UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA URUGUAY

Facultad de Química
UDELAR - Uruguay

ELABORACIÓN DE DULCE DE LECHE A PARTIR DE LECHES EN POLVO CON DEFECTO SENSORIAL OXIDADO: ESTUDIO DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA EN MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTO FINAL.

Trabajo final de Grado
para optar por el título de Licenciada en Química

Estudiante:
María Sol Secco

Tutores:
Dra. Analía Rodríguez
Dr. Luis Panizzolo

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Facultad de Química y a la Cátedra de Ciencia y Tecnología de Alimentos por haberme brindado el espacio, los recursos y el apoyo durante todo este proceso.

A mis tutores, la Dra. Analía Rodríguez y el Dr. Luis Panizzolo, por su orientación y apoyo para llevar a cabo este trabajo.

A mis compañeros de carrera, en especial a mi amigo David Gómez, que me acompañó desde el primer momento.

A Yara Reyes, mi compañera de laboratorio, amiga, y gran apoyo durante este proceso.

A mi familia, por su apoyo incondicional.

A mis amigos, por acompañarme incluso en la distancia y celebrar cada paso del camino.

Finalmente, a todas aquellas personas que, de una u otra forma, contribuyeron a que esta tesis sea posible.

"Me parecía que la vida científica era íntegra y esencialmente buena, una relación amorosa que duraba toda la vida. Jamás me había parado a pensar en lo que sería de ≪mayor≫, pero ahora lo sabía: quería ser químico"

- Oliver Sacks

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES..... 8
2. OBJETIVOS..... 11
2.1. Objetivo general..... 11
2.2. Objetivos específicos..... 11
3. MARCO TEÓRICO..... 12
3.1. Generalidades sobre el dulce de leche..... 12
3.2. Elaboración del dulce de leche..... 12
3.2.1. Reacciones de pardeamiento no enzimático..... 13
3.2.1.1. Reacción de Maillard..... 13
3.2.1.2. Factores que afectan la reacción de Maillard..... 17
3.2.1.3. Caramelización..... 18
3.3. Materias primas utilizadas para la elaboración del dulce de leche..... 19
3.3.1. Leche fresca..... 19
3.3.2. Azúcares..... 20
3.3.3. Agentes neutralizantes..... 20
3.3.4. Leche en polvo..... 20
3.3.4.1. Deterioro oxidativo..... 21
4. MATERIALES Y MÉTODOS..... 24
4.1. Metodología general..... 24
4.2. Elaboración del DL..... 24
4.3. Composición centesimal del dulce de leche y de la leche en polvo..... 25
4.3.1. Determinación de humedad..... 25
4.3.2. Determinación de cenizas..... 25
4.3.3. Determinación de proteínas..... 26
4.3.4. Determinación de materia grasa..... 26
4.3.5. Determinación de carbohidratos..... 26
4.4. Caracterización fisicoquímica..... 26
4.4.1 Determinación del pH..... 26
4.4.2 Determinación de la actividad de agua (aw)..... 26
4.4.3. Determinación de sólidos solubles totales en el DL..... 27
4.4.4. Medición del color..... 27
4.5. Análisis oxidativo..... 28
4.5.1. Índice de peróxidos..... 28
4.5.2. Método del ácido tiobarbitúrico (TBA)..... 29
4.5.3. Dienos y trienos conjugados..... 30
4.6. Evaluación sensorial..... 31
4.6.1. De las muestras de leche en polvo..... 31
4.6.2. De los dulce de leche elaborados..... 32

4.7. Presentación de resultados..... 32
4.7.1. Análisis estadístico..... 32
4.7.2. Incertidumbre..... 33
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 33
5.1. Evaluación sensorial de leche en polvo..... 33
5.2. Composición centesimal y caracterización fisicoquímica..... 34
5.2.1. Composición centesimal de leche en polvo..... 34
5.2.3. Parámetros fisicoquímicos para las leche en polvo utilizadas..... 35
5.2.4. Parámetros de color para las leche en polvo..... 35
5.2.5. Composición centesimal de los dulce de leche elaborados..... 36
5.2.6. Parámetros fisicoquímicos de los dulce de leche elaborados..... 37
5.2.7. Parámetros de color para los dulce de leche elaborados..... 38
5.3. Análisis del deterioro oxidativo..... 38
5.3.1. Leche en polvo..... 39
5.3.2. Dulce de leche..... 40
5.3.2.1. Evaluación de la técnica de TBA para el DL..... 40
5.3.2.2. Deterioro oxidativo en el dulce de leche..... 41
5.3.2.3. Comparación global de los resultados de deterioro oxidativo..... 43
5.4. Evaluación sensorial de los DL..... 44
6. CONCLUSIONES..... 46
7. BIBLIOGRAFÍA..... 47

ABREVIATURAS

AG: ácidos grasos
AGI: ácidos grasos insaturados
AGMI: ácidos grasos mono-insaturados
AGPI: ácidos grasos poli-insaturados
aw: actividad de agua
DL: dulce de leche
LP: leche en polvo
MDA: malondialdehído
OL: oxidación lipídica
PV: índice de peróxidos
RBN: Reglamento Bromatológico Nacional
RM: reacción de Maillard
TAG: triglicéridos
TBA: ácido tiobarbitúrico
TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
UV: ultravioleta

RESUMEN

La leche en polvo entera (LP) es un producto susceptible a la oxidación lipídica (OL) debido a su alto contenido graso, siendo la causa principal de su deterioro. Aunque el Reglamento Bromatológico Nacional de Uruguay no establece parámetros específicos para la OL de este producto, existen normas (ISO e IDF) que definen la metodología y parámetros para evaluar los defectos sensoriales que pueden presentarse en LPs y calificarlas. Las LPs que presentan defectos, como el sabor oxidado, pueden seguir siendo aptas para el consumo, aunque ven reducida su aceptación comercial. En este contexto, se propuso revalorizar estas leches mediante su uso en la elaboración de dulce de leche (DL), un producto donde la reacción de Maillard (RM) ocurre extensamente y los productos derivados de la oxidación podrían verse atenuados, ya sea por transformación y/o volatilización durante la evaporación.

El objetivo del trabajo fue evaluar el uso de LPs con defecto sensorial oxidado en la elaboración de DL, mediante métodos analíticos y evaluación sensorial.

La oxidación lipídica se evaluó combinando varios métodos: sensorial y métodos químicos seleccionados para determinar oxidación primaria y secundaria. Las LPs se evaluaron y seleccionaron por parte de un panel entrenado de Facultad de Química utilizando la norma ISO 22935-2 | IDF 99-2 e ISO 22935-3 | IDF 99-3. El grado de oxidación se evaluó mediante índice de peróxidos (PV), coeficientes de extinción a 232 y 270 nm (K_{232} y K_{270}) y el método del ácido tiobarbitúrico. Los DLs se elaboraron con un 25 % de LP, 25 % de sacarosa y un pH inicial de 7.3, utilizando el robot MY-COOK-1600 hasta alcanzar 69±1 °Brix. La evaluación sensorial de los DLs fue mediante el método de grado de diferencia contra control, donde se presentaron los DLs elaborados con dos LPs oxidadas con diferente intensidad y un DL elaborado con una LP de máxima calidad, sin defectos, como referencia/control. De las LPs evaluadas se seleccionaron dos: LP 1 (oxidación baja) y LP 2 (oxidación más intensa), con calificaciones sensoriales de 5/2 y 2/1 (aspecto/sabor, respectivamente), y valores de PV de 1.31 ± 0.04 y 10.62 ± 0.90 respectivamente. En cuanto a los DL, los valores de PV para los que se elaboraron con LP 1 y LP 2 fueron de 0.66 ± 0.01 y 1.07 ± 0.41, respectivamente, siendo menores a los valores de PV de las LPs agregadas. De la evaluación sensorial, estos DLs presentaron diferencias significativas respecto al DL de referencia (α=0,05) en cuanto al sabor percibido como extraño o picante pero con una puntuación muy baja de 0.51 ± 0.65 y 1.23 ± 1.13, por lo que podría decirse que el defecto de la LP oxidada fue parcialmente enmascarado.

Se concluye que los métodos analíticos utilizados permitieron cuantificar químicamente la oxidación lipídica percibida como defecto sensorial oxidado en la materia prima. En el DL elaborado estos defectos estarían enmascarados y los valores de oxidación son menores a los aportados por la LP. Además, los parámetros de oxidación medidos en los DL elaborados son bajos y menores a los que se reportan para otros productos lácteos de mayor consumo. Por lo tanto, estas LPs defectuosas podrían utilizarse en la elaboración de DL a nivel industrial, contribuyendo a la economía circular y sostenibilidad.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El dulce de leche (DL) es un producto que se consume ampliamente tanto en los países del Río de la Plata como en otras regiones de Latinoamérica y el mundo. Se consume como untable, postre y desayuno. También es muy utilizado en panadería y repostería en la preparación de postres y pasteles como sustituto de las cremas que utilizan en otros países (Zalazar & Perotti., 2011). Se trata de un insumo importante en el mercado y, en la búsqueda de reducir tiempos de producción y aumentar la productividad, el uso de leche en polvo (LP) como sustituto parcial de la leche fluida es una alternativa interesante. En el mercado existen LPs de distintas calidades sensoriales (sin distinción comercial) que en algunos casos pueden llegar a despreciarse sin que pierdan inocuidad. Evaluar el uso de LP de distintas calidades sensoriales en la elaboración de DL permite determinar si la presencia de defectos afectarían su calidad y contribuir a la economía circular por encontrar un mercado y evitar que lleguen al fin de su vida útil sin comercializarse.

En los productos secos y ricos en grasas, como la LP, la oxidación lipídica es la causa principal de deterioro y a menudo se utiliza como estimación de la vida útil del producto y de aceptación del consumidor (Clarke et al., 2021). El Reglamento Bromatológico Nacional (RBN) (Ministerio de Salud Pública, 2012) no presenta disposiciones en cuanto a los parámetros de oxidación permitidos para leche en polvo. Sin embargo, existen normas internacionales (ISO e IDF) que definen la metodología y los parámetros para evaluar los defectos sensoriales que pueden presentarse en la leche en polvo, dentro de los cuales se encuentra el deterioro oxidativo. Estas normas proponen la utilización de una escala de 5 puntos para calificación de calidad, donde 5 es la máxima puntuación para ausencia de defectos.

La grasa láctea se encuentra estructurada como pequeñas partículas llamadas glóbulos grasos, cuya membrana está constituida por diversos lípidos, proteínas y algunas sales. El interior del glóbulo graso presenta una enorme diversidad de ácidos grasos, donde el 95-96% son triglicéridos (TAG), el 1.3-1.6% son diglicéridos y en menores porcentajes se encuentran monoglicéridos, ácidos grasos libres y otros. Especialmente la leche, posee un contenido relativamente alto de ácidos grasos de bajo peso molecular, en especial ácido butírico. La cantidad de ácidos grasos insaturados puede cambiar dependiendo de la estación del año y el tipo de forraje que consume el ganado (Belitz & Grosch., 1999). La relación de saturados a insaturados y los ácidos de cadena corta determinan el estado físico de la grasa, al igual que su susceptibilidad a las reacciones químicas que afectan el sabor de la leche y de los productos lácteos. Su sensibilidad a la oxidación aumenta directamente con el contenido de insaturados (Badui., 2006).

El proceso de oxidación es una reacción importante que ocurre entre los lípidos insaturados y el oxígeno atmosférico y, generalmente se acelera por la presencia de metales, luz, calor y varios iniciadores (Kiokias et al., 2009). Las reacciones de oxidación están dadas por una fase “lenta” (oxidación primaria) seguida por un aumento exponencial de la tasa oxidativa, dado por las reacciones de oxidación secundaria. La primera fase es muy importante en el procesamiento de alimentos ya que la rancidez no es detectada y el alimento

se considera de alta calidad. Cuando se alcanza la fase exponencial, la oxidación ocurre rápidamente lo que conlleva la liberación de aromas y sabores desagradables (Damodaran & Parkin., 2017).

Existen diversas formas de evaluar la oxidación lipídica. El índice de peróxidos es uno de los métodos más usados para evaluar el grado de oxidación primaria. El método consiste en una yodometría basada en la reducción del grupo hidroperóxido (ROOH) con el ion yoduro (I^-). La concentración de peróxido presente es proporcional a la cantidad liberada de yodo (I_2), la cual se determina mediante una titulación con tiosulfato de sodio utilizando almidón como indicador. El resultado se expresa en miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de grasa o aceite (Kiokias et al., 2009). Inmediatamente después de la formación de peróxidos ocurre la formación de los dienos y trienos conjugados. Estos compuestos tienen la capacidad de absorber en la región ultravioleta, lo que permite su determinación al disolver la grasa en un solvente orgánico y medir su absorbancia utilizando un espectrofotómetro UV-visible (Okenkova et al., 2010). En cuanto a la oxidación secundaria, el método del ácido tiobarbitúrico (TBA) es uno de los ensayos más usados. Consiste en la determinación del malondialdehído (MDA) el cual es considerado un producto importante de oxidación lipídica en alimentos. La reacción del MDA con el reactivo TBA produce un compuesto cromógeno rojo que tiene un máximo de absorción a 532 nm (Kiokias et al., 2009).

Es interesante evaluar el uso de LP en DL ya que durante su elaboración, debido a las diversas transformaciones químicas del proceso (principalmente reacción de Maillard) se generan una gran variedad de compuestos sápidos y aromáticos donde los productos derivados de la oxidación podrían verse atenuados, ya sea por transformación y/o volatilización durante la evaporación.

La reacción de Maillard (RM) refiere a un conjunto muy complejo de reacciones químicas que, entre varias consecuencias, está la producción de pigmentos que van desde el amarillo claro hasta el marrón oscuro. Para que la reacción ocurra es necesaria la presencia de un grupo carbonilo libre (de un azúcar reductor, cetosa o aldosa) y un grupo amino libre o ligado (de aminoácido, péptido o una proteína). Una vez que estos compuestos interaccionan, tiene lugar una sucesión de reacciones de las cuales aún no se conoce completamente el mecanismo, pero sí las etapas más importantes (Badui., 2006).

Diversos factores influyen en la reacción, siendo el pH inicial un parámetro muy importante ya que muchas reacciones de la RM son catalizadas por mecanismos ácido–base. Se ha investigado en sistemas lácteos concentrados y en DL, que con el aumento del pH (preponderantemente en el intervalo alcalino) se incrementa la velocidad de formación de productos pardos (Rozycki et al., 2010; Rodríguez., 2017). Esto se debe a que, por un lado, con el aumento del pH inicial aumenta la fracción de cadena abierta o forma reductora de los azúcares reductores y por otro, a que este aumento provoca mayor reactividad de los grupos amino de los aminoácidos, péptidos y proteínas, ya que la reacción de condensación inicial se favorece cuando el grupo amino no está protonado (Panizzolo et al., 2016).

Durante el transcurso de la RM se pueden llegar a formar cerca de 3500 compuestos volátiles, derivados de diferentes etapas de la reacción. Estos compuestos se pueden ordenar en tres grupos: los derivados de la deshidratación/fragmentación de azúcares (furanos,

carbonilos), los que provienen de la degradación de Strecker (aminoácidos y compuestos sulfurados) y los compuestos volátiles producidos en reacciones más avanzadas como imidazoles, pirroles, piridinas, pirazinas, entre otros (Nursten., 2011).

Tanto la reacción de Maillard como la oxidación lipídica están involucradas en la formación de aromas y sabores de los alimentos. Ambas incluyen una red de reacciones diferentes en las que se obtienen mezclas muy complejas de compuestos que desencadenan cambios importantes en el sabor, aroma, color, textura y valor nutricional de los alimentos, con consecuencias tanto deseables como indeseables. Además, ambas reacciones están interrelacionadas, poseen intermediarios comunes y los productos de una influyen en la otra. Esto sugiere que deben ser estudiadas en simultáneo para entender los mecanismos de reacción, la cinética y los compuestos que se obtienen a partir de las complejas mezclas de carbohidratos, lípidos y proteínas presentes en alimentos (Kerler et al., 2010).

La evaluación sensorial es esencial cuando se cambia la formulación de un alimento, ya que ayuda a entender cómo los consumidores perciben los cambios en características como el sabor, la textura, el color o el aroma del producto. El tipo de análisis sensorial debe adaptarse a las necesidades específicas de la evaluación (Olivas et al., 2009). Esto puede incluir pruebas discriminativas (para conocer si hay o no diferencia entre muestras), descriptivas (donde se trata de definir las propiedades de un alimento y de medir su magnitud o intensidad) y afectivas (para medir las preferencias del consumidor). Dentro de las pruebas discriminativas se encuentra la prueba o test triangular, en donde se presentan tres muestras al juez, de las cuales dos son iguales y se le pide que identifique la muestra diferente. En cuanto a las descriptivas, se encuentra la determinación de perfiles sensoriales, que se emplean para evaluar conjuntamente las diferentes notas que componen un atributo complejo. Consisten en asignar puntuaciones a cada nota sobre una escala gráfica de modo que para cada muestra se obtiene un trazo con un perfil característico (Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación [CIAL], 2011). Otro tipo de prueba descriptiva muy utilizada es la prueba de escala, donde los panelistas marcan la intensidad de una característica específica, percibida en cada una de las muestras codificadas. Para ello utilizan una escala de intervalo, que va de menor a mayor intensidad (Watts et al.,1992).

Mediante lo mencionado anteriormente, se propone evaluar la utilización de LPs comerciales de diferentes calidades sensoriales clasificadas con defectos relacionados a la oxidación, como insumo en la elaboración de DL y su impacto en la calidad sensorial y en los productos de oxidación lipídica. El presente trabajo se enmarca en el proyecto Articulación Academia - Sector Productivo de ANII (ART_X_2023_1_176376) con la empresa Granja Pocha S.A., denominado “Evaluación del uso de leche en polvo de diferentes calidades sensoriales y suero de quesería en polvo como insumo en la elaboración de Dulce de Leche. En búsqueda de eficiencia y revalorización en el área dulcería.” (Responsables Dra. Analía Rodríguez y Dr. Luis Panizzolo).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del uso de leche en polvo con defecto sensorial oxidado como insumo en la elaboración del dulce de leche.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterización de leche en polvo de diferente calidad sensorial en cuanto a defectos relacionados a la oxidación:
    - Caracterización en composición centesimal
    - Caracterización sensorial
- Evaluar la calidad sensorial de los DLs elaborados con LPs de diferentes calidades sensorial:
    - Elaborar los DLs utilizando las LPs de diferente calidad sensorial
    - Caracterización en composición centesimal
    - Caracterización sensorial
- Evaluar el deterioro oxidativo mediante la determinación de compuestos de oxidación primaria y secundaria en las LPs y en los DLs elaborados con dicha materia prima.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Generalidades sobre el dulce de leche

El dulce de leche es un producto ampliamente consumido en países del Río de la Plata como Argentina y Uruguay y a menor nivel en otros países latinoamericanos como Chile, Paraguay, Brasil, y Bolivia. Según el Reglamento Bromatológico Nacional (Ministerio de Salud Pública., 2012), el dulce de leche (DL) se define como "el producto obtenido por la concentración y acción del calor, a presión normal o reducida, de leche o leche reconstituida, con o sin adición de sólidos de origen lácteo y/o crema y adicionado de sacarosa (sustituida o no por monosacárido u otros disacáridos)". Para su preparación, la mezcla de leche y azúcar se concentra a ebullición hasta que el contenido de sólidos sea 70% y, dependiendo de las materias primas y de las condiciones de elaboración (pH, temperatura, tiempo, etc) se producen las reacciones de pardeamiento no enzimático que le brindan un color, textura y aromas agradables al producto (Zalazar & Perotti., 2011). Sensorialmente, el DL debe tener una consistencia cremosa o pastosa, sin cristales perceptibles en la boca, con olor y sabor dulce característico y con un color castaño acaramelado proveniente de las reacciones de pardeamiento.

Tabla 1. Composición química del dulce de leche

Componente	Contenido (g/100 g)
Proteínas	Mín. 5
Materia grasa	6–9
Cenizas	Máx. 2
Humedad	Máx. 30

Reglamento Bromatológico Nacional., (2012)

3.2. Elaboración del dulce de leche

El primer paso para la elaboración del DL es la preparación de la mezcla inicial, que consiste en la leche fresca y la sacarosa, así como también la glucosa y la leche en polvo o suero, si es que se utilizan. Una vez preparada, se debe neutralizar parcialmente. Este paso es importante para prevenir la desestabilización de las micelas de caseína de la leche, lo cual puede ocurrir debido al descenso de pH durante la evaporación. El grado de neutralización depende del tipo de DL que se va a preparar (para el DL familiar, la mezcla inicial se neutraliza hasta 10 °D). Cuando la mezcla está lista, comienza la evaporación.

Al exponer la leche a altas temperaturas, debido a su alto contenido en proteínas y azúcares reductores (lactosa), es una excelente materia prima para las reacciones de pardeamiento no enzimático (Zalazar & Perotti., 2011).

3.2.1. Reacciones de pardeamiento no enzimático

Existen distintos mecanismos de pardeamiento no enzimático en alimentos: la reacción de Maillard (RM), las reacciones de caramelización y la oxidación del ácido ascórbico, siendo la primera la más relevante (Nursten., 2011).

3.2.1.1. Reacción de Maillard

La reacción de Maillard refiere a un complejo grupo de reacciones químicas que traen consigo la formación de múltiples compuestos (Badui, 2006). Recibe su nombre en honor al químico francés Louis-Camille Maillard, quien la describió por primera vez en 1912. Consiste en la reacción entre un compuesto amínico y un compuesto carbonílico, en general un azúcar reductor, como puede ser la glucosa, fructosa o lactosa. Dado que estos compuestos están presentes en prácticamente todas las células, las ramificaciones de la RM son casi ilimitadas y su comprensión es de importancia fundamental para la ciencia de alimentos y para el funcionamiento de las células vivas, así como también para otras áreas (Nursten., 2005). Dado que se trata de una reacción muy compleja, Hodge (1953) dividió a la reacción de Maillard en distintas etapas:

1 - Etapa inicial: se producen sustancias poco coloreadas, sin absorción en el ultravioleta. Comienza con la condensación del grupo amino y carbonilo (figura 1) para dar la base de Schiff correspondiente, la cual posteriormente se cicla para dar una glicosilamina. En este primer paso el azúcar debe tener una estructura abierta para que su carbonilo sea atacado nucleofílicamente por el par de electrones del nitrógeno del grupo amino (Badui., 2006) y continúa con la transposición de Amadori (figura 2).

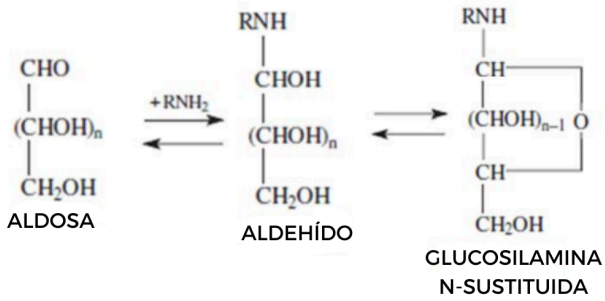

Figura 1: Condensación del grupo amino y carbonilo.
Adaptado de Nursten (2011).

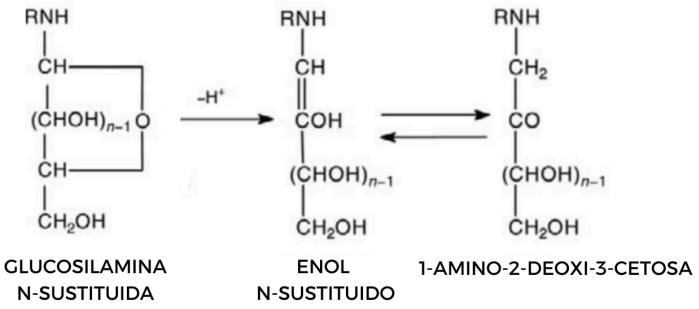

Figura 2: Transposición de Amadori.
Adaptado de Nursten (2011).

2- Etapa intermedia: según las condiciones prevalecientes de pH, actividad del agua y temperatura, los compuestos formados pueden sufrir modificaciones muy profundas, donde se obtienen productos amarillentos, con fuerte absorción en el ultravioleta. La principal reacción es la deshidratación de los azúcares (figura 3) por isomerización enólica, con lo cual se sintetiza furfural y sus derivados, así como reductonas y dehidrorreductonas, ambas con un alto poder reductor; también se producen compuestos como el maltol, el etilmaltol y el acetil-furano. Ocurren también mecanismos de fragmentación de los azúcares enólicos (figura 4), con lo cual se favorece la síntesis de un gran número de compuestos de peso molecular bajo, como aldehídos, cetonas, ácidos y alcoholes de dos a cuatro átomos de carbono. Todas estas son sustancias muy reactivas, que pueden reaccionar con aminoácidos por medio de la degradación de Strecker (figura 5), (Badui., 2006).

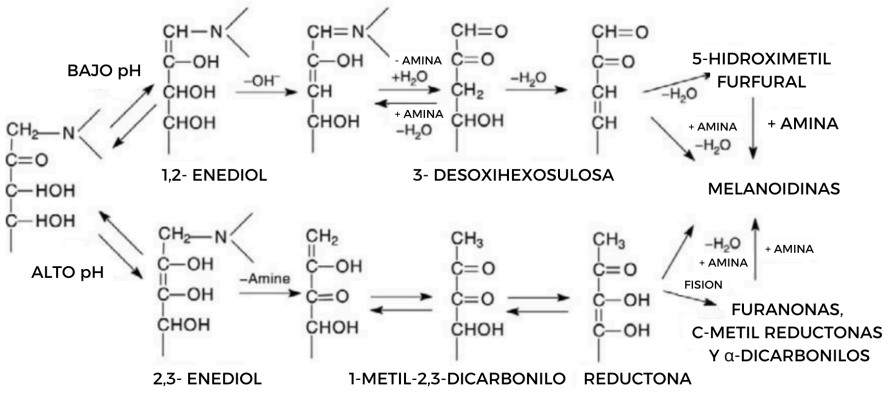

Figura 3: vías de deshidratación de azúcares según el pH.
Adaptado de Nursten (2011).

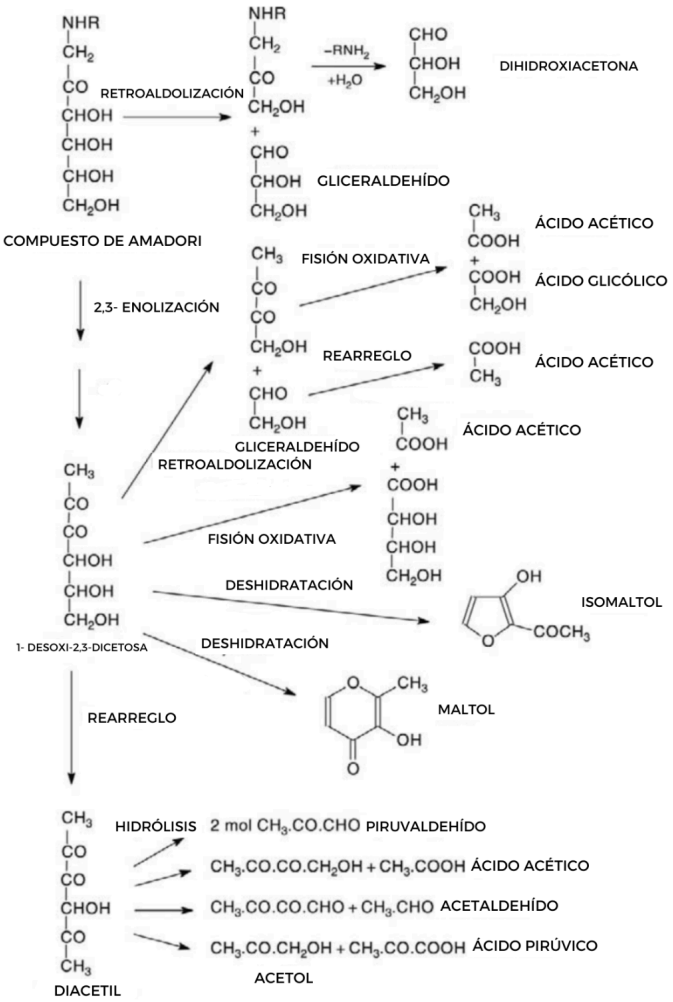

Figura 4: vías de fragmentación de azúcares.
Adaptado de Nursten (2011).

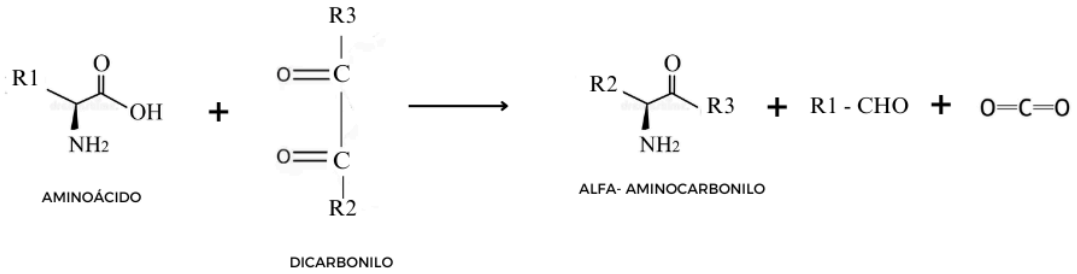

Figura 5: degradación de Strecker. Adaptado de Nursten (2005).

3- Etapa final: cuando se llega a esta etapa los productos son altamente coloreados. Ocurren reacciones de condensación aldólica (figura 6) y condensación del grupo amino y aldehído con formación de compuestos heterocíclicos nitrogenados (figura 7).

Es en esta etapa donde se forman las melanoidinas, que contienen entre 3-4 % de nitrógeno y una estructura que varía según cómo se ha formado (Nursten., 2011). Los estudios

espectrofotométricos han demostrado la presencia de muchos dobles enlaces de aminoácidos y de distintos grupos heterocíclicos. Casi todas las melanoidinas tienen su máxima absorción a 420 o 490 nm, por lo cual pueden ser cuantificadas a estas longitudes de onda (Badui., 2006).

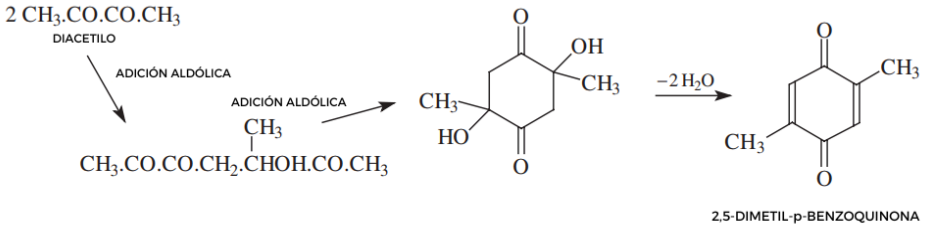

Figura 6: condensación aldólica. Adaptado de Nursten (2005).

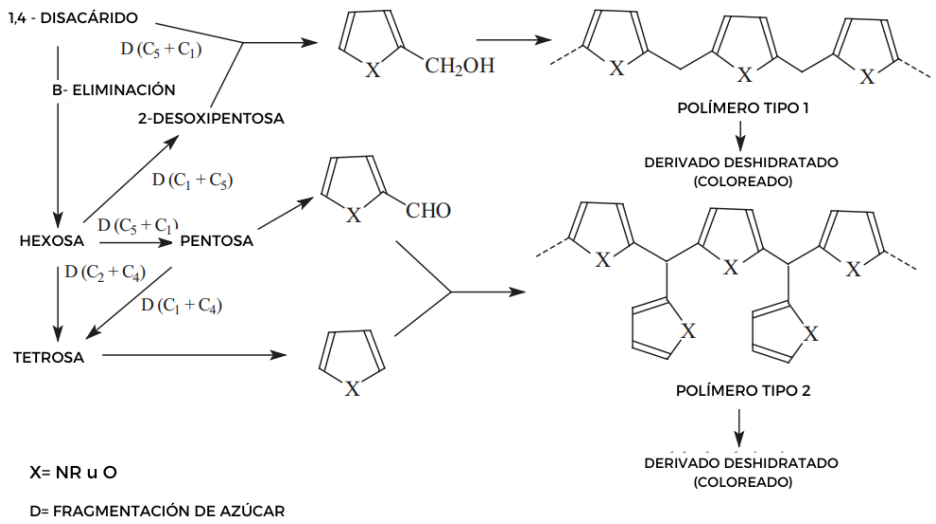

Figura 7: condensación amino-aldehído con formación de compuestos heterocíclicos nitrogenados. Adaptado de Nursten (2005).

En conjunto, todas las reacciones mencionadas anteriormente se pueden resumir en el siguiente esquema:

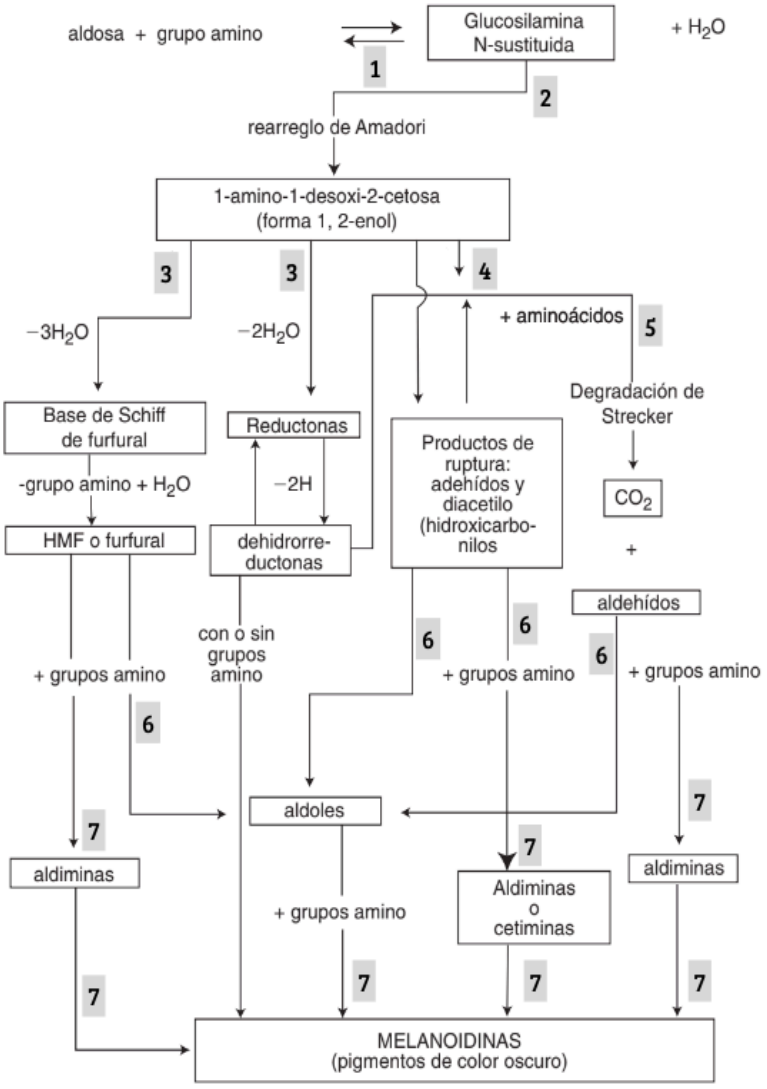

Figura 8: Extraída y adaptada de Hodge, JE (1953). *Chemistry of Browning Reactions in Model Systems*.

3.2.1.2. Factores que afectan la reacción de Maillard

a. Actividad de agua

La reacción de Maillard produce agua como uno de sus productos, lo que puede aumentar la actividad de agua (aw) en el sistema. Sin embargo, el efecto del aw en esta reacción es aún más importante. A una actividad de agua alta, la presencia de agua puede dificultar la reacción, ya que el agua "diluiría" los reactivos, lo que disminuye su concentración y, por lo tanto, la probabilidad de que reaccionen entre sí. Por otro lado, cuando el sistema se vuelve más concentrado, los reactivos se mueven con más dificultad

(Nursten., 2011). Se ha observado que los valores de aw de 0.6 a 0.9 son los que más favorecen la RM (Badui., 2006).

b. Temperatura

Las temperaturas elevadas aceleran la reacción, pero debido a que su energía de activación es baja (entre 16-30 kcal/mol) se observa de igual manera hasta en condiciones de refrigeración. En sistemas modelo de caseína-glucosa se sigue una relación lineal entre la temperatura y la velocidad de reacción en un intervalo de 0 a 90°C, de acuerdo con la ecuación de Arrhenius (Badui., 2006).

c. pH

El pH empleado en la producción de DL afecta la estructura y la cantidad de los productos originados por la RM y por lo tanto el color final del mismo (Rodríguez et al., 2021). Se trata entonces de un parámetro muy importante, ya que muchas reacciones de la RM son catalizadas por mecanismos ácido–base. Se ha investigado en sistemas lácteos concentrados y en DL que, con el aumento del pH (preponderantemente en el intervalo alcalino) se incrementa la velocidad de formación de productos pardos (Rozycki et al., 2010; Rodríguez., 2017). Esto se debe a que, por un lado, con el aumento del pH inicial aumenta la fracción de cadena abierta o forma reductora de los azúcares reductores y por otro, este aumento provoca mayor reactividad de los grupos amino de los aminoácidos, péptidos y proteínas, ya que la reacción de condensación inicial se favorece cuando el grupo amino no está protonado (Panizzolo et al., 2016).

d. Tipo de aminoácido

Se sabe que en los sistemas modelo de glucosa-aminoácido, la velocidad se incrementa con los aminoácidos cuyo grupo amino está más alejado del carboxilo. Es por esta razón que la lisina, con su grupo amino en posición ε es el aminoácido más activo (Badui., 2006).

e. Tipo de azúcar

Los azúcares reductores que más favorecen la reacción de Maillard son, en primer término, las pentosas, y en segundo las hexosas; asimismo, las aldosas actúan más fácilmente que las cetosas, y los monosacáridos son más efectivos que los disacáridos (Badui., 2006).

3.2.1.3. Caramelización

Este otro tipo de reacción de oscurecimiento, se da cuando los azúcares se calientan por encima de su punto de fusión (Badui., 2006). Es catalizada por la presencia de ácidos carboxílicos y sus sales, fosfatos e iones metálicos, pero incluso ante un catalizador los requerimientos energéticos son más mayores que para la RM (Nursten., 2011).

Los mecanismos por los cuales ocurre la caramelización son complejos y no están descritos en su totalidad, pero son conocidos algunos como la isomerización y deshidratación de azúcares (ver figura 9). Mediante estos, se genera furfural y sus derivados insaturados que se polimerizan (consigo mismo o con otras moléculas) para formar las melanoidinas. También se sintetizan compuestos de bajo peso molecular muy aromáticos como furanos, furanonas, lactonas, aldehídos, cetonas, entre otros, así como también compuestos con dobles enlaces conjugados que por lo tanto producen colores (Badui., 2006).

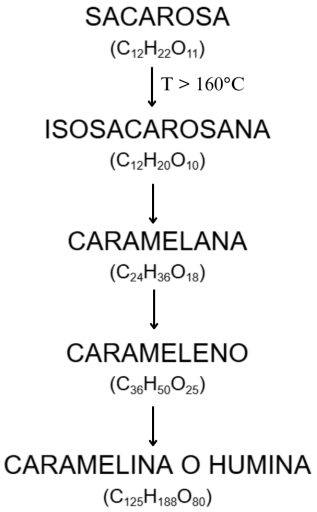

Figura 9. Caramelización. Adaptado de Badui (2006).

Junto con la RM, la caramelización produce compuestos aromáticos, libera agua y dióxido de carbono y el pH disminuye con la reacción. La producción de color se ve aumentada al aumentar el pH y el oxígeno tiene un leve efecto mejorador del color producido. El dióxido de azufre tiene un efecto inhibidor de estas reacciones (Nursten., 2011).

3.3. Materias primas utilizadas para la elaboración del dulce de leche

3.3.1. Leche fresca

La leche está constituida por agua, grasas, proteínas, azúcares, vitaminas y minerales, además de otras sustancias que están presentes en menor concentración. En conjunto forman un sistema fisicoquímico estable de más de 450 compuestos; dado que todos sus ingredientes

se encuentran en equilibrio, estableciendo diversos estados de dispersión (Badui., 2006).
Para la producción del DL, es necesario que la leche sea de buena calidad microbiológica (ya que el proceso de elaboración requiere altas temperaturas durante cierto tiempo) así como también baja acidez inicial y ausencia de calostro, debido a que variaciones en la composición de la leche pueden causar defectos en el producto final (Zalazar & Perotti., 2011).

3.3.2. Azúcares

Se añaden a la leche para poder alcanzar una concentración de sólidos totales de 68- 70 % en el producto final. El azúcar de elección es la sacarosa, que brinda una textura viscosa, apariencia brillante y un oscuro color marrón (Zalazar & Perotti., 2011). Industrialmente, para aumentar el rendimiento y reducir costos, el límite máximo de sacarosa es un 30% m/m del volumen de leche utilizado (Celestino et al., 2024).

3.3.3. Agentes neutralizantes

En el dulce de leche familiar, se utiliza comúnmente el bicarbonato de sodio para neutralizar la acidez tanto de la leche cruda como la de la mezcla durante la concentración (Zalazar & Perotti., 2011).

3.3.4. Leche en polvo

El RBN (2012) define a la leche en polvo como el producto que se obtiene por deshidratación de la leche entera, descremada o semidescremada, apta para la alimentación humana, mediante procesos tecnológicos adecuados autorizados. Para la producción del DL, en muchos casos se suele adicionar leche en polvo entera o descremada de buena calidad con el fin de aumentar el contenido de sólidos en la leche y reducir los tiempos de producción (Zalazar & Perotti., 2011).

Tabla 2. Composición química de la leche entera en polvo

Componente	Contenido (%)
Humedad[1]	máx. 3.5
Proteínas[2]	26.5
Grasas[1]	mín. 26.0
Minerales[2]	6.0

1.Reglamento Bromatológico Nacional., (2012)
2.U.S. Dairy Export Council., (2018)

Debido a su alto contenido de grasa, la leche en polvo constituye un sustrato propenso a sufrir cambios oxidativos (Okenkova et al., 2010). Estos cambios ocurren a través de reacciones que generan una variedad de productos volátiles, los cuales contribuyen al desarrollo de olores y sabores desagradables. Diversos factores influyen en el grado de oxidación lipídica en los productos lácteos, como la raza y la dieta del animal de origen, el estado de lactancia, los niveles de ácidos grasos poliinsaturados e insaturados, así como las condiciones de almacenamiento y procesamiento (Clarke et al., 2021).

3.3.4.1. Deterioro oxidativo

El término “deterioro oxidativo” es utilizado para describir una secuencia compleja de cambios químicos que resultan de la interacción de los lípidos con el oxígeno (Damodaran & Parkin., 2017). Refiere a la reacción de deterioro más común y corresponde a la oxidación de los ácidos grasos insaturados (AGI), donde se generan compuestos que mantienen y aceleran la reacción y se sintetizan sustancias de bajo peso molecular que confieren el olor típico de grasa oxidada (Badui., 2006).

La oxidación lipídica puede ocurrir durante el procesamiento y almacenamiento de productos lácteos funcionales y provocar la formación de sabores desagradables y compuestos perjudiciales para la salud (García-Martínez & Márquez-Ruiz., 2009).

El mecanismo por el cual se dan estas reacciones (reacciones de autooxidación) es mediante especies conocidas como radicales libres. Se trata de moléculas o átomos que tienen electrones desapareados y que varían mucho en su energía. Los radicales de alta energía (como el hidroxilo,·OH) pueden oxidar casi a cualquier molécula mientras que los de baja energía pueden actuar como antioxidantes. Se considera que este mecanismo de oxidación procede en tres etapas: iniciación, propagación y terminación (Damodaran & Parkin., 2017).

Baudi (2006) ejemplifica este mecanismo (ver figura 10) con el ácido linoleico, que tiene un sistema de dobles enlaces conjugados que activa a los hidrógenos del carbono 11 y permite que un fotón actúe sobre uno de ellos para producir un radical ácido graso. Este radical presenta una distribución electrónica inestable y puede transformarse en dos estructuras resonantes distintas que, en presencia de oxígeno forman radicales hidroperóxidos, que interaccionan con otro ácido graso insaturado y forman un nuevo radical ácido graso. La terminación se da al encontrarse dos radicales libres.

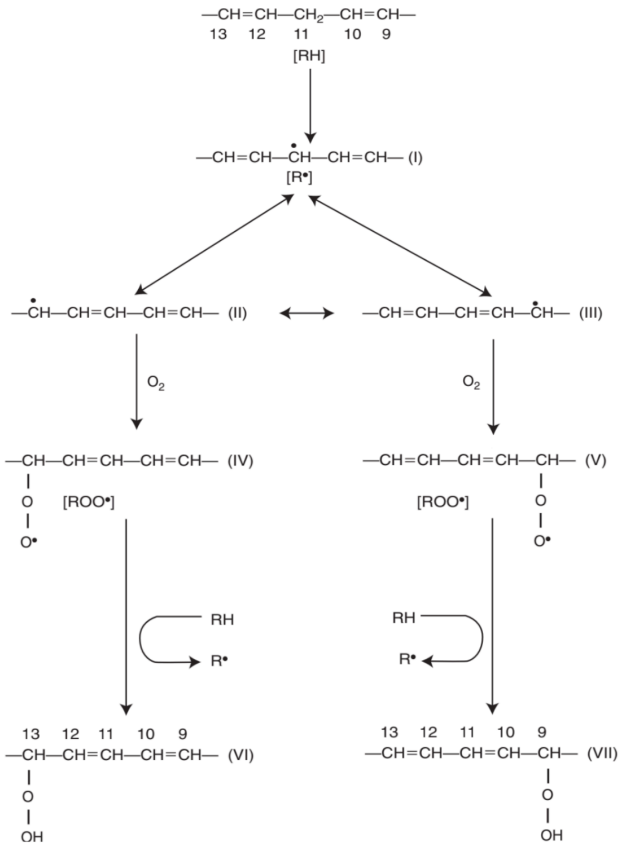

Figura 10: Esquema de la autooxidación del ácido linoleico.
Extraído de Badui (2006).

La cinética de las reacciones de oxidación está dada por una fase "lenta" seguida por un aumento exponencial de la tasa oxidativa. La primera fase es muy importante en el procesamiento de alimentos ya que la rancidez no es detectada y el alimento se considera de alta calidad. Cuando se alcanza la fase exponencial, la oxidación ocurre rápidamente lo que conlleva la liberación de aromas y sabores desagradables (Damodaran & Parkin., 2017).

En la figura 11 se observa un esquema del desarrollo de la autooxidación con el tiempo. Se observa que el índice de peróxidos disminuye mientras que la viscosidad, la degradación y la generación de compuestos odoríferos continúa en aumento. Es por esta razón que el índice de peróxidos no necesariamente refleja el grado de oxidación de una grasa; depende del momento en que se determina (Badui., 2006).

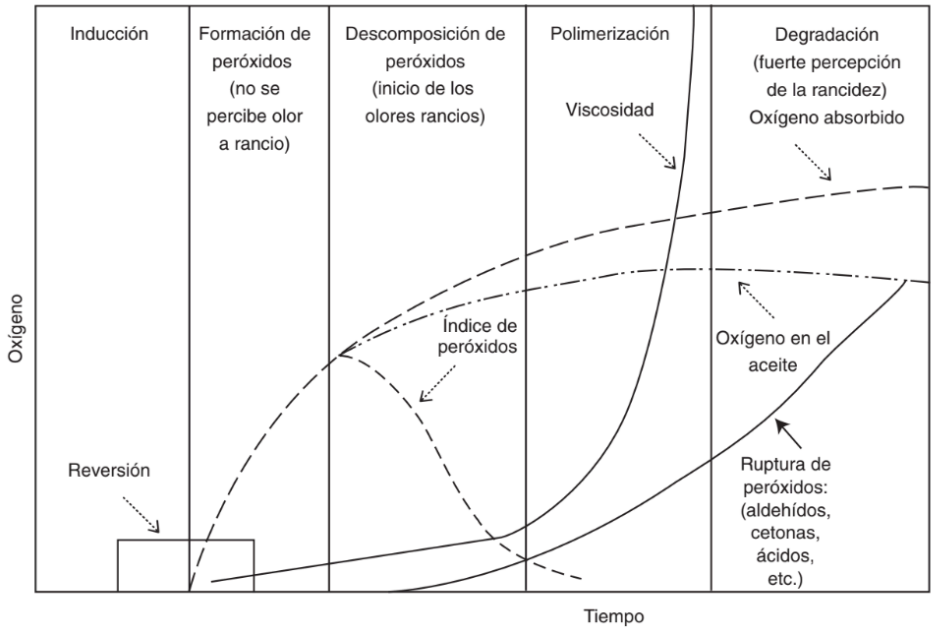

Figura 11: Desarrollo del proceso oxidativo de los lípidos. Extraído de Badui (2006).

El proceso de oxidación lipídica conduce a la formación de una multitud de compuestos de diferente peso molecular y polaridad, lo que dificulta la evaluación del grado de oxidación. Además, es difícil extraer conclusiones generales debido a la variedad de condiciones de oxidación (disponibilidad de oxígeno, luz/oscuridad, temperatura, tiempo, presencia de antioxidantes/prooxidantes, etc.) y métodos analíticos (pérdida de sustrato, índice de peróxidos, índice de ácido tiobarbitúrico, evaluación sensorial, productos volátiles de oxidación, etc.) aplicados para evaluar la oxidación, ya que cada uno de los métodos comúnmente utilizados sólo es aplicable a etapas específicas del proceso oxidativo y la información proporcionada depende del tipo de método elegido (García-Martínez & Márquez-Ruiz., 2009).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Metodología general

El presente trabajo se enmarca en el proyecto Articulación Academia - Sector Productivo de ANII (ART_X_2023_1_176376) con la empresa Granja Pocha S.A., denominado "Evaluación del uso de leche en polvo de diferentes calidades sensoriales y suero de quesería en polvo como insumo en la elaboración de Dulce de Leche. En búsqueda de eficiencia y revalorización en el área dulcería." (Responsables Dra. Analía Rodríguez y Dr. Luis Panizzolo). En dicho proyecto, se busca revalorizar distintas leches en polvo con defectos sensoriales mediante su incorporación como insumo en la elaboración de dulce de leche.

Para ello, se adquirieron LP comerciales de diferentes calidades sensoriales por medio de consultas a empresas elaboradoras de LP. Éstas se caracterizaron en el Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Química, que cuenta con un panel de jueces sensoriales con un alto nivel de entrenamiento que evalúan un promedio de 400 muestras de leche en polvo al año de acuerdo a la norma ISO 22935-2 | IDF 99-2 e ISO 22935-3 | IDF 99-3.

En total se caracterizaron siete LP distintas, y en base a los resultados obtenidos del análisis sensorial de las mismas, fueron seleccionadas para este estudio, aquellas con defecto sensorial oxidado en distinto grado, y una sin defectos como referencia. Una vez caracterizadas se conservaron bajo congelamiento a -18 °C para asegurar su estabilidad y calidad y fueron utilizadas dentro del período de vida útil establecido por el fabricante.

4.2. Elaboración del DL

Para la elaboración de DL a escala de laboratorio se utilizó el robot de cocina MyCook (MY-COOK-1600, Taurus), que simula la función de una paila y la elaboración de un dulce de leche familiar producido a paila abierta. La elaboración se realizó utilizando leche fluida entera y sustitución parcial con leche en polvo, basándose en un proyecto previo (Proyecto ANII FMV_3_2016_1_126689, responsable Rodríguez, A.) donde la fórmula que llevaba al dulce de leche de mayor similitud al elaborado con leche fluida exclusivamente era con las condiciones pHi 7,3 y 25% de sustitución con leche en polvo.

Teniendo en cuenta los resultados de la evaluación sensorial de las leches en polvo, se elaboraron cinco dulces de leche según los defectos sensoriales que aportaba cada LP. Para el marco del presente trabajo, se analizaron químicamente los dos DL elaborados con las LP con defecto oxidado y el DL elaborado con LP de máxima calidad sensorial, como referencia. Todas las elaboraciones utilizaron 1050 mL de leche entera fluida (leche fluida UHT comercial de un mismo lote), 350 g de sacarosa, 35 g de leche en polvo y bicarbonato de sodio según el pH inicial medido, para obtener un pHi de 7,3.

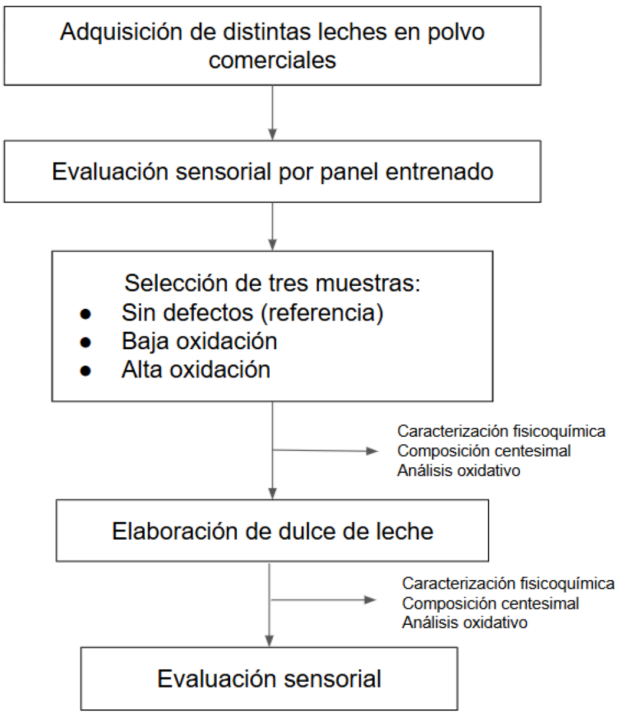

Figura 12. Diagrama de flujo de la metodología

4.3. Composición centesimal del dulce de leche y de la leche en polvo

4.3.1. Determinación de humedad

Las determinaciones de humedad se realizaron por calentamiento de la muestra en una estufa de desecación, a una temperatura de 102º ± 2ºC, hasta peso constante. Para dulce de leche, la técnica se realizó según la norma ISO 6734 | IDF 15 (2010) y para leche en polvo en base a la norma FIL-26:1964 (Panreac Química S.A., 1999).

4.3.2. Determinación de cenizas

Para dulce de leche se determinó el extracto seco según la norma FIL-15:1961 (Panreac Química S.A., 1999) mientras que para LP se determinó en base a la norma AOAC 930.30 (2018).

4.3.3. Determinación de proteínas

El contenido de proteínas se determinó por el método de Kjeldahl según la norma FIL-20:1962 (Panreac Química S.A.,1999) utilizando el factor de conversión de nitrógeno a proteína 6,38.

4.3.4. Determinación de materia grasa

La determinación de materia grasa se realizó en base al principio de Rose-Gottlieb, siguiendo la norma ISO 14156 | IDF 172, con modificaciones. Se pesó 1 g de muestra y se disolvió en 3,2 mL de agua destilada. Posteriormente, se aplicó el protocolo establecido en la norma, ajustando las proporciones de los reactivos correspondientes y omitiendo el uso de sulfato de sodio anhidro. La evaporación del solvente se realizó en dos etapas: primero mediante venteo con nitrógeno hasta que no se observó presencia de solvente y luego, mediante secado en estufa a 102 °C hasta alcanzar peso constante.

4.3.5. Determinación de carbohidratos

El contenido de carbohidratos se determinó por diferencia.

4.4. Caracterización fisicoquímica

Se realizaron medidas de laboratorio para caracterizar los DL elaborados y de las LP utilizadas, mediante la determinación de parámetros comunes como el pH, la actividad de agua, y la medición del color. En los DL se determinó además el contenido de sólidos solubles totales. Todas las medidas se realizaron por triplicado.

4.4.1 Determinación del pH

El pH se determinó por método potenciométrico. Se utilizó un electrodo de penetración (Hanna Triodo/DIN) para determinación de pH en sólidos y semi sólidos, que se sumergió en la muestra a temperatura ambiente y se dejó 10 minutos para su estabilización y posterior lectura a 25 °C.

4.4.2 Determinación de la actividad de agua (aw)

Se utilizó el equipo Aqua LAB (modelo 4 TE) para la determinación de la aw. Se colocó en la celda aproximadamente 3 g de muestra (a temperatura ambiente) y se midió la aw a una temperatura de 25 °C.

4.4.3. Determinación de sólidos solubles totales en el DL

El contenido de sólidos solubles totales en dulce de leche es un parámetro común para seguir el proceso de concentración y determinar el punto final. Las determinaciones se realizaron por medida del índice de refracción utilizando un refractómetro de mano (Abbe ZGW-2) a 25 °C y el resultado se expresó en °Brix.

4.4.4. Medición del color

El color de un alimento puede medirse por varios métodos colorimétricos. El método de reflectancia se correlaciona con la percepción del color por el ojo humano y se lleva a cabo midiendo la superficie del alimento mediante un colorímetro espectrofotómetro. El CIE (Comisión Internacional de la Iluminación) desarrolló un sistema basado en una fuente de iluminación estándar y un observador estándar, sobre el que se construyó un sistema tricromático basado en la percepción del ojo humano: rojo, verde y azul, y tres parámetros: L* = luminosidad, a* =de rojo a verde; b* =de amarillo a azul. Además existen dos magnitudes psicofísicas, el tono (h*) y el croma (C*), calculadas a través de fórmulas matemáticas a partir de a* y b*. Con el espacio de color CIELab es posible medir cualquier color (Badui., 2006).

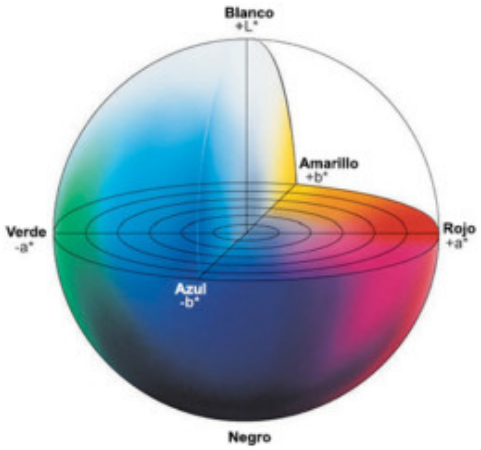

Figura 13. Espacio de color CIELab

El parámetro L* (luminosidad) varía de negro (valor cero) al blanco (valor 100), el a* varía del componente rojo (valores positivos) al verde (valores negativos), el b* del componente amarillo (valores positivos) al azul (valores negativos). El croma (C*) es considerado un atributo cuantitativo del color y se usa para determinar el grado de diferencia de un tono en comparación con un color gris de la misma luminosidad. Cuanto más alto es el valor del croma, mayor es la intensidad de color de la muestra percibida por el ojo humano. Se calcula según la ecuación (1). El ángulo de tono (h*) es un atributo cualitativo del color según el cual los colores se han definido tradicionalmente como rojizos, verdosos, etc. Se utiliza para definir la diferencia de un color con respecto al color gris con la misma luminosidad y se calcula según la ecuación (2). Un ángulo de 0° o 360° representa el tono

rojo, mientras que ángulos de 90°, 180° y 270° representan tonos amarillo, verde y azul, respectivamente (Pathare et al., 2012).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{½} \qquad (1)$$

$$h^* = \arctan (b^*/a^*) \qquad (2)$$

La diferencia de color (ΔE*) es definida como la comparación numérica de una muestra con el estándar. Se refiere a las diferencias en coordenadas absolutas de color. Las Deltas L* (ΔL*), a* (Δa*) y b* (Δb*) pueden ser positivas (+) o negativas (-), mientras que la diferencia total, Delta E (ΔE*), siempre es positiva. Estas se expresan como: ΔL* = diferencia en luz y oscuridad (+= más luminoso, -= más oscuro), Δa* = diferencia en rojo y verde (+ =más rojo, - = más verde), Δb* = diferencia en amarillo y azul (+ =más amarillo, -= más azul). La deferencia total de color (ΔE*) se calcula según la ecuación:

$$\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{½} \qquad (3)$$

Para realizar las mediciones se utilizó el colorímetro Konica Minolta CM-2300d y las condiciones: iluminante D65, observador estándar de 10° y componente especular excluido. La muestra a medir se colocó en una celda de fondo blanco, de dimensiones 28 mm diámetro y 4 mm de altura, llenas hasta el borde de la celda donde se coloca una placa de Petri y se apoya el colorímetro, lo que fija la longitud de trayectoria de la luz a través de la muestra (se toma especial cuidado para que no queden burbujas). Las medidas se realizaron por triplicado (Konica Minolta., s.f).

4.5. Análisis oxidativo

4.5.1. Índice de peróxidos

El índice de peróxidos (PV) es uno de los métodos más usados para medir la rancidez en materia grasa. Se expresa en miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de grasa o aceite. El método consiste en una yodometría basada en la reducción del grupo hidroperóxido (ROOH) con el ion yoduro (I^-). La concentración de peróxido presente es proporcional a la cantidad liberada de yodo (I_2), la cual se determina mediante una titulación con tiosulfato de sodio utilizando almidón como indicador (Kiokias et al., 2009). Como referencia se utiliza la norma AOAC 965.33, indicada en el CODEX STAN 234-1999 para productos a base de grasa de la leche.

4.5.2. Método del ácido tiobarbitúrico (TBA)

Es uno de los ensayos más usados para evaluar la peroxidación lipídica. Consiste en la determinación del malondialdehído (MDA), el cual es considerado un producto importante de oxidación lipídica en alimentos y sistemas biológicos. La reacción del MDA con el reactivo TBA produce un compuesto cromógeno rojo que tiene un máximo de absorción a 532 nm (Kiokias et al., 2009). Se trata de un método usado ampliamente en diferentes matrices, como la carne y los huevos, pero en menor medida en muestras de leche. En la carne y los huevos, uno de los productos de oxidación más importantes de los ácidos grasos insaturados, es el malondialdehído, pero, dado que la leche tiene un perfil de ácidos grasos diferente, los principales productos que se producen en el proceso de oxidación difieren. Se considera que la oxidación de los ácidos grasos monoinsaturados de la leche es responsable de la alta concentración de aldehídos saturados que absorben aproximadamente a 450 nm. Además, uno de los principales productos de oxidación que se forman durante la oxidación de la leche es el hexanal, que se considera el principal producto de peroxidación del ácido linoleico. Durante la oxidación de los ácidos grasos insaturados se forman otros compuestos, como los dienales. Estos absorben aproximadamente a 495 nm y forman un complejo naranja (Oancea et al., 2022).

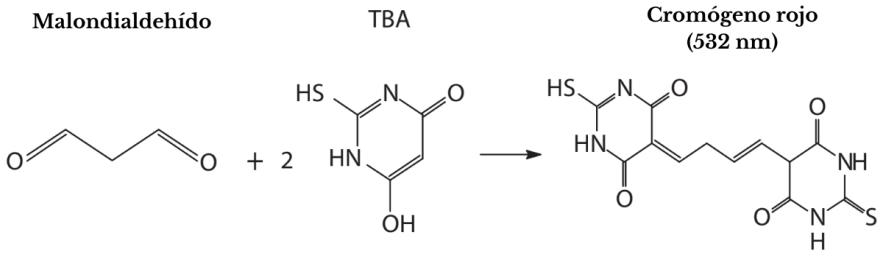

Figura 14. Reacción del MDA con el TBA.
Extraído de Kiokias et al., 2009.

Para la realización de este ensayo, se tomó como referencia el estudio de Oancea et al (2022), donde se encontraron las condiciones óptimas para la determinación de TBARS en muestras de leche fluida.

En dicho estudio se realizó una curva de calibración con patrón de MDA para obtener la concentración del mismo en las muestras de leche. Dado que en el laboratorio no se contaba con este patrón, se tomaron en cuenta los datos obtenidos por Oancea et al (2022) y se calculó la absortividad. Para esto, se consideraron los valores para una concentración de TBA de 0.8%, un tiempo de 90 minutos, la absorbancia obtenida a 523 nm (0.1544) y la concentración de MDA interpolada (144µg/L). Se asumió un espesor de celda de 1cm, y mediante la ley de Lambert-Beer se obtuvo la absortividad ε= 0.00107 L/µg cm. La concentración de MDA obtenida considerando dicha absortividad, se expresó en µg de MDA por gramo de muestra.

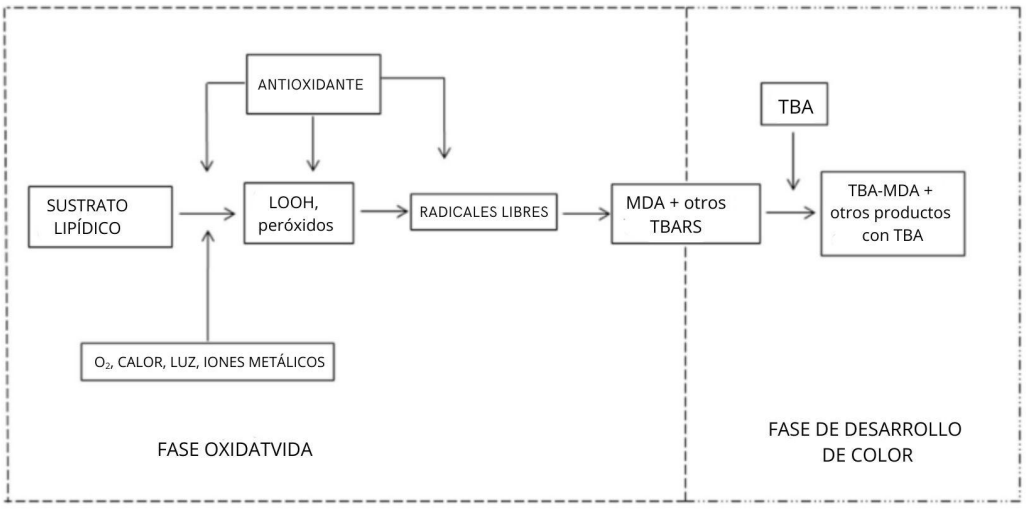

Figura 15. Etapas de la oxidación lipídica y el ensayo de TBA.
Extraído de Ghani et al., 2017.

Para realizar esta determinación en las muestras de dulce de leche, se debe considerar que se trata de una matriz con desarrollo de color y presencia de compuestos que absorben en el rango de interés. Por lo tanto, para evaluar la eficiencia de la técnica en dicha matriz, se preparó un blanco de muestra siguiendo el mismo procedimiento que para la preparación de la muestra, pero reemplazando el reactivo TBA por agua destilada. La absorbancia se midió a las tres longitudes de onda establecidas por el método, para comparar los resultados con y sin blanco y determinar la presencia de posibles interferencias de la matriz.

4.5.3. Dienos y trienos conjugados

Durante la formación de hidroperóxidos a partir de ácidos grasos insaturados, se suelen producir dienos conjugados debido a la reorganización de los dobles enlaces. Estos presentan una intensa absorción a 232 nm; de forma similar, los trienos conjugados absorben a 268 nm (Shahidi & Zhong., 2005). Por lo tanto, el estudio espectrofotométrico UV proporciona información sobre el grado de oxidación de la grasa y, en consecuencia, sobre su calidad. Los coeficientes de extinción K_{232} indican la formación de ácidos grasos poliinsaturados por conjugación de dienos (oxidación primaria), mientras que los coeficientes de extinción K_{268} indican la presencia de productos de oxidación secundaria, incluyendo trienos conjugados y compuestos carbonílicos (Escudero et al., 2016).
La detección ultravioleta de dienos conjugados es sencilla, rápida y solo se necesitan pequeñas cantidades de muestra. Sin embargo, este método presenta menor especificidad y sensibilidad que la medición de PV. Además, el resultado puede verse afectado por la presencia de compuestos que absorben en la misma región, como los carotenoides (Shahidi & Zhong., 2005).

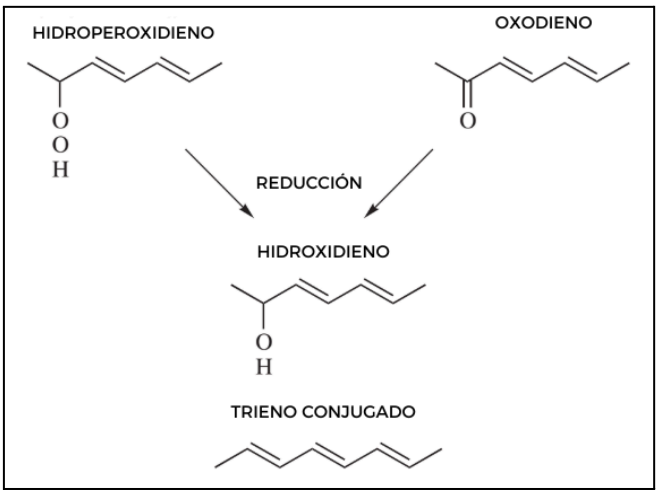

Figura 16. Pasos de la reacción para la formación de productos de oxidación conjugables. Extraído y adaptado de Shahidi y Zhong (2005).

El procedimiento experimental se realizó según Malvis et al (2019). Se disuelven 0.25 g de grasa extraída en 25 mL de ciclohexano y se mide la absorbancia a 232 nm y 270 nm (espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis (Thermo Scientific) y posteriormente se calculan los valores de K_{232} y K_{270} según la ecuación:

$$K_\lambda = \frac{E_\lambda}{c \cdot e}$$

donde K_λ es la extinción específica a la longitud de onda λ, E_λ es la extinción medida a la longitud de onda λ, c es la concentración de la disolución en g por 100 mL y e es el espesor de la cubeta en cm.

4.6. Evaluación sensorial

4.6.1. De las muestras de leche en polvo

Las siete muestras de LP fueron evaluadas sensorialmente para determinar su calidad. Para ello, se siguió la norma ISO 22935-2 | IDF 99-2 e ISO 22935-3 | IDF 99-3, tanto para los atributos de aspecto y color así como para los de olor y sabor. Dicha norma utiliza una escala estructurada de seis puntos, donde 5 es una leche sin

defectos, es decir, de conformidad con las especificaciones pre-establecidas, y 0 es no apto para el consumo humano. Dentro de los defectos de apariencia se encuentran: partículas quemadas, gránulos y grumos. Por otro lado, los defectos de olor y sabor incluyen: oxidado, cartón, quemado, cocido, dulce, sebáceo, y amargo.

En base a los resultados obtenidos en este análisis, fueron seleccionadas para este estudio dos LPs con defecto sensorial oxidado en distinto grado, y una sin defectos como referencia. Una vez caracterizadas se conservaron bajo congelamiento a -18 °C para asegurar su estabilidad y calidad y fueron utilizadas dentro del período de vida útil establecido por el fabricante.

4.6.2. De los dulce de leche elaborados

La evaluación sensorial de los DLs se realizó siguiendo el método de grado de diferencia contra control. Este consiste en calificar cada muestra en función de la intensidad de su diferencia respecto a un control, utilizando una escala donde la referencia se encuentra en el punto medio. Los resultados se interpretan en relación a dicho valor de referencia (Lawless & Heymann., 2010).

Las muestras fueron evaluadas por un panel de cata integrado por 10 jueces sensoriales entrenado en productos lácteos que funciona en la Facultad de Química en una sala acondicionada según la normativa ISO 22935-1 IDF 99-1.

Un panel de 10 jueces entrenados evaluó los dulces de leche elaborados con leches en polvo utilizando una escala de 0 a 10, donde el valor 5 correspondía al estándar de referencia. Los atributos evaluados fueron: intensidad de color, cremosidad, intensidad de sabor, sabor lácteo, dulzor, sabor a caramelo y sabor extraño/picante.

4.7. Presentación de resultados

Todos los análisis se realizaron por triplicado.

4.7.1. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó con el software Infostat versión 2020. Los tratamientos estadísticos de datos se realizaron comparando medias y frecuencias usando el test de Tukey y el análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 5% ($p \leq 0.05$) para las comparaciones entre muestras y grupos.

4.7.2. Incertidumbre

La incertidumbre expandida asociada a cada valor promedio se calculó según:

$$U = k \times \frac{\mathrm{SD}}{\sqrt{n}}$$

donde SD es la desviación estándar entre las tres réplicas, n es el número de mediciones (n=3) y k=2 es el factor de cobertura indicando un nivel de confianza del 95%.
Los resultados se expresaron como media ± incertidumbre.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Evaluación sensorial de leche en polvo

Los resultados obtenidos de la determinación de la calidad de las distintas leches se presentan en la Tabla 3. A partir de los mismos, se seleccionaron las muestras para la elaboración de los DLs. En total, se elaboraron cinco dulces, utilizando las muestras LP 1, LP 2, LP 3, la mezcla de LP4 y LP 5, y la mezcla de LP 6 y LP 7, y se obtuvieron los DL 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente.

Dado que únicamente las muestras LP 1 y LP 2 presentan defectos relacionados a la oxidación, el análisis químico posterior se realizó únicamente a estas muestras (y a la referencia).

La muestra LP 1 obtuvo una calificación alta en aspecto y color, lo que indica una buena calidad visual. Sin embargo, recibió una puntuación notoriamente baja en olor y sabor, lo que evidencia que el defecto oxidado se percibe principalmente en la fase olfativa y gustativa. En contraste, la muestra LP 2 recibió calificaciones inferiores en ambos casos. Esto refleja que el defecto oxidado no es solo perceptible a través del olor y sabor sino también en apariencia, lo cual podría estar asociado a un mayor avance del deterioro oxidativo en esta muestra. Es destacable notar que se trata del calificaciones muy bajas, sin embargo la norma ISO 22935-2 | IDF 99-2 e ISO 22935-3 | IDF 99-3 no las descalifica para consumo humano.

Tabla 3. Evaluación sensorial global de las muestras de leche en polvo

Muestra	Defecto	Calificación: aspecto y color	Calificación: olor y sabor
LP 1	Bajo oxidación	5	2
LP 2	Oxidación	2	1

LP 3	Alta acidez	5	2
LP 4	Grumos, partículas quemadas	5	4,5
LP 5	Grumos, partículas quemadas	3	4
LP 6	Quemado, pintura	5	2
LP 7	Quemado, pintura	5	2

5.2. Composición centesimal y caracterización fisicoquímica

5.2.1. Composición centesimal de leche en polvo

Tabla 4 . Composición centesimal (%) de las leche en polvo utilizadas como materia prima

Muestra	% Proteínas	% Grasa	% Cenizas	% Humedad	% Carbohidratos
LP REF	24.16 ± 0.12	28.91 ± 0.84	5.45 ± 0.14	3.35 ± 0.05	38.12 ± 1.14
LP 1	23.52 ± 0.34	28.26 ± 0.93	5.27 ± 0.05	3.40 ± 0.04	39.56 ± 1.35
LP 2	23.35 ± 0.34	18.92 ± 0.77	5.59 ± 0.05	2.65 ± 0.28	49.18 ± 1.43

En la Tabla 4 se presentan los resultados de la composición centesimal (%) de las muestras de leche en polvo utilizadas. Es importante notar que, el RBN solo establece parámetros reglamentarios para el contenido de grasa y de humedad de LP; y, en ambos casos, las muestras en estudio cumplen con la reglamentación (máximo 3.5 % para humedad y mínimo 26 % de grasa) a excepción de LP 2. Esta presentó un valor notoriamente inferior, lo cual podría deberse a un deterioro oxidativo de los lípidos que afectó la eficiencia del método de extracción como consecuencia de la formación de productos poco solubles en disolventes convencionales (Frankel., 2005). Otras posibles causas podrían ser pérdidas de grasa durante el proceso de elaboración o almacenamiento (Okenková et al., 2010). No obstante, dado que se trata de muestras que fueron seleccionadas por la presencia de defectos sensoriales y no por cumplir con la reglamentación, no resulta sorprendente encontrar variaciones en la composición y valores fuera de especificación.

5.2.3. Parámetros fisicoquímicos para las leche en polvo utilizadas

Si bien el Reglamento Bromatológico Nacional no establece valores normativos para el pH, la actividad de agua o los sólidos solubles (°Brix) en dulce de leche o leche en polvo, estos parámetros se utilizan comúnmente en la práctica industrial para evaluar la estabilidad fisicoquímica, la concentración del producto y su potencial de conservación (Fox & McSweeney, 2013; Walstra et al., 2006). Por lo tanto, su medición resulta útil para caracterizar el estado final del producto y comparar formulaciones.

Tabla 5. Valores de pH y actividad de agua (aw) de las LP utilizadas

Muestra	pH	aw
LP REF	6,71 ± 0.01	0,345 ± 0.009
LP 1	6,71 ± 0.03	0,362 ±0.005
LP 2	6,71 ± 0.01	0,346 ± 0.008

En la Tabla 5 se pueden observar dichos parámetros fisicoquímicos medidos para las LP utilizadas. Los valores de pH obtenidos son consistentes con los reportados para leche en polvo reconstituida, que suelen encontrarse entre 6,6 y 6,8 (Walstra et al., 2006). Por otro lado, los valores obtenidos de actividad de agua se encuentran dentro del rango esperado para leche en polvo entera (Fox & McSweeney, 2013), y por debajo del umbral mínimo para el crecimiento microbiano (aw ≈ 0,6), asegurando una adecuada estabilidad microbiológica.

5.2.4. Parámetros de color para las leche en polvo

Tabla 6. Parámetros de color (L*, a*, b*, C*, h*) de las muestras de LP utilizadas

Muestra	L*	a*	b*	C*	h*
LP REF	93,44 ± 0,34^{b}	–3,05 ± 0,04^{a}	13,07 ± 0,17^{a}	13.44 ± 0.18^{a}	103.47 ± 0.08^{a}
LP 1	89,15 ± 0,02^{a}	–2,57 ± 0,01^{b}	16,37 ± 0,15^{b}	13.90 ± 0.15^{b}	98.92 ± 0.04^{b}
LP 2	93,15 ± 0,23^{b}	–2,84 ± 0,04^{c}	14,87 ± 0,52^{c}	15.13 ± 0.51^{c}	100.60 ± 0.30^{c}

Medias con una letra común en la misma columna no son significativamente diferentes (p > 0,05)

LP REF	LP 1	LP 2

Figura 17. Color de las leche en polvo.

En la Tabla 6 se presentan los parámetros de color medidos para las LP en estudio, con las correspondientes imágenes en la Figura 17. La luminosidad (L*) fue significativamente diferente para la muestra LP 1, lo que indica una apariencia más oscura respecto a las otras dos leches. Este podría ser el resultado de la formación de pigmentos pardos durante la elaboración o el almacenamiento, dados por la reacción de Maillard, generando una muestra más oscura (Morales & van Boekel, 1998). Las coordenadas negativas de a* y las positivas de b*, muestran que las tres LP tienen una tendencia hacia el verde y al amarillo, con predominio de este último debido a los valores mayores de b*. Estos parámetros de color obtenidos se encuentran dentro del rango reportado en bibliografía para leche en polvo de vaca. Milovanovic et al. (2020) recopilan datos de distintos trabajos, en los cuales se emplearon principalmente colorímetros Minolta CR-300/400 o HunterLab, con iluminante D65 y ángulo de observación de 10°. Los valores recopilados fueron 88.6 ± 10.1, 0.2 ± 6.8, 11.8 ± 6.1, para L, a* y b*, respectivamente. Esta comparación permite verificar que las muestras analizadas presentan parámetros de color típicos de leches en polvo comerciales.

Respecto al croma y al ángulo de tono, ambos presentan diferencias entre las muestras. En el caso del C*, este crece desde LP REF hasta LP 2, indicando un leve aumento en la saturación. En cuanto al ángulo de tono, a pesar de haber diferencias, las tres muestras se encuentran dentro del rango de una tonalidad amarilla, acorde a una muestra típica de leche en polvo.

5.2.5. Composición centesimal de los dulce de leche elaborados

Tabla 7. Composición centesimal (%) de los dulce de leche elaborados

Muestra	% Proteínas	% Grasa	% Cenizas	% Humedad	% Carbohidratos
DL REF	5.79 ± 0.34	6.58 ± 0.40	1.48 ± 0.03	31.09 ± 0.28	55.06 ± 1.04
DL 1	5.99 ± 0.06	6.22 ± 0.37	1.42 ± 0.03	30.31 ± 0.08	56.06 ± 0.54
DL 2	5.91 ± 0.10	6.60 ± 0.65	1.44 ± 0.08	30.03 ± 0.25	56.01 ± 1.08

En la Tabla 7 se presentan los resultados obtenidos de la determinación composicional de los DL. El contenido de proteínas cumple, en todos los casos, con el requisito mínimo establecido por el RBN, que exige un contenido no inferior a 5 g/100 g. Estos valores son

consistentes con lo esperado para este tipo de producto y reflejan una adecuada incorporación de la leche en polvo durante la formulación.

El contenido de grasa también se encuentra dentro del intervalo reglamentario (6 a 9 g/100 g según el RBN), mostrando un correcto ajuste de la materia prima grasa en la formulación de los dulces.

Respecto a las cenizas, los valores obtenidos fueron inferiores al máximo permitido (2 g/100 g) lo cual refleja un adecuado contenido de minerales en los productos finales.

En relación a la humedad, los tres dulces presentaron valores levemente superiores al máximo establecido por el RBN (30 g/100 g). Esta ligera diferencia podría deberse a variaciones en el tiempo de concentración o a diferencias en el control del punto final durante el proceso de elaboración.

Finalmente, los valores de carbohidratos calculados por diferencia variaron entre 55.06 % y 56.06 %, sin observarse diferencias relevantes entre las distintas formulaciones.

Estos resultados muestran que, a pesar de utilizar LP defectuosas, los DL elaborados cumplen con la reglamentación vigente.

5.2.6. Parámetros fisicoquímicos de los dulce de leche elaborados

Tabla 8. Valores de pH, actividad de agua (aw) y grados Brix de los DL elaborados

Muestra	pH	aw	°Brix
DL REF	6,33 ± 0.01	0,880 ± 0.001	69,2 ± 0.33
DL 1	6,35 ± 0.01	0,885 ± 0.001	69,8 ± 0.33
DL 2	6,33 ± 0.01	0,872 ± 0.011	69,5 ± 0.58

En la Tabla 8, se presentan los resultados obtenidos para las medidas de actividad de agua, pH y grados Brix de los dulces elaborados. Según González de Mejía & Otero (2003) el dulce de leche presenta un rango de pH típico entre 6,3 y 6,5, lo cual concuerda con los valores obtenidos para las muestras analizadas. Respecto a la actividad de agua, los valores también se encuentran dentro de lo esperado (<0,90) y no comprometen la estabilidad del producto (Moebus et al., 2022). El contenido total de sólidos solubles expresado como grados Brix, presenta valores que indican una correcta concentración y que verifican el punto final deseado del producto (69 ≥ 1°Brix) (Rodríguez et al., 2025).

5.2.7. Parámetros de color para los dulce de leche elaborados

Tabla 9. Parámetros de color (L*, a*, b*, C*, h*) de los DL elaborados

Muestra	L*	a*	b*	C*	h*
DL REF	28.83 ± 0.39[a]	9.76 ± 0.31[a]	20.35 ± 0.83[a]	22.57 ± 0.88[a]	64.36 ± 0.30[a]
DL 1	28.05 ± 0.38[b]	9.75 ± 0.08[a]	20.55 ± 0.18[a]	22.74 ± 0.19[a]	64.62 ± 0.10[a]
DL 2	29.20 ± 0.23[b]	9.72 ± 0.18[a]	21.05 ± 0.21[a]	23.19 ± 0.27[a]	65.22 ± 0.19[b]

Medias con una letra común en la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

La Tabla 9 muestra los parámetros de color obtenidos para los DLs. Se observa que, en general, no hay grandes diferencias entre las muestras. La luminosidad fue mayor para el DL 2 mostrando una tonalidad levemente más clara. Las coordenadas a* y b*, con valores positivos, muestran una tendencia hacia el rojo y el amarillo, con predominancia del amarillo debido a los mayores valores de b*. Esto se refleja en los valores del ángulo de tono, que corresponden a una tonalidad anaranjada-amarillenta, típica del dulce de leche.

Castañeda et al., (2004) caracterizaron distintos DL comerciales argentinos y reportaron los siguientes rangos de color: L* (24,8–42,2), a* (14,7–17,8), b* (26,0–33,5), C* (30,2–37,6) y h* (58,5–64,2). En comparación con los DL elaborados en el presente trabajo, de todos los parámetros únicamente la luminosidad y el ángulo de tono se encuentran dentro de los valores esperables. Los demás (a*, b* y C*) resultaron levemente inferiores, indicando una coloración menos intensa y una saturación más baja respecto a un DL típico. No obstante, si se comparan las muestras de este trabajo entre sí, los parámetros de color no presentan gran variabilidad, lo que indica un correcto manejo de tiempo de concentración y punto final de elaboración. Además, el color uniforme de las muestras constituye un aspecto fundamental para la evaluación sensorial, dado que las variaciones en este parámetro influyen en la percepción visual y en consecuencia, podrían facilitar la identificación visual de cada muestra (Lawless & Heymann., 2010).

5.3. Análisis del deterioro oxidativo

Dado que el RBN no provee parámetros de oxidación para los alimentos del presente estudio, para analizar el grado de oxidación lipídica de los DLs y las LPs, se compararon los resultados obtenidos frente a la Norma CXS 280-1973 del Codex Alimentarius (1973) y en base a cuatro estudios donde analizan distintos tipos de productos lácteos: queso Cheddar (Batool et al., 2018), grasa de manteca clarificada o “smen” (Samet-Bali et al., 2017), mozzarella de búfalo (Rinaldi et al., 2021) y leche en polvo (Celestino et al., 1997). Esta comparación permite valorar los niveles de oxidación primaria y secundaria en relación a productos con distinta composición grasa, tratamiento térmico y grado de procesamiento.

5.3.1. Leche en polvo

Tabla 10. Parámetros de oxidación analizados para las muestras de leche en polvo

	Oxidación primaria		Oxidación secundaria			
Producto	**Índice de peróxidos (milieq O_2/kg de grasa)**	**K_{232}**	**$A_{450\ nm}$**	**$A_{495\ nm}$**	**[MDA] (µg/g de muestra)**	**K_{270}**
LP REF	1.67 ± 0.81^{a}	5.52 ± 0.34^{a}	0.20 ± 0.01^{a}	0.11 ± 0.01^{a}	0.31 ± 0.01^{a}	0.48 ± 0.04^{a}
LP 1	1.31 ± 0.04^{a}	9.71 ± 0.99^{b}	0.23 ± 0.01^{b}	0.14 ± 0.01^{b}	0.46 ± 0.01^{b}	0.74 ± 0.04^{b}
LP 2	10.62 ± 0.90^{b}	11.93 ± 0.91^{c}	0.23 ± 0.01^{b}	0.14 ± 0.01^{b}	0.53 ± 0.01^{c}	0.60 ± 0.06^{c}

Medias con una letra común en la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En la Tabla 10 se presentan los resultados obtenidos para los análisis del deterioro oxidativo realizado a las muestras de leche en polvo.

El PV en la LP 2 fue significativamente más elevado que las LP REF y LP 1. Si se compara con los valores establecidos en la norma CXS 280-1973 del Codex Alimentarius (1973), la grasa de leche debe cumplir con un índice de peróxidos de hasta 0.6 miliequivalentes de oxígeno/kg de grasa, valor que se ve superado en todas las muestras. Sin embargo, cuando se compara con otros productos lácteos, el estudio de Batool et al., (2018) sobre oxidación en queso Cheddar, obtuvo un valor de PV de 1.16 miliequivalentes de oxígeno/kg de grasa a las seis semanas de maduración, que representa una etapa intermedia de oxidación en un producto lácteo sin antioxidantes. Un valor similar obtuvo Celestino et al., (1997) a las seis semanas de almacenamiento refrigerado de leche en polvo, con un PV de 1.51 miliequivalentes de oxígeno/kg de grasa. En comparación a los resultados de PV obtenidos para las LPs del presente estudio, estos resultados son comparables con las dos primeras, LP REF y LP 1, y podrían indicar que se encuentran en una etapa inicial de oxidación; mientras que, LP 2 supera ampliamente dicha referencia. Esta variación sugiere que LP 2 se encuentra en una etapa de oxidación primaria bastante más avanzada. La misma tendencia se observó al determinar el coeficiente de extinción K_{232}, mostrando un avance progresivo de la fase primaria de oxidación, desde LP REF alcanzando el máximo en LP 2.

Para la evaluación de la oxidación secundaria, la determinación de MDA mediante la técnica de TBARS es uno de los ensayos más comunes. En productos análogos a la leche en polvo, como las fórmulas infantiles, su cuantificación ha demostrado ser útil no sólo para establecer el grado de deterioro oxidativo, sino también para estimar la pérdida del valor nutricional (Martysiak-Żurowska & Stołyhwo, 2007). En las muestras en estudio, el contenido de MDA mostró un aumento significativo desde LP REF a LP2, lo que refleja un deterioro progresivo del contenido lipídico. Oancea et al (2022) sugiere no sólo la determinación de MDA como producto principal de la fase de oxidación secundaria, sino también la medición de absorbancia a 450 nm y 495 nm. Estas longitudes de onda están asociadas a la presencia de aldehídos saturados y dienales derivados de la oxidación de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), que constituyen la mayor parte de los lípidos en la leche. A diferencia de matrices como carne o huevo, donde el malondialdehído es el principal

marcador de oxidación, en leche el complejo MDA–TBA (532 nm) presenta una absorbancia relativamente baja, en concordancia con la menor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en su perfil lipídico. En las muestras de leche en polvo, se observaron incrementos significativos en las absorbancias a 450 nm y 495 nm en LP 1 y LP 2 respecto a LP REF. Esto indica que las muestras LP 1 y LP 2 presentan una mayor proporción de productos de oxidación secundaria derivados de AGMIs, tal como ha sido descrito para matrices lácteas bajo almacenamiento prolongado o condiciones inadecuadas (Oancea et al., 2022; Okénková et al., 2010). Rinaldi et al., (2021) en su estudio sobre estabilidad oxidativa en mozzarella de búfalo, determinó un valor de MDA de 4.82 µg/g de muestra (0.67 nmol/g). A pesar de que los autores destacan que es un valor más bajo del observado en otros productos lácteos, es bastante más alto al obtenido en las muestras de LP.

El coeficiente de extinción K_{270} mostró el valor más bajo para LP REF, coherente con su bajo contenido de peróxidos, MDA y compuestos absorbentes a 450/495 nm. En cambio, LP 1 mostró el valor más alto, indicando una mayor acumulación de productos de oxidación secundaria, a pesar de tener un índice de peróxidos más bajo que LP 2. Esto puede deberse a la degradación parcial de hidroperóxidos en LP 1, con una conversión más eficiente hacia compuestos estables detectados a 270 nm (Badui, 2006; Kiokias et al., 2009)

La muestra LP 2, con el mayor índice de peróxidos y los mayores valores de K_{232} y MDA, presentó un valor de K_{270} intermedio, pero igualmente superior al de la muestra de referencia, indicando una oxidación más avanzada. Diferencias en este parámetro resaltan que la oxidación lipídica no progresa de manera lineal, y que distintos perfiles de ácidos grasos o condiciones de almacenamiento pueden favorecer la formación diferencial de productos secundarios (Martysiak-Żurowska & Stołyhwo, 2007). En el estudio de Samet-Bali et al., (2017) sobre manteca clarificada (“smen”), se obtuvo un valor de K_{270} de 1.36 para el smen elaborado con leche pasteurizada, considerablemente más alto que los valores obtenidos para las muestras de LP. En dichas muestras, los resultados obtenidos para este parámetro fueron bajos y cercanos a cero, lo que sugiere una escasa acumulación de productos de oxidación avanzados.

5.3.2. Dulce de leche

5.3.2.1. Evaluación de la técnica de TBA para el DL

Para evaluar el ensayo de TBA en las muestras de dulce de leche, se expresaron los resultados obtenidos corregidos por el blanco de muestra y sin corregir, con el objetivo de evaluar el impacto de dicha corrección en la cuantificación de productos de oxidación secundaria. La comparación entre ambos valores se presenta en la Tabla 11. Para el análisis estadístico se utilizó el ANOVA seguido del test de comparación de medias de Fisher (LSD), con un nivel de significancia del 5 %.

Se observaron diferencias significativas entre los valores corregidos y no corregidos para todas las muestras, lo que evidencia la influencia de la matriz en estudio en la absorbancia medida y resalta la necesidad de considerar la corrección por blanco en este tipo

de determinaciones espectrofotométricas. Por lo tanto, los resultados finales se expresan considerando la corrección por blanco de muestra.

Tabla 11. Efecto de la corrección por blanco de muestra sobre los valores del ensayo de TBA en dulce de leche.

Producto	$A_{450\ nm}$ sin corregir	$A_{450\ nm}$ corregido	$A_{495\ nm}$ sin corregir	$A_{495\ nm}$ corregido	[MDA] µg/g de muestra sin corregir	[MDA] µg/g de muestra corregido
DL REF	0.644[a]	0.562[b]	0.567[a]	0.507[b]	1.613[a]	1.378[b]
DL 1	0.735[a]	0.698[b]	0.672[a]	0.650[b]	2.259[a]	2.177[b]
DL 2	0.747[a]	0.687[b]	0.685[a]	0.644[b]	2.554[a]	2.394[b]

Para cada parámetro dentro del mismo dulce, medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

5.3.2.2. Deterioro oxidativo en el dulce de leche

Tabla 12. Parámetros de oxidación analizados para las muestras de dulce de leche

	Oxidación primaria		Oxidación secundaria			
Producto	**Índice de peróxidos (milieq O_2/kg de grasa)**	**K_{232}**	**$A_{450\ nm}$**	**$A_{495\ nm}$**	**[MDA] µg/g de muestra**	**K_{270}**
DL REF	0.65 ± 0.01[a]	7.30 ± 0.57[a]	0.56 ± 0.00[a]	0.51 ± 0.00[a]	1.38 ± 0.02[a]	0.30 ± 0.03[a]
DL 1	0.66± 0.01[a]	11.72 ± 0.91[b]	0.70 ± 0.00[b]	0.65 ± 0.00[b]	2.18 ± 0.03[b]	0.67 ± 0.08[b]
DL 2	1.07 ± 0.41[a]	13.76 ± 1.00[c]	0.69 ± 0.01[b]	0.64 ± 0.01[b]	2.39 ± 0.02 [c]	0.61 ± 0.05 [b]

Medias con una letra común en la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En la Tabla 12 se presentan los resultados obtenidos para los análisis de oxidación en los DL elaborados. El índice de peróxidos no mostró diferencias significativas entre las muestras ($p > 0,05$), sin embargo, considerando la Norma CXS 280-1973 del Codex Alimentarius (1973), los DL REF y DL 1, se encuentran levemente por encima del límite permitido (0.6 miliequivalentes de oxígeno/kg de grasa) mientras que el DL 2 lo supera.

Como se mencionó para los resultados de las LPs, los estudios de Batool et al., (2018) y Celestino et al., (1997) obtuvieron valores de PV de 1.16 y 1.51 respectivamente, los cuales son superiores a los PV obtenidos para los DL en estudio. En base a esto podría considerarse que los hidroperóxidos pudieron descomponerse frente al tratamiento térmico de la

elaboración del DL y en consecuencia se obtienen valores bajos de PV cuando en realidad la oxidación podría estar levemente más avanzada (Badui., 2006).

Los productos de la reacción de Maillard presentan absorción en el espectro UV-Vis y podrían estar contribuyendo en las mediciones espectrofotométricas. Sin embargo, dado que los dulces fueron elaborados en condiciones idénticas y presentan colores muy similares, se puede asumir un igual desarrollo de la RM entre los DL y por tanto un aporte similar de estos productos a las absorbancias consideradas en los métodos utilizados.

Comparativamente entre los DL, los valores de K232, relacionados con dienos conjugados, mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$), con un aumento desde 7,30 en DL REF hasta 13,76 en DL 2. Esto sugiere una mayor presencia de productos de oxidación primaria intermedios, no volátiles, que pueden permanecer en la matriz incluso luego del tratamiento térmico.

En cambio, los valores de K_{232}, relacionados con dienos conjugados, mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$), con un aumento desde 7,30 en DL REF hasta 13,76 en DL 2. Esto sugiere una mayor presencia de productos de oxidación primaria intermedios, no volátiles, que pueden permanecer en la matriz incluso luego del tratamiento térmico, a diferencia de los hidroperóxidos.

Respecto a los resultados de K_{270}, la muestra DL REF presentó el menor valor, lo cual se alinea con sus bajos niveles en los otros parámetros de oxidación medidos. Por el contrario, DL 1 y DL 2 mostraron valores significativamente mayores, lo que indica un mayor grado de deterioro oxidativo, posiblemente asociado a la calidad de las materias primas utilizadas para su elaboración. Si bien DL 2 presentó el valor más alto de K_{232} su valor de K_{270} fue levemente menor que el de DL 1 (aunque sin diferencias estadísticas entre ellas), lo que reafirma que la formación de productos de oxidación secundaria no se produce de manera lineal ni proporcional respecto a los compuestos primarios.

En el estudio sobre oxidación de manteca clarificada, Samet-Bali et al., (2017) obtuvieron un valor de K_{270} de 1.36, siendo aproximadamente el doble de los valores obtenidos para los DL. Esto es destacable dado que es un producto de alto consumo.

Los valores de absorbancia a 450 nm y 495 nm, relacionados con aldehídos saturados y complejos dienal–TBA derivados de AGMIs, fueron mayores en DL 1 y DL 2 y significativamente diferentes a DL REF, indicando un mayor avance del deterioro oxidativo en los dos primeros. El contenido de MDA equivalente también fue significativamente más alto en DL 1 y DL 2 que en DL REF. Aunque el MDA no es el principal producto de oxidación en leche (Oancea et al., 2022) se considera un marcador válido de deterioro lipídico (Martysiak-Żurowska & Stołyhwo, 2007). El estudio de Rinaldi et al., (2021) en mozzarella de búfalo obtuvo un valor de MDA de 4.82 µg/g de muestra, aproximadamente el doble de los valores obtenidos para los DL en estudio, lo cual podría estar indicando un estado inicial de oxidación secundaria en las muestras de DL.

5.3.2.3. Comparación global de los resultados de deterioro oxidativo

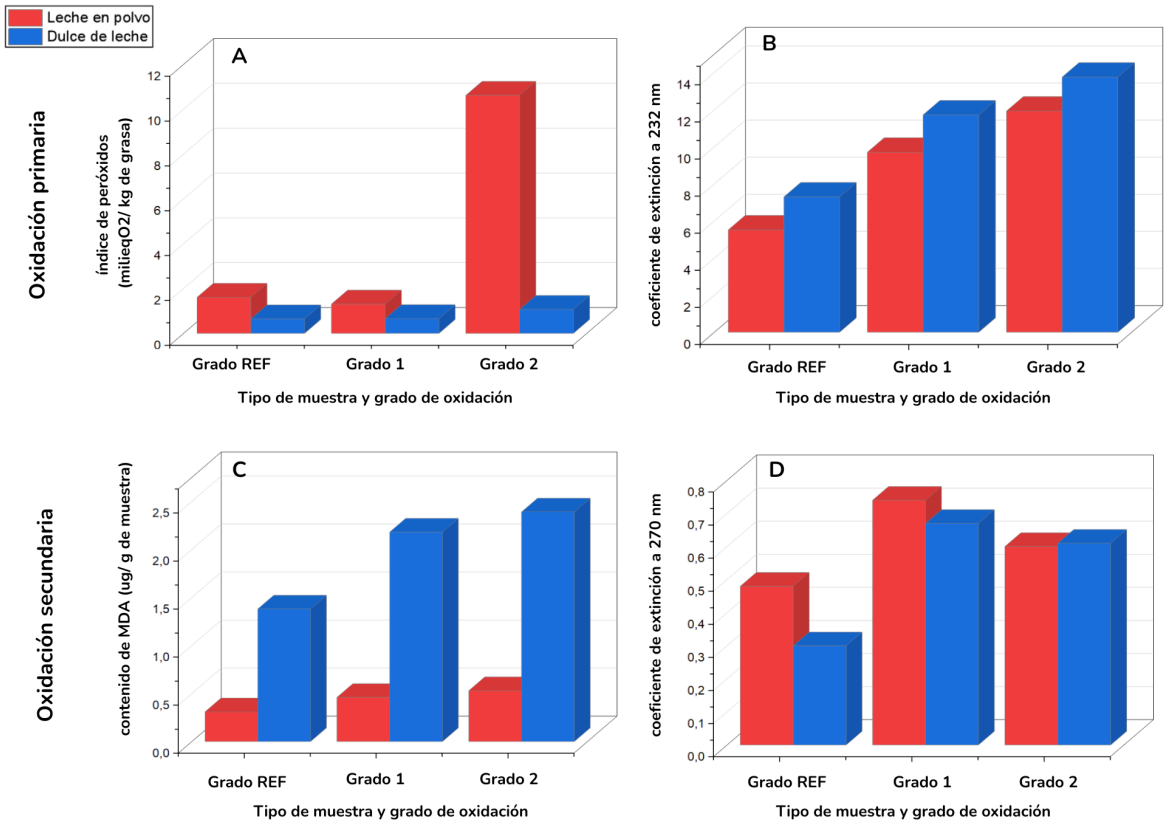

Figura 18. Parámetros de oxidación medidos según muestras y grados de oxidación. Gráfico A. índice de peróxidos vs grado de oxidación y muestra; Gráfico B. K_{232} vs grado de oxidación y tipo de muestra; Gráfico C. Contenido de MDA vs grado de oxidación y tipo de muestra; Gráfico D. K_{270} vs grado de oxidación y tipo de muestra.

Si se asume que los compuestos de oxidación presentes en la leche en polvo no reaccionan durante la elaboración del dulce de leche, considerando que la LP constituye el 25% de la formulación, y que en el proceso de elaboración la concentración es de un 50%, los valores esperados de oxidación en el DL deberían ser aproximadamente la mitad de los obtenidos en las LP, únicamente por el efecto de la "dilución". Sin embargo, se puede observar en la Figura 18 que esta tendencia no se cumple. En la mayoría de los casos, los parámetros de oxidación medidos en los DLs (azul) son mayores que los obtenidos para las LPs (rojo), lo que sugiere un avance de la oxidación o una transformación de los compuestos oxidados.

En el caso del PV (gráfico A), este puede verse disminuido dado que los hidroperóxidos formados en la etapa inicial de la oxidación son altamente inestables y se descomponen fácilmente bajo el efecto del calor, generando productos de oxidación secundaria como aldehídos, cetonas y alcoholes (Badui, 2006), lo que explicaría su disminución luego de la elaboración del DL.

En cuanto a los otros parámetros, en general son mayores para los DLs que para las LPs y esto podría explicarse, en parte, a la intensificación de la oxidación lipídica durante el

tratamiento térmico. En el dulce de leche esto se puede traducir como un aumento de los parámetros que se miden mediante espectrofotometría (coeficientes de extinción y contenido de MDA) como se observa en la figura 18. Por otro lado, los productos lipídicos oxidados provenientes de la leche en polvo pudieron participar en reacciones de pardeamiento no enzimático. Según Hidalgo y Zamora (2000), los productos derivados de la oxidación lipídica pueden interaccionar con aminoácidos y proteínas, contribuyendo al pardeamiento no enzimático y produciendo nuevos cromóforos.

5.4. Evaluación sensorial de los DL

En la Tabla 13 se presentan los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de todos los DL elaborados, frente a DL REF. En esta evaluación se utilizó una escala de 0 a 10, donde el valor 5 corresponde a DL REF para los atributos positivos (intensidad de color, cremosidad, dulzor, etc.), mientras que el valor 0 representa la ausencia total de defecto en el caso del atributo "sabor extraño/picante". Esto permitió comparar directamente el perfil de cada muestra con el dulce de leche de referencia, DL REF.

Como ya se mencionó anteriormente, a pesar de que se presentan los resultados de todos los DL que fueron elaborados, la discusión se hará sobre los DL de interés para este trabajo, DL 1 y DL 2.

Tabla 13. Evaluación sensorial de los dulce de leche elaborados

Atributo	DL 1	DL 2	DL 3	DL 4	DL 5	DL REF
Intensidad de color	5.66 ± 1.05^{b}	5.42 ± 0.65^{b}	4.88 ± 0.50^{a}	3.87 ± 0.91^{a}	5.22 ± 0.95^{b}	5
Consistencia/ espesor	5.78 ± 1.14^{a}	6.25 ± 1.01^{a}	5.81 ± 0.96^{a}	6.23 ± 1.07^{a}	4.19 ± 1.07^{b}	5
Cremosidad	6.18 ± 1.09^{a}	6.08 ± 1.66^{a}	5.31 ± 0.65^{a}	5.62 ± 0.94^{a}	4.81 ± 1.44^{a}	5
Intensidad de sabor	4.89 ± 1.35^{a}	4.82 ± 0.87^{a}	5.04 ± 0.58^{a}	5.21 ± 1.03^{a}	4.48 ± 1.19^{a}	5
Sabor lácteo	5.27 ± 0.45^{a}	5.13 ± 0.64^{a}	5.34 ± 0.74^{a}	4.75 ± 0.93^{a}	5.24 ± 0.70^{a}	5
Dulzor	$5.01 \pm 1.26^{a,b}$	5.51 ± 1.15^{b}	$4.84 \pm 1.09^{a,b}$	$4.84 \pm 0.92^{a,b}$	4.04 ± 0.94^{a}	5
Sabor a caramelo	5.57 ± 0.85^{a}	5.63 ± 1.61^{a}	5.21 ± 0.88^{a}	4.45 ± 0.99^{a}	5.37 ± 0.97^{a}	5

Sabor extraño/picante	$0.51 \pm 0.65^{a,b}$	1.23 ± 1.13^{b}	0.03 ± 0.07^{a}	0.12 ± 0.37^{a}	0.07 ± 0.11^{a}	0

Medias con una letra común en la misma fila no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Para las muestras del presente estudio, DL 1 y DL 2, era esperable que sus perfiles sensoriales se vieran negativamente afectados, ya que fueron elaboradas con leches en polvo que presentaban defectos sensoriales atribuibles a la oxidación. Sin embargo, ambas muestras mostraron comportamientos sensoriales interesantes, con resultados similares a los del estándar en varios atributos y diferencias positivas frente a otras muestras.

En intensidad de color, DL 1 y DL 2 presentaron valores muy cercanos al estándar, siendo las más parecidas (junto con DL 5) entre todas las evaluadas. Esto concuerda con el color medido instrumentalmente, lo que refuerza la consistencia de los datos y su relevancia para este análisis.

Respecto al sabor lácteo y al sabor a caramelo, las muestras presentaron valores similares al de referencia, sin diferencias significativas entre ellas. Ambos atributos, junto al dulzor, son considerados discriminatorios en el análisis sensorial del dulce de leche, tal como reporta Ramos et al. (2022). Esto, además del color, es un indicador de estandaridad en las elaboraciones y del grado de avance de la RM.

La consistencia y cremosidad presentó variabilidad entre las muestras, siendo levemente mayor al estándar de referencia para los dulces en estudio. Gaze et al. (2015) reportan que estos parámetros suelen tener gran variabilidad en los DLs comerciales, por lo que no resulta sorprendente la variación obtenida.

El atributo sabor extraño/picante, mostró una diferencia estadísticamente significativa entre DL 1 y DL 2, siendo ambas superiores al nivel de referencia (0), lo que es considerado un atributo negativo para este producto (Ramos et al., 2022). Si bien esto indica la presencia de defectos sensoriales leves, es importante señalar que los valores absolutos se mantienen en el extremo inferior de la escala (máximo 10), lo que sugiere que la intensidad percibida de estos sabores atípicos fue baja en ambas muestras. Por lo tanto, aunque la oxidación de la leche en polvo parece haber generado cierta percepción de notas no deseadas, el impacto sensorial puede considerarse moderado y tolerable en términos de aceptación del producto.

6. CONCLUSIONES

Se logró seleccionar y utilizar dos leches en polvo con defecto sensorial oxidado con muy baja calificación como insumo en la elaboración del DL de forma satisfactoria.

Los métodos analíticos permitieron cuantificar químicamente la oxidación lipídica percibida como defecto sensorial oxidado en la materia prima.

Los parámetros de oxidación de los DLs elaborados mostraron, en general, la misma tendencia que las LPs con las que estos se elaboraron. Los valores obtenidos tanto de oxidación primaria como de secundaria, fueron en algunos casos menores a los que presentan otros productos lácteos de alto consumo.

Los DL elaborados con la formulación propuesta, cumplieron con la reglamentación establecida y sensorialmente presentaron, como único defecto, un leve sabor extraño/picante pero en muy baja intensidad.

Por lo tanto, las LP con defecto sensorial oxidado, desde el punto de vista sensorial, tendrían potencial para ser utilizadas en la elaboración de DL a nivel industrial, contribuyendo a la economía circular y sostenibilidad. Desde el punto de vista de la oxidación lipídica queda sujeto a reglamentaciones que puedan surgir.

7. BIBLIOGRAFÍA

AOAC. *AOAC Official Method 930.30. Ash of Dried Milk.* AOAC International, 2018.

AOAC. *AOAC Official Method 965.33. Peroxide Value.* 1.ª ed. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2018.

BADUI, S. *Química de los alimentos.* 4.ª ed. México: Pearson Educación, 2006.

BATOOL, M., NADEEM, M., IMRAN, M., GULZAR, N., SHAHID, M., SHAHBAZ, M., AJMAL, M., & KHAN, I. Impact of vitamin E and selenium on antioxidant capacity and lipid oxidation of cheddar cheese in accelerated ripening. *Lipids in Health and Disease*, vol. 17, 2018, art. 79.

BELITZ, H.-D., & GROSCH, W. *Food Chemistry.* 2.ª ed. Berlín: Springer-Verlag, 1999. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1987 y 1999. Capítulo 10: Milk and Dairy Products, pp. 470-512.

CASTAÑEDA, R., MUSET, G., CASTELLS, L., ARANIBAR, G., MURPHY, M., & RODRÍGUEZ, G. *Dulce de Leche Argentino variedad tradicional – Su Caracterización.* Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), Argentina, 2012.

CELESTINO, E., IYER, M., & ROGINSKI, H. The effects of refrigerated storage of raw milk on the quality of whole milk powder stored for different periods. *Journal of Dairy Research*, vol. 64, núm. 2, 1997, pp. 241–249. ISSN 0022-0299. https://doi.org/10.1017/S0022029996002192.

CELESTINO, J., SAD, M., SILVA, M., CUNHA, C., STEPHANI, R., & PERRONE, Í. Effect of sucrose content added to milk on the composition, yield, viscosity, color, and Maillard reaction chemical markers of dulce de leche. *European Food Research and Technology*, vol. 250, 2024, pp. 1529–1536. https://doi.org/10.1007/s00217-024-04481-4.

CODEX ALIMENTARIUS. Métodos de análisis y de muestreo recomendados. CODEX STAN 234-1999, Primera parte. Roma: FAO/OMS, 1999.

CODEX ALIMENTARIUS. Norma para los productos a base de grasa de la leche (CXS 280-1973). Roma: FAO/OMS, 1973. Revisada en 1999. Enmendada en 2006, 2010, 2018 y 2022.

CLARKE, H., MCCARTHY, W., O'SULLIVAN, M., PERRY, J., & KILCAWLEY, K. Oxidative quality of dairy powders: Influencing factors and analysis. *Foods*, vol. 10, 2021, art. 2315. https://doi.org/10.3390/foods10102315.

DAMODARAN, S., & PARKIN, K. L. (Eds.). *Fennema Food Chemistry.* 5.ª ed. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2017.

DE CASTRO LEITE JÚNIOR, BR; OLIVEIRA, M. M; FERNANDES, M; SEHN, G; CARVALHO, G.; BARONE, B; CHERPINSKI CORREA, A; BOLINI, H. Sensory characterization of commercial dulce de leche with consumers and trained assessors. *Advance Journal of Food Science and Technology*, vol. 14, n.º 1, 2018, pp. 6–14.

ESCUDERO, A., RAMOS, N., LA RUBIA, M. D., & PACHECO, R. Influence of extreme storage conditions on extra virgin olive oil parameters: Traceability study. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016. https://doi.org/10.1155/2016/7506807.

FRANKEL, E. N. *Lipid oxidation.* 2.ª ed. Bridgwater: The Oily Press, 2005. ISBN 978-0-85709-792-7.

FOX, P. F., & MCSWEENEY, P. L. H. (Eds.). *Advanced Dairy Chemistry Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents.* 4.ª ed. Nueva York: Springer, 2013.

GARCÍA-MARTÍNEZ, M. C., & MÁRQUEZ-RUIZ, G. Lipid oxidation in functional dairy products. *Current Nutrition & Food Science*, vol. 5, 2009, pp. 209–216. https://doi.org/10.2174/157340109789315474.

GAZE, L.V.; COSTA, M.P.; MONTEIRO, M.L.G.; LAVORATO, J.A.A.; CONTE JÚNIOR, C.A.; RAICES, R.S.L.; CRUZ, A.G.; FREITAS, M.Q. Dulce de Leche, a typical product of Latin America: Characterisation by physicochemical, optical and instrumental methods. *Food Chemistry*, 2015, vol. 169, pp. 471–477.

GAZE, L. V.; OLIVEIRA, B. R.; FERRÃO, L. L.; GRANATO, D.; CAVALCANTI, R. N.; CONTE JÚNIOR, C. A.; CRUZ, A. G.; FREITAS, M. Q. Preference mapping of dulce de leche commercialized in Brazilian markets. *Journal of Dairy Science*, vol. 98, 2015, pp. 1443–1454.

GHANI, M A; BARRIL, C; BEDGOOD Jr., D R.; PRENZLER, P D. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Food Chemistry*, 2017, vol. 230, pp. 195–204.

GONZÁLEZ DE MEJÍA, E., & OTERO, M. C. *Dulce de leche: Tecnología, química y microbiología.* Buenos Aires: INTA Ediciones, 2003.

HIDALGO, F. J., & ZAMORA, R. The role of lipids in nonenzymatic browning. *Food Chemistry*, vol. 213, 2000, pp. 234–243.

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN (CIAL), INSTITUTO MIXTO CSIC-UAM. Programa del curso de análisis sensorial de

alimentos, 4-7 octubre 2011. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), 2011. Disponible en: https://digital.csic.es/handle/10261/63961. Consulta: 31 enero de 2025.

ISO/IDF. *Sweetened condensed milk — Determination of total solids content (Reference method)* (ISO 6734 | IDF 15). 2.ª ed. Suiza: International Organization for Standardization / International Dairy Federation, 2010.

ISO/IDF. *Milk and milk products — Extraction methods for lipids and liposoluble compounds (ISO 14156 | IDF 172)*. 1.ª ed. Suiza: International Organization for Standardization / International Dairy Federation, 2001.

ISO/IDF. *Milk and milk products — Sensory analysis — Part 1: General guidance for the recruitment, selection, training and monitoring of assessors (ISO 22935-1 | IDF 99-1)*. 2.ª ed. Suiza: International Organization for Standardization / International Dairy Federation, 2009.

ISO/IDF. *Milk and milk products — Sensory analysis — Part 2: Methods for sensory evaluation* (ISO 22935-2 | IDF 99-2). 2.ª ed. Suiza: International Organization for Standardization / International Dairy Federation, 2023.

ISO/IDF. *Milk and milk products — Sensory analysis — Part 3: Method for evaluation of compliance with product specifications for sensory properties by scoring* (ISO 22935-3 | IDF 99-3). 2.ª ed. Suiza: International Organization for Standardization / International Dairy Federation, 2023.

KERLER, J., WINKEL, C., DAVIDEK, T., & BLANK, I. Basic chemistry and process conditions for reaction flavours with particular focus on Maillard-type reactions. En: TAYLOR, A. J., & LINFORTH, R. S. T. (Eds.), *Chemical and functional properties of food components*, pp. 51-88, 2010. https://doi.org/10.1002/9781444317770.ch3.

KIOKIAS, S., ARVANITOYANNIS, I., VARZAKAS, T., & LABROPOULOS, A. Lipid oxidation and control of oxidation. En: YILDIZ, F. (Ed.), *Advances in food biochemistry*, pp. 383-409. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2009.

KONICA MINOLTA. Entendiendo el espacio de color CIE Lab. Disponible en: https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/. Consulta: 17 enero 2025.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. 2.ª ed. New York: Springer, 2010. ISBN 978-1-4419-6487-8. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5

MARTYSIAK-ŻUROWSKA, D., & STOŁYHWO, A. Content of malondialdehyde (MDA) in infant formulae and follow-on formulae. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 57, núm. 4B, 2007, pp. 445–449.

MALVIS ROMERO, A., ŠIMON, P., DUBAJ, T., SLÁDKOVÁ, A., HÁZ, A., JABLONSKÝ, M., SEKRETÁR, S., SCHMIDT, Š., KREPS, F., BURČOVÁ, Z., HODAIFA, G., & ŠURINA, I. Determination of the thermal oxidation stability and the kinetic parameters of commercial extra virgin olive oils from different varieties. *Journal of Chemistry*, vol. 2019, 2019, pp. 1–8. https://doi.org/10.1155/2019/4567973.

MILOVANOVIC, B; DJEKIC, I; MIOCINOVIC, J; DJORDJEVIC, V; LORENZO, J. M.; BARBA, F. J.; MÖRLEIN, Daniel; TOMASEVIC, I. What Is the Color of Milk and Dairy Products and How Is It Measured? *Foods*, 2020, vol. 9, n.º 11, art. 1629. https://doi.org/10.3390/foods9111629

MOEBUS, V. F., PINTO, L. A., KÖPTCKE, F. B. N., & KELLER, L. A. M. Elaboration and characterization of dulce de leche with reduced sugar content. *Foods*, vol. 11, núm. 3, 2022, art. 416.

MORALES, F. J.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. A study on advanced Maillard reaction in heated casein/sugar solutions: Colour formation. Food Chemistry, 1999, vol. 65, n.º 3, pp. 325–332. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00204-0

NURSTEN, H. E. *The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry and Implications.* Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2005. ISBN 978-0-85404-964-3.

NURSTEN, H. E. Maillard Reaction. En: ELSEVIER (ed.), *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering.* Amsterdam: Elsevier, 2011.

OANCEA, A., UNTEA, A., DRAGOMIR, C., & RADU, G. Determination of optimum TBARS conditions for evaluation of cow and sheep milk oxidative stability. *Applied Sciences*, vol. 12, 2022, art. 6508. https://doi.org/10.3390/app12136508.

OKÉNKOVÁ, E., KREJCI, J., HRABE, J., & VICHA, R. Oxidative changes of milk fat in dry milk stored under various conditions. *Ecological Chemistry and Engineering*, vol. 17, núm. 1, 2010.

OLIVAS-GASTÉLUM, R., NEVÁREZ-MOORILLÓN, G. V., & GASTÉLUM-FRANCO, M. G. Las pruebas de diferencia en el análisis sensorial de los alimentos. *TecnoCiencia Chihuahua*, vol. 3, núm. 1, 2009, pp. 1–7.

PANIZZOLO MARTÍNEZ, L., RODRIGUEZ BLANCO, A., & ROZYCKI, S. Efectos de la reacción de Maillard y caramelización sobre el color. Influencia en el proceso de elaboración de dulce de leche. En: *Ciencia de la leche y sistemas lácteos concentrados*. Santa Fe: Ediciones UNL, 2016, pp. 165–198.

PANREAC QUÍMICA S.A. *Métodos analíticos en alimentaria: Leche y productos lácteos.* Barcelona: Panreac Química, 1999.

PANREAC QUÍMICA S.A. *Métodos analíticos en alimentaria: Aceites y grasas.* Barcelona: Panreac Química, 1999.

PATHARE, P. B., OPARA, U. L., & AL-SAID, F. A.-J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food Bioprocess Technology*, vol. 6, núm. 1, 2012, pp. 36–60. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9.

RAMOS, A. L; CORREIA, V.T; MENDOZA ORTIZ, P.A; D'ANGELIS, D. F; DUTRA, V. L; FANTE, C.A. Comparison of quick descriptive sensory methods in the evaluation of dulce de leche. *Sci. Elec. Arch.*, vol. 15, n.º 7, 2022.

RINALDI, Simona, PALOCCI, Giuliano, DI GIOVANNI, Sabrina, IACURTO, Miriam, & TRIPALDI, Carmela. Chemical characteristics and oxidative stability of buffalo mozzarella cheese produced with fresh and frozen curd. *Molecules*, vol. 26, 2021, art. 1405. https://doi.org/10.3390/molecules26051405.

RODRÍGUEZ, A. Estudio del desarrollo de la reacción de Maillard en la elaboración del dulce de leche. 2017. Tesis. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

RODRÍGUEZ, A.; GÁMBARO, A.; PANIZZOLO, L. A.; ROZYCKI, S. D. Dulce de leche. En: GOMES DA CRUZ, A.; COLOMBO PIMENTEL, T.; ESMERINO, E. A.; VERRUCK, S. (eds.). *Dairy Foods Processing. Methods and Protocols in Food Science*. 1.ª ed. New York: Humana, 2025. p. 293-309. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4144-6_20

RODRÍGUEZ, A., LEMA, P., BESSIO, M. I., MOYNA, G., OLIVARO, C., FERREIRA, F., & PANIZZOLO, L. Color development in dulce de leche, a confectionary dairy product with high sucrose content: Evaluation of pH effect, an essential manufacturing process parameter. *Frontiers in Nutrition*, 2021.

ROZYCKI, S. D., BUERA, M. P., PIAGENTINI, A. M., COSTA, S. C., & PAULETTI, M. S. Advances in the study of the kinetics of color and fluorescence development in concentrated milk systems. *Journal of Food Engineering*, vol. 101, núm. 1, 2010, pp. 59–66. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.06.009.

SAMET-BALI, Olfa, AMMAR, Imen, ENNOURI, Monia, & ATTIA, Hamadi. Physicochemical characteristics and storage stability of clarified butter fat "smen" produced from pasteurized and non-pasteurized milk. *Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*, vol. 5, núm. 3, 2017, pp. 195–205.

SHAHIDI, F., & ZHONG, Y. Lipid oxidation: Measurement methods. En: *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 6.ª ed., vol. 6. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2005, cap. 8, pp. 357–385.

URUGUAY. MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. *Reglamento Bromatológico Nacional.* Montevideo, Uruguay: IMPO, 2012.

U.S. DAIRY EXPORT COUNCIL. *Reference Manual for U.S. Milk Powders and Microfiltered Ingredients*. Arlington, VA: Dairy Management Inc., 2018.

WALSTRA, P., GEURTS, T. J., NOOMEN, A., JELLEMA, A., & VAN BOEKEL, M. A. J. S. *Dairy Science and Technology.* 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2006.

WATTS, B. M., YLIMAKI, G. L., JEFFERY, L. E., & ELÍAS, L. G. *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos.* Ottawa, Ontario, Canadá: International Development Research Centre, 1992. ISBN 0-88936-564-4.

ZALAZAR, C. A., & PEROTTI, M. C. *Dulce de leche.* Santa Fe, Argentina: Universidad Nacional del Litoral (UNL) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Elsevier Ltd, 2011.