



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL

## PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE YOGUR BAJO EN GRASA ESTRUCTURADO CON EMULSIONES MÚLTIPLES Y GELES DE EMULSIFICANTES

### TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

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



**PRESENTA:** DIRECCION GENERAL ACADEMICA  
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

**CRUZ HERNÁNDEZ MARYLU**



**DICIEMBRE, 2010**

**Chapingo, Estado de México.**

**PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE YOGUR BAJO EN GRASA  
ESTRUCTURADO CON EMULSIONES MÚLTIPLES Y GELES DE  
EMULSIFICANTES**

Tesis realizada por **Marylú Cruz Hernández** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

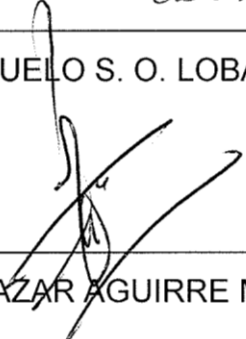
**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
AGROALIMENTARIA**

DIRECTORA:



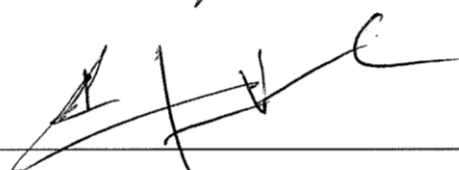
DRA. CONSUELO S. O. LOBATO CALLEROS

ASESOR:



DR. ELEAZAR AGUIRRE MANDUJANO

ASESOR:



DR. JAIME VERNON CARTER

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo en el estudio de mi maestría y el aporte a la investigación nacional.

A la Universidad Autónoma Chapingo por formarme profesionalmente. A la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria y al Departamento de Ingeniería Agroindustrial.

A la Dra. Consuelo Lobato Calleros, por el seguimiento, dedicación, esfuerzo, paciencia y apoyo incondicional para la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Eleazar Aguirre Mandujano por su tiempo y asesoría para la realización de esta investigación.

Al Dr. Jaime Vernon Carter por la asesoría y observaciones pertinentes en la finalización de este trabajo.

A la Dra. Ofelia Sandoval y al M.C. César Ramírez, por su asesoría y consejos en la realización de esta tesis.

## DEDICATORIAS

*A Dios que me brinda las fuerzas para seguir adelante.*

*A mis Papas, hermanos y sobrinos.*

*A ti que me has apoyado en todo.*

*A todos mis amigos.*

*A todos, gracias por formar parte de mi vida.*

## **DATOS BIOGRÁFICOS**

La Ing. Marylú Cruz Hernández, realizó sus estudios de licenciatura en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo; el título de tesis de licenciatura fue: “Desarrollo y caracterización de microcápsulas: uso como vehículo y medio de protección de *Lactobacillus casei* en yogur”. En lo profesional ha trabajado en el sector rural elaborando y gestionando proyectos productivos, así también ha impartido cursos de capacitación en la transformación y conservación de productos agropecuarios. Ha tomado cursos de calorimetría y cromatografía.

# PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE YOGUR BAJO EN GRASA ESTRUCTURADO CON EMULSIONES MÚLTIPLES Y GELES DE EMULSIFICANTES

## VISCOELASTIC PROPERTIES OF LOW-FAT YOGHURT STRUCTURED WITH MULTIPLE EMULSIONS AND EMULSIFIER GELS

Cruz-Hernández, M.; Lobato-Calleros, C. S. O.; Aguirre-Mandujano, E.; Vernon-Carter, J.

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la composición química general, sinéresis, propiedades viscoelásticas y la aceptabilidad de los atributos sensoriales de yogures bajos en grasa láctea estructurados con una emulsión múltiple (EM) estabilizada con carboximetilcelulosa (CMC) y proteína de suero concentrada (WPC) y/o con gel (G) de monoestearato de sorbitan (MS), en comparación con aquellas de un yogur control completo en grasa láctea (YCG). Un yogur YCG (30 g of MF/L) y un yogur bajo en grasa YBG (10 g of MF/L) fueron preparados como controles. Tres yogures bajos en grasa láctea fueron preparados (10 g of fat/L) usando leche adicionada con 71.43 g de EM (YEM), 120 g de G (YG) y 35.71 g de EM + 60 g de G (YEMG). La fase líquido cristalina formada por MS fue identificada como  $\alpha$ -gel por calorimetría diferencial de barrido. La composición química general, las propiedades reológicas, sinéresis y atributos sensoriales de las variaciones de yogur fueron afectadas por la composición de la leche usada para su preparación. El yogur YG conteniendo  $\alpha$ -gel presentó valores de sinéresis y parámetros reológicos cercanos a aquellos mostrados por el yogur YCG. Además el yogur YG tuvo mayor calificación en la aceptabilidad sensorial, y contenido de grasa significativamente menor que el yogur YCG.

**Palabras claves:** emulsión múltiple, gel, monoestearato de sorbitan, reología.

### ABSTRACT

The objective of this work was to determine the general chemical composition, syneresis, viscoelastic properties, and the acceptability of the sensory attributes of reduced milk-fat yoghurts structured with a multiple emulsion (ME) stabilized with carboxymethylcellulose (CMC) and whey protein concentrate (WPC) and/or with a gel (G) made up of sorbitan monostearate (MS) in comparison with those of a full milk-fat yoghurt control (YCG). A YCG yoghurt (30 g of MF/L), and a reduced milk-fat yoghurt (YBG, 10 g of MF/L) were prepared as controls. Three reduced milk-fat yoghurts were prepared (10 g of fat/L) using milk added with 71.43 g of ME (YEM), 120 g of G (YG), and 35.71 g of ME + 60 g of G (YEMG). The liquid crystalline phase formed by MS was identified as  $\alpha$ -gel by Differential Scanning Calorimetry. The general chemical composition, rheological properties, syneresis, and sensory attributes of the yoghurt variations were affected by the composition of the milk used for their preparation. The YG yoghurt containing  $\alpha$ -gel presented values of syneresis and rheological parameters close to those showed by the YCG yoghurt. In addition, the YG yoghurt had higher acceptability sensory scores, but significantly lower fat content than the YCG yoghurt.

**Keywords:** multiple emulsion, gel, sorbitan monostearate, rheology.

**PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE YOGUR BAJO EN GRASA  
ESTRUCTURADO CON EMULSIONES MÚLTIPLES Y GELES DE  
EMULSIFICANTES**

**ÍNDICE**

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ÍNDICE DE CUADROS .....                                                               | X  |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....                                                               | XI |
| 1. INTRODUCCIÓN .....                                                                 | 1  |
| 2. OBJETIVOS .....                                                                    | 4  |
| 2.1. Objetivo general .....                                                           | 4  |
| 2.2. Objetivos particulares .....                                                     | 4  |
| 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....                                                       | 6  |
| 3.1. Generalidades del yogur .....                                                    | 6  |
| 3.1.1. Origen y definición .....                                                      | 6  |
| 3.1.2. Importancia funcional .....                                                    | 6  |
| 3.1.3. Factores de calidad del yogur .....                                            | 7  |
| 3.1.4. Ingredientes usados para la formulación de yogures reducidos en<br>grasa ..... | 7  |
| 3.2. Emulsiones .....                                                                 | 9  |
| 3.2.1. Definición .....                                                               | 9  |
| 3.2.2. Emulsiones múltiples .....                                                     | 11 |

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.3. Biopolímeros usados como emulsificantes/estabilizantes ..... | 15 |
| 3.3. Monoglicéridos.....                                            | 19 |
| 3.3.1. Mesofases de monoglicéridos .....                            | 20 |
| 3.3.2. Estabilidad de las fases líquido cristalinas .....           | 22 |
| 3.3.3. Aplicaciones .....                                           | 23 |
| 3.4. Reología .....                                                 | 24 |
| 3.4.1. Propiedades reológicas de los alimentos .....                | 24 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS.....                                        | 27 |
| 4.1. Materiales .....                                               | 27 |
| 4.2. Equipos.....                                                   | 28 |
| 4.3. Preparación de los geles .....                                 | 28 |
| 4.4. Comportamiento térmico del gel .....                           | 29 |
| 4.5. Emulsión múltiple agua-en-aceite-en-agua .....                 | 30 |
| 4.5.1. Preparación .....                                            | 30 |
| 4.5.2. Determinación de tamaño de gota .....                        | 31 |
| 4.6. Variaciones de yogures y procedimiento de preparación .....    | 33 |
| 4.7. Análisis químico proximal de los yogures .....                 | 35 |
| 4.8. Prueba de sinéresis de los yogures.....                        | 36 |
| 4.9. Análisis reológico.....                                        | 36 |
| 4.10. Evaluación sensorial.....                                     | 37 |
| 4.11. Análisis de datos.....                                        | 39 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....                                     | 40 |
| 5.1. Transición térmica del gel.....                                | 40 |

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.2. Propiedades reológicas del gel.....                                     | 42 |
| 5.2.1. Barrido de amplitud .....                                             | 42 |
| 5.2.2. Barrido de frecuencia .....                                           | 45 |
| 5.3. Morfología y tamaño de las gotas de las emulsiones .....                | 46 |
| 5.1. Propiedades reológicas de la emulsión múltiple .....                    | 51 |
| 5.1.1. Barrido de amplitud .....                                             | 51 |
| 5.1.2. Barrido de frecuencia .....                                           | 53 |
| 5.2. Composición química y sinéresis de los yogures .....                    | 54 |
| 5.3. Comportamiento reológico de los yogures .....                           | 57 |
| 5.3.1. Barrido de amplitud .....                                             | 57 |
| 5.3.1. Barrido de frecuencia .....                                           | 65 |
| 5.3.2. Propiedades de flujo.....                                             | 70 |
| 5.4. Evaluación sensorial.....                                               | 78 |
| 5.4.1. Aceptabilidad global y de los atributos sensoriales de los yogures .. | 78 |
| 6. CONCLUSIONES .....                                                        | 82 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA.....                                                         | 83 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|                                                                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Cuadro 1. Clasificación de emulsificantes según su HLB .....                                                                                                                    | 10 |
| Cuadro 2. Formulación de la emulsión interna ( $W_1/O$ ).....                                                                                                                   | 31 |
| Cuadro 3. Cantidades de de leche entera y/o descremada en polvo usadas para preparar la leche rehidratada utilizada para elaborar las variaciones de yogur.....                 | 34 |
| Cuadro 4. Valores medios ( $\pm$ DE) del diámetro volumétrico-superficial medio ( $D_{3,2}$ ) y tasa de coalescencia de las gotas de grasa láctea de la emulsión múltiple. .... | 49 |
| Cuadro 5. Composición química y sinéresis (medias $\pm$ DE) de los yogures. ....                                                                                                | 57 |
| Cuadro 6. Valores medios ( $\pm$ DE) de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en la región viscoelástica lineal.....                     | 64 |
| Cuadro 7. Valores medios ( $\pm$ DE) de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures, bajo una frecuencia de 1 Hz. ....                         | 69 |
| Cuadro 8. Valores medios ( $\pm$ desviación estándar) de los términos del modelo de Carreau que obedecieron los yogures durante el tiempo de almacenamiento. ....               | 77 |
| Cuadro 9. Valores medio ( $\pm$ DE) de la aceptabilidad por atributos asignados a las variaciones de yogur. ....                                                                | 80 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Diagrama esquemático del método de dos etapas para la elaboración de una emulsión múltiple $W_1/O/W_2$ .....                                                                                                                                                     | 12 |
| Figura 2. Transiciones (A, B, C) de fases líquido cristalinas de monoglicéridos, sobre y por debajo de la temperatura Krafft (D).....                                                                                                                                      | 22 |
| Figura 3. Termograma del gel de monoestearato de sorbitan sujeto a régimen de calentamiento y enfriamiento, mediante calorimetría diferencial de barrido.                                                                                                                  | 41 |
| Figura 4. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) del gel de monoestearato de sorbitan en función de la deformación.....                                                                                                                | 43 |
| Figura 5. Variación del factor de cedencia ( $\tan \delta$ ) del gel en función de la deformación. ....                                                                                                                                                                    | 44 |
| Figura 6. Variación de la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ), los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) del gel en función de la frecuencia. ....                                                                                                        | 46 |
| Figura 7. Microfotografías de la emulsión interna $(W_1/O)_{(\phi 0.3)}$ después de: (a) una hora y (b) cinco horas de su elaboración, en las que puede observarse la presencia de numerosas gotas de agua dispersas en la fase oleosa continua. Amplificación 100 x. .... | 47 |
| Figura 8. Microfotografía de las gotas de la emulsión múltiple $W_1/O/W_2$ , en cuyo interior puede observarse la presencia de numerosas gotas de agua. Amplificación 100x.....                                                                                            | 49 |

|                                                                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 9. Variación del número de gotas de la emulsión múltiple durante 24 horas.....                                                                                                    | 50 |
| Figura 10. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de la emulsión múltiple. ....                                                                      | 52 |
| Figura 11. Variación del factor de cedencia ( $\tan \delta$ ) de la emulsión múltiple en función de la deformación.....                                                                  | 52 |
| Figura 12. Variación de la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) y de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de la emulsión múltiple en función de la frecuencia. .... | 53 |
| Figura 13. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la deformación, después de 2 días de preparados. ....                 | 59 |
| Figura 14. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la deformación, después de 7 días de preparados. ....                 | 60 |
| Figura 15. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la deformación, después de 14 días de preparados.....                 | 63 |
| Figura 16. Variación de los valores de $\tan \delta$ de los yogures en función de la deformación, después de 2 (a), 7 (b) y 14 (c) días de elaborados.....                               | 66 |
| Figura 17. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la frecuencia, después de 2 días de preparación. ....                 | 67 |

|                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 18. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la frecuencia, después de 7 días de preparación.         | 68 |
| Figura 19. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la frecuencia, después de 14 días de preparación.        | 68 |
| Figura 20. Comportamiento de la viscosidad aparente ( $\eta_{ap}$ ) de los yogures después de 2 días preparación en función de la velocidad de cizalla.....                 | 72 |
| Figura 21. Comportamiento de la viscosidad aparente ( $\eta_{ap}$ ) de los yogures después de 7 (a) y 14 (b) días de preparación en función de la velocidad de cizalla..... | 73 |
| Figura 22. Análisis de Componentes Principales de la aceptabilidad de los atributos sensoriales y la aceptación global de los yogures. ....                                 | 81 |

## 1. INTRODUCCIÓN

El consumo de cantidades elevadas de grasas saturadas a través de la dieta, es considerado como un factor de riesgo para las enfermedades del corazón (Aranceta, 2001); constituyendo estas últimas la principal causa de muerte en el mundo (OMS, 2007). El desarrollo de productos lácteos, en particular de yogur, conteniendo menos grasa láctea de tipo saturada y un mejor balance de grasa saturada-insaturada puede contribuir a la salud de los consumidores (Lobato-Calleros *et al.*, 2006). La popularidad de yogures reducidos o libres de grasa se ha incrementado sensiblemente en los últimos años, debido a sus características nutrimentales y terapéuticas potenciales (Aguirre-Mandujano *et al.*, 2009). La compleja estructura del yogur consiste en una red de agregados de micelas de caseína, en la que participan también proteínas de lactosuero y glóbulos de grasa láctea; estos últimos toman parte de la estructura a través de interacciones entre su membrana y la matriz proteínica (Xiong y Kinsella, 1991). Reducciones en el contenido graso y en consecuencia en el número de glóbulos de grasa láctea provocan alteraciones en la microestructura, las características sensoriales y las propiedades mecánicas del yogur (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004). Los yogures bajos en grasa exhiben una estructura frágil y propiedades texturales pobres; por ello es común la adición de ingredientes que mejoren su textura y reduzcan la separación de lactosuero (Mistry y Hassan,

1992), tales como: (a) subproductos de leche (leche descremada en polvo, caseinato de sodio o concentrados de proteína de lactosuero) (Akalin *et al.*, 2008; Gustaw *et al.*, 2006); (b) sustitutos de grasa de naturaleza sacárida o proteínica (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004), (c)  $\alpha$ -geles de monoglicéridos (Aguirre-Mandujano *et al.*, 2009) y (d) emulsiones múltiples (Lobato-Calleros *et al.*, 2009). En todos los casos mencionados el contenido de grasa láctea del yogur fue sólo parcialmente reducido, obteniéndose productos con alguna o varias características mejoradas (sinéresis, firmeza, elasticidad, etc.).

La incorporación de emulsiones múltiples estabilizadas con proteína de lactosuero y geles de emulsificantes de bajo peso molecular en yogur reducido en grasa, puede constituir una alternativa novedosa para reforzar la microestructura de este derivado lácteo y así mejorar sus propiedades mecánico-sensoriales. Lo anterior, debido a la posibilidad de interacción entre las gotas de emulsión con la red proteínica y a la capacidad de los geles de emulsificantes para formar bloques estructurales con elevada capacidad ligante de agua.

Con base en lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue determinar la composición química general, sinéresis, propiedades viscoelásticas y aceptabilidad de los atributos sensoriales de yogures reducidos en grasa láctea, estructurados con una emulsión múltiple agua-en-aceite-en-agua estabilizada con carboximetilcelulosa y concentrado de proteína de lactosuero

y/o un gel formado a partir de monoestearato de sorbitan, en comparación con aquellas de un yogur control completo en grasa láctea.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

- Determinar la composición química general, sinéresis, propiedades viscoelásticas y aceptabilidad de los atributos sensoriales de yogures bajos en grasa láctea, estructurados con emulsiones múltiples agua-en-aceite-en-agua y/o geles de un emulsificante de bajo peso molecular, en comparación con aquellas de un yogur control completo en grasa láctea.

### **2.2. Objetivos particulares**

- Determinar las condiciones térmicas para la obtención de fases mesomorfas de un emulsificante de bajo peso molecular, usando Calorimetría Diferencial de Barrido.
- Preparar emulsiones múltiples agua-en-aceite-en agua, que sean estables durante los tiempos requeridos para la elaboración de yogur bajo en grasa, utilizando como agentes emulsificantes/estabilizantes proteína de lactosuero y carboximetilcelulosa.

- Establecer el método de preparación de yogures bajos en grasa láctea usando emulsiones múltiples agua-en-aceite-en-agua y/o geles de un emulsificante de bajo peso molecular, en sustitución de los glóbulos de grasa láctea.

- Evaluar la aceptabilidad de los atributos sensoriales de los yogures bajos en grasa láctea estructurados con emulsiones múltiples agua-en-aceite-en-agua y/o geles de un emulsificante de bajo peso molecular y del yogur control completo en grasa láctea.

### **3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. Generalidades del yogur**

##### **3.1.1. Origen y definición**

El yogur es originario probablemente del medio oriente o de Mesopotamia, su consumo data de alrededor del año 500 a.C. (Tamime y Robinson, 1991). La norma oficial mexicana (NOM-F-444-1990) define al yogur, como el producto lácteo preparado a partir de leche entera, parcial o totalmente descremada, enriquecida con extractos secos por medio de la concentración de ésta o agregándole leche en polvo, tratada térmicamente y coagulada biológicamente por la fermentación obtenida de la siembra en simbiosis de los fermentos lácticos.

##### **3.1.2. Importancia funcional**

El yogur 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 yogur**

El yogur 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. Ingredientes usados para la formulación de yogures reducidos en grasa**

La reducción de grasa del yogur altera sus características sensoriales y mecánicas, obteniéndose productos que muestran “cuerpo frágil” y textura escasa (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004; Guven *et al.*, 2005), por ello es común la adición de diversos ingredientes (estabilizantes, sustitutos de grasa, etc.) que mejoren la textura y reduzcan la separación de lactosuero de estos alimentos (Mistry y Hassan, 1992; Sandoval-Castilla *et al.*, 2004). Opciones para mejorar las características mecánicas del yogur bajo en grasa, las constituyen el uso de caseinato de sodio, concentrados de proteínas de lactosuero o productos bajos en calorías de naturaleza sacárida o proteínica (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004). Guggisberg (2009) informó que la adición de inulina a yogur bajo en grasa incrementó la viscosidad y mejoró el cuerpo y la textura del mismo.

Con el fin de crear bloques estructurales en la fase continua de yogur bajo en grasa, que sustituyan la funcionalidad de la grasa láctea, se ha estudiado la

incorporación de fases líquido cristalinas de emulsificantes y emulsiones múltiples ( $W_1/O/W_2$ ), como se indica a continuación:

**Fases líquido cristalinas de emulsificantes:** emulsificantes solubles en agua, tales como monoglicéridos o fosfolípidos, forman coloides en agua dando lugar a diferentes estructuras polimórficas (Walstra, 2003). Se ha sugerido la adición de fases  $\alpha$ -gel metaestables de emulsificantes en alimentos reducidos en grasa para promover la formación de estructuras (Westerbeek *et al.*, 1989). En adición, la interacción entre monoglicéridos y proteínas de la leche puede jugar un papel importante en la estructura del alimento, Chupin *et al.*, 2002 reportaron que el diacetilfosfato (DCP) facilita la inserción de  $\beta$ -lactoglobulina en la monocapa de monoglicéridos, a través de interacción electrostática entre la carga positiva del aminoácido residual de la proteína y la carga negativa del DCP.

**Emulsiones múltiples:** el uso de emulsiones múltiples ( $W_1/O/W_2$ ) permite una mayor reducción del contenido de grasa que la que se consigue con una emulsión sencilla ( $W_1/O$ ), ya que en emulsiones  $W_1/O/W_2$  la fase acuosa  $W_1$  está constituida por agua (Lobato-Calleros *et al.*, 2006). Las gotas de la emulsión pasan a formar parte de la estructura del alimento, en quesos y yogures bajos en grasa se han usado emulsiones múltiples agua-en-aceite-en-agua estabilizadas con hidrocoloides para compensar la sustitución de los glóbulos de grasa láctea, obteniéndose resultados promisorios en las

propiedades mecánicas de estos alimentos (Lobato-Calleros *et al.*, 2008; Lobato-Calleros *et al.*, 2009). En el caso del queso las propiedades texturales y reológicas fueron atribuidas al efecto de los biopolímeros, sobre el tamaño y distribución de las gotas de la emulsión en la matriz proteínica y a las interacciones entre las moléculas de hidrocoloides, proteínas de la leche y el agua (Lobato-Calleros *et al.* 2006).

### **3.2. Emulsiones**

#### **3.2.1. Definición**

Es un sistema heterogéneo de líquidos inmiscibles, donde al menos uno se encuentra disperso en otro en forma de gotas pequeñas (Becher, 1972). La fase interna o dispersa está constituida por gotas pequeñas y la matriz en la que están dispersas se denomina fase externa o continua (Fennema, 1993). Existen dos tipos de emulsiones: aceite-en-agua (O/W, por sus siglas en inglés) y agua-en-aceite (W/O, por sus siglas en inglés). En las primeras, la fase continua es agua y la fase dispersa está constituida por aceite en forma de gotas, y en las últimas, gotas de agua se distribuyen en una fase continua de aceite. Las emulsiones en un principio son inestables; con el tiempo las gotas de la fase dispersa tienden a reagruparse separándose de la otra fase.

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, pero es posible mejorar su estabilidad mediante la adición de agentes emulsionantes y agentes estabilizantes (Dickinson, 2003). Un agente emulsionante es un compuesto químico (o mezcla) que promueve la formación de la emulsión y le brinda

estabilidad a corto plazo como consecuencia de su actividad superficial (Tesch y Schubert, 2002). Los emulsificantes pueden clasificarse con base en su naturaleza química, actividad superficial y propiedades hidrofílicas-lipofílicas (balance hidrofílico-lipofílico; HLB) (Fennema, 1993). El valor HLB indica el carácter lipofílico e hidrofílico y solubilidad del emulsificante (Cuadro 1). Un valor de HLB elevado indica que predominan los grupos hidrofílicos en el emulsificante, siendo éste hidrosoluble; por el contrario un valor de HLB bajo indica que predominan los grupos lipofílicos en la estructura del emulsificante y este último es liposoluble (Rosano, 1997).

**Cuadro 1. Clasificación de emulsificantes según su HLB**

| Emulsificante                                                     | HLB  | Clasificación              |
|-------------------------------------------------------------------|------|----------------------------|
| Monoestearato de propilenglicol                                   | 1.8  | Lipofílicos                |
| Monoestearato de glicerol                                         | 3.7  |                            |
| Lactopalmitato de glicerol                                        | 3.7  |                            |
| Monolaurato de propilenglicol                                     | 4.6  |                            |
| Monoglicérido esterificado con ácido succínico                    | 5.3  |                            |
| Monoestearato de sorbitán                                         | 5.7  |                            |
| Monopalmitato de sorbitán                                         | 6.6  |                            |
| Monolaurato de sorbitán                                           | 6.6  |                            |
| Monoglicéridos esterificados con ácido diacetil tartárico (DATEM) | 9.2  | Moderadamente hidrofílicos |
| Monooleato de polioxietileno (5) sorbitán                         | 10.9 |                            |
| Monoestearato de polioxietileno de sorbitán                       | 14.9 | Muy hidrofílicos           |
| Monooleato de polioxietileno (20) sorbitán                        | 15.8 |                            |
| Estearil-2-lactato de sodio                                       | 21   |                            |

Fuente: Rosano, 1997.

### 3.2.2. Emulsiones múltiples

Existen dos importantes formas de emulsiones dobles o múltiples: agua-en-aceite-en-agua  $W_1/O/W_2$  y aceite-en-agua-en-aceite  $O_1/W/O_2$  (Nissim, 1996 y 1997). Las emulsiones  $W_1/O/W_2$  están compuestas por glóbulos de grasa que contienen microglóbulos acuosos, dispersos en la fase acuosa. Las emulsiones múltiples se han usado para la encapsulación de medicamentos o sustancias sensibles, como la insulina, el ácido ascórbico y algunas proteínas; pueden ser usadas como medios de separación de sustancias contaminantes, encapsulación y liberación controlada de productos probióticos o para generar nuevos alimentos de bajo contenido calórico (Dickinson, 1985; Jiao, 2002; Muguet *et al.*, 2001; Rosano, 1997; Takayuki *et al.*, 1993). Las emulsiones múltiples pueden prepararse mediante un método secuencial de dos pasos. En el primer paso se obtiene una emulsión primaria o interna de agua-en-aceite ( $W_1/O$ ); mientras que el segundo paso consiste de la incorporación de la emulsión primaria o interna a una fase acuosa externa ( $W_2$ ) conteniendo emulsificantes hidrofílicos previamente disueltos (Figura 1) (Muguet *et al.*, 2001).

**Estabilidad de las emulsiones:** existen varios factores que afectan la estabilidad de una emulsión  $W_1/O/W_2$ , entre ellos: (a) la migración del emulsionante lipofílico, presente en la formación de la emulsión primaria, a la fase acuosa externa; (b) la concentración del emulsionante hidrofílico secundario, ya que a ciertas concentraciones relativamente elevadas, puede

originarse una inversión de fases de la emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$  a una emulsión sencilla O/W.

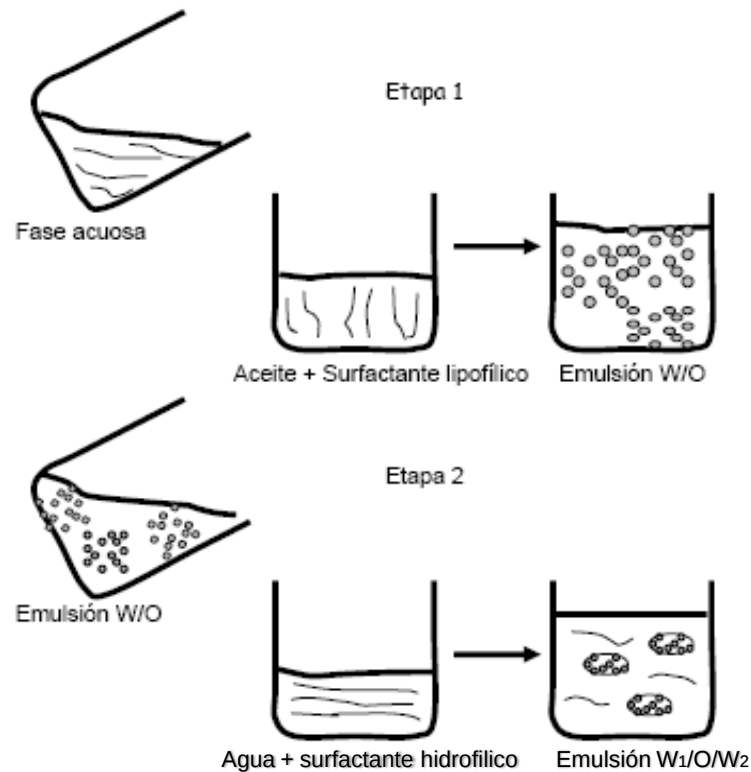


Figura 1. Diagrama esquemático del método de dos etapas para la elaboración de una emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$ .

Fuente: Muguet *et al.*, 2001.

Durante la segunda etapa de formación de las emulsiones  $W_1/O/W_2$ , el uso de emulsificante hidrofílico en concentraciones elevadas, favorece la reducción del tamaño de las gotas de aceite, pudiendo ocurrir una desestabilización de las gotas acuosas internas (Sela *et al.*, 1995; Jager-Lezer *et al.*, 1997) y (c) la migración de agua entre la fases acuosa interna y la fase acuosa externa, que se ve afectada por las magnitudes de los gradientes de presión osmótica entre ambas fases, los cuales a su vez se ven influenciados por la naturaleza y

concentración de los emulsionantes, de la fase oleosa, y de todos los ingredientes que se encapsulan en la fase acuosa interna, o de aquellos que se separan de la fase acuosa externa, así como la adsorción de moléculas en las interfases (Ozer *et al.*, 2000).

El principal problema encontrado al formular emulsiones múltiples estabilizadas con emulsificantes, es el asociado con la formación de películas interfaciales muy poco estructuradas, debido a la estructura química relativamente sencilla de los emulsificantes. Para contrarrestar este problema, es recomendable formular una composición más compleja de las películas interfaciales (interna y externa) de las emulsiones. Lo anterior puede lograrse en la emulsión  $W_1/O$ , utilizando una mezcla de emulsificantes lipodispersables e hidrodispersables, compatibles, que interactúen a través de la interfase, formando efectivamente una película interfacial más gruesa y compleja. Para el caso de la interfase externa, pueden usarse mezclas binarias de biopolímeros con capacidad de formar complejos electrostáticos (i.e. polisacáridos y proteínas), tales que originen la adsorción de una película interfacial gruesa en la interfase externa  $O/W_2$ , que además permita la obtención de gotas de aceite de tamaño sustancialmente mayor al correspondiente a las gotas de agua presentes en la emulsión primaria. El tener una película externa gruesa, formada por complejos biopoliméricos, presenta tres ventajas fundamentales para la estabilización de las emulsiones múltiples: (1) la energía de repulsión entre gotas de emulsión vecinas, debida a efectos estéricos, es mayor que la proporcionada por capas

eléctricas dobles; por lo que la agregación de gotas es reducida; (2) las capas adsorbidas son muy resistentes a la ruptura, por lo que se retardan los efectos de coalescencia, haciendo más estables a las emulsiones y (3) la gran variedad de biopolímeros disponibles, hace posible el diseño de películas interfaciales con composición a la medida; permitiendo ello tener un mayor control sobre los efectos difusivos a través de la interfase (Walstra, 1993).

**Estabilidad por efectos estéricos:** la habilidad de adsorción de un biopolímero en una interfase aceite-en-agua, depende en gran medida de su solubilidad. Para asegurar por una parte la adsorción de moléculas de biopolímeros en la superficie de la gota de aceite y por otra parte, la existencia de un número importante de moléculas de biopolímero en la fase acuosa externa, se han usado copolímeros. Estos últimos, formados por dos fracciones moleculares, una de ellas poco soluble en la fase acuosa continua, capaz de adsorberse fácilmente en la superficie oleosa y la otra, muy soluble en la fase acuosa continua, de tal forma que se proyecta hacia el seno de la fase acuosa externa. Un ejemplo de estos biopolímeros, lo constituyen las proteínas, las cuales pueden adsorberse de muchas maneras, ya sea en su forma nativa, con algunos cambios en su conformación o casi completamente desdobladas. Existen dos mecanismos relacionados con la estabilización estérica proporcionada a las gotas de una emulsión por biopolímeros anfifílicos: 1) cuando la superficie de una gota, aproxima las moléculas protuberantes de biopolímero a otra gotas, el movimiento de estas últimas es restringido, por lo

tanto hay una disminución en la entropía del sistema y un aumento en la energía libre del sistema y 2) cuando la superficie de la otra gota también posee moléculas protuberantes de biopolímeros, la concentración de material macromolecular entre las dos gotas se incrementa a medida que se acercan y cuando las capas de macromoléculas se traslapan se produce un aumento en la presión osmótica causando una fuerte repulsión (Walstra, 1993).

### **3.2.3. Biopolímeros usados como emulsificantes/estabilizantes**

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

**Proteína de lactosuero concentrada (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:  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg),  $\alpha$ -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). 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).

**Carboximetilcelulosa (CMC).** La carboximetilcelulosa es un polisacárido aniónico obtenido por la hidrólisis ácida y posterior alcalinización de la celulosa (Imeson, 1997). Contiene grupos cargados negativamente a valores de pH neutros, por lo que actúa como intercambiador catiónico (Lehninger, 1980). La CMC está compuesta de subunidades de glucosa unidas por enlaces  $\beta$  (1-4). Las propiedades de la CMC pueden variar dependiendo del peso molecular, grado de polimerización, interacción con el resto de los ingredientes de los alimentos, y otras condiciones. La viscosidad de dispersiones acuosas de CMC

es inversamente proporcional a la temperatura. La exposición prolongada a altas temperaturas puede degradar irreversiblemente la estructura de la CMC y afectar su viscosidad en el enfriamiento. La viscosidad también puede ser afectada por el pH, dependiendo del rango; condiciones ácidas ( $\text{pH} < 3$ ), resultan en un incremento de la viscosidad y precipitación de los radicales ácidos libres de la CMC (Imeson, 1997). La CMC es usada ampliamente en la industria de alimentos, forma dispersiones claras, se disuelve rápidamente en agua fría o caliente, actúa como ligador de humedad, estabiliza emulsiones, y mejora la viscosidad y textura de muchos productos. Además, la CMC es un producto no calórico usado para desarrollar alimentos dietéticos (Bayarri *et al.*, 2009). La carboximetilcelulosa forma complejos con proteínas a bajo pH (Asano, 1970); su carácter aniónico explica la reacción con las proteínas anfóteras a  $\text{pI}$  y evita su precipitación durante el tratamiento térmico o el almacenamiento. Cuando tiene lugar la reacción CMC-proteínas, se forma un complejo soluble y permite así la preparación de numerosas bebidas y salsas (Linden y Lorient, 1994). Los complejos de CMC-caseína son estables bajo calentamiento y presentan un ligero descenso en la viscosidad. Sin embargo, estos sistemas son afectados por agitación, lo que trae como consecuencia el descenso de la viscosidad (Phillips y Williams, 2000). La CMC puede ser usada en la elaboración de yogur para beber, en una concentración de 0.5 % (p/p) y un pH de 4.3-4.4 (Imeson, 1997; Tamime y Robinson, 1999). Se requiere que la CMC se añada después de la fermentación; si se añade antes de la

fermentación, la aglomeración de proteínas, la separación de lactosuero y otros defectos son más propensos (Imeson, 1997).

**Complejos biopoliméricos.** La estabilidad de una emulsión múltiple puede ser mejorada mediante la adición de diferentes biopolímeros en la fase acuosa externa, tales como proteínas y polisacáridos; de los cuales, los primeros exhiben mayor adsorción en la interfase de emulsiones múltiples y los segundos tiene propiedades espesantes y de retención de agua (Dickinson, 1993). Las proteínas y polisacáridos presentes en una formulación pueden interaccionar de formas diferentes, según sus respectivas estructuras químicas, temperatura y el resto de la composición del alimento (Dickinson, 1995). Estas interacciones pueden ser atractivas o repulsivas, débiles o fuertes y específicas o no específicas. La formación de complejos proteína-polisacárido estables frente a diferentes condiciones del medio (pH, contenido de sales y de azúcar, etc), requiere de la formación de enlaces covalentes, normalmente tras tratamiento térmico controlado bajo condiciones de actividad de agua baja. Interacciones proteína-polisacárido fuertes se generan mediante la formación de enlaces covalentes o de interacciones electrostáticas atractivas. Pueden ocurrir interacciones atractivas fuertes entre proteínas cargadas positivamente ( $\text{pH} < \text{punto isoelectrico}$ ) y polisacáridos aniónicos, en solución acuosa, causando una separación de fases espontánea, un sobrenadante rico en solvente y un precipitado rico en complejos biopoliméricos. Dichos complejos biopoliméricos tienen la capacidad de formar y estabilizar emulsiones mediante

mecanismos estéricos y electrostáticos. Por ejemplo, un polisacárido sulfatado altamente cargado (dextrano) puede formar un complejo soluble con la proteína globular albúmina sérica bovina (BSA) a  $\text{pH} > \text{pI}$ ; pero esta situación no se puede generalizar a polisacáridos con grupos carboxilato a valores de  $\text{pH} > \text{pI}$  (Dickinson, 1995). Los complejos proteína-polisacárido covalentes, incorporados al sistema a emulsionar antes de la homogeneización (emulsificación), actúan como emulsionantes, formando películas interfaciales gruesas, en las que las macromoléculas del polisacárido se extienden hacia la fase continua de emulsiones O/W, impartiendo estabilidad mediante fuertes repulsiones estéricas. Estas emulsiones requieren una menor concentración total de biopolímeros y presentan un comportamiento mejorado frente a variables como cambios de temperatura, presión, pH, etc. (McClements, 2004c).

### **3.3. Monoglicéridos**

Los monoglicéridos consisten de una cadena de ácido graso esterificada a un glicerol; los grupos hidroxilos libres del glicerol les proporcionan sus características hidrofílicas. La cadena de ácido graso es esterificada en el tercer grupo hidroxilo de la molécula de glicerol. Debido a la presencia de porciones hidrofílicas y lipofílicas en su estructura, los monoglicéridos muestran actividad superficial, disminuyen la tensión interfacial entre dos fases (agua-aceite) y estabilizan este tipo de emulsiones contra la separación de fases (Boyle, 1997). Los monoglicéridos son promotores de la cristalización de grasas

y son usados como surfactantes en emulsiones, espumas y suspensiones (Krog y Larsson, 1968).

Los monoglicéridos son promotores de la cristalización de grasas y son usados como surfactantes en emulsiones, espumas y suspensiones (Krog y Larsson, 1968). En alimentos como pan y pasteles, los monoglicéridos incrementan la vida de anaquel, ya que previenen la retrogradación del almidón mediante la formación de complejos monoglicérido-amilosa (Sagalowicz *et al.*, 2006). La funcionalidad de los monoglicéridos depende no sólo de sus propiedades surfactantes, sino también de sus características físicas, como; comportamiento cristalino, solubilidad en aceites y grasas y su interacción con el agua (Boyle, 1997).

### **3.3.1. Mesofases de monoglicéridos**

Una característica intrigante de los monoglicéridos es su capacidad para formar varias estructuras (polimorfismo), conocidas como mesofases, en contacto con el agua (Sagalowicz *et al.*, 2006). El mesomorfismo de sistemas de monoglicéridos en agua, fue descrito por primera vez por Marsden y Mc Bain en 1948, pero sus interpretaciones acerca de estas observaciones no fueron correctas (Krog y Larsson, 1968). Las mesofases tienen características de dos estados físicos simultáneamente; por ejemplo, semi-líquido/semi-sólido (Boyle, 1997). La formación y comportamiento de las mesofases de monoglicéridos dependen de la concentración del agua y del monoglicérido, estructura química del monoglicérido y de las condiciones ambientales (temperatura, agitación,

contenido de sales y presencia de otras moléculas en el sistema) (Sagalowicz *et al.*, 2006; Sein *et al.*, 2002).

Las mesofases que pueden formarse son: lamelar cristalina o coagel, lamelar gel, lamelar líquido-cristalina, fase cúbica, hexagonal y micelar invertida; las cuales difieren en estructura y propiedades físicas (Boyle, 1997; Sein *et al.*, 2002). Una condición importante para la formación de mesofases es la temperatura a la cual la solubilidad del emulsificante se incrementa de manera importante, llamada punto o temperatura Krafft ( $T_{\text{Krafft}}$ ). Arriba de esta temperatura la formación de micelas puede ocurrir; debajo de esa temperatura una estructura llamada  $\alpha$ -gel puede ser formada. La estructura  $\alpha$ -gel presenta muy baja solubilidad en agua, no está en equilibrio termodinámico y tiende a cambiar a una dispersión de cristales en agua ( $\beta$ -coagel). Estas últimas consisten de bicapas de lípidos y moléculas de emulsificantes con cadenas hidrocarbonadas, separadas por una capa ligera de agua. Mientras que una fase líquido cristalina lamelar es formada en agua a una temperatura cercana a 55 °C ( $T_{\text{Krafft}}$ ), una fase  $\alpha$ -gel cristalina es formada debajo de la temperatura ( $T_{\text{Krafft}}$ ) (Figura 2). La habilidad para incorporar agua en ambas fases es grandemente favorecida por la adición de pequeñas cantidades de surfactantes iónicos. Bajo ciertas condiciones, la fase  $\alpha$ -gel metaestable puede ser mantenida a temperatura ambiente hasta por varios meses (Heertje *et al.*, 1998). La transición térmica de las fases líquido-cristalinas, cuando son aplicadas a productos alimenticios, puede ser estudiada por técnicas de

Reología Dinámica o Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), para comprender la forma en que influye sobre las propiedades de los sistemas alimenticios (Owen *et al.*, 1992; Heertje *et al.*, 1998; Sein *et al.*, 2002; Ojijo *et al.*, 2004).

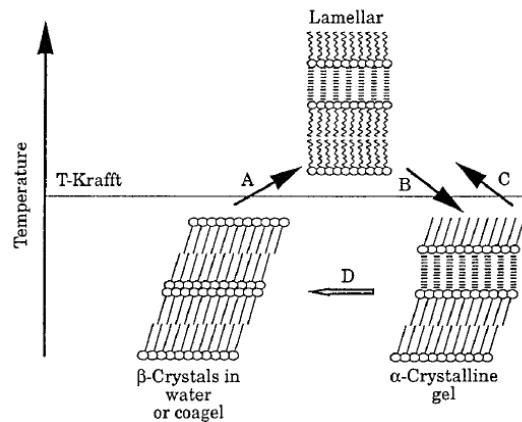


Figura 2. Transiciones (A, B, C) de fases líquido cristalinas de monoglicéridos, sobre y por debajo de la temperatura Krafft (D).

Fuente: Heertje *et al.*, 1998.

### 3.3.2. Estabilidad de las fases líquido cristalinas

La fase  $\alpha$ -gel no está en equilibrio termodinámico y tiende a cambiar a una dispersión de cristales en agua ( $\beta$ -coagel). Cuando la fase  $\alpha$ -gel es enfriada puede ser mantenida a temperatura ambiente por varios meses. Para retardar el proceso de transición de fases se añaden compuestos como surfactantes o biopolímeros. La interacción electrostática entre las proteínas añadidas y la bicapa en la fase lamellar, estabiliza fuertemente el estado  $\alpha$ -gel (Sagalowicz *et al.*, 2006; Heertje *et al.*, 1998).

### 3.3.3. Aplicaciones

Las fases líquido cristalinas de monoglicéridos pueden ser usadas para proteger moléculas de la degradación química, como nutrimentos, medicamentos, cosméticos y detergentes; solubilizar medicamentos; controlar la liberación de aromas en alimentos (Sagalowicz *et al.*, 2006); estructurar productos alimenticios (Heertje *et al.*, 1998; Westerbeek *et al.*, 1989) e incrementar el rendimiento de la reacción de Maillard (Vauthey *et al.*, 2000). Debido a su comportamiento polimórfico las fases líquido cristalinas de los monoglicéridos pueden ser usadas como sustitutos grasos en productos lácteos bajos en grasa, ya que proveen mejores características que los sustitutos grasos no lipídicos (Giese, 1996). Las fases  $\alpha$ -gel y  $\beta$ -coagel pueden utilizarse para el desarrollo de alimentos bajos en calorías. La fase  $\alpha$ -gel muestra excelentes propiedades espumantes y su aplicación en productos aereados como cremas batidas, es óptima. Por su parte, la fase  $\beta$ -coagel es aplicada en productos que requieren firmeza, como la mantequilla; su uso en concentraciones de 3 % p/p, permite formular margarina libre de grasa (Heertje *et al.*, 1998; Doerfert, 1962).

Las fases líquido cristalinas son introducidas durante el proceso de elaboración de los productos alimenticios y al interactuar con los diferentes componentes del alimento generan mejores propiedades en el alimento, como volumen, textura y larga vida de anaquel (Doerfert, 1962).

### **3.4. Reología**

La Reología es definida como la ciencia de la deformación y el flujo de los materiales; estudia y formula leyes de comportamiento mecánico de los materiales y es aplicada a todo tipo de materiales, desde gases hasta sólidos (Muller, 1973; Steffe, 1996). La Reología estudia la relación entre fuerzas ejercidas sobre un material y la deformación resultante, como una función del tiempo (Rosenthal, 2001); esto es, 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).

#### **3.4.1. Propiedades reológicas de los alimentos**

Las propiedades reológicas de los alimentos pueden involucrar pequeños o grandes esfuerzos. Esfuerzos pequeños se usan cuando se requiere un porcentaje de deformación bajo para romper la muestra; se aplican durante las pruebas fundamentales. Esfuerzos grandes se usan para deformar una muestra hasta el punto donde el cambio estructural permanece (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005). Entre las pruebas en las que se aplican esfuerzos pequeños se encuentran las oscilatorias, las de relajación y aquellas de determinación del rendimiento del esfuerzo. Las pruebas oscilatorias son pruebas reológicas dinámicas en las que la deformación, velocidad de deformación y el esfuerzo aplicado oscilan sinusoidalmente con el tiempo a una

frecuencia angular (Rosenthal, 2001) La ventaja principal de estas pruebas consiste en la determinación de la contribución de los componentes viscoso ( $G''$ ), elástico ( $G'$ ) y factor de cedencia ( $\tan \delta = G''/G'$ ) a las propiedades mecánicas de un alimento, en un intervalo de escalas de tiempo.

El módulo de almacenamiento ( $G'$ ) está asociado con la habilidad de un alimento para almacenar energía, mientras su integridad estructural se mantiene (Tunick *et al.*, 1993). El módulo de pérdida ( $G''$ ) es una medida de la habilidad del alimento para disipar energía e indicativo de la ruptura de la estructura (Tunick *et al.*, 1993), y está asociado a su comportamiento viscoso (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005). 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).

La reología es útil en la ciencia de los alimentos para: (a) inferir en la consistencia de los diferentes productos, (López, 2003), (b) conocer la estructura de cualquier componente en el alimento, (c) el control de los procesos de elaboración de los productos, (d) el diseño de maquinaria en función a los materiales que se involucran, (e) control de calidad del producto final, (f) evaluación de textura de los alimentos correlacionados con datos de

evaluación sensorial y a la determinación de la funcionalidad de ingredientes en productos en desarrollo (Muller, 1973).

La reología se ha usado para caracterizar: (a) yogur el cual se puede llevar a cabo por pruebas de mediciones de flujo oscilatorias (Steventon *et al.*, 1991). La adición de frutas e hidrocoloides como la pectina, modifica las propiedades reologicas, sensoriales o de composición en el yogur, las cuales pueden ser caracterizadas mediante reología (Windhab, 1991), (b) geles como gelatinas, salchichas, surimi y jaleas de frutas, entre otros, mediante reologia se determina la fuerza del gel, su estructura, propiedades viscoelasticas y de flujo y (c) emulsiones como cremas suaves, helado, mantequilla, margarina, mayonesa, aderezo para ensaladas y emulsiones cárnicas, a las cuales se les determina sus propiedades viscoelásticas y de flujo (Barbossa-Cánovas *et al.*, 1996).

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Materiales**

Los emulsificantes usados para preparar la emulsión interna fueron: (a) mono y diglicéridos esterificados con ácido diacetiltartárico (Panodan<sup>®</sup> SDK DATEM, Danisco, S. A. de C. V., México) como emulsificante hidrofílico (EH) y (b) ricinoleato de propilenglicol (GRINDSTED<sup>®</sup> PGPR 90, Danisco S. A. de C. V., México) como emulsificante lipofílico (EL). Como fase oleosa de estas emulsiones, se utilizó grasa láctea (GL, 99.95 % p/p de grasa, Cytecsa, S. A. de C. V., México).

Los biopolímeros incorporados en la fase acuosa externa de las emulsiones múltiples fueron: carboximetilcelulosa (CMC, CMC<sup>®</sup> CEROL 50 000, Grupo Dermat, S. A. de C. V. México) y proteína de lactosuero concentrada (WPC) Hilmar 8000 (Hilmar ingredients 8000, Hilmar, California 95324 EUA).

El emulsificante usado para elaborar la fase líquido cristalina fue el monoestearato de sorbitán (Canamex S. A. de C. V.). Como co-surfactante se utilizó mono y diglicéridos esterificados con ácido diacetiltartárico (CO, PANODAM<sup>®</sup> 150 K DATEM, Danisco, S. A. de C. V., México).

Los materiales usados para la preparación de los yogures fueron leche descremada en polvo (Lactomix, DILAC, S. A. de C. V., México), leche entera en polvo (Lactomix, DILAC, S. A. de C. V., México) y cultivos lácticos liofilizados MY800 LYO (Danisco S. A. de C. V., México).

## **4.2. Equipos**

Centrifuga con control de temperatura (PR-J Centrifuge, DAMON/IEC Div IEC, MA. EUA); reómetro Physica MCR 301 Dynamic Shear Rheometer (Anton Paar Messtechnik, Stuttgart, Alemania) y control de temperatura Physica TEK 150P (Physica Messtechnik, Stuttgart, Alemania); calorímetro diferencial de barrido (DSC, TA Instruments 2010, acoplado con un sistema de enfriamiento RCS, New Castle DE, EUA); homogenizador (Ultra-turrax® T50 basic IKA Works, Inc. Wilmington, EUA); microscopio óptico (Olympus BX45, Olympus Optical Co., Tokio, Japón) equipado con un analizador de imágenes (cámara digital y software Imagen-Pro Plus versión 4.1) (Media Cybernetics Inc. EUA); potenciómetro (Hanna Instruments®, HI98240; pH/°C Meter R-4-45 FC231D, Padova, Italia); equipo analizador de tamaño de partícula, y gota (Malvern serie 2600, Malvern Instruments, Worcestershire, RU) y agitador caframo (CAFRAMO modelo RZR1, Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, EUA.).

## **4.3. Preparación de los geles**

Cinco gramos de monoestearato de sorbitán y 100 mg de CO se dispersaron en agua destilada, adicionando esta última hasta ajustar un peso de 94 g; posteriormente, el pH de la dispersión se ajustó a 6.11 incorporando 6 mL de

HCl 0.1 N. La dispersión de emulsificantes resultante se mezcló usando un agitador caframo (300 rpm, 30 min) a una temperatura de  $58 \pm 1$  °C; esta última mantenida con un baño María; posteriormente la dispersión de emulsificantes se enfrió a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C) y refrigeró a  $5 \pm 0.1$  °C durante 12 h, obteniéndose una estructura de gel del emulsificante monoestearato de sorbitán (G). Al término de este tiempo de almacenamiento, se determinó el comportamiento térmico y reológico del gel.

#### **4.4. Comportamiento térmico del gel**

Se colocaron 10 mg de G en una charola de aluminio sellada herméticamente; como referencia se utilizó una charola de aluminio vacía y sellada. Las muestras se colocaron en el calorímetro diferencial de barrido, previamente calibrado con Indio (p.f. 156.6 °C;  $\Delta H_m = 25.8$  J/g) y se calentaron en un rango de temperaturas que variaron de 20 a 70 °C, con una velocidad de calentamiento de 3.5 °C/min. Posteriormente, las muestras se enfriaron hasta 20 °C aplicando un gradiente de enfriamiento de 1.5 °C/min; el flujo de nitrógeno usado fue de 50 mL/min. Mediante el software Universal Analysis (TA Instruments, New Castle, DE, EUA), se determinó el valor de la temperatura Kraft ( $T_{kraft}$ ) del monoestearato de sorbitán; esta temperatura es aquella en el inicio del pico correspondiente a la transición térmica. Para la determinación de la  $T_{kraft}$ , se dibujó la línea tangente en el lado de baja temperatura del pico, en el punto de la mayor tasa de cambio, y se determinó la intersección de dicha tangente con la línea base (Heertje *et al.*, 1998). El cambio de entalpía durante el

calentamiento ( $\Delta H_h$ ), indicado por el flujo de calor positivo (transición endotérmica) y el cambio de entalpía de enfriamiento ( $\Delta H_c$ ), indicado por el flujo de calor negativo (transición exotérmica), se calcularon a partir de las superficies de los picos correspondientes. La extensión de la transición de la fase  $\alpha$ -gel a fase  $\beta$ -coagel, se estimó a partir de los valores de la relación de los cambios de entalpía durante el calentamiento y el enfriamiento ( $\Delta H_h/\Delta H_c$ ) (Heertje *et al.*, 1998).

#### **4.5. Emulsión múltiple agua-en-aceite-en-agua**

##### **4.5.1. Preparación**

Se preparó una emulsión múltiple (EM) usando el método de dos etapas propuesto por Lobato-Calleros *et al.* (2006). En la primera etapa, se preparó una emulsión interna ( $W_1/O$ ), cuya composición se muestra en el Cuadro 2 (Lobato-Calleros *et al.*, 2008), mediante la adición gota a gota de la fase acuosa interna ( $W_1$ ) a la fase oleosa (O); esta última mantenida a una temperatura de 43 °C usando un baño de hielo. La incorporación de ambas fases se logró usando el homogenizador Ultra-turrax® T50 basic, operado a 6400 rpm durante 5 min. En la segunda etapa, la emulsión interna ( $W_1/O$ ) fue reemulsificada en una fase acuosa externa ( $W_2$ ) conteniendo 4.5 % p/p de WPC y 0.5 % p/p de CMC. La fase  $W_2$  se preparó previamente incorporando los biopolímeros a agua destilada ( $20 \pm 2$  °C) mediante agitación suave hasta su completa dispersión, después de lo cual la dispersión se mantuvo bajo refrigeración ( $4 \pm 1$ °C) durante 24 h para la hidratación completa del WPC y

CMC. La emulsión interna se incorporó gota a gota a la fase acuosa externa ( $W_2$ ) mantenida a una temperatura de 43 °C usando un baño de hielo) (Jiahong *et al.*, 2006), mediante el homogenizador Ultra-turrax® T50 basic, operado a 4000 rpm durante 5 min. La emulsión múltiple estuvo constituida por 20 % (p/p) de fase dispersa consistente de la emulsión interna ( $W_1/O$ ) y 80 % (p/p) de fase acuosa externa ( $W_2$ ). La emulsión múltiple se preparó por triplicado.

**Cuadro 2. Formulación de la emulsión interna ( $W_1/O$ ).**

| Componente                     | Fase acuosa ( $W_1$ ) | Fase oleosa (O) |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------|
|                                | %                     | %               |
| Agua destilada                 | 28.3                  | -               |
| Emulsificante hidrofílico (EH) | 1.6                   | -               |
| Carboximetilcelulosa® (CMC)    | 0.1                   | -               |
| Grasa láctea® (GB)             | -                     | 63.6            |
| Emulsificante lipofílico (EL)  | -                     | 6.4             |

EH: mono y diglicéridos esterificados con ácido diacetiltartárico, EL: Ricinoleato de propilenglicol.

#### 4.5.2. Determinación de tamaño de gota

El diámetro lineal ( $D_{1,0}$ ) de los glóbulos acuosos presentes en la emulsión interna ( $W_1/O$ ) se determinó después de 1 y 5 h de su preparación, con el fin evaluar su estabilidad. Se tomaron 2 mL de emulsión  $W_1/O$ , mantenida a 40 °C en un baño de agua para evitar la solidificación de la grasa láctea, los cuales se diluyeron adicionando 20 mL de grasa láctea fundida (Sandoval-Castilla *et al.*, 2006) y observaron bajo un microscopio óptico (Olimpus BX45) usando un dispositivo de microfotografía U-TV1 X. Se verificó visualmente la formación de

la emulsión  $W_1/O$  y se tomaron fotografías de la misma en distintas zonas de manera aleatoria, con una cámara digital Camedia C-3030 (Olympus Optical Co. LTD). Las microfotografías se utilizaron para determinar el diámetro medio de las gotas de agua mediante un programa de análisis de imágenes (Software ImagenJ Setup, versión 1.43).

Para la evaluación de la morfología de las gotas de grasa de la emulsión múltiple ( $W_1/O/W_2$ ), se siguió un procedimiento similar al usado para la emulsión interna, usando agua destilada como medio de dilución (Garti, 1997). Se determinó el diámetro volumétrico-superficial medio ( $D_{3,2}$ ) de las gotas  $W_1/O$ , usando un analizador de tamaño de partícula y gota Malvern serie 2600. Adicionalmente se determinó la tasa de coalescencia de la emulsión múltiple, para lo cual se mantuvo la emulsión  $W_1/O/W_2$  bajo refrigeración ( $4 \pm 1$  °C) y analizaron variaciones en el  $D_{3,2}$  de las gotas de grasa después de 1 h de su elaboración y en intervalos de 8 h, durante 24 h.

La tasa de coalescencia se define como el tiempo que tarda la fase dispersa en aumentar su tamaño al unirse unas gotas con otras y permite conocer el grado de estabilidad de la emulsión. La constante de coalescencia (C) se determinó a partir de la variación del tamaño de las gotas de grasa con respecto al tiempo, mediante las ecuaciones 1 y 2:

$$N_t = N_0 \exp (-Ct) \quad \text{..... (Ecuación 1)}$$

Donde

$$N_t = \frac{6\phi 10^{12}}{\pi (D_{3,2} t)^3} \dots\dots\dots \text{(Ecuación 2)}$$

En estas ecuaciones:  $N_t$  es el número de gotas de la fase dispersa a un tiempo  $t$ ; ( $N_0$ ) es el número inicial de gotas de fase dispersa 1 h después de elaborada la emulsión;  $\phi$  es la fracción volumétrica de la fase dispersa (0.3 para este caso) y  $D_{3,2}$  es el diámetro volumétrico-superficial medio ( $\mu\text{m}$ ) a un tiempo  $t$  (s).

Se graficó  $\ln(N_t)$  contra tiempo (s), obteniendo una recta, cuya pendiente correspondió a los valores de la constante de coalescencia  $C$  ( $\text{s}^{-1}$ ) de la emulsión y a partir de este valor se clasificó la emulsión de acuerdo a lo sugerido por Sherman (1968):  $<10^{-11}$  (muy estable),  $10^{-6}$ - $10^{-11}$  (estable) y  $>10^{-6}$  (inestable). Las determinaciones descritas en este apartado se llevaron a cabo por triplicado.

#### **4.6. Variaciones de yogures y procedimiento de preparación**

Se prepararon dos yogures control: uno completo en grasa (YCG), conteniendo 30 g de grasa láctea/L y 120 g de sólidos totales (ST)/L, y uno bajo en grasa (YBG) conteniendo 10 g de grasa láctea/L y 100 g de ST/L. Adicionalmente se prepararon tres variaciones más de yogures bajos en grasa (10 g de grasa/L y 100 g de ST/L) incorporando EM y/o G a la leche usada para su elaboración: yogur conteniendo 71.43 g de EM/L (YEM), yogur conteniendo 120 g de G/L (YG) y yogur conteniendo 35.71 g de EM/L y 60 g de G/L (YEMG).

Las variaciones de yogur se prepararon por triplicado, a partir de lotes de 5 L de leche rehidratada. Para estandarizar el contenido graso y de sólidos en la leche rehidratada, de acuerdo a lo establecido para cada variación de yogur, se usaron leche descremada en polvo (0.01 % de grasa láctea) y/o leche entera en polvo (2.88 % de grasa láctea) (Cuadro 3).

**Cuadro 3. Cantidades de de leche entera y/o descremada en polvo usadas para preparar la leche rehidratada utilizada para elaborar las variaciones de yogur.**

| <b>Código del yogur</b> | <b>Leche entera en polvo (g/L)</b> | <b>Leche descremada en polvo (g/L)</b> |
|-------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|
| YCG                     | 114.05                             | 5.95                                   |
| YBG                     | 37.79                              | 62.21                                  |
| YEM                     | -                                  | 86.79                                  |
| YG                      | 80.39                              | 13.61                                  |
| YEMG                    | 83.74                              | 6.65                                   |

La rehidratación de la leche se llevó a cabo con agua purificada a una temperatura de  $30 \pm 1$  °C, aplicando agitación mediante un equipo caframo (300 rpm, 10 min), hasta obtener una dispersión homogénea; esta última se almacenó bajo refrigeración ( $4 \pm 1$  °C) durante 24 h, con la finalidad de permitir una adecuada hidratación de las lactoproteínas. Después de este periodo, a la leche se le adicionó azúcar refinada en una concentración de 6 % (p/v).

La leche se calentó a  $85 \pm 1$  °C durante 20 min, usando un baño de agua y aplicando agitación constante mediante un agitador de vidrio. Posteriormente la leche se enfrió con agua helada ( $4 \pm 1$  °C) hasta alcanzar una temperatura de  $45 \pm 1$  °C. A esta temperatura, los lotes de leche destinados para la preparación de los yogures YEM y YG, se incorporaron con la EM y el G, respectivamente, mediante agitación mecánica usando un homogenizador Ultra-turrax® T50 basic, operado a 3400 rpm durante 2 min. Para el caso del yogur YEMG, se incorporó primero el G mediante agitación mecánica (3400 rpm, 2 min) y posteriormente se agregó la EM bajo las mismas condiciones de agitación.

Los cultivos lácticos se adicionaron a la leche en una concentración de 0.03 g/L y la fermentación se llevó a cabo a una temperatura de  $45 \pm 1$  °C en una estufa de incubación, hasta alcanzar una acidez de 85 °D (4 a 5 h) y la formación del gel. Al finalizar la fermentación, los geles de yogur fueron almacenados a  $4 \pm 1$  °C en una cámara de refrigeración. Los yogures, después de 24 h de elaborados, se batieron usando un agitador caframo (300 rpm, 3 min). Finalmente, los yogures se almacenaron a  $4 \pm 1$  °C en una cámara de refrigeración, hasta su caracterización. Para la preparación de los yogures se usó un diseño experimental completamente aleatorio.

#### **4.7. Análisis químico proximal de los yogures**

Después de 3 días de preparados, las variaciones de yogur se sometieron por triplicado a determinaciones de sus contenidos de: proteína cruda (método de

Kjeldahl), grasa (método de Gerber) y humedad (método de estufa). Se determinó la acidez de los yogures, por triplicado, después de 14 días de su elaboración, usando el método de titulación (AOAC, 1995).

#### **4.8. Prueba de sinéresis de los yogures**

Los yogures después de 2 y 14 días de elaborados fueron sujetos a determinaciones de sinéresis de acuerdo al método propuesto por Kalab, (1998). El porcentaje de sinéresis de las muestras se calculó usando la ecuación 3:

$$\% \text{ Sinéresis} = \frac{P_{mo} - P_{mc}}{P_{mo}} \times 100 \quad \text{.....Ecuación 3}$$

Donde:

$P_{mo}$  = peso de la muestra original (40 g) y  $P_{mc}$  = peso de la muestra centrifugada y decantada.

#### **4.9. Análisis reológico**

Los yogures, el gel y la emulsión múltiple se sometieron a pruebas oscilatorias dinámicas en un reómetro Physica MCR 301. La geometría usada fue de cono-plato (CP50-1-SN5550), en la cual el cono rotatorio tuvo 50 mm de diámetro y un ángulo de 1°. La distancia entre cono y plato se fijó en 0.051 mm. Muestras de yogures (~3.8 mL) se colocaron cuidadosamente en el plato, dejándolas reposar por 20 min para que la estructura se recuperara; posteriormente se sometieron a barridos de amplitud para determinar la región viscoelástica lineal, manteniendo una temperatura de  $5 \pm 0.1$  °C y aplicando una deformación de

0.01 a 50 %, a una frecuencia de 1 Hz (Lobato-Calleros *et al.*, 2004). Mediante el Software RheoPlus/32 V2.62, se obtuvieron los valores del módulo de almacenamiento ( $G'$ ), módulo de pérdida ( $G''$ ) y factor de cedencia ( $\tan \delta = G''/G'$ ) de las variaciones de yogur. También los yogures, G y EM fueron sometidos a barridos de frecuencia a una deformación de 0.09 y 0.02 %, respectivamente, y una frecuencia de 0.01 a 100 Hz. Adicionalmente al yogur se le determinó su comportamiento de flujo aplicando velocidades de cizalla de  $1E^{-3}$  a  $1E^{+3}$  1/s. Mediante el Software RheoPlus/32 V2.62, se determinó el modelo de flujo al cual se ajustaron mejor los datos de las curvas de viscosidad de las variaciones de yogur. Todas las mediciones se llevaron a cabo por triplicado, en los periodos de post-elaboración de 2, 7 y 14 días.

#### **4.10. Evaluación sensorial**

Para realizar esta evaluación, yogures recién preparados se incorporaron con 5 mL de saborizante artificial sabor fresa (McCormick® de México S. A. de C. V) y 0.15 mL de colorante artificial color rojo (McCormick® de México S. A. de C. V). Para lograr la dispersión del colorante y del saborizante se aplicó agitación mecánica usando un agitador caframo (300 rpm, 2 min). Posteriormente, los yogures se almacenaron a  $4 \pm 1$  °C en una cámara de refrigeración durante 7 días para que recuperaran su estructura. Después de este periodo los yogures fueron evaluados por 10 consumidores frecuentes no entrenados (3 hombres y 7 mujeres, de edades entre 25 y 30 años), todos estudiantes de la Universidad Autónoma Chapingo. A cada consumidor participante se le proporcionó, en

orden aleatorio, muestras de 15 mL de las diferentes variaciones de yogur (4 °C), contenidas en pequeños vasos de plástico codificados con números aleatorios de tres dígitos y se les solicitó que indicarán los atributos que percibían en los yogures. A partir de los resultados obtenidos de esta evaluación y con base en el estudio realizado por Isleten y Karagul-Yuceer (2006), se seleccionaron los atributos a evaluar: viscosidad, cremosidad, sabor, aroma, acidez, apariencia, sinéresis, firmeza, granulosis y sabor residual.

Posteriormente los yogures se sometieron a una prueba de aceptabilidad global y por atributos, en la que participaron 60 consumidores no entrenados (32 mujeres y 28 hombres, de edades entre 20 y 30 años), todos estudiantes de la Universidad Autónoma Chapingo. A cada consumidor participante se le proporcionó, en orden aleatorio, muestras de 15 mL de las diferentes variaciones de yogur (4 °C), contenidas en pequeños vasos de plástico codificados con números aleatorios de tres dígitos y se les solicitó que indicaran el grado de aceptabilidad global y de los atributos a evaluar, usando 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 (Meilgaard *et al.*,1991).

#### **4.11. Análisis de datos**

El diseño experimental fue completamente al azar (DECA) y los datos obtenidos de composición química, sinéresis y comportamiento reológico, se sometieron a análisis de varianza de clasificación simple ( $p \leq 0.05$ ) y en los casos pertinentes a comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Los datos de la evaluación sensorial se sometieron a análisis de varianza usando un diseño de bloques completos al azar. La significancia fue establecida en  $p \leq 0.05$  (Rendón, 1998). El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS versión 9 en español (Instituto SAS, 2002).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Transición térmica del gel

La figura 3 muestra el termograma de calentamiento y enfriamiento del gel de monoestearato de sorbitan después de 1 día de elaborado, en donde el flujo de calor positivo indica una transición endotérmica de los cristales de monoestearato de sorbitan a la fase lamelar; mientras que los valores del flujo de calor negativo muestran una transición exotérmica del monoestearato de sorbitan de la fase lamelar a la fase  $\alpha$ -gel (Heertje *et al.*, 1998). La temperatura de transición ( $T_{\text{krafft}}$ ) del gel de monoestearato de sorbitan fue de  $58.15 \pm 0.0$  °C. Cuando los cristales de los monoglicéridos en dispersión acuosa se calientan a la temperatura Krafft se forma una fase lamelar y al enfriarse por debajo de esta temperatura se formará una fase  $\alpha$ -gel (Heertje *et al.*, 1998). Con base en el valor de temperatura Krafft determinado, para la subsecuente formación de la fase  $\alpha$ -gel, dispersiones de monoestearato de sorbitan se calentaron a  $58.3 \pm 0.1$  °C.

El gel de monoestearato de sorbitan presentó una entalpía de calentamiento  $\Delta H_c = 2.15 \pm 0.1$  J/g y una entalpía de enfriamiento  $\Delta H_e = 2.13 \pm 0.0$  J/g; por lo tanto, el índice de coagel fue igual a  $1.01 \pm 0.0$ ; indicando este valor que el gel se encontró predominantemente en la fase polimórfica  $\alpha$ -gel. El análisis de la

presencia de  $\alpha$ -gel y/o coagel está basado en la diferencia del calor contenido en cada una de las fases. Para una fase  $\alpha$ -gel pura la relación de los cambios de entalpía cuando se calienta ( $\Delta H_c$ ) y se enfría ( $\Delta H_e$ ) ( $\Delta H_c/\Delta H_e$ ) es igual a 1. Para una fase coagel pura esta relación es aproximadamente igual a 2. La relación  $\Delta H_c/\Delta H_e$  es conocida como índice de coagel y puede presentar valores que varían entre 1 y 2 (Heertje *et al.*, 1998).

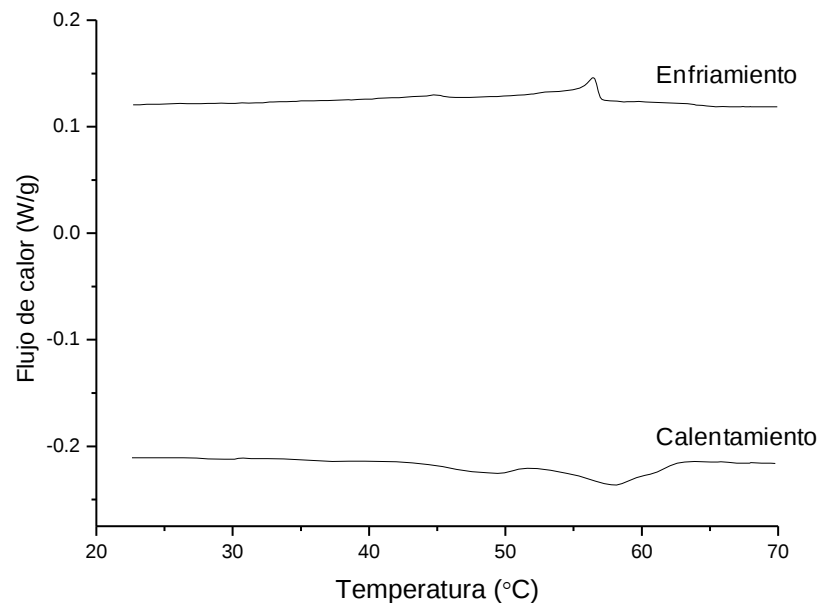


Figura 3. Termograma del gel de monoestearato de sorbitan sujeto a régimen de calentamiento y enfriamiento, mediante calorimetría diferencial de barrido.

El monoestearato de sorbitán presenta en general, un comportamiento similar en la formación de fases líquido cristalinas al que muestra el monoestearato de glicerol (monoglicérido) (Benson, 1987; Friberg y Larsson, 1997). Stauffer (1997) estudió un diagrama de fases del monoestearato de glicerol e informó, que cuando la dispersión acuosa de este emulsificante (conteniendo de 40 a

99 % de agua) es calentada en un intervalo de temperaturas de 55 a 57 °C y posteriormente enfriada a temperatura ambiente se forma una fase  $\alpha$ -gel.

## **5.2. Propiedades reológicas del gel**

### **5.2.1. Barrido de amplitud**

El gel de monoestearato de sorbitan es un material viscoelástico, por lo que su comportamiento reológico puede ser descrito mediante dos parámetros: el módulo de almacenamiento ( $G'$ ), el cual es una medida de la naturaleza elástica de este material y el módulo de pérdida ( $G''$ ), el cual es una medida de la naturaleza viscosa de este material (Penna *et al.*, 2001; Mezger, 2002). La figura 4 muestra la variación de los valores de los módulos  $G'$  y  $G''$  del gel en función de la deformación aplicada (0.01 a 100 %). La región de comportamiento viscoelástico lineal del gel, en la que los valores de  $G'$  y  $G''$ , fueron independientes de la deformación, comprendió hasta una deformación de 0.09 %. Los valores de  $G'$  y  $G''$  en esta zona fueron de 1140.00 y 41.63 Pa, respectivamente. Los valores de  $G'$  en el rango de deformación de 0.1 a 2.34 % comenzaron a disminuir ligeramente (de 1140 a 930 Pa), mientras que aquellos de  $G''$  aumentaron ligeramente de 41.65 a 49.15 Pa. Este comportamiento se acentuó en el rango de deformación de 2.91 a 5.62 %, en el cual se observa un decremento importante en los valores de  $G'$  y un incremento considerable en los valores de  $G''$ . A deformaciones mayores a 5.62 %, los valores de ambos módulos decrecieron, indicando una destrucción importante de la estructura del gel G.

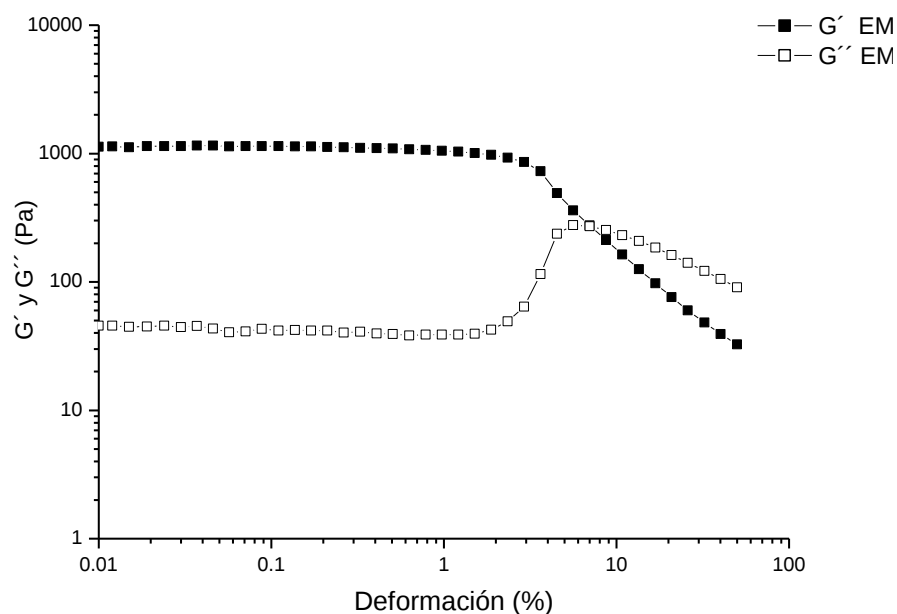


Figura 4. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) del gel de monoestearato de sorbitan en función de la deformación.

Hyun *et al.* (2002) observaron un comportamiento de los módulos  $G'$  y  $G''$  en función de la deformación de dispersiones de goma xantana al 4 % (p/p), similar al descrito anteriormente para el gel G. Estos autores clasificaron este comportamiento como de tipo III y le dieron el nombre de “weak strain overshoot (exceso de deformación débil). Este comportamiento está caracterizado por el decremento de valores de  $G'$  y el incremento simultáneo de los valores de  $G''$  en ciertos rangos de deformación, seguido por decrementos en los valores de ambos módulos. La variación de los módulos  $G'$  y  $G''$  descrita fue explicada con base en la formación de complejos moleculares débiles de goma xantana en la dispersión acuosa. La figura 5 muestra la variación de los valores de  $\tan \delta$  en función de la deformación. Los valores de  $\tan \delta$  fueron muy bajos, tendiendo a valores cercanos a cero y permanecieron casi constantes en

el rango de deformación de 0.01 a 1.88 %. A deformaciones mayores de 1.88 %, los valores de  $\tan \delta$  incrementaron de manera pronunciada, alcanzando valores  $\geq 1$  a partir de una deformación de 8.7 %. A partir de estos resultados podemos inferir que el gel a deformaciones  $< 8.7$  % mostró un comportamiento reológico predominantemente elástico ( $\tan \delta < 1$ ), mientras que su comportamiento reológico fue predominantemente viscoso a deformaciones mayores a 8.7 % ( $\tan \delta > 1$ ).

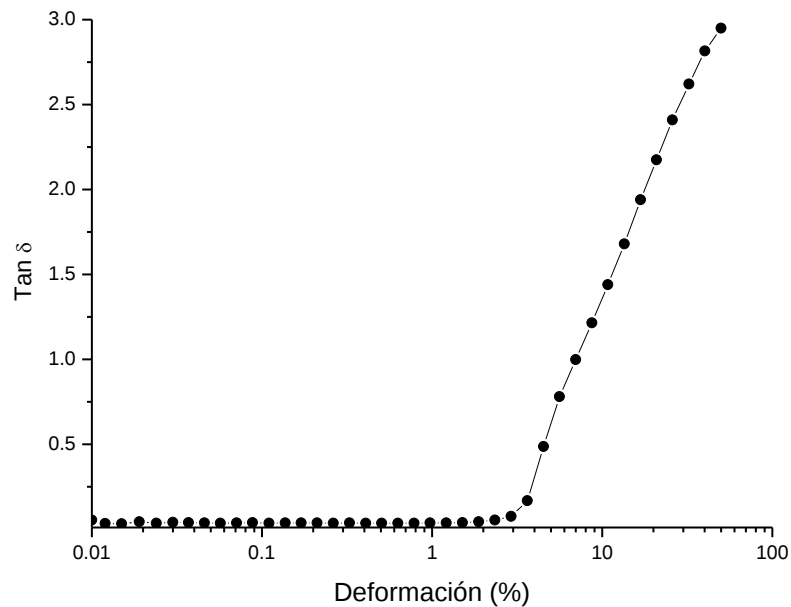


Figura 5. Variación del factor de cedencia ( $\tan \delta$ ) del gel en función de la deformación.

$\tan \delta$  es un valor adimensional que compara la cantidad de energía pérdida durante un ciclo de prueba con la cantidad de energía almacenada durante este tiempo (Ferry, 1980). Si el valor de  $G'$  es mayor que  $G''$ , el material se comporta predominantemente como un sólido; en contraste, si el valor de  $G''$  es mayor que  $G'$  la energía usada para deformar el material es disipada y el

material muestra un comportamiento predominantemente viscoso (Steffe, 1996; Rao, 1999; Mezger, 2002).

### **5.2.2. Barrido de frecuencia**

El gel G se sometió a barridos de frecuencia aplicando una deformación constante de 0.09 %, valor determinado mediante los barridos de amplitud efectuados previamente, como correspondiente al rango de deformación en el que el gel G mostró comportamiento viscoelástico lineal. En la figura 6 se muestra la variación de los módulos  $G'$  y  $G''$  y de la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) del gel, en función de la frecuencia. Los valores de  $G'$  del gel G, incrementaron ligeramente conforme se aumentó la frecuencia; comportamiento que corresponde a los presentados por geles de biopolímeros (León *et al.*, 2009). La variación de los valores de  $G''$  siguió la misma tendencia que aquella mostrada por los valores de  $G'$ , siendo además los valores de  $G''$  menores a los de  $G'$  en todo el rango de frecuencia estudiado. Estos resultados señalan que el gel G mostró el comportamiento mecánico de un material viscoelástico predominantemente sólido (Rao, 1999). La viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) del gel fue relativamente alta a frecuencias bajas ( $\sim 0.1$  Hz), cuando su estructura aún mantenía su integridad; sin embargo, conforme aumentó la frecuencia, la viscosidad compleja del gel G disminuyó progresivamente, como consecuencia de destrucción y desorientación de su estructura.

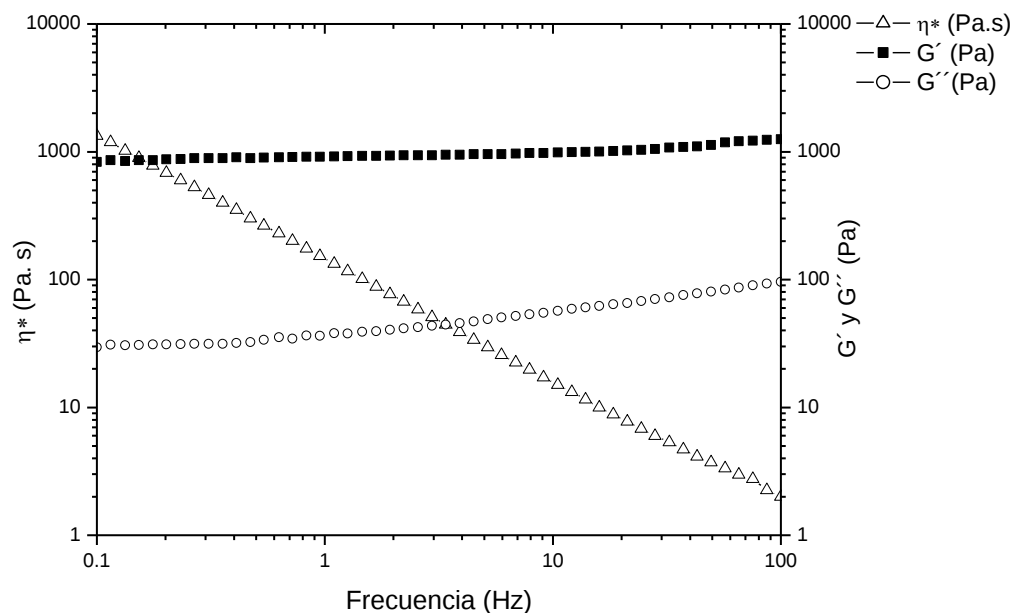


Figura 6. Variación de la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ), los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) del gel en función de la frecuencia.

### 5.3. Morfología y tamaño de las gotas de las emulsiones

#### Características de la emulsión interna ( $W_1/O$ )

La dilución en aceite y la observación microscópica de la emulsión interna con una  $\phi=0.3$  ( $(W_1/O)_{(\phi 0.3)}$ ), confirmaron la formación de una emulsión del tipo W/O, formada por pequeñas gotas esféricas de agua distribuidas individualmente en la fase oleosa continua. A partir de estas observaciones se puede inferir que el proceso de emulsificación fue adecuado, los emulsificantes de bajo peso molecular involucrados, así como el trabajo mecánico ejercido mediante el homogenizador intervinieron eficazmente en el desarrollo de la emulsión  $(W_1/O)_{(\phi 0.3)}$  (Figura 7) (Garti, 1997).

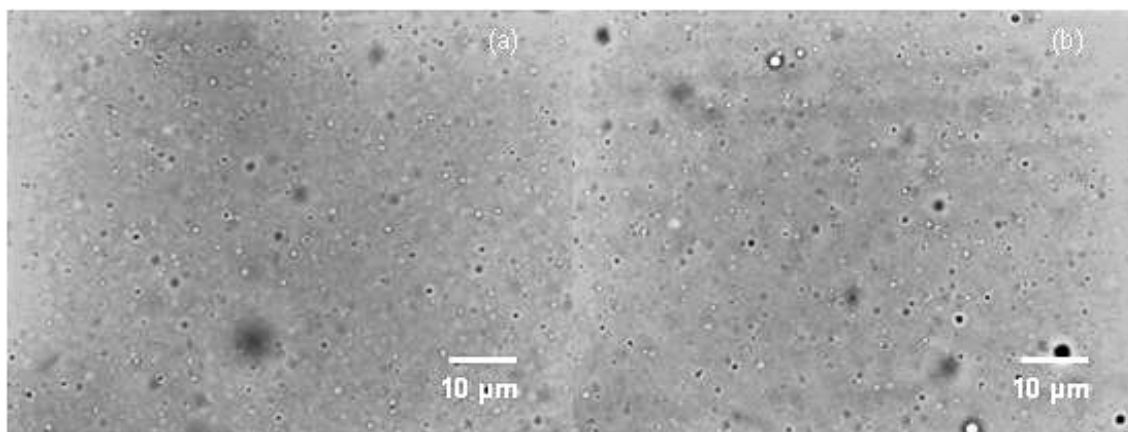


Figura 7. Microfotografías de la emulsión interna  $(W_1/O)_{(\phi 0.3)}$  después de: (a) una hora y (b) cinco horas de su elaboración, en las que puede observarse la presencia de numerosas gotas de agua dispersas en la fase oleosa continua. Amplificación 100 x.

El diámetro lineal  $D_{1,0}$  de las gotas de agua de la emulsión interna  $(W_1/O)_{(\phi 0.3)}$  fue de  $0.22 \pm 0.01 \mu\text{m}$ , después de 1 h de haber sido preparadas; mientras que después de 5 h de almacenamiento a  $40^\circ\text{C}$  el valor de este diámetro fue de  $0.24 \pm 0.01 \mu\text{m}$ . El análisis de varianza aplicado a los valores de diámetro después de 1 y 5 h, demostró que éstos no difirieron significativamente ( $p \leq 0.05$ ). A partir de este resultado, puede inferirse que la funcionalidad de los emulsificantes de bajo peso molecular usados para la preparación de la emulsión interna, permitió la obtención de una emulsión con buena estabilidad. Es muy probable que durante la preparación de la emulsión  $(W_1/O)_{(\phi 0.3)}$ , las moléculas del emulsificante lipofílico Grinsted se difundieran rápidamente a la interfase agua-grasa láctea y sus grupos lipofílicos penetraran la fase oleosa externa a través de interacciones hidrofóbicas, i.e. fuerzas de atracción de van

der Waals, formándose así una película adsorbida a la superficie de las gotas de agua que contribuyó a la estabilidad de la emulsión  $(W_1/O)_{(\phi 0.3)}$ . La película del emulsificante lipofílico pudo haberse extendido hacia la fase oleosa y la fase acuosa quedó encerrada en forma de pequeñas gotas. Por su parte, el emulsificante hidrofílico, Panodan, muy probablemente se difundió a la interfase agua-grasa láctea, orientándose sus moléculas preferentemente hacia la fase acuosa mediante interacciones dipolo-dipolo (Pomeranz 1991; Dickinson, 1992; Owusu y Zhu, 1996). La acción de ambos emulsificantes confirió estabilidad a la emulsión interna.

### **Características de la emulsión múltiple $(W_1/O/ W_2)$**

La emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$  (EM) consistió de gotas de aceite de emulsión interna  $(W_1/O)_{(\phi 0.3)}$ , dispersas en una fase acuosa externa  $W_2$ , esta última conteniendo los biopolímeros WPC y CMC. La emulsión formada pudo clasificarse como de tipo C, debido a que la gran mayoría de las gotas de grasa láctea contuvieron un número sustancial de gotas de agua (Figura 8) (Garti, 1997).

Los diámetros volumétricos superficiales medios ( $D_{3,2}$ ) de las gotas de grasa láctea de la emulsión múltiple, después de 1 h y 24 h de preparadas, se muestran en el cuadro 4.

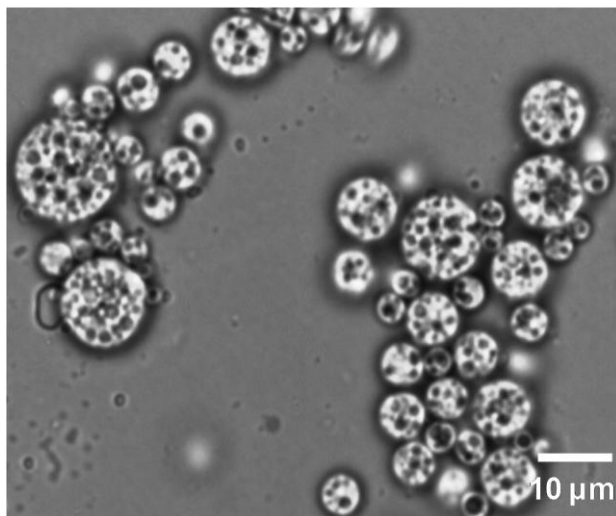


Figura 8. Microfotografía de las gotas de la emulsión múltiple  $W_1/O/W_2$ , en cuyo interior puede observarse la presencia de numerosas gotas de agua. Amplificación 100×.

El resultado del análisis de varianza aplicado a los valores de  $D_{3,2}$ , indicó que éstos no difirieron significativamente ( $p \leq 0.05$ ) al transcurrir el tiempo de almacenamiento de 1 a 24 h. Estos resultados son acordes al valor de la tasa de coalescencia obtenido para la EM (Cuadro 4, figura 9), pudiendo clasificarla como una emulsión estable, de acuerdo a lo propuesto por Sherman (1968).

**Cuadro 4. Valores medios ( $\pm$  DE) del diámetro volumétrico-superficial medio ( $D_{3,2}$ ) y tasa de coalescencia de las gotas de grasa láctea de la emulsión múltiple.**

| Código de la emulsión | $D_{3,2}$ después de 1 h de preparación ( $\mu\text{m}$ ) | $D_{3,2}$ después de 24 h de preparación ( $\mu\text{m}$ ) | Tasa de coalescencia ( $\text{s}^{-1}$ )/ $R^2$ |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| EM                    | $2.63 \pm 0.10$                                           | $2.76 \pm 0.14$                                            | $1.67 \times 10^{-6}/0.99$                      |

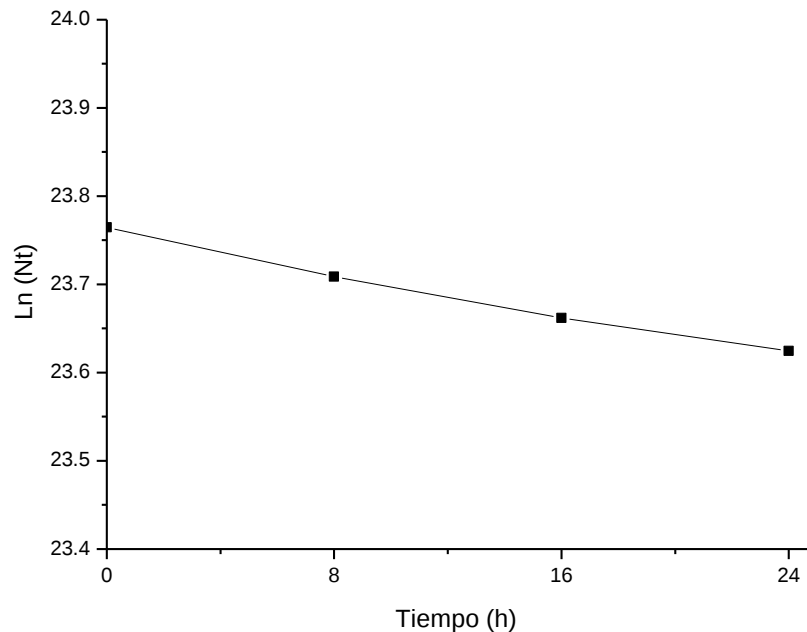


Figura 9. Variación del número de gotas de la emulsión múltiple durante 24 horas.

La estabilidad de la EM puede ser atribuida a la presencia de WPC y CMC en la fase acuosa externa ( $W_2$ ) que se usó en la elaboración de la EM, previno la agregación de las gotas de aceite de la EM mediante estabilización estérica (Walstra, 1993), actuando de la siguiente manera; a) el WPC posee buena actividad superficial lo que le permitió adsorberse a la superficie de la gota actuando como un emulsificante (Kika *et al.*, 2007) de esta forma impidió la agregación de las gotas de aceite y b) la CMC actuó como un estabilizante debido a que no posee fuerte actividad superficial, las moléculas de CMC se colocaron alrededor de las moléculas de WPC formando así una segunda capa alrededor de la gota de aceite (Dickinson, 2008a,b) por lo que su modo de acción fue incrementar la viscosidad de la fase continua causando así una

disminución en la colisión de las gotas retardando el fenómeno de coalescencia (Lobato- Calleros *et al*, 2006).

## **5.1. Propiedades reológicas de la emulsión múltiple**

### **5.1.1. Barrido de amplitud**

El comportamiento viscoelástico de la EM puede apreciarse en la figura 10, en la que se muestra la variación de los valores de sus módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) en función de la deformación aplicada (0.01 a 100 %). La región de comportamiento viscoelástico lineal de la EM, en la que los valores de  $G'$  y  $G''$  fueron independientes de la deformación, comprendió hasta una deformación de 0.037 %; los valores de  $G'$  y  $G''$  en esta zona fueron de 6220.00 y 1084 Pa, respectivamente. A deformaciones en el intervalo aproximado de 0.04 a 0.2 % de deformación, los valores del módulo  $G'$  comenzaron a disminuir; mientras que aquellos del módulo  $G''$  aumentaron ligeramente. A valores de deformación mayores a 0.2 %, los valores de ambos módulos disminuyeron de forma pronunciada.

Por su parte, los valores de  $\tan \delta$  permanecieron prácticamente constantes hasta una deformación alrededor de 0.016 % (Figura 11). A deformaciones mayores, los valores de  $\tan \delta$  se incrementaron de manera pronunciada, alcanzando valores de  $\tan \delta \geq 1$  a partir de una deformación de 0.99 %. Los resultados expuestos indican que la EM mostró un comportamiento reológico predominantemente elástico bajo deformaciones menores a 0.99 % ( $\tan \delta < 1$ ),

en tanto que su comportamiento reológico fue predominantemente viscoso a deformaciones mayores a 0.99 % ( $\tan \delta > 1$ ).

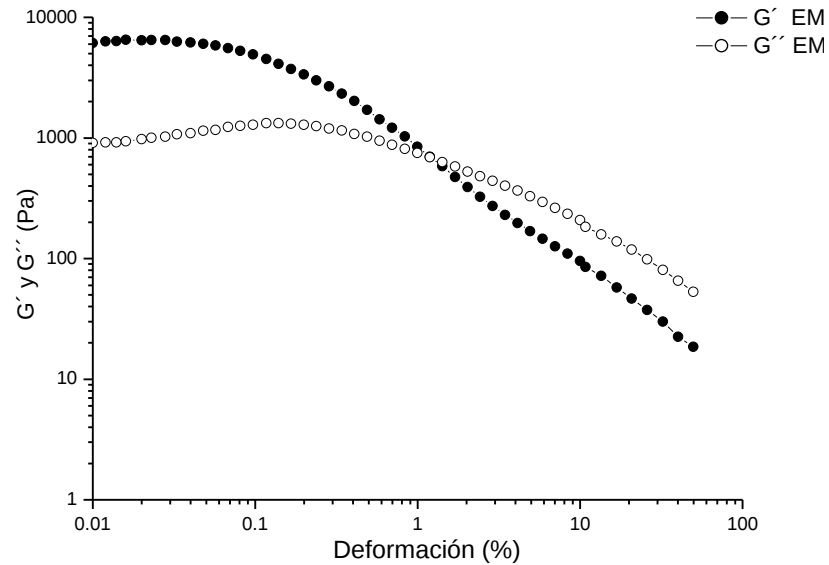


Figura 10. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de la emulsión múltiple.

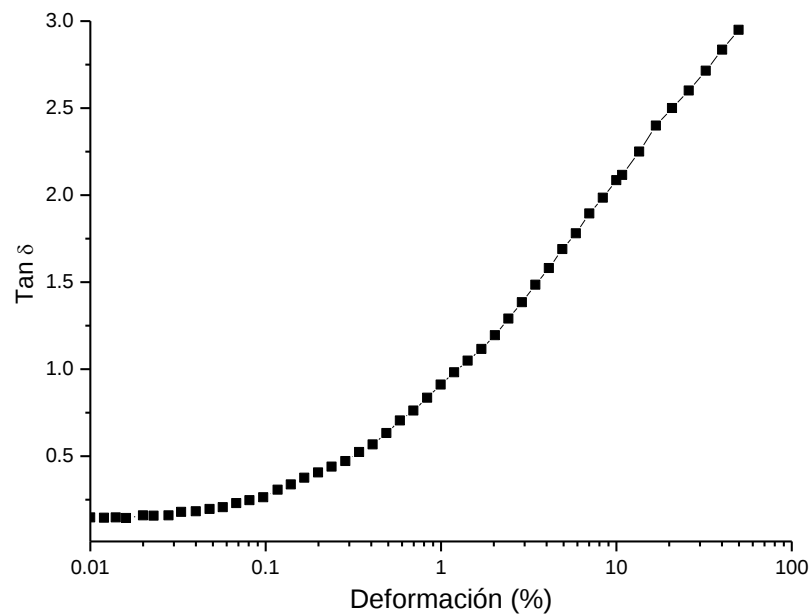


Figura 11. Variación del factor de cedencia ( $\tan \delta$ ) de la emulsión múltiple en función de la deformación.

### 5.1.2. Barrido de frecuencia

Para realizar el barrido de frecuencia se usó una deformación constante de 0.03 % y una frecuencia de 0.01 a 100 Hz. La figura 12 muestra la variación de los módulos  $G'$  y  $G''$  y de la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) de la EM, en función de la frecuencia. El módulo elástico predominó sobre el módulo viscoso ( $G' > G''$ ) en todo el rango de frecuencia estudiado. Estos resultados indican que la EM se comportó como una material viscoelástico sólido (Rao, 1999; Senff y Richtering, 1999). La viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) de la EM fue alta (542.67 Pa. s) a frecuencias bajas (0.1 a 0.29 Hz), conforme la frecuencia aumentó, la viscosidad compleja disminuyó, alcanzado un valor de 4.97 Pa. s a una frecuencia de 100 Hz.

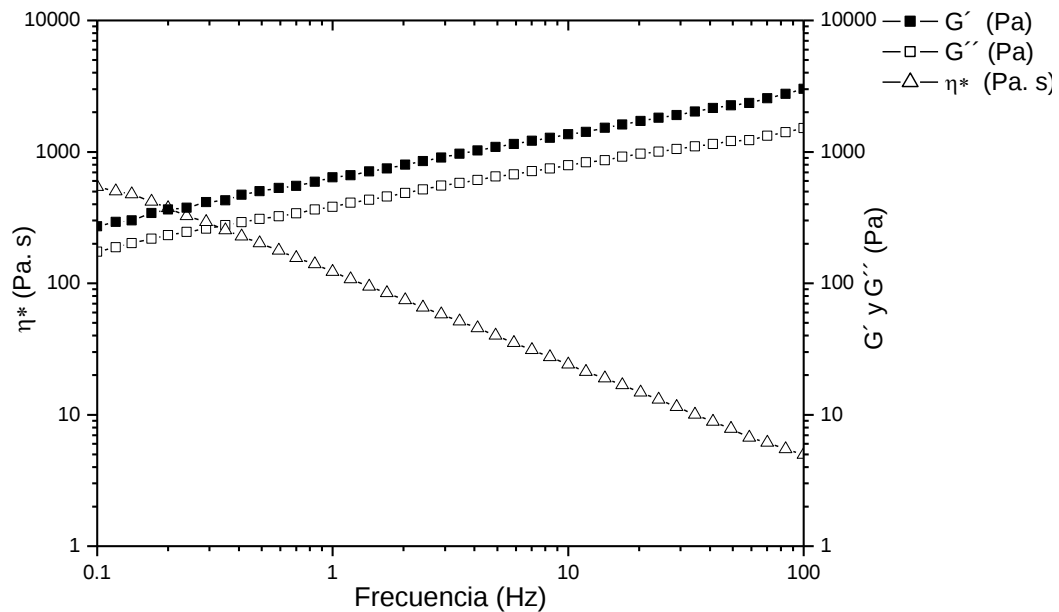


Figura 12. Variación de la viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) y de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de la emulsión múltiple en función de la frecuencia.

## **5.2. Composición química y sinéresis de los yogures**

Las variaciones de yogur difirieron significativamente en sus contenidos de grasa, proteína y humedad (Cuadro 5), como resultado de modificaciones en la composición química de la leche a partir de la que se prepararon. Los yogures bajos en grasa YBG, YEM, YG y YEMG, mostraron contenidos de grasa significativamente menores ( $p \leq 0.05$ ) a los determinados en el yogur YCG (Cuadro 5); resultados congruentes con el contenido graso de la leche a partir de la que se elaboraron (1 % p/v), en comparación con 3 % p/v en la leche usada para elaborar el yogur YCG. El yogur YBG presentó un contenido de proteína significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) que el resto de los yogures. Lo anterior se debió a que los sólidos de grasa láctea reducidos en la leche a partir de la que se elaboró el yogur YBG, fueron reemplazados con leche descremada en polvo, rica en proteína. Se observaron variaciones en los contenidos de humedad de los yogures, relacionadas con diferencias en sus contenidos de sólidos totales/L. El YCG presentó un contenido de humedad significativamente menor ( $p \leq 0.05$ ) a los mostrados por el resto de los yogures (Cuadro 5), como consecuencia de la presencia de un mayor contenido de sólidos totales (120 g /L) en la leche utilizada para su preparación, en comparación con 100 g de sólidos totales/L en la leche destinada a la elaboración de los yogures bajos en grasa. Las variaciones de yogur no difirieron significativamente ( $p > 0.05$ ) en su grado de acidez (Cuadro 5).

Las variaciones de yogur exhibieron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) en sus porcentajes de sinéresis, después de 2 y 14 días de elaborados (Cuadro 5). A partir de estos resultados puede inferirse que variaciones en la composición química del yogur, resultaron en arreglos estructurales distintos con variada susceptibilidad a la expulsión de lactosuero (Cuadro 5). La sinéresis en el yogur no es deseable y se produce cuando la red de la proteína muestra una baja capacidad de retención de agua (Keogh y O’Kennedy, 1998). El yogur YCG presentó menor grado de sinéresis ( $p \leq 0.05$ ) con respecto al resto de los yogures, después de 2 y 14 días de preparación. Cabe señalar que el yogur YCG contuvo el mayor contenido graso y en consecuencia también el mayor número de glóbulos de grasa láctea. Se ha informado que estos últimos participan como copolímeros de la caseína en la formación de una estructura en el yogur, relativamente abierta, resistente a la deformación y con bajo grado de sinéresis (Keogh y O’Kennedy, 1998). En este mismo sentido, el yogur YBG reducido en grasa láctea, presentó mayor grado de sinéresis ( $p \leq 0.05$ ) a los 2 y 14 días, que el yogur YCG (Cuadro 5). El mayor grado de sinéresis del yogur YBG puede relacionarse con una mayor contracción de la red proteínica y en consecuencia el favorecimiento de la expulsión de lactosuero (Keogh y O’Kennedy, 1998; Lobato-Calleros *et al.*, 2004). También un mayor grado de separación de lactosuero ha sido atribuido a bajos contenidos de sólidos totales (Harwalkar y Kalab 1986). La incorporación de la EM y/o el G a yogur reducido en grasa, modificó su grado de sinéresis (Cuadro 5). El yogur YEM incorporado con la EM, presentó mayor grado de sinéresis ( $p \leq 0.05$ ) que el yogur YBG; en

contraste, el YG, incorporado con el gel de monoestearato de sorbitan (G), presentó menor grado de sinéresis ( $p \leq 0.05$ ) que el yogur YBG. Además, el porcentaje de sinéresis del yogur YG fue cercano al exhibido por el yogur YCG. El yogur YEMG mostró porcentajes de sinéresis intermedios a los valores correspondientes a los yogures YG y YEM. Los resultados expuestos indican que la sustitución de los glóbulos de grasa láctea por gotas de la EM, rindió un yogur YEM con una estructura más susceptible a la expulsión de lactosuero. Al parecer, aunque la CMC provoca aumentos en la viscosidad del yogur, no contribuyó a la formación de una estructura abierta, ordenada, con capacidad alta de retención de lactosuero, dando como resultado entonces a una red proteínica con alto grado de sinéresis (Everett y McLeod, 2005). Por el contrario, la incorporación del gel G a la leche usada para la preparación del yogur YG, resultó en la formación de una estructura con menor susceptibilidad a la sinéresis que aquella desarrollada en el yogur YBG. La integración de la fase  $\alpha$ -gel a la red proteínica del yogur YG pudo actuar tanto en la retención de una gran cantidad de agua en el interior de esta red, como también pudo obstaculizar el flujo del lactosuero a través del gel del yogur YG. Se ha informado que una gran cantidad de agua puede ser incorporada en la bicapa de la fase  $\alpha$ -gel de emulsificantes de bajo peso molecular (Krog, 1997). Para el caso del yogur YEMG, la funcionalidad de la EM y aquella del G, intervinieron para una expulsión intermedia de lactosuero respecto a las observadas en los yogures YG y YEM (Cuadro 5). El grado de sinéresis de los yogures aumentó durante el almacenamiento; sin embargo la tendencia en la variación de su

magnitud entre yogures, fue similar a la mostrada a los 2 días de refrigeración (Cuadro 5).

Los valores de acidez de los yogures después de 14 días de elaborados no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) y se encontraron en el rango de 89.3 a 89.7 °D.

**Cuadro 5. Composición química y sinéresis (medias  $\pm$  DE) de los yogures.**

| Código<br>del yogur | Grasa<br>(%)               | Proteína<br>(%)            | Humedad<br>(%)              | Sinéresis<br>día 2 (%)     | Sinéresis<br>día 14 (%)     |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| YCG                 | 3.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> | 3.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup> | 82.4 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup> | 3.9 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup> | 6.2 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>  |
| YBG                 | 1.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup> | 3.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> | 84.2 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> | 7.2 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup> | 9.4 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>  |
| YEM                 | 1.0 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup> | 2.3 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup> | 84.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> | 8.4 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> | 11.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> |
| YG                  | 1.1 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup> | 2.5 $\pm$ 0.0 <sup>c</sup> | 84.8 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> | 4.8 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup> | 7.4 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>  |
| YEMG                | 1.1 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup> | 2.9 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup> | 84.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup> | 6.6 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup> | 8.9 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>  |

a, b, c, d y e Superíndices distintos en una misma columna, indican que las medias difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

### 5.3. Comportamiento reológico de los yogures

#### 5.3.1. Barrido de amplitud

La naturaleza viscoelástica de las variaciones de yogur puede apreciarse en las figuras 13 a 15, correspondientes a los barridos de amplitud efectuados después de 2, 7 y 14 días 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 yogures. En las curvas señaladas pueden observarse tres zonas de comportamiento:

Zona I, comprendida entre 0.02 % a alrededor de 0.08 % de deformación, conocida como región de comportamiento viscoelástico lineal; en la que los módulos  $G'$  y  $G''$  exhibieron valores prácticamente constantes, independientemente de la deformación aplicada. En esta zona los valores de  $G'$  fueron mayores a los de  $G''$  (Figuras 13 a 15), indicando ello que todos los yogures presentaron un comportamiento reológico predominantemente elástico.

Zona II, comprendida entre deformaciones mayores a 0.08 % hasta aproximadamente 2 %, en la que los valores de ambos módulos disminuyeron de forma no lineal (Figuras 13 a 15), indicando ello una ruptura parcial de la estructura elástica del yogur (red proteínica). Se ha informado que en esta etapa de la prueba ocurre rompimiento y reforma de enlaces entre las moléculas básicas que forman la estructura de los alimentos (Lobato-Calleros *et al.*, 2009).

Zona III, comprendida entre valores de deformación mayores al 2 % hasta el 50 %, en la que los valores de  $G'$  sufrieron una disminución pronunciada en comparación a los de  $G''$ . Para el caso de los yogures YCG, YBG y YG, las curvas de  $G'$  y  $G''$  tendieron a cruzarse, indicando que el comportamiento reológico de estos yogures se transformó de predominantemente sólido y elástico a predominantemente líquido y viscoso ( $G' < G''$ ); lo anterior debido a una destrucción importante de la estructura de estos yogures (Hess *et al.*,

1997; Keogh y O’Kennedy, 1998) (Figuras 13 a 15). En contraste, los yogures YEM y YEMG aún cuando presentaron una disminución pronunciada de sus valores de  $G'$  en el rango de deformación aplicada, en general no fue suficiente ( $G' > G''$ ) para destruir su estructura de red al grado de que comenzara a fluir (Figuras 13 a 15). Después de dos días de preparados los yogures, los valores máximos de deformación en la región viscoelástica lineal fueron: YEM (0.10 %) > YEMG (0.09 %) y YCG (0.09 %) > YG (0.08 %) y YBG (0.08 %) (Figura 13). El comportamiento de los valores máximos de deformación en la región viscoelástica lineal de los yogures para los 7 y 14 días de almacenamiento fue similar al mostrado después de dos días de almacenamiento (Figuras 14 y 15).

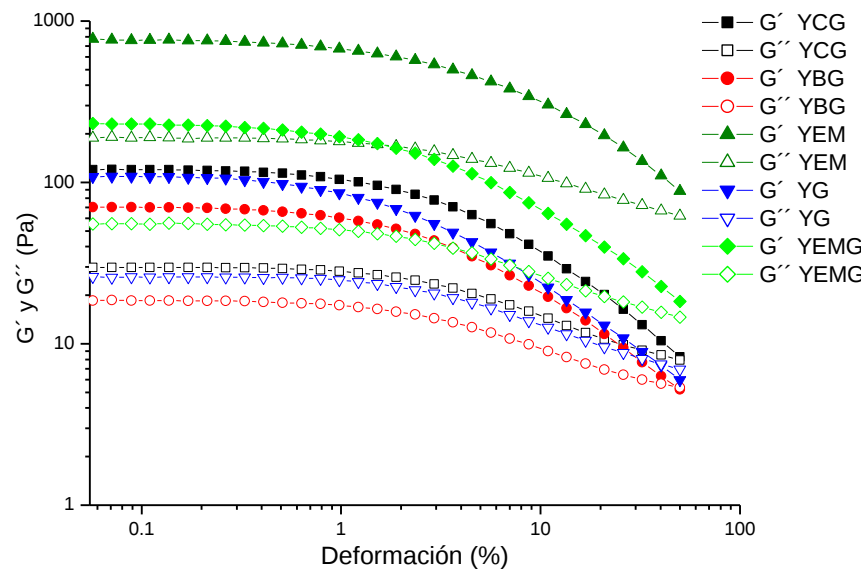


Figura 13. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la deformación, después de 2 días de preparados.

Variaciones en el contenido graso de la leche, así como su sustitución parcial con la EM y/o el G, rindieron yogures con valores de  $G'$  y de pérdida  $G''$  en la zona viscoelástica lineal, que difirieron significativamente (Cuadro 6). El yogur YBG presentó, después de 2, 7 y 14 d de almacenamiento, los valores más bajos de  $G'$  y  $G''$  ( $p \leq 0.05$ ), en comparación con el resto de las variaciones de yogures; adicionalmente, los valores de estos módulos disminuyeron significativamente del día 7 al día 14 de almacenamiento (Figuras 13 a 15, Cuadro 6).

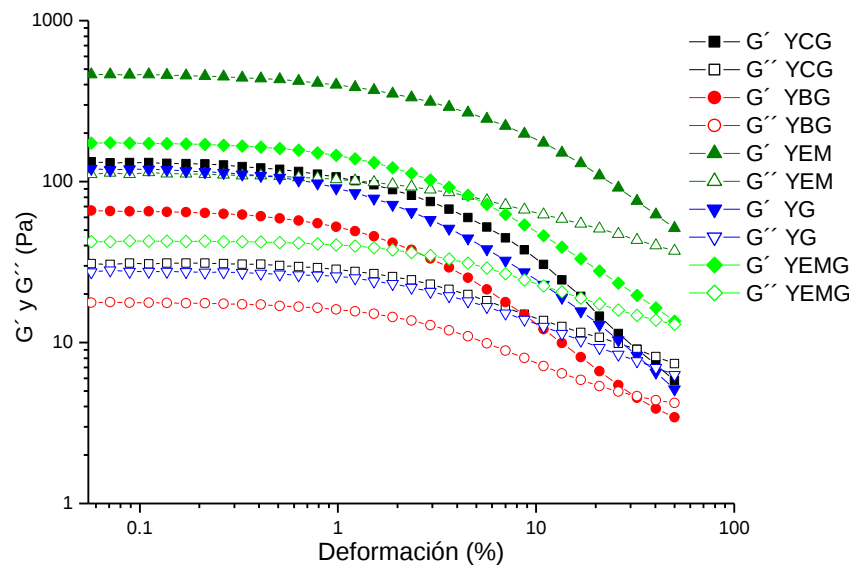


Figura 14. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la deformación, después de 7 días de preparados.

Estos resultados indican que la red proteínica, principal componente estructural de este yogur YBG, fue la que exhibió la menor resistencia a la deformación, sufriendo además reacomodos con el tiempo de almacenamiento, los cuales resultaron en su debilitamiento. Reducciones en el contenido graso del yogur

está directamente relacionado con un menor número de glóbulos de grasa láctea participando en la formación de la red proteínica; en consecuencia, los yogures reducidos en grasa tienden a presentar menor estabilidad y propiedades mecánicas disminuidas (Keogh y O’Kennedy, 1998; Lobato-Calleros *et al.*, 2004).

El yogur YEM, incorporado con gotas de emulsión múltiple (EM) estabilizadas con CMC y WPC en sustitución de los glóbulos de grasa láctea, exhibió los valores más elevados de  $G'$  y  $G''$  ( $p \leq 0.05$ ) en relación con el resto de los yogures, después de 2, 7 y 14 d de refrigeración. Sin embargo, los módulos  $G'$  y  $G''$  del yogur YEM disminuyeron significativamente durante todo el periodo de almacenamiento (Figuras 13 a 15, Cuadro 6). A partir de las propiedades mecánicas del yogur se infiere que la EM tuvo un efecto pronunciado sobre el carácter viscoelástico de este producto, incrementando la elasticidad y la viscosidad de su red proteínica. Los valores de  $G'$  y  $G''$  obtenidos, permiten inferir que el yogur YEM presentó los valores más altos de energía almacenada por ciclo de oscilación ( $G'$ ) y de energía disipada como calor por ciclo ( $G''$ ) (Lucey, 2001). Muy probablemente, las gotas de emulsión múltiple, reforzaron la estructura proteínica del yogur YEM, a través de la funcionalidad de los biopolímeros CMC y WPC distribuidos en la interfase aceite-en-agua. CMC y WPC, son reconocidos por su habilidad para formar complejos con las lactoproteínas a valores de pH bajos (Asano, 1970; Lobato-Calleros *et al.*, 2009). En adición, la CMC actúa como un agente espesante a bajas

concentraciones, incrementando la viscosidad de la fase acuosa y modificando su reología (Coffey *et al.*, 1995). La disminución en los valores de los módulos  $G'$  y  $G''$  durante el almacenamiento, muy probablemente estuvo asociada con fenómenos de floculación y/o coalescencia sufridos por algunas de las gotas de la EM, ocasionando modificación en la estructura de la red proteínica del yogur YEM. Cabe señalar que no se observó separación de la fase oleosa de la emulsión en el yogur YEM, durante el tiempo de almacenamiento.

En general, después del yogur YEM, el yogur YEMG, conteniendo EM y G, fue el que presentó los valores más altos de los módulos  $G'$  y  $G''$  durante el periodo de almacenamiento. La magnitud de los módulos  $G'$  y  $G''$  del yogur YEMG disminuyeron significativamente con el tiempo de almacenamiento a semejanza de lo encontrado para el yogur YEM (Figuras 13 a 15, Cuadro 6). Los resultados expuestos, señalan que el comportamiento mecánico del yogur YEMG y en consecuencia su arreglo estructural, fue determinado predominantemente por la EM.

De los yogures reducidos en grasa, el yogur YG fue el que presentó propiedades reológicas indistintas ( $p > 0.05$ ) a las mostradas por el yogur control completo en grasa láctea (YCG) después de 2 y 7 d de almacenamiento, y las más cercanas a los 14 d de almacenamiento (Figuras 13 a 15 y Cuadro 6). Estos datos indican que la fase  $\alpha$ -gel de monoestearato de sorbitan, emuló de mejor manera la funcionalidad de la grasa láctea, en

comparación con la EM y la combinación EM y G. En adición, es importante resaltar que el yogur YG fue el único que presentó valores de  $G'$  y  $G''$  que permanecieron constantes ( $p > 0.05$ ) durante todo el almacenamiento. En contraste, el yogur YCG después de 2 d de almacenamiento presentó valores de  $G'$  y  $G''$  menores ( $p \leq 0.05$ ) a aquellos determinados a los 7 y 14 días. El comportamiento reológico de los yogures YG y YCG, señala que la estructura de la red proteínica del yogur YG fue muy estable durante el tiempo de almacenamiento, presentando además, un comportamiento viscoelástico cercano al exhibido por el yogur YCG. La estructura de este último, al parecer, sufrió re-arreglos con el tiempo de almacenamiento, que resultaron en una estructura con mayor resistencia a la deformación en comparación con la inicialmente formada.

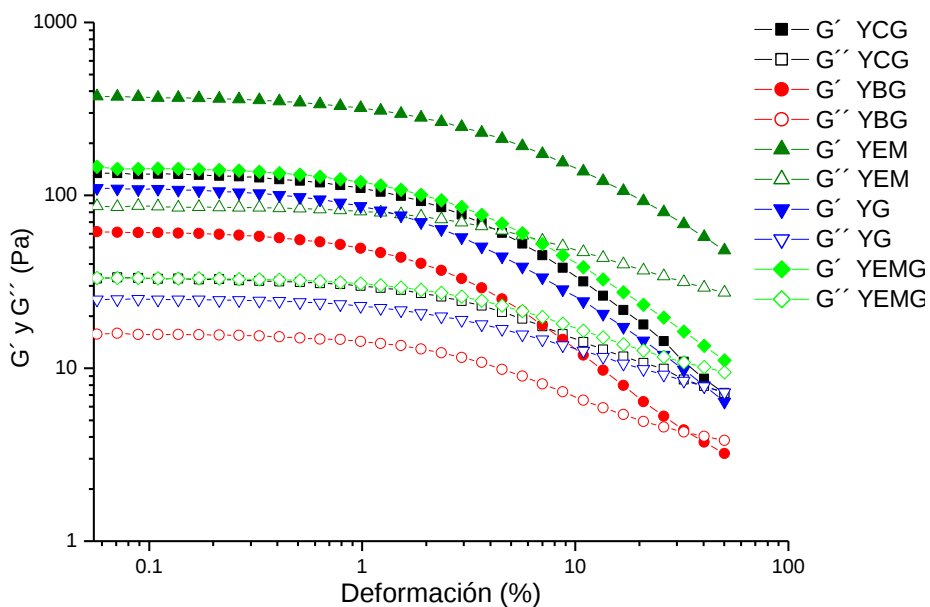


Figura 15. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la deformación, después de 14 días de preparados.

**Cuadro 6. Valores medios ( $\pm$  DE) de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en la región viscoelástica lineal.**

| Código del<br>yogur | Día 2                            |                                 | Día 7                            |                                 | Día 14                          |                                |
|---------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
|                     | $G'$ (Pa)                        | $G''$ (Pa)                      | $G'$ (Pa)                        | $G''$ (Pa)                      | $G'$ (Pa)                       | $G''$ (Pa)                     |
| YCG                 | 120.4 $\pm$ 4.0 <sup>c, B</sup>  | 29.8 $\pm$ 2.0 <sup>c, B</sup>  | 132.5 $\pm$ 4.4 <sup>c, A</sup>  | 30.9 $\pm$ 1.0 <sup>c, AB</sup> | 134.3 $\pm$ 4.2 <sup>b, A</sup> | 33.1 $\pm$ 0.6 <sup>b, A</sup> |
| YBG                 | 70.0 $\pm$ 1.1 <sup>d, A</sup>   | 18.5 $\pm$ 0.5 <sup>d, A</sup>  | 64.0 $\pm$ 1.9 <sup>e A, B</sup> | 17.5 $\pm$ 0.2 <sup>d, A</sup>  | 61.0 $\pm$ 4.4 <sup>d, B</sup>  | 15.7 $\pm$ 1.1 <sup>d, B</sup> |
| YEM                 | 761.5 $\pm$ 12.3 <sup>a, A</sup> | 188.6 $\pm$ 4.4 <sup>a, A</sup> | 463.0 $\pm$ 5.8 <sup>a, B</sup>  | 111.7 $\pm$ 3.2 <sup>a, B</sup> | 367.0 $\pm$ 4.4 <sup>a, C</sup> | 85.6 $\pm$ 1.1 <sup>a, C</sup> |
| YG                  | 109.1 $\pm$ 3.4 <sup>c, A</sup>  | 25.8 $\pm$ 2.0 <sup>c, A</sup>  | 113.6 $\pm$ 5.7 <sup>d, A</sup>  | 27.2 $\pm$ 0.2 <sup>c, A</sup>  | 110.0 $\pm$ 7.0 <sup>c, A</sup> | 26.1 $\pm$ 2.0 <sup>c, A</sup> |
| YEMG                | 230.0 $\pm$ 3.0 <sup>b, A</sup>  | 55.4 $\pm$ 0.4 <sup>b, A</sup>  | 173.3 $\pm$ 7.9 <sup>b, B</sup>  | 42.4 $\pm$ 1.0 <sup>b, B</sup>  | 146.0 $\pm$ 4.4 <sup>b, C</sup> | 33.4 $\pm$ 0.3 <sup>b, C</sup> |

<sup>a, b, c, d y e</sup> Superíndices distintos en una misma columna, indican que las medias difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>A, B, C</sup> Superíndices distintos en una misma fila, indican que las medias difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

La figura 16 muestra las variaciones en los valores de  $\tan \delta$  de los yogures en función de la deformación, después de 2, 7 y 14 d de almacenamiento, pudiendo observarse que todos los yogures bajo la aplicación de deformaciones hasta aproximadamente 1 %, mostraron valores similares de este parámetro a los 2, 7 y 14 d almacenamiento. Bajo deformaciones mayores de 1 %, los valores de  $\tan \delta$  de los yogures se diferenciaron. De esta manera, el yogur YEM exhibió los valores de  $\tan \delta$  de menor magnitud; mientras que el yogur YBG tendió a mostrar aquellos de mayor magnitud (Figura 16). Por su parte, los yogures YEMG, YG y YCG, tendieron a exhibir valores de  $\tan \delta$  intermedios a los correspondientes a los yogures YEM y YBG. El parámetro  $\tan \delta$  indica qué propiedades, ya sea viscosas o elásticas predominan en un alimento; valores bajos están asociados a mayor carácter elástico; mientras que valores relativamente elevados lo están con un mayor carácter viscoso (Lobato-Calleros *et al.*, 2009). Los resultados expuestos de  $\tan \delta$  de los yogures, concuerdan con lo expresado en relación a la resistencia a la deformación y carácter viscoelástico de los distintos yogures dependiendo del contenido y naturaleza de su fracción grasa.

### **5.3.1. Barrido de frecuencia**

Las figuras 17 a 19, ilustran el comportamiento de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures, en función de la frecuencia, a los 2, 7 y 14 d de almacenamiento, respectivamente.

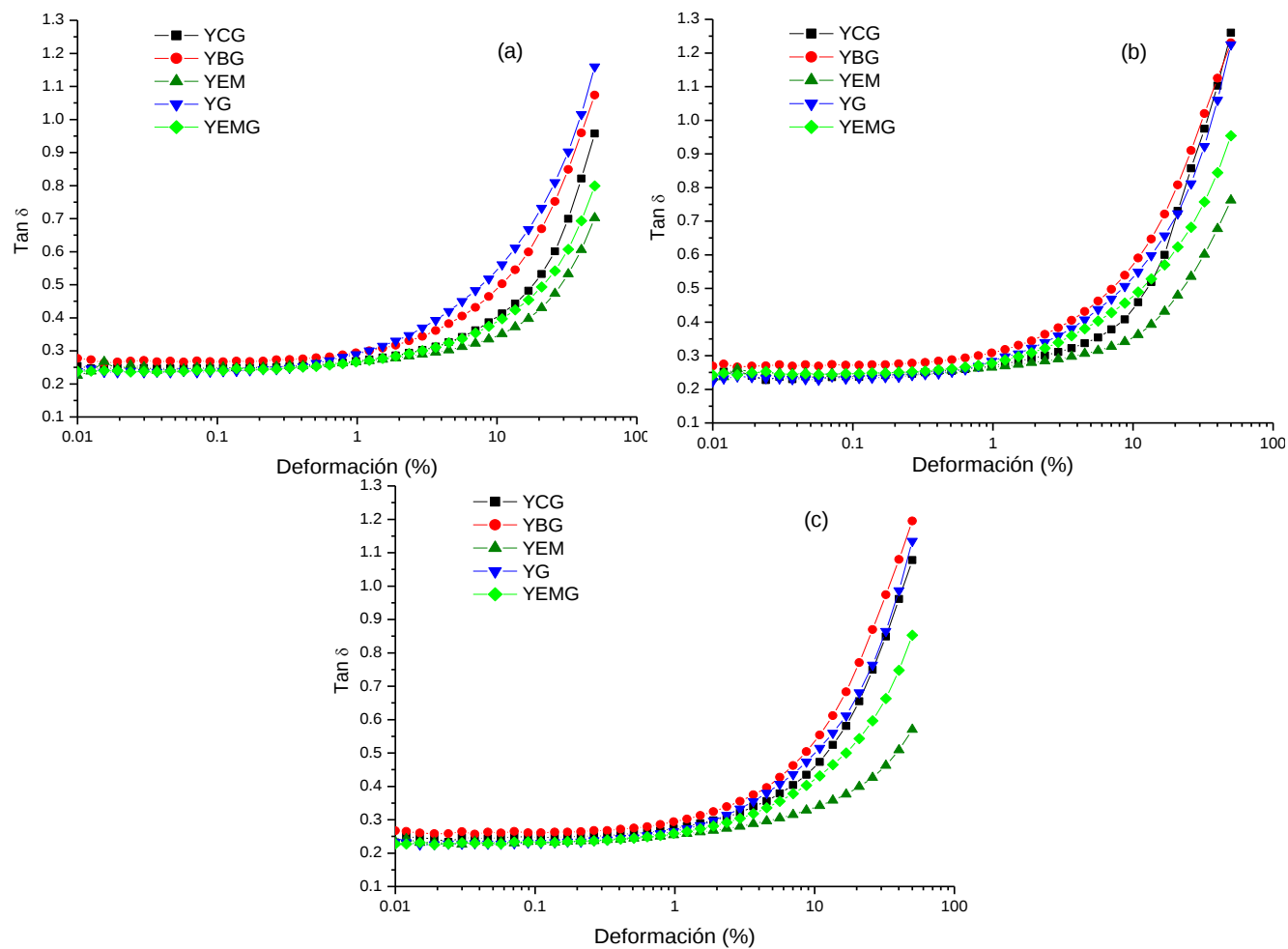


Figura 16. Variación de los valores de  $\tan \delta$  de los yogures en función de la deformación, después de 2 (a), 7 (b) y 14 (c) días de elaborados.

Las variaciones en los valores de los módulos  $G'$  y  $G''$  de los yogures en función de la frecuencia, fueron semejantes a las observadas en los yogures durante los barridos de amplitud (sección 5.3.1). Así, los yogures conteniendo EM (YEM y YEMG), en general, presentaron los valores más elevados ( $p \leq 0.05$ ) de estos módulos; mientras que el yogur YBG tendió a exhibir los valores más bajos de  $G'$  y  $G''$ ; lo anterior durante todo el almacenamiento (Figuras 17 a 19, Cuadro 7). Por su parte, el yogur YG, conteniendo la fase  $\alpha$ -gel de monoestearato de sorbitan, presentó valores similares de  $G'$  y  $G''$  ( $p > 0.05$ ) a los correspondientes al yogur YCG (Figuras 17 a 19, Cuadro 7). La discusión sobre el comportamiento reológico de los yogures en función de la cantidad y naturaleza de su fracción grasa, fue presentada en la sección 5.3.1.

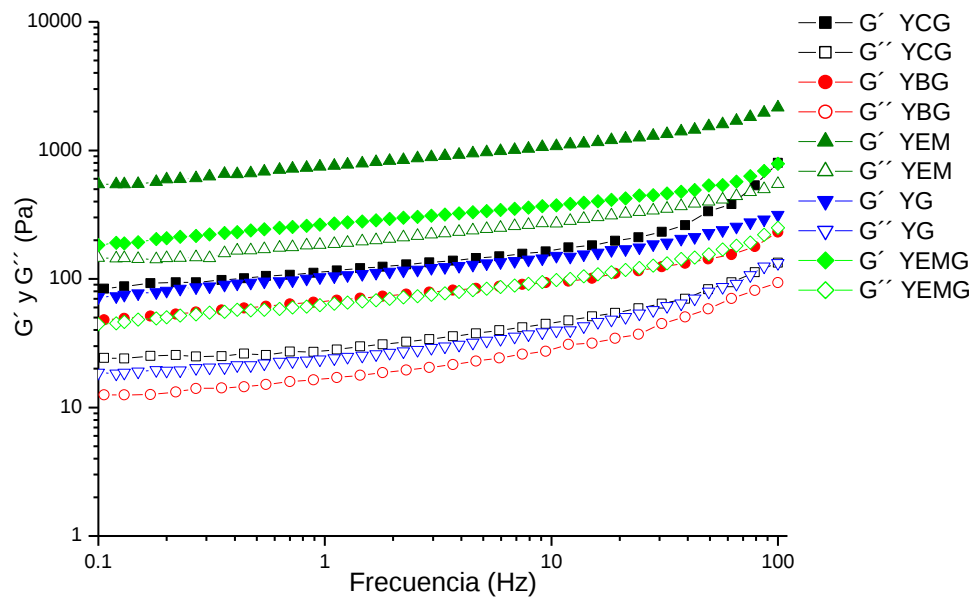


Figura 17. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la frecuencia, después de 2 días de preparación.

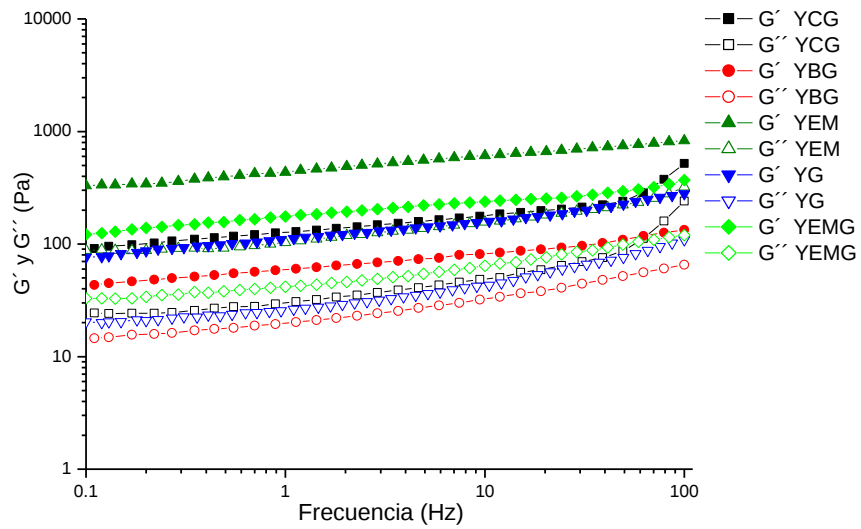


Figura 18. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la frecuencia, después de 7 días de preparación.

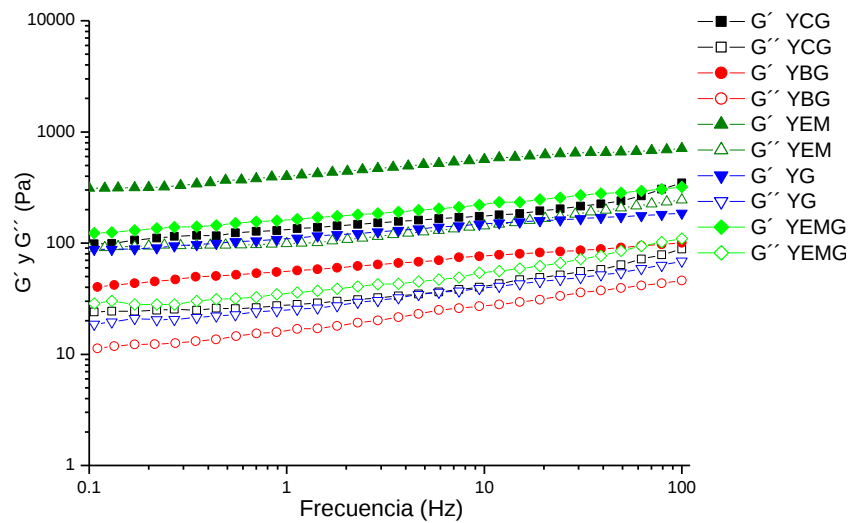


Figura 19. Variación de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures en función de la frecuencia, después de 14 días de preparación.

**Cuadro 7. Valores medios ( $\pm$  DE) de los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) de los yogures, bajo una frecuencia de 1 Hz.**

| Código del<br>yogur | Día 2                            |                                 | Día 7                            |                                 | Día 14                           |                                 |
|---------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
|                     | $G'$ (Pa)                        | $G''$ (Pa)                      | $G'$ (Pa)                        | $G''$ (Pa)                      | $G'$ (Pa)                        | $G''$ (Pa)                      |
| YCG                 | 116.1 $\pm$ 4.6 <sup>c, B</sup>  | 28.3 $\pm$ 3.8 <sup>c, A</sup>  | 128.8 $\pm$ 5.3 <sup>c, A</sup>  | 30.1 $\pm$ 2.1 <sup>c, A</sup>  | 134.9 $\pm$ 2.7 <sup>c, A</sup>  | 30.2 $\pm$ 5.8 <sup>b, A</sup>  |
| YBG                 | 68.3 $\pm$ 6.2 <sup>d, A</sup>   | 19.6 $\pm$ 4.3 <sup>c, A</sup>  | 60.3 $\pm$ 6.6 <sup>d, A</sup>   | 19.0 $\pm$ 3.6 <sup>d, A</sup>  | 56.5 $\pm$ 5.4 <sup>e, A</sup>   | 16.9 $\pm$ 3.0 <sup>c, A</sup>  |
| YEM                 | 760.0 $\pm$ 10.8 <sup>a, A</sup> | 187.3 $\pm$ 3.5 <sup>a, A</sup> | 435.0 $\pm$ 12.2 <sup>a, B</sup> | 109.0 $\pm$ 5.3 <sup>a, B</sup> | 398.0 $\pm$ 10.6 <sup>a, C</sup> | 99.0 $\pm$ 3.6 <sup>a, B</sup>  |
| YG                  | 105.0 $\pm$ 7.2 <sup>c, A</sup>  | 24.2 $\pm$ 2.8 <sup>c, A</sup>  | 112.0 $\pm$ 7.0 <sup>c, A</sup>  | 26.3 $\pm$ 1.4 <sup>cd, A</sup> | 111.0 $\pm$ 5.3 <sup>d, A</sup>  | 25.0 $\pm$ 1.0 <sup>bc, A</sup> |
| YEMG                | 269.5 $\pm$ 2.2 <sup>b, A</sup>  | 64.0 $\pm$ 1.8 <sup>b, A</sup>  | 176.0 $\pm$ 9.2 <sup>b, B</sup>  | 41.8 $\pm$ 2.5 <sup>b, B</sup>  | 159.0 $\pm$ 9.9 <sup>b, B</sup>  | 34.6 $\pm$ 3.8 <sup>b, C</sup>  |

a, b, c, d y e Superíndices distintos en una misma columna, indican que las medias difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

A, B, C Superíndices distintos en una misma fila, indican que las medias difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

### 5.3.2. Propiedades de flujo

En las figuras 20 y 21, puede observarse el comportamiento de la viscosidad aparente ( $\eta_{ap}$ ) de los yogures en función de la velocidad de cizalla. Todos los yogures, a velocidades de cizalla bajas, del orden de  $10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , presentaron incrementos pequeños en sus valores de  $\eta_{ap}$ , posiblemente debido a reacomodos en su estructura de gel. Posteriormente, los yogures presentaron una pequeña zona, a velocidades de cizalla que dependieron de su composición, donde sus valores de  $\eta_{ap}$  permanecieron constantes. Se ha informado que a velocidades de cizalla bajas, existe tiempo suficiente para la formación de nuevas uniones entre diferentes patrones de cadenas de biopolímeros, por lo que la densidad de entrecruzamiento de la red permanece constante y la viscosidad también permanece constante en un valor máximo denominado viscosidad de velocidad de cizalla cero ( $\eta_0$ ) (Morris, 1995). A partir de una velocidad de cizalla de alrededor de  $10^{-2} \text{ s}^{-1}$ , los yogures exhibieron disminuciones progresivas en sus valores de  $\eta_{ap}$ , comportándose como fluidos no newtonianos de tipo pseudoplástico (De Lorenzi *et al*, 1995). La  $\eta_{ap}$  de los materiales pseudoplásticos se aproxima al infinito, conforme la velocidad de cizalla se aproxima a cero (McClements, 1999). Disminuciones en la  $\eta_{ap}$  de fluidos pseudoplásticos al incrementarse el gradiente de velocidad de cizalla, han sido atribuidas a la deformación y/o reordenamiento de sus partículas en suspensión, originando ello una menor resistencia al flujo y en consecuencia una menor  $\eta_{ap}$  (Steffe, 1992; Daubert y Foegeding, 2003).

A pesar de que el comportamiento de la  $\eta_{ap}$  de todos los yogures con la velocidad de cizalla, siguió tendencias similares, los valores de este parámetro variaron con la composición de los yogures. Después de 2 d de almacenamiento, los yogures mostraron valores de  $\eta_{ap}$  a velocidades de cizalla bajas, aproximadamente de  $10^{-3} \text{ s}^{-1}$  a  $0.02 \text{ s}^{-1}$ , que difirieron en el siguiente orden (Figura 20):  $\text{YEM} > \text{YEMG} > \text{YCG} > \text{YG} > \text{YBG}$ . Conforme la velocidad de cizalla se incrementó, los valores de  $\eta_{ap}$  de los yogures YCG y YG (velocidades de cizalla  $> 0.1 \text{ s}^{-1}$ ) tendieron a ser similares; así como aquellos de los yogures YEM y YEMG (velocidades de cizalla  $> 40 \text{ s}^{-1}$ ). Por su parte, el yogur YBG presentó valores de  $\eta_{ap}$  más bajos que los del resto de los yogures en todo el rango de velocidad de cizalla estudiado. Los resultados expuestos señalan similitudes entre los comportamientos mecánicos de los yogures YEM y YEMG, así como entre los yogures YG y YCG a velocidades de cizalla relativamente elevadas. La reducción de los valores de  $\eta_{ap}$  de los yogures bajo incrementos de la velocidad de cizalla se conoce como comportamiento adelgazante o “shear thinning” y está asociado cercanamente con la sensación bucal producida por el alimento en el consumidor (Lobato-Calleros *et al.*, 2004). En este sentido, puede asumirse que el gel G, proporcionó al yogur YG reducido en grasa, una sensación bucal que semeja a la conferida por la grasa láctea al yogur YCG.

El comportamiento de los valores de  $\eta_{ap}$  viscosidad de los yogures YEM y YEMG, a los 7 y 14 d de almacenamiento, fue muy similar al mostrado después

de 2 d de almacenamiento (Figuras 21a y 21b); estos yogures exhibieron valores de  $\eta_{ap}$  más elevados que aquellos del resto de los yogures.

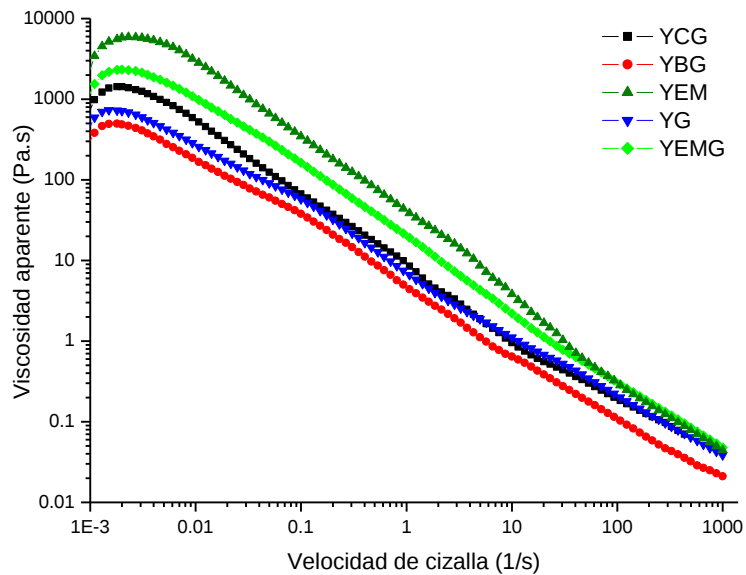


Figura 20. Comportamiento de la viscosidad aparente ( $\eta_{ap}$ ) de los yogures después de 2 días preparación en función de la velocidad de cizalla.

Los valores de  $\eta_{ap}$  de los yogures YCG, YG y YBG tendieron a ser similares a los 7 y 14 d de almacenamiento.

El modelo que permitió el mejor ajuste de los datos de las curvas de flujo de los yogures fue el de Carreau ( $R^2= 0.96$  a  $0.98$ ) (Ecuación 4):

$$\eta = \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{(1 + (\lambda\dot{\gamma})^2)^n} + \eta_\infty \quad \text{.....Ecuación 4}$$

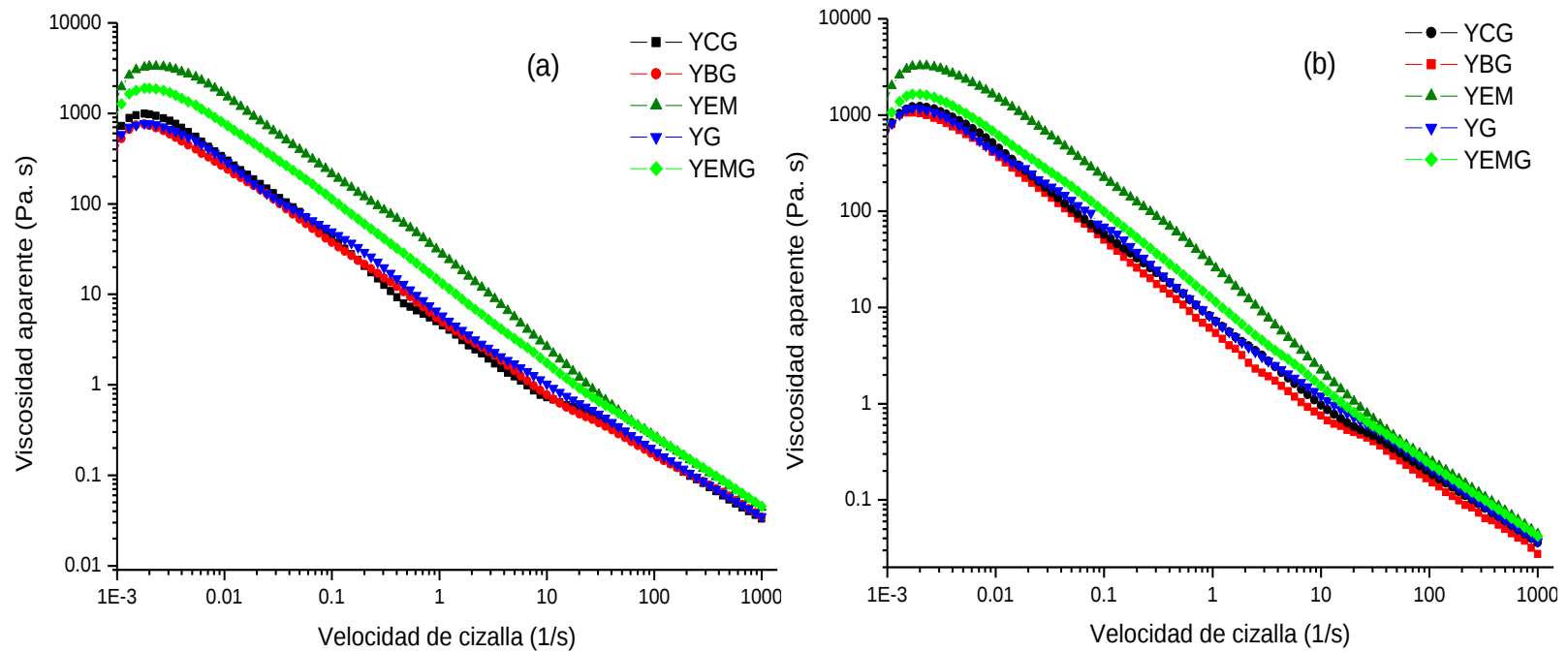


Figura 21. Comportamiento de la viscosidad aparente ( $\eta_{ap}$ ) de los yogures después de 7 (a) y 14 (b) días de preparación en función de la velocidad de cizalla.

Donde:

$\eta_{\infty}$ : viscosidad a velocidad de cizalla infinita

$\eta_0$ : viscosidad a velocidad de cizalla cero.

$\lambda$ : tiempo constante asociado al tiempo de relajación.

$\dot{\gamma}$ : velocidad de cizalla

$n$ : índice de ley de potencia (Steffe, 1996).

Los yogures presentaron diferencias significativas en los valores de los parámetros del modelo de Carreau al que se ajustó su comportamiento de flujo durante el periodo de almacenamiento (Cuadro 8). Estos resultados indican que la reducción en el contenido graso del yogur, así como la sustitución de la grasa láctea por la EM y/o el G, provocó la formación de distintos arreglos estructurales de la red proteínica de los yogures, los cuales a su vez, mostraron distintas respuestas mecánicas. Los yogures reducidos en grasa YEM y YEMG, conteniendo gotas de EM en sustitución de los glóbulos de grasa láctea, mostraron los valores más altos ( $p \leq 0.05$ ) de la relación  $\eta_0 - \eta_{\infty}$  y tendieron a presentar los valores más altos de índice de ley de potencia ( $n$ ) y los valores más bajos de tiempo de relajación ( $\lambda$ ), después de 2, 7 y 14 d de almacenamiento (Cuadro 8). A partir de los datos expuestos, se infiere que la EM confirió a la red proteínica de los yogures YEM y YEMG, las siguientes características: (a) la viscosidad más elevada a muy bajas velocidades de cizalla, atribuida a la formación de una red proteínica reversible en el estado de reposo (Darby, 1996); (b) el menor carácter adelgazante; esto es, hubo una

disminución menos pronunciada de su  $\eta_{ap}$  bajo incrementos de la velocidad de cizalla y (c) tiempos cortos en los que los biopolímeros alcanzaron un estado de relajación en disolución. El tiempo de relajación ( $\lambda$ ) está relacionado directamente con la ruptura y el tiempo de recuperación de los enlaces en un alimento; por lo que los valores bajos de  $\lambda$  presentados por los yogures YEM y YEMG, indican tiempos cortos necesarios para la recuperación de su estructura proteínica. La elevada viscosidad de los yogures YEM y YEMG puede explicarse en gran parte por el efecto espesante de la CMC usada para la estabilización de la EM con la que fueron incorporados. Janhøj *et al.* (2008) informaron que en la elaboración de una bebida láctea fermentada adicionada con 0.5 % p/p de CMC y otra con 0.5 % p/p de pectina de alto metoxilo, la bebida láctea que presentó una viscosidad mayor fue la que se elaboró con 0.5 % p/p de CMC. Así también se ha reportado que la CMC interactúa con las micelas de caseína (Everett y McLeod, 2005) y forma complejos solubles con las proteínas de la leche a bajos pH (Doublier *et al.*, 2000), favoreciendo el incremento de la viscosidad.

La reducción en el número de glóbulos grasos en el YBG sin su sustitución por algún otro componente, generó una red proteínica que exhibió propiedades de flujo opuestas a las observadas en los yogures YEM y YEMG, reflejando la formación de una red proteínica débil, con baja resistencia a la deformación. Así, la estructura de gel del yogur YBG fue caracterizada por: (a) los valores más bajos de viscosidad, siendo la relación  $\eta_0 - \eta_\infty$  significativamente menor a

aquellas presentadas por las estructuras de gel del resto de los yogures; (b) valores bajos de índice de ley de potencia ( $n$ ), indicando ello un mayor carácter pseudoplástico o adelgazante; esto es, sus valores de  $\eta_{ap}$  disminuyeron de forma acentuada bajo incrementos de la velocidad de cizalla, en particular después de 14 d de almacenamiento y (c) valores de  $\lambda$  que en general fueron cercanos a los del yogur YCG (Cuadro 8). El parámetro  $n$  es un exponente adimensional y está relacionado con el índice de comportamiento de flujo, refleja qué tanto se acerca el yogur a un comportamiento Newtoniano. Si  $n = 1$ , se trata de un fluido Newtoniano; si  $n < 1$ , el fluido presenta un comportamiento de adelgazamiento al corte (shear-thinning) o pseudoplástico y si  $n > 1$ , el fluido presenta un comportamiento de espesamiento al corte (shear-thickening) (Rao, 1999).

Por su parte, el yogur YCG fue caracterizado por parámetros de flujo que tendieron a presentar valores intermedios a aquellos determinados en los yogures YEM, YEMG y YBG (Cuadro 8). De esta manera, el yogur YCG presentó: (a) valores de viscosidad menores ( $p \leq 0.05$ ) a los mostrados por los yogures YEM y YEMG, pero mayores ( $p \leq 0.05$ ) a los determinados en los yogures YG y YBG, después de 2, 7 y 14 d de almacenamiento; (b) valores de  $\lambda$  mayores ( $p \leq 0.05$ ) que los encontrados en los yogures YEM y YEG y cercanos en general a los determinados en el yogur YG y (c) mayor carácter pseudoplástico que el encontrado en el yogur YEM, pero similar en general al del yogur YG. El comportamiento de flujo del yogur YCG, puede explicarse con

**Cuadro 8. Valores medios ( $\pm$  desviación estándar) de los términos del modelo de Carreau que obedecieron los yogures durante el tiempo de almacenamiento.**

| Código<br>del<br>yogur | Día 2                            |                      |                     | Día 7                            |                      |                     | Día 14                           |                      |                      |
|------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------|
|                        | $\eta_0 - \eta_\infty$<br>(Pa.s) | $\lambda$<br>(s)     | n                   | $\eta_0 - \eta_\infty$<br>(Pa.s) | $\lambda$<br>(s)     | n                   | $\eta_0 - \eta_\infty$<br>(Pa.s) | $\lambda$<br>(s)     | n                    |
| YCG                    | 1332.6 $\pm$                     | 306.7 $\pm$          | 0.44 $\pm$          | 1177.6 $\pm$                     | 287.7 $\pm$          | 0.42 $\pm$          | 1180.5 $\pm$                     | 292.0 $\pm$          | 0.43 $\pm$           |
|                        | 11.6 <sup>c, A</sup>             | 16.1 <sup>a, A</sup> | 0.0 <sup>b, A</sup> | 2.6 <sup>c, B</sup>              | 7.5 <sup>a, A</sup>  | 0.0 <sup>c, B</sup> | 12.5 <sup>c, B</sup>             | 16.0 <sup>b, A</sup> | 0.0 <sup>b, AB</sup> |
| YBG                    | 666.5 $\pm$                      | 255.0 $\pm$          | 0.40 $\pm$          | 678.6 $\pm$                      | 303.0 $\pm$          | 0.42 $\pm$          | 676.3 $\pm$                      | 289.1 $\pm$          | 0.40 $\pm$           |
|                        | 15.5 <sup>e, A</sup>             | 11.3 <sup>b, B</sup> | 0.0 <sup>c, A</sup> | 21.9 <sup>e, A</sup>             | 10.0 <sup>a, A</sup> | 0.0 <sup>c, A</sup> | 12.1 <sup>e, A</sup>             | 10.4 <sup>b, A</sup> | 0.0 <sup>c, A</sup>  |
| YEM                    | 4954.2 $\pm$                     | 131.1 $\pm$          | 0.51 $\pm$          | 2768.2 $\pm$                     | 127.0 $\pm$          | 0.50 $\pm$          | 2646.5 $\pm$                     | 117.7 $\pm$          | 0.49 $\pm$           |
|                        | 13.7 <sup>a, A</sup>             | 10.7 <sup>c, A</sup> | 0.0 <sup>a, A</sup> | 13.0 <sup>a, B</sup>             | 13.8 <sup>c, A</sup> | 0.0 <sup>a, B</sup> | 12.0 <sup>a, C</sup>             | 11.8 <sup>d, A</sup> | 0.0 <sup>a, B</sup>  |
| YG                     | 928.4 $\pm$                      | 294.7 $\pm$          | 0.42 $\pm$          | 930.1 $\pm$                      | 310.4 $\pm$          | 0.42 $\pm$          | 931.9 $\pm$                      | 326.5 $\pm$          | 0.43 $\pm$           |
|                        | 10.4 <sup>d, A</sup>             | 6.8 <sup>a, B</sup>  | 0.0 <sup>c, A</sup> | 11.6 <sup>d, A</sup>             | 5.0 <sup>a, AB</sup> | 0.0 <sup>c, A</sup> | 9.5 <sup>d, A</sup>              | 8.0 <sup>a, A</sup>  | 0.0 <sup>b, A</sup>  |
| YEMG                   | 1997.1 $\pm$                     | 230.1 $\pm$          | 0.46 $\pm$          | 1603.7 $\pm$                     | 213.0 $\pm$          | 0.44 $\pm$          | 1431.1 $\pm$                     | 160.2 $\pm$          | 0.44 $\pm$           |
|                        | 12.4 <sup>b, A</sup>             | 11.4 <sup>b, A</sup> | 0.0 <sup>b, A</sup> | 12.0 <sup>b, B</sup>             | 0.7 <sup>b, A</sup>  | 0.0 <sup>b, A</sup> | 11.6 <sup>b, C</sup>             | 10.5 <sup>c, B</sup> | 0.0 <sup>b, A</sup>  |

a, b, c, d y e Superíndices distintos en una misma columna, indican que las medias difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

A, B, C, D Superíndices distintos en una misma fila, indican que las medias difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

base en la contribución de un gran número de glóbulos de grasa láctea en la conformación y reforzamiento de su red proteínica; lo anterior, a través de interacciones entre los glóbulos de grasa láctea y las cadenas de caseína que formaron la estructura de gel de este yogur (Lobato-Calleros *et al.*, 2009).

Finalmente, la incorporación de fase  $\alpha$ -gel de monoestearato de sorbitán en sustitución de los glóbulos de grasa láctea, rindió un yogur reducido en grasa YG, que presentó parámetros reológicos cercanos a los mostrados por el yogur YCG (Cuadro 8). El mejoramiento de las propiedades mecánicas del yogur YG reducido en grasa láctea, parece indicar un reforzamiento estructural de su red proteínica, atribuido a la fase  $\alpha$ -gel del monoestearato de sorbitán incorporada en este yogur. Se ha informado que la adición de una red débil de polímeros a sistemas alimenticios, causa incrementos en sus propiedades viscoelásticas (McClements, 1999).

## **5.4. Evaluación sensorial**

### **5.4.1. Aceptabilidad global y de los atributos sensoriales de los yogures**

Las calificaciones de aceptabilidad global y por atributos asignadas por los 60 consumidores a los yogures, mostraron un rango amplio de variación (Cuadro 9), debido al carácter hedónico de la prueba. La figura 22 presenta los resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP) realizado a los datos de aceptabilidad, tanto global como por atributos sensoriales, de los yogures

(Cuadro 9). El primer componente explicó el 76.2 % de la varianza total de los yogures, y en éste la aceptabilidad global, la acidez, la apariencia, el sabor y la sinéresis de los yogures estuvieron correlacionados positivamente. El segundo componente explicó el 19.5 % de la varianza total de los yogures y en éste la cremosidad, la firmeza y la viscosidad estuvieron correlacionados negativamente con el aroma, la granulosis y el sabor residual, siendo la granulosis el atributo de mayor peso en este componente. Los dos componentes principales permitieron distinguir los atributos sensoriales de los yogures en función de su contenido graso y la naturaleza química de su fracción grasa. De acuerdo al espacio bidimensional que ocupó el yogur YCG, puede señalarse que la grasa láctea en una concentración de 3 % (p/p), le confirió atributos sensoriales de granulosis, aroma, sabor residual y sinéresis. En consecuencia, la reducción en el contenido de grasa láctea a 1 % (p/p), resultó en un yogur YBG, ubicado en una posición relacionada con valores menores de los atributos sensoriales mencionados para el yogur YCG.

La fase  $\alpha$ -gel de monoestearato de sorbitan (G) en el yogur reducido en grasa YG, contribuyó a sus atributos sensoriales de sabor, apariencia, firmeza, acidez y cremosidad, y finalmente también a la más alta calificación de aceptabilidad global; siendo esta última de 7.9 (Cuadro 9), valor muy cercano a 8.0, cuya descripción correspondió a “me gusta mucho”. Por su parte, la EM en combinación con el gel G, proporcionó una elevada viscosidad al yogur reducido en grasa YEMG. Finalmente, la EM usada en

**Cuadro 9. Valores medio ( $\pm$  DE) de la aceptabilidad por atributos asignados a las variaciones de yogur.**

| Código del yogur | Atributos         |                   |                  |                  |                   |                  |                  |                  |                  |                  |                   |
|------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
|                  | Viscosidad        | Cremosidad        | Sabor            | Aroma            | Acidez            | Apariencia       | Sinéresis        | Firmeza          | Granulosidad     | Sabor residual   | Aceptación global |
| YCG              | 5.5 $\pm$         | 4.8 $\pm$         | 6.2 $\pm$        | 6.3 $\pm$        | 5.7 $\pm$         | 6.0 $\pm$        | 6.5 $\pm$        | 5.1 $\pm$        | 7.6 $\pm$        | 7.4 $\pm$        | 6.9 $\pm$         |
|                  | 1.4 <sup>b</sup>  | 2.0 <sup>c</sup>  | 1.1 <sup>b</sup> | 1.3 <sup>a</sup> | 2.0 <sup>a</sup>  | 1.8 <sup>b</sup> | 1.5 <sup>a</sup> | 2.1 <sup>b</sup> | 1.4 <sup>a</sup> | 1.2 <sup>a</sup> | 1.0 <sup>bc</sup> |
| YBG              | 5.0 $\pm$         | 5.1 $\pm$         | 5.7 $\pm$        | 6.1 $\pm$        | 5.4 $\pm$         | 6.0 $\pm$        | 5.9 $\pm$        | 5.2 $\pm$        | 7.1 $\pm$        | 5.7 $\pm$        | 6.9 $\pm$         |
|                  | 1.9 <sup>bc</sup> | 1.7 <sup>bc</sup> | 1.9 <sup>b</sup> | 1.4 <sup>a</sup> | 1.7 <sup>ab</sup> | 1.6 <sup>b</sup> | 1.8 <sup>a</sup> | 1.8 <sup>b</sup> | 1.5 <sup>a</sup> | 2.0 <sup>b</sup> | 1.6 <sup>c</sup>  |
| YEM              | 4.7 $\pm$         | 4.6 $\pm$         | 4.2 $\pm$        | 5.1 $\pm$        | 4.9 $\pm$         | 4.8 $\pm$        | 4.5 $\pm$        | 4.4 $\pm$        | 4.5 $\pm$        | 4.4 $\pm$        | 4.4 $\pm$         |
|                  | 1.6 <sup>c</sup>  | 1.9 <sup>c</sup>  | 1.8 <sup>c</sup> | 1.7 <sup>b</sup> | 1.8 <sup>b</sup>  | 1.6 <sup>c</sup> | 1.8 <sup>b</sup> | 1.6 <sup>b</sup> | 2.0 <sup>c</sup> | 1.9 <sup>c</sup> | 1.9 <sup>d</sup>  |
| YG               | 7.5 $\pm$         | 6.1 $\pm$         | 7.5 $\pm$        | 5.9 $\pm$        | 5.8 $\pm$         | 7.0 $\pm$        | 6.4 $\pm$        | 6.6 $\pm$        | 6.1 $\pm$        | 6.7 $\pm$        | 7.9 $\pm$         |
|                  | 1.1 <sup>a</sup>  | 1.7 <sup>a</sup>  | 1.0 <sup>a</sup> | 1.5 <sup>a</sup> | 1.8 <sup>a</sup>  | 1.3 <sup>a</sup> | 1.9 <sup>a</sup> | 1.7 <sup>a</sup> | 1.8 <sup>b</sup> | 1.6 <sup>a</sup> | 0.8 <sup>a</sup>  |
| YEMG             | 7.6 $\pm$         | 5.6 $\pm$         | 7.2 $\pm$        | 6.1 $\pm$        | 5.7 $\pm$         | 6.2 $\pm$        | 6.1 $\pm$        | 6.2 $\pm$        | 5.6 $\pm$        | 5.5 $\pm$        | 7.4 $\pm$         |
|                  | 1.2 <sup>a</sup>  | 1.8 <sup>ab</sup> | 0.9 <sup>a</sup> | 1.6 <sup>a</sup> | 0.4 <sup>a</sup>  | 1.4 <sup>b</sup> | 1.9 <sup>a</sup> | 1.8 <sup>a</sup> | 1.8 <sup>b</sup> | 1.4 <sup>b</sup> | 1.0 <sup>ab</sup> |

<sup>a, b, c</sup> Superíndices distintos en la misma columna, indican que las medias difieren significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

sustitución de los glóbulos de grasa láctea en el yogur reducido en grasa YEM, tuvo efectos negativos sobre todos sus atributos sensoriales, incluyendo por tanto la aceptabilidad global.

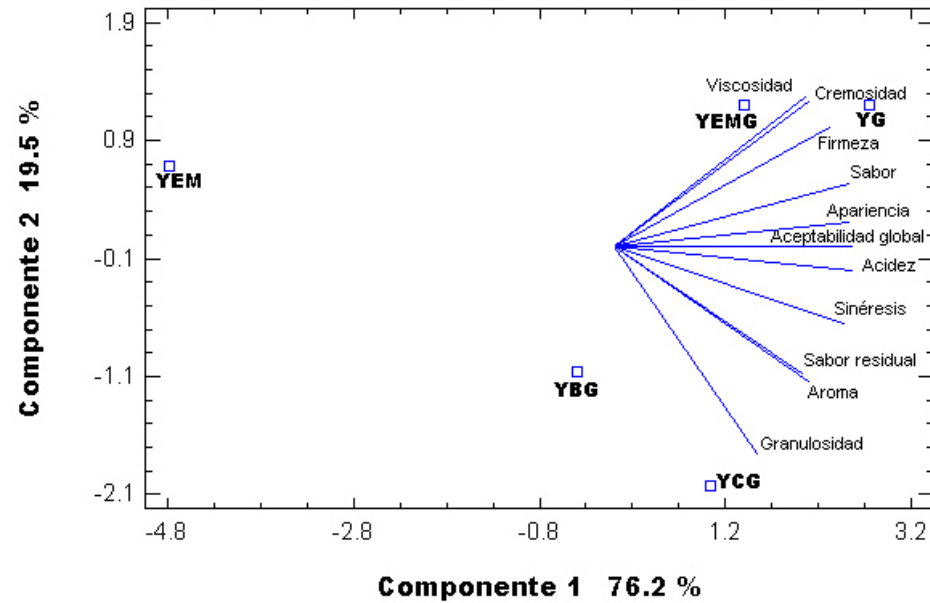


Figura 22. Análisis de Componentes Principales de la aceptabilidad de los atributos sensoriales y la aceptación global de los yogures.

## 6. CONCLUSIONES

La reducción del contenido de grasa láctea del yogur, así como la sustitución de ésta por una emulsión múltiple (EM) estabilizada con carboximetilcelulosa y concentrado de proteína de lactosuero y/o fase  $\alpha$ -gel de monoestearato de sorbitan (G), resultó en yogures que difirieron ampliamente en su composición química, sinéresis, comportamiento reológico y atributos sensoriales.

Ambas, la emulsión múltiple y la fase  $\alpha$ -gel, solas o en combinación, mejoraron las propiedades mecánicas de yogur reducido en grasa; sin embargo, la fase  $\alpha$ -gel emuló más cercanamente las contribuciones de la grasa láctea al comportamiento reológico del yogur.

La fase  $\alpha$ -gel también confirió atributos sensoriales de sabor, apariencia, firmeza, acidez y cremosidad al yogur reducido en grasa YG; de esta manera, este yogur obtuvo la calificación más alta de aceptación global, en comparación con el resto de los yogures, incluyendo al yogur completo en grasa (YCG).

Los conocimientos generados a través de la realización de este trabajo, pueden constituir herramientas útiles para el desarrollo de derivados lácteos novedosos reducidos en grasa, los cuales además presentarán variadas propiedades reológicas y buena aceptación por los consumidores.

## 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. Akalin, A. S., Unal, G., Gonc, S., y Fenderya, S. (2008). Effects of whey protein concentrate and fructooligosaccharide on the rheological and sensory properties of reduced-fat probiotic yoghurt. *Milchwissenschaft*, 63,171-174.
3. AOAC. (1995). *Official methods of analysis* (16<sup>th</sup> ed.). Arlington, Association of Official Analytical Chemists.
4. Aranceta, B. J. (2001). *Nutrición Comunitaria*, (2da. ed.). Barcelona, España: Masson.
5. Asano, Y. (1970). Interaction between casein and carboxymethyl cellulose in the acidic condition. *Agricultural and Biological Chemistry*, 34(1), 102-107.
6. Bayarri. S, González-Tomás, L., y Costell, E. (2009). Viscoelastic properties of aqueous and milk systems with carboxymethyl cellulose. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 441-450.
7. Barbosa, Cánovas, G. V., Kokini, J. L., Ma. L. y Ibarz, A. (1996). The rheology of semiliquid foods. *Advances in food and nutrition research*, 39, 1-69.

8. Becher, P. (1972). *Emulsiones: Teoría y práctica*, (2da ed.). Madrid, España: Blume.
9. Benson, F. R. (1987). Nonionic surfactants. En: M. J. Schick (Ed.), *Polyol surfactants* (pp. 247-256). Nueva York, NY: Marcel Dekker, Inc.
10. Boyle, E. (1997). Monoglycerides in food systems current and future uses. *Food Technology*, 51(8), 52-59.
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. Chupin, V., Boots, J. W. P., Killian, J. A., Demel, R. A. y de Kruijff, B. (2002). Thermotropic phase behavior of monoglyceride-dicetylphosphate dispersions and interactions with proteins. *Biophysical Journal*, 82, 843-851.
13. Coffey, D. G., Bell, D.A. y Henderson, A. (1995). Cellulose and cellulose derivatives. En: A. M. Stephen (Ed.), *Food Polysaccharides and their Applications* (pp: 123-153). Nueva York, NY: Marcel Dekker, Inc.
14. Daubert, C. R. y Foegeding, E. A. (2003). Rheological principles for food analysis. En: S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (pp: 507-508). Nueva York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
15. De Lorenzi, L, Prici, S. y Torriano, G. (1995). Rheological behaviour of low-fat and full-fat stirred yoghurt. *International Dairy Journal*, 5, 661-671.
16. Dickinson, E. (1985). Progress in the formulation of food emulsions and foams. *Food Technology*, 9, 74-81.
17. Dickinson, E. (1992). *An Introduction to Food Colloids*. Reino Unido: Press,

Oxford.

18. Dickinson, E. (1993). Protein-polysaccharide interactions in food colloids. En: E. Dickinson y P. Walstra (Eds.), *Food Colloids and Polymers: stability and mechanical properties* (pp: 77-93). Cambridge, RU: Royal Society of Chemistry.
19. Dickinson E. (1995). Emulsions stabilization by polysaccharides and protein-polysaccharide complexes. En: A. M. Stephen (Ed.), *Food Polysaccharides and their applications* (pp: 501-515). Nueva York, NY: Marcel Dekker, Inc.
20. Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39.
21. Dickinson, E. (2008a). Emulsification and emulsion stabilization with protein-polysaccharide complexes. En: P. A. Williams, y G. O. Phillips (Eds.). *Gums and stabilisers for the food industry* (pp.221-232). Cambridge, RU: Royal Society of Chemistry.
22. Dickinson, E. (2008b). Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein-polysaccharide interactions. *Soft Matter*, 4, 932-942.
23. Doerfert, G. H. (1962). Distilled monoglycerides. *Food Engineering*, 34, 97-100.
24. Doublier, J. L., Garnier, C., Renard, D. y Sanchez, C. (2000). Protein-polysaccharide interactions. *Current Opinion in Colloids and Interface Science*, 5(3-4), 202-214.

25. Everett, D. W., y McLeod, R. E. (2005). Interactions of polysaccharide stabilisers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *International Dairy Journal*, 15(11), 1175-1183.
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. Fenema, O. (1993). *Química de alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.
28. Ferry, J. S. (1980). *Viscoelastic properties of polymers*, (3rd ed.). Nueva York, NY: John Wiley and Sons.
29. Friberg, S. E. y Larsson, K. (1997). Food emulsifiers and their chemical and physical properties. En: N. J. Krog, (Ed.), *Food emulsions* (pp.151-175). Nueva York, NY: Marcel Dekker, Inc.
30. García, G. M. (1990). Yogur: Aspectos microbiológicos y de elaboración. *Tecnología Alimentaria*, 21(6), 5-14.
31. Garti, N. (1997). Double emulsions scope, limitations and new achievements. *Colloids and surfaces*, 123, 233-246.
32. Giese, J. (1996). Fats, oils and fat replacers. *Food Technology*, 50(4), 79-83.
33. Guggisberg, D., Cuthbert-Steven, J., Piccinali, P., Bütikofer, U. y Eberhard, P. (2009). Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. *International Dairy Journal*, 19, 107-115.

34. Gustaw, W., Glibowski, P. y Mleko, S. (2006). The rheological properties of yoghurt incorporated with whey protein aggregates/polymers. *Milchwissenschaft*, 61, 415-419.
35. Guven, M., Yasar, K., Karaca, O. B. y Hayaloglu, A. A. (2005). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 58, 180-184.
36. Harwalkar V. R. y Kalab M. (1986). Relationship between microstructure and susceptibility to syneresis in yogurt made from reconstituted nonfat dry milk. *Food microstructure*, 5, 287-294.
37. Heertje, I., Roigers, E. C. y Hendrick, H. A. C. (1998). Liquid crystalline phases in the structuring of food products. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 31, 387-396.
38. Hess, S. J., Roberts, R. F. y Ziegler, G. R. (1997). Rheological properties of nonfat yogurt stabilized using *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* producing exopolysaccharide or using commercial stabilizer systems. *Journal of Dairy Science*, 80, 252-263.
39. Huffman, L. M. y Harper, J. M. (1999). Maximizing the value of milk through separation technologies. *Journal of Dairy Science*, 82, 2238-2244.
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. Hyun, K., Kim, S. H., Ahn, K. H. y Lee, S. J. (2002). Large amplitude oscillatory shear as a way to classify the complex fluids. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 107, 51-65.
42. Isleten. M. y Karagul-Yuceer, Y. (2006). Effects of Dried Dairy Ingredients on Physical and Sensory Properties of Nonfat Yogurt. *Journal of Dairy Science*, 89, 2865-2872.
43. Imeson, A. (1997). *Thickening and gelling agents for food* (2nd ed.). Londres, RU: Blackie Academic and Professional.
44. Jager-Lezer, N., Terisse, I., Bruneau, F., Tokgoz, S., Ferreira, L., Clausse, D., Seiller, M. y Grossiord, J. L. (1997). Influence of lipophilic surfactant on the release kinetics of water-soluble molecules entrapped in a W/O/W multiple emulsion. *Journal of Controlled Release*, 45, 1-13.
45. Janhøj, T., Frøst, M. B. e Ipsen, R. (2008). Sensory and rheological characterization of acidified milk drinks. *Food Hydrocolloids*, 2, 798-806.
46. Jiahong, S., Flanagan, J., Hemar, Y. y Singh, H. (2006). Synergistic effects of polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilisation of water-oil-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 20, 261-268.
47. Jiao, J. (2002). Multiple emulsion stability: pressure balance and interfacial film strength. *Juornal of colloid and interface science*, 250, 444-50.
48. Kalab, M. (1998). *Watery yogurt? ©SCIMAT 1998*. Disponible en: [www.ciberus.ca/~scimat](http://www.ciberus.ca/~scimat). Consultado en: 02-10-2002.

49. 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.
50. Kika, K., Korlos, F., y Kiosseoglou, V. (2007). Improvement, by dry-heating, of the emulsion-stabilizing properties of a whey protein concentrate obtained through carboxymethylcellulose complexation. *Food Chemistry*, 104, 1153-1159.
51. Krog, N. y Larsson, K. (1968). Phase behaviour and rheological properties of aqueous systems of industrial distilled monoglycerides. *Chemistry and Physical of Lipids*, 2, 129-143.
52. Krog, N. J. (1997). Food emulsifiers and their chemical and physical properties. En: S. E. Friberg, y K. Larsson (Eds.), *Food emulsions* (pp: 141-188). Nueva York, NY: Marcel Dekker, Inc.
53. Lehninger, A. L. (1980). *Bioquímica, las bases moleculares de la estructura y función celular*, (2da ed.). Barcelona, España: Omega, S. A.
54. León, P. G., Chillo, S., Conte, A., Gerschenson, L. N., Del Nobile, M. A. y Rojas, A. M. (2009). Rheological characterization of deacylated/acylated gellan films carrying L-(+)-ascorbic acid. *Food Hydrocolloids*, 23, 1660-1669.
55. Linden, E. y Lorient, D. (1994). *Bioquímica agroindustrial, revalorización alimentaria de la producción agrícola*. Zaragoza, España: Acribia, S. A
56. Lobato, C. C., Martínez, T. O., Sandoval, C. O., Pérez, O. J. P. y Vernon, C. E. J. (2004). Flow and creep compliance properties of reduced- fat yogurts

- containing protein-based fat replacers. *International Dairy Journal*, 14, 777-782.
57. Lobato-Calleros, C., Rodríguez, E., Sandoval-Castilla, O., Vernon-Carter, E. J. y Alvarez-Ramirez, J. (2006). Reduced-fat white fresh cheese-like products obtained from  $W_1/O/W_2$  double emulsions: viscoelastic and high-resolution image analyses. *Food Research International*, 39, 678-685.
58. Lobato-Calleros, C. Sosa.Pérez, A., Rodríguez-Tafoya, J., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Alonso, C. y Vernon-Carter, E. J. (2008). Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from  $W_1/O/W_2$  emulsions and skim milk. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 41, 1847-1856.
59. Lobato-Calleros, C., Recillas-Mota, M. T., Espinosa-Solares, T., Alvarez-Ramirez, J. y Vernon-Carter, E. J. (2009). Microstructural and rheological properties of low-fat stirred yoghurts made with skim milk and multiple emulsions. *Journal of Texture Studies*, 40, 657–675.
60. López, G. A. (2003). *Manual de Industrias Lácteas*. Madrid, España: Mundi, Prensa libros.
61. Lucey, J. (2001). The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. *Food Hydrocolloids*, 15, 603-608.
62. McClements, D. J. (1999). *Food Emulsions. Principles, Practice and techniques*. Washington, DC: CRC Press.

63. McClements, D. J. (2004c). Role of hydrocolloids as emulsifiers in foods. En: P. A. Williams y G. O. Phillips (Eds.), *Gums and Stabilisers for the Food Industry* (pp: 381-393). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
64. Meilgaard, M, Civille G. V. y Carr B. T. (1999). *Sensory evaluation techniques*, (3rd ed.). Boca Raton, FL: CRC Press.
65. Mezger, T. G. (2002). *The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometer*. Hannover, Alemania: Vincentz Verlag.
66. Mistry, V. V. y Hassan, H. N. (1992). Manufacture of nonfat yogurt from a high milk protein powder. *Journal of Dairy Science*, 75(4), 947-957.
67. Morris, E. R. (1995). Polysaccharide rheology and in-mouth perception. En: A. M. Stephen (Ed.), *Food polysaccharides and their applications* (pp. 517-546). Nueva York, NY: Marcel Dekker, Inc.
68. Muguet, V., Seiller, M., Barratt, G., Ozer, O., Marty, J. P. y Grossiord, J. L. (2001). Formulation of shear rate sensitive multiple emulsions. *Journal of Controlled Release*, 70, 37-49.
69. Muller H. G. (1973). *Introducción a la Reología de los Alimentos*. Zaragoza España: Acribia.
70. Nissim, G. (1996). Double emulsions-scope, limitations and new achievements. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 123, 233-246.
71. Nissim, G. (1997). Progress in Stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications. *Food Science and Technology*, 30(3), 222-235.

72. NOM-F-444-1990. Norma mexicana para yogurt o leche búlgara.
73. Ojijo, N. K. O., Neeman, I., Eger, S. y Shimoni, E. (2004). Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1585-1593.
74. Organización Mundial de la salud. Informe sobre la salud en el mundo 2007. [www.who.int/whr/2007/07\\_report\\_es.pdf](http://www.who.int/whr/2007/07_report_es.pdf). Consultado en: 20-11-2009
75. 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.
76. Owen, S. R., Tung, M. A. y Paulson, A. T. (1992). Thermorheological studies of polymer dispersion. *Journal of Food Engineering*, 16, 39-53.
77. Owusu, A. R. K. y Zhu, Q. H. (1996). Interfacial parameters for spans and tweens in relation to water-in-oil-in-water multiple emulsion stability. *Food Hydrocolloids*, 10, 245-250.
78. Ozer, O., Muguet, V., Roy, E., Grossiord, J. L. y Seiller, M. (2000). Stability study of W/O/W viscosified multiple emulsions. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26, 1185-1189.
79. Penna, A., Sivieri, K. y Oliveira, M. (2001). Relation between quality and rheological properties of lactic beverages. *Journal of Food Engineering*, 49, 7-13.
80. Phillips, G. O. y Williams, P. A. (2000). *Handbook of hydrocolloids*. Boca Raton, FL: CRC Press.

81. Pomeranz, Y. (1991). *Functional Properties of Food Components*, (2nd ed.). San Diego, CA: Academic Press, Inc.
82. Rao, M. A. (1999). Rheological behavior of processed fluid and semisolid foods. En: M. A. Rao (Ed.), *Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications* (pp: 1-21). Gaithersburg, MD: Aspen Publishers.
83. Rendón, S. G. (1998). *Métodos estadísticos (Muestreo, diseños experimentales, estadística no paramétrica)*. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Edo. de México.
84. Rosano, H. L. 1997. Stability of  $W_1/O/W_2$  multiple emulsions influence on ripening and interfacial interactions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 138, 109-121.
85. Rosenthal, J. A. (2001). *Textura de los alimentos medida y percepción*. Zaragoza, España: Acribia.
86. Sagalowicz, L., Leser, M. E., Watzke, H. J. y Michel, M. (2006). Monoglyceride self-assembly structures as delivery vehicles. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 204-214.
87. Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E. y Vernon-Carter, E. J. (2004). Microestructure and texture of yogurt as influenced by fat replacer. *International Dairy Journal*, 14, 151-159.
88. Sandoval-Castilla, O. (2006). *Acción de emulsiones múltiples en la microestructura, propiedades mecánicas y funcionalidad de queso fresco*. Tesis de maestría en Biotecnología Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México D. F.

89. Sein, A., Verheij, J. A. y Agterof, W. G. M. (2002). Rheological characterization, crystallization, and gelation behavior of monoglyceride gels. *Journal of Colloid and Interface Science*, 249, 412-422.
90. Sela, Y., Magdassi, S. y Garti, N. (1995). Release of markers from the inner water phase of W/O/W emulsions stabilized by silicone based polymeric surfactants. *Journal of Controlled Release*, 33, 1-12.
91. Senff, H. y Richtering, W. J. (1999). Temperature sensitive microgel suspensions: colloidal phase behavior and rheology of soft spheres. *Journal of Chemical Physics*, 111(4), 1705-1711.
92. Shah, N. P. (2001). Functional food from probiotics and prebiotics. *Food Technology*, 55(11), 41-53.
93. Sherman, P. (1968). General Properties of emulsions and their constituents. En: P. Sherman (Ed.), *Emulsion Science* (pp: 332-333). Londres, Inglaterra: Academic Press.
94. Soroa, J. M. y Pineda, N. (1980). *Industrias Lácteas*, (4ta ed.). Madrid, España: Dossal.
95. Srinivasan, D. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70, 54-65.
96. Stauffer, C. E. (1997). *Emulsifiers*. St. Paul, MN: Eagen Press Handbook.
97. Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*, (2nd ed.). East Lansing, MI: Freeman Press.
98. Steventon, A. J., Parkinson, C. J., Fryer, P. J. y Bottomley, R. C. (1991). The rheology of yoghurt. En: E. Carter (ed.), *Rheology of Food, Pharmaceutical*

- and Biological Materials with General Rheology* (pp 196-2109). Barking, EUA: Elsevier Applied Science.
99. Tabilo-Munizaga, G. y Barbosa-Cánovas, V. (2005). Rheology for the food industry. *Journal of food Engineering*, 67, 147-156.
100. Takayuki, Ryouichi M., Hiroshi O., Yoshiaki K., Tomoaki H., Hirofomi T. y Toshiyuki N. (1993). Improvement of the stability of water-in-oil-in-water multiple emulsions by the addition of surfactants in the internal aqueous phase of the emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 93, 61-74.
101. Tamime, A. Y. y Robinson, R. K. (1991). *Yogur, Ciencia y Tecnología*. Zaragoza, España: Acribía.
102. Tamime, A.Y. y Robinson, R. K. (1999). *Yoghurt: science and technology*, (2nd ed.). Boca Raton, FL: CRC Press LLC.
103. Tesch, S. y Schubert, H. (2002). Influence of increasing viscosity of the aqueous phase on the short-term stability of protein stabilized emulsions. *Journal of Food Engineering*, 52, 305-312.
104. Tunikk, M. H., Mackey, K. L., Shieh, J. J., Smith, P. W., Cooke, P. y Malin, E. L. (1993). Rheology and microstructure of low-fat Mozzarella cheese. *International Dairy Journal*, 3, 649-662.
105. 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.

106. Vauthey, S., Milo, C., Frossard, P., Garti, N., Leser, M. E. y Watzke, H. J. (2000). Structured fluids as microreactors for flavor formation by the Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4808-4816.
107. Walstra, P. (1993). Principles of emulsion formation. *Chemical engineering science*, 48, 333-349.
108. Walstra, P. (2003). *Physical chemistry of food*. Nueva York, NY: Marcel Dekker, Inc.
109. 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.
110. Westerbeek, J. M. M., Prins, A. y Kussendrager, K. (1989). The  $\alpha$ -gel phase of glycerol lactopalmitate in whipped emulsions. En: R. D. Bee, P. Richmond y J. Mingins (Eds.), *Food Colloids* (pp: 364-367.). Cambrigde, RU: The Royal Society of Chemistry.
111. Windhab, E. (1991). Caratterizzazione reologica e strutturale di prodotti alimetary dispersi. *I quaderni dell'Istituto Lattiero Caseario di Thiene*, 95, I-19.
112. Xiong, Y. L., Aguilera, J. M. y Kinsella, J. E. (2001). Emulsified milkfat effects on rheology of acid-induced milk gels. *Journal Food Science*, 56, 920-925.