

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA  
I DEL MEDI NATURAL



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

**DISEÑO DE EMULSIONES DE ELEVADA FASE INTERNA A PARTIR DE  
SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA CERVECERA. CARACTERIZACIÓN  
MORFOLÓGICA, REOLÓGICA Y FÍSICA.**

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNA: María Ruiz López

TUTORA: Amparo Quiles Chuliá

COTUTORA: Isabel Hernando Hernando

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Adrián López García

CURSO ACADÉMICO: 2020/ 2021

Valencia, julio de 2021

## **DISEÑO DE EMULSIONES DE ELEVADA FASE INTERNA A PARTIR DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA CERVECERA. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, REOLÓGICA Y FÍSICA.**

### **RESUMEN**

Las grasas plásticas, ricas en ácidos grasos saturados (AGS) y *trans* (AGT) son las responsables de un gran número de atributos en los alimentos que consumimos ya que aportan textura, aroma, sabor, palatabilidad y estabilidad a la oxidación. Sin embargo, su consumo está relacionado con la aparición de graves problemas de salud. En consecuencia, un tema actual de gran interés es el desarrollo de nuevos tipos de grasa, libre de AGT y con baja proporción de AGS, que sean capaces de simular las propiedades funcionales tecnológicas de las grasas plásticas. La industria cervecera moderna genera elevadas cantidades de residuos sólidos que contienen biopolímeros -proteínas y polisacáridos- con interesantes propiedades tecnológicas y funcionales, por ejemplo, emulsificantes y estabilizantes. En este sentido, el objetivo del trabajo es desarrollar emulsiones de alta fase interna, empleando como emulsionante y estabilizante el subproducto de la industria de elaboración de cerveza, llamado torta de cerveza. Para ello, se ha estudiado la influencia de la concentración de subproducto y del pH de la fase acuosa de la emulsión en la estabilidad física y estructural de las emulsiones. La microestructura de las emulsiones se ha estudiado por microscopía electrónica de barrido a temperaturas criogénicas (Cryo-SEM). Para evaluar el comportamiento reológico se han realizado barridos de esfuerzo, frecuencia y se ha determinado la curva de flujo. Además, se ha estudiado la estabilidad física y el color de las emulsiones. Las emulsiones elaboradas con mayor concentración de subproducto y con la fase acuosa de mayor pH fueron las más estructuradas. Estas emulsiones presentaron glóbulos pequeños, homogéneos, de estructura poliédrica y una menor proporción de pérdida de aceite. Los resultados de los ensayos de reología mostraron en todas las emulsiones un comportamiento similar a un sólido en el intervalo de viscoelasticidad lineal. Tanto el pH de la fase acuosa de la emulsión como la concentración de subproducto influyeron en la estabilidad física y en el color de las emulsiones.

**PALABRAS CLAVE:** estructuración de aceites, estabilidad física, emulgentes, estabilizantes, estructura, biopolímeros, microscopía, Cryo-SEM, aceites vegetales

## HIGH INTERNAL PHASE EMULSIONS DESIGN FROM BREWERY INDUSTRY BY-PRODUCTS. MORPHOLOGICAL, RHEOLOGICAL, AND PHYSICAL APPROACH.

### ABSTRACT

Plastic fats, rich in saturated fatty acids and *trans*, are responsible for many attributes in the foods we consume as they provide texture, aroma, flavour, palatability, and oxidation stability. However, its consumption is related to the appearance of serious health problems. Consequently, a current topic of great interest is the development of new types of fat, free from *trans* fatty acids and with a low proportion of saturated fatty acids, which can simulate the technological properties of plastic fats. The modern brewing industry generates high amounts of solid waste containing biopolymers - proteins and polysaccharides - with interesting technological and functional properties, for example emulsifiers and stabilizers. In this sense, the objective of the work is to develop high internal phase emulsions, using as emulsifier and stabilizer the by-product of the brewing industry, called trub. To this end, the influence of the by-product concentration and the pH of the aqueous phase of the emulsion on the physical and structural stability of the emulsions has been studied. The microstructure of the emulsions has been studied by scanning electron microscopy at cryogenic temperatures (Cryo-SEM). To evaluate the rheological behaviour, stress and frequency sweeps have been carried out and the flow curve has been determined. In addition, the physical stability and colour of the emulsions have been studied. The emulsions made with the highest concentration of by-product and with the aqueous phase with the highest pH were the most structured. These emulsions presented small, homogeneous globules, with a polyhedral structure and a lower proportion of oil loss. The results of the rheology tests showed a behaviour like a solid in all the emulsions in the linear viscoelasticity range. Both the pH of the aqueous phase of the emulsion and the concentration of by-product influenced the physical stability and the colour of the emulsions.

**KEY WORDS:** structuring of oils, physical stability, emulsifiers, stabilizers, structure, biopolymers, microscopy, Cryo-SEM, vegetable oils

# DISSENY DE EMULSIONS DE ELEVADA FASE INTERNA A PARTIR DE SUBPRODUCTES DE LA INDUSTRIA CERCVERA. CARACTERITZACIÓ MORFOLÒGICA, REOLÒGICA I FÍSICA.

## RESUM

Els greixos plàstics, rics en àcids grassos saturats (AGS) i *trans* (AGT) són les responsables d'un gran nombre d'atributs en els aliments que consumim, ja que aporten textura, aroma, sabor, palatabilitat i estabilitat a l'oxidació. No obstant això, el seu consum està relacionat amb l'aparició de greus problemes de salut. En conseqüència, un tema actual de gran interès és el desenvolupament de nous tipus de greix, lliure d'AGT i amb baixa proporció d'AGS, que siguin capaços de simular les propietats funcionals tecnològiques dels greixos plàstics. La indústria cerquesera moderna genera elevades quantitats de residus sòlids que contenen biopolímers - proteïnes i polisacàrids- amb interessants propietats tecnològiques i funcionals, per exemple, emulsificants i estabilitzants. En aquest sentit, l'objectiu del treball és desenvolupar emulsions d'alta fase interna, emprant com a emulsionant i estabilitzant el subproducte de la indústria d'elaboració de cervesa, anomenat torta de cervesa. Per això, s'ha estudiat la influència de la concentració de subproducte i del pH de la fase aquosa de l'emulsió en l'estabilitat física i estructural de les emulsions. La microestructura de les emulsions s'ha estudiat per microscòpia electrònica de rastreig a temperatures criogèniques (Cryo-SEM). Per avaluar el comportament reològic s'han realitzat escombrats d'esforç, freqüència i s'ha determinat la corba de flux. A més, s'ha estudiat l'estabilitat física i el color de les emulsions. Les emulsions elaborades amb major concentració de subproducte i amb la fase aquosa de major pH van ser les més estructurades. Aquestes emulsions van presentar glòbuls xicotets, homogenis, d'estructura polièdrica i una menor proporció de pèrdua d'oli. Els resultats dels assaigs de reologia van mostrar en totes les emulsions un comportament similar a un sòlid en l'interval de viscoelasticitat lineal. Tant el pH de la fase aquosa de l'emulsió com la concentració de subproducte van influir en l'estabilitat física i en el color de les emulsions.

**PARAULES CLAU:** estructuració d'olis, estabilitat física, emulgents, estabilitzants, estructura, biopolímers, microscòpia, Cryo-SEM, olis vegetals

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi madre, a mi padre y a mi hermana, por ser un apoyo incondicional y confiar siempre en mí.

A las personas que me ha regalado la carrera, especialmente a Carmen S, Patri, Carmen P, Alba, Juli, Andrei, Artur y Arnau. Por enseñarme a disfrutar aun más de los alimentos, de la amistad y de la vida.

A mi familia de Danuska, por demostrarme que no hay idioma que impida la amistad ni pandemia que por bien no venga. Especialmente a Rosa y a María, por ser mis ángeles de la guarda.

A las profesoras y profesores que me han enseñado y han dedicado su tiempo y esfuerzo en ayudarme a ser un poco mejor. En especial a Amparo Quiles y a Isabel Hernando, por confiar en mí desde el principio para hacer este trabajo.

A Adrián, por toda la ayuda que me ha brindado desde el primer hasta el último momento, por sus buenos consejos del laboratorio y de la vida y por su paciencia conmigo.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. RETOS DEL SECTOR AGROALIMENTARIO .....	1
1.2. INDUSTRIA CERVECERA .....	2
1.2.1. CERVEZA .....	2
1.2.2. IMPORTANCIA DEL SECTOR.....	2
1.2.3. ELABORACIÓN DE LA CERVEZA Y PROBLEMAS ASOCIADOS.....	2
1.2.4. SUBPRODUCTOS GENERADOS .....	4
1.3. ESTRUCTURACIÓN DE ACEITES.....	5
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	7
2.1. OBJETIVOS .....	7
2.2. PLAN DE TRABAJO .....	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3.1. MATERIALES .....	8
3.2. MÉTODOS.....	8
3.2.1. OBTENCIÓN DEL POLVO DE LA TORTA DE CERVEZA .....	8
3.2.2. DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL POLVO DE LA TORTA DE CERVEZA .....	8
3.2.3. OBTENCIÓN DE LAS EMULSIONES.....	8
3.2.4. MICROESTRUCTURA DE LAS EMULSIONES.....	10
3.2.5. CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE LAS EMULSIONES .....	10
3.2.6. ESTABILIDAD FÍSICA DE LAS EMULSIONES .....	11
3.2.7. COLOR DE LAS EMULSIONES .....	11
3.2.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
4.1. DETERMINACION DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL POLVO DE TORTA DE CERVEZA .....	13
4.2. MICROESTRUCTURA DE LAS EMULSIONES.....	13
4.3. CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE LAS EMULSIONES .....	15
4.4. ESTABILIDAD FÍSICA DE LAS EMULSIONES .....	23
4.5. COLOR DE LAS EMULSIONES .....	25
5. CONCLUSIONES .....	28
6. BIBLIOGRAFÍA.....	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama de flujo del proceso de elaboración de cerveza (Rachwał et al., 2020). .....	3
<b>Figura 2.</b> Diagrama de flujo del proceso de elaboración de la cerveza en Cerveza Tyrís SL. Elaboración propia a partir de (Cerveza Tyrís SL, 2021).....	4
<b>Figura 3.</b> Fases acuosas con concentración 1,0-2,5-4,0 % de polvo de torta de cerveza respectivamente y ajustadas a pH 9,0. ....	9
<b>Figura 4.</b> Elaboración de la emulsión. ....	9
<b>Figura 5.</b> Reómetro rotacional de estrés controlado.....	11
<b>Figura 6.</b> Distribución del tamaño de partícula del polvo de la torta de cerveza. ....	13
<b>Figura 7.</b> Microestructura de las emulsiones por Cryo-SEM. A, B, C: emulsión 9H. D, E, G: emulsión 12L. G, H, I: emulsión 12H. A, D, G: 500x. B, E, H: 2000x. C, F, I: 5000x. ....	14
<b>Figura 8.</b> Barrido de esfuerzo a 1 Hz de las emulsiones.....	16
<b>Figura 9.</b> Barrido de frecuencia a 1 Pa de las emulsiones.....	17
<b>Figura 10.</b> Reograma de las emulsiones. ....	20
<b>Figura 11.</b> Curva de viscosidad de las emulsiones. ....	22
<b>Figura 12.</b> Pérdida de aceite de las emulsiones. ....	24
<b>Figura 13.</b> Apariencia de las emulsiones después de la centrifugación. Izquierda: muestra 9H; derecha: muestra 12H.....	25
<b>Figura 14.</b> Apariencia física de las emulsiones.....	25

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Emulsiones desarrolladas con diferente concentración de subproducto polvo de torta de cerveza y pH de la fase acuosa.....	10
<b>Tabla 2.</b> Propiedades reológicas de las emulsiones.....	18
<b>Tabla 3.</b> Parámetros de color de las emulsiones. ....	26

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. RETOS DEL SECTOR AGROALIMENTARIO

En la actualidad, el sector alimentario industrial se enfrenta a grandes desafíos. Por un lado, el área de la producción agroalimentaria industrial, debe moderar el impacto ambiental de sus actividades enfocando sus procesos hacia la sostenibilidad y evitando la generación de desperdicios y residuos de difícil gestión (Dalmau Estelrich, 2019). Por otro lado, la industria debe dirigir la producción de alimentos, hacia el desarrollo y la obtención de fórmulas alternativas, con ingredientes saludables que sustituyan componentes como, por ejemplo, las grasas plásticas industriales, ricas en ácidos grasos saturados (AGS) y *trans* (AGT), ya que se ha demostrado que presentan efectos adversos sobre la salud (Kwon, 2016).

Una adecuada gestión de residuos es necesaria principalmente por dos motivos. El primero, porque una elevada cantidad de residuos hace que las instalaciones de tratamiento de residuos y vertederos estén saturadas, lo que conlleva un grave problema medioambiental (Esparza *et al.*, 2020). El segundo, porque algunos de estos desechos, principalmente, los procedentes de la cadena de suministro de alimentos son bio-compuestos ricos en materia orgánica, como proteínas, carbohidratos, lípidos y compuestos bioactivos (Kosseva, 2009). Algunos de estos residuos, por lo tanto, son subproductos con potencial para su valorización. La valorización es una oportunidad que permite utilizar los subproductos, reducir los desechos y generar ingresos directos (Pimentel-Moral *et al.*, 2020). Algunos de estos subproductos/bio-compuestos se pueden emplear para obtener ingredientes para el desarrollo de alimentos funcionales, antibióticos, enzimas, biopolímeros y biocombustibles (Dahiya *et al.*, 2018). En el progreso hacia la valorización, la industria alimentaria debe tomar en serio la revisión de sus procesos y formulaciones para aprovechar el carácter beneficioso de estos subproductos y reintroducirlos en la cadena alimentaria.

Las autoridades sanitarias advierten que la sustitución de grasas plásticas, saturadas y *trans* es cada vez más necesaria y que hay que reducir su consumo, ya que se ha demostrado que están asociadas con la aparición de diversas enfermedades, tales como, obesidad, enfermedades cardiovasculares y diabetes (Krauss y Kris-Etherton, 2020; Wilczek *et al.*, 2017). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre 1975 y 2016 la prevalencia mundial de la obesidad casi se ha triplicado, afectando a más de 650 millones de personas. Debido a esto, la UE ha limitado, desde el 2 de abril de 2021, el uso de grasas *trans* a un máximo de 2 gramos por cada 100 gramos de grasa del producto (Comisión Europea, 2019). Sin embargo, eliminar este tipo de grasas totalmente de la alimentación es complicado porque las grasas saturadas y *trans* presentan interesantes propiedades tecnológicas, ya que proporcionan textura, estructura y propiedades sensoriales deseables a los alimentos (Patel y Dewettinck, 2016). Una estrategia que está en vías de estudio es la estructuración de aceites, que permitiría obtener emulsiones con propiedades fisicoquímicas y sensoriales similares a las de las grasas plásticas saturadas pero con un perfil lipídico saludable (libres de AGT y con bajo contenido en AGS) (Patel y Dewettinck, 2016). Para estructurar el aceite es necesario emplear agentes emulsionantes y estabilizantes.

## **1.2. INDUSTRIA CERVECERA**

### **1.2.1. CERVEZA**

La cerveza es una bebida alcohólica fermentada milenaria muy popular y consumida en todo el mundo. En España su elaboración y los parámetros que determinan su calidad están regulados en el Código Alimentario Español y en el Real Decreto 678/2016. Según el RD 678/2016, de 16 de diciembre, por el que se aprueba la norma de calidad de la cerveza y de las bebidas de malta, la cerveza es el “alimento resultante de la fermentación, mediante levaduras seleccionadas, de un mosto cervecero elaborado a partir de materias primas naturales.”

La elaboración se lleva a cabo a partir de cuatro materias primas básicas: un cereal malteado-normalmente cebada- (*Hordeum vulgare*)-, lúpulo (*Humulus lupulus*), levadura y agua. A nivel nutricional es fuente de hidratos de carbono, minerales, vitaminas y polifenoles de alto valor nutricional. Entre el 70 y el 80% de estas sustancias provienen de la malta y entre el 30 y el 20% restantes, del lúpulo. (Senna Ferreira Costa *et al.*, 2021; Thiago *et al.*, 2014).

### **1.2.2. IMPORTANCIA DEL SECTOR**

Durante muchos siglos, la producción a escala artesanal ha sido suficiente para atender la demanda. Sin embargo, la popularidad de esta bebida a nivel mundial hizo que en la Revolución Industrial se convirtiera en un proceso a gran escala (Thiago *et al.*, 2014). Actualmente, el sector cervecero juega un papel estratégico en la industria alimentaria, pues la cerveza es la quinta bebida más consumida en el mundo, por detrás del té, las bebidas carbonatadas, la leche y el café (Olajire, 2020). En España, según el Informe del Consumo de Alimentación (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2020) de 2020, el sector cervecero ocupaba la segunda posición del sector de bebidas con un valor del 23,9%.

### **1.2.3. ELABORACIÓN DE LA CERVEZA Y PROBLEMAS ASOCIADOS**

El proceso de elaboración se lleva a cabo en diferentes etapas, según el diagrama de flujo que muestra la Figura 1. En primer lugar, se maltea el cereal, que suele ser cebada; luego, se obtiene el mosto mediante el molturado y macerado de la malta de cebada; después se añade el lúpulo, se cuece junto al mosto y se deja enfriar; a continuación, se añaden las levaduras y se lleva a cabo la fermentación durante varios días; luego, se deja madurar la cerveza un tiempo determinado y por último, se realizan las operaciones finales -que pueden variar según la industria- entre las que destacan la filtración, la pasteurización y el embotellado (Marson *et al.*, 2020). El objetivo de este proceso es transformar el almidón de los granos de malta en azúcares simples para ser fermentados por las levaduras, y finalmente producir una bebida sutilmente carbonatada y de bajo contenido en alcohol (Rachwał *et al.*, 2020).

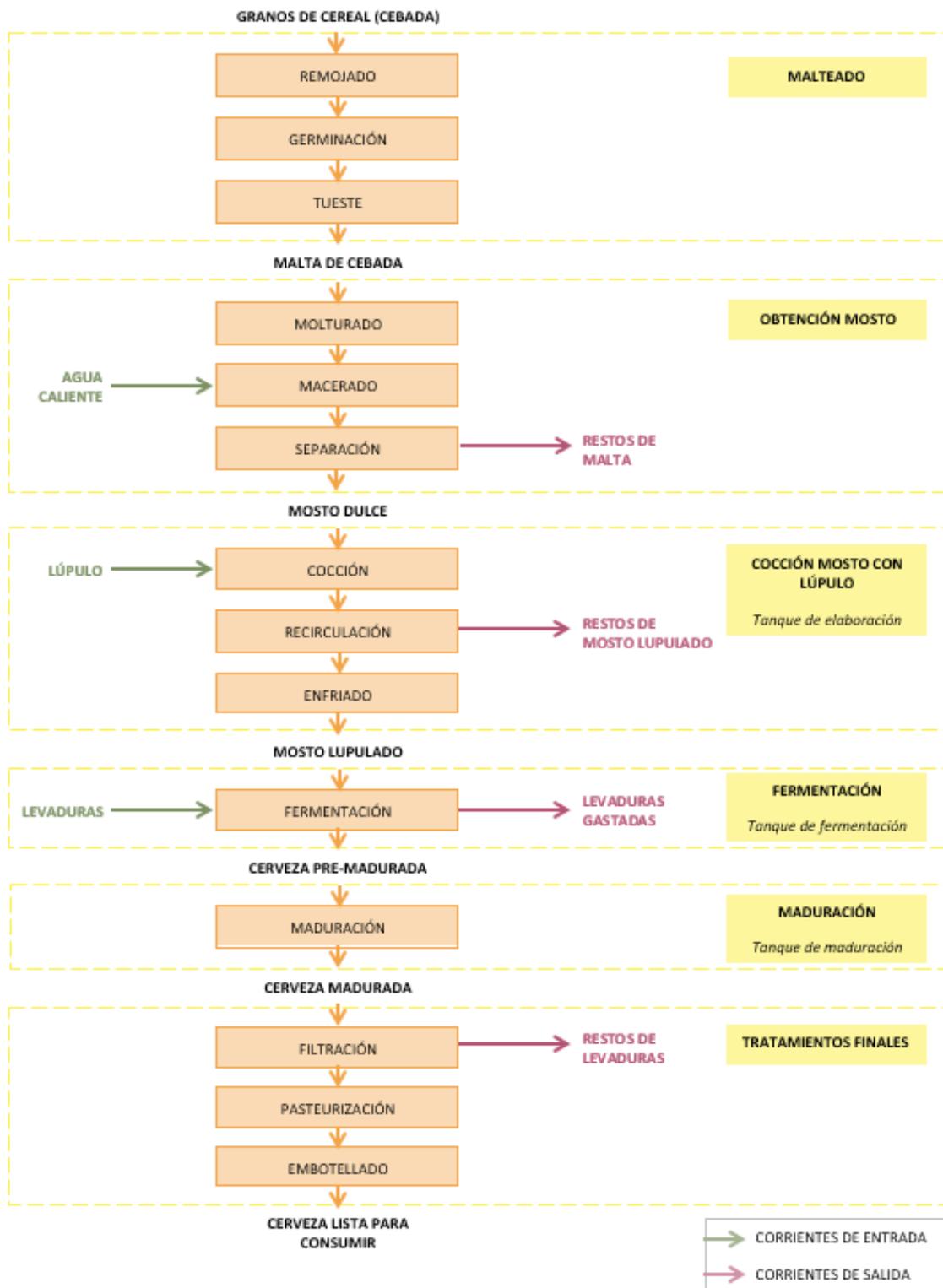


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de cerveza (Rachwat et al., 2020).

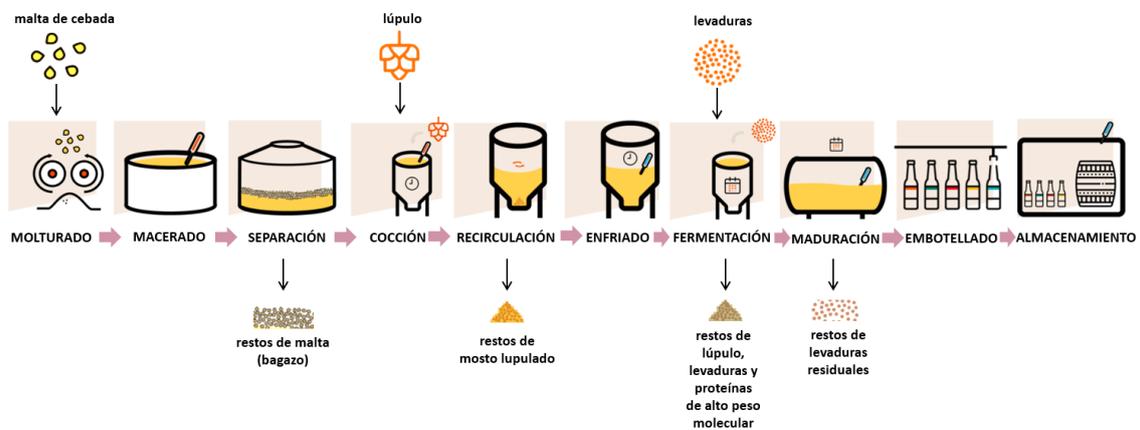
Este proceso de elaboración consume grandes cantidades de energía y de agua y genera corrientes de agua residual y subproductos, así como emisiones de gases contaminantes a la atmósfera, por lo que la industria cervecera se enfrenta a importantes desafíos ambientales (Olajire, 2020). Especialmente, la producción a gran escala tiene como consecuencia la

producción de grandes cantidades de material de desecho orgánico (Rachwał *et al.*, 2020), por lo que en los últimos años se han introducido avances tecnológicos para reducir la generación de subproductos en el proceso. Sin embargo, existen ciertos subproductos propios de la elaboración que difícilmente se pueden disminuir y, por tanto, han de desarrollarse nuevas tecnologías para su aprovechamiento. (Senna Ferreira Costa *et al.*, 2021; Thiago *et al.*, 2014).

### 1.2.4. SUBPRODUCTOS GENERADOS

Las tres grandes corrientes residuales sólidas inherentes al proceso de elaboración de la cerveza son: los restos de malta o bagazo (*Brewer Spent Grain* en inglés), los restos de mosto lupulado (*hot trub* en inglés) y las levaduras gastadas (*Spent Brewer's Yeast* en inglés), como se puede ver en la Figura 1.

En algunas fábricas de cerveza, existe otro subproducto, denominado torta de cerveza, que es una mezcla de las dos últimas corrientes sólidas más importantes: los restos de mosto lupulado y las levaduras gastadas. Este subproducto está formado por restos de lúpulo, levaduras y proteínas de alto peso molecular. Para entender mejor cómo se forma, en la Figura 2 se muestra el diagrama de flujo de la producción de cerveza y los residuos que se generan en cada etapa en *Cerveza Tyrís SL*. En este proceso cabe destacar que, tras la etapa de recirculación, se eliminan algunos restos de mosto lupulado que ha sedimentado, pero principalmente este producto se recoge junto a las levaduras gastadas tras la fermentación.



**Figura 2.** Diagrama de flujo del proceso de elaboración de la cerveza en *Cerveza Tyrís SL*. Elaboración propia a partir de (Cerveza Tyrís SL, 2021)

A continuación, se describen las dos corrientes residuales que forman la torta de estudio: los restos de mosto lupulado y las levaduras gastadas. Los restos de mosto lupulado son un efluente compuesto por una suspensión de partículas de mosto, lúpulo y proteínas coloidales de alto peso molecular que durante la etapa de ebullición del mosto se han desnaturalizado, por lo que han coagulado y precipitado. (Senna Ferreira Costa *et al.*, 2021). La composición en materia seca de este residuo es: proteínas (50-70%); sustancias amargas del lúpulo no isomerizadas (10-20%); polifenoles (5-10%); carbohidratos (4-8%), principalmente, pectinas, glucanos y almidón; minerales (3-5%); y ácidos grasos (1-2%) (Thiago *et al.*, 2014). Generalmente, estos residuos

representan entre el 0,2 y el 0,4% del volumen del mosto (Fillaudeau *et al.*, 2006; Rachwał *et al.*, 2020). Además, la formación de este compuesto es un proceso deseable, ya que permite eliminar polifenoles y proteínas durante el proceso de elaboración. Tanto polifenoles como proteínas pueden reaccionar formando complejos insolubles y convertirse en precipitados visibles en la cerveza, algo indeseado en las cervezas de apariencia clara (Rachwał *et al.*, 2020). Uno de los problemas que presenta la reutilización de este residuo es su sabor amargo, debido a la presencia de ciertos componentes astringentes del lúpulo, como los taninos y los compuestos fenólicos solubles capaces de formar complejos con proteínas y alcaloides (Saraiva *et al.*, 2019)

Las levaduras gastadas representan hasta el 15% del total de subproducto generado. El volumen promedio de levadura residual obtenido tras la fermentación de la cerveza es de aproximadamente 2,7 kg/m<sup>3</sup>, lo que supone unas pérdidas de entre el 1,5 y el 3% del volumen total producido (Fillaudeau *et al.*, 2006; Rachwał *et al.*, 2020). Se componen de proteína cruda (40 %), carbohidratos (59 %) - mayoritariamente polisacáridos y azúcares fermentables-, y lípidos (1 %). Además, destacan sus gruesas paredes celulares, fuertes y resistentes, compuestas principalmente por glucanos  $\beta$ -1,3 /  $\beta$ -1,6 y glicoproteínas (Avramia y Amariei, 2015; Karlovic *et al.*, 2020; Marson *et al.*, 2020)

En la actualidad, estos subproductos de la elaboración de la cerveza se emplean principalmente para alimentación animal (Rachwał *et al.*, 2020) aunque se están investigando nuevas posibilidades de valorización, entre ellas, su uso para el desarrollo de nuevos ingredientes, y para la extracción de compuestos bioactivos (Bedini *et al.*, 2015; Ferreira *et al.*, 2010; Saraiva *et al.*, 2019; Senna Ferreira Costa *et al.*, 2021).

Una de las líneas de investigación que se está explorando está relacionada con el potencial uso de estos subproductos como agentes emulsionantes y estabilizantes. Se han investigado las propiedades emulsionantes de las levaduras gastadas y se han relacionado con su composición en  $\beta$ -D-glucanos y manoproteínas (Marson *et al.*, 2020). Algunos autores han evaluado el diferente uso de estos glucanos y manoproteínas en diferentes alimentos. Por ejemplo, estos glucanos y manoproteínas, una vez aislados, se han empleado en la formulación de mayonesas, actuando como sustitutos de goma xantana (Silva Araújo *et al.*, 2014) o como sustitutos de grasas (Worrasinchai *et al.*, 2006), y en aderezos de ensalada, como agentes emulsionantes y estabilizantes (de Melo *et al.*, 2015). Saraiva *et al.* (2020) aislaron las proteínas del mosto lupulado procedente de la industria para producir helados ricos en proteínas. Sin embargo, no se tiene constancia del uso íntegro del subproducto, torta de cerveza, en la formulación de alimentos.

### **1.3. ESTRUCTURACIÓN DE ACEITES**

La estructuración de aceites puede llevarse a cabo mediante diferentes métodos, como por ejemplo, mediante el desarrollo de emulsiones de elevada fase interna (Bascuas *et al.*, 2021).

Las emulsiones son sistemas en los que dos fluidos inmiscibles se mezclan de manera que se crea una suspensión coloidal de partículas discretas de un fluido dispersas homogéneamente en

una fase continua de otro fluido. (Gao *et al.*, 2021; Wijaya *et al.*, 2017). Esta tecnología ha permitido crear numerosos productos alimenticios (bebidas, aderezos, condimentos, salsas y postres), así como productos cosméticos, de cuidado personal o medicamentos (Albert *et al.*, 2019).

Las emulsiones de elevada fase interna son sistemas coloidales complejos en los que la fracción de volumen de fase interna ( $\phi$ ) es mayor o igual a 0,74. Una vez la fracción de volumen de la fase interna es mayor de 0,74, las gotas de grasa dispersas alcanzan la máxima densidad de empaquetamiento, cambiando el comportamiento del flujo a tipo “viscoelástico”. Al excederse el límite geométrico para el empaquetamiento de esferas rígidas, las gotas se juntan y aprietan, dando lugar a una geometría poliédrica. En lo referente a la textura, estas emulsiones son materiales sólidos blandos gelificados o muy viscosos (Zamani *et al.*, 2018). Particularmente, tienden a actuar como sólidos elásticos por debajo de un estrés crítico y como líquidos viscosos por encima de este estrés (Gao *et al.*, 2021). Para conseguir sistemas emulsionados estables y disminuir la pérdida de aceite, se está estudiando el uso de biopolímeros -proteínas y polisacáridos- como agentes estructurantes, ya que poseen propiedades emulsionantes y estabilizantes, respectivamente (Vélez-Erazo *et al.*, 2020). Sería interesante estudiar si el subproducto torta de cerveza presenta propiedades capaces de permitir estructurar aceite para la obtención de emulsiones de alta fase interna.

## **2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO**

### **2.1. OBJETIVOS**

El principal objetivo de este trabajo es estructurar aceite de girasol para la obtención de emulsiones de elevada fase interna empleando como emulsionante y/o estabilizante el subproducto torta de cerveza íntegro. Este subproducto de la industria cervecera, procedente del tanque de fermentación, está compuesto principalmente por levaduras, lúpulo y proteínas de alta masa molecular. Las emulsiones diseñadas deben presentar un elevado perfil nutricional y ser capaces de mimetizar las propiedades de las grasas plásticas, ricas en ácidos grasos saturados y *trans*, empleadas de forma generalizada en la formulación de alimentos industriales.

Para ello, se investigará la influencia de la concentración de subproducto torta de cerveza y del pH de la fase acuosa de la emulsión en la estabilidad estructural y física de las diferentes emulsiones.

Este objetivo persigue dar solución a dos de los retos más importantes a los que se enfrenta la industria alimentaria actualmente, estos son:

- La reducción el impacto ambiental y/o económico provocado por la gestión de los residuos, mediante la revalorización del subproducto de la industria cervecera.
- El desarrollo de alimentos de elevado perfil nutricional.

### **2.2. PLAN DE TRABAJO**

El plan de trabajo establecido para la consecución del objetivo ha sido estructurado de la siguiente manera:

1. Acondicionamiento de la materia prima (torta de cerveza) para su uso como emulsionante y/o estabilizante.
2. Preparación de las emulsiones a diferentes pH y concentraciones.
3. Estudio de la microestructura de las emulsiones.
4. Estudio de las propiedades reológicas de las emulsiones.
5. Estudio de las propiedades físicas (estabilidad y color) de las emulsiones.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIALES**

Para elaborar las emulsiones se empleó aceite de girasol (Hacendado, Mercadona S.A., España), agua (Bezoya, Segovia, España) que fueron comprados en un supermercado y el subproducto torta de cerveza (mezcla de lúpulo, levaduras y proteínas) que fue suministrado por la empresa Cerveza Tyris SL (Valencia, España).

#### **3.2. MÉTODOS**

##### **3.2.1. OBTENCIÓN DEL POLVO DE LA TORTA DE CERVEZA**

Una vez recogida la torta de cerveza del tanque de fermentación, se almacenó a  $-8^{\circ}\text{C}$  para evitar la proliferación de microorganismos. Para eliminar el licor residual de cerveza, la torta de cerveza se descongeló y centrifugó a 17.000 g (Sorvall Super T21, RAMSEY, MN, EEUU) y  $4^{\circ}\text{C}$  durante 10 min. A continuación, se secó a vacío a  $40^{\circ}\text{C}$  (Vaciotem-T, J. P. SELECTA, España) hasta alcanzar un peso constante. Posteriormente, la muestra se sometió a una primera trituración a temperatura ambiente en un molino con camisa de agua refrigerante (M20 de IKA, Staufen, Alemania). A continuación, se sometió a una segunda trituración en un molino de bolas para reducir el tamaño de partícula.

El contenido en agua del polvo fue de  $3,70 \pm 0,07$  % y se determinó mediante secado en un horno a vacío (Vaciotem-T, J.P., SELECTA, España), a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 24 h.

##### **3.2.2. DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL POLVO DE LA TORTA DE CERVEZA**

El tamaño de partícula se determinó mediante una tamizadora digital con control de amplitud automático (RP 200N SILENT, CISA, Barcelona, España). Las condiciones de trabajo empleadas fueron: amplitud de 2,2 mm y un tiempo de 5 min.

##### **3.2.3. OBTENCIÓN DE LAS EMULSIONES**

Para obtener las emulsiones, primero se prepararon las fases acuosas. Para ello, se dispersó el polvo de la torta de cerveza en agua y se mantuvo en agitación durante una hora, para asegurar su completa disolución. Se prepararon tres disoluciones acuosas con diferente concentración de polvo de torta de cerveza: 1,0, 2,5 y 4,0 % (concentración expresada sobre el total de la emulsión). Cada una de estas disoluciones acuosas se ajustó a tres pHs diferentes (9, 10,5 y 12) mediante la adición de NaOH 6M para no diluir en exceso las muestras. Una vez ajustado el pH, la fase acuosa se sometió a agitación durante 2 h a temperatura ambiente. En total, se obtuvieron 9 fases acuosas, es decir, 9 disoluciones de polvo de la torta de cerveza con diferente

concentración y pH. En la Figura 3 se muestran, a modo de ejemplo, las fases acuosas a pH 9 de las tres concentraciones de subproductos.



**Figura 3.** Fases acuosas con concentración 1,0-2,5-4,0 % de polvo de torta de cerveza respectivamente y ajustadas a pH 9,0.

Las emulsiones se elaboraron de acuerdo con el método descrito por Wijaya *et al.* (2019) con algunas modificaciones. En primer lugar, la fase acuosa se dispersó con un UltraTurrax (Ultraturrax T18, IKA, Alemania) empleando para ello un vástago con rotor de 12,7 mm durante 30 s a 909 g. A continuación, se incrementó la velocidad del homogeneizador hasta 2.783 g y se añadieron 20 g del aceite de girasol. Para asegurar la completa homogeneización, la mezcla se sometió durante 30 s a 3.635 g. Finalmente, estas emulsiones se almacenaron a 4°C hasta su análisis, al día siguiente. En la Figura 4 se presenta una imagen explicativa de la elaboración de las emulsiones. En total se desarrollaron 9 emulsiones diferentes (Tabla 1) a partir de fases acuosas con tres concentraciones diferentes de subproducto y ajustadas a tres pHs diferentes.



**Figura 4.** Elaboración de la emulsión.

**Tabla 1.** Emulsiones desarrolladas con diferente concentración de subproducto polvo de torta de cerveza y pH de la fase acuosa.

	EMULSIONES								
	pH 9,0			pH 10,5			pH 12,0		
	9L	9M	9H	10,5L	10,5M	10,5H	12L	12M	12H
<b>Concentración Subproducto (%)</b>	1,0	2,5	4,0	1,0	2,5	4,0	1,0	2,5	4,0
<b>Aceite Girasol (%)</b>	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0
<b>Agua (%)</b>	19,0	17,5	16,0	19,0	17,5	16,0	19,0	17,5	16,0

### 3.2.4. MICROESTRUCTURA DE LAS EMULSIONES

La estructura de las emulsiones se estudió empleando la técnica microscopía electrónica de barrido a temperaturas criogénicas (Cryo-SEM). Para ello, las muestras se colocaron en el soporte, se congelaron por inmersión en nitrógeno líquido ( $T = -210^{\circ}\text{C}$ ) y se transfirieron a una unidad criogénica (CT 15000 C, Oxford Instrument, Oxford, England), conectada a un microscopio electrónico de barrido JEOLJSM 5410 (JEOL, Tokyo, Japan). Después de fracturar, sublimar y metalizar con platino, las muestras se observaron a 15kV y a una distancia de trabajo de 15 mm.

### 3.2.5. CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE LAS EMULSIONES

Para evaluar el comportamiento reológico de las emulsiones se empleó el reómetro rotacional de esfuerzo controlado Kinexus Pro+ (Malvern Panalytical, Malvern, UK) (Figura 5) y el software informático rSpace for Kinexus. Se realizaron tres tipos de medidas reológicas, todas ellas con la geometría plato-plato liso de 40 mm diámetro y a temperatura constante de  $5^{\circ}\text{C}$ . Se fijó 1 mm de *gap* y, una vez ajustado este espesor de muestra, se dejó reposa la muestra durante 3 min previamente a la realización de cada uno de los ensayos.

El primer ensayo consistió en un barrido de esfuerzo para determinar el intervalo viscoelástico lineal (IVL), en un intervalo de 0,01 a 100 Pa y a frecuencia fija de 1 Hz. A continuación, se seleccionó un valor de esfuerzo dentro del IVL (1 Pa) para realizar el barrido de frecuencia.

El segundo ensayo fue un barrido de frecuencia llevado a cabo a una amplitud de esfuerzo constante de 1 Pa variando la frecuencia en el intervalo de 0,1 a 10 Hz.

El tercer ensayo fue la evaluación del comportamiento al flujo de las emulsiones, registrándose la variación de la viscosidad y del esfuerzo cortante con el gradiente de velocidad, en función del tiempo. Se realizó una rampa de velocidad ascendente de 0 hasta  $100\text{ s}^{-1}$  (3 min), seguida de una rampa descendente de 100 a  $0\text{ s}^{-1}$  (3 min).



Figura 5. Reómetro rotacional de estrés controlado.

### 3.2.6. ESTABILIDAD FÍSICA DE LAS EMULSIONES

Para determinar la estabilidad física de las emulsiones se midió la pérdida de aceite tras ser sometidas a fuerzas centrífugas, siguiendo el método de Vélez-Eraza *et al.* (2020) con algunas modificaciones. Para ello, se introdujo aproximadamente 1 g de emulsión en un tubo Eppendorf de 1,5 mL y se centrifugó a 11.200 g durante 30 min a 4°C (5415R Eppendorf, Eppendorf, Hamburgo, Alemania). El aceite libre en el sobrenadante se recuperó con una pipeta Pasteur. Los resultados, expresados como g de aceite libre por 100 g de emulsión, se calcularon haciendo uso de la Ecuación 1.

$$\text{Pérdida de aceite (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i - m} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde  $m_i$  es la masa inicial del tubo con la emulsión;  $m_f$ , la del tubo con la emulsión tras retirar el aceite separado en la centrifugación y  $m$  la del tubo Eppendorf.

### 3.2.7. COLOR DE LAS EMULSIONES

Para determinar el color de las emulsiones se usó un espectrocolorímetro Minolta CM-3600d (Minolta Co., Tokyo, Japón). Las emulsiones se colocaron cuidadosamente en placas Petri de vidrio de cal sodada de 40 x 12 mm y se cubrieron, asegurando que no aparecieran burbujas. El color se midió en base al espacio de color CIELAB o CIEL\*a\*b\*, considerando la fuente de luz estándar D65 y un observador estándar de 10°.

El espacio CIELAB es muy usado ya que correlaciona valores numéricos de color con la percepción visual humana. Describe el color en función de 3 atributos: luminosidad ( $L^*$ ), tonalidad ( $h^*$ ) y pureza de color ( $C^*$ ). La luminosidad está relacionada con la sensación visual de emisión de luz de una superficie; el tono hace referencia a la similitud de uno o a proporciones de dos de los colores percibidos (rojo, naranja, amarillo, verde, azul y púrpura) y la pureza está

relacionada con la tonalidad, es decir, el contenido de color en proporción a su luminosidad (Talens Oliag, 2017).

Para calcular estos atributos se determinaron 3 parámetros:  $L^*$  ( $L^* = 0$  [negro] y  $L^* = 100$  [blanco]);  $a^*$ , que indica las coordenadas rojo/ verde ( $-a^* =$  verde y  $+a^* =$  rojo);  $b^*$ , que indica las coordenadas amarillo/ azul ( $-b^* =$  azul y  $+b^* =$  amarillo). A partir de estos parámetros, se pueden determinar los otros dos, tonalidad,  $h^*$  (Ecuación 2) y pureza de color,  $C^*$  (Ecuación 3).

$$Tonalidad = h^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad \text{Ecuación 2}$$

$$Pureza = C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Ecuación 3}$$

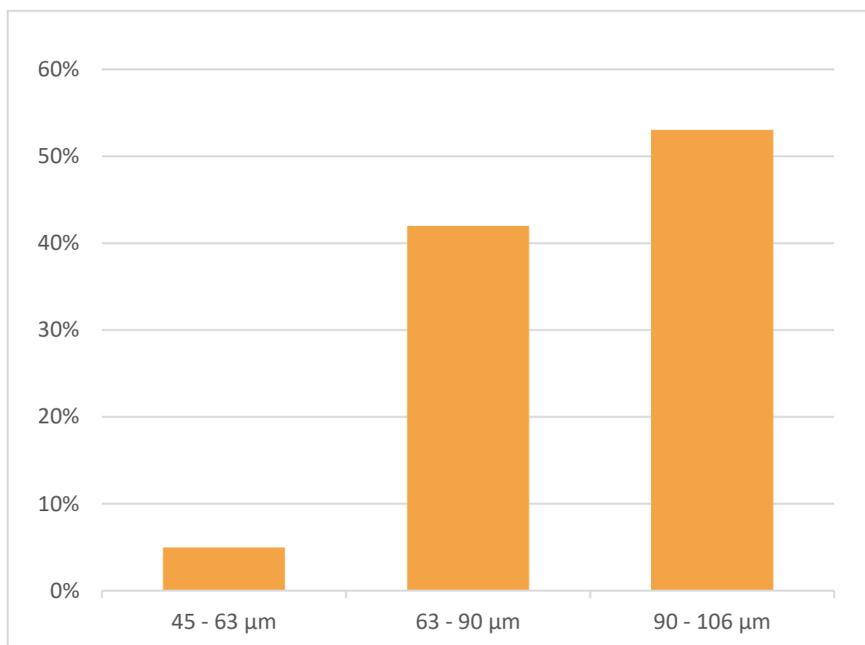
### 3.2.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo con el programa XLSTAT 2018.1 (Addinsoft, España, Barcelona, España). Para caracterizar todas las muestras se utilizó un diseño experimental multifactorial categórico con dos factores: concentración de subproducto torta de cerveza y pH de la fase acuosa. Se realizó el análisis de la varianza (ANOVA), herramienta estadística que proporciona un análisis de la varianza total, con el fin de determinar si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre las muestras analizadas, empleando un intervalo mínimo de confianza del 95% (se considera que existen diferencias estadísticamente significativas cuando  $p < 0,05$ ). Para determinar las diferencias significativas entre las muestras se utilizó el Test Fisher de LSD (*Least Significant Difference*) a un nivel de significancia del 95%.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. DETERMINACION DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL POLVO DE TORTA DE CERVEZA

La distribución del tamaño de partícula se muestra en la Figura 6. Más de la mitad de las partículas (53 %) tuvieron un tamaño entre 90 y 106  $\mu\text{m}$ , el 42 % entre 63 y 90  $\mu\text{m}$  y tan solo una minoría (5 %) presentó un tamaño entre 45 y 63  $\mu\text{m}$ .



*Figura 6. Distribución del tamaño de partícula del polvo de la torta de cerveza.*

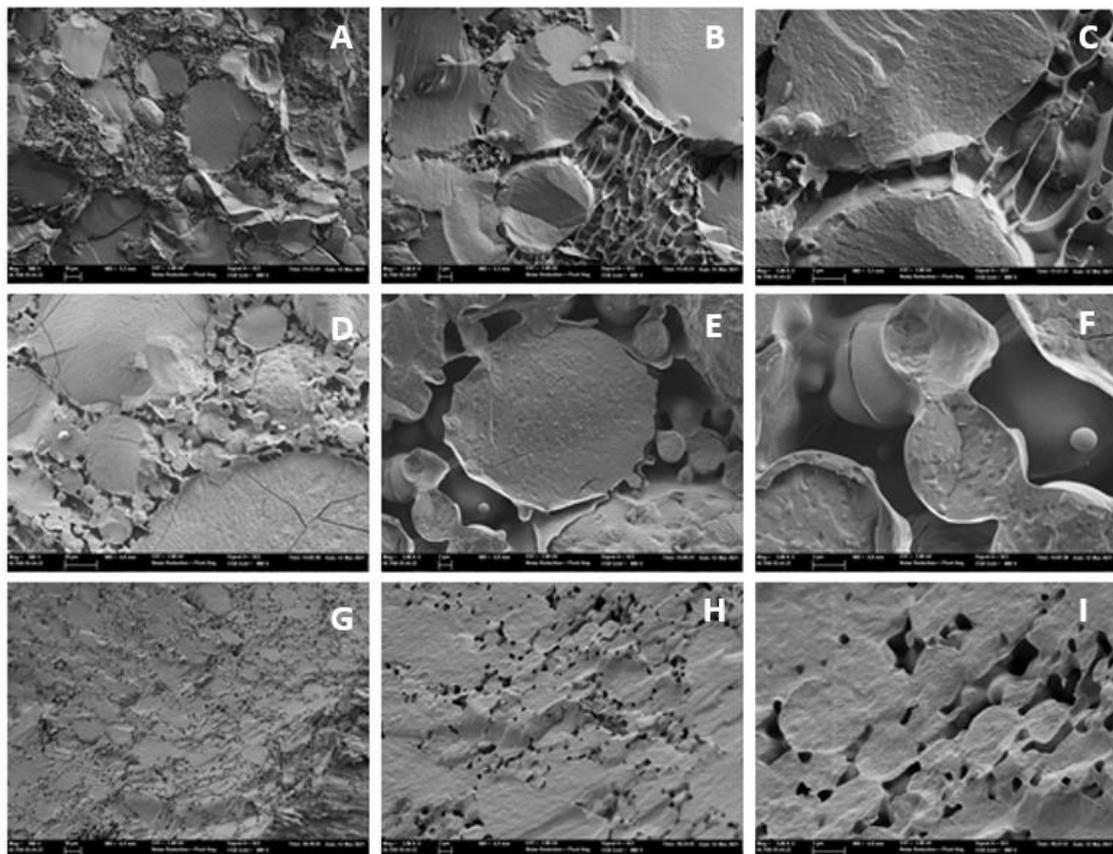
### 4.2. MICROESTRUCTURA DE LAS EMULSIONES

Para poder estudiar de forma independiente el efecto del pH y de la concentración de subproducto de la fase acuosa sobre la estructura y la distribución de los glóbulos de grasa de las emulsiones, se observaron por Cryo-SEM las emulsiones 9H, 12L y 12H (Figura 7). Las emulsiones 9H y 12H, porque presentan la misma concentración de subproducto y fases acuosas con dos pHs diferentes y las emulsiones 12L y 12H, porque están elaboradas con fases acuosas que tienen el mismo pH, pero presentan diferente concentración de subproducto.

Al comparar las emulsiones de diferentes pHs, concretamente las 9H y 12H, se pudo apreciar que en la emulsión 9H, los glóbulos de aceite eran mayoritariamente grandes y estaban insertados en una matriz continua, constituida principalmente por los componentes del subproducto torta de cerveza. En la emulsión 9H la distribución y el tamaño de los glóbulos no fue homogéneo. Aunque sí se apreció efecto emulsionante por parte del subproducto, el sistema presentó poca estabilidad. Probablemente, la matriz continua se generó por interacciones débiles entre los biopolímeros (proteína y polisacáridos) que constituyen el

subproducto. En la emulsión 12H se observaron glóbulos de grasa de menor tamaño y más empaquetados que en la 9H. No se observó fase continua y estos glóbulos tendieron a adoptar una estructura poliédrica. En la emulsión 12H se apreció un mayor grado de estructuración que en la 9H. Esto parece indicar que el subproducto torta de cerveza a pH elevado, concretamente pH 12, proporciona efecto emulsionante y estabilizante. El efecto estabilizante de los biopolímeros presentes en la torta de cerveza parece ser mayor cuanto mayor es el pH de la fase acuosa.

Al comparar las emulsiones elaboradas con el mismo pH y diferente concentración de subproducto, concretamente las 12L y 12H, se observó que la emulsión con menor concentración (12L) estaba constituida por glóbulos de diferentes tamaños, distribuidos de forma heterogénea, y conectados y separados probablemente por una interfase constituida por las interacciones entre los biopolímeros procedentes del subproducto. La emulsión 12H, constituida por glóbulos empaquetados, pequeños y de estructura más poliédrica presentó un mayor grado de homogeneidad y estructuración que la 12L. El efecto estabilizante de los biopolímeros presentes en la torta de cerveza parece ser mayor a mayor concentración de subproducto cuando el pH de la fase acuosa es elevado.



**Figura 7.** Microestructura de las emulsiones por Cryo-SEM. A, B, C: emulsión 9H. D, E, G: emulsión 12L. G, H, I: emulsión 12H. A, D, G: 500x. B, E, H: 2000x. C, F, I: 5000x.

### 4.3. CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE LAS EMULSIONES

La reología estudia la deformación y el flujo de los materiales y permite conocer cómo éstos responden a los esfuerzos aplicados. En la industria alimentaria estas mediciones son muy importantes, ya que permiten caracterizar las materias primas, optimizar procesos de elaboración, prever la evolución del alimento durante la conservación, e incluso, mejorar la percepción sensorial (Fuentes *et al.*, 2016). Conocer estas propiedades de los alimentos resulta útil en su diseño y en la predicción de la estabilidad al almacenamiento (Talens Oliag, 2018b).

En este trabajo, se analizaron las propiedades reológicas -viscoelásticas- de las emulsiones formadas, para estudiar la influencia de la concentración de subproducto y el pH de la fase acuosa sobre la estabilidad de la emulsión. La muestra 9L no se pudo analizar debido a su inestabilidad. Para todas las propiedades estudiadas hubo interacciones significativas ( $p < 0,05$ ) entre los dos factores, concentración de subproducto y pH de la fase acuosa.

En primer lugar, se determinó el Intervalo de Viscoelasticidad Lineal (IVL). El IVL representa el rango de esfuerzos para los que el módulo elástico  $G'$  y el módulo viscoso  $G''$ , se mantienen constantes y no dependen de otros parámetros reológicos.  $G'$  representa la componente elástica del producto y  $G''$  indica el comportamiento viscoso. Una vez sobrepasado el IVL, los enlaces temporales entre las moléculas o agregados de la muestra son destruidos y esta se deforma entrando en la zona de flujo. (Talens Oliag, 2018b). Además, al representarse los módulos  $G'$  y  $G''$  puede determinarse el comportamiento de la muestra. Si predomina el comportamiento elástico -característico de los sólidos- sobre el viscoso -característico de los líquidos-, es decir  $G' > G''$ , será sólido. Si por el contrario  $G'' > G'$ , será líquido.

Para determinar el IVL se llevó a cabo un barrido de esfuerzo ( $\sigma$ ) a frecuencia constante de 1 Hz. En la Figura 8, se representan los módulos viscoelásticos en función del esfuerzo aplicado. Todas las muestras presentaban viscoelasticidad lineal en la región de bajo esfuerzo aplicado. Se seleccionó 1 Pa para hacer el barrido de frecuencia porque la muestra más débil (9M) comenzó a perder la linealidad alrededor de 3-4 Pa. Respecto al comportamiento, las emulsiones presentaron un comportamiento sólido ( $G' > G''$ ) a amplitudes bajas, y el punto de cruce entre ambos módulos -que invierte el comportamiento de sólido a líquido- se dio a esfuerzos superiores. Este comportamiento es propio de las emulsiones de elevada fase interna, que como se ha indicado previamente, tienden a actuar como sólidos elásticos por debajo de un estrés crítico y como líquidos viscosos al sobrepasarlo (Gao *et al.*, 2021). Este punto característico se desplazó hacia la derecha al aumentar el pH y la concentración, lo que indica que estas emulsiones eran capaces de aguantar mayor esfuerzo manteniendo un comportamiento sólido. Por tanto, a mayor pH y concentración las emulsiones resultaron más estables.

Después, se llevó a cabo un barrido de frecuencia ( $f$ ) a esfuerzo constante de 1 Pa. En la Figura 9 se muestra la relación entre la frecuencia y los módulos viscoelásticos. En todas las muestras y a lo largo de todo el ensayo  $G'$  fue mayor que  $G''$  y no se observó apenas dependencia de la frecuencia. Por tanto, se evidencia un sistema emulsionado sólido en todo el intervalo de frecuencia estudiado.

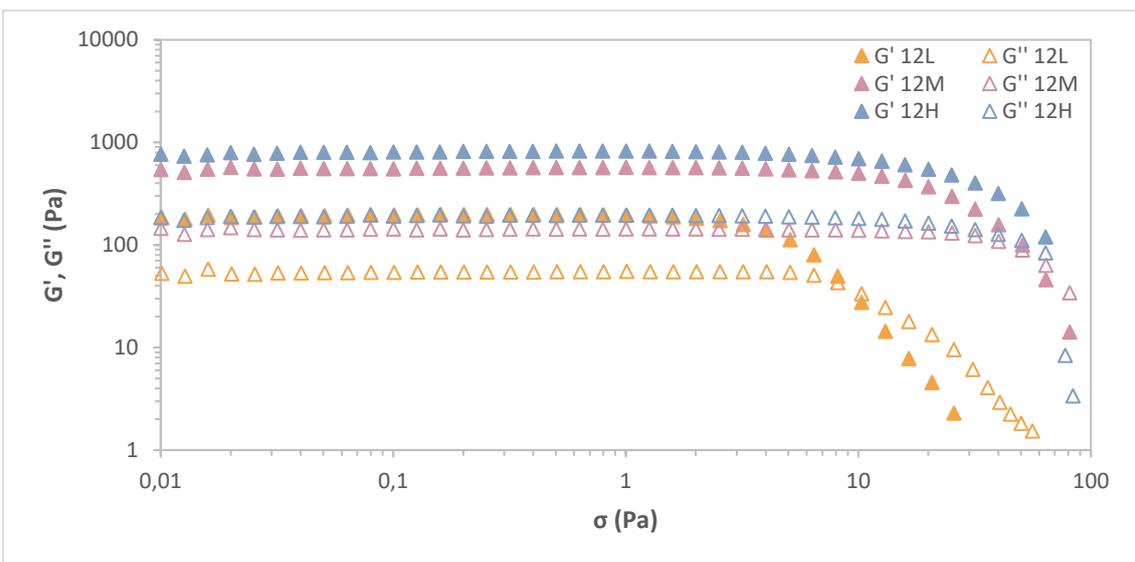
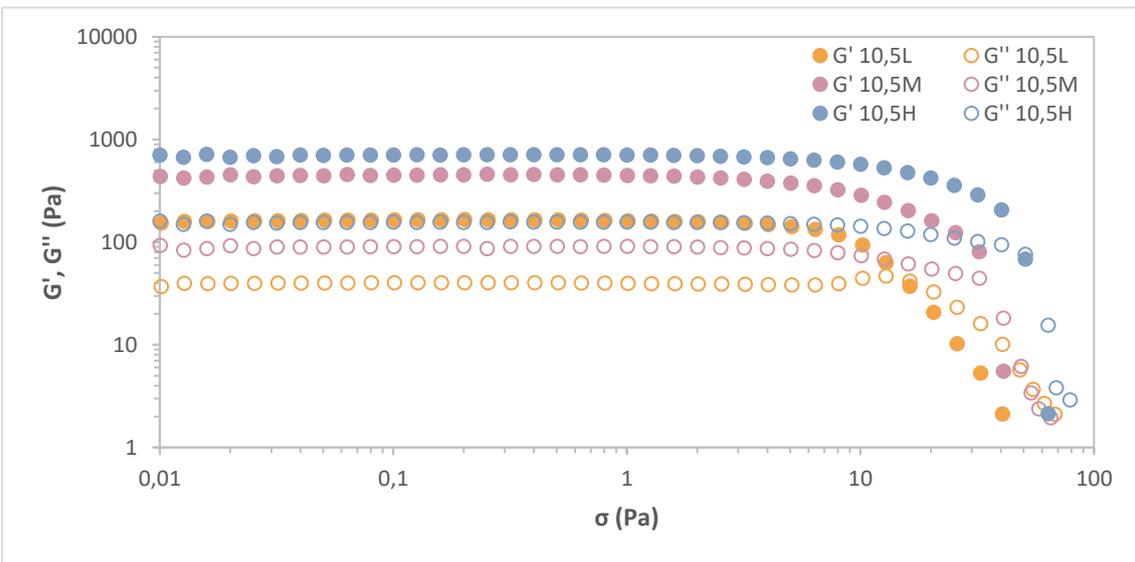
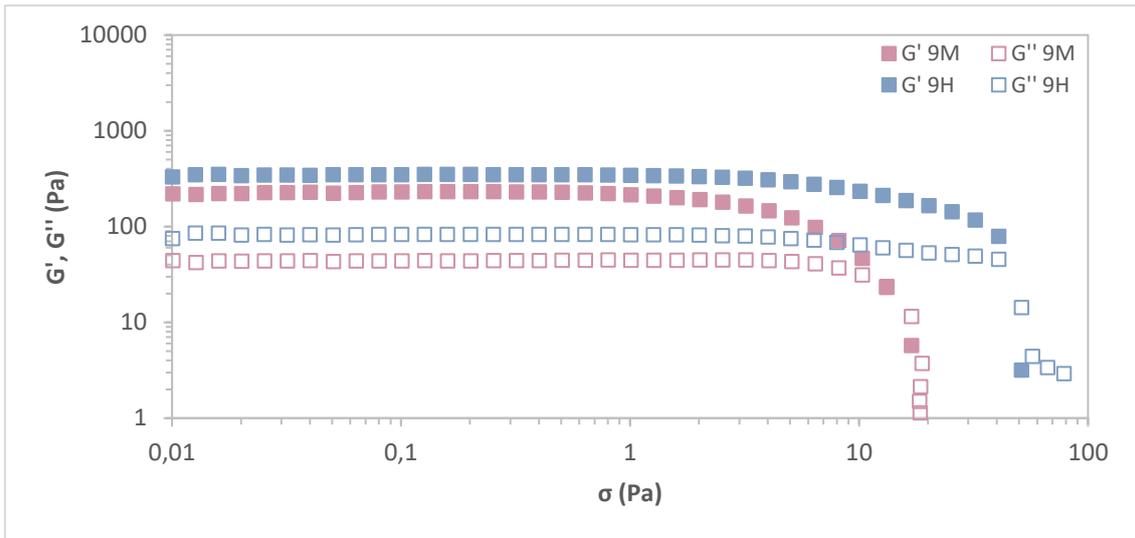


Figura 8. Barrido de esfuerzo a 1 Hz de las emulsiones.

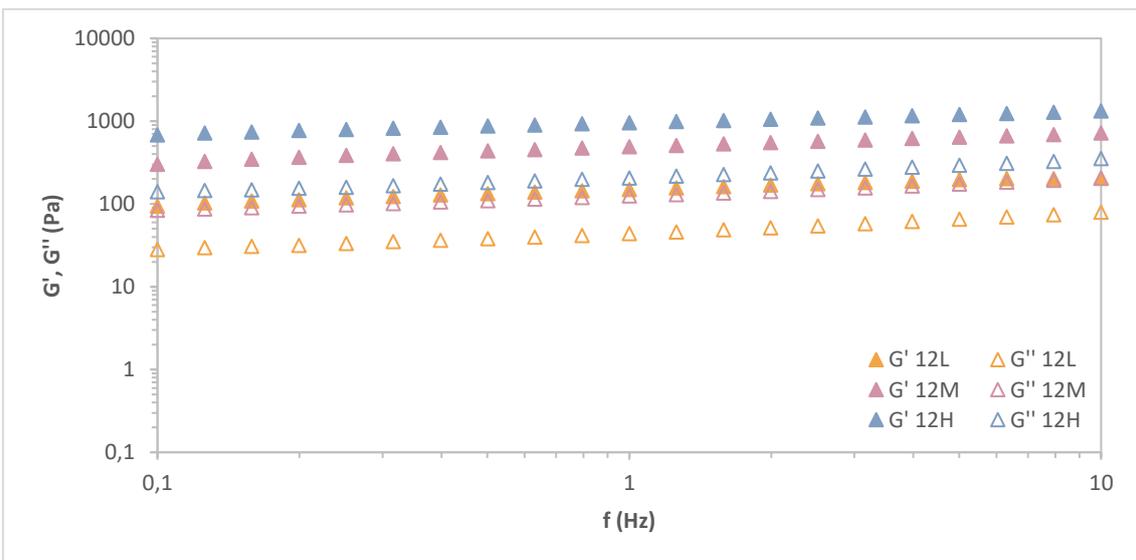
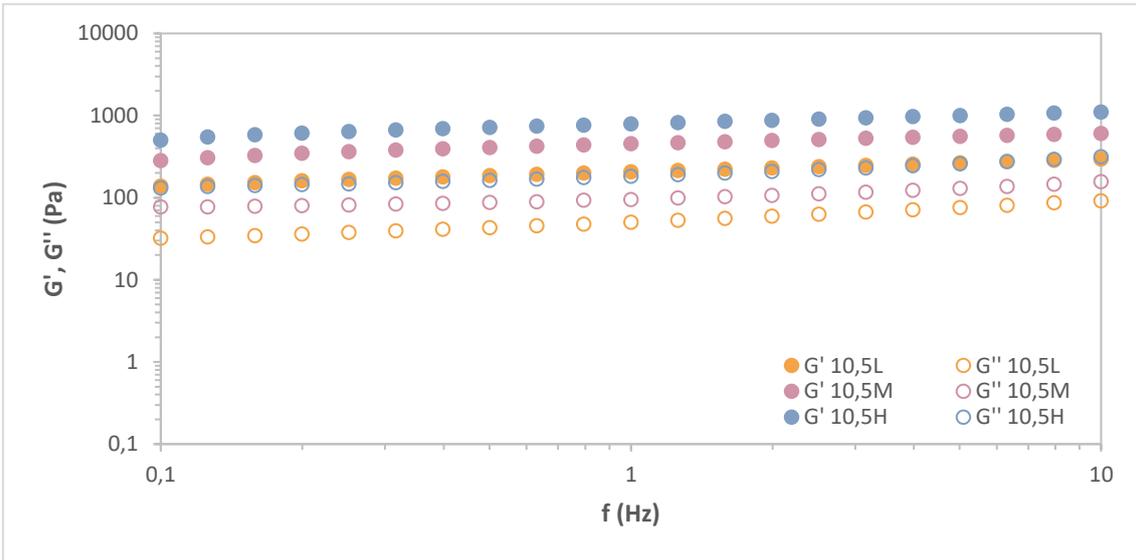
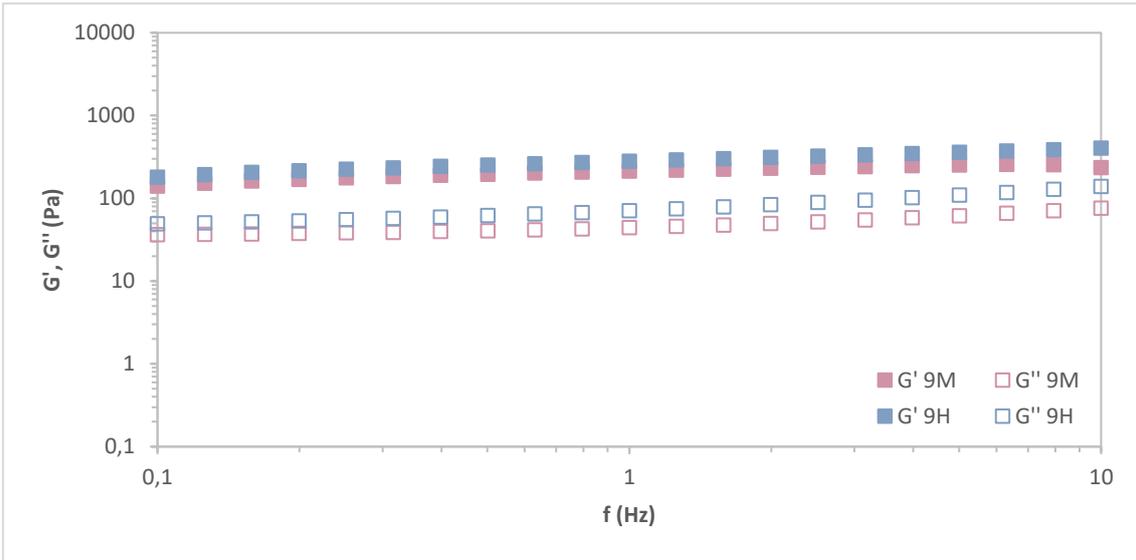


Figura 9. Barrido de frecuencia a 1 Pa de las emulsiones.

En la Tabla 2 se muestran los resultados del módulo elástico ( $G'$ ) y el viscoso ( $G''$ ) a frecuencia de 1 Hz y esfuerzo cortante aplicado de 1 Pa. En todas las muestras el módulo elástico fue mayor que el viscoso, lo que indicó un comportamiento de tipo “sólido”.

*Tabla 2. Propiedades reológicas de las emulsiones.*

Muestra	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)	Viscosidad (Pa·s)
9L	-	-	-
9M	206 (12) <sup>ab</sup>	43 (2) <sup>ab</sup>	0,24 (0,04) <sup>a</sup>
9H	261 (19) <sup>bc</sup>	67 (4) <sup>bc</sup>	0,56 (0,02) <sup>c</sup>
10,5L	69 (9) <sup>a</sup>	19 (2) <sup>ab</sup>	0,24 (0,03) <sup>a</sup>
10,5M	391 (49) <sup>cd</sup>	80 (11) <sup>c</sup>	0,67 (0,04) <sup>d</sup>
10,5H	670 (88) <sup>e</sup>	160 (16) <sup>e</sup>	0,55 (0,03) <sup>c</sup>
12L	78 (6) <sup>a</sup>	29 (3) <sup>a</sup>	0,41 (0,03) <sup>b</sup>
12M	515 (30) <sup>d</sup>	129 (6) <sup>d</sup>	1,51 (0,06) <sup>e</sup>
12H	1228 (37) <sup>f</sup>	248 (41) <sup>f</sup>	2,61 (0,03) <sup>f</sup>

$G'$  y  $G''$  están determinadas para frecuencia de 1 Hz y esfuerzo de 1 Pa y la viscosidad a un gradiente de velocidad de  $50 \text{ s}^{-1}$ . Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre muestras ( $p < 0,05$ ).

Respecto al módulo elástico ( $G'$ ), al comparar la influencia del pH de la fase acuosa, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre las muestras de menor concentración de subproducto (10,5L - 12L). Entre las muestras de concentración media, sólo la de menor pH (9M) presentó diferencias significativas respecto a las de pH medio (10,5M) y alto (12 M). Entre las muestras de mayor concentración, sí hubo diferencias significativas, aumentando el módulo con el aumento del pH (9H < 10,5H < 12H). Por tanto, a mayor pH, mayor comportamiento sólido. Al comparar la influencia de la concentración de subproducto, no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las muestras de menor pH en la fase acuosa (9M - 9H), pero sí entre las de pH medio y alto. El módulo  $G'$  aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ) al aumentar la concentración.

Respecto al módulo viscoso ( $G''$ ), al comparar la influencia del pH de la fase acuosa, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre las muestras de menor concentración de subproducto (10,5L - 12L), pero sí para las de concentración media y alta. En estas muestras el módulo  $G''$  aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ) al aumentar el pH de la fase acuosa. La influencia de concentración de subproducto tampoco influyó significativamente ( $p > 0,05$ ) entre las muestras de menor pH en la fase acuosa (9M - 9H), pero sí influyó ( $p < 0,05$ ) en las de pH medio y alto. En estas muestras el módulo  $G''$  aumentó de manera significativa ( $p < 0,05$ ) al aumentar la concentración de subproducto. Por tanto, los parámetros viscoelásticos  $G'$  y  $G''$  aumentaron sus valores al aumentar el pH de la fase acuosa y la concentración de subproducto.

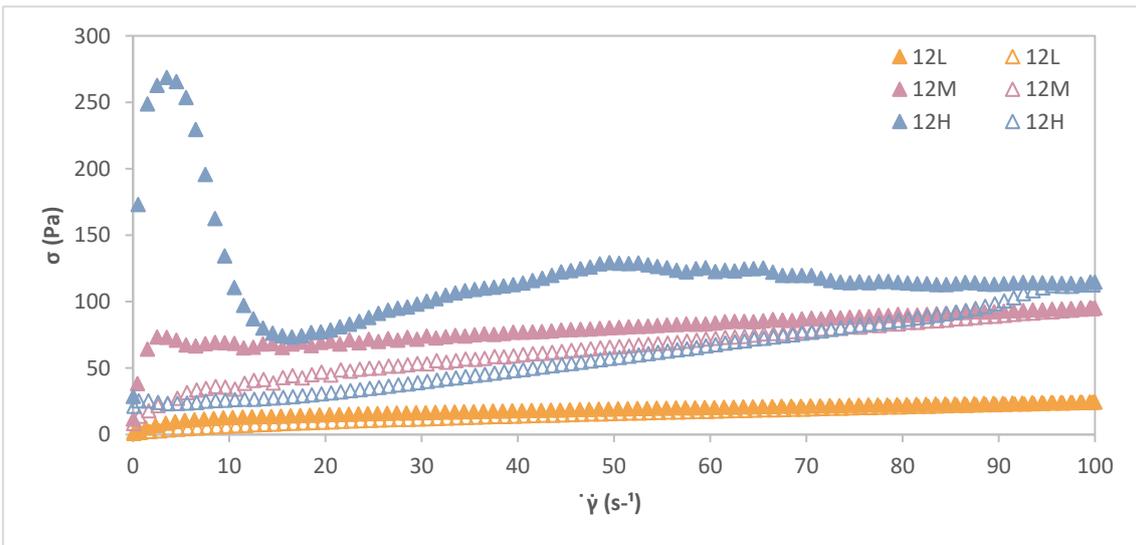
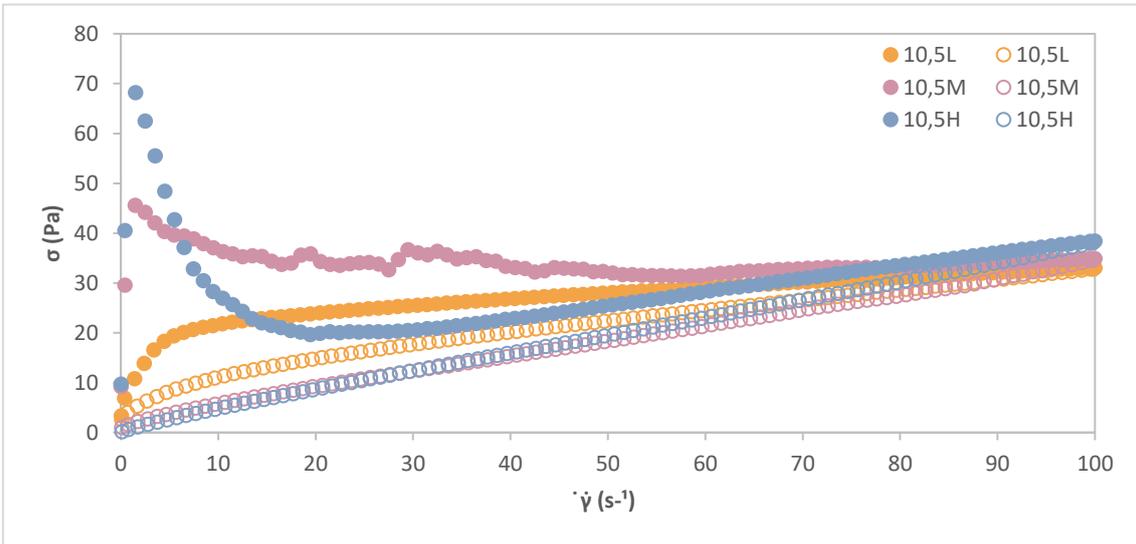
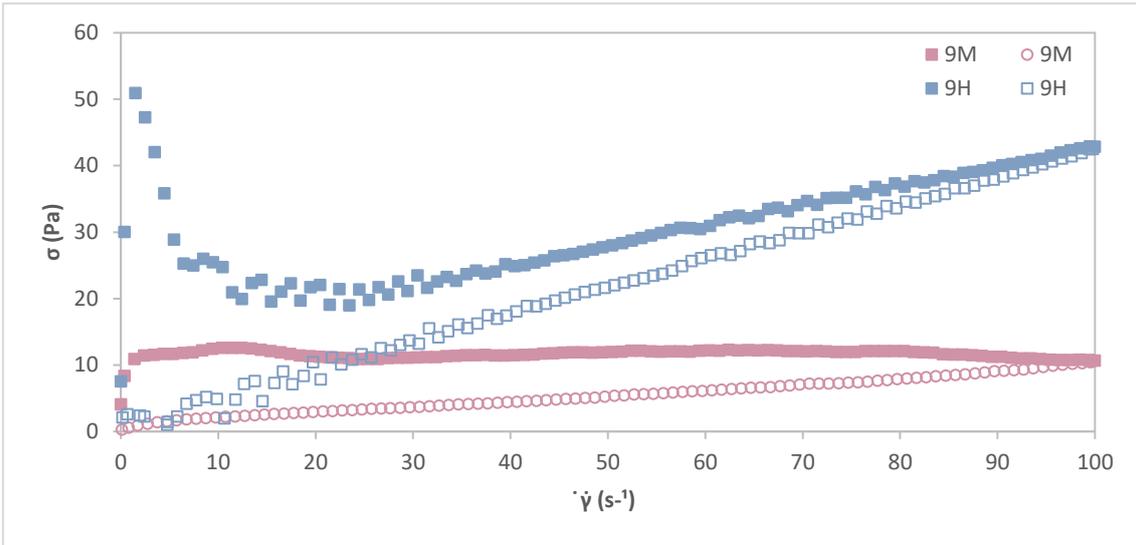
Por último, se analizó la viscosidad de las emulsiones (Tabla 2). La viscosidad es un parámetro fundamental que caracteriza a los fluidos respecto a su comportamiento reológico y es la relación entre el esfuerzo cortante (fuerza aplicada por unidad de superficie,  $\sigma$ , expresado

generalmente en Pa y el gradiente de velocidad generado ( $\dot{\gamma}$ , expresado generalmente en  $s^{-1}$ ). Para estudiar el comportamiento viscoso se estudiaron las curvas de flujo y las de viscosidad.

Primero, se determinaron las curvas de flujo para observar el comportamiento de las emulsiones y su dependencia o no del tiempo. En la Figura 10 se muestran los reogramas obtenidos, que reflejan la variación del esfuerzo cortante registrado ( $\sigma$ ) al realizar el barrido ascendente y descendente del gradiente de velocidad ( $\dot{\gamma}$ ). Respecto a la dependencia del tiempo, todas mostraron un comportamiento dependiente, ya que no coincidieron las curvas ascendentes y descendentes, apreciándose un lóbulo de histéresis. Para un gradiente de velocidad constante, el esfuerzo disminuyó con el tiempo de cizalla. Por tanto, se trataba de fluidos tixotrópicos. Estos fluidos suelen ser sistemas formados por dos fases: una dispersa (sólida, líquida o gaseosa) y otra continua líquida que, al ser sometidos a un gradiente de velocidad, reorientan, desenrollan o deforman sus partículas produciendo una disminución de la resistencia al flujo o de la viscosidad aparente. En estos productos, normalmente con estructura de gel (mayonesas, espumas...) la reodestrucción estructural es intensa y suele deberse a la ruptura de la estructura del producto, relacionada con el área de histéresis (Talens Oliag, 2018a). El fluido estudiado presentó estas características, ya que es un sistema formado por dos fases, una dispersa (aceite) y otra continua (fase acuosa compuesta por subproducto disuelto en agua) y presentó una estructura de tipo gel.

En las muestras de baja concentración (10,5L - 12L), la curva ascendente describió un comportamiento similar al de fluidos pseudoplásticos, pues la relación gradiente de velocidad-esfuerzo parte del eje de coordenadas. Sin embargo, a las concentraciones más elevadas (9H, 10,5H y 12H), la curva describió una tendencia distinta con un pico de esfuerzo a bajo gradiente de velocidad (entre 0 y  $10 s^{-1}$ ), que luego disminuyó hasta seguir la tendencia de las muestras de menor concentración. Este comportamiento fue similar al que presentan los fluidos plásticos, que se caracterizan por requerir un esfuerzo mínimo para empezar a fluir (umbral de fluencia), por debajo del cual presentan características de sólido. El pico apreciado podía deberse a una estructura compacta inicial, de tipo "gel", que para romperse y empezar a fluir requería superar un mayor nivel de esfuerzo. Esto concuerda con la microestructura analizada, en la que se apreció como a mayor concentración de subproducto, las gotas de aceite estaban más compactas y presentaban una distribución más homogénea y aparentemente estable.

Respecto a las curvas de descenso, puede observarse como en todas las muestras hubo una relación directamente proporcional entre el gradiente de velocidad y el esfuerzo. Esto podría indicar que, tras la reodestrucción de las emulsiones, fluyeron de manera similar a la de comportamiento ideal o newtoniano, comportándose como el aceite. Los resultados obtenidos fueron muy similares a los de un estudio realizado por Worrasinchai *et al.*, (2006), en el que se estudiaba la aplicación de  $\beta$ -glucano extraído a partir de subproducto de levadura de cerveza para la elaboración de mayonesa. En este estudio todas las muestras presentaron comportamiento tixotrópico. Las curvas ascendentes de las muestras con menor concentración de  $\beta$ -glucano presentaron también una tendencia pseudoplástica, y las de mayor concentración, plástica, con valores de esfuerzo umbral debido a su comportamiento sólido inicial. Las curvas descendentes también mostraron un comportamiento newtoniano.



**Figura 10.** Reograma de las emulsiones. Símbolo con relleno: curva ascendente. Símbolo sin relleno: curva descendente

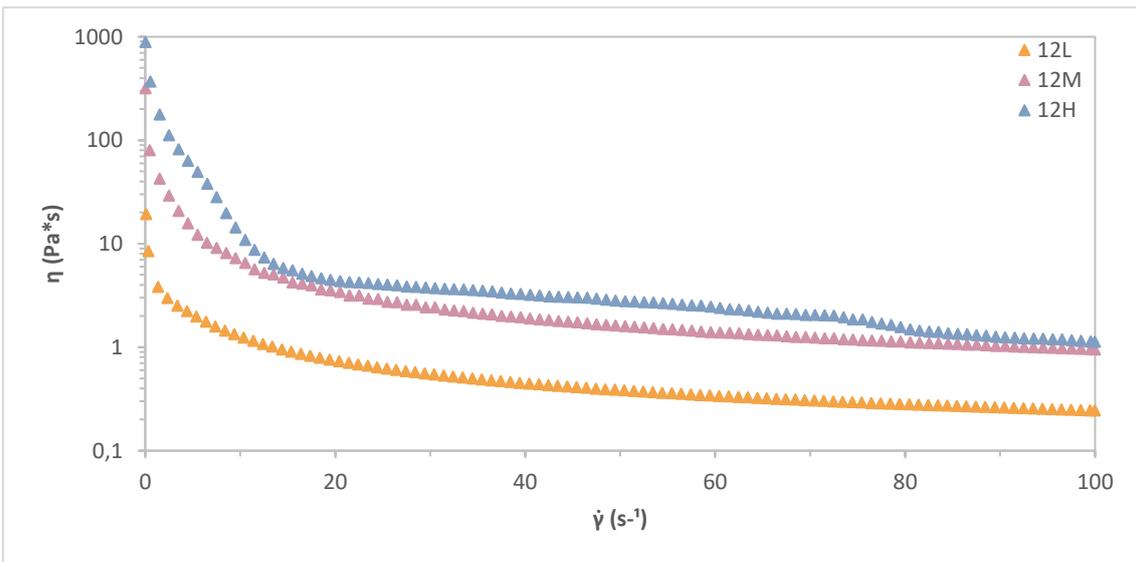
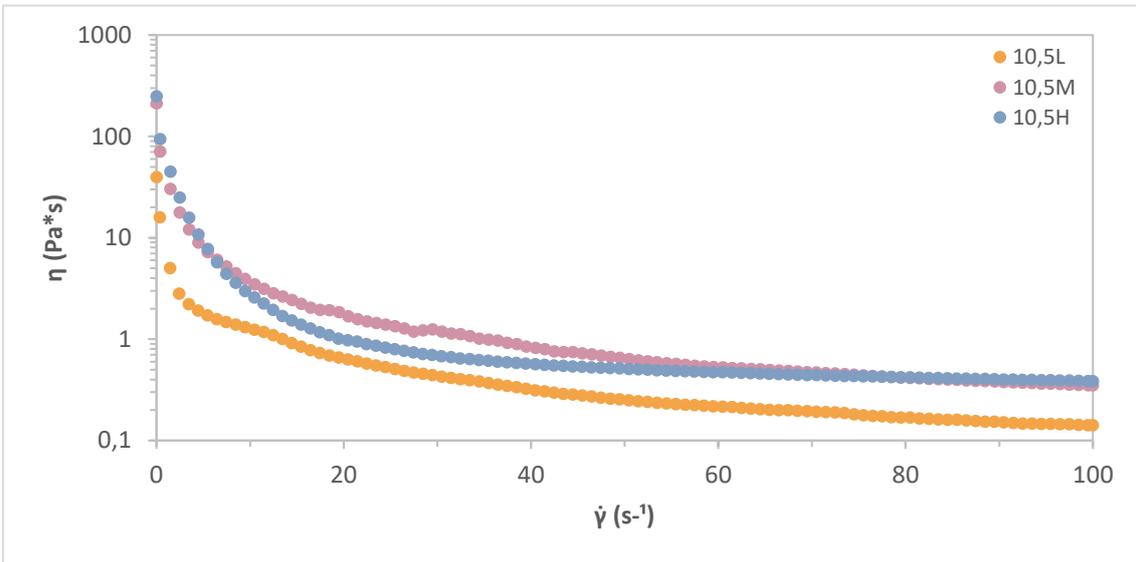
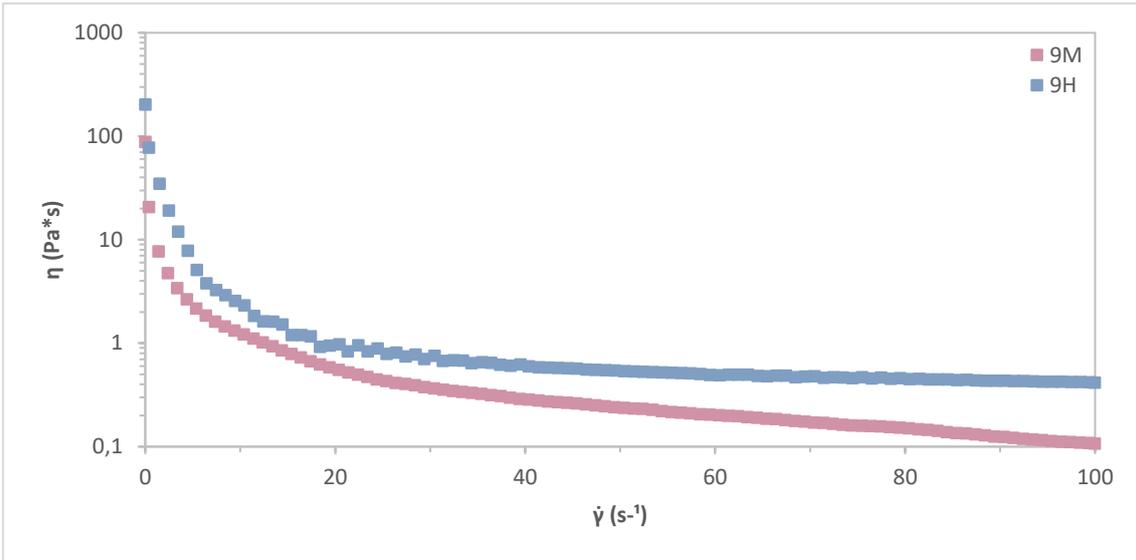
Una vez analizadas las curvas de flujo, se representó la viscosidad ( $\eta$ ) de las emulsiones en función del gradiente de velocidad generado ( $\dot{\gamma}$ ), durante el barrido ascendente (Figura 11).

En todas las muestras se observaron curvas de viscosidad muy parecidas, caracterizadas por un rápido decaimiento del valor de viscosidad en las primeras velocidades de cizallamiento para luego alcanzar un valor estacionario (en el que la disminución de viscosidad era muy lenta). Además, se observó una tendencia de mayor valor de viscosidad a mayor concentración de subproducto. Sólo la muestra 10,5H presentó cierta “anomalía” a esta tendencia, pues su valor de viscosidad fue menor que el de 10,5M, aunque al final del ensayo su valor de viscosidad ya superaba al de 10,5M.

En la Tabla 2 se muestran los valores de viscosidad a  $50 \text{ s}^{-1}$ . La influencia del pH en la fase acuosa resultó significativa ( $p < 0,05$ ) entre las muestras de baja y media concentración. Las muestras de mayor concentración sólo presentaron diferencias significativas respecto a la de mayor pH (12H). La tendencia fue de aumento de la viscosidad al aumentar el pH a excepción de la muestra 10,5H, que presentó un valor de viscosidad menor que el de 9H. La influencia de la concentración de subproducto fue significativa para todos los pHs, es decir, entre las muestras de pH 9, 10,5 y 12 se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) al aumentar la concentración. La tendencia fue de aumento de la viscosidad al aumentar la concentración de subproducto. Sin embargo, la muestra 10,5H presentó una anomalía ya que su valor fue menor que el de la 10,5M.

La relación entre el aumento de la viscosidad aparente y el aumento de concentración, concuerda con estudios sobre emulsiones a las que se añadió glicina de soja (Liu y Tang, 2016) y sobre emulsiones a partir de proteína de suero aislada a diferente concentración (Liu *et al.*, 2019). El comportamiento presentado por la muestra de disminución de viscosidad aparente al aumentar la velocidad de cizallamiento, fue el comportamiento característico de los sólidos blandos, cuya estructura se rompe por cizallamiento (Liu *et al.*, 2019). Este comportamiento es propio de emulsiones altamente concentradas que, a elevadas velocidades de cizallamiento, fluyen como consecuencia de la destrucción de su estructura interna (Derkach, 2010).

Estos resultados se pueden relacionar con la microestructura, en la que se observaba como a mayor pH y concentración, las emulsiones tenían tamaños de gota más pequeños y las gotas estaban más juntas. Según Liu *et al.* (2019), esto puede vincularse al aumento de la viscosidad por tres razones: primero, porque al ser gotas más pequeñas, aumenta el número de contactos por unidad de volumen; segundo, porque esta disminución en el volumen de gotas disminuye su deformabilidad al aumentar su presión de Laplace y tercero, porque el aumento de concentración pudo haber aumentado las interacciones entre gotas debido a mayor nivel de floculación (Liu *et al.*, 2019).



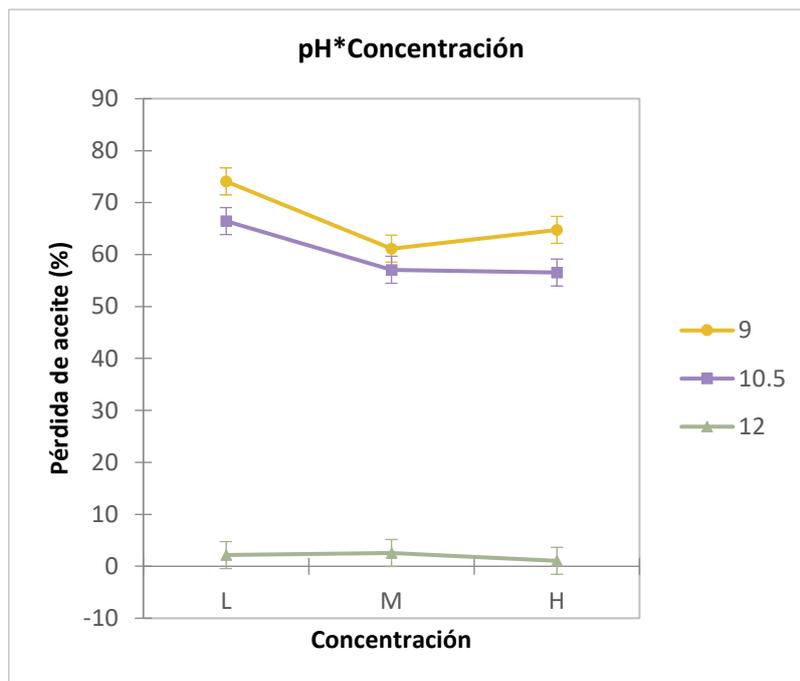
**Figura 11.** Curva de viscosidad de las emulsiones.

Los resultados también se pueden relacionar con el efecto del aumento del pH sobre los componentes de la torta de cerveza. Según se ha explicado anteriormente, la torta está formada por mosto lupulado y levaduras gastadas, que en conjunto contienen principalmente proteínas de alto peso molecular, polisacáridos y glucanos y glucoproteínas procedentes de las paredes celulares de las levaduras. Según Pinto *et al.* (2015), al aumentar el pH de la fase acuosa hasta 12,0 se solubilizan proteínas y algunos polisacáridos de la pared celular, liberándose a la fase acuosa biopolímeros de la pared celular. Según Avramia y Amariei (2015), el medio alcalino podría haber degradado la estructura ramificada de los glucanos y sus enlaces covalentes con las manoproteínas, reduciendo su grado de ramificación y polimerización. Además, a mayor pH las manoproteínas aumentan su solubilidad, según estudiaron Li y Karboune (2019). Por tanto, estas podrían ser algunas justificaciones de cómo el aumento del pH tendría un efecto positivo sobre la viscosidad aparente.

Respecto al efecto de la concentración de subproducto, que también aumentó la viscosidad, se puede asociar a la mayor cantidad de compuestos estabilizantes y emulsionantes que participan en la emulsión; especialmente, los polisacáridos y proteínas procedentes de levadura (Vélez-Erao *et al.*, 2020).

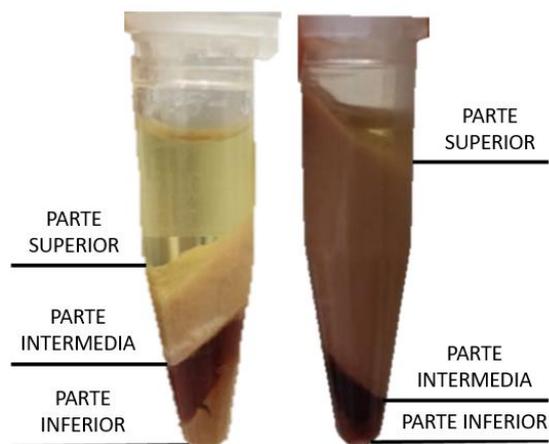
#### **4.4. ESTABILIDAD FÍSICA DE LAS EMULSIONES**

En los resultados de estabilidad física se pudo comprobar que sí hubo interacciones ( $p < 0,05$ ) entre los factores concentración de subproducto y pH de la disolución acuosa. En la Figura 12 se muestran el gráfico de interacciones obtenido para la pérdida de aceite de las diferentes emulsiones estudiadas. En las emulsiones elaboradas con pH 9,0 y 10,5, la pérdida de aceite fue superior al 50 % para todas las concentraciones de subproducto, siendo significativamente ( $p < 0,05$ ) más altos los valores de pérdida para las elaboradas a baja concentración de subproducto. No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre las elaboradas con una cantidad media y elevada de subproducto para ninguno de estos pHs. Sin embargo, las muestras elaboradas con pH 12 fueron las más estables y no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre ellas. Estos resultados parecen indicar que, aunque tanto el pH de la disolución acuosa con la que se formula la emulsión como la concentración de subproducto influyen en la estabilidad de las emulsiones, el aumento del pH parece ser el factor más decisivo, mostrando las emulsiones de mayor pH una mayor estabilidad.



**Figura 12.** Gráfico de interacciones para la pérdida de aceite de las emulsiones.

En la Figura 13 se puede observar, a modo de ejemplo, la apariencia de las emulsiones 9H y 12H tras su centrifugación. Como se puede apreciar, en ambas emulsiones se pudieron distinguir 3 fases. La superior, formada por el aceite libre, fue mucho mayor en la emulsión de menor pH. Como se ha visto en las imágenes obtenidas por microscopía, las emulsiones de menor pH son también las menos estructuradas. La fase intermedia, constituida por la emulsión, fue mucho mayor en la emulsión de mayor pH. La fase inferior estuvo formada por la fase acuosa y compuestos insolubles precipitados. Esto podría significar que las propiedades emulsionantes del subproducto podrían deberse principalmente a compuestos solubles presentes en la torta de cerveza, como proteínas y polisacáridos solubles, que las fuerzas centrífugas no han sido capaces de eliminar de la interfase. Por tanto, un aumento de concentración de subproducto podría favorecer la estabilidad de las emulsiones al proporcionar mayor cantidad de producto emulsionante y estabilizante para formar la emulsión. Además, un aumento de pH podría favorecer la estabilidad de la emulsión al favorecer la capacidad emulsionante de los polímeros que integran el subproducto.



**Figura 13.** Apariencia de las emulsiones después de la centrifugación. Izquierda: muestra 9H; derecha: muestra 12H.

#### 4.5. COLOR DE LAS EMULSIONES

En la Figura 14 se muestra una imagen de todas las emulsiones estudiadas en este trabajo.



**Figura 14.** Apariencia física de las emulsiones.

En la Tabla 3 se muestran los parámetros de color, L\*, C\* y h\*, obtenidos tras analizar las emulsiones. No hubo interacciones ( $p > 0,05$ ) entre los factores concentración de subproducto y pH de la fase acuosa para ninguno de los parámetros de color estudiados. Los dos factores, sin embargo, tuvieron un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre estos parámetros.

*Tabla 3. Parámetros de color de las emulsiones.*

Muestra	L*	C*	h*
9L	55,8 (0,7) <sup>cd</sup>	18,5 (0,9) <sup>a</sup>	93,9 (1,1) <sup>f</sup>
9M	54,2 (1,3) <sup>bcd</sup>	21,7 (1,2) <sup>cd</sup>	89,2 (0,5) <sup>e</sup>
9H	47,7 (0,9) <sup>a</sup>	21,0 (0,6) <sup>bc</sup>	86,9 (0,8) <sup>e</sup>
10,5L	57,7 (0,7) <sup>d</sup>	19,8 (0,9) <sup>ab</sup>	87,3 (1,1) <sup>e</sup>
10,5M	53,8 (0,8) <sup>bcd</sup>	21,9 (0,1) <sup>cd</sup>	82,3 (1,5) <sup>d</sup>
10,5H	51 (3) <sup>ab</sup>	22,7 (0,9) <sup>d</sup>	83,6 (1,6) <sup>d</sup>
12L	57 (5) <sup>d</sup>	20,61 (0,03) <sup>bc</sup>	77,9 (1,5) <sup>c</sup>
12M	57 (3) <sup>d</sup>	23,0 (0,4) <sup>d</sup>	71,4 (0,5) <sup>a</sup>
12H	52,5 (1,5) <sup>bc</sup>	24,5 (1,3) <sup>e</sup>	74,7 (0,3) <sup>b</sup>

Diferentes superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre muestras ( $p < 0,05$ ).

La coordenada L\*, mide la luminosidad de un color en el intervalo entre 0 (negro) y 100 (blanco). Todas las emulsiones mostraron valores de L\* dentro del rango 40 - 60, por lo que todas las emulsiones presentaron una luminosidad intermedia. En cuanto a la influencia del pH de la fase acuosa de la emulsión, solo se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las muestras 9H y 12H, es decir, entre las elaboradas con elevada concentración de subproducto y los pHs extremos, siendo mayor el valor de L\* para la emulsión de mayor pH. Si se comparan, únicamente, las emulsiones con el mismo pH de fase acuosa, las muestras elaboradas con una mayor concentración de subproducto (9H - 10,5H - 12H) presentaron valores de L\* inferiores ( $p < 0,05$ ) que las elaboradas con una cantidad media (9M - 12M) y baja de subproducto (9L - 10,5L - 12L), sin encontrarse diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre las emulsiones con baja y media concentración de subproducto. A pH 10,5 las emulsiones con media concentración de subproducto no presentaron diferencias ni con las de alta ni baja concentración.

A partir de los parámetros L\*, a\* y b\*, se obtienen las coordenadas psicométricas, la pureza de color o croma (C\*) y el tono (h\*).

El croma (C\*) mide la saturación o pureza de un color, y se representa como la línea recta desde el eje central del espacio de color ( $a^* = b^* = 0$ ) hasta un punto exterior. Por tanto, para un estímulo acromático, el valor de C\* es 0 -sin orientación hacia rojo, verde, azul o amarillo- y para un color altamente saturado, C\* tiene un valor elevado.

Los valores del croma se situaron en el intervalo entre 15 y 25 (Tabla 3). Si se compara el efecto del pH en las emulsiones con una misma concentración de subproducto, se puede observar que hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las emulsiones elaboradas con baja concentración de subproducto, 9L y 12L y las elaboradas con alta concentración, 9H y 12 H. El valor de C\* fue

mayor ( $p < 0,05$ ) al aumentar el pH, excepto para concentraciones intermedias de subproducto. En cuanto a la influencia de la concentración de subproducto, a pH 9 y a pH 10,5 se observaron diferencias ( $p < 0,05$ ) en los valores de  $C^*$  entre las muestras elaboradas con bajo contenido en subproducto y las elaboradas con mayor contenido, siendo mayor la  $C^*$  en las emulsiones con mayor concentración, sin encontrar diferencias ( $p > 0,05$ ) entre las elaboradas con un contenido medio y alto de subproducto. A pH 12 hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las tres emulsiones, aumentando el valor de  $C^*$  al aumentar la concentración de subproducto. En general, los valores de  $C^*$  aumentaron tanto al aumentar la concentración de subproducto como el pH de la fase acuosa de la emulsión.

Por último, el parámetro  $h^*$  representa el ángulo de tonalidad. El origen  $0^\circ$  está definido por valor de  $a^* > 0$  y  $b^* = 0$ , y representa un color puramente rojo. Si giramos en sentido antihorario, el ángulo  $90^\circ$  representa un color estrictamente amarillo ( $a^* = 0$  y  $b^* > 0$ ), del de  $180^\circ$  ( $a^* < 0$  y  $b = 0$ ) estrictamente verde y el de  $270^\circ$  ( $a^* = 0$  y  $b^* < 0$ ), puramente azul.

En la Tabla 3 se puede observar que, para la mayoría de las emulsiones, el ángulo de tonalidad se situó entre  $70^\circ$  y  $90^\circ$ , excepto para la emulsión de pH 9,0 y concentración 1,0, que superó el ángulo de  $90^\circ$ . Para esta emulsión el color fue amarillo - verdoso. Sin embargo, el resto de las emulsiones se situaron en el intervalo rojo - amarillo, por lo que la mayoría de las emulsiones presentaron tonos anaranjados. En general, el aumento del pH de la fase acuosa de la emulsión mostró emulsiones más rojizas. En cuanto a la concentración de subproducto, si se comparan las emulsiones del mismo pH, el aumento en la concentración de subproducto también generó emulsiones más rojizas. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las emulsiones 9M y 9H, ni entre las 10,5M y 10,5H. Todas las emulsiones formuladas a pH 12 presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre ellas, siendo las elaboradas con menor concentración de subproductos (12L) las que presentaron los valores significativamente ( $p < 0,05$ ) más elevados de  $h$ . La influencia de la concentración de subproducto en el tono pareció ser mayor a valores de pH de disolución acuosa elevados. El motivo por el que el aumento de pH de la fase acuosa provocó una disminución del ángulo de tono, cambiando las muestras de un tono amarillo-verdoso a uno anaranjado, puede deberse al efecto del pH sobre el lúpulo. Según Bedini *et al.* (2015), los lúpulos gastados son una fuente del flavonoide xantohumol (compuesto bioactivo). Un aumento en el pH del medio favorece la separación de estos flavonoides de la pared celular y por lo tanto su extracción (Zechner Krpan *et al.*, 2010). Este compuesto, cuando está en disolución, exhibe un color rojo intenso (Verzele *et al.*, 1957), que puede explicar la disminución de ángulo de tono hacia uno más rojizo.

## 5. CONCLUSIONES

El aumento de la concentración de subproducto y del pH de la fase acuosa permitió desarrollar emulsiones de elevada estabilidad física y estructural, con glóbulos de tamaño regular y de estructura poliédrica, distribuidos de manera homogénea.

En general, los resultados de reología evidenciaron una estructura más estable a mayor pH y mayor concentración de subproducto. En las muestras con alta concentración de subproducto se observó un pico de esfuerzo en el comportamiento al flujo que se asocia a la estructura sólida característica de las emulsiones de alta fase interna.

El aumento en la concentración de subproducto disminuyó los valores de luminosidad. En general, el aumento en la concentración de subproducto y del pH de la fase acuosa de la emulsión aumentó los valores de croma y disminuyó el ángulo de tono, favoreciendo la formación de emulsiones de tono anaranjado.

Con este trabajo se demuestra que es posible valorizar el subproducto del proceso industrial de elaboración de cerveza llamado torta de cerveza para su uso como estabilizante en el diseño de emulsiones de elevada fase interna. Sin embargo, sería conveniente plantear nuevas investigaciones que profundicen en el aprovechamiento de este subproducto para el diseño de emulsiones concentradas.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., y Huang, N. (2019). Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, 309(April), 302–332. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.003>
- Avramia, I., y Amariei, S. (2015). *Molecular Sciences Spent Brewer's Yeast as a Source of Insoluble  $\beta$ -Glucans*. <https://doi.org/10.3390/ijms22020825>
- Bascuas, S., Morell, P., Hernando, I., y Quiles, A. (2021). Recent trends in oil structuring using hydrocolloids. In *Food Hydrocolloids* (Vol. 118, p. 106612). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106612>
- Bedini, S., Flamini, G., Girardi, J., Cosci, F., y Conti, B. (2015). Not just for beer: evaluation of spent hops (*Humulus lupulus* L.) as a source of eco-friendly repellents for insect pests of stored foods. *Journal of Pest Science*. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0647-1>
- Dahiya, S., Kumar, A. N., Shanthi Sravan, J., Chatterjee, S., Sarkar, O., y Mohan, S. V. (2018). Food waste biorefinery: Sustainable strategy for circular bioeconomy. In *Bioresource Technology* (Vol. 248). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.176>
- Dalmau Estelrich, M. E. (2019). *Revalorización de subproductos vegetales. Efecto del procesado sobre la extracción, estabilidad y bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes*. <http://dspace.uib.es/xmlui/handle/11201/150381>
- de Melo, A. N. F., de Souza, E. L., da Silva Araujo, V. B., y Magnani, M. (2015). Stability, nutritional and sensory characteristics of French salad dressing made with mannoprotein from spent brewer's yeast. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 771–774. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.050>
- Derkach, S. R. (2010). *Rheology on the Way from Dilute to Concentrated Emulsions Rheology on the Way from Dilute to Concentrated Emulsions*. January.
- Esparza, I., Jiménez-Moreno, N., Bimbela, F., Ancín-Azpilicueta, C., y Gandía, L. M. (2020). Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches. In *Journal of Environmental Management* (Vol. 265, p. 110510). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110510>
- Ferreira, I. M. P. L. V. O., Pinho, O., Vieira, E., y Távarela, J. G. (2010). Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 21, Issue 2, pp. 77–84). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.008>
- Fillaudeau, L., Blanpain-Avet, P., y Daufin, G. (2006). Water, wastewater and waste management in brewing industries. *Journal of Cleaner Production*, 14(5), 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2005.01.002>
- Fuentes, A., Cortes, V., y Talens, P. (2016). Comportamiento reológico de un alimento en función su contenido en grasa. *Universitat Politècnica de València*.

- Gao, H., Ma, L., Cheng, C., Liu, J., Liang, R., Zou, L., Liu, W., y Julian, D. (2021). *Trends in Food Science y Technology Review of recent advances in the preparation , properties , and applications of high internal phase emulsions*. 112(March), 36–49. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.041>
- Karlovic, A., Juric, A., Coriccoric, N., Habschied, K., Krstanovic, V., y Mastanjevic, K. (2020). fermentation By-Products in the Malting and Brewing Industries-Re-Usage Possibilities. *MDPI. Fermentation* 2020, 6. <https://doi.org/10.3390/fermentation6030082>
- Kosseva, M. R. (2009). Processing of food wastes. In *Advances in Food and Nutrition Research* (1st ed., Vol. 58, Issue 09). Elsevier Inc. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(09\)58003-5](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(09)58003-5)
- Krauss, R. M., y Kris-Etherton, P. M. (2020). Public health guidelines should recommend reducing saturated fat consumption as much as possible: Debate Consensus. *American Journal of Clinical Nutrition*, 112(1), 25–26. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa134>
- Kwon, Y. (2016). Effect of trans–fatty acids on lipid metabolism: Mechanisms for their adverse health effects. *Food Reviews International*, 32(3), 323–339. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1075214>
- Li, J., y Karboune, S. (2019). Characterization of the composition and the techno-functional properties of mannoproteins from *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell walls. *Food Chemistry*, 297(May), 124867. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.141>
- Liu, F., y Tang, C. H. (2016). Soy glycinin as food-grade Pickering stabilizers: Part. III. Fabrication of gel-like emulsions and their potential as sustained-release delivery systems for  $\beta$ -carotene. *Food Hydrocolloids*, 56, 434–444. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.01.002>
- Liu, W., Gao, H., McClements, D. J., Zhou, L., Wu, J., y Zou, L. (2019). Stability, rheology, and  $\beta$ -carotene bioaccessibility of high internal phase emulsion gels. *Food Hydrocolloids*, 88, 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.012>
- Marson, G. V., de Castro, R. J. S., Belleville, M. P., y Hubinger, M. D. (2020). Spent brewer’s yeast as a source of high added value molecules: a systematic review on its characteristics, processing and potential applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(7). <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02866-7>
- Olajire, A. A. (2020). The brewing industry and environmental challenges. *Journal of Cleaner Production*, 256, 102817. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.03.003>
- Patel, A. R., y Dewettinck, K. (2016). Edible oil structuring: An overview and recent updates. *Food and Function*, 7(1), 20–29. <https://doi.org/10.1039/c5fo01006c>
- Pimentel-Moral, S., Cádiz-Gurrea, M. de la L., Rodríguez-Pérez, C., y Segura-Carretero, A. (2020). Recent advances in extraction technologies of phytochemicals applied for the revaluation of agri-food by-products. In *Functional and Preservative Properties of Phytochemicals*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818593-3.00007-5>
- Pinto, M., Coelho, E., Nunes, A., Brandão, T., y Coimbra, M. A. (2015). Valuation of brewers spent yeast polysaccharides: A structural characterization approach. *Carbohydrate Polymers*, 116, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.010>

- Rachwał, K., Waśko, A., Gustaw, K., y Polak-Berecka, M. (2020). Utilization of brewery wastes in food industry. *PeerJ*, 8, e9427. <https://doi.org/10.7717/peerj.9427>
- Saraiva, B. R., Anjo, F. A., Vital, A. C. P., Silva, L. H. M. da, Ogawa, C. Y. L., Sato, F., Coimbra, L. B., y Matumoto-Pintro, P. T. (2019). Waste from brewing (trub) as a source of protein for the food industry. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1247–1255. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14101>
- Senna Ferreira Costa, F., Roquete Amparo, T., Brandão Seibert, J., Silveira, B. M., Gomes da Silva, R., Inocêncio Pereira, D., Gontijo Garcia Barbosa, R., dos Santos, O. D. H., Brandão, G. C., de Medeiros Teixeira, L. F., Melo de Abreu Vieira, P., y Bianco de Souza, G. H. (2021). Reuse of Hot Trub as an Active Ingredient with Antioxidant and Antimicrobial Potential. *Waste and Biomass Valorization*, 12(4), 2037–2047. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01163-6>
- Silva Araújo, V. B. Da, Melo, A. N. F. De, Costa, A. G., Castro-Gomez, R. H., Madruga, M. S., Souza, E. L. De, y Magnani, M. (2014). Followed extraction of  $\beta$ -glucan and mannoprotein from spent brewer's yeast (*Saccharomyces uvarum*) and application of the obtained mannoprotein as a stabilizer in mayonnaise. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 23, 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.12.013>
- Talens Oliag, P. (2017). Evaluación del color y tolerancia de color en alimentos a través del espacio CIELAB. *Tecnología de Alimentos*, 1–7. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/83392/Talens - Evaluación del color y tolerancia de color en alimentos a través del espacio CIELAB.pdf?sequence=1>
- Talens Oliag, P. (2018a). *Caracterización del comportamiento reológico de un alimento fluido tixotrópico*. <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/103382>
- Talens Oliag, P. (2018b). *Cómo caracterizar el comportamiento viscoelástico de un alimento*. 1–7. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/103393/Talens - Cómo caracterizar el comportamiento viscoelástico de un alimento.pdf?sequence=1>
- Thiago, R. dos S. M., Pedro, P. M. de M., y Eliana, F. C. S. (2014). Solid wastes in brewing process: A review. *Journal of Brewing and Distilling*, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.5897/jbd2014.0043>
- Vélez-Erazo, E. M., Bosqui, K., Rabelo, R. S., Kurozawa, L. E., y Hubinger, M. D. (2020). High internal phase emulsions (HIPE) using pea protein and different polysaccharides as stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 105, 105775. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105775>
- Verzele, M., Stockx, J., Fontijn, F., y Anteunis, M. (1957). Xanthohumol, a New Natural Chalkone. *Bulletin Des Sociétés Chimiques Belges*, 66(1), 452–475. <https://doi.org/10.1002/bscb.19570660137>
- Wijaya, W., Sun, Q. Q., Vermeir, L., Dewettinck, K., Patel, A. R., y Van der Meeren, P. (2019). pH and protein to polysaccharide ratio control the structural properties and viscoelastic network of HIPE-templated biopolymeric oleogels. *Food Structure*, 21, 100112. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2019.100112>
- Wijaya, W., Van der Meeren, P., Wijaya, C. H., y Patel, A. R. (2017). High internal phase emulsions

stabilized solely by whey protein isolate-low methoxyl pectin complexes: effect of pH and polymer concentration. *Food and Function*, 8(2), 584–594. <https://doi.org/10.1039/c6fo01027j>

Wilczek, M. M., Olszewski, R., y Krupienicz, A. (2017). Trans-Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Urgent Need for Legislation. *Cardiology (Switzerland)*, 138(4), 254–258. <https://doi.org/10.1159/000479956>

Worrasinchai, S., Suphantharika, M., Pinjai, S., y Jamnong, P. (2006).  $\beta$ -Glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer in mayonnaise. *Food Hydrocolloids*, 20(1), 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.03.005>

Zamani, S., Malchione, N., Selig, M. J., y Abbaspourrad, A. (2018). Formation of shelf stable Pickering high internal phase emulsions (HIPE) through the inclusion of whey protein microgels. *Food and Function*, 9(2), 982–990. <https://doi.org/10.1039/c7fo01800b>

Zechner Krpan, V., Petravić-Tominac, V., Galović, P., Galović, V., Filipovic-Grcic, J., y Srečec, S. (2010). *Application of Different Drying Methods on  $\beta$ -Glucan Isolated from Spent Brewer's Yeast Using Alkaline Procedure*. May 2014.