



**Universidad**  
Zaragoza

# Trabajo Fin de Grado

Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural  
Mención en Industrias Alimentarias

## **Caracterización del proceso de secado con aire caliente de piensos experimentales**

Study on the drying process of experimental  
compound feeds

Autor

**Sofía Isabel Pueyo Sarasa**

Directores

Joan J. Manyá Cervelló  
Joaquín C. Surra Muñoz

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR  
2022

Yo, Sofia Isabel Pueyo Sarasa, declaro que el Trabajo de Fin de Grado que presento para su exposición y defensa es original, y que todas las fuentes utilizadas para su realización han sido debidamente citadas en el mismo.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke at the bottom.

27/11/2022

A mis directores, Joaquín y Joan, por darme la oportunidad de realizar este trabajo,  
enseñarme y dedicarme su tiempo.

A Jesús de la Osada García, Catedrático de Universidad del Departamento de  
Bioquímica y Biología Molecular y Celular de la Universidad de Zaragoza, Investigador  
Principal del grupo Investigación del Gobierno de Aragón: Dieta mediterránea y  
potencial nutraceutico (B16\_20R) por contribuir a la financiación de este estudio.

A Roberto Martínez-Beamonte, Investigador del CIBER de Fisiopatología de la  
Obesidad y Nutrición, del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular  
de la Universidad de Zaragoza, por ayudarme en todo momento.

A José Antonio Manso, Inmaculada Palacín y Begoña Portaña, técnicos de Laboratorio  
de la EPSH, por la dedicación y compañía que me han prestado.

A mis amigos, por estar siempre.

A mi familia, especialmente a mis padres y a mi hermano, por creer siempre en mí.

A mi tío José Miguel.

# ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
1. INTRODUCCIÓN .....	3
1.1. Origen e importancia de los piensos compuestos .....	3
1.2. Producción de piensos .....	3
1.3. Procesos en la fabricación de piensos .....	6
1.4. Los piensos experimentales .....	8
2. ANTECEDENTES .....	10
2.1. Fundamento del secado de sólidos con aire caliente .....	10
2.2. Factores de variación que afectan o intervienen en el proceso de secado .....	16
2.3. Equipos de secado .....	17
2.4. El escualeno, molécula con efectos beneficiosos para la salud humana .....	20
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS .....	23
4. MATERIAL Y MÉTODOS .....	24
4.1. Piensos experimentales .....	24
4.2. Preparación de los piensos experimentales .....	25
4.3. Secado de los piensos experimentales .....	27
4.4. Determinación experimental de la isoterma de sorción de los piensos .....	31
4.5. Tratamiento de datos y análisis estadísticos .....	33
4.6. Extracción del escualeno del pienso para su posterior análisis por Cromatografía de Gases – Masas (GC-MS) .....	35
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
5.1. Curvas de secado de los piensos experimentales .....	40
5.2. Isotermas de sorción de los piensos experimentales .....	42
5.3. Tiempos de secado y humedades de equilibrio obtenidas con los tratamientos de secado .....	44
5.4. Factores que afectan al tiempo de secado .....	44
5.5. Concentración de escualeno de los piensos experimentales .....	47
6. CONCLUSIONES .....	51
7. BIBLIOGRAFÍA .....	52
8. ANEXOS .....	55
8.1. Datos registrados en el en el estudio de las curvas de secado .....	55
8.2. Comparativa de curvas de secado .....	110
8.3. Datos registrados en el desarrollo del estudio de las isotermas de sorción ...	116
8.4. Experimento escualeno .....	123

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfica sobre la Producción de Piensos en España en los últimos 6 años. Fuente: elaboración propia (Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación [MAPA], s.f., 2018, 2019, 2020, 2021a). .....	4
Figura 2. Reparto porcentual del total de producción de pienso por especie de destino en el año 2020. Fuente: elaboración propia (MAPA, 2021a).....	4
Figura 3. Diagrama de flujo de una fábrica de piensos. 1: Recepción. 2: Silos de almacenamiento y dosificación. 3: Dosificación. 4: Dosificación manual. 5: Tamiz. 6: Molino. 7: Mezcladora. 8: Granulación. 9: Producto acabado y expedición. 10: Sacos. 11: Granel. Fuente: (Surra, n.d.).....	8
Figura 4. Isotermas de adsorción y desorción. Fuente: (Aguado Alonso et al., 2002)...	13
Figura 5. Curva de secado representada mediante la variación de peso que experimenta el producto frente al tiempo. Fuente: (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 2000).....	13
Figura 6. Curva de secado representada mediante el contenido de humedad frente al tiempo (A) y la velocidad de secado frente al tiempo (B). Fuente: (McCabe et al., 2007). .....	14
Figura 7. Curva de secado representada mediante la humedad libre frente al tiempo. Fuente: (Manyá Cervelló, 2019).....	14
Figura 8. Esquema de los factores de variación del proceso de secado. Fuente: elaboración propia (Fito Maupoey et al., 2020). .....	16
Figura 9. Esquema de un secador de horno o estufa. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020) .....	17
Figura 10. Secador de bandejas o armario. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020).....	18
Figura 11. Secador de túnel. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020) .....	18
Figura 12 y 13. Secador de cinta transportadora de uno y varios pisos. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020) .....	18
Figura 14. Secador de torre o bandejas giratorias. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020) 19	
Figura 15. Secador rotatorio. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020) .....	19
Figura 16. Secador continuo de lecho fluidizado. Fuente: (McCabe et al., 2007)). .....	20
Figura 17. Variabilidad del contenido de escualeno en aceites de oliva vírgenes reportada en la bibliografía. A: diagrama de caja y bigotes y B: distribución de frecuencias del contenido de SQ en AOV. Fuente: (Martinez-Beamonte et al., 2020)..	22
Figura 18. Esquema representativo del túnel de secado. a: control de velocidad de aire; b: control de temperatura; c: generador de calor; d: medidor de humedad relativa; e: medidor de temperatura; f: balanza digital; g: cámara de secado con bandejas. Fuente: elaboración propia. ....	27
Figura 19. Método empírico realizado mediante una línea recta para definir el periodo constante, y los puntos $W_c$ y $t_c$ .....	33
Figura 20. Comparativa de las curvas de secado de los piensos Chow y West a una temperatura de 50 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	40

Figura 21. Comparativa de las curvas de secado de los piensos Chow y West a una temperatura de 65 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	41
Figura 22. Comparativa de las curvas de secado de los piensos Chow y West a una temperatura de 80 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	41
Figura 23. Isoterma de sorción del pienso experimental Chow .....	43
Figura 24. Isoterma de sorción del pienso experimental West.....	43
Figura 25. Obtención de la $W_e$ con una $a_w$ de 0,6 para los piensos experimentales Chow y West .....	43
Figura 26. Representación de la regresión polinómica para el tiempo de secado para el pienso Chow y West en función de la temperatura de secado.....	46
Figura 27. Porcentaje de escualeno en función de los estándares internos utilizados para el pienso Chow .....	47
Figura 28. Pérdida de Escualeno (%) tras el secado de los piensos Chow y West.....	50
Figura 29. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	57
Figura 30. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s.....	57
Figura 31. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	58
Figura 32. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s.....	60
Figura 33. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s.....	60
Figura 34. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 50°C y una velocidad de aire de 0,60 m/s.....	61
Figura 35. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	63
Figura 36. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s.....	63
Figura 37. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	64
Figura 38. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s.....	66
Figura 39. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s.....	66
Figura 40. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s.....	67
Figura 41. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	69
Figura 42. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s.....	69

Figura 43. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	70
Figura 44. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	72
Figura 45. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	72
Figura 46. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 50 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	73
Figura 47. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	75
Figura 48. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	75
Figura 49. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	76
Figura 50. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	78
Figura 51. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	78
Figura 52. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	79
Figura 53. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	81
Figura 54. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	81
Figura 55. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	82
Figura 56. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	84
Figura 57. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	84
Figura 58. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	85
Figura 59. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	87
Figura 60. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	87
Figura 61. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	88
Figura 62. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	90
Figura 63. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	90

Figura 64. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 65 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s.....	91
Figura 65. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	93
Figura 66. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s.....	93
Figura 67. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	94
Figura 68. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s. ....	96
Figura 69. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s.....	96
Figura 70. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 0,60 m/s.....	97
Figura 71. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	99
Figura 72. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s.....	99
Figura 73. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s. ....	100
Figura 74. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s.....	102
Figura 75. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s.....	102
Figura 76. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,10 m/s.....	103
Figura 77. Curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	105
Figura 78. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y un flujo de aire de 1,65 m/s. ....	105
Figura 79. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s. ....	106
Figura 80. Curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s.....	108
Figura 81. Período de velocidad constante de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s.....	108
Figura 82. Período de velocidad decreciente de la curva de secado del pienso West a una temperatura de 80 °C y una velocidad de aire de 1,65 m/s.....	109
Figura 83. Comparativa de los periodos de velocidad constante del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	110
Figura 84. Comparativa de los periodos de velocidad decreciente del pienso Chow a una temperatura de 50 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	110

Figura 85. Comparativa de los periodos de velocidad constante del pienso West a una temperatura de 50 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	111
Figura 86. Comparativa de los periodos de velocidad decreciente del pienso West a una temperatura de 50 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	111
Figura 87. Comparativa de los periodos de velocidad constante del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	112
Figura 88. Comparativa de los periodos de velocidad decreciente del pienso Chow a una temperatura de 65 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	112
Figura 89. Comparativa de los periodos de velocidad constante del pienso West a una temperatura de 65 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	113
Figura 90. Comparativa de los periodos de velocidad decreciente del pienso West a una temperatura de 65 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	113
Figura 91. Comparativa de los periodos de velocidad constante del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	114
Figura 92. Comparativa de los periodos de velocidad decreciente del pienso Chow a una temperatura de 80 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	114
Figura 93. Comparativa de los periodos de velocidad constante del pienso West a una temperatura de 80 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	115
Figura 94. Comparativa de los periodos de velocidad decreciente del pienso West a una temperatura de 80 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.....	115
Figura 95. Recta de calibrado del primer lote a partir de la relación del escualeno con el escualano. ....	123
Figura 96. Recta de calibrado del primer lote a partir de la relación del escualeno con el 5 $\alpha$ -colestano.....	123
Figura 97. Recta de calibrado del segundo lote a partir de la relación del escualeno con el escualano.....	124
Figura 98. Recta de calibrado del primer lote a partir de la relación del escualeno con el 5 $\alpha$ -colestano.....	124

## ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Pesado de los ingredientes.....	25
Imagen 2. Agitador magnético utilizado en la emulsión de los ingredientes fluidos.....	25
Imagen 3. Amasadora industrial utilizada en el mezclado de los ingredientes.....	25
Imagen 4. Picadora de carne modificada para la extrusión de piensos.....	26
Imagen 5. Proceso de salida de los gránulos o pellets.....	26
Imagen 6. Bandejas de almacenamiento de los pellets.....	26
Imagen 7. Túnel de secado.....	27
Imagen 8. Controladores de temperatura y velocidad de aire del túnel de secado.....	28
Imagen 9. Cámara de pesado del túnel de secado.....	28
Imagen 10. Anemómetro manual.....	29
Imagen 11. Cámara de temperatura controlada con desecador y sales saturadas.....	32
Imagen 12. Homogeneizador.....	37
Imagen 13. Cabezal porta-tubo.....	37

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción de piensos (toneladas y %) para las principales especies de abasto por Comunidad Autónoma en España en 2020. Fuente: elaboración propia (MAPA, 2021a).....	5
Tabla 2. Composición de ingredientes purificados (%) y su aporte calórico (kcal) en los piensos experimentales (Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, 1993) para ratones empleados por el grupo de investigación “Dieta mediterránea y potencial nutraceutico” pertenecientes al CIBER-OBN (Centro de Investigaciones Biomédica en Red Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición del Instituto de Salud Carlos III) liderado por Jesús de la Osada García, del Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular en la Facultad de Veterinaria, como Investigador Principal del mismo. ....	24
Tabla 3. Actividad de agua teórica de las sales saturadas utilizadas en el estudio. Fuente: (Vega et al., 2005). ....	31
Tabla 4. Cantidades (ml) de los estándares y del ciclohexano para preparar las diluciones de la recta de calibrado.....	38
Tabla 5. Resultados de $W_e$ (g agua/kg s.s) de los piensos experimentales Chow y West obtenidos con cada una de las disoluciones estudiadas. ....	42
Tabla 6. Tiempo de secado y $W_e$ de los piensos experimentales Chow y West para alcanzar la $a_w$ determinada de 0,6.....	44
Tabla 7. Valores medios, desviación estándar y probabilidad de significación de la velocidad del aire (m/s) para los piensos Chow y West. ....	45
Tabla 8. Valores medios, desvío estándar y probabilidad de significación resultantes del análisis de varianza de la temperatura de secado (°C) para los piensos Chow y West. .	45
Tabla 9. Resultados de las rectas de calibrado. ....	47
Tabla 10. Resultados de escualeno en las muestras de pienso iniciales .....	48
Tabla 11. Resultados de escualeno (%) de las muestras de piensos Chow y West para cada uno de los tratamientos de secado aplicados.....	49
Tabla 12. Resultados de la humedad inicial de los piensos experimentales Chow y West. ....	55
Tabla 13. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 50 °C y 0,60 m/s.....	56
Tabla 14. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 50 °C y 0,60 m/s.....	56
Tabla 15. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 50 °C y 0,60 m/s. ....	59
Tabla 16. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 50 °C y 0,60 m/s. ....	59
Tabla 17. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 50 °C y 1,10 m/s.....	62
Tabla 18. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 50 °C y 1,10 m/s.....	62

Tabla 19. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 50 °C y 1,10 m/s. ....	65
Tabla 20. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 50 °C y 1,10 m/s. ....	65
Tabla 21. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 50 °C y 1,65 m/s. ....	68
Tabla 22. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 50 °C y 1,65 m/s. ....	68
Tabla 23. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 50 °C y 1,65 m/s. ....	71
Tabla 24. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 50 °C y 1,65 m/s. ....	71
Tabla 25. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 65 °C y 0,60 m/s. ....	74
Tabla 26. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 65 °C y 0,60 m/s. ....	74
Tabla 27. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 65 °C y 0,60 m/s. ....	77
Tabla 28. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 65 °C y 0,60 m/s. ....	77
Tabla 29. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 65 °C y 1,10 m/s. ....	80
Tabla 30. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 65 °C y 1,10 m/s. ....	80
Tabla 31. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 65 °C y 1,10 m/s. ....	83
Tabla 32. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 65 °C y 1,10 m/s. ....	83
Tabla 33. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 65 °C y 1,65 m/s. ....	86
Tabla 34. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 65 °C y 1,65 m/s. ....	86
Tabla 35. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 65 °C y 1,65 m/s. ....	89
Tabla 36. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 65 °C y 1,65 m/s. ....	89
Tabla 37. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 80 °C y 0,60 m/s. ....	92
Tabla 38. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 80 °C y 0,60 m/s. ....	92
Tabla 39. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 80 °C y 0,60 m/s. ....	95

Tabla 40. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 80 °C y 0,60 m/s. ....	95
Tabla 41. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 80 °C y 1,10 m/s. ....	98
Tabla 42. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 80 °C y 1,10 m/s. ....	98
Tabla 43. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 80 °C y 1,10 m/s. ....	101
Tabla 44. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 80 °C y 1,10 m/s. ....	101
Tabla 45. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso Chow a 80 °C y 1,65 m/s. ....	104
Tabla 46. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso Chow a 80 °C y 1,65 m/s. ....	104
Tabla 47. Condiciones ambientales y flujo de aire durante el proceso de secado del pienso West a 80 °C y 1,65 m/s. ....	107
Tabla 48. Registro del peso de la muestra en las diferentes etapas del proceso de secado del pienso West a 80 °C y 1,65 m/s. ....	107
Tabla 49. Resultados de la humedad inicial de los piensos experimentales Chow y West. ....	116
Tabla 50. Seguimiento de las muestras de pienso Chow y West con la disolución saturada de MgCl <sub>2</sub> . ....	116
Tabla 51. Seguimiento de las condiciones ambientales para saturación de MgCl <sub>2</sub> . ....	117
Tabla 52. Seguimiento de las muestras de pienso Chow y West con la disolución saturada de K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> . ....	117
Tabla 53. Seguimiento de las condiciones ambientales para saturación de K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> . ....	117
Tabla 54. Seguimiento de las muestras de pienso Chow y West con la disolución saturada de CuCl <sub>2</sub> . ....	118
Tabla 55. Seguimiento de las condiciones ambientales para saturación de CuCl <sub>2</sub> . ....	118
Tabla 56. Seguimiento de las muestras de pienso Chow y West con la disolución saturada de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . ....	119
Tabla 57. Seguimiento de las condiciones ambientales para saturación de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . ....	119
Tabla 58. Seguimiento de las muestras de pienso Chow y West con la disolución saturada de NaCl. ....	120
Tabla 59. Seguimiento de las condiciones ambientales para saturación de NaCl. ....	120
Tabla 60. Resultados humedad en equilibrio de los piensos experimentales Chow y West con la disolución de MgCl <sub>2</sub> . ....	121
Tabla 61. Resultados humedad en equilibrio de los piensos experimentales Chow y West con la disolución de K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> . ....	121
Tabla 62. Resultados humedad en equilibrio de los piensos experimentales Chow y West con la disolución de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . ....	121

Tabla 63. Resultados humedad en equilibrio de los piensos experimentales Chow y West con la disolución de $\text{CuCl}_2$ .....	122
Tabla 64. Resultados humedad en equilibrio de los piensos experimentales Chow y West con la disolución de $\text{NaCl}$ .....	122

## RESUMEN

Los piensos experimentales empleados en investigaciones biomédicas difieren considerablemente respecto a los comerciales; en este caso, se elaboran con ingredientes purificados (almidón, caseína, grasas, celulosa, etc.) y pueden estar suplementados con un determinado compuesto, droga o medicamento. Otra diferencia sustancial es su proceso de elaboración, en este caso, al ser “casero” debe añadirse agua a la harina para conseguir una masa homogénea, que pueda compactarse en pellets o gránulos y posteriormente secarse para eliminar el agua. En este estudio, se han elaborado dos tipos de piensos con ingredientes purificados, uno de control denominado *Chow* y otro, denominado *West*, basado en el anterior, pero con un 20% de grasa de palma añadida. Ambos piensos se suplementaron con escualeno (1% en masa). Los objetivos del trabajo han sido: (i) deducir el tiempo mínimo de secado necesario para alcanzar la humedad del sólido correspondiente a un valor de actividad de agua ( $a_w$ ) de 0,6, y (ii) evaluar la posible degradación del escualeno debido al tratamiento de secado de los piensos. Para ello, los piensos se sometieron a un tratamiento de secado con aire caliente en un túnel de bandejas en las que se variaron las condiciones de temperatura (50; 65 y 80 °C) y velocidad de aire (0,60; 1,10 y 1,65 m/s). Para conocer la humedad de equilibrio que debían alcanzar los piensos durante el secado para conseguir la estabilidad microbiológica ( $a_w = 0,6$ ), se determinó la isoterma de sorción sometiendo los piensos a unas condiciones de ambiente saturado (a 20 °C) en presencia de soluciones de  $MgCl_2$ ,  $K_2CO_3$ ,  $NaCl$ ,  $Mg(NO_3)_2$  y  $CuCl_2$ , de humedad relativa conocida. El contenido de escualeno se determinó por cromatografía de gases y espectrometría de masas en muestras tomadas a la salida del túnel de secado. Las diferencias en la cantidad de agua y grasa entre ambos piensos originaron diferencias significativas en las curvas de secado entre piensos *Chow* y *West*, mientras que de las condiciones impuestas para el secado, solo la temperatura afectó significativamente al tiempo de secado necesario para alcanzar la humedad crítica, obteniéndose valores de  $4,85a \pm 0,45$ ,  $2,32b \pm 0,21$  y  $1,69ab \pm 0,25$  horas para piensos *Chow* para temperaturas de 50, 65 y 80 °C, respectivamente; para piensos *West* los tiempos de secado fueron de  $21,0a \pm 1,90$ ,  $23,1a \pm 0,37$  y  $11,6b \pm 0,83$  horas a 50, 65 y 80 °C, respectivamente. No se ha observado ningún efecto significativo de la velocidad del aire. Las conclusiones más importantes deducidas del presente trabajo son las siguientes: (1) únicamente la temperatura de secado influyó de forma significativa en el tiempo necesario para alcanzar la humedad crítica y en el tiempo total de secado; (2) la diferencia en la composición entre ambos piensos provoca diferencias en las pautas de secado; y (3) la mayor concentración de grasa saturada del pienso *West* compensa parcialmente la pérdida de escualeno por efecto del secado en comparación con el pienso *Chow*.

**Palabras clave:** piensos experimentales, secado, actividad de agua, isoterma de sorción, escualeno.

## ABSTRACT

Experimental compound feeds used in biomedical research differ substantially from the commercial ones; in the first, they can be made with purified ingredients (starch, casein, fats, cellulose, etc.) and may be supplemented with a certain compound, drug or medicine. Another substantial difference is related to their production process, as they are “homemade”, water must be added to obtain a homogeneous mash that can be compacted as pellets, and then dried to remove the added water. In this study, two types of feed were prepared with purified ingredients: a control one, called Chow, and a second one, called West, which was based on the previous one with the addition of 20% palm fat. Both formulations were supplemented with squalene (1% mass basis). The specific aims of this study were: (i) to define a minimum drying time required to reach a humidity of the solid corresponding to a water activity ( $a_w$ ) value of 0.6 and, (ii) to evaluate the possible degradation of squalene in the feed due to the drying treatment. The feeds were subjected to a drying treatment with warm air in a drying tunnel, under controlled temperature (50, 65, and 80 °C) and air velocity (0.60, 1.10, and 1.65 m/s). To know the equilibrium humidity for a given feed to achieve microbiological stability (i.e.,  $a_w = 0.6$ ), the sorption isotherm was estimated by exposing the feeds to saturated ambient conditions (at 20 °C) in the presence of solutions of known relative humidity, ( $MgCl_2$ ,  $K_2CO_3$ ,  $NaCl$ ,  $Mg(NO_3)_2$  and  $CuCl_2$ ). The squalene content was determined by Gas Chromatography-Mass Spectrometry in samples taken at the end of the drying tunnel. Differences in water and fat contents between both feeds caused significant differences in the drying curves obtained. Concerning the drying operation conditions, only temperature significantly affected the drying time to reach critical humidity. Drying times were 4.85a  $\pm$ 0.45, 2.32b  $\pm$ 0.21 and 1.69ab  $\pm$ 0.25 hours at temperatures of 50, 65, and 80 °C, respectively in Chow feed. For West feed, the values were 21.0a  $\pm$ 1.90, 23.1a  $\pm$ 0.37 and 11.6b  $\pm$ 0.83 hours at 50, 65, and 80 °C, respectively. No differences were obtained when air speed was changed. From the results, the following conclusions can be drawn: (1) only drying temperature significantly influenced the time required to reach the critical humidity and the total drying time; (2) Differences in the composition of both feeds led to different drying patterns; and (3) the higher concentration of saturated fat in the West feed probably compensated the loss of squalene throughout drying compared to the Chow feed.

**Keywords:** experimental compound feeds, drying, water activity, sorption isotherm, squalene.

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1. Origen e importancia de los piensos compuestos**

Los piensos compuestos son un alimento elaborado para animales que, según la legislación europea, está compuesto por cualquier sustancia o producto, destinado a la alimentación por vía oral de los animales (Parlamento Europeo, 2008). Están preparados para cubrir todas las necesidades nutricionales del animal, por lo que se utilizan como alimento único.

Para la fabricación de pienso compuesto se pueden utilizar varios ingredientes como materias primas (cereales, fuentes de proteínas, minerales, etc.), subproductos de la industria alimentaria (peladuras de patata, melaza de remolacha y otros restos vegetales o de origen animal que no son aptos para el consumo humano) y aditivos tecnológicos (con el fin de mejorar o mantener la calidad de los productos) y nutricionales (aminoácidos, vitaminas, etc.) (Vicente Martín, 2016).

Se considera un sector crucial la industria de la fabricación de piensos por tratarse de un eslabón intermedio entre la ganadería y el sector agrícola. Se pueden producir en plantas de piensos industriales o en mezcladoras sencillas ubicadas en la granja. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2014).

En la antigüedad, cuando no existían estas fábricas, los animales se alimentaban en los pastos, o de la cosecha suministrada por el propio ganadero, por lo que su alimentación no era tan completa como puede ser actualmente, y ese es uno de los motivos por los cuales la carne que consumían los seres humanos no era de tan elevada calidad nutritiva.

La producción de alimentos para animales ha cobrado especial importancia en los últimos años debido a que el aumento de la población, el desarrollo económico y el incremento del poder adquisitivo de las personas hacen que el consumo y la demanda de alimentos de origen animal sea cada vez mayor.

Dado el crecimiento anticipado de la población mundial a alrededor de 9 mil millones de personas para 2050, y la mayor demanda asociada de proteínas animales, es vital que podamos enfrentar este desafío de una manera sostenible y segura gracias, en gran parte, a la industria de los piensos (International Feed Industry Federation [IFIF], 2016).

## **1.2. Producción de piensos**

En las últimas décadas, la alimentación animal ha experimentado un gran desarrollo tanto en España como en el resto de Europa. Este desarrollo ha ido en paralelo al crecimiento del sector ganadero, especialmente a la ganadería intensiva, lo que ha producido un incremento en la demanda de piensos.

España es el país con mayor producción de alimentación animal en Europa y se encuentra dentro de los 10 países con mayor fabricación del mundo.

El incremento en la demanda de piensos nombrado anteriormente ha provocado un incremento en la producción en los últimos años en España, tal y como se observa en la siguiente gráfica (Figura 1).



Figura 1. Gráfica sobre la Producción de Piensos en España en los últimos 6 años. Fuente: elaboración propia (Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación [MAPA], s.f., 2018, 2019, 2020, 2021a).

La producción total de piensos en España alcanzó, durante 2020 las  $3,769 \times 10^7$  toneladas (t), lo que supone un incremento del 0,7% sobre el dato obtenido en 2019 ( $3,742 \times 10^7$  t).

El 97,0% de la producción total se refiere a los piensos consumidos por animales de abasto, siendo el destinado a porcino el producto estrella con una gran diferencia, seguido del bovino y de la avicultura (Figura 2). El porcentaje restante lo ocupan los animales de compañía y de peletería.

A continuación, se observa una gráfica en la que se representa el porcentaje de pienso producido para cada especie.

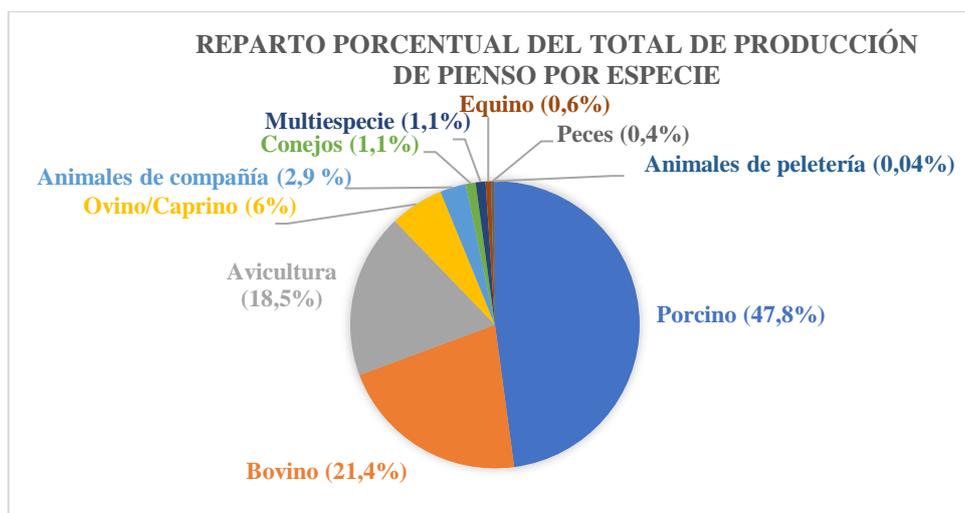


Figura 2. Reparto porcentual del total de producción de pienso por especie de destino en el año 2020. Fuente: elaboración propia (MAPA, 2021a).

El sector de la nutrición animal en España se encuentra muy diferenciado dependiendo de la comunidad autónoma en la que se produzca el pienso. A continuación, se muestra una tabla (Tabla 1) con la producción de pienso de cada Comunidad Autónoma de España, destacando Cataluña, Aragón y Castilla-León como mayores productoras de pienso, respectivamente (MAPA, 2021a).

Tabla 1. Producción de piensos (toneladas y %) para las principales especies de abasto por Comunidad Autónoma en España en 2020. Fuente: elaboración propia (MAPA, 2021a)

CCAA	PRODUCCIÓN (Ton)	PRODUCCIÓN (%)
Cataluña	7.754.590	21,2
Aragón	5.631.118	15,4
Castilla León	5.091.703	13,9
Andalucía	3.450.986	9,4
Galicia	3.248.006	8,9
Castilla La Mancha	2.718.320	7,4
Murcia	2.259.345	6,2
Extremadura	1.883.510	5,2
Valencia	1.537.996	4,2
Navarra	1.393.949	3,8
Asturias	426.146	1,2
Madrid	300.637	0,8
Cantabria	244.042	0,7
País Vasco	240.034	0,7
Canarias	217.062	0,6
Rioja	120.010	0,3
Baleares	45.544	0,1
<b>TOTAL</b>	<b>36.562.998</b>	<b>100</b>

Los piensos producidos en España tienen un comercio exterior con carácter exportador.

Las exportaciones han experimentado un incremento a lo largo de los últimos 4 años. 2020 ha marcado el máximo en este periodo con un valor de un 20% más que en 2019 y un 35% más que en 2016. Este aumento del valor de las exportaciones en 2020 se debe tanto al aumento del volumen exportado como al aumento del precio medio de exportación. El valor de las importaciones también ha experimentado un incremento a lo largo de estos últimos 4 años (MAPA, 2021b).

De las  $3,768 \times 10^7$  t producidas en 2020 en España, se exportaron  $8,655 \times 10^5$  t, es decir, un 2,3% del total producido, siendo Portugal, Francia e Italia los principales compradores tanto de piensos para animales de granja como de compañía (Confederación Española de Fabricantes de Alimentos Compuestos para Animales [CESFAC], 2021).

### 1.3. Procesos en la fabricación de piensos

El principal objetivo de la fabricación de un pienso reside en cumplir los requisitos establecidos en la fórmula confeccionada por el nutricionista, con el fin de cubrir las exigencias nutricionales para cada especie y edad del animal al que va dirigido, empleando para ello innumerables fuentes de materias primas.

La fabricación de piensos, de forma general, es un proceso por lotes, cuyas fases son la recepción de materias primas, dosificación, molienda, mezcla y granulación. Hay que destacar que se pueden encontrar diferencias importantes en las técnicas de fabricación según la especie de destino, sobre todo si se comparan especies de animales de granja con mascotas o acuicultura, tal y como se explica al final de este apartado.

A continuación, se describen de manera muy general la secuencia de procesos en la fabricación de piensos compuestos:

- Recepción y almacenaje: el proceso de producción comienza con la recepción de las diferentes materias primas para la elaboración de los piensos. En él se realiza un control exhaustivo de calidad con la recogida de muestras representativas. Una vez recibidas, las materias primas suelen ser almacenadas en silos hasta su procesado.
- Dosificación: consiste en el pesaje y medida de las materias primas sólidas y/o líquidas en su proporción acorde a la fórmula establecida.
- Molienda: es el tratamiento físico, conocido también con el nombre de molturación, al que se someten las materias primas. Se consigue gracias a un molino que las convierte en harinas, con el objetivo de incrementar la digestibilidad y facilitar el mezclado homogéneo de las materias primas que poseen densidades muy diferentes (Acedo-Rico González, 2001).
- Mezclado: proceso de homogeneización al que se someten las harinas o materias primas molidas que integran el pienso. Se realiza mediante una mezcladora y su objetivo es conseguir una harina con una distribución uniforme y homogénea de sus partículas, siendo éste un criterio fundamental de calidad. En este punto del proceso se añaden las grasas, para ello, muchas fábricas cuentan con equipos engrasadores que se encargan de inyectar este ingrediente en la mezcla (Vicente Martín, 2016). En esta etapa, se produce también la adición de correctores vitamínico-minerales. Una vez que la harina ha salido de la mezcladora puede procederse a su expedición a granel, a su acondicionamiento en harina para su posterior expedición, o bien ser granulado, como se explica a continuación.
- Granulación: proceso por el cual se modifica la presentación del pienso, donde la harina procedente de la mezcladora se compacta con la aplicación de temperatura y presión para aglomerar y formar los gránulos o pellets. La granulación consta de 3 subprocesos:

- Acondicionado: se inyecta vapor seco con el objetivo de humedecer y dar plasticidad a la harina para conseguir una mezcla homogénea que favorecerá su posterior paso por la matriz. En esta etapa se pretende conseguir la esterilización del producto, ya que se alcanzan temperaturas de salida de entre 80 y 120 °C (Acedo-Rico González, 2001).
- Compactación: se lleva a cabo en una prensa o granuladora donde se somete la masa a presión-extrusión (forzar a pasar por un orificio de una matriz de tamaño determinado) dándole forma de gránulo compactado. El criterio de calidad de un gránulo o pellet se establece por la durabilidad y dureza de este.
- Enfriado o secado: a la salida de la matriz, el gránulo formado y caliente cae al equipo enfriador donde se reduce la temperatura que ha alcanzado el gránulo en la etapa anterior (alrededor de 85 °C) hasta una temperatura inferior a la ambiental (4-6 °C) (Acedo-Rico González, 2001). La humedad también se reduce de un 20% a un valor inferior a 14% (FAO, 2011). De esta forma, resultan unas condiciones compatibles con una conveniente conservación del producto ya que al disminuir la actividad de agua se consigue un alimento microbiológicamente estable y que puede almacenarse durante un tiempo determinado. Estos equipos se llaman enfriadores o secadores, y pueden ser verticales, horizontales y en contracorriente, con diferentes modelos en cada caso (Rial et al., 2010), siendo este último el más adecuado para piensos por su efectividad (Acedo-Rico González, 2001), en el que el aire frío pasa por el producto de abajo hacia arriba y transversalmente al sentido de transporte del pienso. Durante su paso, el aire se calienta progresivamente, lo que permite un secado o enfriamiento de los gránulos sin que se formen grietas en éstos (CESFAC, 2007).

Una vez expuesto el proceso de fabricación general de un pienso, cabe destacar que los piensos para mascotas y acuicultura tienen varias diferencias. La particularidad de estos piensos radica, además de la diferencia en su composición (tienen un contenido en proteína y grasa más elevado) en que, por lo general, no se granulan, sino que se someten a otro proceso industrial denominado extrusión. Ambos tipos de piensos, granulados o extrusionados difieren de manera importante en el secado/enfriado, ya que en estos últimos el porcentaje de humedad es significativamente mayor (Surra, n.d.).

A continuación, se observa un esquema con las fases de producción de piensos descritas anteriormente.

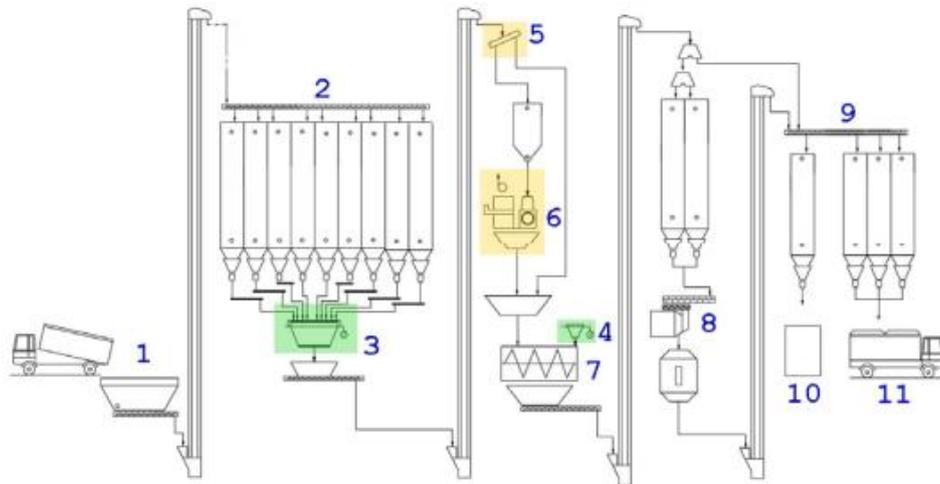


Figura 3. Diagrama de flujo de una fábrica de piensos. 1: Recepción. 2: Silos de almacenamiento y dosificación. 3: Dosificación. 4: Dosificación manual. 5: Tamiz. 6: Molino. 7: Mezcladora. 8: Granulación. 9: Producto acabado y expedición. 10: Sacos. 11: Granel. Fuente: (Surra, n.d.)

#### 1.4. Los piensos experimentales

Los piensos experimentales empleados en investigaciones biomédicas presentan numerosas e importantes diferencias con respecto a los comerciales. Los primeros son formulados y fabricados exclusivamente en función de los objetivos de la investigación. Estos abarcan desde la suplementación con un determinado producto, medicamento o droga del cual se desea estudiar su efecto, hasta la investigación de la deficiencia de algún compuesto. Por tanto, resultan ilimitadas e imposibles de describir todas las posibilidades y tipos de piensos experimentales a emplear.

Por otro lado, se pueden utilizar como ingredientes determinadas materias primas especiales y específicas (atendiendo a su composición química) seleccionadas en función de los objetivos a los cuales van dirigidos los experimentos o bien, determinados ingredientes purificados (Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, 1993), como por ejemplo, el almidón (fuente de hidratos de carbono), la caseína (fuente de proteína), la celulosa pura (fuente de fibra) y una gran variedad de lípidos (grasas y/o aceites), todos suplementados con adecuadas fuentes de macro y micro minerales y también de vitaminas, lo que permite el estudio de los efectos de las distintas fuentes de nutrientes y su influencia sobre el metabolismo o salud del animal experimental.

Otra problemática de este tipo de piensos es que casi exclusivamente son fabricados fuera de España, lo que además de su especificidad y las complicaciones en las gestiones de importación, hace que alcancen un elevado valor, dificultando la financiación de los proyectos de investigación.

En el caso del grupo de investigación del cual surge este trabajo, se llevan varios años fabricando los propios piensos experimentales, así como para otras entidades nacionales y extranjeras como forma de colaboración. Los piensos experimentales de elaboración propia, al ser realizados de manera artesanal en laboratorio y utilizando ingredientes purificados, no siguen exactamente todos los procesos de fabricación que se seguirían en la elaboración de uno comercial, sólo los de dosificación, mezclado, granulación y secado, mientras que la molienda no se realiza, ya que los ingredientes se presentan en forma de harinas, por lo que no es necesaria su molturación. El proceso más complejo en los piensos en este caso es el de granulación, en el cual se debe añadir a la harina una fuente de humedad, en este caso agua y no vapor seco como en los piensos comerciales, para conseguir una masa homogénea que se pueda compactar, dar forma cilíndrica y con dimensiones adecuadas (14 mm diámetro x 30-40 mm longitud) para su uso en roedores, concretamente. La granulación, en este caso, se lleva a cabo mediante una máquina adaptada para compactar la masa.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Fundamento del secado de sólidos con aire caliente

La deshidratación de los alimentos es una técnica muy utilizada desde la antigüedad para la conservación. Hoy en día, la industria encargada del secado de los alimentos constituye un sector imprescindible extendido por todo el mundo.

Se debe diferenciar el secado de la evaporación, que es otro proceso destinado a la eliminación de agua de un producto alimenticio. La diferencia entre estos dos procesos es que el secado tiende a eliminar la mayor parte del agua libre de un sistema alimenticio para disminuir su deterioro. Por otra parte, la evaporación sólo elimina parte del agua libre con objeto de reducir su gran volumen previo a un posterior proceso de deshidratación, como es el caso de la evaporación de agua previo a su atomización.

El principal objetivo de la operación de secado es la conservación. Aunque el contenido de humedad en un alimento pueda ser un factor indicativo del deterioro, puede llevarnos a error puesto que se ha observado que diferentes alimentos con el mismo contenido en humedad pueden ser muy diferentes en cuanto a estabilidad, ya que el concepto de humedad no tiene en cuenta las interacciones del agua con otros componentes del alimento.

El agua que se encuentra contenida en el sólido no está unida de la misma forma. A continuación, se muestran los diferentes tipos de agua en función de la interacción que tienen con el alimento:

- Agua ligada:
  - Agua rígida: fuertemente ligada al alimento y difícil de eliminar por secado.
  - Agua multicapa: ligada con cierta fuerza, pero se puede eliminar por secado.
  - Agua libre: débilmente ligada, por lo que se elimina con cierta facilidad. Es el agua disponible para las reacciones químicas que deterioran el alimento.
- Agua no ligada: ocupa los huecos del sólido. Presenta propiedades muy similares a las del agua pura. Se elimina con facilidad por secado (Badui Dergal, 2006).

Por lo tanto, el primer objetivo de la operación de secado en cuanto a aumentar la estabilidad del producto se define en términos de descenso de la actividad de agua ( $a_w$ ) y no en términos de disminución del contenido en humedad, puesto que la  $a_w$  puede ser considerada una medida indirecta del agua que está disponible en un producto para participar en las reacciones de deterioro (Fito Maupoey et al., 2020). Al reducir el contenido de agua de un alimento se disminuye o inhibe la actividad microbiana o enzimática, provocando así, una prolongación en la vida útil (Aguado Alonso et al., 2002).

La  $a_w$  se define como la relación entre la presión de vapor del agua en el alimento ( $P_a^0$ ) y la presión de vapor del agua líquida a esa misma temperatura ( $P^0$ ).

$$a_w = \frac{P_a^0}{P^0} \quad (1)$$

- Si el alimento contiene agua no ligada,  $P_a^0 = P^0 \rightarrow a_w = 1$
- Si el alimento contiene agua ligada,  $P_a^0 < P^0$

De forma general, se requiere secar un sólido hasta que su actividad de agua sea inferior a 0,6. Para ello, se debe conocer la relación entre  $a_w$  y humedad y así poder determinar hasta qué grado de humedad se debe secar el alimento (Badui Dergal, 2006).

Durante el proceso de secado se produce una transferencia de agua desde el alimento al aire en forma de vapor, que es función, por una parte, del contenido de agua y de la estructura y composición del producto, y, por otra parte, del entorno ambiental. Si se ponen en contacto ambos medios a una temperatura dada, acaba por alcanzarse un equilibrio entre la presión de vapor del agua en el alimento ( $P_a^0$ ) y la presión parcial de vapor de agua en el aire ( $P_w$ ). En estas condiciones el alimento adquiere una determinada cantidad de agua, que se define como el contenido de humedad en equilibrio, mientras que el aire ambiente queda, por su parte, con una humedad dada denominada humedad relativa en equilibrio (Aguado Alonso et al., 2002).

El contenido de humedad de un sólido se define como la relación entre la cantidad de agua en el alimento y la cantidad de sólidos secos, y se representa mediante la siguiente fórmula:

$$W = \frac{m_i - m_{ss}}{m_{ss}} \quad (2)$$

Siendo:

$W$ : Humedad del sólido (kg agua/kg masa seca)

$m_i$ : Masa del sólido en un determinado instante (kg)

$m_{ss}$ : Masa del sólido seco (kg)

Una variable muy importante en los procesos de secado es la que se conoce como humedad libre, y se define como la diferencia entre la humedad inicial del producto ( $X_{wi}$ ) y su contenido en humedad en equilibrio (Aguado Alonso et al., 2002), y se representa mediante la siguiente fórmula:

$$W_{libre} = X_{wi} - W_e \quad (3)$$

Siendo:

$W_{libre}$ : Contenido de humedad libre (kg agua/kg masa seca)

$W_e$ : Humedad de equilibrio (kg agua/kg masa seca)

Una curva típica de secado se obtiene al representar este contenido de humedad libre frente al tiempo de secado, como se verá más adelante.

La humedad relativa ( $H_R$  o  $W_R$ ) se expresa como la relación porcentual entre la presión parcial de vapor de agua en el aire ( $P_w$ ) y la presión de vapor del agua a la temperatura de dicho aire ( $P^0$ ).

$$W_R = \frac{P_w}{P^0} \times 100 \quad (4)$$

Si se tiene en cuenta la definición de humedad relativa ( $W_R$ ), considerando la igualdad entre  $P^0_a$  y  $P_w$  en el equilibrio, surge una nueva expresión para definir la actividad de agua:

$$a_w = \frac{P^0_a}{P^0} = \frac{P_w}{P^0} = \frac{W_R(\%)}{100} \quad (5)$$

La operación de secado conlleva, además, una reducción del peso y volumen del producto, consiguiéndose así una importante reducción de los costes de transporte y almacenamiento.

Esta técnica también es utilizada con el objetivo de transformar estos alimentos en materias primas adecuadas para el mezclado y formulación de nuevos productos.

Sin embargo, el secado también puede provocar cambios indeseables en los alimentos como la reducción del tamaño y forma originales, cambios en el color debido a las altas temperaturas, modificaciones indeseadas en la textura debido al encogimiento celular provocado por la pérdida de agua, cambios en sabor y aroma debidos a la pérdida de componentes volátiles o al desarrollo de aromas por los elevados tiempos y temperaturas. Estas alteraciones organolépticas y pérdidas del valor nutritivo suponen un gran problema en el proceso del secado, aunque debido a la gran importancia que tiene este sector en la industria alimentaria a nivel mundial, se han generado numerosas investigaciones que han logrado minimizar estos aspectos negativos, consiguiendo productos deshidratados de mayor calidad (Fito Maupoey et al., 2020).

La relación entre el contenido total de humedad y la correspondiente actividad de agua en un intervalo de valores a una temperatura constante produce una isoterma de sorción de humedad, la cual difiere entre los distintos tipos de alimentos, dependiendo de su composición, estructura y de cómo se encuentre ligada el agua al mismo. Se suelen emplear para el estudio de productos higroscópicos y en la investigación de procesos de secado, de hecho, el conocimiento de las isotermas de sorción (adsorción y desorción) de los alimentos es fundamental para plantear su conservación mediante el secado con aire (Aguado Alonso et al., 2002). La adsorción de agua ocurre inicialmente por la formación de una monocapa en la superficie del producto seguida de una adsorción multicapa (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 2000).

Se distinguen dos clases de isothermas, dependiendo si el equilibrio se alcanza mediante un proceso de humificación del alimento (adsorción) o mediante un proceso de secado (desorción). Como se puede observar en la figura, se diferencian tres tramos acordes a los distintos estados del agua.

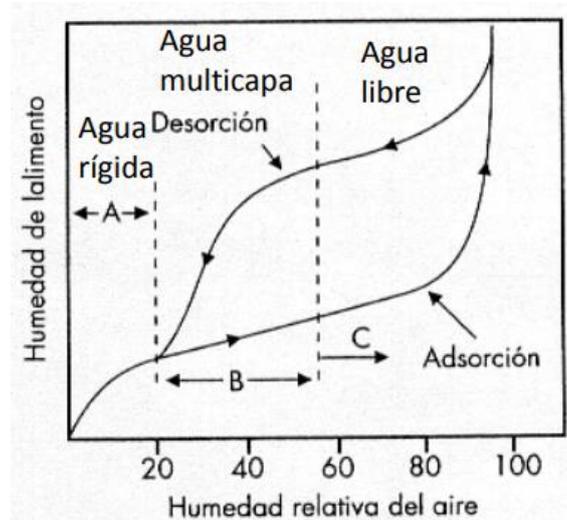


Figura 4. Isothermas de adsorción y desorción. Fuente: (Aguado Alonso et al., 2002).

- **Tramo A:** en esta zona se encuentra el agua fuertemente ligada al alimento mediante fuerzas de Van der Waals. Agua monocapa y agua rígida.
- **Tramo B:** En esta fase se encuentra el agua retenida en diversas capas (agua multicapa). Las fuerzas de unión a la estructura del alimento son menos intensas que el tramo anterior.
- **Tramo C:** El agua en este tramo está retenida por capilaridad, por lo que su grado de fijación al alimento es débil, incluyendo en este tramo el agua libre. Esta agua es muy similar al agua pura, por lo tanto, tiene facilidad para el crecimiento microbiano, puesto que, si el alimento presenta una  $a_w$  dentro del intervalo del tramo C, existirán grandes posibilidades de que experimente alguna alteración (Aguado Alonso et al., 2002).

En el proceso de secado, los datos se pueden expresar como la variación de masa que experimenta el producto que se está secando frente al tiempo (Figura 5).

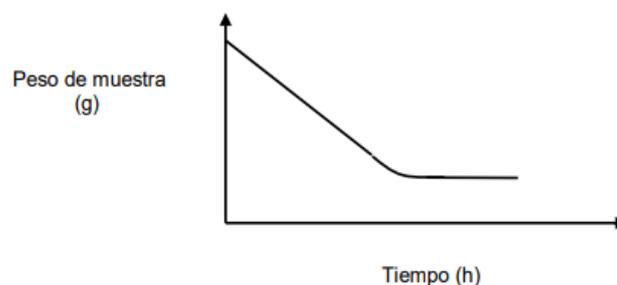


Figura 5. Curva de secado representada mediante la variación de peso que experimenta el producto frente al tiempo. Fuente: (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 2000)

Aunque la forma más adecuada de representar la curva secado de un alimento sólido es expresando la humedad libre frente al tiempo.

A medida que transcurre el tiempo, el contenido de humedad disminuye, tal y como se encuentra representado en la curva A de la Figura 6. En la curva B se observa la velocidad de secado del alimento frente al tiempo, que es la derivada de la curva A y experimenta oscilaciones que se explican a continuación (McCabe et al., 2007).

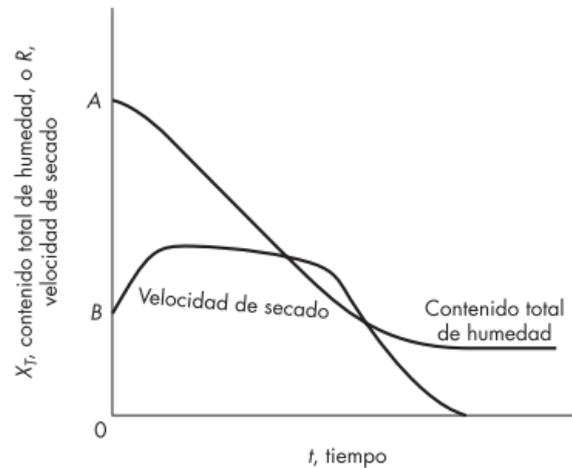


Figura 6. Curva de secado representada mediante el contenido de humedad frente al tiempo (A) y la velocidad de secado frente al tiempo (B). Fuente: (McCabe et al., 2007).

Cuando un alimento se pone en contacto con aire a una temperatura y humedad dadas, este último proporciona el calor latente necesario para que el agua del producto pase a vapor. El vapor de agua abandona el alimento por difusión, a través de la película de aire en reposo que rodea a la superficie del producto, hasta alcanzar la corriente de aire en movimiento, que se encarga de arrastrarlo.

A continuación, se observa una curva de secado (Figura 7) típica de un alimento sólido, en la que se pueden distinguir las etapas de que se producen, que difieren en la velocidad de pérdida de humedad del sólido.

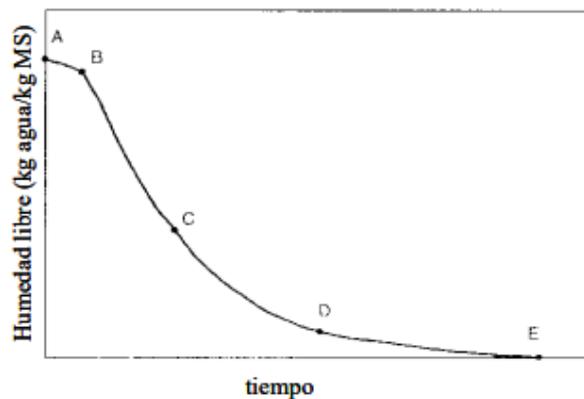


Figura 7. Curva de secado representada mediante la humedad libre frente al tiempo. Fuente: (Manyá Cervelló, 2019)

La curva de secado muestra las etapas por las que pasa un sólido durante el proceso y se divide en tres periodos, según la velocidad de secado aumente (tramo A-B), permanezca constante (tramo B-C) o disminuya (tramo C-E):

- El primer período, llamado de estabilización o de inducción, no es significativo frente al tiempo que tarda el proceso, debido a su brevedad. En esta etapa, se produce un aumento en la temperatura del producto debido al calor que cede el aire al agua para evaporarse. Esta etapa termina cuando la temperatura del alimento se iguala a la de bulbo húmedo del aire.
- El siguiente período se denomina de velocidad de secado constante y está asociado a la eliminación del agua no ligada del producto (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 2000). Se produce un ascenso del agua desde el interior hasta la superficie del alimento con la misma velocidad con la que se evapora el agua libre de la superficie, como consecuencia de la absorción del calor latente de evaporación. Debido a esto la superficie del alimento se encuentra saturada de agua constantemente. El gradiente de temperaturas permanece constante a lo largo de este período. La temperatura del alimento se corresponde con la de bulbo húmedo del aire, y ésta es igual a la del bulbo seco.

La velocidad de secado permanecerá constante mientras el agua libre de la superficie del sólido se reponga constantemente, o lo que es lo mismo, esta etapa finalizará cuando se alcance la “humedad crítica”.

La humedad crítica ( $W_c$ ) se define como el contenido de humedad a la que la velocidad de secado disminuye súbitamente. Esto es debido a que el agua tiene que vencer una resistencia al flujo a través del material alimenticio conforme disminuye el agua de la superficie saturada (Manyá Cervelló, 2019). Cabe destacar que en la práctica no se observa con tanta claridad, ya que la humedad crítica varía con diversos factores como el tipo de sólido (espesor, estructura, morfología) y su dependencia con la temperatura, el espesor del lecho de sólidos y la velocidad de secado. En algunos casos, el periodo de velocidad constante no tiene lugar, como cuando la humedad de partida del alimento es inferior a su humedad crítica, ya que la migración de agua interna a la superficie no es capaz de reponer todo el líquido que se evapora, por lo que difícilmente se saturará.

- El período de velocidad de secado decreciente comienza cuando se alcanza la humedad crítica, tal y como se comentó anteriormente, por lo que disminuye la velocidad de migración con respecto a la de evaporación del agua, lo que provoca una deshidratación progresiva de la superficie del alimento. En esta etapa ya no existe película de agua en la superficie. Paralelamente, tiene lugar un aumento de la temperatura superficial como consecuencia del desequilibrio existente entre el calor suministrado por el aire y la cantidad de agua evaporada, por lo que la superficie comienza a secarse, lo que puede provocar daños si el alimento es termosensible. En suma, predomina en estas condiciones la transmisión de calor sobre la transferencia de materia. En algunos productos se pueden distinguir dos

subperiodos: el primero termina cuando la superficie del sólido se seca por completo, alcanzando así la temperatura de bulbo seco del aire; y el segundo se caracteriza por un descenso exponencial debido al desplazamiento progresivo del frente de evaporación del agua desde la superficie hacia el centro del alimento conforme avanza el secado. El secado se da por terminado cuando la humedad del alimento se aproxima a su contenido de humedad en equilibrio, mínimo valor posible para unas condiciones dadas del aire. No todos los alimentos dan lugar a los dos subperíodos mencionados, ya que en algunos solo sucede el segundo (no higroscópicos) (Aguado Alonso et al., 2002).

## 2.2. Factores de variación que afectan o intervienen en el proceso de secado

Las variables que determinan el proceso de secado de un producto se muestran en el siguiente esquema (Figura 8):



Figura 8. Esquema de los factores de variación del proceso de secado. Fuente: elaboración propia (Fito Maupoey et al., 2020).

La naturaleza del producto (composición, estructura...) influye en el valor de  $a_w$ , que influye a su vez en la velocidad de secado. También repercute la densidad de carga, es decir, cuanto más dividido se encuentre el alimento en el equipo de secado, más posibilidades hay de que el calor penetre y deshidrate (Gimeno Martínez, 2014).

En cuanto a las dimensiones del producto, si los sólidos son lo suficientemente uniformes y permiten la determinación de su superficie, se puede determinar la variación de velocidad de secado con el tamaño de estos si el aire circula a través del lecho material.

Sin embargo, si las partículas no cumplen estas condiciones, la velocidad de secado se debe relacionar con la altura del lecho del material.

En cuanto a las variables del aire de secado que influyen en el proceso, puede decirse en términos generales que cuanto mayor sea la diferencia de temperaturas entre el medio de transmisión de calor y el alimento, mayor será la velocidad de secado y esta será mayor cuanto menor sea la humedad relativa del aire.

Otro factor que puede influir sobre la velocidad de secado es la velocidad superficial del aire, ya que un aumento de la misma implica mayores velocidades de transmisión de calor y de materia por convección. No obstante, cuando la velocidad de secado está controlada por la difusión del agua a través del sólido, la velocidad del aire suele ser irrelevante (Fito Maupoey et al., 2020).

### 2.3. Equipos de secado

Dependiendo del procedimiento para transferir calor al sólido húmedo se pueden distinguir diferentes equipos de secado:

- Los secaderos directos transmiten el calor por convección, poniendo en contacto gases calientes con el sólido húmedo.
- Los secadores indirectos transmiten el calor por conducción, a través del contacto con una pared.
- Los secadores por radiación transfieren energía radiante para evaporar la humedad del producto.

Este trabajo se centra en el secado convectivo, donde se genera una corriente de aire caliente que se transfiere al sólido que se está secando, provocando la evaporación del agua y el transporte del vapor que se elimina del sólido. Los secaderos directos o convectivos se caracterizan por la utilización de gases calientes (aire calentado por vapor de agua, productos de la combustión, gases inertes, vapor recalentado...) o electricidad para la generación de calor. Seguidamente se procede a la impulsión de la corriente de aire caliente hacia el sólido a través de ventiladores (Fito Maupoey et al., 2020).

A continuación, se nombran los tipos de secadores convectivos que existen.

- De horno o estufa: consiste en un recinto cuadrado de dos pisos en el que el aire se calienta en un quemador situado en el piso inferior y sube al piso superior a través de una bandeja perforada donde se encuentra el producto.

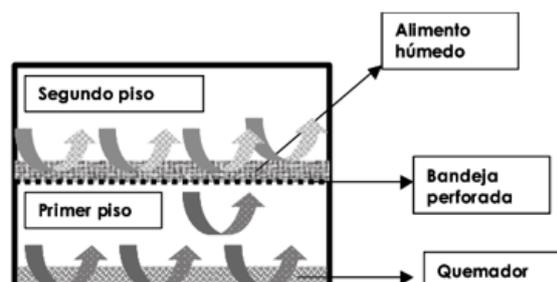


Figura 9. Esquema de un secador de horno o estufa. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020)

- De bandejas o de armario: formado por una serie de bandejas donde se sitúa el producto, dispuestas unas sobre otras con la separación adecuada por las que se hace circular aire caliente gracias a un ventilador. Pueden ser de flujo horizontal, si el aire circula paralelamente al lecho a secar, o transversal, si el aire circula perpendicularmente.

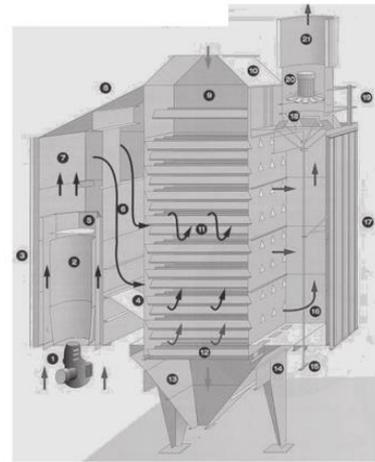


Figura 10. Secador de bandejas o armario.

Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020)

- De túnel: generalmente, en este tipo de secadores, las bandejas que contienen el producto se cargan sobre carretillas que se trasladan a lo largo del túnel de secado. Su funcionamiento consiste en que cuando entra una nueva carretilla, sale la primera que entró con producto seco y, las restantes, adelantan una posición en el túnel. La circulación del aire es horizontal a las carretillas, y puede ser en paralelo, en contracorriente, o una mezcla de ambas.

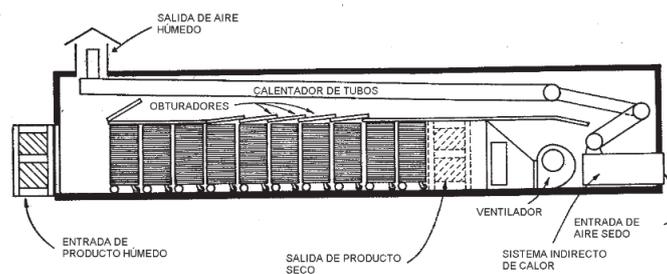


Figura 11. Secador de túnel. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020)

- De cinta transportadora: el producto a secar se deposita en una malla metálica perforada que se desplaza a una velocidad fija por un túnel. El aire de secado atraviesa la cinta perpendicularmente, siendo el flujo ascendente en el primer tramo y descendente en el tramo final. Este tipo de secadores se emplean en el caso de piensos extrusionados, como los destinados para mascotas y acuicultura dada su particularidad de un mayor contenido en humedad de éste. Es muy común ver secaderos de cinta transportadora con varios pisos (Figura 13).

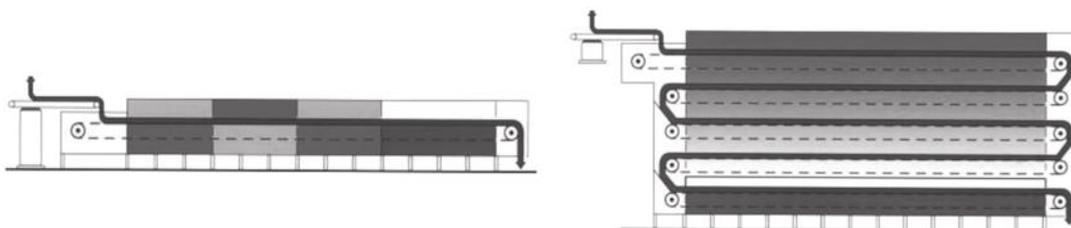


Figura 12 y 13. Secador de cinta transportadora de uno y varios pisos. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020)

- De torre o bandejas giratorias: consiste en una serie de bandejas segmentadas en forma de anillo montadas unas encima de otras sobre un eje que gira. La alimentación del secador se realiza desde la parte superior de la torre y la descarga desde la inferior, haciendo que avance producto por el secador. Tanto el flujo de sólidos como de aire caliente puede ser en paralelo o contracorriente.

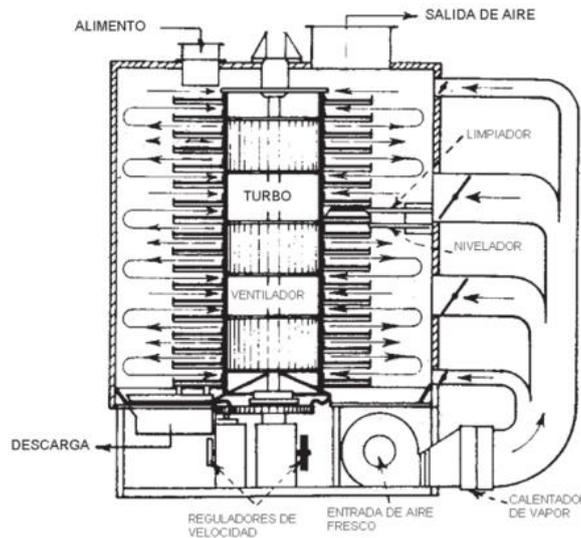


Figura 14. Secador de torre o bandejas giratorias. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020)

- De cascada: el producto se desplaza por gravedad descendiendo desde lo alto de una torre, mientras se le aplica una corriente de aire caliente transversal.
- Rotatorios: están compuestos por una carcasa cilíndrica que gira. El producto es alimentado por un extremo del cilindro y avanza por el por gravedad, saliendo seco por el otro extremo. Puede haber varios cilindros y la circulación del aire puede ser en paralelo o contracorriente.

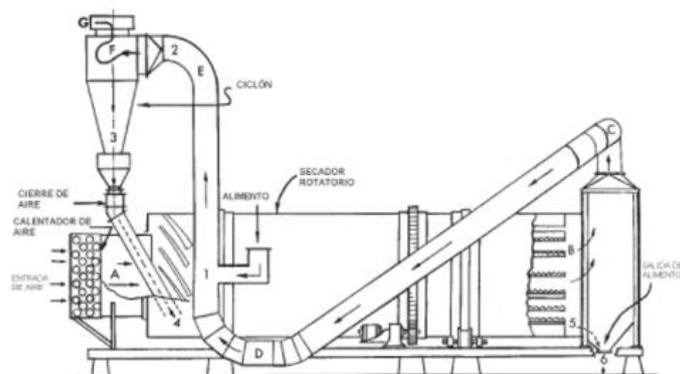


Figura 15. Secador rotatorio. Fuente: (Fito Maupoey et al., 2020)

- De lecho fluidizado: el producto húmedo es levantado desde la parte inferior y suspendido por una corriente de aire caliente que seca el sólido. Se consigue una gran superficie efectiva de contacto, lo que permite utilizar aire a temperaturas muy elevadas y por ello, reducir mucho el tiempo de secado (Fito Maupoey et al., 2020).

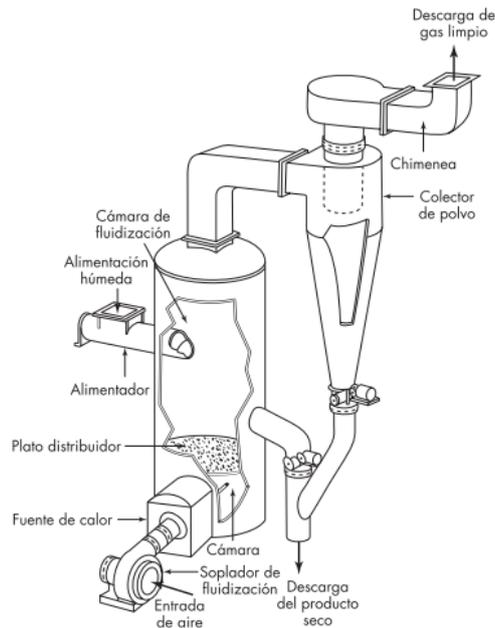


Figura 16. Secador continuo de lecho fluidizado. Fuente: (McCabe et al., 2007)).

- Por arrastre neumático: el producto es sometido a una corriente de aire caliente que transporta el material a velocidades elevadas. El secado tiene lugar durante el transporte. También permite el uso de temperaturas muy elevadas y tiempos de secado muy breves.
- Por atomización: se produce una evaporación rápida debido a la pulverización del producto a secar en el seno de una corriente de aire caliente. Es importante que en la cámara de secado se produzca la mezcla del aire caliente con las gotas dispersas del producto a secar (Fito Maupoey et al., 2020).

## 2.4. El escualeno, molécula con efectos beneficiosos para la salud humana.

El aceite de oliva virgen es el jugo de la fruta de la aceituna obtenida por procedimientos físicos y no requiere extracción ni refinamiento químico, a diferencia de otros aceites.

Los constituyentes de la composición química del aceite de oliva pueden clasificarse en dos grandes grupos: uno mayoritario, la fracción saponificable, y otro de componentes minoritarios que se corresponde con la fracción insaponificable.

La fracción saponificable, representa del 98,5 al 99,5 % del aceite, y está constituida principalmente por triglicéridos, siendo el ácido graso oleico (C18:1) el que se encuentra

en mayor proporción (entre el 70 y el 80 % de oleico en variedades de aceite de oliva producidas en España). La otra fracción, la insaponificable, también denominada genéricamente de componentes minoritarios por la pequeña proporción que representan (1-2% del aceite), contiene una gran variedad de compuestos que son responsables de la estabilidad del aceite y de sus características organolépticas y cumplen diversidad de funciones (entre ellas, funciones biológicamente activas). A diferencia de los aceites de semillas, cuya extracción se realiza con disolventes, y, por tanto, precisan de un refinado para la eliminación de otros compuestos (gomas, ceras, etc.) prescindiendo también de compuestos minoritarios importantes. Una de las grandes diferencias entre el aceite de oliva virgen y el resto de los aceites, es la composición en hidrocarburos, entre los que destaca el escualeno, presente en la fracción insaponificable.

El escualeno es un compuesto natural conocido principalmente por su papel en la ruta de la síntesis del colesterol en el organismo animal. Se trata de un hidrocarburo ( $C_{30}H_{50}$ ) presente en el aceite de hígado de tiburón, como fuente principal, aunque también está ampliamente distribuido en la naturaleza, estando presente en el aceite de oliva virgen (AOV), el aceite de palma, etc (Osada, 2021).

Hace años, estudios epidemiológicos señalaron que la dieta que compartían el conjunto de países del litoral mediterráneo se asociaba a una menor incidencia de varias patologías muy presentes en otros países occidentales, tales como el infarto de miocardio, la diabetes, dislipemias, cáncer, etc. (Ortega, 2006). El aceite de oliva se reconoció como el responsable de las acciones beneficiosas. En un principio se pensó que su poder radicaba en el alto contenido en grasas monoinsaturadas, entre ellas el ácido oleico (72%), pero se descartó por que se encontraba también en cantidades considerables en otros alimentos.

Por ello, investigaciones llevadas a cabo por el grupo de Jesús Osada (Osada, 2021) orientaron sus estudios al efecto del escualeno del AOV, como molécula fundamental en sus efectos beneficiosos, atribuidos a sus actividades biológicas, evidenciando sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiateroscleróticas.

El contenido de escualeno en el aceite de oliva virgen varía entre 1,5 g/kg y 9,6 g/kg (Murkovic et al., 2004), sin embargo, en una revisión más reciente publicada por el grupo de Jesús Osada (Martinez-Beamonte et al., 2020), estiman un contenido medio de escualeno en el AOV de  $4,554 \pm 2,095$  g SQ/ kg AOV, con un rango de variación de dos desviaciones estándar, entre 0,364 y 10,838 g SQ/ kg, calculado sobre 308 datos individuales de numerosas variedades de olivos cuantificados en 33 de las referencias citadas, en la que influyen diversos factores como variedades vegetales y procedimientos tanto agronómicos como de obtención de los aceites. La Figura 17 muestra la variabilidad del contenido de SQ en el AOV revisada en esta publicación.

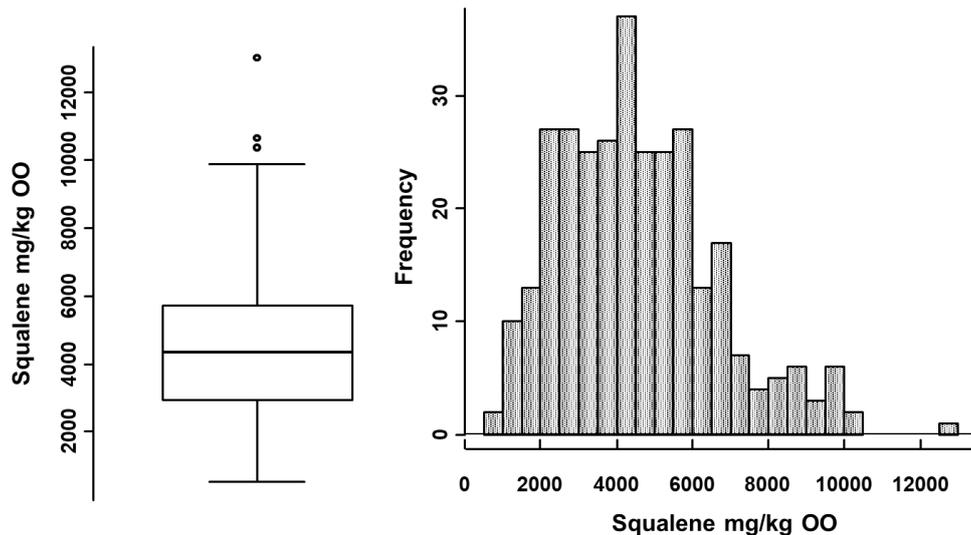


Figura 17. Variabilidad del contenido de escualeno en aceites de oliva vírgenes reportada en la bibliografía. A: diagrama de caja y bigotes y B: distribución de frecuencias del contenido de SQ en AOV. Fuente: (Martinez-Beamonte et al., 2020).

En una dieta con un consumo abundante de aceite de oliva, la ingesta de escualeno puede situarse en torno a los 200-400 mg/día, tal y como se ha observado en países mediterráneos (Ramírez-Torres et al., 2011). Una cantidad considerablemente superior al consumo medio observado en los Estados Unidos (30 mg/día).

Por otro lado, tal y como se adelantaba, la principal fuente de escualeno es el aceite de hígado de tiburón: en él las concentraciones pueden variar entre los 9 y los 816 g/kg dependiendo de la especie (Heller et al., 1957). Este aceite es un importante componente de la dieta japonesa, un régimen nutricional también asociado a una baja incidencia de las enfermedades cardiovasculares. Por ello, el escualeno se postula como el compuesto que podría relacionar ambas dietas (mediterránea y japonesa), reafirmando así en su naturaleza beneficiosa para la especie humana.

El grupo dirigido por Jesús de la Osada lleva más de 20 años en la investigación de los efectos beneficiosos del aceite de oliva virgen extra y sus componentes para la salud humana, sobre todo en el desarrollo de la aterosclerosis y los mecanismos implicados. En estas investigaciones se han empleado ratones modificados genéticamente carentes de la apolipoproteína E (Apo-E) y cerdos alimentados con dietas experimentales, en los que se estudiaron los efectos del escualeno, entre otros compuestos. Para ello se emplearon piensos elaborados con ingredientes purificados (Tabla 2) a los que se añadió una cantidad de escualeno, por lo general un 1%, comparándose esta dieta con un pienso “control”, elaborado con la misma formulación excepto el escualeno.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS**

Como se ha descrito en párrafos anteriores, los piensos experimentales fabricados en nuestro laboratorio presentan dos diferencias fundamentales respecto a los fabricados en una fábrica industrial.

En primer lugar, la humedad añadida, tanto en el estado como en la cantidad. En nuestros piensos se añade el agua en estado líquido y en mayor porcentaje respecto al tipo industrial, que se hace en forma de vapor seco y en menor proporción, lo que también afectará al siguiente proceso de secado.

En segundo lugar, el secado del pienso experimental, con mayor porcentaje de humedad, se lleva a cabo en estufa de laboratorio en la que no se conoce ni se puede controlar el flujo-masa de aire, al contrario del secado industrial, que es por flujo de aire a contracorriente, lo que requiere mayor tiempo de permanencia de estufa. Esto implica una serie de problemas importantes, a) para conseguir una conservación adecuada, evitando que el pienso se altere por la elevada proporción de agua libre, b) para alcanzar una determinada “dureza” requerida para el óptimo uso y consumo, en este caso, de animales roedores, c) para evitar un posible deterioro por efecto del secado de los compuestos a investigar y que se han añadido al pienso, con la consecuente pérdida de actividad o función de estos. Por ello se han propuesto los siguientes objetivos.

#### **Objetivos generales**

El objetivo principal de este estudio consiste en la caracterización del proceso de secado con aire caliente en un túnel de secado, de dos piensos experimentales (Chow y West). Dicha caracterización incluye la determinación de las condiciones de operación (temperatura y humedad del aire a la entrada del secadero, velocidad superficial del mismo y tiempo de secado) que aseguren la estabilidad microbiológica de los piensos experimentales.

#### **Objetivos específicos**

- Estudiar las curvas de secado para ambos piensos en las condiciones experimentales establecidas, de temperatura y velocidad superficial del aire a la entrada.
- Determinar, mediante ensayos de saturación de distintas sales, la humedad de equilibrio necesaria para conseguir la estabilidad microbiológica ( $a_w = 0,6$ ) de los piensos. A partir de estos resultados, definir el tiempo mínimo de secado para alcanzar la humedad del sólido correspondiente a un valor de  $a_w$  de 0,6.
- Conocer la concentración del escualeno en los piensos experimentales y evaluar su posible degradación o pérdida tras el tratamiento de secado. Para ello, se abordó determinar la concentración del escualeno en las muestras de piensos resultantes de los efectos de distintos tratamientos de secado a los que fueron sometidos los piensos.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1. Piensos experimentales

En el presente estudio se han utilizado dos piensos experimentales para ratones empleados en experimentación animal cuya finalidad es la salud humana. El primero de ellos es denominado “dieta Chow” y se utiliza como dieta control, mientras que el segundo es denominado “dieta Western” (West) y consiste en una dieta con un 20% de grasa, que representa una dieta humana de tipo occidental, en la cual el 35% de la energía es aportada por la grasa.

La base de la dieta Chow está elaborada con ingredientes purificados (almidón, celulosa, maltodextrina y caseína) con los correspondientes minerales y vitaminas (Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, 1993). Mientras que la dieta West está basada en la dieta Chow, con un suplemento de un 20% de grasa de palma. Cabe destacar que en ambas dietas se ha añadido un 1% de escualeno con el propósito de evaluar su posible degradación por el efecto del secado en función de la temperatura y velocidad de aire.

A continuación, se muestra la composición de los piensos experimentales empleados en el presente trabajo.

Tabla 2. Composición de ingredientes purificados (%) y su aporte calórico (kcal) en los piensos experimentales (Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, 1993) para ratones empleados por el grupo de investigación “Dieta mediterránea y potencial nutraceutico” pertenecientes al CIBER-OBN (Centro de Investigaciones Biomédica en Red Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición del Instituto de Salud Carlos III) liderado por Jesús de la Osada García, del Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular en la Facultad de Veterinaria, como Investigador Principal del mismo.

Ingredientes	Dieta "Chow"				Dieta "Western"			
	%	kcal/kg*	kcal (%)	kcal/nutriente (%)	%	kcal/kg*	kcal (%)	kcal/nutriente (%)
Almidón de maíz (a)	46,8	1.871,0	49,0	75,8	37,3	1.493,0	30,8	47,7
Casína (b)	14,1	562,0	14,7	14,7	11,2	449,0	9,3	9,3
Maltodextrina (a)	15,6	623,0	16,3		12,4	497,0	10,3	
Sacarosa (c)	10,0	402,0	10,5		8,0	321,0	6,6	
Aceite de soja (d)	4,0	362,0			3,2	289,0	6,0	
Vitacel (e)	5,0				4,0			
Mineral Mix (f)	3,5				2,8			
Aceite de palma (g)	0,0		9,5	9,5	20,0	1.800,0	37,1	43,1
Escualeno (h)	1,0				1,0			
TOTAL		3.819,0				4.848,0		

a: Cargill, Barcelona, Spain; b: Lactalis Industrie, Bourgbarré, France; c: Azucarera Ibérica S.L., Madrid, Spain; d: Aceites Muñoz, Toledo, Spain; e: Vitacel R200, Rettenmaier Ibérica S.L, Barcelona, Spain; f: AIN-93M Mineral Mix (MP Biomedicals, Illkirch, France); g: Gustav Heess, Barcelona, Spain; h: Sigma-Aldrich Química, Madrid, Gustav Heess, Barcelona, Spain

(\* ) La estimación del aporte calórico de los ingredientes se basó en los valores energéticos fisiológicos (sistema Atwater) de los nutrientes: proteínas, grasas y carbohidratos, valores estándar asumidos de 4, 9 y 4 kcal/g respectivamente.

## 4.2. Preparación de los piensos experimentales

En primer lugar, se pesaron los ingredientes en dos básculas con diferente precisión.

Se utilizó una báscula de 6000 g de capacidad para obtener la masa de los ingredientes mayoritarios: almidón de maíz, caseína, maltodextrina, Vitacel (celulosa - fibra), sacarosa, grasa y agua.

Se utilizó una báscula de 2500 g de capacidad para obtener la masa de los ingredientes que se encontraban en menor cantidad: Mineral Mix (minerales), aceite de soja y escualeno.

Imagen 1. Pesado de los ingredientes.



Los ingredientes secos se fueron introduciendo en un recipiente de mayor tamaño conforme se iban pesando. En cambio, la grasa (aceite de palma), el escualeno, el aceite de soja y el agua se trataron por separado.

La grasa se encontraba en estado sólido, debido a la refrigeración, por lo que para poder manipularla fue necesario calentarla para fluidificarla empleando para ello un microondas. Una vez fundida se introdujo en una estufa Memmert con modelo 100-800 a 50 °C para mantenerla a una temperatura constante.

El siguiente paso fue emulsionar los ingredientes fluidos (grasa, escualeno, aceite de soja) con el agua mediante un agitador magnético controlando que la temperatura se mantuviera entre 45 y 50 °C. Fue imprescindible que la mezcla de grasas y agua se mantuviera en este rango de temperaturas para favorecer la digestión y gelatinización del almidón y así provocar un posterior endurecimiento del pienso experimental.



Imagen 2. Agitador magnético utilizado en la emulsión de los ingredientes fluidos

Mientras se alcanzaba la temperatura estipulada, se amasó la mezcla de ingredientes secos durante 5 min aproximadamente, con el fin de homogeneizar dicha mezcla.

Una vez transcurrido este tiempo, se utilizó una amasadora industrial de para el mezclado de los ingredientes, con un tiempo de mezclado de 5 min.

Imagen 3. Amasadora industrial utilizada en el mezclado de los ingredientes



Finalizado este tiempo, se obtuvo una “masa” homogeneizada que se introdujo seguidamente en el extrusor dando lugar a los piensos en forma cilíndrica con unas dimensiones de 14 mm de diámetro y 30-40 mm de longitud.



Imagen 4. Picadora de carne modificada para la extrusión de piensos



Imagen 5. Proceso de salida de los gránulos o pellets

En este punto se seleccionó una muestra de unos 50 g de cada tipo de pienso para determinar el porcentaje de humedad inicial contenida en los piensos. Para ello, se siguió la metodología de la Association of Official Analytical Chemists [AOAC] (1980) y se introdujo la muestra en la estufa Memmert a 60 °C durante 48 h o hasta que la masa fuera constante y se registró el dato.

También se cogió una muestra de cada tipo de pienso antes y después de introducirlo en la estufa para analizar el escualeno antes y después del tratamiento térmico.



Imagen 6. Bandejas de almacenamiento de los pellets

### 4.3. Secado de los piensos experimentales

#### - Equipo “túnel de secado”

El túnel de secado utilizado en este experimento es de la marca Armfield y modelo UOP8-A. Consiste en un secador de bandejas a pequeña escala que seca los sólidos mediante una corriente de aire caliente que circula sobre, y de forma paralela a la superficie de las bandejas, tal y como se muestra en el esquema de la Figura 18, donde, además, aparecen las partes de dicho túnel, que se explicarán posteriormente.

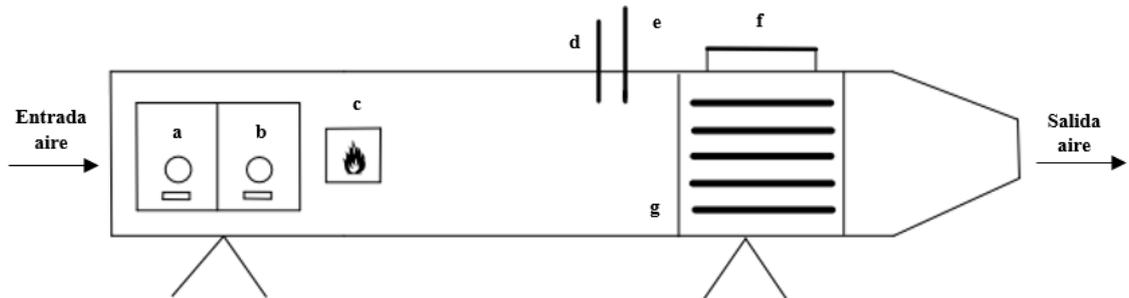


Figura 18. Esquema representativo del túnel de secado. a: control de velocidad de aire; b: control de temperatura; c: generador de calor; d: medidor de humedad relativa; e: medidor de temperatura; f: balanza digital; g: cámara de secado con bandejas. Fuente: elaboración propia.

A continuación, se muestra una imagen panorámica del túnel de secado.



Imagen 7. Túnel de secado

El túnel de secado consta de las siguientes partes:

- Control de temperatura: la temperatura es generada por dos resistencias, una de potencia fija (que se puede apagar o encender según convenga) y otra de potencia variable (aparece en la Imagen 8 con el nombre de “temperature controller”), lo cual permite alcanzar rangos variables de temperaturas. También se observa un amperímetro, en el cual conforme aumente o disminuya la velocidad de corriente, aumentará o disminuirá la temperatura.
- Control de la velocidad del aire: la velocidad del aire es una variable de proceso controlada por otro potenciómetro tal y como se muestra en la Imagen 8 denominado “air flow controller”.



Imagen 8. Controladores de temperatura y velocidad de aire del túnel de secado

- Cámara de pesado. Esta zona dispone de una estructura en la que pueden depositarse 4 bandejas, que se colocan colgadas de una balanza de precisión AND con modelo EK-6000i para cuantificar la pérdida de humedad mediante el peso. En esta cámara se controlan dos variables de proceso, la temperatura y la humedad de entrada y salida de ésta mediante sensores. Los datos del proceso se registraron con un programa de ordenador adaptado.

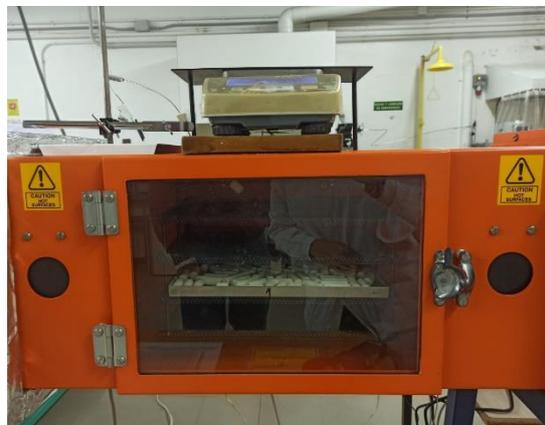


Imagen 9. Cámara de pesado del túnel de secado

Además de registrarse los datos, también pudieron observarse gracias a la incorporación al túnel de un termohigrómetro, que facilitó la medida de la temperatura y la humedad relativa a lo largo de todo el proceso.

Además, se ha utilizado un anemómetro manual AIRFLOW con modelo LCA 6000 VT para medir la velocidad del aire a la salida del túnel.



Imagen 10. Anemómetro manual

Durante el proceso de secado se registraron la evolución de las temperaturas y humedad ambientales.

- Diseño experimental

Previamente se llevaron a cabo varios ensayos para determinar los límites mínimos y máximos de temperatura y ventilación que permite el túnel, regulando, para ello, la potencia fija y variable de las resistencias y las revoluciones del ventilador. Con los resultados previos, se adoptó para el diseño experimental los valores de temperatura de: 25, 50, 65 y 80 °C y velocidad del aire de 0,60, 1,10 y 1,65 m/s. Aunque al final se descartó el experimento llevado a cabo a 25 °C, tal y como se explicará más adelante.

- Desarrollo experimental

Se partió de dos tipos de piensos experimentales congelados, tal y como se explicó anteriormente. Cada día se realizaba el secado de una muestra de unos 300 g aproximadamente, alternando los dos tipos de pienso con la finalidad de mantener fijas las potencias del túnel durante dos días seguidos, evitando así diferencias en el tratamiento de los dos tipos de piensos. Se fijó esa cantidad de muestra para que ocuparan la mayor superficie de la bandeja y el secado se produjera de forma homogénea en todos los gránulos. Fueron introducidos en la nevera 24 h antes de proceder al secado en el túnel para su descongelación. Transcurrido ese tiempo, fueron sacados de la nevera 30 min antes de introducirlos en el túnel para que alcanzaran la temperatura ambiental.

Cuando la muestra alcanzó la temperatura del ambiente se pesó en la balanza, tarando antes la bandeja con la que se iban a introducir al túnel y se anotó la masa (peso pre-túnel lab). Seguidamente, se introdujo la bandeja sin la muestra en el túnel de secado y se taró. Una vez hecho esto, se introdujo la muestra con la bandeja en el túnel y en ese mismo instante se puso en marcha el programa asociado a la balanza de precisión con la finalidad de registrar la masa exacta de la muestra antes de que comenzara a secarse (peso pre-túnel).

Una vez iniciado el proceso de secado del pienso se ajustó la velocidad del aire a la salida del túnel mediante el anemómetro. Posteriormente se anotó ese dato junto con la temperatura ambiente y la humedad relativa a la entrada del túnel medida con el termohigrómetro. Estos datos se registraron entre tres y cuatro veces a lo largo de todo el proceso de secado (Anexo 8.1).

Cada una de las muestras se dejó durante 24 h aproximadamente en el túnel de secado. Durante este proceso, el programa informático asociado al túnel de secado realizó un registro de datos cada 15 s.

Los parámetros registrados por el programa fueron: fecha, hora, tiempo (min), masa de la muestra (g), temperatura 1 (a la entrada de la cámara de pesado, en g), humedad relativa 1 (a la entrada de la cámara de pesado, en %), temperatura 2 (a la salida de la cámara de pesado, en g) y humedad relativa 2 (a la salida de la cámara de pesado, en %).

Cuando terminó el secado, se hizo una última medición de la velocidad de aire y de las condiciones ambientales y se apuntó la masa de la muestra (peso post-túnel). También se pesó en la balanza del laboratorio (peso post-túnel lab).

Seguidamente se tomó una muestra de aproximadamente 10 g y se congeló para su posterior análisis del escualeno. A continuación, se pesó el material restante en la balanza de laboratorio (peso pre-estufa) y se introdujo en la estufa a 65 °C durante 72 h aproximadamente o hasta que la masa del producto no presentara variación. Transcurrido ese tiempo se registró la masa del material seco (peso post-estufa). Esto fue necesario para calcular la humedad inicial del producto.

#### 4.4. Determinación experimental de la isoterma de sorción de los piensos

- Determinación de humedad

Para el procedimiento experimental fue necesaria la obtención de la humedad inicial del producto. Para ello, se pesaron unos 15 g aproximadamente de muestra de cada uno de los piensos (Chow y West) y se introdujeron en la estufa Memmert a 60 °C hasta la masa del producto no presentó variación, tal y como indica la metodología (AOAC, 1980). Para obtener los resultados de humedad inicial ( $X_{wi}$ ) se utilizó la fórmula descrita anteriormente en la ecuación 2.

- Obtención de sales saturadas

Para el procedimiento experimental fue necesaria la preparación de 5 sales en su forma saturada. Las soluciones saturadas utilizadas en este estudio fueron cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ), carbonato potásico ( $K_2CO_3$ ), cloruro de sodio ( $NaCl$ ), nitrato de magnesio ( $Mg(NO_3)_2$ ) y cloruro de cobre ( $CuCl_2$ ). Para llevarlas a su estado de saturación se procedió a la disolución de cada una de ellas en agua destilada a la temperatura de 20 °C. Transcurrido un tiempo se produjo la precipitación de parte del contenido de las sales debido a las fluctuaciones producidas en la temperatura ambiental, por lo que se cogió la parte que estaba disuelta y se introdujo en una cámara SELECTA con modelo Medilow-S, a una temperatura controlada de 20 °C hasta su utilización.

A continuación (Tabla 3), se pueden observar los valores de actividad de agua ( $a_w$ ) teóricos correspondientes a la temperatura de experimentación (20 °C) de las soluciones saturadas utilizadas en el presente estudio.

Tabla 3. Actividad de agua teórica de las sales saturadas utilizadas en el estudio.  
Fuente: (Vega et al., 2005).

<b>Soluciones Saturadas</b>	<b><math>a_w</math> teórica</b>
Cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ )	0,331
Carbonato potásico ( $K_2CO_3$ )	0,432
Cloruro de sodio ( $NaCl$ )	0,755
Nitrato de magnesio ( $Mg(NO_3)_2$ )	0,559
Cloruro de cobre ( $CuCl_2$ )	0,680

- Diseño y desarrollo experimental

Se utilizaron las muestras congeladas de piensos Chow y West. Para cada uno de los experimentos se tomó una cantidad aproximada de 10 g de cada pienso y se registró la masa.

Estas muestras se utilizaron para la determinación de la isoterma de sorción a 20 °C, en la cual se aplicó el método recomendado por el proyecto COST 90, donde una masa conocida de muestra se deja equilibrar con la atmósfera producida por una disolución saturada de sal con actividad de agua conocida (ver Tabla 3) en un recipiente cerrado herméticamente (Omaña et al., 2009).

Es decir, si se introduce una sal saturada con actividad conocida dentro de una cámara hermética, se genera un ambiente cuya humedad relativa en el equilibrio, a una temperatura determinada, será exactamente la actividad de la sal a esa misma temperatura. Si en el interior de la cámara se introduce la muestra de pienso, ésta irá ganando o perdiendo agua hasta quedar en equilibrio con el ambiente. La actividad de la muestra en ese momento será la de la sal, puesto que al estar saturada absorbe las variaciones de humedad de manera que la humedad relativa permanece constante. El mismo procedimiento realizado con diferentes sales permite obtener la isoterma completa del producto.

Para llevar a cabo este experimento se introdujo una muestra de cada pienso en un desecador NORMAX, que cumplió la función de hermeticidad. Éste constaba de dos cámaras en su interior: en la inferior se colocó la sal saturada, y en la superior cada una de las muestras en una balanza, la cual se introdujo con la finalidad de controlar las variaciones de la masa de las muestras y así, proporcionar información del momento de finalización del experimento. Este momento se consiguió cuando cesaron las fluctuaciones en la masa de la muestra, es decir, cuando la sal saturada y la muestra alcanzaron el equilibrio.

Además de conocer la humedad relativa teórica de cada una de las sales saturadas a 20 °C aportada por la bibliografía, se introdujo un termohigrómetro para comprobar de forma experimental la temperatura y humedad relativa del ambiente del desecador.

Se llevó a cabo un seguimiento de la saturación de las sales generando un registro de fecha, hora, temperatura ambiental, humedad relativa y presión atmosférica.

Para que el experimento se realizara a una temperatura constante de 20 °C, se introdujo el desecador con las muestras en la cámara de temperatura controlada nombrada anteriormente, donde se encontraban almacenadas el resto de las sales saturadas hasta la realización de los experimentos sucesivos.



Imagen 11. Cámara de temperatura controlada con desecador y sales saturadas.

Una vez obtenidos los resultados de cada experimento se representó la curva isotérmica de sorción de ambas muestras de pienso.

Para ello, se calculó la humedad en equilibrio ( $W_e$ ) gracias al cálculo previo de la humedad inicial de cada muestra ( $X_{wi}$ ) y al registro de las masas inicial ( $m_i$ ) y final ( $m_{ss}$ ) en la cámara hermética.

A continuación, se muestra la ecuación para el cálculo de la humedad en equilibrio:

$$W_e = \frac{m_i \times X_{wi} + (m_{ss} - m_i)}{m_i \times (1 - X_{wi})} \quad (6)$$

Representando los valores de  $a_w$  en el eje de abscisas y los valores de  $W_e$  en el eje de ordenadas se obtuvieron las isothermas de sorción de los piensos Chow y West.

#### 4.5. Tratamiento de datos y análisis estadísticos

##### - Tratamiento de datos

En primer lugar, mediante la herramienta Excel, se representó en una gráfica la evolución del contenido de humedad en función del tiempo para obtener las curvas de secado completas de cada uno de los tratamientos estudiados mediante funciones matemáticas que se ajusten a la evolución de dicha curva. Para establecer los tres periodos de secado (inducción, constante y decreciente) de manera empírica, se dibujó una recta que marcó el periodo constante, observándose  $W_c$  y el tiempo que tarda en alcanzarse la humedad crítica ( $t_c$ ) en el punto que la curva pierde la linealidad, tal y como se muestra en la Figura 19.

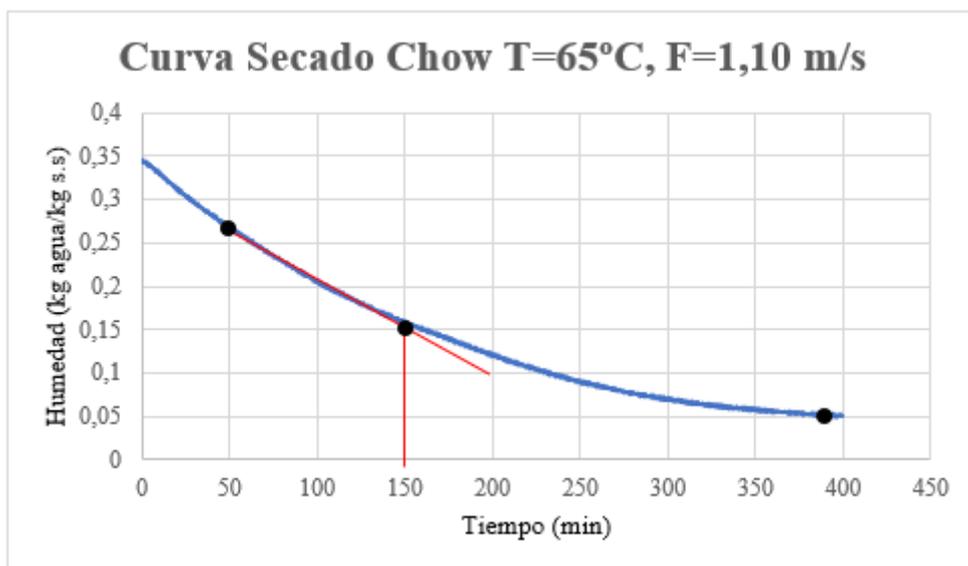


Figura 19. Método empírico realizado mediante una línea recta para definir el periodo constante, y los puntos  $W_c$  y  $t_c$ .

Así, mediante la pendiente de las líneas de tendencia del periodo constante (lineal) y decreciente (polinómico) se pudo calcular la velocidad de secado de estas fases.

Con los resultados de las isotermas de sorción obtenidas en el experimento realizado con las disoluciones saturadas se pudo calcular el valor de humedad de equilibrio y el tiempo que tarda cada pienso en alcanzar una  $a_w$  de 0,6.

Una vez obtenidos los resultados, se estudiaron los parámetros implicados para realizar análisis estadísticos que pudieran aportar conclusiones al trabajo.

- Análisis estadísticos

Primeramente, se llevaron a cabo análisis de regresión para ajustar los valores de la evolución del contenido de humedad de los piensos Chow y West respecto al tiempo durante el periodo decreciente de la curva para describir con una función matemática que se ajuste a la evolución de dicha curva y así, estimar los componentes de dicha regresión.

Dado que no se disponía de un número suficiente de repeticiones para cada tratamiento, en primer lugar, se realizaron una serie de análisis de la varianza para cada variable ( $W_c$ ,  $t_c$  y tiempo de secado) independientemente de cada factor estudiado (pienso, temperatura y velocidad de aire). De lo observado en las gráficas y según este estudio inicial, se pudo comprobar que en ningún caso la velocidad del aire tuvo efecto sobre las variables estudiadas, ya que este factor solo explicaba un ínfimo porcentaje de las variaciones observadas (entre 0,1 y 2,5% respecto a la variación total). En consecuencia, se decidió excluir la velocidad de aire como factor en el análisis de varianza realizado a posteriori, y así los datos correspondientes a velocidad del aire, que resultaron prácticamente iguales dentro de cada temperatura de secado, pasarían a considerarse como repeticiones dentro de este último factor.

De esta manera, los siguientes análisis estadísticos de la varianza se realizaron según un modelo factorial de 2 x 3, en el que se estudió el efecto de los 2 piensos, (Chow y West) y las 3 temperaturas (0,60, 1,10 y 1,65 °C) de secado sobre las 3 variables mencionadas anteriormente, la humedad crítica ( $W_c$ ) y al tiempo crítico ( $t_c$ ) y el tiempo de secado. Las medias obtenidas se contrastaron con el test de Fisher. Así mismo, se realizó un estudio de correlaciones entre las variables implicadas en el tiempo de secado. Todos los análisis estadísticos mencionados fueron realizados con el programa de estadística Statview.

En el presente estudio se consideró la significación estadística de los resultados como mínimo, a un nivel de confianza del 95% ( $P < 0,05$ ).

#### **4.6. Extracción del escualeno del pienso para su posterior análisis por Cromatografía de Gases – Masas (GC-MS)**

El objetivo de este experimento fue observar la variación en la concentración de escualeno dependiendo de la temperatura de secado, velocidad de aire de secado y tipo de pienso, partiendo de una concentración inicial de 1% de escualeno en ambos piensos. Como se ha nombrado anteriormente, cada vez que se aplicaba un tratamiento de secado en los piensos experimentales se guardaba una muestra congelada para su posterior análisis de escualeno.

Para ello, se utilizaron dos técnicas analíticas. En primer lugar, se realizó una cromatografía de gases (GC) con la finalidad de separar los compuestos de una mezcla muy compleja.

Y posteriormente, se realizó una espectrometría de masas (MS), que puede identificar con mucha exactitud cualquier sustancia si está pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes.

Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, GC (Gas Chromatography) y MS (Mass Spectrometry) da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de compuestos en mezclas complejas (Landa Baila, 2016).

Se han realizado numerosos estudios para la detección cualitativa de escualeno, pero, aun así, la cromatografía por sí sola no sirve para cuantificar la concentración de un compuesto en una mezcla. Por lo que es necesario el uso de otras técnicas disponibles, como puede ser el método de patrón interno.

Este método consiste en la preparación de diluciones a concentraciones crecientes de escualeno, que permitirá la obtención de una recta de calibrado de concentraciones. Además, se debe añadir a cada una de las preparaciones y a la muestra la misma cantidad de estándar interno, que debe ser un compuesto de naturaleza similar al escualeno y que no esté presente en la muestra a analizar.

Este método permite obtener una recta que relaciona las concentraciones con el área obtenida en el cromatógrafo, para así realizar una interpolación de los valores del área del escualeno y determinar su concentración en la muestra. De igual forma, al añadir estándares internos a la muestra con una concentración conocida podremos calcular el rendimiento de extracción de cada una de las muestras analizadas.

Los estándares internos elegidos fueron  $5\alpha$ -colestano como estándar interno primario que permitió calcular el rendimiento de extracción del método, y escualano como estándar interno secundario, el cual se añadió tras la extracción con el objetivo de calcular el rendimiento de la inyección del equipo.

Cabe destacar que, debido a los diversos tratamientos de secado a los que se sometieron ambos piensos, existían numerosas muestras para analizar, y como, además, las técnicas analíticas exigían mucho tiempo de procedimiento, se realizó el experimento en dos lotes, pudiendo simplemente obtener una réplica de cada una de las muestras.

Se analizó una muestra de cada pienso para cada tratamiento, es decir, para 25; 50; 65 y 80 °C, con las diferentes velocidades de aire de 0,60; 1,10 y 1,65 m/s, además de la muestra inicial, resultando un total de 26 muestras.

A continuación, se describe el proceso que se llevó a cabo para la extracción del escualeno mediante cromatografía de gases en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza:

- Reactivos

- PBS
- Ciclohexano
- Escualeno de calidad analítica
- 5 $\alpha$ -colestano como estándar interno primario
- Escualano de calidad analítica como estándar interno secundario
- Sílica para purificar las muestras

- Materiales

- Tubos de vidrio aptos para centrífuga
- Centrífuga
- Pipetas Pasteur
- Baño termostatzado
- Corriente de nitrógeno líquido
- Baño de ultrasonidos
- Jeringas Hamilton de precisión para las rectas
- Balanza de precisión

- Diseño y desarrollo experimental

Se cogieron las muestras de pienso Chow y West congelado y se molieron con un molinillo de café. De la muestra molida, se pesó una cantidad de 0,1 g en una balanza de precisión de 4 decimales de gramo (Metler Toledo New classic MF ML204) y se anotó el peso exacto de cada muestra.

Se transfirió la cantidad exacta de cada muestra a un tubo con 10 microlitros del estándar interno primario ( $5\alpha$ -colestano). Esta cantidad se preparó anteriormente mediante una dilución para obtener una concentración final de 50 micromolar para un 100% de eficacia en la extracción. A ese mismo tubo se añadió 1 ml de PBS estéril y 2 bolitas de circonio y se colocaron en un aparato homogeneizador de bolas (Mini-Beadbeater-16; Bio Spec Products Inc. Bartlesville, USA) durante 3 min, con el fin de conseguir una correcta homogeneización de la muestra.

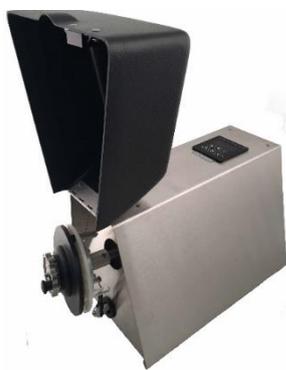


Imagen 12. Homogeneizador



Imagen 13. Cabezal porta-tubo

Se agitó en un equipo Vortex durante un minuto hasta producir una emulsión de la fase orgánica e inorgánica.

Se centrifugó durante 10 min a 2200 rpm en una centrífuga (Eppendorf centrifuge 5804) para obtener dos fases: la fase superior era orgánica y estaba compuesta por los lípidos de interés, por lo que se tomó con cuidado y se transfirió a un tubo limpio.

Se repitió la operación de añadir 1 ml + 1 ml + 0,5 ml de ciclohexano a la muestra principalmente extraída y se volvió a centrifugar para la recuperación total de las fases orgánicas.

A estas fracciones se le añadió 0,5 g de sílica sólida, con el objetivo de capturar y extraer los lípidos que provocarían ruido en la determinación.

Se centrifugó de nuevo durante 10 min a 2200 rpm y seguidamente se transfirieron 2 ml de la fase orgánica a un tubo limpio con cuidado de no coger la sílica. Se desechó el resto de la muestra y se realizaron los cálculos teniendo en cuenta el volumen de extractante utilizado, y el recuperado.

Seguidamente, se evaporó la fracción extraída mediante la introducción de estos tubos en un baño termostatzado a 45 °C con corriente de nitrógeno para evitar oxidaciones, utilizando una campana.

Una vez seca la muestra, se añadieron 200 microlitros de ciclohexano con una dilución del estándar interno secundario (escualano) preparada con anterioridad a 50 micromolar, utilizando para ello una jeringa Hamilton de precisión. A continuación, se tapó el tubo y se introdujo en un baño de ultrasonidos para solubilizar la muestra extraída.

Por último, se prepararon viales de inyección provistos de un cono reductor y se recuperó la muestra sonicada lavando bien con la pipeta las paredes del tubo, y transfiriendo la muestra al vial de inyección con su cono reductor, quedando así lista la muestra para ser procesada.

Una vez terminada la extracción, se realizó una recta de calibrado de escualeno con diluciones decimales de 0, 1, 10, 100, 1000 y 5000 micromolar, que también tendrán los dos estándares internos a 0,05 micromolar en todos los puntos de la recta preparados, utilizando jeringas Hamilton de precisión. A continuación, se muestran las cantidades utilizadas para cada dilución.

Tabla 4. Cantidades (ml) de los estándares y del ciclohexano para preparar las diluciones de la recta de calibrado.

<b>Dilución RC</b>	<b>Escualeno 31,4</b>	<b>Escualeno 0,314</b>	<b>5 <math>\alpha</math> 20 mM</b>	<b>Escualano 10 mM</b>	<b>Ciclohexano</b>
<b>5000</b>	245,2	0	4,3	10	1.280,5
<b>1000</b>	49	0	4,3	10	1.476,7
<b>100</b>	4,9	0	4,3	10	1.520,8
<b>10</b>	0	49	4,3	10	1.476,7
<b>1</b>	0	4,9	4,3	10	1.520,8
<b>0</b>	0	0	4,3	10	1.525,7

Como el procesado de las muestras no fue inmediato, se mantuvieron congeladas a -20 °C.

Una vez obtenidos los viales con el escualeno extraído, se envió al Laboratorio Agroambiental donde se llevó a cabo la cromatografía de gases-masas con el objetivo de determinar la cantidad exacta de escualeno de cada muestra.

Para la obtención de la recta patrón se representó la concentración de escualeno (x) frente al cociente de las áreas obtenidas del escualeno y el estándar interno correspondiente (y). La ecuación de la recta obtenida permitió calcular la concentración de escualeno de cada una de las muestras sustituyendo el cociente de las áreas correspondientes obtenidas en el cromatograma.

Por último, se realizó un cambio de unidades para representar el resultado final en miligramos de escualeno/gramos de pienso. La concentración obtenida es  $\mu$ Molar,

por lo que se multiplicó por el peso molecular del escualeno (410,73 g/mol) y se dividió entre 1000 para que el resultado fuera en miligramos. Para terminar, se multiplicó por el volumen de extracción utilizado (3,5 ml de ciclohexano).

Si se divide este resultado entre la masa de pienso utilizada en cada muestra, se obtienen los miligramos de escualeno existentes en cada gramo de pienso, pudiéndose representar también el porcentaje de escualeno de la muestra y el de pérdida de éste.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este capítulo se centra en el estudio y la valoración de los datos obtenidos a lo largo del desarrollo experimental de cada uno de los experimentos realizados en el trabajo.

Se presenta, en primer lugar, la evaluación de las curvas de secado obtenidas con los diferentes tratamientos a los que se sometieron los piensos experimentales Chow y West.

A continuación, se expone el análisis de las isothermas de sorción de los piensos experimentales derivadas del equilibrio alcanzado al someterlos a unas condiciones ambientales determinadas conseguidas mediante la saturación de disoluciones.

Por último, se concluye con los resultados de las concentraciones del escualeno de los diferentes tratamientos a los que se sometieron los piensos experimentales.

### 5.1. Curvas de secado de los piensos experimentales

A continuación, se encuentran representadas las curvas de secado obtenidas de los distintos tratamientos. Cabe destacar que las correspondientes a la temperatura de 25 °C no se presentan en esta memoria ya que fueron los últimos experimentos realizados y se comprobó que con esta temperatura no se realizaba el secado de las muestras ni se alcanzaba la humedad de equilibrio necesaria, por lo que se descartaron.

En el Anexo 8.1., se representan gráficamente todas las curvas de secado obtenidas, presentando a continuación las más significativas y determinantes para este trabajo.

Seguidamente, se han representado las curvas de secado para ambos piensos a 50, 65 y 80 °C, mostrando un comportamiento similar.

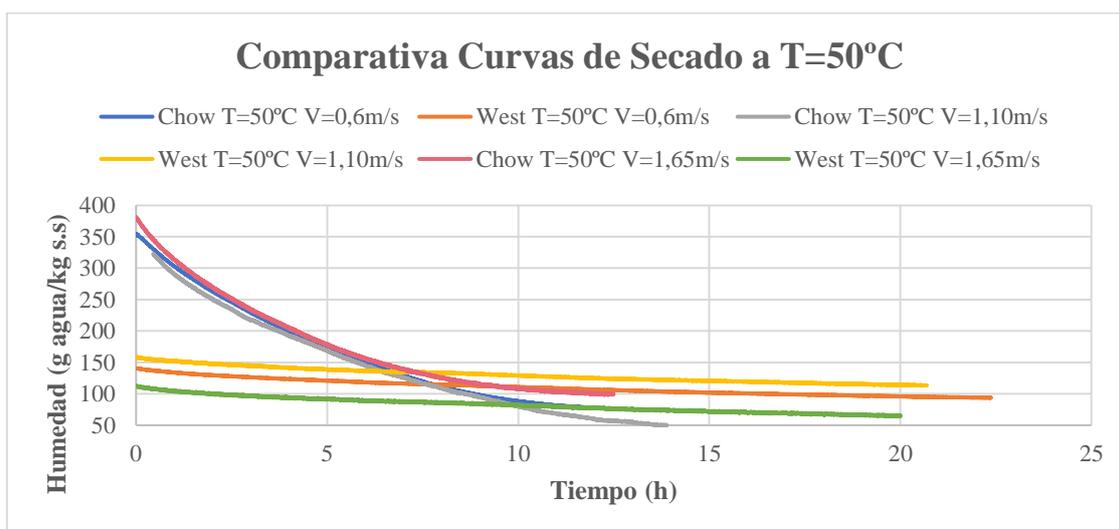


Figura 20. Comparativa de las curvas de secado de los piensos Chow y West a una temperatura de 50 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.

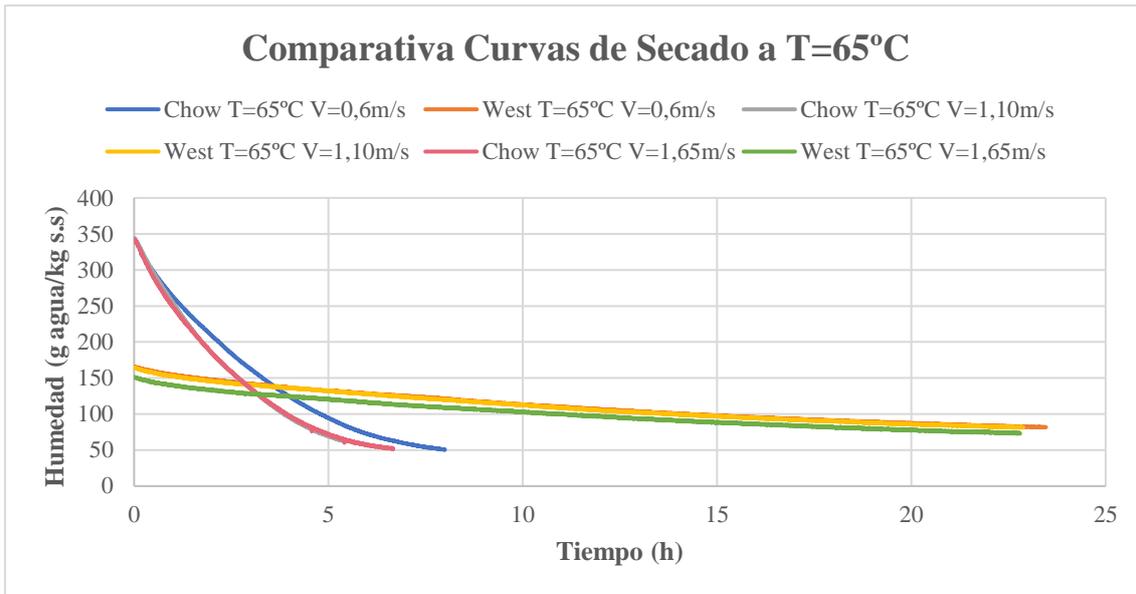


Figura 21. Comparativa de las curvas de secado de los piensos Chow y West a una temperatura de 65 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.

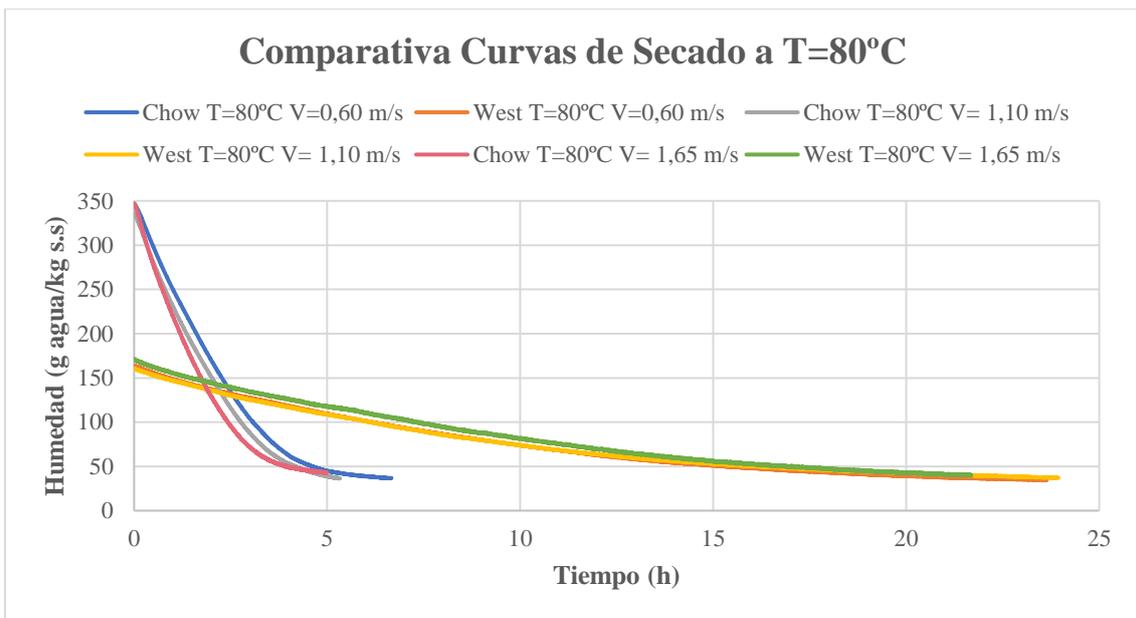


Figura 22. Comparativa de las curvas de secado de los piensos Chow y West a una temperatura de 80 °C y velocidades de aire de 0,60 m/s, 1,10 m/s y 1,65 m/s.

En ellas puede observarse que las curvas de secado entre ambos piensos resultan claramente diferentes, esto puede ser debido a la distinta composición que presentan. En el Chow, el porcentaje de grasa (aceite de soja) impuesto por su formulación era del 4% por lo que requirió un mayor añadido de agua para permitir su granulación. En cambio, el pienso West, debido a su mayor contenido en grasa (23,2%), aportado principalmente por el aceite de palma, facilitaba mucho la granulación, por lo que no requería tanta agua.

Debido a esto, el pienso Chow contiene mayor porcentaje de humedad inicial, y mayor cantidad de agua libre que el pienso West, por lo que el secado se produce de forma más rápida y efectiva en el primero.

Sin embargo, para cada uno de los piensos, se observan pendientes o tendencias similares respecto a las diferentes velocidades de aire utilizadas en los experimentos (en el Anexo 8.2. pueden verse con más detalle). En el pienso West, las curvas muestran una ligera diferencia, aunque la tendencia es la misma; podría atribuirse a una posible diferencia en la humedad relativa del aire el día que se realizaban los experimentos, ya que, debido a las condiciones de laboratorio, ésta no se podía controlar, por tanto, la humedad relativa del ambiente se considera una variable aleatoria.

## 5.2. Isotermas de sorción de los piensos experimentales

Los valores de todos los datos obtenidos, así como las ecuaciones y cálculos realizados para la determinación de las isotermas de sorción utilizando las sales cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ), carbonato potásico ( $K_2CO_3$ ), cloruro de sodio ( $NaCl$ ), nitrato de magnesio ( $Mg(NO_3)_2$ ) y cloruro de cobre ( $CuCl_2$ ), para ambos piensos experimentales se presentan en el Anexo 8.3.

Se han recopilado en una tabla los resultados de humedad en equilibrio obtenidos, con sus correspondientes  $a_w$ , según la disolución saturada utilizada.

Tabla 5. Resultados de  $W_e$  (g agua/kg s.s) de los piensos experimentales Chow y West obtenidos con cada una de las disoluciones estudiadas.

	$a_w$ sales	$W_e$ Chow	$W_e$ West
$MgCl_2$	0,33	141,5	50,3
$Mg(NO_3)_2$	0,55	159,4	62,2
$CuCl_2$	0,63	182,2	71,3
$NaCl$	0,72	199,0	80,3

Representando los valores de la tabla en una gráfica se obtiene la isoterma de sorción para el pienso experimental Chow (Figura 23) y West (Figura 24).

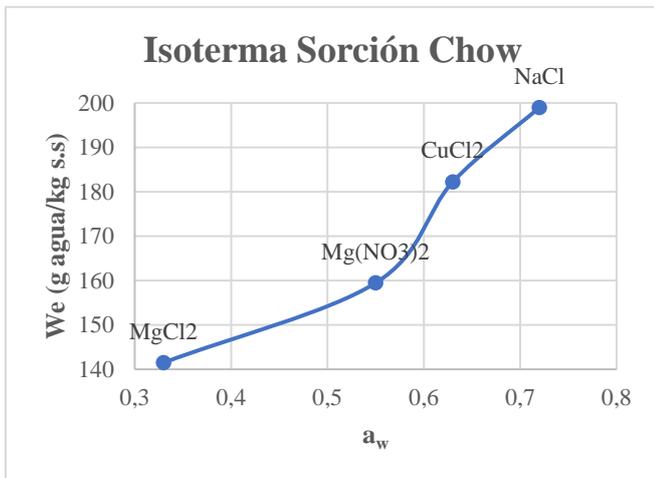


Figura 23. Isoterma de sorción del pienso experimental Chow

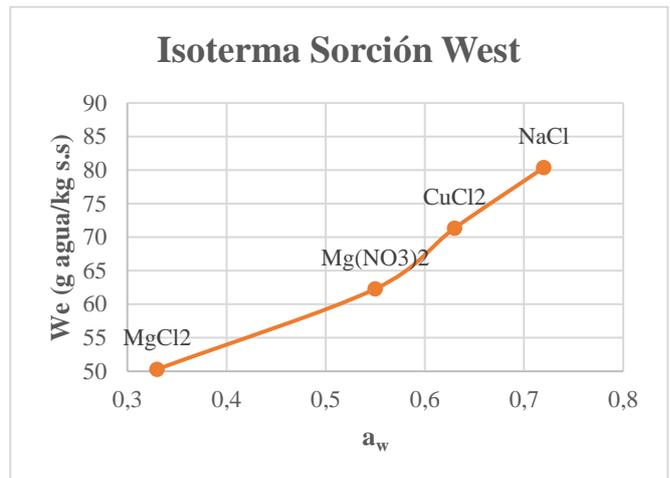


Figura 24. Isoterma de sorción del pienso experimental West

Con estos datos, se puede obtener la  $W_e$  de la muestra de los piensos Chow y West correspondiente a una  $a_w$  de 0,6. Se puede calcular mediante la interpolación de la  $a_w$  y  $W_e$  de los experimentos de  $Mg(NO_3)_2$  y  $CuCl_2$ , o mediante el punto de intersección de la curva de sorción, tal y como se muestra a continuación.

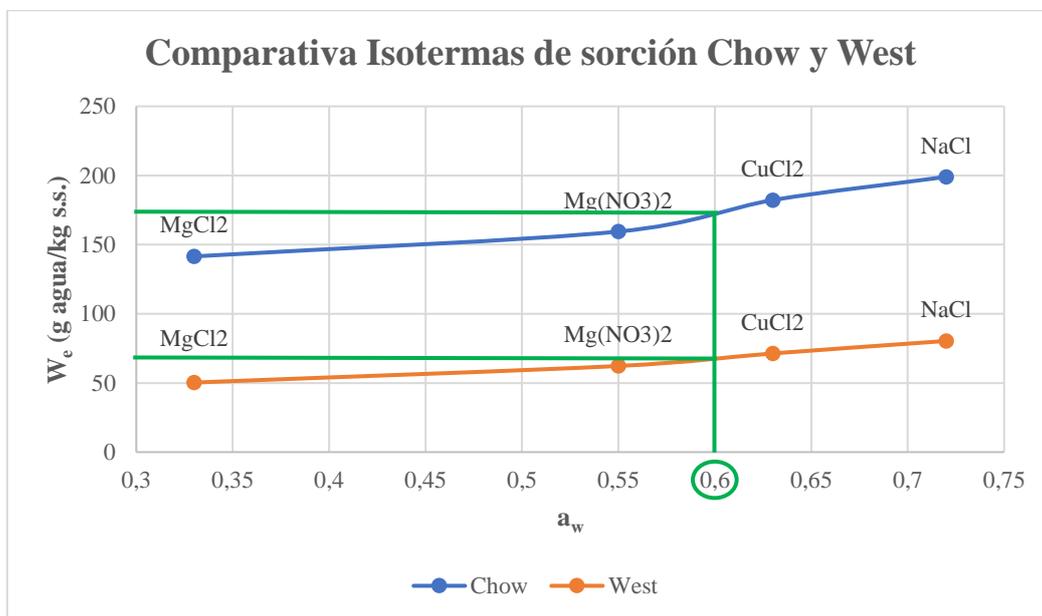


Figura 25. Obtención de la  $W_e$  con una  $a_w$  de 0,6 para los piensos experimentales Chow y West .

El resultado de humedad de equilibrio obtenido para una  $a_w$  de 0,6 en la muestra de pienso Chow y West fue de 173,6 y 67,9 g agua/kg s.s., respectivamente.

### 5.3. Tiempos de secado y humedades de equilibrio obtenidas con los tratamientos de secado

Uno de los objetivos del presente trabajo era conocer el tiempo necesario de secado para alcanzar una  $a_w$  de 0,6. Para ello, a partir del conocimiento de las isotermas de sorción se pudo calcular la  $W_e$  que debían alcanzar los piensos. En la tabla 6, se presentan los valores del tiempo de secado requerido para conseguir la estabilidad microbiológica de ambos piensos con las diferentes temperaturas y velocidades de aire.

Tabla 6. Tiempo de secado y  $W_e$  de los piensos experimentales Chow y West para alcanzar la  $a_w$  determinada de 0,6.

Temperatura (°C)	Velocidad aire (m/s)	CHOW		WEST	
		$W_e$ (g agua/kg s.s)	Tiempo (h)	$W_e$ (g agua/kg s.s)	Tiempo (h)
50	0,6	173,7	5,01	93,7	22,38
	1,1	173,7	4,34	114,5	21,80
	1,65	173,6	5,19	67,1	18,83
65	0,6	173,8	2,56	81,7	23,47
	1,1	173,7	2,19	81,8	22,88
	1,65	173,7	2,21	72,7	22,80
80	0,6	173,9	1,94	68,0	11,03
	1,1	173,7	1,69	67,7	11,14
	1,65	173,9	1,46	67,2	12,52

Puesto que las  $W_e$  necesarias para alcanzar una  $a_w$  de 0,6 en los piensos experimentales Chow y West son de 173,6 y 67,9 g agua/kg s.s., respectivamente, se puede observar que en la mayoría de los tratamientos a los que se sometió el pienso West no se alcanzó la  $W_e$  esperada, sobre todo en las muestras secadas a temperaturas menores, por lo que los piensos no se consideran estables microbiológicamente al poseer una  $a_w$  mayor a 0,6, lo que sugiere que se requiere mayor tiempo de secado en este tipo de pienso. En cambio, en los piensos Chow se alcanza la  $W_e$  esperada en todos los tratamientos realizados, durando menos tiempo aquellos con mayor temperatura.

### 5.4. Factores que afectan al tiempo de secado

Como se explicó en el apartado de estadística en Material y Métodos, en un primer análisis de la varianza independiente para cada fuente de variación, se comprobó que la velocidad del aire tiene una insignificante contribución tanto en la variabilidad total observada (entre 0,1 y 2,5% de respecto a la variación total) como en las variables analizadas, la humedad crítica ( $W_c$ ), el tiempo crítico ( $t_c$ ) y el tiempo de secado, tal como muestra la tabla.

Tabla 7. Valores medios, desviación estándar y probabilidad de significación de la velocidad del aire (m/s) para los piensos Chow y West.

Velocidad aire (m/s)	Chow			West			P
	0,6	1,1	1,65	0,6	1,1	1,65	
$W_c$ (g/kg)	150 ±4,22	151 ±5,85	156 ±1,82	104 ±17,2	113 ±23,1	97 ±8,27	0,72
$t_c$ (horas)	2,17 ±0,67	1,77 ±0,82	1,68 ±0,95	4,58 ±0,42	4,51 ±0,36	4,00 ±0,61	0,41
Tiempo secado (horas)	3,17 ±1,62	2,74 ±1,41	2,95 ±1,98	18,96 ±6,89	18,61 ±6,49	18,05 ±5,18	0,98

Debido a las escasas diferencias entre medias de velocidad de aire dentro de cada tipo de pienso, se corrobora la poca importancia de esta fuente de variación en el secado, por lo que se descarta el efecto de la velocidad de aire.

A continuación, se muestran los análisis de varianza para las fuentes de variación de los piensos y temperaturas de secado.

Tabla 8. Valores medios, desvío estándar y probabilidad de significación resultantes del análisis de varianza de la temperatura de secado (°C) para los piensos Chow y West.

T (°C)	Chow			West			P		
	50	65	80	50	65	80	Diet	Temp.	DxT
$W_c$ (g/kg)	153 ±1,99	155 ±5,28	149 ±5,75	113 ±23,37	109 ±9,37	93 ±10,9	<,0001	0,1911	0,5293
$t_c$ (horas)	2,69a ±0,15	1,84b ±0,34	1,08c ±0,37	4,80a ±0,25	4,42ab ±0,22	3,89b ±0,48	<,0001	<,0001	0,1927
Tiempo secado (horas)	4,85a ±0,45	2,32b ±0,21	1,69ab ±0,25	21,0a ±1,90	23,1a ±0,37	11,6b ±0,83	<,0001	<,0001	<,0001

Los resultados que se representan en la tabla son valores medios y  $\pm$  el desvío estándar; las letras “a” y “b” indican diferencias significativas del contraste de medias con el test de Fisher. Es decir, si al comparar tratamientos (ejemplo: 50 y 65 °C en Chow), estos poseen diferentes letras (a y b), significa que existen diferencias significativas.

De la tabla anterior se destaca que el efecto del pienso afectó significativamente a las tres variables, en cambio la temperatura de secado influyó significativamente a  $t_c$  y al tiempo de secado (no a  $W_c$ ). En cuanto al efecto de la interacción Pienso x Temperatura (DxT), se observa que afectó únicamente al tiempo de secado.

En cuanto a la tabla 8, se puede deducir que para el pienso Chow, incrementar la temperatura de 50 a 65° C, reduce el tiempo medio de secado (independientemente de las condiciones de ventilación) en un 50% (de 4,9 a 2,3 h, respectivamente) y pasando de 50 a 80° C reduce el tiempo en más del 70% (4,9 a 1,7 h, respectivamente). En cambio, para

el pienso West, al aumentar la temperatura de 50 a 65° C, el tiempo medio de secado se incrementó ligeramente (no significativo) un 10% (21,0 a 23,1 h respectivamente) mientras que, al aumentar la temperatura de 50 a 80° C, el tiempo se reduce más de un 50% (21,0 a 11,6 h, respectivamente).

Para una mejor interpretación de los resultados, se han representado gráficamente estos valores medios y desviación estándar ajustados por regresión polinómica.

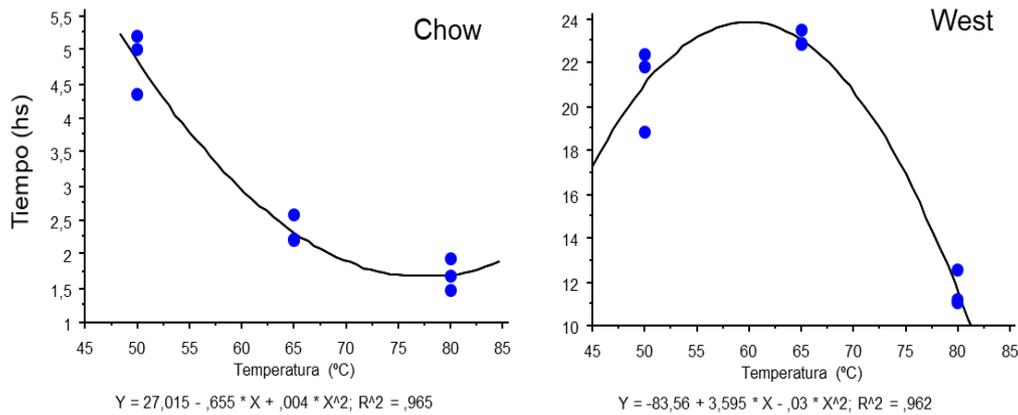


Figura 26. Representación de la regresión polinómica para el tiempo de secado para el pienso Chow y West en función de la temperatura de secado.

En esta figura se aprecia que la temperatura de secado afecta de distinta manera al pienso Chow y al West, además como lo demuestra el análisis de varianza (tabla 8) existe una interacción en la respuesta del tiempo de secado por efecto de la temperatura de secado y sería diferente para cada uno de los piensos estudiados.

También se puede deducir que para el pienso Chow, incrementar la temperatura de secado de 65 a 80 °C no reduce significativamente el tiempo de secado, pero si se reduce al aumentar de 50 a 65 °C, o de 50 a 80 °C.

En cambio, para el pienso West, no resulta significativo en la reducción del tiempo de secado, incrementar la temperatura de 50 y 65° C, pero sí de 50 a 80 °C o de 65 a 80 °C.

En resumen, en el pienso Chow resulta significativo para reducir el tiempo de secado, aumentar la temperatura de 50 °C, a cualquiera de las otras dos. Y para el pienso West, aumentar la temperatura de cualquiera de las dos a 80 °C.

Por ello, se puede interpretar que la diferencia en la composición de los piensos en contenido humedad y en grasa modifican significativamente las pautas para realizar un secado que permita alcanzar una  $a_w$  de 0,6 y que resulte seguro para evitar el desarrollo microbiológico.

No obstante, confirmar estos resultados obtenidos requiere la realización de varios estudios similares para incrementar el número de repeticiones de cada tratamiento o condición.

## 5.5. Concentración de escualeno de los piensos experimentales

### - Obtención de las rectas de calibrado

Se obtuvieron 4 rectas de calibrado, dos para cada lote, en una se representaba el ratio escualeno-escualano y en la otra escualeno-5 $\alpha$ -colestano, tal y como se encuentran representadas en el Anexo 8.4. A continuación, se presentan las ecuaciones obtenidas con las rectas de calibrado y la R<sup>2</sup> conseguida.

Tabla 9. Resultados de las rectas de calibrado.

Lote	Estándar	Ecuación Recta	R <sup>2</sup>
1	Escualano	$y = 0,01270x + 0,00196$	0,99997
1	5 $\alpha$ -colestano	$y = 0,03434x - 0,26388$	0,99962
2	Escualano	$y = 0,03854x - 0,01039$	0,99999
2	5 $\alpha$ -colestano	$y = 0,07135x - 0,05407$	0,99998

### - Resultados de escualeno según el estándar interno utilizado

En la siguiente figura se observa el porcentaje de escualeno obtenido con el estándar escualano y con el 5 $\alpha$ -colestano para el pienso experimental Chow. En el eje de abscisas se representa cada uno de los tratamientos a los que se sometieron las muestras, y en el eje de ordenadas el porcentaje de escualeno de cada una de esas muestras. En este caso solo se representa el pienso Chow porque los resultados son muy similares al pienso West en cuanto a los estándares internos utilizados.



Figura 27. Porcentaje de escualeno en función de los estándares internos utilizados para el pienso Chow

Se observa que el porcentaje de escualeno es mayor con el estándar interno primario (5 $\alpha$ -colestano). Esto es debido a que éste se añadió al principio del procedimiento de análisis, por lo que tiene en cuenta cualquier pérdida de escualeno que haya podido haber a lo largo del proceso (varias centrifugaciones, trasvases...), dando lugar al rendimiento de la extracción. En cambio, el escualano, al añadirse al final, no tienen en cuenta todas las posibles pérdidas que ha podido sufrir el escualeno, solo es una medida del rendimiento de inyección del equipo. Por todo ello, se decide representar y cuantificar los resultados a partir de la relación del escualeno con el 5 $\alpha$ -colestano, ya que es más adecuado.

- Pérdida de escualeno en los piensos experimentales

Una vez obtenidas las ecuaciones de la recta, se interpolaron los datos de cada una de las muestras y se realizó el cambio de unidades, tal y como se explicó anteriormente, para la obtención de resultados.

En primer lugar, se calculó la concentración de escualeno (SQ) en las muestras iniciales para ambos piensos, es decir, las muestras que se tomaron nada más fabricar el pienso y que se congelaron inmediatamente, y en las que no se aplicó ningún tratamiento de secado.

Tabla 10. Resultados de escualeno en las muestras de pienso iniciales

Muestra	SQ Teórico (%)	SQ Real (%)	Pérdida SQ (%)
Chow	1	0,41	-59
West	1	0,19	-81

Se observa que el escualeno sufrió pérdidas importantes sin someterlo ni siquiera al tratamiento de secado. Esto pudo atribuirse a varias causas.

Una de ellas pudo deberse a una incorrecta homogeneización en la mezcla de los ingredientes, produciendo unos pellets con mayor concentración de escualeno que otros, por lo que pudo producirse un error de muestreo. Otra posible causa, podría atribuirse al propio método de preparación y extracción del escualeno de las muestras de los piensos, ya que esta técnica resultó compleja por los numerosos pasos que había que realizar y porque no se tenía experiencia ni entrenamiento en llevarla a cabo.

No obstante, se piensa que la causa más probable de la pérdida pudo ser debido a una alteración-oxidación del escualeno por efecto del aceite de soja que se mezcló con este en el momento de la fabricación, ya que el aceite de soja empleado llevaba bastante tiempo en el laboratorio y tenía un almacenamiento inadecuado. Por ello, se llevó a cabo un análisis del índice de peróxidos del aceite de soja, dando como resultado un elevado índice de peróxidos que resultó un valor de 877,9. Como dato de referencia de esta magnitud, se compara con el índice de peróxidos de un aceite de oliva para consumo humano, que debe ser inferior a 20, por lo que se cree que este índice de peróxidos tan elevado en el aceite de soja ha

podido reaccionar y ocasionar la degradación del escualeno. El escualeno tiene propiedades antioxidantes, pero al mezclarlo con un aceite de soja oxidado podría haber reaccionado, pudiendo provocar la pérdida de este. Por tanto, se cree que esta fue la causa mayor de la degradación del escualeno de la muestra inicial.

Tampoco se puede descartar un cúmulo de fallos en toda la cadena del proceso que provocaron que los resultados obtenidos con la cuantificación del escualeno no resultaran fiables.

Así mismo, se calcularon las pérdidas de escualeno de las muestras de piensos que se sometieron al secado. Estos cálculos representan las pérdidas de escualeno en función al porcentaje de escualeno que contenían las muestras iniciales (Tabla 10), no en función al 1% de escualeno teórico.

Tabla 11. Resultados de escualeno (%) de las muestras de piensos Chow y West para cada uno de los tratamientos de secado aplicados.

T (°C)	Flujo aire (m/s)	CHOW		WEST	
		SQ en el pienso (%)	Pérdida SQ (%)	SQ en el pienso (%)	Pérdida SQ (%)
80	0,6	0,02	-95,12	0,63	231,57
	1,1	0,02	-95,12	0,23	21,052
	1,65	0,01	-97,56	0,39	105,26
65	0,6	0,04	-90,24	0,66	247,36
	1,1	0,03	-92,68	0,2	5,2631
	1,65	0,04	-90,24	0,63	231,57
50	0,6	0,03	-92,68	0,62	226,31
	1,1	0,02	-95,12	0,27	42,105
	1,65	0,13	-68,29	0,64	236,84
25	0,6	0,36	-12,19	0,6	215,78
	1,1	0,39	-4,878	0,61	221,05
	1,65	0,04	-90,24	0,17	-10,52

Con el objetivo de una mejor interpretación de los resultados de la tabla, se encuentran representados a continuación, en una gráfica de barras.

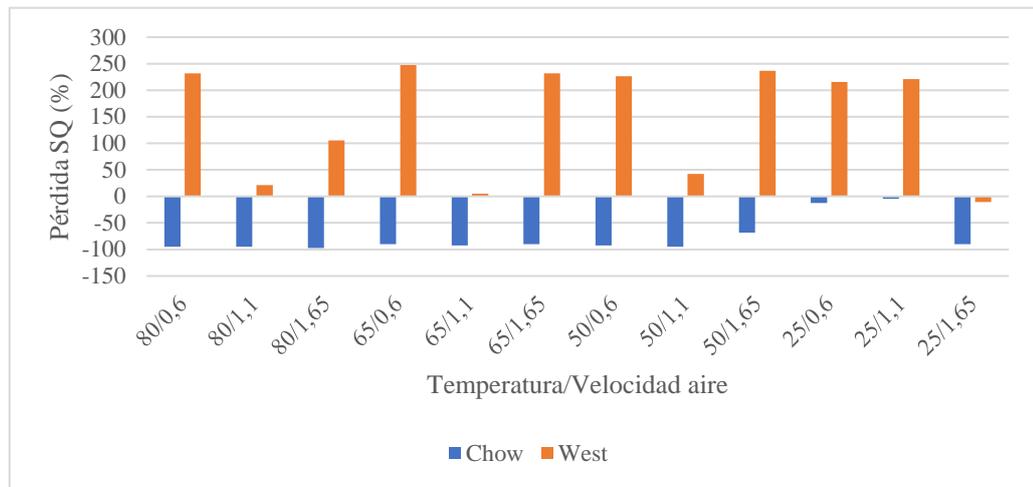


Figura 28. Pérdida de Escualeno (%) tras el secado de los piensos Chow y West.

Aunque los resultados obtenidos de las concentraciones de escualeno en este experimento son ciertamente incoherentes y no se pueden considerar válidos como valores absolutos, sí que se pueden interpretar como valores “arbitrarios o relativos” al expresarlos en porcentaje de pérdida partiendo del valor inicial, como la Figura 28. De ella, se puede interpretar que el 20% de grasa de palma (fuente de grasa saturada) que contienen los piensos West, protegió más efectivamente al escualeno de su degradación frente a la oxidación por efecto de un aceite de soja con altos niveles de peroxidación, en comparación con los piensos Chow, que no contienen este tipo de grasa.

## 6. CONCLUSIONES

En este capítulo se plasman las conclusiones alcanzadas en el trabajo fin de estudios:

De las variables estudiadas (temperatura y velocidad de aire) para la caracterización del proceso de secado, únicamente influyó de forma significativa la temperatura de secado en ambos piensos respecto al tiempo que tarda en alcanzarse la humedad crítica y al tiempo total de secado. En el pienso Chow resulta significativo para reducir el tiempo de secado, aumentar la temperatura de 50 °C, a 65 y 80 °C, y para el pienso West, aumentar la temperatura de 50 y 65 °C a 80 °C.

La diferencia en la composición de los piensos en contenido de humedad y grasa modifican significativamente las pautas para realizar un secado que permita alcanzar una  $a_w$  de 0,6 que resulte segura para evitar desarrollo microbiológico, siendo más rápido el secado del pienso Chow debido a la mayor cantidad de agua libre que posee en comparación con el pienso West, con mayor porcentaje de grasa en su formulación.

El uso de aceite de soja alterado (alto índice de peróxidos) pudo provocar la degradación del escualeno antes de someterlo a un proceso de secado. A pesar de ello, puede intuirse de los valores “arbitrarios o relativos” (los resultados analíticos fueron incoherentes y no se consideraron válidos como valores absolutos) que, tras el secado, el pienso West, que contiene un 20% de aceite de palma como fuente de grasa saturada, protege al escualeno de su degradación, en comparación con el pienso Chow, que no contiene este tipo de grasa.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Acedo-Rico González, J. (2001). Seguridad Alimentaria y Fabricación de Piensos Compuestos. Influencia de la Tecnología de Fabricación y del Diseño de Fábricas. *Fundación Española Para El Desarrollo de Nutrición Animal*.
- Aguado Alonso, J., Calles Martín, J. A., Cañizares Cañizares, P., López Pérez, B., Santos López, A., & Serrano Granados, D. P. (2002). *Ingeniería de la Industria Alimentaria. Volumen III. Operaciones de conservación de alimentos* (F. Rodríguez Somolinos (ed.)).
- AOAC. (1980). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* (PEARSON EDUCACIÓN (ed.); 4ª).
- Barbosa-Cánovas, G. V., & Vega-Mercado, H. (2000). *Dehydration of Foods* (I. Aspen Publishers (ed.)).
- CESFAC. (2007). *Guía para el desarrollo de normas de Higienización de Piensos* (Confederación Española de Fabricantes de Alimentos Compuestos (ed.)).
- CESFAC. (2021). *Mercados Estadística 2020* (Confederación Española de Fabricantes de Alimentos Compuestos (ed.)).
- FAO. (2011). *Secado de granos y secadoras - El problema de la humedad, Tipos de secadoras, Energía y combustion*. Web.  
<http://www.fao.org/3/x5028s/X5028S02.htm>
- Fito Maupoey, P., Andrés Grau, A. M., Barat Baviera, J. M., & Albors Soralla, A. M. (2020). *Introducción al secado de alimentos por aire caliente* (Universitat Politècnica de Valencia (ed.); 1ª).
- Gimeno Martínez, D. (2014). *Caracterización del funcionamiento de un deshidratador doméstico. Aplicación para el secado de fresas y comparación con otros métodos*. Universidad de Zaragoza.
- Heller, J., Heller, M., Springer, S., & Clark, E. (1957). *Squalene Content of Various Shark Livers* (179th ed.). Natura.
- IFIF. (2016). *International Feed Industry Federation*. <https://ifif.org/>
- Landa Baila, G. (2016). *Optimización y determinación de escualeno por CG-MS en diferentes muestras biológicas*. Universidad de Zaragoza.
- Manyá Cervelló, J. (2019). *Apuntes de clase Operaciones Básicas II*.
- Martinez-Beamonte, R., Sanclemente, T., Surra, J. C., & Osada, J. (2020). Could squalene be an added value to use olive by-products? *J Sci Food Agric*, 100(3), 915–925. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10116>
- McCabe, W. L., Smith, J. C., & Harriott, P. (2007). *Operaciones unitarias en ingeniería química* (Mc Graw Hill (ed.); 7th ed.).
- MAPA. (2018). *DATOS DE PRODUCCIÓN DE PIENSOS 2018* (Comisión Nacional de Coordinación en materia de Alimentación Animal (CNCAA) (ed.)).

- MAPA. (2019). *DATOS DE PRODUCCIÓN DE PIENSOS 2019* (Comisión Nacional de Coordinación en materia de Alimentación Animal (CNCAA) (ed.)).
- MAPA. (2020). *DATOS DE PRODUCCIÓN DE PIENSOS 2020* (Comisión Nacional de Coordinación en materia de Alimentación Animal (CNCAA) (ed.)).
- MAPA. (2021a). *Alimentación Animal*.  
<https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/alimentacion-animal/default3.aspx>
- MAPA. (2021b). *Informe anual de comercio exterior agroalimentario y pesquero 2020* (Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (ed.)).  
[www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/Informe\\_anual.aspx](http://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/Informe_anual.aspx)
- Murkovic, M., Lechner, S., Pietzka, A., Bratacos, M., & Katzogiannos, E. (2004). Analysis of minor components in olive oil. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 61(1–2), 155–160.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2004.04.002>
- Omaña, M., Cortes, F., Isáza, C., & García, A. (2009). *Isotermas de sorción de agua en residuos de extracción de jugo de naranja* (Vol. 8, Issue 1).
- FAO. (2014). Buenas prácticas para la industria de piensos. In *Implementacion del codigo de practicas sobre buena alimentacion animal* (Vol. 9).  
<http://www.fao.org/3/i1379s/i1379s.pdf>
- Ortega, R. M. (2006). Importance of functional foods in the Mediterranean diet. In *Public Health Nutrition* (Vol. 9, Issue 8A).  
<https://doi.org/10.1017/S1368980007668530>
- Osada, J. (2021). *El escualeno, una molécula palpitante a pesar de los ciento cinco años de su descubrimiento*. Real Academia Nacional de Farmacia.
- Parlamento Europeo, C. de la U. E. (2008). REGLAMENTO (CE) No 178/2002 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 28 de enero de 2002 por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan proc. *Diario Oficial de Las Comunidades Europeas. Serie L, 1999*, 1–18.
- Ramírez-Torres, A., Gabás, C., & Barranquero, C. (2011). *Squalene*. Nova Biomedical Books.
- Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, G. C. (1993). AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *The Journal of Nutrition*, 123, 1939–1951.
- Rial, E., Méndez, J., & Larraga, L. (2010). *Nuevas tecnologías en fabricación de piensos : doble granulación , expandir y adición de líquidos*.
- Surra, J. C. (n.d.). *Apuntes de clase de Formulación y Fabricación de piensos*.
- Vega, A., Andrés, A., & Fito, P. (2005). Modelado de la Cinética de Secado del Pimiento Rojo (*Capsicum annum* L. cv Lamuyo). *Información Tecnológica*, 16(6), 3–11.
- Vicente Martín, M. Á. (2016). *Planificación Estratégica De Una Fábrica De Piensos*

[Universidad Politécnica de Cartagena].  
<http://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/7098/pfc-vic-pla.pdf?sequence=1&isAllowed=y>