



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE UN PRODUCTO LÁCTEO
FERMENTADO ENRIQUECIDO CON ACEITE DE SEMILLA DE UVA
MICROENCAPSULADO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENOS PROFESIONALES

PRESENTA:

JUAN CARLOS CUEVAS BERNARDINO



DICIEMBRE, 2012

Chapingo, Estado de México

**PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE UN PRODUCTO LÁCTEO
FERMENTADO ENRIQUECIDO CON ACEITE DE SEMILLA DE UVA
MICROENCAPSULADO**

Tesis realizada por **Juan Carlos Cuevas Bernardino** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

DIRECTOR:



DR. ELEAZAR AGUIRRE MANDUJANO

ASESOR:



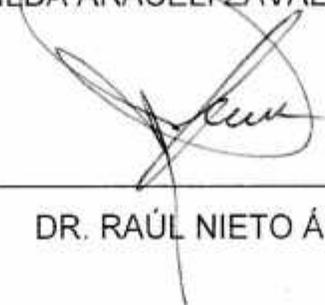
DR. CÉSAR PÉREZ ALONSO

ASESOR:



DRA. HILDA ARACELI ZAVALA MANCERA

ASESOR:



DR. RAÚL NIETO ÁNGEL

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento otorgado en mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo por haberme dado la oportunidad de superarme en varios ámbitos de mi vida.

Al Dr. Eleazar Aguirre Mandujano por su amistad, apoyo y consejos brindados en cada momento, lo cual me ha fortalecido en el área personal y profesional.

Al Dr. César Pérez Alonso por su gran ayuda y asesoría durante la realización del proyecto.

A la Dra. Hilda Araceli Zavaleta Mancera por su amistad y excelente disponibilidad en todo el transcurso de la investigación.

Al Dr. Raúl Nieto Ángel por contribuir de manera activa en solucionar los diferentes obstáculos que se presentaron en tesis.

A la Dra. Consuelo Lobato Calleros por su gran amistad, consejos y enseñanzas que marcaran mi futuro profesional.

A la M.C. Landy Hernández Rodríguez por su permanente apoyo humano, ya que sus consejos me han ayudado en mi vida personal.

A la Dra. Ofelia Sandoval y al Dr. César Ramírez por su valiosa asesoría en el transcurso de la investigación.

A los técnicos Cecilio y Anastasio del laboratorio de usos múltiples, Mauricio del laboratorio de lácteos, Mateo y Juan José del laboratorio de semillas, Guillermo Caballero y Soco del laboratorio de química de Prepa, Greta del laboratorio de microscopía del COLPOS.

A Esperancita, Chuy y Carmina^t por apoyarme y facilitarme todos los recursos.

A esas personas que me han comprendido en los momentos buenos y malos a los que me he enfrentado, sí esos a los que yo llamo amigos: Alfredo, Elvia, Ana María y Cristóbal.

DEDICATORIAS

A mis queridos y amados padres que continuamente me motivan a seguir luchando en mi vida, su gran apoyo me impulsa a seguir adelante y son mi fuerza interior; estoy muy orgullo de ustedes: Josefina Bernardino García y José Cuevas Camarillo.

A mis abuelos, hermanos y sobrinos que en conjunto hacemos una familia unida, mis logros obtenidos son suyos.

A mis tíos Irineo Cuevas y Eva Jiménez por el gran apoyo y cariño brindados durante la etapa más difícil de mi vida.

A todos, gracias...

JUAN CARLOS CUEVAS BERNARDINO

DATOS BIOGRÁFICOS

El Ing. Juan Carlos Cuevas Bernardino, obtuvo el título de Ingeniero Agroindustrial en la Universidad Autónoma Chapingo con la tesis “Estabilización de geles de yogur modificados en su contenido graso mediante pectinas de tejocote (*Crataegus* spp.)”. En el ámbito profesional ha participado en el proyecto: Caracterización de tejocote (*Crataegus* spp.) en México: Estudio comparativo de propiedades viscoelásticas y microestructurales de sus pectinas; apoyado por el Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y Agricultura (SINAREFI) perteneciente a la SAGARPA, así también ha sido colaborador del libro publicado “Caracterización de Pectinas de Tejocote (*Crataegus* spp.)”. Ha recibido capacitación profesional en el área de reología de los alimentos, calorimetría diferencial de barrido, microscopía electrónica de barrido y evaluación sensorial de alimentos.

PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE UN PRODUCTO LÁCTEO FERMENTADO ENRIQUECIDO CON ACEITE DE SEMILLA DE UVA MICROENCAPSULADO

VISCOELASTIC PROPERTIES OF A FERMENTED DAIRY PRODUCT ENRICHED WITH MICROCAPSULATED GRAPE SEED OIL

Cuevas-Bernardino, J.C.; Aguirre-Mandujano, E.; Pérez-Alonso, C.; Zavaleta-Mancera, H.A.; Nieto-Ángel, R

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la composición química, sinéresis, propiedades viscoelásticas y la aceptabilidad de los atributos sensoriales de productos lácteos fermentados bajos en grasa enriquecidos con aceite de semilla de uva microencapsulado. Un producto lácteo fermentado completo en grasa (PLF_{CG}, 30 g de grasa L⁻¹) y un producto lácteo fermentado bajo en grasa (PLF_{BG}, 15 g de grasa L⁻¹) fueron preparados como controles. Dos productos lácteos fermentados bajos en grasa (15 g de grasa L⁻¹) usando leche adicionada con 5 g de microcápsulas M_{WPC-PT100 3:1} (PLF_{PT100}) y 5 g de microcápsulas M_{WPC-PC 3:1} (PLF_{PC}). PLF_{PC} y PLF_{PT100} presentaron valores de sinéresis similares al PLF_{CG} y parámetros reológicos menores a aquellos mostrados por los controles. Además el PLF_{PT100} tuvo mayor calificación en la aceptabilidad sensorial.

Palabras claves: aceite de semilla de uva, microcápsulas, producto lácteo fermentado, secado por aspersión.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the general chemical composition, syneresis, viscoelastic properties, and the acceptability of the sensory attributes of low-fat fermented dairy products enriched with microencapsulated grape seed oil. A PLF_{CG} full-fat fermented dairy product (PLF_{CG}, 30 g of fat L⁻¹), and a low-fat fermented dairy product (PLF_{BG}, 15 g of fat L⁻¹) were prepared as controls. Two low-fat fermented dairy products were prepared (15 g of fat L⁻¹) using milk added with 5 g of microcapsules M_{WPC-PT100 3:1} (PLF_{PT100}), and 0.5 g of microcapsules M_{WPC-PC 3:1} (PLF_{PC}). PLF_{PC} and PLF_{PT100} presented values of syneresis similar to PLF_{CG} and lower rheological parameters to those showed by the controls. In addition, the PLF_{PT100} had higher acceptability sensory scores.

Keywords: grape seed oil, microcapsules, fermented dairy product, spray drying.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	6
2.1. Objetivo general	6
2.2. Objetivos particulares	6
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	8
3.1. Generalidades del producto lácteo fermentado	8
3.1.1. Origen y definición	8
3.1.2. Importancia funcional	8
3.1.3. Factores de calidad del producto lácteo fermentado	9
3.1.4. Importancia de enriquecer productos lácteos fermentados	9
3.2. Aceite de semilla de uva	11
3.2.1. Generalidades e importancia de la uva	11
3.2.2. Aceite de semilla de uva	13
3.3. Emulsiones	14
3.4. Microencapsulación	16
3.4.1. Materiales usados en emulsiones y microcápsulas	17
3.5. Reología	21
3.6. Evaluación sensorial	23

4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
4.1. Materiales	25
4.2. Perfil de ácidos grasos.....	26
4.3. Extracción de pectina de tejocote	26
4.4. Rendimiento de pectina de tejocote	27
4.5. Grado de esterificación de la pectina de tejocote	27
4.6. Elaboración de emulsiones	28
4.7. Comportamiento de flujo de las emulsiones	29
4.8. Distribución de tamaño y morfología de gotas de las emulsiones	29
4.9. Elaboración de microcápsulas	29
4.10. Eficiencia de microencapsulación	30
4.11. Estabilidad térmica de las microcápsulas	31
4.12. Micromorfología de las microcápsulas	31
4.13. Elaboración del producto lácteo fermentado.....	32
4.14. Análisis químico proximal.....	33
4.15. Sinéresis	33
4.16. Comportamiento de flujo del producto lácteo fermentado.....	33
4.17. Comportamiento viscoelástico del producto lácteo fermentado	34
4.18. Evaluación sensorial	35
4.19. Análisis de datos	35
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
5.1. Composición de ácidos grasos del aceite de semilla de uva	37
5.2. Rendimiento de pectina de tejocote	39
5.3. Grado de esterificación de la pectina de tejocote	40

5.4. Comportamiento de flujo de las emulsiones	41
5.5. Distribución de tamaño y morfología de gotas	45
5.6. Eficiencia de microencapsulación	49
5.7. Estabilidad térmica de las microcápsulas	51
5.8. Micromorfología de las microcápsulas	54
5.9. Análisis químico proximal del producto lácteo fermentado	58
5.10. Sinéresis de los productos lácteos fermentados	60
5.11. Comportamiento de flujo del producto lácteo fermentado	61
5.12. Comportamiento viscoelástico del producto lácteo fermentado	64
5.13. Evaluación sensorial del producto lácteo fermentado	69
6. CONCLUSIONES	72
7. BIBLIOGRAFÍA	74

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de ácidos grasos de diferentes aceites vegetales	14
Cuadro 2. Relación de los biopolímeros en las emulsiones aceite-en-agua	28
Cuadro 3. Relación de los biopolímeros/aceite en las microcápsulas	30
Cuadro 4. Composición de ácidos grasos de aceite de semilla de uva	38
Cuadro 5. Parámetros del modelo de Carreau de las emulsiones.....	44
Cuadro 6. Diámetro superficial medio (D_{32}) de las gotas de la emulsión aceite-en-agua.....	46
Cuadro 7. Eficiencia de microencapsulación de las microcápsulas	49
Cuadro 8. Temperaturas de humo del aceite superficial y de degradación de las microcápsulas	54
Cuadro 9. Composición química proximal de los productos lácteos fermentados	59
Cuadro 10. Sinéresis de los productos lácteos fermentados a los 5 d de elaborados	60
Cuadro 11. Parámetros de los términos del modelo de Carreau de los productos lácteos fermentados.....	64
Cuadro 12. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') de los productos lácteos fermentados en la región viscoelástica lineal	68
Cuadro 13. Valores de la aceptabilidad por atributos asignados a las variaciones de los productos lácteos fermentados	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales causas de mortalidad general en México	9
Figura 2. Principales países productores de uva en volumen de producción ...	12
Figura 3. Principales estados de México productores de uva	13
Figura 4. Diagrama de la estructura de la α -lactoglobulina bovina	18
Figura 5. Estructura básica de la pectina y su representación esquemática	19
Figura 6. Principales estados de México productores de tejocote	20
Figura 7. Cromatograma de la composición de ácidos grasos del aceite de semilla de uva	37
Figura 8. Fruto y pectina de tejocote del Banco de Germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo	40
Figura 9. Comportamiento de la viscosidad aparente de las emulsiones en función de la tasa de corte	42
Figura 10. Micrografías ópticas de emulsiones aceite-en-agua después de 1 d de almacenamiento.....	48
Figura 11. Termogramas obtenidos de las microcápsulas con aceite superficial	51
Figura 12. Termogramas obtenidos de las microcápsulas sin aceite superficial	53
Figura 13. Micrografías Electrónicas de Barrido de las microcápsulas de aceite de semilla de uva	55

Figura 14. Micrografías Electrónicas de Barrido de las microcápsulas de aceite de semilla de uva	56
Figura 15. Micrografía Electrónica de Barrido de la estructura interna de una microcápsula.....	58
Figura 16. Comportamiento de la viscosidad aparente de los productos lácteos fermentados en función de la tasa de corte, a los 5 d de su elaboración	62
Figura 17. Variación de los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') de los productos lácteos fermentados en función de la deformación, a los 5 d de almacenamiento.....	65
Figura 18. Variación de los valores de $\tan \delta$ de los productos lácteos fermentados en función de la deformación, a los 5 d de elaborados	67
Figura 19. Análisis de componentes principales de la aceptabilidad de los atributos sensoriales y la aceptación global de los productos lácteos fermentados.....	70

1. INTRODUCCIÓN

Los productos lácteos fermentados son alimentos muy apreciados por los consumidores debido a sus propiedades texturales y sensoriales, su calidad nutricia y el beneficio que proporcionan a la salud. Dichos alimentos son ideales para modificar su composición grasa, disminuyendo la butírica y sustituyéndola por ácidos grasos poliinsaturados, los cuales incrementan los beneficios a la salud de los consumidores.

El yogur adicionado con ácidos grasos poliinsaturados puede ser considerado como un alimento nutracéutico (benéfico a la salud). Existen numerosos reportes en los que se menciona la elaboración de yogur enriquecido con aceite de pescado microencapsulado. Estrada *et al.* (2011) elaboró un yogur de fresa conteniendo aceite de salmón microencapsulado, las microcápsulas se obtuvieron mediante secado por aspersion; determinó las características de calidad y encontró que la fortificación del yogur de fresa con aceite microencapsulado no tuvo efectos significativos sobre la sinéresis y pH. Tamjidi *et al.* (2012) enriqueció un yogur con aceite de pescado microencapsulado por coacervación compleja, encontrando que la acidez, la viscosidad aparente y la capacidad de retención de agua fue más alta en los yogures enriquecidos que en los yogures control; pero por otra parte los yogures enriquecidos presentaron los valores más bajos en firmeza del gel y la separación de suero en comparación con los controles.

En los últimos años, los consumidores han dirigido su interés hacia productos reducidos o bajos en grasa ya que son asociados con la reducción de riesgos de obesidad y enfermedades coronarias. El consumo de alimentos bajos en grasa se ha transformado para muchas personas, en una forma de vida y asociada en el cuidado de su salud (Akalin *et al.*, 2008).

Las enfermedades isquémicas del corazón son la segunda causa de mortalidad general en México según datos de la Secretaria de Salud (2010). Meaney *et al.* (2007) estudiaron los factores de riesgo cardiovascular en la población Mexicana, de una muestra de 140 017 personas de seis ciudades de México (Ciudad de México, Guadalajara, Monterrey, Puebla, León y Tijuana) encontrando que el 71.9 % de los participantes presentaron obesidad o sobrepeso, concluyendo que la población Mexicana presentó un alto riesgo cardiovascular.

Los alimentos considerados como amigables al corazón, los cuales presentan bajos contenidos de grasa de tipo saturada o su elaboración es con aceites vegetales conteniendo ácidos poliinsaturados, los cuales ayudan a reducir los niveles de colesterol sanguíneo, como el aceite de semillas de uva.

Las semillas de uva contienen de 10 a 20 % de aceite con alto contenido de ácidos grasos insaturados como linoleico (58-78 %), oleico (3-15 %) y linolénico (0.3 %), por lo que lo convierten en un aceite comestible de alto valor nutritivo, además de presentar algunas actividades farmacéutica como: inhibición de enfermedades cardiovasculares, reducción de colesterol en la sangre, entre otras (Kim *et al.*, 2010). Desde un punto de vista ecológico, la utilización completa de las uvas incluyendo las semillas que son un subproducto de la

producción de vino y jugo, podría ser un aspecto importante en la reducción de residuos agrícolas (Bail *et al.*, 2008). Sin embargo, es bien conocido que la oxidación de lípidos es un problema mayor en el procesado de alimentos y que el almacenamiento de grasas, aceites y alimentos que contienen grasa puede provocar rancidez (Serfert *et al.*, 2009). El aceite de semilla de uva es químicamente inestable y susceptible al deterioro por oxidación, especialmente cuando se le expone al oxígeno, luz, humedad y temperatura, puede fácilmente oxidarse debido a su alto grado de insaturación (Tonon *et al.*, 2011). Una alternativa para protegerlo e incrementar su vida de anaquel es la microencapsulación, la cual consiste en generar una barrera física que lo proteja de condiciones ambientales (Ahn *et al.*, 2008). Existen varios reportes relacionados con la microencapsulación de diversos aceites: pescado, colza, canola, naranja y menta utilizando diferentes biopolímeros gelatina, pectina, goma arábica, goma de mezquite, maltodextrina como agentes encapsulantes (Kagami *et al.*, 2003; Rodríguez-Huezo *et al.*, 2004; Madene *et al.*, 2006, Bonilla *et al.*, 2010). Otras investigaciones se enfocan a la microencapsulación de compuestos bioactivos de plantas utilizando maltodextrina e inulina como agentes emulsificantes (Cho y Park, 2002; McClements *et al.*, 2007; Saénz *et al.*, 2009).

La pectina es un biopolímero que se ha utilizado también como material de pared para microencapsular compuestos bioactivos (Humblet-Hua *et al.*, 2011). Gharsallaoui *et al.* (2010) estudió el efecto del secado por aspersion sobre la estabilidad de emulsiones con complejos de proteína de chícharo y pectina, así como las propiedades de compuestos volátiles microencapsulados por secado

por aspersión con la misma mezcla de biopolímeros (Gharsallaoui *et al.*, 2011). Otros reportes muestran la utilización de la pectina de manzana en combinación con maltodextrina para la obtención de microcápsulas mediante secado por aspersión para encapsular extractos nutraceuticos (Sansone *et al.*, 2011); también pectina de remolacha para microencapsular aceite de pescado y oliva (Palavarapu *et al.*, 2011). Por lo tanto la pectina de tejocote puede presentar buena funcionalidad y ser una alternativa.

La microencapsulación de aceite de semilla de uva utilizando pectina de tejocote puede ser una alternativa novedosa para obtener microcápsulas que puedan ser incluidas para enriquecer una amplia gama de productos alimenticios, además esto puede contribuir a fomentar el uso de recursos agrícolas mexicanos (aceite de semilla de uva y tejocote producidos en Baja California y Puebla, respectivamente).

La utilización de pectina de tejocote distribuido por productores regionales permite la generación de nuevos conocimientos y tecnología propia, el conocer la funcionalidad de la pectina de tejocote, puede dar la pauta para ser considerada como alternativa para sustituir a la pectina comercial y con ello, contribuir al desarrollo de tecnología y la generación de conocimientos que puede favorecer al desarrollo económico y social de los productores rurales de este cultivo, ofreciendo mayor rentabilidad a su labor, logrando aumentar los ingresos por sus cosechas.

Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue la elaboración de un producto lácteo fermentado, bajo en grasa y enriquecido con aceite de semilla de uva microencapsulado, utilizando mezclas de biopoliméricas pectina-

concentrado de proteína de lactosuero y que presentara las propiedades viscoelásticas y atributos sensoriales aceptados por los consumidores, similar al producto completo en grasa.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Determinar el efecto del tipo de mezcla biopolimérica, concentrado de proteína de lactosuero-pectina y su composición, sobre la eficiencia y las propiedades de microcápsulas de aceite de semilla de uva, adicionadas en producto lácteo fermentado bajo en grasa.

Determinar la composición química general, sinéresis, propiedades viscoelásticas y aceptabilidad de los atributos sensoriales de productos lácteos fermentados bajos en grasa láctea, enriquecidos con aceite de semilla de uva microencapsulado.

2.2. Objetivos particulares

Cuantificar los ácidos grasos del aceite de semilla de uva, usando cromatografía de gases.

Extraer la pectina de tejocote de 2 accesiones para su utilización como material de pared en la microencapsulación de aceite de semilla de uva.

Preparar emulsiones simples aceite-en-agua, que sean susceptibles para la elaboración de microcápsulas mediante secado por aspersion, utilizando como material de pared concentrado de proteína de lactosuero y pectinas.

Analizar la morfología externa e interna de las microcápsulas obtenidas mediante secado por aspersion empleando Microscopía Electrónica de Barrido.

Implementar el método de preparación del producto lácteo fermentado bajo en grasa láctea utilizando microcápsulas para enriquecerlo con aceite de semilla de uva.

Evaluar la aceptabilidad de los atributos sensoriales de los productos lácteos fermentados bajos en grasa láctea enriquecidos con aceite de semilla de uva microencapsulado y de los controles sin microcápsulas.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Generalidades del producto lácteo fermentado

3.1.1. Origen y definición

El producto lácteo fermentado es originario probablemente del medio oriente o de Mesopotamia, su consumo data de alrededor del año 500 a.C. (Tamime y Robinson, 2007).

La norma oficial mexicana (NOM-185-SSA1-2002) define al producto lácteo fermentado, como el producto lácteo obtenido de la fermentación de la leche mediante la acción de microorganismos específicos cuyo resultado sea la reducción del pH, adicionado o no de aditivos para alimentos e ingredientes opcionales.

3.1.2. Importancia funcional

El producto lácteo fermentado se considera como un alimento funcional, porque además de aportar energía y nutrimentos se le han atribuido efectos terapéuticos y probióticos (Shah, 2001). Fortalece el sistema inmune, tiene actividad anticancerígena y reduce el colesterol en sangre (Bertolami, 1999), estas propiedades son derivadas de bacterias probióticas, péptidos bioactivos, ácido linoleico conjugado y esfingolípidos (estos tres últimos actúan como agentes anticancerígenos) (O' Sullivan *et al.*, 1992).

3.1.3. Factores de calidad del producto lácteo fermentado

El producto lácteo fermentado deberá presentar un coágulo sin separación del suero, sabor agradable y no excesivamente ácido (Soroa y Pineda, 1980). El Codex Alimentarius especifica un contenido mínimo de grasa de 3 % para yogur entero y menor de 0.5 % para el yogur descremado, así como una acidez del 0.9 % expresada como ácido láctico (García, 1990).

3.1.4. Importancia de enriquecer productos lácteos fermentados

En México el total de defunciones fue de 538,288 según datos de la Secretaría de Salud (2010), en la Figura 1 se muestran las principales causas generales de mortalidad.

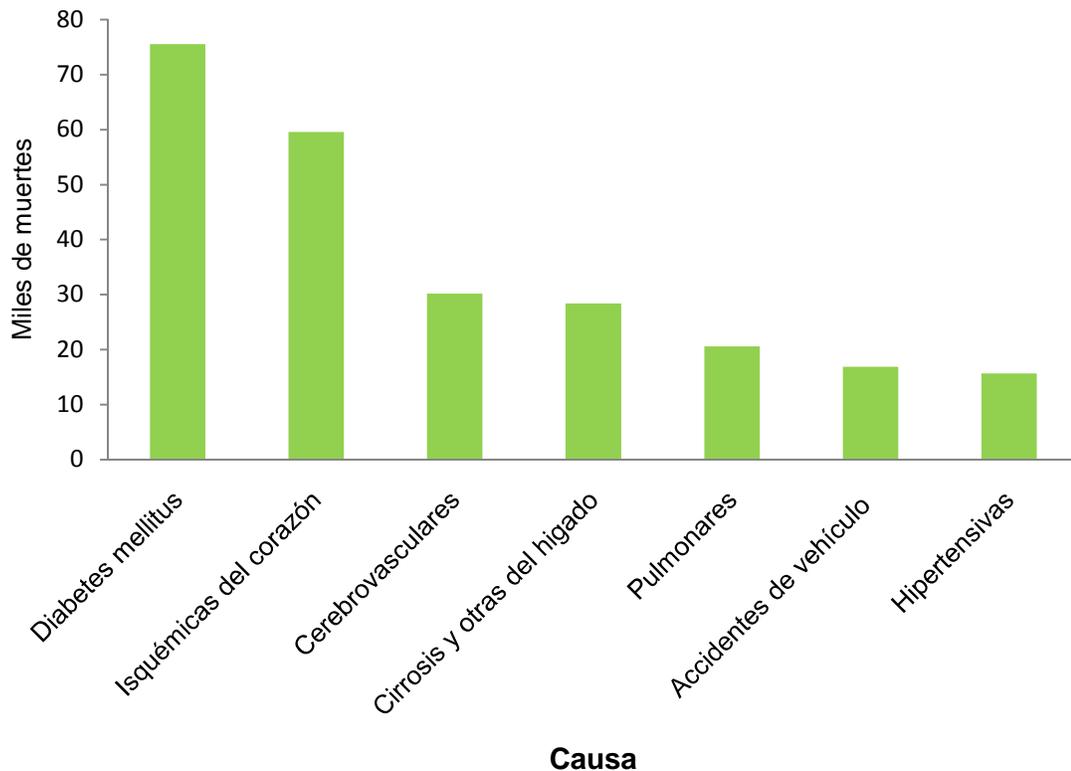


Figura 1. Principales causas de mortalidad general en México.

Como se puede observar la principal causa de muerte en la población mexicana es la diabetes mellitus, seguido muy de cerca por las enfermedades isquémicas del corazón. Cabe mencionar que al sumar las muertes provocadas por las enfermedades isquémicas del corazón y las hipertensivas, dichas enfermedades ocuparían el primer lugar como causa de muerte en la población y por lo general estas están relacionadas con problemas de obesidad y sobrepeso.

Los ácidos grasos omega-3 y omega-6 pueden formar parte de los triacilglicerolés que se consumen a través de la dieta, forman parte de la membrana de la célula y por eso influyen en su permeabilidad, la ausencia de ácidos omega-3 está asociada a procesos inflamatorios y al desarrollo precario de neuronas se reconocen también efectos benéficos sobre enfermedades cardiovasculares como hipertensión o isquemia (Coronado-Herrera *et al.*, 2006). Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (C18-C22) son aceptados ampliamente como parte de la nutrición moderna por sus efectos benéficos sobre el metabolismo (Gogus y Smith, 2010). Los ácidos linoleico, -linolénico y araquidónico son considerados indispensables ya que no pueden ser biosintetizados en el organismo humano, de ahí su importancia de inducirlos en la dieta (Coronado-Herrera *et al.*, 2006). Estos ácidos grasos se encuentran en fuentes marinas como pescado, ostra, camarón pero también existen en un amplio rango de productos de plantas como nueces, semillas y aceites vegetales (Gogus y Smith, 2010).

Con el fin de crear nuevos alimentos funcionales, la producción de productos lácteos fermentados enriquecidos con aceites microencapsulados, puede ser

una alternativa para los mercados de consumidores cada vez más conscientes de la salud y puede favorecer al incremento en el consumo de ácidos grasos esenciales en la población, esto puede reducir riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, una de las principales causas de muerte (Estrada *et al.*, 2011). El aceite de semilla de uva es una alternativa para enriquecer productos lácteos fermentados.

3.2. Aceite de semilla de uva

3.2.1. Generalidades e importancia de la uva

La uva pertenece a la familia Vitaceae que agrupa unas 600 especies, la más conocida es la *Vitis vinífera* L. La piel u hollejo del fruto encierra en el interior la pulpa y semillas. Desde el punto de vista químico contiene agua, celulosa, ácidos orgánicos, minerales, y dos sustancias muy importantes taninos y flavonas. Las semillas contienen numerosas sustancias entre las que destacan taninos y ácidos grasos poliinsaturados. La pulpa ocupa del 83% al 92% del fruto, está compuesta por agua, azúcares, ácidos, sustancias nitrogenadas y minerales (Shaker, 2006; Ahn *et al.*, 2008; Choi y Lee, 2009).

Las uvas han sido utilizadas desde tiempos antiguos. Actualmente son muy importantes en todo el mundo por los beneficios nutricionales que brindan al ser consumidas en fresco o secas, siendo estas la materia prima para la producción de vino; también los extractos de su cáscara (piel) y semillas son usadas en aplicaciones farmacéuticas por las propiedades benéficas a la salud (Bail *et al.*, 2008, Maier *et al.*, 2009).

La uva es una de las frutas más cultivadas a nivel mundial, con una producción anual de aproximadamente 68 millones de Ton, en la Figura 2 se muestran los principales países productores y su volumen de producción de uva (FAO, 2010).

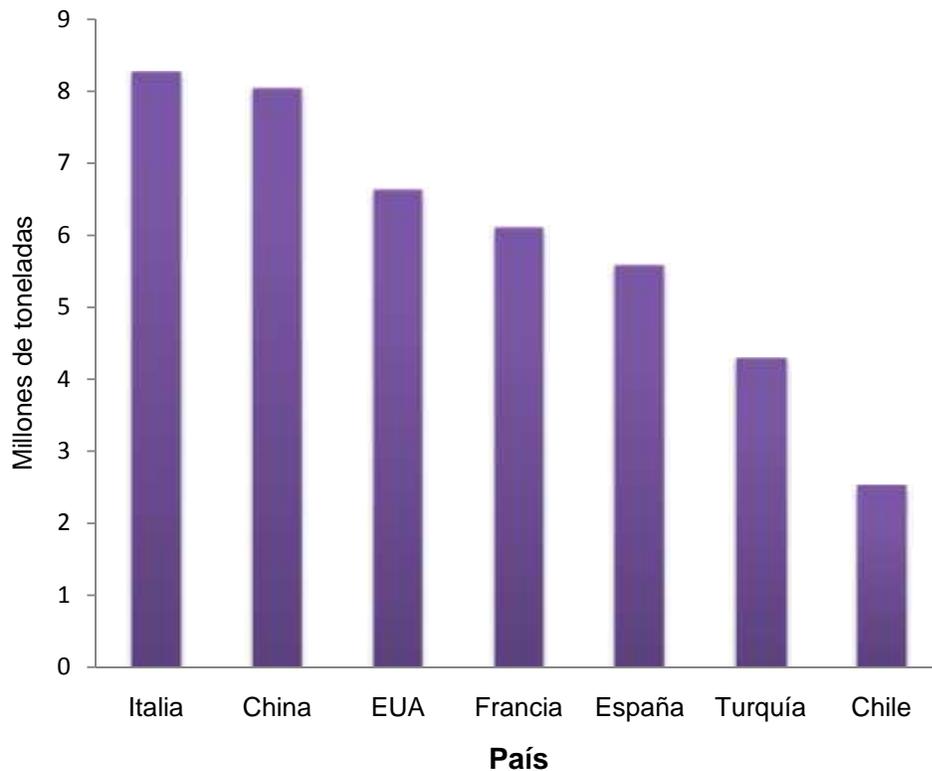


Figura 2. Principales países productores de uva en volumen de producción.

México aunque no destaca entre los grandes productores de uva a nivel mundial, cuenta con una producción aproximada de 307 mil Ton de uva, en la Figura 3 se presentan los principales estados productores y su porcentaje de producción (SIAP, 2010). Como se puede observar la parte norte del país es donde se localiza la región productora de uva, siendo Sonora el principal productor.

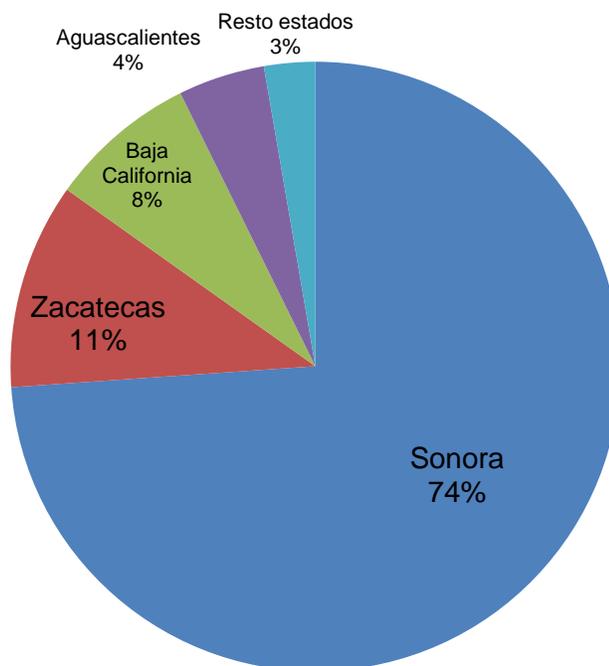


Figura 3. Principales estados de México productores de uva.

3.2.2. Aceite de semilla de uva

El aceite de semilla de uva está compuesto en promedio de 90 % de ácidos grasos mono y poliinsaturados, los cuales le dan un valor como aceite comestible nutritivo, particularmente el ácido linoleico (58-78%, 18:2n-6) seguido por ácido oleico (3-15%, 18:1n-9) y en menor proporción los ácidos grasos saturados (10%) (Bail *et al.*, 2008).

La composición de ácidos grasos de diferentes aceites según Passos *et al.* (2009) muestra que el aceite de semilla de uva es uno de los más ricos en ácidos grasos poliinsaturados (Cuadro 1).

Cuadro1. Composición de ácidos grasos de diferentes aceites vegetales.

Tipo de aceite	Ácidos grasos saturados (g/100g)	Ácidos grasos monoinsaturados (g/100g)	Ácidos grasos poliinsaturados (g/100g)
Cacahuete	16.9	46.2	32.0
Colza	7.1	58.9	29.6
Cártamo	9.1	12.1	74.5
Coco	86.5	5.8	1.8
Palma	49.3	37.0	9.3
Soya	14.4	23.3	57.9
Algodón	25.9	17.8	51.9
Girasol	10.3	19.5	65.7
Nuez	9.1	22.8	63.3
Oliva	13.5	73.7	8.4
Adormidera	13.5	19.7	62.4
Sésamo	14.2	39.7	41.7
Trigo (germen)	18.8	15.1	61.7
Uva (semillas)	9.6	16.1	69.9
Maíz	12.7	24.2	58.7
Calabaza	14.6	30.8	50.0

Fuente: Passos *et al.* (2009).

3.3. Emulsiones

Las emulsiones son sistemas hechos de pequeñas gotas de líquidos dispersados en otro líquido inmisible. En las emulsiones W/O las gotitas de agua son dispersadas en un medio aceitoso, mientras que las emulsiones simples O/W las gotitas de aceite son dispersadas en un medio acuoso (Clausse *et al.*, 2005).

La emulsificación consiste en la dispersión de un fluido dentro de otro inmiscible. Las propiedades de las emulsiones y sus usos industriales no son solo gobernados por las variables de temperatura y composición, sino que también por la distribución del tamaño de gota. Las emulsiones múltiples W/O/W consisten de pequeñas gotitas de agua dispersadas en glóbulos más largos de aceite, los cuales son también dispersados en una fase acuosa continua (Leal-Calderon *et al.*, 2007).

Los emulsificantes son aquellas sustancias que, añadidas a los alimentos, hacen posible la formación y/o mantenimiento de una dispersión uniforme entre dos o más sustancias inmiscibles. Las sustancias con capacidad emulsionante presentan una estructura dipolar, donde se distingue una parte hidrófila (afín al agua) formada por grupos disociables o grupos hidroxilo y otra lipófila (afín a aceites y grasas) de cadena alquílica. Existen diferentes fenómenos que favorecen la pérdida de la emulsión obteniendo las dos fases separadas. Agregación y coalescencia; suelen ser fenómenos encadenados. La agregación procede normalmente a la coalescencia. Consiste en la formación de aglomerados de las partículas de la fase dispersa. La coalescencia se da cuando los aglomerados formados en la agregación se unen dando lugar a partículas macroscópicas. Estos fenómenos en estado avanzado pueden dar lugar a la separación de las fases emulsionadas (Damodaran, 2005; Cubero *et al.*, 2002).

Existe una amplia variedad de materiales que pueden ser usados como agentes emulsificantes: carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas, carboximetilcelulosas); esterres y éteres de celulosa

(carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa); gomas (goma Arábica, mezquite, agar, acacia, alginato de sodio); lípidos (ceras, parafinas, grasas, aceites) y proteínas (gelatina, proteína de soya, proteína de suero de leche, caseinatos, zeína) (Madene *et al.*, 2006; Moschakis *et al.*, 2010).

3.4. Microencapsulación

La microencapsulación ha sido usada para prolongar la vida de anaquel de los aceites al protegerlos de la oxidación. Usando las adecuadas sustancias encapsulantes para protegerlos de las condiciones ambientales adversas así como la luz y el oxígeno (Ahn *et al.*, 2008). Para la protección de algunos pigmentos se han utilizado diversos biopolímeros para la microencapsulación como goma de mezquite, goma arábica, pectina, maltodextrina, siendo esta última la que provee mayor protección a los lípidos de la oxidación (Rodríguez-Huezo *et al.*, 2004).

Varias técnicas son utilizadas para microencapsulación de materiales, de manera general los métodos son divididos en tres tipos: métodos químicos, fisicoquímicos y fisicomecánicos, el secado por aspersión se encuentra ubicado dentro de los procesos fisicomecánicos (Jyothi *et al.*, 2010). Este proceso es uno de los más antiguos para encapsular agentes activos por ser un método barato (Anwar y Kunz, 2011). Durante este proceso una película es formada sobre la superficie de la gota mientras que las gotas de agua son evaporadas.

El secado por aspersión es un proceso alternativo para producir polvos con un alto contenido de compuestos bioactivos (Jayasundera *et al.*, 2009). Esta técnica ha sido ampliamente usada en la microencapsulación de ingredientes

alimenticios susceptibles a la degradación por agentes externos y consiste de entrapar un agente activo (partículas sólidas, gotas líquidas o compuestos gaseosos) en una matriz polimérica, para protegerlo de las condiciones adversas (Jyothi *et al.*, 2010). El secado inmediato de la mezcla lleva a la formación de un sistema matricial en el que el polímero forma una red tridimensional que contiene el material encapsulado (Tonon *et al.*, 2010). El proceso de secado por aspersión involucra cuatro pasos básicos: la preparación de la emulsión, homogeneización, la atomización de la emulsión alimentada y la deshidratación de las partículas atomizadas (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

3.4.1. Materiales usados en emulsiones y microcápsulas

En la mayoría de las emulsiones se encuentran proteínas e hidrocoloides presentes; ambos tipos de biopolímeros contribuyen a la estructura, la textura y la estabilidad de las emulsiones (Srinivasan, 2005). Debido a su gran actividad superficial, las proteínas suelen ser los agentes estabilizantes de elección, especialmente para la formación de espumas y emulsiones aceite-en-agua (O/W). Por su parte, los hidrocoloides son conocidos como agentes espesantes o gelificantes que modifican y controlan las propiedades de flujo del sistema (Fennema, 1993). El término hidrocoloide abarca todos aquellos polisacáridos que son extraídos de plantas, algas marinas y fuentes microbianas; también se considera como hidrocoloides a las gomas exudadas por diversas plantas y algunos biopolímeros modificados química y/o enzimáticamente a partir de la celulosa (Dickinson, 2003). La estabilidad de la dispersión proteína-polisacárido no depende únicamente de las propiedades funcionales de los biopolímeros

individuales, sino también de la naturaleza y fuerza de las interacciones proteína-polisacárido, una mezcla binaria de proteína-hidrocoloide en una solución acuosa puede exhibir una de las tres situaciones de equilibrio: miscibilidad, incompatibilidad termodinámica y coacervación compleja (Giancone *et al.*, 2009).

A continuación se listan características generales de los biopolímeros usados en este trabajo.

Concentrado de proteína de lactosuero (WPC). Las denominadas proteínas de lactosuero permanecen en este último después de la precipitación de la caseína a pH 4.6 y a una temperatura cercana a 20 °C. Los componentes mayoritarios de las proteínas de lactosuero son: β -lactoglobulina (Figura 4), α -lactoalbúmina y albúminas, representando el 70 % del total de las proteínas del suero lácteo. Las inmunoglobulinas, lactoferrina y polipéptidos de los complejos proteosa-peptona son componentes minoritarios del suero lácteo (Farrell *et al.*, 2004; Peng *et al.*, 2009; Nicolai *et al.*, 2011).

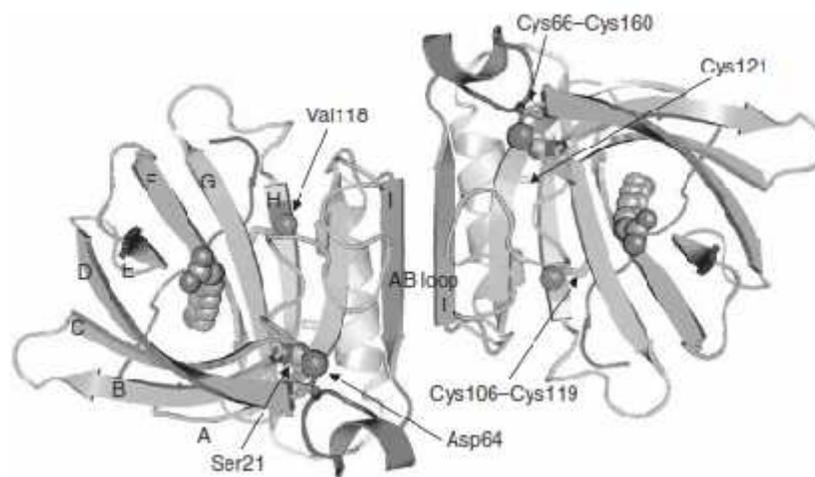


Figura 4. Diagrama de la estructura de la β -lactoglobulina bovina.
Fuente: Edwards *et al.* (2009).

La proteína de lactosuero concentrada (WPC), tiene varias aplicaciones en la industria alimentaria debido a su alto valor nutricional y funcional. La funcionalidad del WPC depende del método de separación usado, de las condiciones de secado por aspersión y del contenido de lípidos residuales (Huffman y Harper, 1999; Hurley *et al.*, 1990; Vaghela y Kilara, 1996). Una limitante para el uso de proteínas de lactosuero en el desarrollo de coloides para la formulación de alimentos, lo constituye su sensibilidad a las condiciones del medio ambiente como pH, fuerza iónica y procesamiento térmico (Hurley *et al.*, 1990; Wang y Lucey, 2003).

Pectinas. Las pectinas son polisacáridos que constituyen la red matricial de la pared celular y la lamela media en tejidos vegetales. Las pectinas consisten principalmente de polímeros ricos en ácido D-galacturónico y cantidades significantes de L-ramosa, D-arabinosa y D-galactosa y otros 13 diferentes monosacáridos (Fissore *et al.*, 2012).

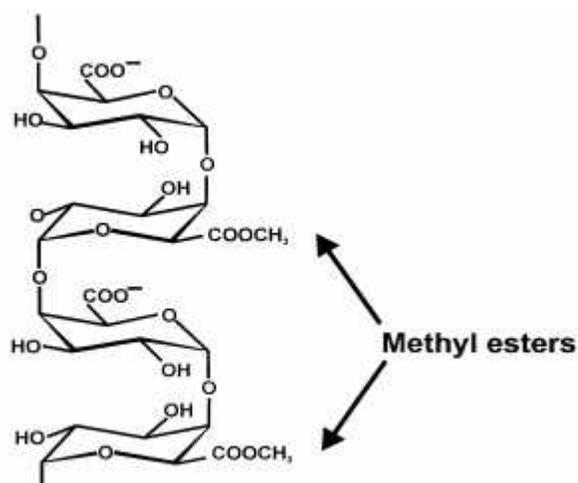


Figura 5. Estructura básica de la pectina y su representación esquemática.

Fuente: Ridley *et al.* (2001).

Las principales fuentes de pectina comerciales son los cítricos y la manzana, sin embargo el tejocote presenta alto rendimiento de pectina, por lo que lo convierte en un fruto potencialmente para este fin.

Tejocote es el nombre dado en México a las especies del género *Crateagus* (Rosaceae: Maloideae), es cultivado en parcelas comerciales en México pero también en otros países como Guatemala, Honduras, Costa Rica, la región Andina (Perú y Ecuador), sur de California, Arizona y sur de África. Los frutos de tejocote son usados para elaborar pasteles, mermeladas y base de fruta para bebidas locales, además es fuente de pectina para la industria alimentaria, vitamina C y otros componentes dietéticos (Nieto-Ángel *et al.*, 2009; Núñez-Colín *et al.*, 2009).

La producción de tejocote en México es aproximadamente de 4 229 Ton según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2010), siendo el Estado de Puebla el que acapara casi toda la producción nacional Figura 6.

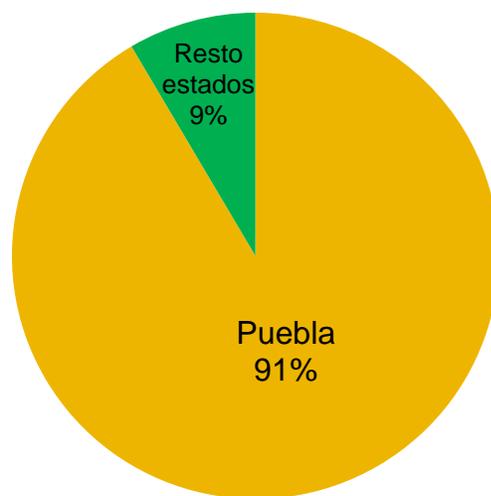


Figura 6. Principales Estados de México productores de tejocote.

3.5. Reología

La reología es la ciencia de la deformación y flujo de la materia. En otras palabras es el estudio en el cual los materiales responden al aplicarles un determinado esfuerzo. Todos los materiales tienen propiedades reológicas y el área de aplicación es relevante en algunos campos de estudio (Steffe, 1996).

En la industria de los alimentos se usa la reología para:

Cálculos en procesos ingenieriles.

Control de calidad del producto final.

Determinación de la funcionalidad de ingredientes en productos en desarrollo.

Evaluación de textura de los alimentos correlacionados con datos de evaluación sensorial.

Los instrumentos comunes capaces de realizar mediciones de propiedades reológicas de alimentos fluidos y semisólidos pueden ser ubicados dentro de dos categorías generales: rotacionales y de tipo tubo (Rao, 2007). Para poder evaluar todos los cambios en las propiedades reológicas de los materiales sometidos a diferentes esfuerzos, solamente se pueden realizar en los reómetros. Los reómetros son instrumentos para la determinación de las propiedades reológicas. Los instrumentos de tipo rotacional pueden ser operados en un modo de corte estacional u oscilatorio (Steffe, 1996).

La reología se involucra con la respuesta de los materiales a la aplicación de fuerzas y deformaciones. Los conceptos básicos de esfuerzo (fuerza por área) y deformación (deformación por longitud) son importantes para todas las evaluaciones reológicas (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

3.5.1. Propiedades reológicas de los alimentos

Algunos productos semi-líquidos presentan conjuntamente propiedades de flujo viscoso y sólido elástico, denominándose viscoelásticos. El conocimiento de las propiedades viscoelásticas es muy útil en el diseño y predicción de la estabilidad de muestras almacenadas. Los materiales viscoelásticos presentan comportamientos característicos que los diferencian notablemente de los otros fluidos (Ibarz y Barbosa-Cánovas, 2005).

El rango viscoelástico lineal, es el rango de amplitud en el cual G' es constante. Al seleccionar grandes valores de esfuerzos y deformaciones, este rango de viscoelasticidad lineal queda fuera, y la muestra es deformada a tal grado que las uniones secundarias de las moléculas son destruidas. Este rango se puede determinar a través de muestras de barridos de esfuerzos o deformaciones, y la información recabada sirve para realizar otro tipo de análisis, como las pruebas de frecuencia (Steffe, 1996).

El módulo de almacenamiento (G'), es una medida de la energía de deformación almacenada en la muestra durante el proceso de corte y representa el comportamiento elástico de la muestra. Por el contrario, el módulo de pérdida (G''), es el valor que mide la energía de deformación usada en la muestra durante el corte y representa el carácter viscoso de la muestra. Por lo que si G' es más grande que G'' , el material se comportará más como un sólido, esto es, las deformaciones pueden ser esencialmente elásticas o recuperables, sin embargo, si G'' es mucho mayor a G' , la energía usada para deformar el material es disipada por el flujo y el material se comporta como viscoso (Rao, 2007).

El factor de cedencia $\tan(\delta)$ (G''/G') revela la proporción del comportamiento viscoso al elástico ante la deformación. Valor de $\tan(\delta) = 0$ corresponde a una respuesta elástica; si $\tan(\delta) = \infty$ se trata de una respuesta viscosa y si $0 < \tan(\delta) < \infty$ el material muestra respuesta viscoelástica (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

3.6. Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es un método científico usado para evocar, medir, analizar e interpretar respuestas a productos como son percibidos por los sentidos de la vista, tacto, gusto, oído y olfato (Kappes *et al.*, 2006). Es frecuente usada para medir y cuantificar la relación entre el perfil sensorial de un alimento y la aceptabilidad del consumidor (Xiong y Meullenet, 2004).

La textura se puede decir que es un concepto puramente sensorial. Su percepción depende principalmente de la deformación del alimento al aplicarle una presión y/o de determinadas propiedades estructurales estimadas por el tacto o por la vista. Los hidrocoloides interaccionan con otros componentes alimentarios mejorando su aptitud para determinadas aplicaciones. En los productos lácteos ácidos, la pectina y la carboximetilcelulosa estabilizan las proteínas de la leche durante la pasteurización (Cubero *et al.*, 2002).

El análisis sensorial de los alimentos se lleva a cabo de acuerdo con diferentes pruebas, según sea la finalidad para la que se efectúe. Existen tres tipos de principales de pruebas: las pruebas afectivas, las discriminativas y las descriptivas. Las pruebas afectivas son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o lo prefiere a otro (Anzaldúa-Morales, 2005).

La correlación de la percepción sensorial de textura con parámetros instrumentales es clave para entender como la formación específica de la estructura puede influenciar la aceptabilidad del consumidor sobre un producto alimenticio. La relación entre la microestructura de geles alimenticios y su calidad sensorial es importante en la producción de alimentos y en la aceptación del consumidor final (Pereira *et al.*, 2006)

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

Para la elaboración de las emulsiones aceite-en-agua se utilizó: aceite de semilla de uva mexicano (ASU; Vid[®], Extractos Naturales Vista al Mar, S.P.R. de R.L., Ensenada, BC, México); Pectinas de tejocote (*Crataegus* spp.) de las accesiones 55 y 100 (P55 y P100) provenientes del Banco de Germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), las que se extrajeron en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos, del Departamento de Preparatoria Agrícola de la UACH. Pectina cítrica comercial (PC; CEDROSA, S.A. de C.V., México, D.F.) con grado de esterificación de 70 %. Concentrado de proteína de lactosuero (WPC; Hilmar Ingredients, CA, EUA).

Para la elaboración del producto lácteo fermentado se utilizó leche entera en polvo (LEP) (NIDO[®], Nestle, S.A. de C.V., México, D.F.), y leche descremada en polvo (LDP) (Dairy AmericanTM, Fresno, CA, EUA), cultivo láctico liofilizado de inoculación directa (CHOOZIT MY800-5DCU, Danisco France S.A.S., Francia) constituido por *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus lactis*.

Ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, éter de petróleo y éter etílico fueron comprados de J.T. Baker, S. A. de C. V., Edo. de México, México. Toda el agua usada en el experimento fue obtenida por doble destilación.

4.2. Perfil de ácidos grasos

La identificación de los ácidos grasos del ASU se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (Agilent 6890, modelo G1530A, CA, EUA) equipado con una torreta de inyección automática (modelo 7683B), charola de 100 viales, un detector de ionización de flama y una columna CP-Sil 88 (100 m x 0.25 mm x 0.39 mm). La temperatura inicial de la columna fue de 90 °C con rampa de 20 °C min⁻¹ hasta 165 °C se mantuvo durante 1 min y después se aumentó con una rampa de 1.5 °C min⁻¹ hasta 225 °C durante 40 min. El gas acarreador fue Helio con un flujo de 0.7 mL min⁻¹ y como estándar interno se utilizó metil tridecanoato (C13:0).

4.3. Extracción de pectina de tejocote

La extracción de PT55 y PT100 fue obtenida de acuerdo al método propuesto por Yapó *et al.* (2007) con algunas modificaciones. Se seleccionaron 100 g de pulpa de tejocote de cada una de las accesiones. La pulpa fue mezclada con 1000 mL de HCl 0.1 N y licuada en una licuadora industrial durante 15 s en velocidad baja. La mezcla obtenida se calentó en baño María hasta 85 °C, durante 60 min, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtraron las suspensiones. Al filtrado obtenido se le adicionó etanol al 96 % en una relación 1:1 (v/v), dejándose reposar durante 24 h en refrigeración a 4 ± 1 °C, las pectinas precipitadas se separaron por filtración. El gel obtenido se lavó dos veces con etanol al 70 % relación 1:1 (v/v), posteriormente fue centrifugado a 8000 rpm durante 15 min a 20 °C en una centrífuga Sorvall RC-5B (GMI Inc.,

Ramsey, MN, EUA). La pectina fue purificada con membrana de diálisis (Spectra/Por 6 Dialysis Membrane, Spectrum Laboratories Inc., CA, EUA) con cambio de agua destilada cada 3 horas durante 3 días. Finalmente el secado se realizó en estufa de secado al vacío Memmert (Wisconsin Oven Distributors, LLC., WI, EUA) durante 12 h a 30 °C.

4.4. Rendimiento de pectina de tejocote

El rendimiento de pectina de tejocote fue calculado usando la Ecuación (1):

$$\text{Rendimiento} = \frac{M_{\text{pectina}}}{M_{\text{pulpa}}} \times 100 \quad (1)$$

donde M_{pectina} : masa de la pectina obtenida en la extracción (g) y M_{pulpa} : masa de la pulpa de tejocote usada en la extracción (g).

4.5. Grado de esterificación de la pectina de tejocote

Una cantidad de 500 mg de pectina deshidratada se colocó en un matraz erlenmeyer de 250 mL, se agregaron 2 mL de etanol y disolvió en 100 mL de agua libre de CO₂. Se añadieron 5 gotas de fenolftaleína, la solución se tituló con NaOH 0.5 N (A). Posteriormente, se agregaron 10 mL de NaOH 0.5 N, se agitó vigorosamente y dejó reposar por 15 min; después se adicionaron 10 mL de HCl 0.5 N. Finalmente la solución se tituló con NaOH 0.5 N (B). El grado de esterificación (DE) se calculó con la Ecuación (2):

$$\text{DE} = \frac{B}{A+B} \times 100 \quad (2)$$

Donde A: primer volumen gastado en la titulación (mL) y B: segundo volumen gastado en la titulación (mL).

4.6. Elaboración de emulsiones

Se prepararon seis emulsiones aceite-en-agua (O/W), cuya fase oleosa estuvo constituida por el ASU y su fase acuosa por dispersiones de los biopolímeros (PT55, PT100, PC y WPC). Las emulsiones O/W variaron en la relación en peso biopolímeros totales: aceite (Cuadro 2). La fracción volumétrica de las emulsiones () fue de 0.10. La relación en peso WPC: pectina se mantuvo en 98:2. El ASU se incorporó gota a gota a la fase acuosa usando un homogeneizador (Ultra-Turrax T50 basic, IKA-WERKE Works Inc., Wilmington, NC, EUA) a una velocidad de 5200 rpm durante 5 min, con un baño de hielo para mantener la emulsión a 30 °C.

Cuadro 2. Relación de biopolímeros en las emulsiones aceite-en-agua.

Código de la emulsión	Relación
	Biopolímeros totales: aceite
E_{WPC-PC}	2:1
$E_{WPC-PT55}$	2:1
$E_{WPC-PT100}$	2:1
E_{WPC-PC}	3:1
$E_{WPC-PT55}$	3:1
$E_{WPC-PT100}$	3:1

E: emulsión; WPC: concentrado de proteína de suero; PC: pectina cítrica; PT55: pectina de tejocote accesión 55; PT100: pectina de tejocote accesión 100.

4.7. Comportamiento de flujo de las emulsiones

La viscosidad de las emulsiones fue medida mediante curvas de flujo variando la tasa de corte de 10^{-3} a 10^3 s^{-1} , obteniendo los valores de viscosidad aparente en un reómetro (MRC 301, Anton Paar, Messtechnik, Stuttgart, Alemania), usando una geometría cono-plato de 50 mm de diámetro, ángulo de cono de 1° y una distancia de 0.051 mm. La temperatura se mantuvo constante mediante un sistema de control y medición de temperatura Physica TEK 150P. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo a 20°C y realizadas por triplicado, usando una nueva muestra para cada repetición.

4.8. Distribución de tamaño y morfología de las gotas de emulsiones

La distribución de tamaño de gota de las emulsiones fue determinada por microscopía óptica de acuerdo al método propuesto por Tonon *et al.* (2011) usando un microscopio óptico Olympus BX41 (Olympus Corp., Tokio, Japón) y una cámara digital Infinity 1 (Lumenera Corp., ON, Canadá). El diámetro promedio Sauter (D_{32}) fue calculado en 200 gotas usando el software de procesador de imagen Motic Images Plus 2.0 (Ecuación 3):

$$D_{32} = \frac{\sum_i z_i D_i^3}{\sum_i z_i D_i^2} \quad (3)$$

donde z_i es el diámetro de gotas con diámetro D_i .

4.9. Elaboración de microcápsulas

Las microcápsulas de aceite de semilla uva se obtuvieron mediante secado por aspersión, para ello las emulsiones se alimentaron aplicando un flujo de 40 mL

min⁻¹ a un secador por aspersión (Nichols/Niro, Turbo Spray PLA, NY, EUA), con una temperatura de entrada del aire de 170 ± 5 °C y una temperatura de salida del aire de 85 ± 5 °C, inyectando aire comprimido a 4 bars. Las microcápsulas variaron en la relación en peso biopolímeros totales: aceite (Cuadro 3).

Cuadro 3. Relación de biopolímeros/aceite en las microcápsulas.

Código de la microcápsula	Relación Biopolímeros totales: aceite
M _{WPC-PC}	2:1
M _{WPC-PT55}	2:1
M _{WPC-PT100}	2:1
M _{WPC-PC}	3:1
M _{WPC-PT55}	3:1
M _{WPC-PT100}	3:1

M: microcápsula; WPC: concentrado de proteína de suero; PC: pectina cítrica; PT55: pectina de tejocote accesión 55; PT100: pectina de tejocote accesión 100.

4.10. Eficiencia de microencapsulación

La eficiencia de microencapsulación (EME) fue calculada de acuerdo al método descrito por Polavarapu *et al.* (2011). El contenido de aceite extraíble se obtuvo de mezclar 10 mL de éter de petróleo (60-80 °C) con 1 g de polvo en un matraz Erlenmeyer con tapón y con agitación a 25 °C en la obscuridad durante 5 min. La solución orgánica se filtró con papel Whatman No. 4 y se evaporó usando un rotavapor con un baño de agua a 30 °C. La cuantificación del contenido de

aceite total fue de acuerdo al método Ross-Gotlieff, (AOAC, 1995). La EME fue calculada como sigue (Ecuación 4):

$$EME = \frac{(AT-AS)}{(AT)} \times 100 \quad (4)$$

donde AT: gramos de aceite total microencapsulado y AS: aceite superficial no encapsulado.

4.11. Estabilidad térmica de las microcápsulas

Cada muestra de microcápsulas (~5 mg) fue colocada en una charola de aluminio perforada manualmente y sellada herméticamente, como muestra de referencia se usó una charola de aluminio, vacía y sellada. Las muestras se analizaron en un calorímetro DSC 2010 (TA Instruments, New Castle, DE., EUA) usando una rampa de calentamiento de 10 °C min⁻¹ y un rango de temperatura de 0 a 350 °C. Los datos fueron analizados y procesados con un programa de Análisis Universal (TA Instruments, NC., EUA).

4.12. Micromorfología de las microcápsulas

Para el análisis de la morfología de las microcápsulas se siguió el método propuesto por Saénz *et al.* (2009). Se analizaron muestras de microcápsulas por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Los portamuestras de latón se lavaron con una solución jabonosa y enjuagados varias veces con agua destilada; en seguida se colocaron en etanol al 96 % para dejarlos libres de grasa. Posteriormente, se colocó sobre el portamuestra una cinta de carbono

adhesiva por los dos lados. El polvo seco se dispersó con un pincel sobre el portamuestra y se cubrió con una mezcla de oro/paladio (80/20) con un ionizador de metales (JEOL Fine Coat JFC/1100, JEOL Ltd., Tokio, Japón) y posteriormente se observaron en un Microscopio Electrónico de Barrido JSM-6390/LGS (JEOL Ltd., Tokio, Japón) operado a 10 kV.

4.13. Elaboración del producto lácteo fermentado

Se prepararon cuatro productos lácteos fermentados (PLF): (1) producto lácteo fermentado bajo en grasa enriquecido con 0.5 % de microcápsulas $M_{WPC-PT100}$ 3:1 (PLF_{PT100}); (2) producto lácteo fermentado bajo en grasa enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1 (PLF_{PC}); (3) producto lácteo fermentado bajo en grasa sin microcápsulas (PLF_{BG}) y (4) producto lácteo fermentado completo en grasa sin microcápsulas (PLF_{CG}). Se preparó 1 L de leche rehidratada para cada tratamiento, la cual fue ajustada a 90 g de sólidos no grasos L^{-1} con LEP y LDP. El PLF_{CG} se ajustó a un contenido de grasa de 30 g L^{-1} , los demás PLF fueron elaborados con 15 g de grasa L^{-1} . Las dispersiones de leche rehidratada se colocaron en refrigeración a 4 °C por 24 h, para permitir la completa hidratación de la leche en polvo. Las leches fueron calentadas a 30 ± 1 °C y se agregaron 60 g L^{-1} de azúcar. Cada uno de los lotes se pasteurizó a 85 ± 1 °C durante 10 min. En todos los casos la leche fue enfriada hasta 45 ± 1 °C. En este punto se adicionaron las microcápsulas de aceite de semillas de uva a las muestras correspondientes. Posteriormente, todas las leches fueron inoculadas con 0.05 g cultivo lácteo L^{-1} , e incubadas a 45 °C hasta una acidez de 90 °D. Los PLF se enfriaron y almacenaron a 4 °C para las siguientes evaluaciones.

4.14. Análisis químico proximal

A los productos lácteos fermentados se les determinó grasa por el método de Gerber, contenido de proteína por el método Kjeldahl y sólidos totales por el método de secado en estufa (AOAC, 1995). Todos los análisis se realizaron por triplicado a los 5 d de elaborado el producto.

4.15. Sinéresis

Los productos lácteos fermentados, después de 5 días de elaborados, se sometieron a determinaciones de sinéresis (Keogh y O'Kennedy, 1998). Se colocaron 10 g de muestra ($4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1$) en tubos de centrifuga, cuyo peso fue previamente registrado, y se centrifugaron a $222 \times g$ a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1$ por 10 min (SOL-BAT J-600, SOL-BAT S. A. de C. V., Puebla, PUE., México). Después de retirar el sobrenadante mediante decantación, los tubos se pesaron y se calculó el porcentaje de sinéresis de las muestras usando la Ecuación (5):

$$\% \text{ sinéresis} = [P_{mo} - P_{mc}/P_{mo}] \times 100 \quad (5)$$

Donde, P_{mo} : peso de la muestra original; P_{mc} : peso de la muestra centrifugada y decantada.

4.16. Comportamiento de flujo del producto lácteo fermentado

La viscosidad de los productos lácteos fermentados fue medida mediante curvas de flujo variando la tasa de corte de 10^{-3} a 10^3 s^{-1} , obteniendo los valores de viscosidad aparente en un reómetro (MRC 301, Anton Paar, Messtechnik,

Stuttgart, Alemania), usando una geometría cono-plato de 50 mm de diámetro, ángulo de cono de 1 ° y un gap de 0.051 mm. La temperatura se mantuvo constante mediante un sistema de control y medición de temperatura Physica TEK 150P. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo a 5 °C y realizadas por triplicado después de 5 d de almacenamiento, usando una nueva muestra para cada repetición.

4.17. Comportamiento viscoelástico del producto lácteo fermentado

Los tratamientos de productos lácteos fermentados fueron sometidos a pruebas oscilatorias dinámicas en un reómetro Physica MCR 301 Dynamic Shear Rheometer (Anton Paar, Messtechnik, Stuttgart, Alemania), con una geometría cono-plato de 50 mm de diámetro y un ángulo de cono de 1°. Las muestras de las bebidas lácteas fermentadas se colocaron en el sistema de medición y se dejaron en reposo durante 5 min para permitir el equilibrio de la temperatura y la recuperación de la estructura. Posteriormente se sometieron a barridos de amplitud en un rango de deformación de 0.01 a 100 %, a una frecuencia de 1 Hz y barridos de frecuencia de 1 a 10 HZ, con deformaciones de 0.1%. En ambas pruebas se mantuvo la temperatura a 5 ± 1 °C, mediante el sistema Peltier del reómetro (Control de temperatura Physica TEK 150P, Physica Messtechnik, Stuttgart, Alemania). A partir de las curvas de deformación obtenidas se determinaron los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') factor de cedencia ($\tan \delta$), mediante el software RheoPlus/32 V2. 62. Las mediciones fueron realizadas después de 5 d de almacenamiento.

4.18. Evaluación sensorial

Los productos lácteos fermentados fueron evaluados sensorialmente por un panel de consumidores frecuentes de 80 estudiantes de la Universidad Autónoma Chapingo (35 hombres y 45 mujeres), edad entre 16 y 22 años. A las personas participantes, se les proporcionó, en orden aleatorio, muestras de 15 mL de las diferentes muestras (con 5 d de elaboración) en pequeños vasos de plástico, codificados con números aleatorios de tres dígitos, y se les solicitó que indicaran el grado de aceptabilidad de los atributos y global de cada uno de los productos lácteos fermentados; para ello se utilizó una escala hedónica de 9 puntos en donde: 1= me disgusta extremadamente, 2= me disgusta mucho, 3= me disgusta moderadamente, 4=me disgusta poco, 5= ni me disgusta ni me gusta, 6= me gusta poco, 7= me gusta moderadamente, 8= me gusta mucho y 9 = me gusta extremadamente (Ramírez-Santiago *et al.*, 2012).

4.19. Análisis de datos

Todos los experimentos se realizaron por triplicado usando un diseño experimental completamente al azar. Los datos obtenidos de las características de las emulsiones, las microcápsulas, análisis químico proximal, sinéresis y propiedades reológicas se sometieron a análisis de varianza de clasificación simple y en casos adecuados a prueba de comparación de medias de Tukey. La significancia fue establecida con $p < 0.05$. El análisis de datos se realizó con el paquete estadístico Statgraphics versión plus 5.1 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Cambridge, MA, EUA).

Para la evaluación sensorial el diseño experimental fue un diseño de bloques completos al azar, los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza, se aplicó una comparación de medias de diferencia mínima significativa (Isd) con $p = 0.05$ y posteriormente se realizó un Análisis de Componentes Principales utilizando el software Statgraphics versión plus 5.1 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Cambridge, MA, EUA).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Composición de ácidos grasos del aceite de semilla de uva

El cromatograma (Figura 7) muestra el perfil de ácidos grasos presentes en el aceite de semilla de uva, presentando los picos de los diversos ácidos grasos y su tiempo de retención comparados con estándares, los picos más grandes correspondieron a los ácidos grasos más predominantes en el aceite de semilla de uva, los cuales correspondieron a ácido linoleico (C18:2), ácido oleico (C18:1), ácido palmítico (C16:0) y ácido esteárico (C18:0) respectivamente.

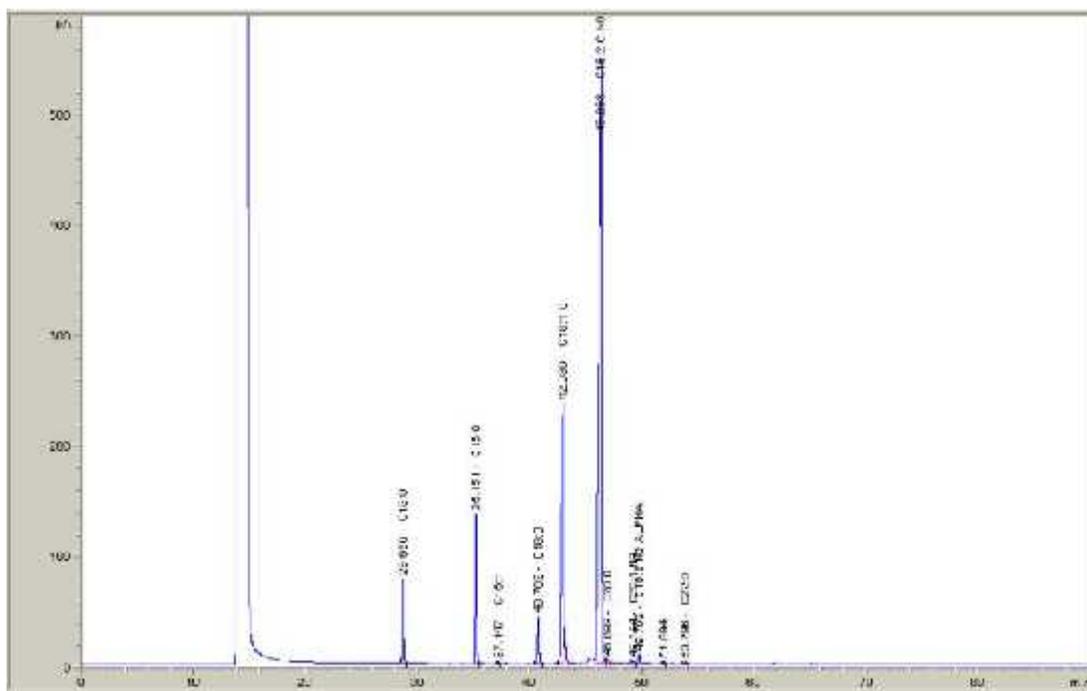


Figura 7. Cromatograma de la composición de ácidos grasos de aceite de semilla de uva.

En el Cuadro 4 se presenta la composición de los ácidos grasos de los dos aceites de semilla de uva.

Cuadro 4. Composición de ácidos grasos de aceite de semilla de uva.

Ácido graso	Aceite de semilla de uva	
	(mexicano)	(chileno)
	(%)	(%)
C-14:0	0.06	0.06
C-15:0	0.01	0.01
C-16:0	7.36	7.71
C-17:0	0.06	0.05
C-18:0	4.45	3.41
C-22:0	0.05	0.15
C-24:0	0.01	0.07
C-16:1	0.16	0.10
C-17:1	0.04	0.03
C-18:1	14.55	23.0
C-20:1	0.242	0.24
C-18:2	72.26	65.90
C-18:3	0.40	0.48
C-20:2	0.04	0.02
SFA ^a	12.02	11.93
MUFA ^b	15.00	23.40
PUFA ^c	72.73	66.47

^a(ácidos grasos saturados); ^b(ácidos grasos monoinsaturados); ^c(ácidos grasos poliinsaturados).

El ácido linoleico fue el ácido graso más abundante con 72.26 %, seguido por el ácido oleico con 14.55 %, representando más del 87 % del total de ácidos grasos mono y poliinsaturados en el aceite de semilla de uva mexicano, como se puede constatar el aceite de semilla de uva mexicano presentó mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (72.26 %) respecto al aceite chileno (66.47 %), por lo que se seleccionó el aceite de semilla de uva mexicano para seguir con esta investigación.

Los valores obtenidos fueron similares a los reportados en trabajos realizados con aceite de semilla de uva y otros aceites vegetales (Bail *et al.*, 2008; Ariffin *et al.*, 2009; Lim *et al.*, 2010; Espinosa-Solares *et al.*, 2010; Alveano-Aguerreberre *et al.*, 2011; Nehdi *et al.*, 2011; Lutterodt *et al.*, 2011).

Bail *et al.* (2008) caracterizó ocho aceites de semilla de uva de Austria y uno de Alemania encontrando que los principales triacilglicérols en los aceites analizados fueron principalmente ácido linoleico (C 18:2), oleico (C 18:1), palmitoleico (C 16:0) y esteárico (C 18:0) representando el 90 % de la composición del aceite. Lutterodt *et al.* (2011) reportó que el ácido graso más abundante en cuatro aceites de semilla de uva prensado en frío fue el ácido linoleico en un rango de 66 g / 100 g de ácidos grasos a 75.3 g / 100 g de ácidos grasos, lo cual concuerda con lo encontrado en nuestro trabajo.

5.2. Rendimiento de pectina de tejocote

El rendimiento de pectina de tejocote en base seca fue de 4.27 ± 0.32 y 3.62 ± 0.41 % en las accesiones 55 y 100 respectivamente; ambas accesiones fueron originarias del estado de Puebla (Figura 8). Dichas accesiones se obtuvieron

del Banco de Germoplasma de tejocote de la Universidad Autónoma Chapingo, el cual contienen más de 100 accesiones de *Crataegus* coleccionadas en todo el territorio mexicano (Nieta-Angel *et al.*, 2009).

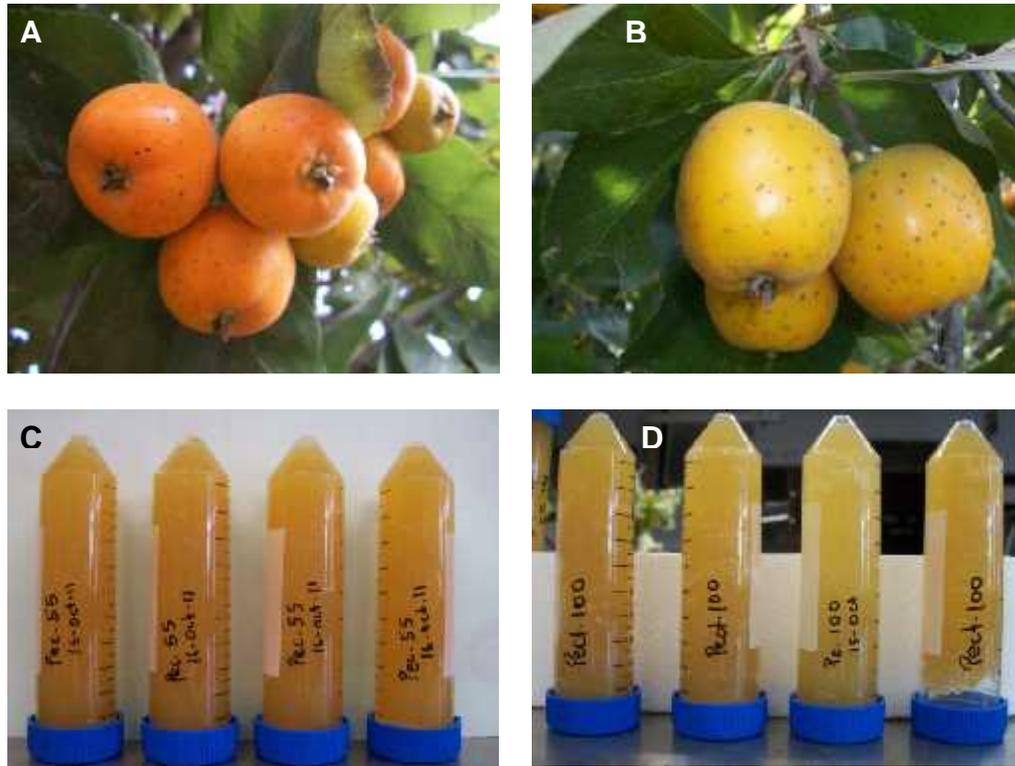


Figura 8. Fruto y pectina de tejocote del banco de germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo: (A) fruto accesión 55; (B) fruto accesión 100; (C) pectina accesión 55 y (D) pectina accesión 100.

5.3. Grado de esterificación de la pectina de tejocote

El grado de esterificación de las pectinas de tejocote obtenido fue de 70.25 ± 0.90 y 61.01 ± 0.19 % en las accesiones 55 y 100 respectivamente; lo que indicó que más del 50 % de los grupos carboxilo de la pectina estuvieron esterificados, por lo tanto la pectina de tejocote de ambas accesiones se clasificó como pectina de alto metoxilo. Estos resultados son relevantes, debido

a que a partir del tejocote se pueden obtener pectinas con grados de metoxilación diferentes, lo que posiblemente les proporcione una diferente funcionalidad. Existen reportes en los que se menciona que los grupos carboxílicos de la cadena de ácido galacturónico de las pectinas pueden estar más o menos esterificadas con grupos metoxilo, dependiendo del origen botánico, la localización de la pectina (pared celular o lamela media), el clima y el tipo de proceso de extracción (Fissore *et al.*, 2012).

5.4. Comportamiento de flujo de las emulsiones

El WPC mostró muy buenas propiedades emulsificantes. Sin embargo, el mezclado y la homogeneización de la solución provocaron un atrapamiento de aire, creando un exceso de espuma que debe ser evitado. La evaluación visual mostró que las emulsiones obtenidas fueron estables después del proceso de homogeneización, lo cual fue suficiente para el secado por aspersión. Cabe mencionar también que previamente se hicieron combinaciones de las mezclas de biopolímeros para encontrar la relación adecuada de WPC-pectina con buenas propiedades de viscosidad y estabilidad en la emulsión.

En la Figura 9, se presentan las curvas de viscosidad contra la tasa de corte de las emulsiones O/W. El patrón de flujo de todas las emulsiones fue muy similar, presentando curvas de flujo típicas. Las emulsiones, a bajas tasas de corte, del orden de 10^{-3} s^{-1} , presentaron incrementos leves en sus valores de viscosidad, posiblemente debido a reacomodos en su estructura interna. Posteriormente, las emulsiones presentaron una pequeña zona newtoniana, a velocidades de tasa de corte dependientes de su composición, donde los valores de viscosidad

fueron constantes. A partir de una tasa de corte de 10^{-2} s^{-1} , las emulsiones exhibieron disminuciones progresivas en sus valores de viscosidad directamente proporcional a aumentos en la tasa de corte, comportándose como fluidos no newtonianos de tipo pseudoplástico. La viscosidad aparente de los materiales pseudoplásticos se aproxima al infinito, conforme la tasa de corte aumenta (Kim *et al.*, 2006; Palavarapu *et al.*, 2011).

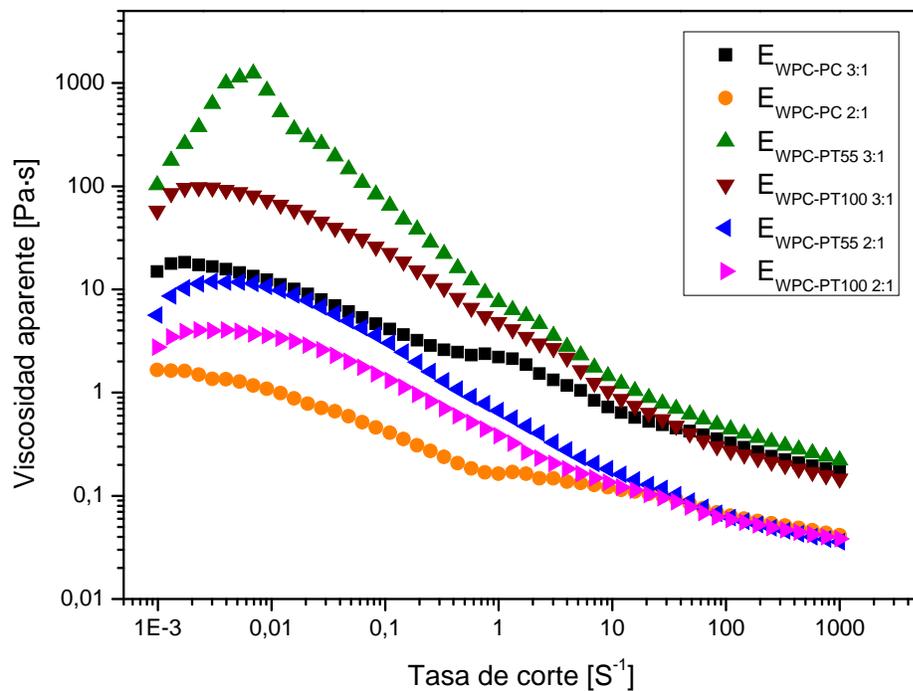


Figura 9. Comportamiento de la viscosidad aparente de las emulsiones en función de la tasa de corte.

E_{WPC-PC} : emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina cítrica; $E_{WPC-PT55}$: emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejacote accesión 55; $E_{WPC-PT100}$: emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejacote accesión 100. Los códigos 2:1 y 3:1 indican la relación biopolímero: aceite.

Se puede observar que las emulsiones con mayor contenido de sólidos totales presentaron los valores de viscosidad más elevados en toda la tasa de corte (Figura 7). La emulsión $E_{WPC-PT55\ 3:1} > E_{WPC-PT100\ 3:1} > E_{WPC-PC\ 3:1} > E_{WPC-PT55\ 2:1} > E_{WPC-PT100\ 2:1} > E_{WPC-PC\ 2:1}$. Resultados similares fueron encontrados por Rodríguez-Hueso *et al.* (2004) en emulsiones múltiples donde a mayor contenido de sólidos exhibieron mayores viscosidades aparentes que aquellas de menor contenido de sólidos independientemente de la mezcla de biopolímeros usados.

Las curvas de flujo de las emulsiones O/W fueron ajustadas a diversos modelos matemáticos, siendo el modelo de Carreau (6) el que mostró el mejor ajuste ($R^2 = 0.99$) a los valores experimentales de la viscosidad.

$$\eta = \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{(1 + (\lambda \dot{\gamma})^2)^n} + \eta_\infty \quad (6)$$

Donde η_∞ es la viscosidad infinita a tasas de corte altas, η_0 es la viscosidad inicial o cero, λ es el tiempo de relajación, $\dot{\gamma}$ tasa de corte y n es el índice de comportamiento de flujo (Rao, 2007).

Las emulsiones presentaron diferencias significativas en los valores de los parámetros del modelo de Carreau al que se ajustó su comportamiento de flujo (Cuadro 5). Estos resultados indican que la cantidad de sólidos totales en las emulsiones provocó la formación de distintos arreglos estructurales relacionados con las macromoléculas y la fase dispersa. Los tiempos de relajación (λ) están relacionados directamente con la ruptura y el tiempo de

recuperación de los enlaces del sistema, la emulsión $E_{WPC-PT100\ 3:1}$ fue la que presentó el valor de τ significativamente más bajo respecto a las demás emulsiones y la $E_{WPC-PC\ 2:1}$ fue la que presentó el valor de τ significativamente más alto (Cuadro 5). Al disminuir el tiempo de relajación la emulsión requiere de menor tiempo y de menor energía para que los flóculos sean disgregados (rompimiento de interacciones) o se formen flóculos más pequeños.

Cuadro 5. Parámetros del modelo de Carreau de las emulsiones.

Emulsión	(s)	n (adimensional)
$E_{WPC-PC\ 2:1}$	104.77 ± 10.12^d	0.154 ± 0.003^a
$E_{WPC-PC\ 3:1}$	36.82 ± 4.19^b	0.158 ± 0.001^a
$E_{WPC-PT55\ 2:1}$	67.91 ± 0.36^c	0.321 ± 0.003^c
$E_{WPC-PT55\ 3:1}$	$25.29 \pm 3.44^a^b$	0.365 ± 0.003^d
$E_{WPC-PT100\ 2:1}$	39.37 ± 5.62^b	0.273 ± 0.004^b
$E_{WPC-PT100\ 3:1}$	12.86 ± 0.12^a	0.401 ± 0.002^e

Superíndices distintos en la misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p < 0.05$). Datos indican media \pm DE.

E_{WPC-PC} : emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina cítrica; $E_{WPC-PT55}$: emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejacote accesión 55; $E_{WPC-PT100}$: emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejacote accesión 100. Los códigos 2:1 y 3:1 indican la relación biopolímero: aceite.

τ : tiempo de relajación; n índice de comportamiento de flujo.

Finalmente el parámetro n es un exponente adimensional y está relacionado con el índice de comportamiento de flujo, refleja que tanto se acercan las

emulsiones a un comportamiento newtoniano. Si $n = 1$ se trata de flujo newtoniano, $n < 1$ el fluido presenta un comportamiento de adelgazamiento al corte, $n > 1$ el fluido presenta un comportamiento de espesamiento al corte (Rao, 2007; Erçelebi y Ibanoglu, 2009). Todas las emulsiones presentaron valores menores de 1 por lo que se presentaron un comportamiento de adelgazamiento al corte. Resultados similares fueron reportados por Logaraj *et al.* (2008) en emulsiones de aceite de aguacate y sandia presentando un comportamiento como líquidos no newtonianos, teniendo características de adelgazamiento al corte con valores de n de 0.86 a 0.88. La medición de la viscosidad se puede usar para confirmar que las gotas en la mulsión alimentada se llegan a flocular, esto se puede ver en las curvas de flujo que no son lineales, lo cual indicó un comportamiento no Newtoniano y por lo tanto la floculación ocurrió (Gharsallaoui *et al.*, 2010).

5.5. Distribución de tamaño y morfología de gotas

Los diámetros volumétricos superficiales medios (D_{32}) de las gotas de las emulsiones simples aceite-en-agua (O/W) se muestran en el Cuadro 6.

Los valores de D_{32} indicaron que hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en las emulsiones al incrementar el contenido de sólidos totales (30 a 40 %), las gotas presentaron un diámetro promedio de entre 5.06 ± 0.85 a 26.67 ± 0.65 μm . Resultados similares fueron presentados por Kolanowski *et al.* (2006) en el diámetro de sus emulsiones con rango de 10 a 40 μm , observando una tendencia a agregar las gotas más pequeñas y por lo tanto incremento en el tamaño de gota promedio. Las emulsiones con mayor contenido de sólidos

totales fueron las que presentaron los menores diámetros, $E_{WPC-PT55\ 3:1}$ y $E_{WPC-PT100\ 3:1}$ fueron las emulsiones que presentaron las gotas más pequeñas y los valores de viscosidad más grandes, por lo que se puede inferir que el tamaño de gota se relacionó inversamente proporcional a la viscosidad y al contenido de sólidos totales.

Cuadro 6. Diámetro superficial medio (D_{32}) de las gotas de la emulsión aceite-en-agua.

Código de la emulsión	Diámetro de gota (μm)
$E_{WPC-PC\ 2:1}$	26.67 ± 0.65^d
$E_{WPC-PC\ 3:1}$	13.70 ± 0.66^b
$E_{WPC-PT55\ 2:1}$	13.36 ± 0.18^b
$E_{WPC-PT55\ 3:1}$	5.06 ± 0.85^a
$E_{WPC-PT100\ 2:1}$	16.87 ± 0.27^c
$E_{WPC-PT100\ 3:1}$	5.68 ± 0.39^a

Superíndices distintos en la misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p < 0.05$). Datos indican media \pm DE.

E_{WPC-PC} : emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina cítrica; $E_{WPC-PT55}$: emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejacote accesión 55; $E_{WPC-PT100}$: emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejacote accesión 100. Los códigos 2:1 y 3:1 indican la relación biopolímero: aceite.

La emulsión $E_{WPC-PC\ 2:1}$ fue la que presentó el mayor tamaño de gotas, menor viscosidad y menor contenido de sólidos totales.

El tamaño de gota de la emulsión depende de la concentración de biopolímeros en la fase acuosa, a mayor concentración de mezclas de biopolímeros el tamaño de gota tiende a ser más pequeño y se incrementa la viscosidad (Rodríguez-Hueso *et al.*, 2004).

Carneiro *et al.* (2012) reportó el mismo comportamiento en el tamaño de gotas de sus emulsiones, lo que indicó que a mayor viscosidad mayor resistencia de las gotas al movimiento, evitando así coalescencia y resultando en gotas de menor tamaño, la reducción en el tamaño de gotas de la emulsión generalmente representa un incremento en la estabilidad y aumento en la retención de material activo. Gharsallaoui *et al.* (2010) encontró que las gotas de aceite cubiertas por complejos proteína-pectina presentaron mejor estabilidad de la emulsión que aquellas solo cubiertas por proteína, dicho efecto estabilizante de la pectina pudo ser atribuido a la repulsión estérica.

La dilución en agua y la observación microscópica de la emulsión aceite-en-agua (O/W), confirmaron la formación de una emulsión simple O/W, formada por pequeñas gotas esféricas de aceite distribuidas individualmente en la fase acuosa continua (Figura 10).

A partir de estas observaciones se puede inferir que el proceso de emulsificación fue adecuado, los biopolímeros involucrados, así como el trabajo mecánico ejercido mediante el homogeneizado, intervinieron eficazmente en el desarrollo de la emulsión.

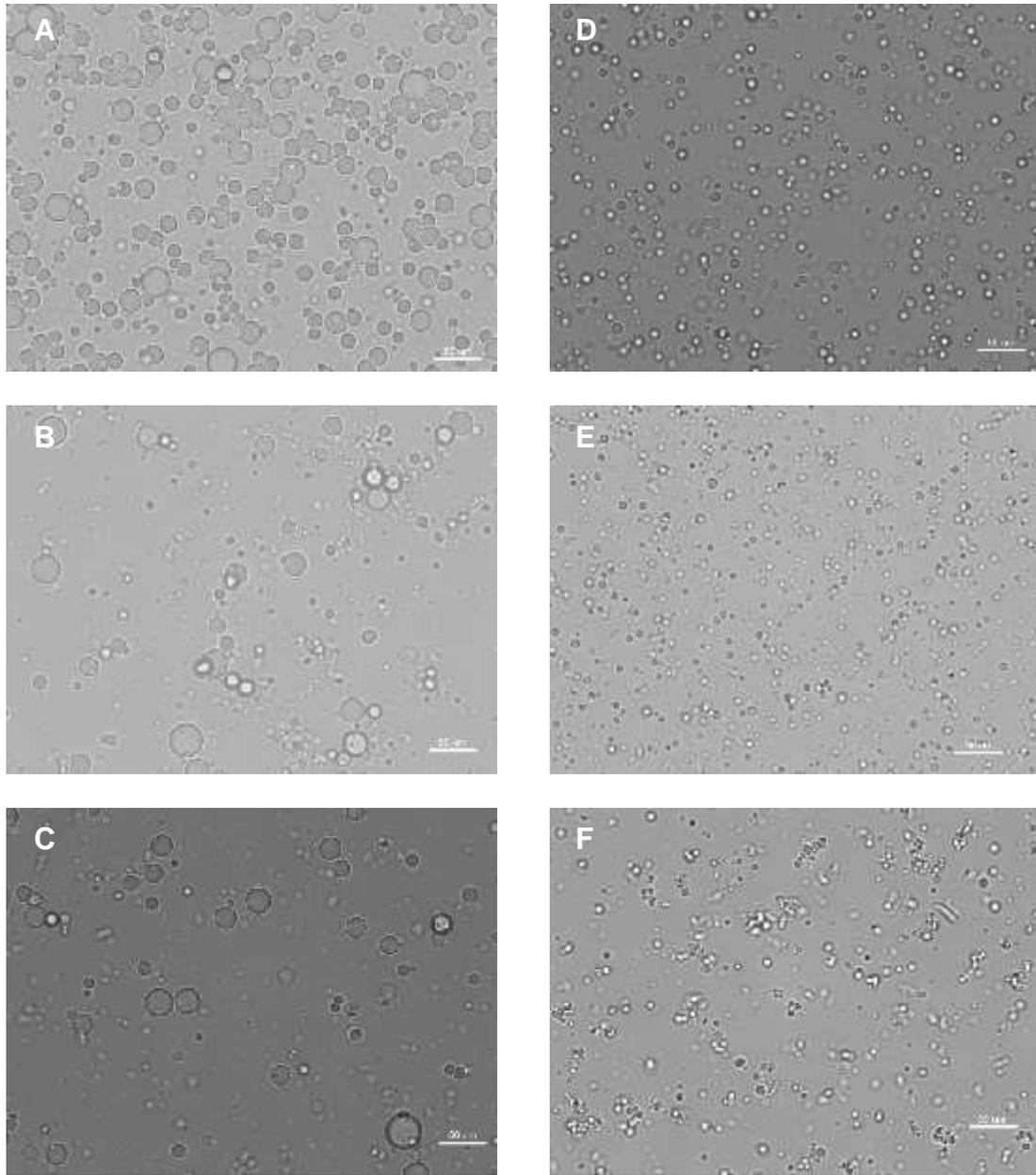


Figura 10. Micrografías ópticas de emulsiones aceite-en-agua después de 1 d de almacenamiento: (a) E_{WPC-PC} 2:1; (b) $E_{WPC-PT55}$ 2:1; (c) $E_{WPC-PT100}$ 2:1; (d) E_{WPC-PC} 3:1; (e) $E_{WPC-PT55}$ 3:1; (f) $E_{WPC-PT100}$ 3:1. Barra = 50 μm .

E_{WPC-PC} : emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina cítrica; $E_{WPC-PT55}$: emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejacote accesión 55; $E_{WPC-PT100}$: emulsión con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejacote accesión 100. Los códigos 2:1 y 3:1 indican la relación biopolímero: aceite.

5.6. Eficiencia de microencapsulación

El principal requerimiento de un buen material de pared en la microencapsulación es la buena capacidad para retener y sellar el material de centro durante el procesamiento y almacenamiento (Jimenez *et al.*, 2006). Acorde al Cuadro 7, la eficiencia de microencapsulación (EME) del aceite de semilla de uva fue significativamente influenciada por el tipo de material usado y la cantidad de sólidos totales.

Cuadro 7. Eficiencia de microencapsulación de las microcápsulas.

Código de microcápsulas	EME* (%)
M _{WPC-PC} 2:1	66.84 ± 0.98 ^c
M _{WPC-PC} 3:1	70.33 ± 1.09 ^{ab}
M _{WPC-PT55} 2:1	64.97 ± 0.80 ^c
M _{WPC-PT55} 3:1	69.13 ± 0.91 ^b
M _{WPC-PT100} 2:1	65.92 ± 0.97 ^c
M _{WPC-PT100} 3:1	71.29 ± 0.14 ^a

Superíndices distintos en la misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p < 0.05$). Datos indican media \pm DE.

M_{WPC-PC}: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina cítrica; M_{WPC-PT55}: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejocote accesión 55; M_{WPC-PT100}: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejocote accesión 100. Los códigos 2:1 y 3:1 indican la relación biopolímero: aceite.

*Eficiencia de microencapsulación.

Los valores de EME indicaron que hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en las microcápsulas, al incrementar el contenido de sólidos totales (40 a 30 %), las microcápsulas presentaron una EME de entre 71.29 ± 0.14 a 64.97 ± 0.80 % respectivamente.

Acorde a Carneiro *et al.* (2012) la más estable emulsión, la más alta eficiencia de microencapsulación. Valores similares en la eficiencia de microencapsulación de aceite esencial de chía con matrices de WPC-polisacárido fueron reportados por Rodea-González *et al.* (2012); por otra parte Lim *et al.* (2011) mostró una eficiencia de microencapsulación de 77.61-85.3 % utilizando diferentes materiales de pared para microencapsular aceite de semilla de pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). En el presente estudio los resultados obtenidos para EME pueden ser relacionados al tamaño de gota de la emulsión o viscosidad y las diferencias pueden ser probablemente atribuidas a la diferente pectina usada como material de pared en combinación con WPC. Las emulsiones que mostraron mayor contenido de sólidos totales, valores de viscosidad mayor y diámetros de gotas menores presentaron la mayor eficiencia de microencapsulación. Tonon *et al.* (2011) reportó que el mayor contenido de sólidos mostro mayor eficiencia de microencapsulación, lo cual fue relacionado a la mayor viscosidad de la emulsión y tamaño de gotas más pequeñas. Se puede ver que no hubo diferencia significativa en la EME entre las microcápsulas elaboradas con pectina de cítrica comercial y las obtenidas con pectina de tejocote de ambas accesiones (Cuadro 7).

5.7. Estabilidad térmica de las microcápsulas

En la Figura 11 se muestran los termogramas del flujo calor en función de la temperatura obtenidos para las microcápsulas del aceite de semilla de uva con mezclas de biopolímeros.

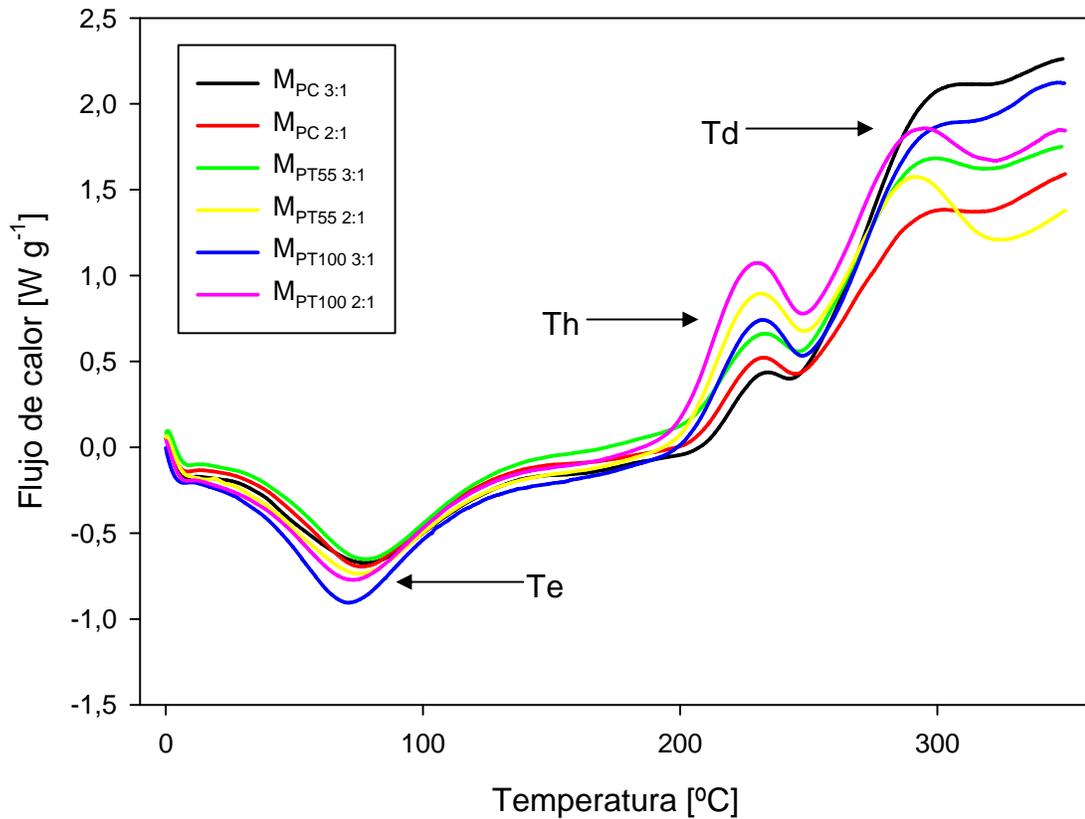


Figura 11. Termogramas obtenidos de las microcápsulas con aceite superficial.

M_{WPC-PC} : microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina cítrica; $M_{WPC-PT55}$: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejocote accesión 55; $M_{WPC-PT100}$: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejocote accesión 100. Los códigos 2:1 y 3:1 indican la relación biopolímero: aceite.

Te: temperatura de evaporación del agua; Th: temperatura de humo del aceite superficial; Td: temperatura de degradación de las microcápsulas.

Los termogramas obtenidos para todas las microcápsulas mostraron una tendencia similar. En todas las microcápsulas se observó la presencia de dos picos exotérmicos bien definidos que correspondieron a procesos de degradación.

El primer pico exotérmico alrededor de 230 °C corresponde al punto de humo del aceite de semilla de uva superficial y el segundo pico exotérmico (~290 °C) a la degradación de las microcápsulas. El pico endotérmico que se presentó en los termogramas corresponde a la evaporación del agua presente en las microcápsulas.

Resultados similares fueron presentados por Sansone *et al.* (2011) en perfiles térmicos por DSC de extractos de plantas microcapsulados obtenidos por secado por aspersion utilizando maltodextrina y pectina de manzana como material de pared. Alveano-Aguerreberre *et al.* (2011) reportó curvas de DSC de oxidación de aceite de semilla de *Prunus serotina* presentando dos picos exotérmicos, un pico a 250 °C indicando inestabilidad en esta temperatura y otro pico exotérmico a 310-318 °C indicando la completa polimerización térmica. Para eliminar el aceite superficial se realizó una extracción de dicho aceite; se colocó 1 gramo de microcápsulas con 20 mL de éter de petróleo y se mantuvo una agitación constante por 5 minutos, posteriormente se separó el éter de petróleo con el aceite superficial y se dejaron las microcápsulas a temperatura ambiente hasta que todo el solvente orgánico remanente se evaporó. Las muestras analizadas por calorimetría diferencial de barrido (DSC) mostraron que el primer pico desapareció de los termogramas (Figura 12). Todas las microcápsulas presentaron comportamiento similar.

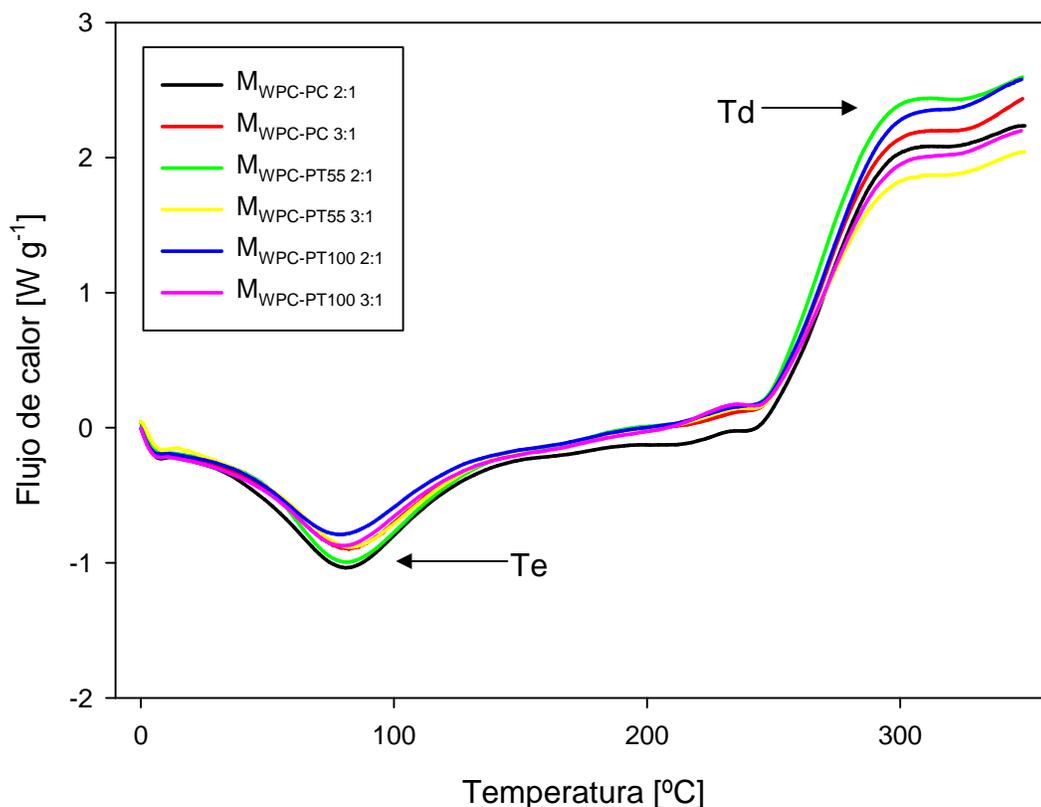


Figura 12. Termogramas obtenidos de las microcápsulas sin aceite superficial.

M_{WPC-PC} : microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina cítrica; $M_{WPC-PT55}$: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejocote accesión 55; $M_{WPC-PT100}$: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejocote accesión 100. Los códigos 2:1 y 3:1 indican la relación biopolímero: aceite.

Te: temperatura de evaporación del agua; Td: temperatura de degradación de las microcápsulas.

En el Cuadro 8 se muestran los resultados de las temperaturas de los picos exotérmicos obtenidos a partir de los termogramas para el aceite de semilla de uva y las microcápsulas, respectivamente. El resultado del análisis de varianza aplicado a las temperaturas de humo del aceite y degradación de las microcápsulas, indicó que no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). Bail *et*

al. (2008) menciona que el aceite de semilla de uva presenta un punto de humo alto (190 a 230 °C), por lo que es estable a altas temperaturas durante procesos térmicos altos.

Cuadro 8. Temperaturas de humo del aceite superficial y de degradación de las microcápsulas.

Código de microcápsulas	Th* (°C)	Td** (°C)
M _{WPC-PC} 2:1	228.5 ± 0.44	289.2 ± 2.66
M _{WPC-PC} 3:1	229.5 ± 0.33	290.5 ± 0.61
M _{WPC-PT55} 2:1	227.3 ± 0.58	287.3 ± 1.01
M _{WPC-PT55} 3:1	228.6 ± 0.49	288.4 ± 0.41
M _{WPC-PT100} 2:1	226.2 ± 1.53	288.1 ± 1.44
M _{WPC-PT100} 3:1	228.8 ± 0.32	290.1 ± 1.43

Los valores indican media ± DE.

M_{WPC-PC}: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina cítrica; M_{WPC-PT55}: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejocote accesión 55; M_{WPC-PT100}: microcápsula con mezcla de concentrado de proteína de lactosuero-pectina de tejocote accesión 100. Los códigos 2:1 y 3:1 indican la relación biopolímero: aceite.

*Temperatura de humo del aceite de semilla de uva; **Temperatura de degradación de microcápsulas.

5.8. Micromorfología de las microcápsulas

Las Figuras 13 y 14 muestran las micrografías de MEB (estructura externa) de los polvos producidos con diferentes combinaciones de material de pared.

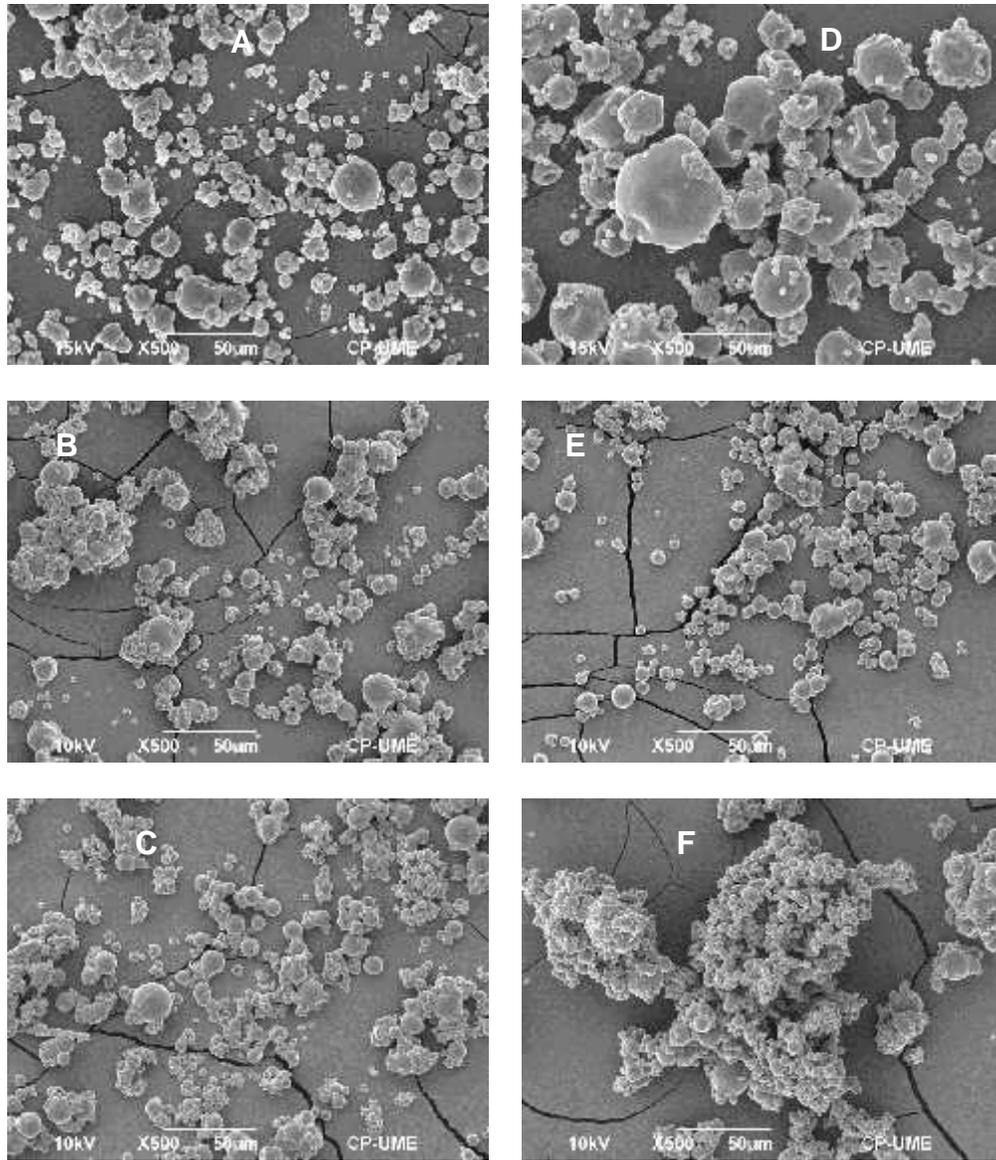


Figura 13. Micrografías Electrónicas de Barrido de microcápsulas de aceite de semilla de uva: (A) M_{WPC-PC} 2:1; (B) $M_{WPC-PT55}$ 2:1; (C) $M_{WPC-PT100}$ 2:1; (D) M_{WPC-PC} 3:1; (E) $M_{WPC-PT55}$ 3:1; (F) $M_{WPC-PT100}$ 3:1.

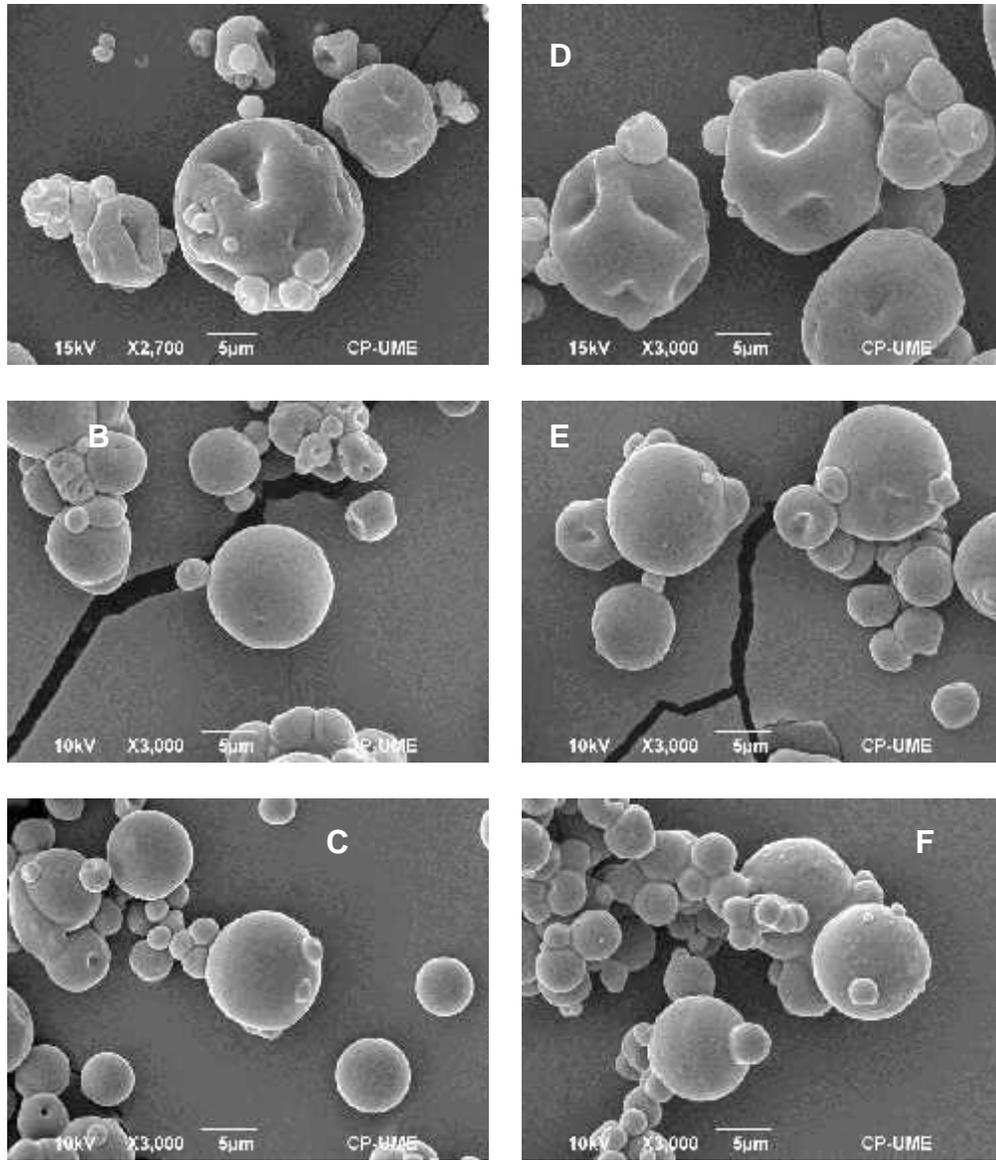


Figura 14. Micrografías Electrónicas de Barrido de microcápsulas de aceite de semilla de uva: (A) M_{WPC-PC} 2:1; (B) $M_{WPC-PT55}$ 2:1; (C) $M_{WPC-PT100}$ 2:1; (D) M_{WPC-PC} 3:1; (E) $M_{WPC-PT55}$ 3:1; (F) $M_{WPC-PT100}$ 3:1.

Observando la morfología externa, las partículas mostraron una forma esférica y varios tamaños, no aparecieron grietas o fisuras; lo cual es una ventaja, ya que implica que las cápsulas tuvieron baja permeabilidad a los gases,

incrementando así la protección y la retención del material activo. Sin embargo, la variedad en tamaño es una característica típica de partículas producidas por secado por aspersión. Las mezclas de los diferentes materiales de pared influenciaron sobre la morfología de las partículas. Esto fue más evidente cuando se compararon las imágenes de M_{WPC-PC} ya que estas microcápsulas mostraron más abolladuras respecto a las compuestas con pectina de tejocote. La morfología fue muy similar a las reportadas en otras investigaciones de microcápsulas obtenidas por secado por aspersión (Rodríguez-Hueso *et al.*, 2004; Kolanowski *et al.*, 2006; Loksuwan, 2007; Favaro-Trindade *et al.*, 2010; Gharsallaoui *et al.*, 2010; Carneiro *et al.*, 2012; Guadarrama-Lezama *et al.*, 2012; Rodea-Gonzalez *et al.*, 2012).

En la Figura 15, se muestra la estructura interna de una microcápsula, en la cual se observó un centro vacío lugar donde teóricamente se encuentra el aceite de semilla de uva, por otra parte también se presentaron gotas de menor tamaño embebidas dentro de la matriz sólida de la pared. Imágenes muy similares de la estructura interna fueron encontradas por Rodríguez-Hueso *et al.* (2004) y Carneiro *et al.* (2012).



Figura 15. Micrografía Electrónica de Barrido de la estructura interna de una microcápsula. $M_{WPC-PT55}$ 3:1.

5.9. Análisis químico proximal del producto lácteo fermentado

Los productos lácteos fermentados difirieron significativamente en sus contenidos de grasa, proteína y sólidos totales (Cuadro 9), como resultado de modificaciones en la composición química de la leche a partir de la que se prepararon. Los productos lácteos fermentados bajos en grasa PLF_{BG} , PLF_{PC} y PLF_{PT100} , mostraron contenido de grasa significativamente menor ($p < 0.05$) al determinado en el PLF_{CG} (Cuadro 9); resultados congruentes con el contenido de grasa láctea a partir de la que fueron elaborados (1.5 % p/p), en comparación con 3 % (p/p) en la leche usada para el producto lácteo fermentado Y_{CG} . En el contenido de proteína el producto lácteo fermentado PLF_{CG} presentó el contenido de proteína significativamente menor ($p < 0.05$)

que el resto de los productos lácteos fermentados. Lo anterior se debió a que los sólidos grasos lácteos reducidos en la leche a partir de la que se elaboraron los productos lácteos fermentados bajos en grasa fueron reemplazados con leche descremada en polvo. Para el caso de los sólidos totales de los productos lácteos fermentados se presentó diferencia significativa ($p < 0.05$).

Cuadro 9. Composición química proximal de los productos lácteos fermentados.

Código	Grasa (g/100 g)	Proteína (g/100 g)	Sólidos totales (g/100 g)
PLF _{CG}	2.96 ± 0.057 ^a	2.690 ± 0.042 ^a	15.96 ± 0.035 ^a
PLF _{BG}	1.53 ± 0.057 ^b	2.940 ± 0.028 ^b	14.87 ± 0.084 ^c
PLF _{PC}	1.53 ± 0.057 ^b	2.935 ± 0.021 ^b	15.35 ± 0.063 ^b
PLF _{PT100}	1.53 ± 0.057 ^b	2.845 ± 0.049 ^b	15.38 ± 0.247 ^b

Superíndices distintos en la misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p < 0.05$). Datos indican media ± DE.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC 3:1}; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PT100 3:1}.

El PLF_{CG} presentó un contenido de sólidos totales mayor ($p < 0.05$) a los mostrados por el resto de los productos lácteos fermentados (Cuadro 9) por usar leche en su preparación con un contenido de sólidos totales (120 g L⁻¹). El PLF_{BG} mostró el contenido de sólidos significativamente menor ($p < 0.05$) como resultado de un menor contenido de sólidos totales en la leche utilizada en el producto (105 g L⁻¹), finalmente en los productos lácteos fermentados

enriquecidos con microcápsulas (PLF_{PC} y PLF_{PT100}) no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) debido a que su contenido de sólidos totales en la leche fue de 105 g L^{-1} más la adición de microcápsulas (5 g L^{-1}).

5.10. Sinéresis del los productos lácteos fermentados

Las variaciones de los productos lácteos fermentados exhibieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en sus porcentajes de sinéresis, después de 5 d de elaborados (Cuadro 10).

Cuadro 10. Sinéresis de los productos lácteos fermentados a los 5 d de elaborados.

Código	Sinéresis (g/100 g)
PLF _{CG}	7.67 ± 1.60^a
PLF _{BG}	33.50 ± 0.71^c
PLF _{PC}	14.88 ± 0.28^{ab}
PLF _{PT100}	16.64 ± 3.63^b

Superíndices distintos en la misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p < 0.05$). Datos indican media \pm DE.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas $M_{WPC-PT100}$ 3:1.

El PLF_{CG} presentó el menor grado de sinéresis ($p < 0.05$) con respecto de los productos lácteos fermentados, después de 5 d de elaborados. Los datos se

podieron correlacionar con los datos de la composición química, el PLF_{CG} presentó el mayor contenido de grasa láctea, mayor contenido de sólidos totales y el menor porcentaje de sinéresis. En este mismo contexto, el PLF_{BG} presentó el mayor grado de sinéresis a los 5 d de elaborado, probablemente relacionado con el mayor contenido de proteína y menor contenido de sólidos totales, lo que pudo haber implicado en contracción de la red proteínica y por consecuencia la expulsión de suero. Los productos lácteos fermentados enriquecidos con microcápsulas (PLF_{PC} y PLF_{PT100}) mostraron porcentajes de sinéresis intermedios por lo que la incorporación de microcápsulas favoreció a la retención de suero. La pérdida de suero es un defecto común durante el almacenamiento de productos lácteos fermentados como el yogur, por lo tanto los fabricantes tratan de reducir la separación del suero, incrementando el contenido de sólidos totales o adicionando estabilizantes (McCann *et al.*, 2011).

5.11. Comportamiento de flujo del producto lácteo fermentado

En la Figura 16, se presentan las curvas de viscosidad contra la tasa de corte de los productos lácteos fermentados. El patrón de flujo en todos los casos fue muy similar, presentando curvas de flujo típicas. Los productos lácteos fermentados, a bajas tasas de corte, del orden de 10^{-3} s^{-1} , presentaron incrementos leves en sus valores de viscosidad, posiblemente debido a reacomodos en su estructura interna después de que se les aplicó un pequeño esfuerzo. Posteriormente, a tasa de corte de aproximadamente 0.003 s^{-1} presentaron una pequeña zona newtoniana donde los valores de viscosidad fueron constantes. A partir de una tasa de corte de 0.005 s^{-1} , los productos

lácteos fermentados exhibieron disminuciones progresivas en sus valores de viscosidad directamente proporcional a aumentos en la tasa de corte, comportándose como fluidos no newtonianos de tipo pseudoplástico. La viscosidad aparente de los materiales pseudoplásticos se aproximó al infinito, conforme la tasa de corte aumentó.

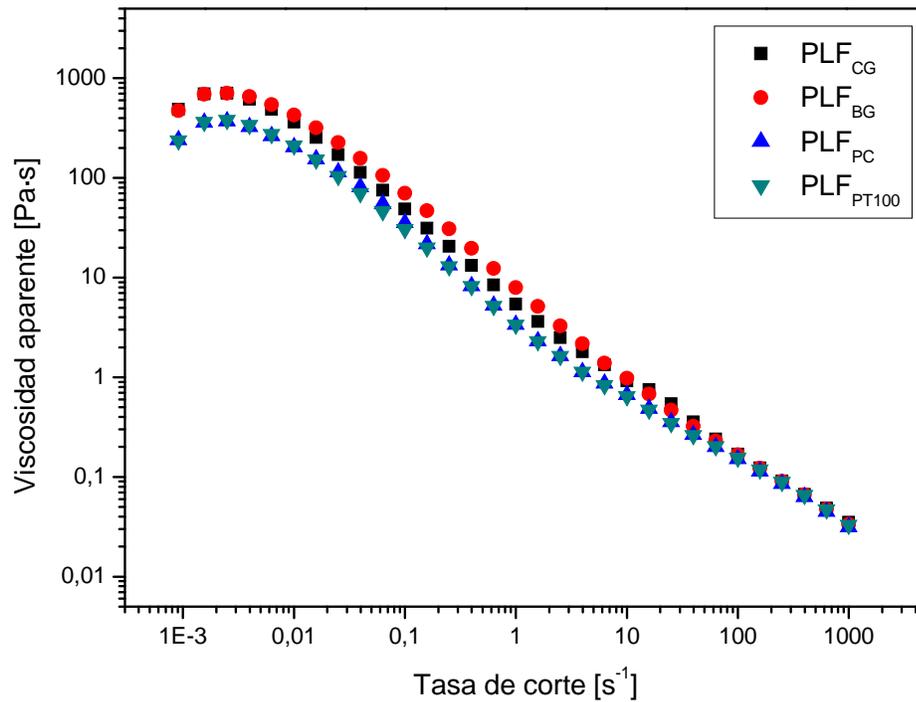


Figura 16. Comportamiento de la viscosidad aparente de los productos lácteos fermentados en función de la tasa de corte, después de 5 d de elaborados.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PT100} 3:1.

Las curvas de flujo de los productos lácteos fermentados se ajustaron a varios modelos matemáticos, siendo el modelo de Carreau (7) el que mostró el mejor ajuste ($R^2 = 0.99$) a los valores experimentales de la viscosidad (Rao, 2007).

$$\eta = \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{(1 + (\lambda \dot{\gamma})^2)^n} + \eta_\infty \quad (7)$$

donde η_∞ es la viscosidad infinita a tasas de corte altas;

η_0 es la viscosidad inicial o cero;

λ es el tiempo de relajación;

$\dot{\gamma}$ tasa de corte;

n es el índice de comportamiento de flujo.

Todos los productos lácteos fermentados presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores de los parámetros del modelo de Carreau al que se ajustó su comportamiento de flujo. Estos resultados indicaron que la variación en la composición química de los distintos productos lácteos fermentados influyó en la formación de distintos arreglos estructurales relacionados con las macromoléculas involucradas. Los tiempos de relajación (λ) están relacionados directamente con la ruptura y el tiempo de recuperación de los enlaces del sistema, el producto lácteo fermentado PLF_{PT100} fue el que presentó el valor de λ significativamente más alto ($p < 0.05$) respecto a los otros productos y el PLF_{BG} fue el que presentó el valor de λ significativamente más bajo (Cuadro 11).

Cuadro 11. Parámetros del modelo de Carreau de los productos lácteos fermentados.

Código	(s)	n
		(adimensional)
PLF _{CG}	263.16 ± 21.06 ^b	0.413 ± 0.003 ^{bc}
PLF _{BG}	154.47 ± 14.35 ^a	0.437 ± 0.016 ^c
PLF _{PC}	232.09 ± 13.41 ^{ab}	0.394 ± 0.007 ^b
PLF _{PT100}	433.21 ± 70.84 ^c	0.365 ± 0.009 ^a

Superíndices distintos en la misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p < 0.05$). Datos indican media ± DE.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PT100} 3:1.

Finalmente el parámetro n es un exponente adimensional y está relacionado con el índice de comportamiento de flujo, refleja que tanto se acercan los alimentos a un comportamiento newtoniano. Si $n = 1$ se trata de flujo newtoniano, $n < 1$ el fluido presenta un comportamiento de adelgazamiento al corte, $n > 1$ el fluido presenta un comportamiento de espesamiento al corte (Rao, 2007). Todos los productos lácteos fermentados presentaron valores menores de 1 por lo que se presentaron un comportamiento de adelgazamiento al corte.

5.12. Comportamiento viscoelástico del producto lácteo fermentado

El carácter viscoelástico de las variaciones de los productos lácteos fermentados se muestra en la Figura 17, correspondiente al barrido de amplitud

realizado a los 5 d de su elaboración. Las curvas que definieron el comportamiento de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') siguieron tendencias generales similares para todos los productos lácteos fermentados. Las curvas presentaron tres zonas de comportamiento:

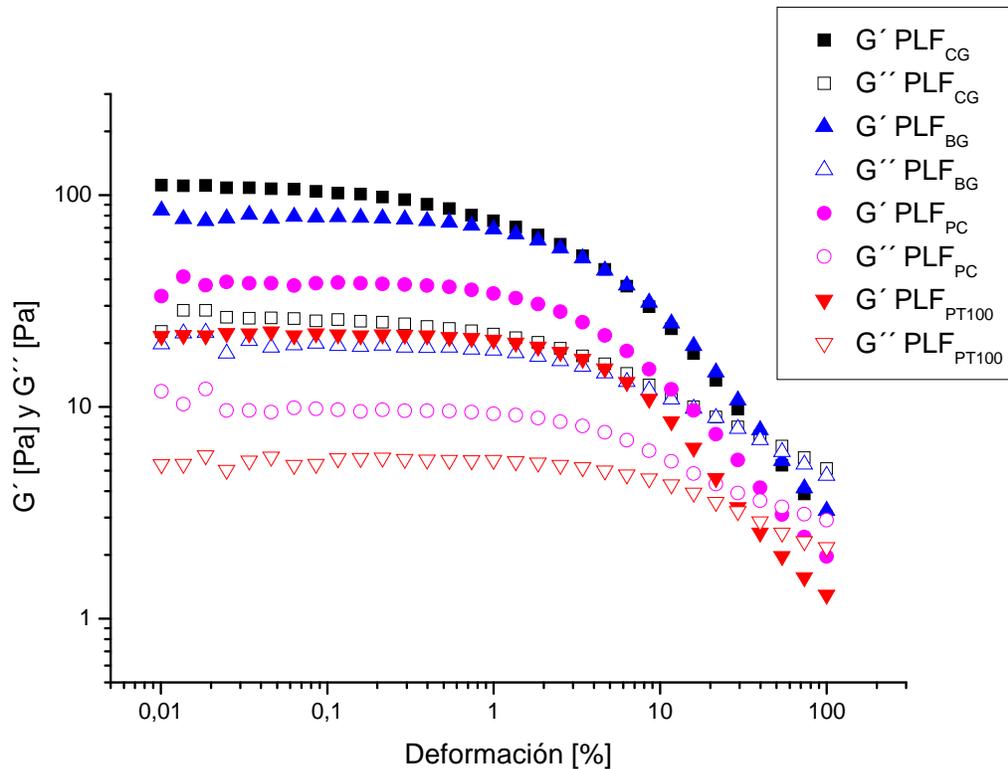


Figura 17. Variación de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los productos lácteos fermentados en función de la deformación, después de 5 d de almacenamiento.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PT100} 3:1.

Zona I, comprendida entre 0.01 a 1 % de deformación, conocida como región de comportamiento viscoelástico lineal (RVL); en la que los módulos G' y G'' presentaron valores prácticamente constantes, independientes de la deformación aplicada. En esta zona los valores de G' fueron mayores a los mostrados por G'' (Figura 17), lo que indicó que todos los productos lácteos fermentados presentaron un comportamiento reológico predominantemente elástico.

Zona II, comprendida entre deformaciones mayores de 1 % hasta aproximadamente 30 %, en la que los valores de ambos módulos disminuyeron de forma no lineal, indicando con ello la ruptura parcial de la estructura elástica del producto lácteo fermentado.

Zona III, comprendida entre los valores de deformación mayores a 30 % hasta 100 % los valores de G'' fueron mayores a los de G' , en el punto donde se presentó el cruce de ambos módulos, indicó que el comportamiento reológico se transformó de predominantemente sólido elástico a predominantemente líquido viscoso ($G'' > G'$), lo anterior a la destrucción de la estructura interna de los productos lácteos fermentados. Ramírez-Santiago *et al.* (2012) presentó resultados similares en las propiedades viscoelásticas del queso petit-suisse reducido en grasa empleando coacervados complejos como reemplazadores de la grasa láctea.

En la Figura 18 se muestran las variaciones en los valores de $\tan \delta$ de los productos lácteos fermentados en función de la deformación, después de 5 d de amlacenamiento, se pudo observar que todos las muestras bajo la aplicación de

deformaciones mostraron valores similares en toda la deformación aplicada. El parámetro $\tan \delta$ indica que propiedades, ya sea del carácter elástico o viscoso predominan en un alimento, valores bajos (< 1) están relacionados con el carácter predominantemente sólido, mientras que los valores elevados (> 1) lo están con el carácter viscoso (Sanz *et al.*, 2008; Lobato-Calleros *et al.*, 2009; Aguirre-Mandujano *et al.*, 2009).

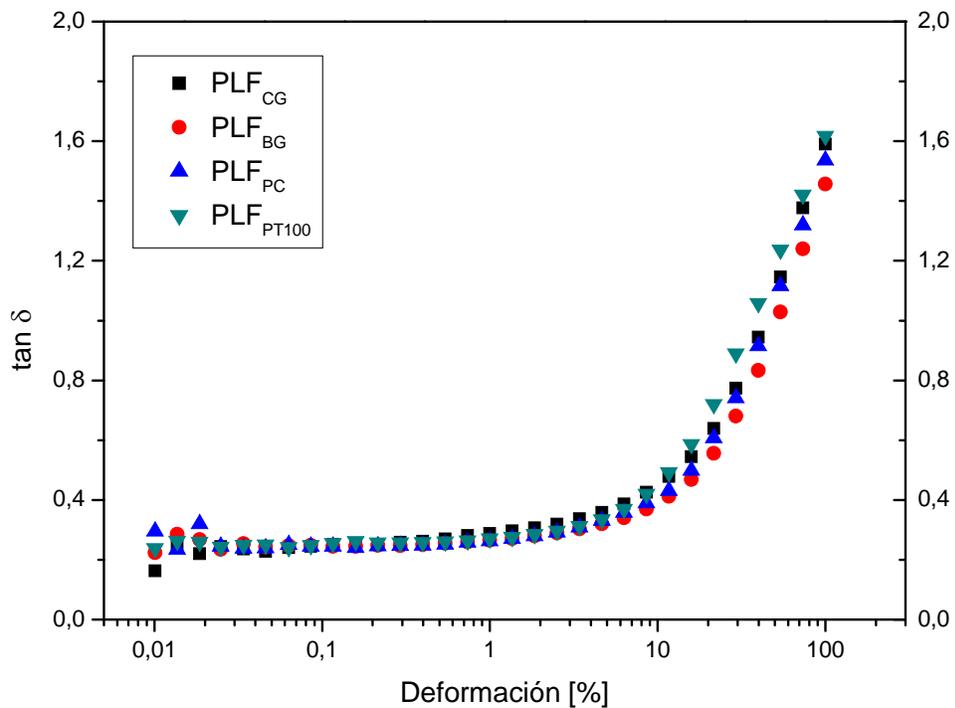


Figura 18. Variación de los valores de $\tan \delta$ de los productos lácteos fermentados en función de la deformación, después de 5 d de elaborados.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PT100} 3:1.

De los productos lácteos fermentados, los controles PLF_{CG} y PLF_{BG} no mostraron diferencia significativa ($p > 0.05$) en los valores de G' y G'' después de 5 d de almacenamiento (Cuadro 12).

Cuadro 12. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los productos lácteos fermentados en la región viscoelástica lineal.

Código	G' (Pa)	G'' (Pa)	tan
PLF _{CG}	97.80 ± 0.56 ^a	25.05 ± 0.77 ^a	0.245 ± 0.007 ^a
PLF _{BG}	77.70 ± 4.24 ^a	19.50 ± 0.70 ^b	0.245 ± 0.003 ^a
PLF _{PC}	38.05 ± 4.17 ^b	9.69 ± 1.00 ^c	0.254 ± 0.002 ^a
PLF _{PT100}	21.95 ± 8.13 ^b	5.74 ± 2.07 ^c	0.261 ± 0.002 ^a

Superíndices distintos en una misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p > 0.05$). Datos indican media ± DE.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PT100} 3:1.

Ciron *et al.* (2012) reportó que el comportamiento viscoelástico de los yogures control (completo en grasa 3.5 % y reducido en grasa 1.5 %) fue muy similar independientemente del contenido de grasa. Por otra parte los productos enriquecidos con microcápsulas presentaron los valores más bajos en los módulos de G' y G'' esto sugiere que la adición de microcápsulas afectó en la firmeza global del gel, por lo tanto fue mínimo el efecto sobre la interacción de las micrcápsulas con las partículas de caseína. McCann *et al.* (2011) observo

resultados similares para la adición de fibra de zanahoria a yogur, las partículas de caseína incrementan el área de contacto entre los agregados de caseína y por lo tanto se forma una red de gel más rígido.

5.13. Evaluación sensorial del producto lácteo fermentado

Las calificaciones de aceptabilidad global y por atributos asignadas por los 80 consumidores a los productos lácteos fermentados, no mostraron mucha variación (Cuadro 13), debido al carácter hedónico de la prueba.

Cuadro 13. Valores de la aceptabilidad por atributos asignados a las variaciones de los productos lácteos fermentados.

Código	Cremosidad	Dulzor	Acidez	Viscosidad	Sabor	AG*
PLF _{CG}	6.3±1.5 ^a	5.6±1.9 ^b	5.7±1.8 ^a	5.9±1.7 ^a	6.0±1.8 ^a	6.0±1.7 ^a
PLF _{BG}	5.7±1.6 ^b	5.5±1.7 ^b	5.6±1.6 ^a	5.6±1.7 ^a	6.0±1.4 ^a	6.0±1.5 ^a
PLF _{PC}	6.0±1.5 ^{ab}	5.9±1.7 ^{ab}	5.6±1.7 ^a	5.8±1.6 ^a	6.1±1.4 ^a	5.8±1.4 ^a
PLF _{PT100}	6.0±1.5 ^{ab}	6.2±1.5 ^a	6.0±1.4 ^a	5.8±1.6 ^a	6.4±1.3 ^a	6.1±1.5 ^a

Superíndices distintos en una misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p < 0.05$). Datos indican media \pm DE.

*Aceptación global.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PT100} 3:1.

La Figura 19 presenta los resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP) realizado a los datos de aceptabilidad, tanto global como por cada atributo sensorial, de los productos lácteos fermentados. El primer componente

explicó el 65.81 % de la varianza total de los productos lácteos fermentados, y en éste la aceptabilidad global, sabor, acidez y dulzor estuvieron relacionados positivamente. El segundo componente explicó el 30.56 % de la varianza total de los productos lácteos fermentados con los atributos de cremosidad y viscosidad relacionados positivamente.

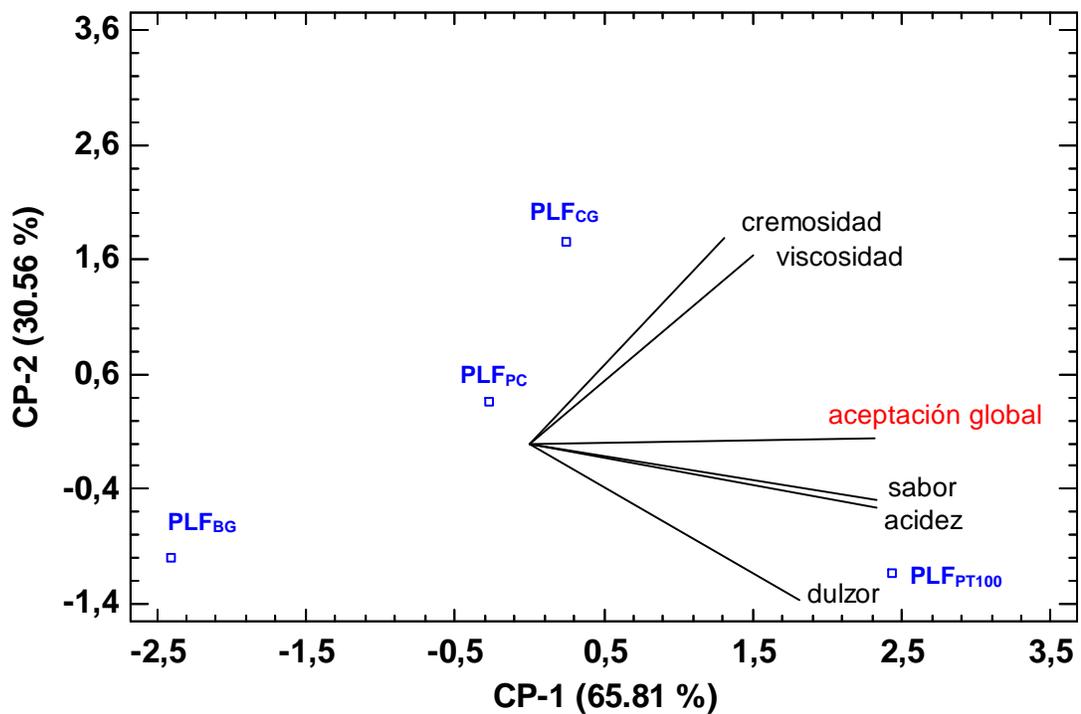


Figura 19. Análisis de Componentes Principales de la aceptabilidad de los atributos sensoriales y la aceptabilidad global de los productos lácteos fermentados.

PLF_{CG}: producto lácteo fermentado completo en grasa; PLF_{BG}: producto lácteo fermentado bajo en grasa; PLF_{PC}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PC} 3:1; PLF_{PT100}: producto lácteo fermentado enriquecido con 0.5 % de microcápsulas M_{WPC-PT100} 3:1.

Los dos componentes principales permitieron distinguir los atributos sensoriales de los productos lácteos fermentados en función del contenido graso y la incorporación de aceite de semilla de uva microencapsulado. De acuerdo al espacio bidimensional que ocupó el PLF_{CG}, se pudo observar que la grasa láctea le confirió atributos de cremosidad y viscosidad. En consecuencia, el PLF_{BG} se ubicó en una posición contraria a los valores de los atributos sensoriales mencionados para el PLF_{CG}.

Además, en el PLF_{PT100} las microcápsulas le proporcionaron atributos sensoriales de sabor, acidez y dulzor, siendo éstos atributos los que marcaron la pauta para la aceptabilidad global de los panelistas. Previos estudios han mostrado que la viscosidad, recubrimiento en la boca, acidez y aroma a grasa láctea son atributos sensoriales significativos en yogures (Allgeyer *et al.*, 2010).

6. CONCLUSIONES

El aceite de semilla de uva mexicano presentó contenidos de ácidos grasos poliinsaturados mayores del aceite de semilla de uva chileno, por lo que el aceite mexicano es de mayor calidad nutracéutica.

Las accesiones tejocote 55 y 100 presentaron rendimientos altos de pectinas particularmente en metoxilo, característica altamente apreciada en la industria alimentaria por su capacidad estructurante y estabilizadora.

Las emulsiones con mayor contenido de sólidos totales, presentaron mejor estabilidad, mayor viscosidad y menor tamaño de gota, características que se relacionan con una mayor eficiencia de microencapsulación.

Los perfiles térmicos de las microcápsulas indicaron la presencia de dos picos exotérmicos, relacionados al punto de humo del aceite de semilla de uva superficial y a la degradación de los biopolímeros.

La morfología esférica, superficie lisa y con menor presencia de abolladuras en las microcápsulas obtenidas mediante secado por aspersion las presentaron las cápsulas que fueron elaboradas con pectina de tejocote.

La reducción del contenido de grasa de los productos lácteos fermentados, así como el enriquecimiento de estos por aceite de semilla de uva microencapsulado, resultó en productos fermentados que difirieron ampliamente en su composición química proximal, sinéresis, comportamiento reológico y atributos sensoriales similares al producto lácteo fermentado completo en grasa.

Las microcápsulas $M_{WPC-PT100\ 3:1}$ adicionadas al producto lácteo fermentado bajo en grasa (PLF_{PT100}) confirió atributos sensoriales de sabor, acidez y dulzor; obteniendo la calificación más alta de aceptación global, en comparación con el resto de los productos lácteos fermentados, incluyendo el completo en grasa (PLF_{CG}).

Los conocimientos generados en esta investigación constituyen herramientas útiles para el desarrollo de productos lácteos innovadores enriquecidos con microcápsulas de ácidos grasos esenciales.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre-Mandujano, E., Lobato-Calleros, C., Beristain, C.I., Garcia, H.S. y Vernon-Carter, E. J. (2009). Microstructure and viscoelastic properties of low-fat yoghurt structured by monoglyceride gels. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 42,938-944.
2. Alveano-Aguerreberere, I., Rojas-Molina, A., Oomah, B. D. y Drover, J. C. G. (2011). Characteristics of *Prunus serótina* seed oil. *Food Chemistry*, 124, 983-990.
3. Ahn, J.H., Kim, Y. P., Lee, Y. M., Seo, E. M., Lee K. W. y Kim H. S. (2008). Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. *Food Chemistry*, 107, 98-105.
4. Akalin, A. S., Karagözlü, C. y Ünal, G. (2008). Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate inulin. *European Food Research Technology*, 227, 889-895.
5. Allgeyer, L.C., Miller, M.J. y Lee, S.Y. (2010). Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal Dairy Science*, 93, 4471-4479.
6. Anwar, S.H. y Kunz, B. (2011). The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. *Journal of Food Engineering*, 105, 367-378.

7. Anzaldúa-Morales, A. (2005). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y práctica. Acribia. Zaragoza, España. 198 p.
8. AOAC. (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Arlington, Association of Official Analytical Chemists.
9. Ariffin, A. A., Bakar, J., Tan, C. P., Rahman, R. A., Karim, R. y Loi, C. C. (2009). Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. *Food Chemistry*, 114, 561-564.
10. Bail, S., Stuebiger, G., Krist, S., Unterweger, H. y Buchbauer, G. (2008). Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 108, 1122-1132.
11. Bertolami, M. C. (1999). Evaluation of effects to new fermented milk products on primary hypercholesterolemia. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53, 7-110.
12. Bonilla, E., Azuara, E., Beristain, C. I. y Vernon-Carter, E. J. (2010). Predicting suitable storage conditions for spray-dried microcapsules formed with different biopolymer matrices. *Food Hydrocolloids*, 24, 633-640.
13. Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F. y Hubinger, M. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033>.
14. Cho, Y. H. y Park, J. (2002). Characteristics of double encapsulated flavor powder prepared by secondary fat coating process. *Journal of Food Science*, 67, 968-972.

15. Choi, Y. y Lee, J. (2009). Antioxidant and antiproliferative properties of tocotrienol-rich fraction from grape seeds. *Food Chemistry*, 114, 1386-1390.
16. Ciron, C.I.E., Gee, V.L., Kelly, A.L. y Auty, M.A.E. (2012). Modifying the microstructure of low-fat yoghurt by microfluidisation of milk at different pressures to enhance rheological and sensory properties. *Food Chemistry*, 130, 510-519.
17. Clause, D., Gomez, F., Dalmazzone, C. y Noik, C. (2005). A method for the characterization of emulsions, thermogravimetry: Application to water in crude oil emulsion. *Journal Colloid and Interface Science*, 287: 694-703.
18. Coronado-Herrera, M., Vega-León, S., Gutiérrez-Tolentino, R., García-Fernández, B. y Díaz-González, G. (2006). Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. *Revista de Educación Bioquímica*, 25, 72-79.
19. Cubero, N., Monferrer, A. y Villalta, J. (2002). Aditivos alimenticios. Mundi-Prensa. Madrid, España. p. 161-186.
20. Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70, 54-66.
21. Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39.
22. Edwards, P.B., Creamer, L.K. y Jameson, G.B. (2009). Structure and stability of whey proteins. En: Thompson, A., Boland, M. y Singh, H. (eds.). *Milk proteins from expression to food*. Academic Press. USA. p. 163-190.

23. Erçelebi, E. A. y Ibanoglu, E. (2009). Characterization of phase separation behavior, emulsion stability, rheology, and microestructure of egg white-polysaccharide mixtures. *Journal of Food Science*, 74, 506-512.
24. Espinosa-Solares, T., Medina-Juárez, L. A., Hueda-Rasgado, E., Villanueva-Verduzco, C., Montesinos-López, O. A. y Gómez-Cruz, A. (2010). Comparison of pumpkin seed oil of three species and eight commercial oils by means of a multivariate method. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 2, 75-80.
25. Estrada, D.J., Boeneke, C., Bechtel, P. y Sathivel, S. (2011). Developing a strawberry yogurt fortified with marine fish oil. *Journal Dairy Science*, 94, 5760-5769.
26. Farrell, H. M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E. y Creamer, L. K. (2004). Nomenclature of the proteins of cows milk. *Journal of Dairy Science*, 87, 1641-1674.
27. Favaro-Trindade, C.S., Santana, A. S., Monterrey-Quintero, E. S., Trindade, M. A. y Netto, E. M. (2010). The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 24, 336-340.
28. Fenema, O. (1993). *Química de alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.
29. Fissore, E.N., Rojas, A.M. y Gerschenson, L.N. (2012). Rheological performance of pectin-enriched products isolated from red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) through alkaline and enzymatic treatments. *Food Hydrocolloids*, 26, 249-260.
30. García, G. M. (1990). Yogur: Aspectos microbiológicos y de elaboración. *Tecnología Alimentaria*, 21(6), 5-14.

31. Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. y Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, 1107-1121.
32. Gharsallaoui, A., Roudaut, A., Beney, L., Chambin, L., Voilley, A. y Saurel, R. Properties of spray-dried food flavours microencapsulated with two-layered membranes: Roles of interfacial interactions and water. *Food Chemistry* (2011), doi: 10.1016/j.foodchem.2011.03:028
33. Gharsallaoui, A., Saurel, R., Chambin, O., Cases E., Voilley, A., y Cayot, P. (2010). Utilisation of pectin coating to enhance spray-dry stability of pea protein-stabilised oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 122, 447-454.
34. Gharsallaoui, A., Saurel, R., Chambin, O., Cases E., Voilley, A., y Cayot, P. Pea (*Pisum sativum*, L.) protein isolate stabilized emulsions: A novel system for microencapsulation of lipophilic ingredients by spray drying. *Food Bioprocess Technology*, (2011), doi: 10.1007/s11947-010-0497-z.
35. Giancone, T., Torrieri, E., Masi, P. y Michon, C. (2009). Protein-polysaccharide interactions: Phase behavior of pectin-soy flour mixture. *Food Hydrocolloids*, 23, 1263-1269.
36. Gogus, U. y Smith C. (2010). N-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 417-436.
37. Guadarrama-Lezama, A.Y., Dorantes-Alvarez, L., Jaramillo-Flores, M.E., Pérez-Alonso, C., Niranjana, K., Gutiérrez-López, G.F. y Alamilla-Beltrán, L. (2012). Preparation and characterization of non-aqueous extracts from chilli

- (*Capsicum annuum* L.) and their microencapsulates obtained by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 112, 29-37.
38. Huffman, L. M. y Harper, J. M. (1999). Maximizing the value of milk through separation technologies. *Journal of Dairy Science*, 82, 2238-2244.
39. Humblet-Hua, K. N. P., Scheltens, G., van der Linden, E. y Sagis, L. M. C. (2011). Encapsulation systems based on ovalbumin fibrils and high methoxyl pectin. *Food Hydrocolloids*, 25, 569-576.
40. Hurley, W. L., Ventling, B. L., Ma, M. y Larson, B. L. (1990). Variability in physicochemical properties of dried wheys from commercial sources. *Journal of Food Quality*, 13, 119-127.
41. Ibarz, A. y Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos. Mundi-Prensa. España. pp: 129-180.
42. Jayasundera, M., Adhikari, B., Aldred, P. y Ghandi, A. (2009). Surface modification of spray dried food and emulsion powders with surface-active proteins: A review. *Journal of Food Engineering*, 93, 266-277.
43. Jimenez, M., García, H. S. y Beristain, C. I. (2006). Spray-dried encapsulation of Conjugated Linoleic Acid (CLA) with polymeric matrices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2431-2437.
44. Jyothi, N.V.N., Prasanna, P.M., Sakarkar, S.N., Prabha, K.S., Ramaiah, P.S. y Srawan, G.Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27, 187-197.
45. Kagami, Y., Sugimura, S., Fujishima, N., Matsuda, K., Kometani, T. y Matsumura, Y. (2003). Oxidative stability, structure, and physical

- characteristics of microcapsules formed by spray drying of fish oil with protein and dextrin wall materials. *Journal Food Science*, 68, 2248-2255.
46. Kappes, S.M., Schmidt, S.J. y Lee, S.Y. (2006). Descriptive analysis of cola and lemon/lime carbonated beverages. *Journal of Food Science*, 71: 583-589.
47. Keogh, M.K. y O'Kennedy, B.T. (1998). Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science*, 63, 108-112.
48. Kim, H. J., Decker, E. A. y McClements, D. J. (2006). Preparation of multiple emulsions based on thermodynamic incompatibility of heat-denatured whey protein and pectin solutions. *Food Hydrocolloids*, 20, 586-595.
49. Kim, D.J., Jeon, G., Sung, J., Oh, S.K., Hong, H.C., y Lee, J. (2010). Effect of grape seed oil supplementation on plasma lipid profiles in rats. *Food Science Biotechnology*, 19, 249-252.
50. Kolanowski, W. y Laufenberg, G. (2006). Enrichment of food products with polyunsaturated fatty acids by fish oil addition. *European Food Research Technology*, 222, 472-477.
51. Leal-Calderon, F., F. Thivilliers y V. Schmitt. (2007). Structured emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 12: 206-212.
52. Lim, H. K., Tan, C. P., Bakar, J. y Ng, S. P. Effects of different wall materials on the physicochemical properties and oxidative stability of spray-dried microencapsulated red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seed oil. *Food Bioprocess Technology* (2011), doi:10.1007/s11947-011-0555-1.

53. Lim, H. K., Tan, C. P., Karim, R., Ariffin, A. Z., y Bakar, J. (2010). Chemical composition and DSC thermal properties of two species of *Hylocereus cacti* seed oil: *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*. *Food Chemistry*, 119, 1326-1331.
54. Logaraj, T.V., Bhattacharya, S., Udaya, S. K. y Venkateswaran, G. (2008). Rheological behavior of emulsions of avocado and watermelon oils during storage. *Food Chemistry*, 106, 937-943.
55. Lokuwan, J. (2007). Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids*, 21, 928-935.
56. Lutterodt, H., et al. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry* (2011), doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.040
57. McClements D. J., Decker, E. A., y Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72, 109-124.
58. Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., y Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release-a review. *International Journal of Food Science Technology*, 41, 1-21.
59. Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D. R. y Carle, R. (2009). Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 112, 551-559.

60. McCann, T.H., Fabre, F. y Day, Li. (2011). Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yogurt structured by carrot cell wall particles. *Food Research International*, 44, 884-892.
61. Meaney, E., Lara-Esqueda, A., Ceballos-Reyes, G. M., Asbun, J., Vela, A., Martínez-Marroquín, Y., López, V., Meaney, A., de la Cabada-Tamez, E., Velázquez-Monrroy, Ó. y Tapia-Conyer, R. (2007). Cardiovascular risk factors in the urban Mexican population: The FRIMEX study. *Journal of the Royal Institute of Public Health*, 121, 378-384.
62. Moschakis, T., Murray, B. S. y Biliaderis, C. G. (2010). Modifications in stability and structure of whey protein-coated o/w emulsions by interacting chitosan and gum Arabic mixed dispersions. *Food Hydrocolloids*, 24, 8-17.
63. Nehdi, I. A. (2011). Characteristics and composition of *Washingtonia filifera* (Linden ex André) H. Wendl. seed and seed oil. *Food Chemistry*, 126, 197-202.
64. NOM-185-SSA1-2002. Norma oficial mexicana para productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/185ssa12.html>. Consultada el 9 de febrero de 2012.
65. Nicolai, T., Britten, M. y Schmitt, C. (2011). -Lactoglobulin and WPI aggregates: Formation, structure and applications, *Food Hydrocolloids*, 25, 1945-1962.
66. Nieto-Ángel, R., Pérez-Ortega, S.A., Núñez-Colín, C.A., Martínez-Solís, J. y González-Andrés, F. (2009). Seed and endocarp traits as markers of the

- biodiversity of regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus* spp.) from Central and Southern México. *Scientia Horticulturae*, 121, 166-170.
67. Núñez-Colín, C.A., Sahagún-Castellanos, J., González-Andrés, F., Barrientos-Priego, A.F., Segura, S. y Nieto-Ángel, R. (2009). Identification of morphometric traits for screening of tejocote (*Crataegus* spp.) germplasm for better yield potential. *Fruits*, 64, 35-44.
68. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). <http://faostat.fao.org/site>. Consultada el 20 de febrero de 2012.
69. O' Sullivan, M. G., Thornton, G., O'Sullivan, G. C. y Collins, J. K. (1992). Probiotic bacteria: myth or reality? *Trends Food Science Technologies*, 3, 309-314.
70. Passos, C. P., Yilmaz, S., Silva, C. M. y Coimbra, M. A. (2009). Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food Chemistry*, 115, 48-53.
71. Peng, Y., Serra, M., Horne, D. S. y Lucey, J. A. (2009). Effect of fortification with various types of milk proteins on the rheological properties and permeability of nonfat set yogurt. *Journal of Food Science*, 74, 666-673.
72. Pereira, R., Matia-Merino, L., Jones, V. y Singh, H. (2006). Influence of fat on the perceived texture of set acid milk gels: a sensory perspective. *Food Hydrocolloids*, 20, 305-313.
73. Polavarapu, S., Oliver, C. M., Ajlouni, S. y Augustin, M. A. (2011). Physicochemical characterisation and oxidative stability of fish oil and fish oil-extra virgin, olive oil microencapsulated by sugar beet pectin. *Food Chemistry*, 127, 1694-1705.

74. Ramírez-Santiago, C., Lobato-Calleros, C., Espinosa-Andrews, H. y Vernon-Carter, E.J. Viscoelastic properties and overall sensory acceptability of reduced-fat Petit-Suisse cheese made by replacing milk fat with complex coacervate. *Dairy Science & Technology* (2012), doi 10.1007/s13594-012-0077-2.
75. Rao, M. A. (2007). Rheology of fluid and semisolid foods. Principles and applications, (2nd ed.). Springer Science+Business, LLC. NY. EUA.
76. Ridley, B.L., O'Neill, M.A. y Mohnen, D. (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 57, 929-967.
77. Rodea-González, D.A., Cruz-Olivares, J., Román-Guerrero, A., Rodríguez-Hueso, M.E., Vernon-Carter, E.J. y Pérez-Alonso, C. (2012). Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, 111, 102-109.
78. Rodríguez-Huezo, M. E., Pedraza-Islas, R., Prado-Barragán, L. A., Beristain, C. I. y Vernon-Carter, E. J. (2004). Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. *Journal of Food Science*, 69, 351-359.
79. Saénz, C., Tapia, S., Chávez, J. y Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114, 616-622.

80. Sansone, F., Mencherini, T., Picerno, P., d'Amore, M., Aquino, R.P. y Lauro, M.R. (2011). Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. *Journal of Food Engineering*, 105, 468-476.
81. Sanz, T., Salvador, A., Jiménez, A. y Fiszman, S.M. (2008). Yogurt enrichment with functional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. *European Food Research Technology*, 227, 1515-1521.
82. Secretaría de Salud. <http://sinais.salud.gob.mx/mortalidad/index.html>
Consultada el 9 de febrero de 2012.
83. Shah, N. P. (2001). Functional food from probiotics and prebiotics. *Food Technology*, 55, 41-53.
84. Shaker, E. S. (2006). Antioxidative effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT*, 39: 883-892.
85. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Producción de tejocote. <http://www.siap.gob.mx/index>. Consultada el 15 de febrero de 2012.
86. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Producción de uva. <http://www.siap.gob.mx/index>. Consultada 15 de febrero de 2012.
87. Serfert, Y., Drusch, S. y Schwarz, K. (2009). Chemical stabilization of oils rich in long-chain polyunsaturated fatty acids during homogenization, microencapsulation and storage. *Food Chemistry*, 113, 1106-1112.
88. Srinivasan, D. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70, 54-65.

89. Steffe, J. F. (1996). Rheological methods in food process engineering. Freeman Press. U.S.A.
90. Soroa, J. M. y Pineda, N. (1980). *Industrias Lácteas*, (4ta ed.). Madrid, España: Dossal.
91. Tabilo-Munizaga, G. y Barbosa-Cánovas, V. (2005). Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 67: 147-156.
92. Tamime, A.Y. y Robinson, R. K. (2007). *Yoghurt: science and technology*, (3rd ed.). Boca Raton, FL: CRC Press LLC.
93. Tamjidi, F., Nasirpour, A. y Shahedi, M. (2012). Physicochemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil. *Food Science and Technology International*, 18, 381-390.
94. Tonon, R. V., Brabet, C. y Hubinger, H. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43: 907-914.
95. Tonon, R.V., Grosso, C.R.F. y Hubinger, M.D. (2011). Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Research International*, 44, 282-289.
96. Vaghela, M. N., y Kilara, A. (1996). Foaming and emulsifying properties of whey protein concentrates as affected by lipid composition. *Journal of Food Science*, 6, 275-280.
97. Wang, T., y Lucey, L. A. (2003). Use of multiangle laser light scattering and sizeexclusion chromatography to characterize the molecular weight and

types of aggregates present in commercial whey protein products. *Journal of Dairy Science*, 86(10), 3090-3101.

98. Xiong, R. y J. F. Meullenet. (2004). Application of multivariate adaptive regression splines (MARS) to the preference mapping of cheese sticks. *Journal of Food Science*, 69:131-139.

99. Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B. y Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pectin extracts. *Food Chemistry*, 100, 1356-1364.