Ulate. MQC 968**  
**Laboratorio de Microbiología de Alimentos.**  
**Universidad de Costa Rica**

Laboratorio de  
Microbiología de Alimentos



Facultad de Microbiología  
Universidad de Costa Rica

#### **ANEXO 4. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DE LAS MUESTRAS**

Para la determinación de la humedad de las muestras en la balanza de humedad se debe seguir el procedimiento que se presenta a continuación:

1. La balanza de humedad debe encenderse como mínimo 30 minutos antes de realizar cualquier medición.
2. Transcurrido el tiempo de calentamiento se procede a colocar en la balanza uno de los platos metálicos en los cuales se realizará la determinación de humedad. Tras colocar el plato se cierra la tapa de la balanza y se procede a tarar el equipo en cero, esto por medio del botón “O/T”.
3. Seguidamente la balanza indica que se debe colocar la muestra. De la masa de producto seco que se tenía en los tubos tipo Falcón de la etapa de secado se toma una muestra significativa. La cual se extiende en el plato, tratando que la altura de la muestra por todo el plato sea lo más homogénea posible.
4. Se cierra la tapa de la balanza y la misma de manera automática inicia la medición. Al finalizar la medición, el equipo emite un sonido, se anota el dato de humedad y se procede a retirar el plato metálico.
5. Se debe presionar el botón “ESC” el cual hace que la balanza quede lista para la siguiente determinación.

## **ANEXO 5. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL AGUA DE LAS MUESTRAS**

Para la determinación de la actividad del agua de las muestras se debe seguir la metodología que se describe a continuación:

1. El medidor de actividad del agua debe encenderse como mínimo 30 minutos antes de realizar cualquier medición.
2. Pasados los 30 minutos se debe realizar una comprobación del estado del equipo. Para dicha comprobación en una de las cubetas plásticas de medición se coloca una cantidad de agua de ósmosis la cual debe ser tomada directamente de la manguera de la línea de distribución. Se le mide al  $a_w$  a dicha muestra de agua y la misma debe indicar un valor de  $1,000 \pm 0,003$ .
3. Se procede a colocar en la cubeta una muestra significativa del producto en polvo y se realiza la medición del  $a_w$ .
4. Al acabar con la medición el equipo emite un sonido y se procede a retirar la cubeta, quedando de esta manera el equipo listo para la siguiente determinación.

## **ANEXO 6. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNA DE LAS MUESTRAS**

Para la preparación del reactivo de Bradford 5X, lo primero que debe hacerse es pesar 50 mg del Coomassie Blue G-250 al cual se le agregan 25 mL de metanol al 95 %, la mezcla es filtrada en caso de que existan residuos del colorante. Seguidamente se le agregan 50 mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 85 % en un balón de 100 mL y se lleva a aforo con agua destilada. Dicha disolución será estable indefinidamente en una botella ámbar y a 4 °C (Araya, 2013).

Si lo que se desea preparar es el reactivo de Bradford 1X se toma una alícuota del reactivo 5X y se deposita la misma en una botella color ámbar, posteriormente con un balón aforado se miden 100 mL de agua destilada y se agrega a la botella que posteriormente es agitada. Dicha disolución será estable por alrededor de 3 meses si se mantiene a 4 °C (Araya, 2013). El reactivo de concentración de 1X es el que se emplea en los análisis de la cantidad de proteína de las muestras.

Para la correcta determinación de las proteínas del producto seco, este debe ser re dispersado, para lo cual se sigue el siguiente procedimiento:

1. Se tara a cero la masa de un beaker pequeño con una pastilla de agitación y se procede a pesar, aproximadamente 1 g de producto seco.
2. Por medio de correlaciones que se detallan más adelante en el análisis de resultados se agrega agua de ósmosis hasta tener la disolución adecuada en peso.
3. Se coloca el beaker en una plantilla de agitación y se deja agitar el producto, sin la generación de espuma en el producto.
4. Con ayuda de una espátula se remueve todo el producto sólido adherido a las paredes del beaker y se pone el mismo en contacto con el líquido. Posteriormente se coloca nuevamente el producto en agitación, hasta obtener una disolución en la que no se vean partículas sólidas en el líquido.
5. Se procede a medir la absorbancia de la muestra.

Para la preparación de las muestras para la determinación de la absorbancia se debe seguir el siguiente procedimiento:

1. Se tiene la muestra ya sea de la clara pura o bien del producto re dispersado.
2. Posteriormente de la clara pura con ayuda de una micropipeta se toma una muestra de 20  $\mu\text{L}$ , y para el caso de la muestra de producto re dispersado el volumen que se debe tomar es de 50  $\mu\text{L}$ .
3. Dicha muestra se coloca en un balón de 10 mL, el cual es llevado a su línea de aforo con agua de ósmosis.
4. Se agita de manera vigorosa el balón con el fin de homogenizar la muestra.
5. De la muestra del balón se toma una alícuota de 50  $\mu\text{L}$ , la cual se coloca en un tubo de ensayo y a dicho tubo se le agregaron 1,5 mL del reactivo de Bradford, tal como lo indica la metodología empleada en el CENIBiot.
6. Se procede a realizar la medición de la absorbancia en la cubeta correspondiente.