



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ESTUDIO SOBRE LA FORMACIÓN DE COACERVADOS COMPLEJOS DE
PROTEÍNA DE LACTOSUERO-ALGINATO DE SODIO: APLICACIÓN EN LA
ESTRUCTURACIÓN DE YOGUR REDUCIDO EN GRASA

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

PRESENTA

ALFREDO NAVA ZAMORA



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



DICIEMBRE 2012

Chapingo, Estado de México

ESTUDIO SOBRE LA FORMACIÓN DE COACERVADOS COMPLEJOS DE
PROTEÍNA DE LACTOSUERO-ALGINATO DE SODIO: APLICACIÓN EN LA
ESTRUCTURACIÓN DE YOGUR REDUCIDO EN GRASA

Tesis realizada por **Alfredo Nava Zamora** 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: *Consuelo S. O. Lobato Calleros*
DRA. CONSUELO S. O. LOBATO CALLEROS

ASESOR: *Eduardo Jaime Vernon Carter*
DR. EDUARDO JAIME VERNON CARTER

ASESOR: *Teodoro Espinosa Solares*
DR. TEODORO ESPINOSA SOLARES

DEDICATORIAS

A mis padres, Enriqueta Zamora Gutiérrez y Efrén Nava Trujano, por su determinación, entrega y apoyo que me han brindado en la vida y sabiendo que no existirán palabras y acciones con que agradecerles deseo que sientan que el objetivo logrado también es suyo, ya que la fuerza que me ayudo a conseguirlo fueron sus consejos y apoyo en los momentos difíciles. Esta tesis es suya.

A mis hermanos Arturo, Alejandro, Norma, Efrén y Miguel Ángel por su apoyo, amistad y confianza que me han demostrado.

A mis compañeros de la novena generación de la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria: Anahí Sánchez Cervantes, Araceli Torres Rodríguez, Carlos Cristóbal Espinosa Cruz, Celerino Vásquez Santiago, Flor Adriana Gallegos García, Guadalupe Cúspín Isidro, Guadalupe Sánchez Bolón, Irene Arenales Sierra y Juan Carlos Cuevas Bernardino por el apoyo y equipo que en algún momento formamos para llegar al final de esta etapa de nuestra formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) institución que me brindó el apoyo económico para la realización de los estudios de maestría.

A la Dra. Consuelo Silvia Olivia Lobato Calleros profesora del Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo por aceptar dirigir este proyecto y brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad esenciales para la culminación de este trabajo.

Al Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter profesor del Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa por aceptar ser parte de este proyecto y dedicar su tiempo para realizar valiosas sugerencias y acertados aportes.

Al Dr. Teodoro Espinosa Solares profesor del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo por aceptar ser parte de este proyecto y tener buena disposición para brindar asesorías y las observaciones pertinentes en la finalización de este trabajo.

DATOS BIOGRÁFICOS

Ing. Alfredo Nava Zamora, nació en San Miguel Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, realizó sus estudios de licenciatura en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo durante el período 2003-2007, titulándose con el trabajo de investigación: “Respuesta de frutos de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.) a tratamientos con 1-Metilciclopropeno (1-MCP) en postcosecha”. En lo profesional ha trabajado como Prestador de Servicios Profesionales para Financiera Rural, Agencia C, Petatlán, Guerrero. Asimismo ha tomado cursos de actualización tales como: Métodos avanzados en evaluación sensorial-pruebas de McNemar para decisión de compras, análisis de penalización y uso de escala hedónica; Curso corto de evaluación sensorial-pruebas de consumidores; Curso-taller de reología interfacial; Curso teórico-correlacionando las propiedades reológicas, de potencial Z y análisis de distribución de tamaño para la caracterización de un sistema particulado; Curso-taller formación de micro empresas y plan de negocios.

ESTUDIO SOBRE LA FORMACIÓN DE COACERVADOS COMPLEJOS DE PROTEÍNA DE LACTOSUERO-ALGINATO DE SODIO: APLICACIÓN EN LA ESTRUCTURACIÓN DE YOGUR REDUCIDO EN GRASA

STUDY ON WHEY PROTEIN-SODIUM ALGINATE COMPLEX COACERVATES FORMATION: APPLICATION IN THE STRUCTURE OF LOW-FAT YOGURT

Nava-Zamora A., Lobato Calleros C. S. O., Vernon-Carter E. J., Espinosa-Solares T.

RESUMEN

Los objetivos de este trabajo fueron: (a) investigar la formación de complejos electrostáticos de proteína de lactosuero (PL) con alginato de sodio (AS) como función de la relación de biopolímeros ($R_{PL/AS}$) y el pH; (b) determinar el rendimiento y las propiedades reológicas de los complejos coacervados $CC_{x,y}$: $CC_{3.5,4:1}$, $CC_{3.5,6:1}$, $CC_{4.0,8:1}$ y $CC_{4.0,10:1}$; donde $x = \text{pH}$ y $y = R_{PL/AS}$ y (c) determinar la composición, propiedades reológicas, sinéresis y aceptabilidad sensorial de cuatro yogures bajos en grasa ($Y_{CC_{3.5,4:1}}$, $Y_{CC_{3.5,6:1}}$, $Y_{CC_{4.0,8:1}}$ y $Y_{CC_{4.0,10:1}}$) incorporados con $CC_{x,y}$ en sustitución parcial de la grasa láctea. Los resultados indicaron que se lograron rendimientos de coacervación óptimos a $\text{pH} = 3.5$ y $R_{PL/AS} = 4:1$ y $6:1$, y a $\text{pH} = 4.0$ y $R_{PL/AS} = 8:1$ y $10:1$. Los $CC_{x,y}$ mostraron un comportamiento predominantemente elástico en el rango de frecuencia estudiado y en la región viscoelástica lineal. El $Y_{CC_{3.5,6:1}}$ mostró propiedades viscoelásticas y sensoriales semejantes a aquellas del yogur control completo en grasa.

Palabras clave: Coacervación compleja, proteínas de lactosuero, alginato de sodio, yogur

ABSTRACT

The objectives of this work were to investigate the formation of electrostatic complexes of whey protein (PL) with sodium alginate (AS) as a function of the biopolymers ratio ($R_{PL/AS}$) and pH; to determine the yield, and the rheological properties of the complex coacervates $CC_{x,y}$: $CC_{3.5,4:1}$, $CC_{3.5,6:1}$, $CC_{4.0,8:1}$, and $CC_{4.0,10:1}$; where $x = \text{pH}$ and $y = R_{PL/AS}$ and to determine the composition, rheological properties, syneresis, and sensory acceptability of four low-fat yogurts ($Y_{CC_{3.5,4:1}}$, $Y_{CC_{3.5,6:1}}$, $Y_{CC_{4.0,8:1}}$ and $Y_{CC_{4.0,10:1}}$) incorporated with $CC_{x,y}$ in partial substitution of the milk-fat. Results indicated that optimum coacervate yield was achieved at $\text{pH} = 3.5$ and $R_{PL/AS} = 4:1$ and $6:1$, and at $\text{pH} = 4.0$ and $R_{PL/AS} = 8:1$ and $10:1$. The $CC_{x,y}$ showed a predominantly solid like behavior in the frequency range assayed and in the linear viscoelastic region. The $Y_{CC_{3.5,6:1}}$ showed viscoelastic and sensory properties that resembled more closely those of the full-fat control yogurt.

Keywords: Complex coacervation, whey proteins, sodium alginate, yogurt

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Alimentos funcionales.....	4
2.1.1. Concepto y terminología	5
2.1.2. Ingredientes o elementos favorecedores de la salud.....	6
2.2. Fibra dietética.....	7
2.2.1. Concepto de fibra dietética	7
2.2.2. Componentes de la fibra dietética	8
2.2.3. Importancia de la fibra dietética en los alimentos	9
2.2.4. Alginato de sodio (AS).....	10
2.3. Proteínas de lactosuero (PL)	12
2.3.1. β -lactoglobulina.....	15
2.3.2. α -lactoalbúmina	16
2.4. Coacervación compleja	17
2.5. Espectrofotometría	20
2.5.1. Leyes de absorción de radiación.....	21

2.6. Reología	22
2.7. Evaluación sensorial.....	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1. Materiales	28
3.2. Desarrollo y caracterización de coacervados $CC_{PL/AS}$	28
3.2.1. Preparación de disoluciones base	28
3.2.2. Preparación y formación de coacervados $CC_{PL/AS}$	29
3.2.3. Rendimiento y contenido de humedad de coacervados $CC_{PL/AS}$	30
3.2.4. Caracterización reológica de coacervados $CC_{PL/AS}$	31
3.3. Variaciones de yogur	32
3.4. Elaboración de yogur	32
3.5. Composición química del yogur	33
3.6. Sinéresis del yogur.....	33
3.7. Caracterización reológica del yogur	33
3.8. Evaluación sensorial	34
3.9. Análisis estadístico	35
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1. Análisis turbidimétrico	36
4.2. Diagrama de estado	38
4.3. Rendimiento y contenido de humedad de coacervados $CC_{PL/AS}$	41
4.4. Caracterización reológica de coacervados $CC_{PL/AS}$	44
4.4.1. Curvas de flujo	44

4.4.2. Barridos de amplitud	47
4.4.3. Barridos de frecuencia	51
4.5. Composición química y sinéresis del yogur	55
4.6. Caracterización reológica del yogur	59
4.6.1. Barridos de amplitud	59
4.6.2. Barridos de frecuencia	67
4.7. Evaluación sensorial	72
5. CONCLUSIONES	78
6. BIBLIOGRAFÍA	80

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Efecto del pH y la $R_{PL/AS}$ sobre el rendimiento de los $CC_{PL/AS}$	42
Cuadro 2. Efecto del pH y la $R_{PL/AS}$ sobre el contenido de humedad de los $CC_{PL/AS}$	43
Cuadro 3. Parámetros reológicos del modelo de Carreau para los $CC_{PL/AS}$	46
Cuadro 4. Valores del módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y $\tan \delta$ de los $CC_{PL/AS}$ en la región viscoelástica lineal	48
Cuadro 5. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los $CC_{PL/AS}$ en el límite inferior y superior de los barridos de frecuencia	53
Cuadro 6. Composición química de las variaciones de yogur	55
Cuadro 7. Valores de pH y sinéresis de los yogures a los 7 y 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.....	56
Cuadro 8. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los yogures en la región viscoelástica lineal durante el tiempo de almacenamiento a 5 ± 1 °C	64
Cuadro 9. Valores del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures en la región viscoelástica lineal durante el tiempo de almacenamiento a 5 ± 1 °C	66
Cuadro 10. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los yogures determinados a 0.1 Hz durante su almacenamiento a 5 ± 1 °C	71
Cuadro 11. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los yogures determinados a 10 Hz durante su almacenamiento a 5 ± 1 °C	71
Cuadro 12. Medias de las calificaciones asignadas a los atributos y la aceptabilidad	

global de los yogures después de 7 d de almacenamiento.....	73
Cuadro 13. Medias de las calificaciones asignadas a los atributos y la aceptabilidad	
global de los yogures después de 15 d de almacenamiento.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Componentes del alginato de sodio: bloques G-G, M-M y M-G	11
Figura 2. Factores que influyen sobre las propiedades funcionales de las PL	14
Figura 3. Estructura primaria de la β -lg bovina A.....	16
Figura 4. Representación esquemática de la evolución de la turbidez durante la acidificación de un sistema proteína-poli-electrolito fuerte (curva sólida) o con un polielectrolito con un pK_a fijo a $pH = 2$ (curva punteada).....	19
Figura 5. Efectos de la incidencia de luz.....	21
Figura 6. Esquema de la absorción de radiación en una solución.....	22
Figura 7. Percepciones de un consumidor hacia un producto alimenticio	26
Figura 8. Clasificación de las pruebas sensoriales	27
Figura 9. Absorbancia de dispersiones de aislado de proteína de lactosuero (PL)-alginato de sodio (AS) (1 % p/p) a diferentes relaciones PL/AS en función del pH	36
Figura 10. Diagrama de estado del sistema aislado de proteína de lactosuero-alginato de sodio (1 % p/p) a una temperatura de 25 ± 1 °C, como una función de la relación proteína-polisacárido	39
Figura 11. Variación de la viscosidad aparente de los $CC_{PL/AS}$ como función de la velocidad de cizalla	45
Figura 12. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los $CC_{PL/AS}$ como función de la deformación	48
Figura 13. Variación del módulo de pérdida (G'') de los $CC_{PL/AS}$ como función de la	

deformación	49
Figura 14. Variación del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los $CC_{PL/AS}$ como función de la deformación	51
Figura 15. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los $CC_{PL/AS}$ como función de la frecuencia	52
Figura 16. Variación del modulo de pérdida (G'') de los $CC_{PL/AS}$ como función de la frecuencia.....	52
Figura 17. Variación del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los $CC_{PL/AS}$ como función de la frecuencia.....	54
Figura 18. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los yogures como función de la deformación, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.....	60
Figura 19. Variación del módulo de pérdida (G'') de los yogures como función de la deformación, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C	60
Figura 20. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los yogures como función de la deformación, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.....	61
Figura 21. Variación del módulo de pérdida (G'') de los yogures como función de la deformación, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C	61
Figura 22. Variación del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures como función de la deformación, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C	65
Figura 23. Variación del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures como función de la deformación, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C	66
Figura 24. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los yogures como función de la frecuencia, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C	67

Figura 25. Variación del módulo de pérdida (G'') de los yogures como función de la frecuencia, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C	68
Figura 26. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los yogures como función de la frecuencia, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C	68
Figura 27. Variación del módulo de pérdida (G'') de los yogures como función de la frecuencia, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C	69
Figura 28. Análisis de Componentes Principales de los atributos sensoriales y aceptabilidad global de los yogures después de 7 d de elaborados	76
Figura 29. Análisis de Componentes Principales de los atributos sensoriales y aceptabilidad global de los yogures después de 15 d de elaborados	77

1. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 30 años, las tendencias mundiales de la alimentación se han enfocado en el progresivo interés de los consumidores por mejorar su salud física y mental, así como en reducir el riesgo de padecer enfermedades específicas, convirtiéndose de esta manera el diseño de nuevos productos e ingredientes con propiedades específicas en un área en expansión, científica y tecnológicamente prioritaria y esencial para la industria agroalimentaria (Alvídrez *et al.*, 2002; Gimeno, 2003; Molina y Martín, 2007). Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de cantidades adecuadas de fibra dietética (FD) (25 a 35 g d⁻¹ en adultos) promueve múltiples efectos benéficos y protectores en la salud del individuo, reduciendo los riesgos de padecer cáncer de colon, diverticulosis, diabetes y obesidad, reduce los niveles altos de colesterol y glucosa en la sangre y previene el estreñimiento, entre otros (Vilaplana, 2001; García *et al.*, 2002; Trumbo *et al.*, 2002; Pelayo, 2003; Beristain *et al.*, 2006). Sin embargo, en México el consumo promedio diario de FD en la población adulta e infantil es menor a la cifra recomendada, siendo la principal fuente de aporte la tortilla a base de maíz (García *et al.*, 2002). Por otra parte, en los últimos años, el descubrimiento del lactosuero como un alimento funcional ha propiciado que sea considerado como un co-producto del proceso de elaboración de queso y manufactura de caseína, siendo de esta manera las proteínas del lactosuero (PL) utilizadas en una amplia gama de productos tales como bebidas deportivas, productos horneados, carnes procesadas, aderezos y helados (Marshall, 2004; Dissanayake y Vasiljevic, 2009).

En este contexto, con el propósito de favorecer la ingesta de fibra dietética (FD) y aprovechar las propiedades funcionales y nutricionales de las proteínas de lactosuero (PL) se ha sugerido su incorporación en una amplia gama de alimentos, siendo el sector lácteo el que más ha respondido a la conciencia del consumidor por su interés en alimentos funcionales (Díaz *et al.*, 2004; Molina y Martín, 2007; Martínez *et al.*, 2008).

Los polisacáridos y las proteínas son los dos biopolímeros más importantes que se utilizan en la industria alimentaria y diversas investigaciones han informado que la coacervación compleja de estas macromoléculas, a través de interacciones electrostáticas, es considerada como fenómeno potencial para la elaboración de productos alimenticios novedosos, ya que algunas aplicaciones industriales que se dan a los coacervados complejos son como ingredientes funcionales que contribuyen a estabilización interfacial, formación de películas comestibles, procesos de micro y nano encapsulación de vitaminas y sabores, obtención de texturizantes como sustitutos de grasa y análogos de carne o caviar, formación de nuevos geles alimenticios y recuperación de proteínas a partir de subproductos industriales (Gimeno, 2003; Turgeon y Laneuville, 2009; Moschakis *et al.*, 2010).

Considerando lo anterior, una opción para el diseño y estructuración de alimentos con bajo contenido de grasa, la puede constituir el aprovechamiento de interacciones entre biopolímeros, ya que se considera pueden contribuir a las propiedades reológicas y sensoriales de los productos alimenticios y además se menciona que las propiedades térmicas, físicas y mecánicas de los complejos binarios, en general, son mejores que las de los biopolímeros individuales (Ye, 2008). Con base en lo expuesto, los objetivos de este trabajo fueron: (a) investigar la formación de complejos electrostáticos de proteína

de lactosuero (PL) con alginato de sodio (AS) como función de la relación de biopolímeros ($R_{PL/AS}$) y el pH; (b) determinar el rendimiento y las propiedades reológicas de los complejos coacervados formados y (c) determinar la composición, propiedades reológicas, sinéresis y aceptabilidad sensorial de yogures bajos en grasa incorporados con complejos coacervados en sustitución parcial de la grasa láctea.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Alimentos funcionales

Las tendencias en la alimentación mundial han variado durante las últimas tres décadas generando un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos que además del valor nutritivo, aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano permitiendo de esta manera mejorar la calidad de vida y el bienestar integral del individuo. Lo anterior, ha generado que el concepto de nutrición adquiriera un nuevo enfoque terapéutico y preventivo que ha promovido una nueva área de desarrollo en la ciencia de los alimentos que corresponde a la de los “alimentos funcionales” (Alvídrez *et al.*, 2002; Araya y Lutz, 2003; Gimeno, 2003; Silveira *et al.*, 2003).

El concepto de alimento funcional se introdujo en Japón durante la década de los 80's con la finalidad de abatir los elevados gastos que suponían los seguros de salud de la población japonesa, con alta expectativa de vida, a base de consumir alimentos que no sólo fueran saludables sino que también proporcionaran agentes bioactivos que permitieran prevenir diversas enfermedades o fortalecer el sistema inmunológico del consumidor (Araya y Lutz, 2003; Gimeno, 2003; Pelayo, 2003; Zeni, 2007).

Japón es el único país que tiene un proceso regulador específico para la aprobación de alimentos funcionales conocidos como “alimentos para uso específico de salud” (Foods for Specified Health Use, FOSHU). En la actualidad, este país cuenta con 778 productos con licencia FOSHU, los cuales son aprobados por el Ministerio de Salud,

Trabajo y Bienestar del gobierno japonés tras la presentación de pruebas exhaustivas con fundamento científico, que apoyen la alegación relativa a las propiedades de dichos alimentos cuando son consumidos como parte de una dieta ordinaria (Gimeno, 2003; Pelayo, 2003; Silveira *et al.*, 2003; Zeni, 2007).

En Estados Unidos y la Unión Europea el desarrollo y regulación de alimentos funcionales se intensificó en la década de los 90's y en América Latina los esfuerzos aún son reducidos (Pelayo, 2003). En los Estados Unidos, a pesar de que la categoría de alimentos funcionales no está legalmente reconocida, se considera que un alimento de este tipo debe estar siempre “modificado” de alguna forma que proporcione beneficios a la salud en adición de su valor nutricional propio (Gimeno, 2003; Silveira *et al.*, 2003). En México, a pesar de que el término alimento funcional se utiliza con frecuencia entre la comunidad científica, a la fecha no hay leyes que reglamenten específicamente el uso de estos alimentos (Alvídrez *et al.*, 2002).

2.1.1. Concepto y terminología

No hay definición legal de manera consensuada en la comunidad científica para “alimentos funcionales”, ya que el principal dilema con respecto a la regulación de este tipo de alimentos es que se encuentran en el límite entre los alimentos y los medicamentos, sin embargo algunas de las definiciones más aceptadas son las que se presentan a continuación:

- Para Japón son aquellos “alimentos procesados que contienen ingredientes que ayudan a funciones corporales específicas, además de ser nutritivos” (Servicio Nacional del Consumidor (SERNAC), 2004).

- Para la comunidad Europea un alimento es funcional “si contiene un componente alimenticio (sea o no un nutriente) con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse que es funcional (fisiológico) o incluso saludable” (SERNAC, 2004).
- Para la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos los alimentos funcionales son aquellos “alimentos modificados, o que tengan un ingrediente que demuestre una acción que incremente el bienestar del individuo o disminuya los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de los nutrientes que contiene” (SERNAC, 2004).
- Para el Instituto de Nutrición y Tecnología de la Universidad de Chile los alimentos funcionales son aquellos “alimentos que en forma natural o procesada, contienen componentes que ejercen efectos benéficos para la salud, que van más allá de la nutrición” (SERNAC, 2004).
- Para el Centro de Información Internacional de Alimentos (IFIC) son “aquellos productos a los cuales intencionalmente se les adiciona un compuesto específico para incrementar sus propiedades saludables” y define como alimentos saludables a aquellos que en su estado natural o con un mínimo de procesamiento, tienen compuestos con propiedades benéficas para la salud (Araya y Lutz, 2003).

2.1.2. Ingredientes o elementos favorecedores de la salud

Actualmente en Japón existen 11 categorías de ingredientes funcionales incluidos en el sistema FOSHU: fibra alimentaria, oligosacáridos, alcoholes derivados de azúcares,

ácidos grasos poli-insaturados, péptidos y proteínas, glucósidos, isoprenoides y vitaminas, alcoholes y fenoles, colinas (lecitina), bacterias ácido lácticas (BAL), minerales y otros (Mazza, 2000).

En México, las declaraciones de propiedades nutrimentales, están enfocadas a las enfermedades comunes tales como: diabetes, colesterol, sobrepeso, osteoporosis, estrés y mala digestión, siendo uno de los principales cambios en los ingredientes de algunos productos la integración de fibra y la reducción en el contenido de grasa (Santana, 2009).

2.2. Fibra dietética

La fibra dietética (FD) que se reconoce actualmente como un elemento de gran importancia para una nutrición sana, es un grupo de sustancias de origen vegetal, es decir un conjunto heterogéneo de moléculas complejas que tienen características en común tales como: 1) son inatacables por fermentos y enzimas digestivas, 2) son parcialmente atacables por las bacterias del colon y 3) son sustancias osmóticamente activas (Vilaplana, 2001; García *et al.*, 2002; Escudero y González, 2006).

2.2.1. Concepto de fibra dietética

Actualmente, no existe un concepto universal ni un método analítico que permita medir todos los componentes alimentarios que ejercen los efectos fisiológicos de la fibra, por lo que este término presenta diferentes definiciones:

- Para Rojas-Hidalgo (1994) la fibra no es una sustancia sino una serie de conceptos que difieren de acuerdo a la mente de botánicos, químicos, fisiólogos, nutriólogos o gastroenterólogos.

- Para la American Association of Cereal Chemist (2001) “la fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos benéficos fisiológicos como laxante, atenúa los niveles de colesterol y glucosa en sangre”.

2.2.2. Componentes de la fibra dietética

Considerando las definiciones recientes sobre FD, el número de sustancias incluidas se ha incrementado; sin embargo, de acuerdo con Escudero y González (2006) y Molina y Martín (2007) las principales sustancias que componen la FD son:

1. Componentes de la pared celular de los vegetales:
 - Celulosa
 - Hemicelulosas
 - Sustancias pécticas
 - Ligninas

2. Polisacáridos utilizados como aditivos alimentarios en el procesamiento de alimentos funcionales:
 - Gomas vegetales
 - Alginatos
 - Goma xantana o xantano
 - Polidextrosa

3. Compuestos asociados a la fibra:

- Inulina
- Oligofruktosa

4. Fibras de origen animal

Son sustancias parecidas a los hidratos de carbono que se encuentran principalmente en alimentos de origen animal, entre las cuales se encuentran:

- Quitina y Quitosano
- Colágeno
- Condroitina

2.2.3. Importancia de la fibra dietética en los alimentos

Garduño y Morales (2005) mencionan que el concepto de FD ha evolucionado a través del tiempo favoreciendo el desarrollo de productos adicionados o enriquecidos con FD y su importancia se puede evaluar desde diversos puntos de vista:

- Nutricional.- La deficiencia en FD se relaciona con la mayor incidencia de enfermedades presentes en los países desarrollados como: constipación, hemorroides, diverticulosis, obesidad, diabetes, etc.
- Tecnológico.- Son una herramienta eficaz y versátil ya que permiten su adición sin que se generen cambios considerables en textura; asimismo sirven para disminuir o sustituir otros ingredientes como grasas y azúcares, evitan la aglutinación, dan protección a aromas, mejoran las características organolépticas, entre otras.

- De negocio.- Hay una marcada tendencia hacia la elaboración de alimentos con fibras debido a que los consumidores asocian a los alimentos que contienen fibra como alimentos saludables.

De acuerdo con el grado de solubilidad en agua, la fibra se clasifica en:

- Fibra soluble (FS).- Este grupo incluye pectinas, gomas, mucílagos y algunas hemicelulosas. Este tipo de fibras en contacto con el agua forman un retículo donde queda atrapada, originándose soluciones de gran viscosidad (García *et al.*, 2002; Escudero y González, 2006).
- Fibra insoluble (FI).- Este tipo de fibra incluye principalmente a la celulosa, la lignina y algunas hemicelulosas. Estas fibras son capaces de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad (García *et al.*, 2002; Escudero y González, 2006).

Tanto la FS como la FI pueden ser utilizadas en la formulación de alimentos aumentando el contenido de FD, modificando las características texturales, estabilizando sistemas, así como influenciando el sabor de los alimentos. Utilizando bajos niveles de fibra de entre 0.1-0.2 % se obtiene un efecto sobre la viscosidad de soluciones y actúa como agente de volumen, afectando la suavidad y textura (Nelson, 2001).

2.2.4. Alginato de sodio (AS)

El término alginato se refiere a una familia de copolímeros lineales poli-aniónicos cuya fuente de producción son las algas marinas y bacterias. Los alginatos comercialmente disponibles se obtienen principalmente de las algas pardas (*Laminaria hyperborea*,

Ascophyllum nodosum y *Macrocystis pyrifera*) (Sutherland, 1991). El alginato de sodio está constituido de dos bloques, α -L ácido gulurónico (G) y β -D ácido manurónico (M) unidos por enlaces 1,4 (Figura 1) (Goh *et al.*, 2012). La proporción que existe entre G y M da lugar a por lo menos tres diferentes segmentos poliméricos: los segmentos que contienen GG y MM, así como regiones con segmentos alternados GM lo que contribuye a generar variadas características en lo que se refiere a estructura y biocompatibilidad. Este polisacárido hidrofílico es soluble en soluciones acuosas, estable a pH 4-10 y presenta un peso molecular de 90000-290000 Da (Gaserod *et al.*, 1998; Becker *et al.*, 2001).

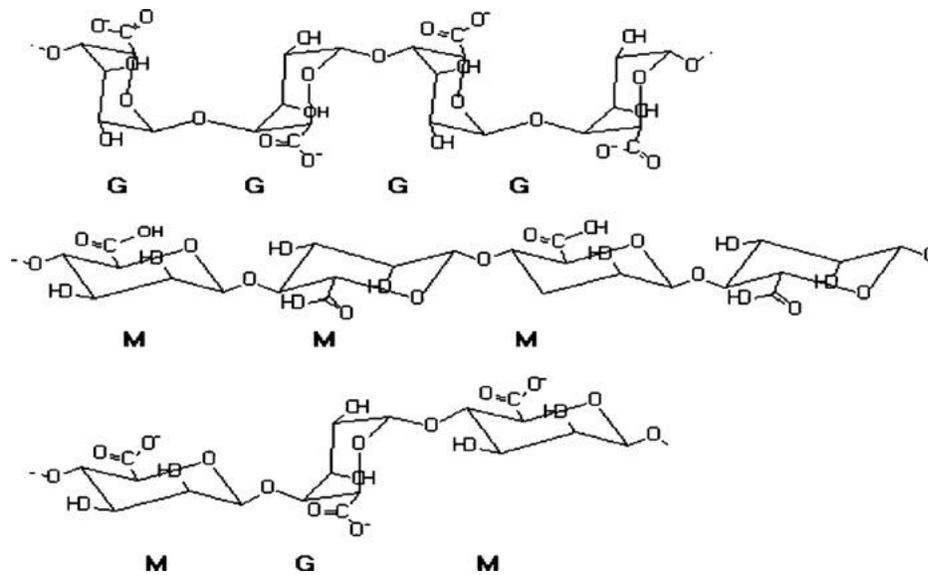


Figura 1. Componentes del alginato de sodio: bloques G-G, M-M y M-G.

Fuente: Goh *et al.*, 2012.

Alginatos ricos en bloques G formarán geles rígidos y frágiles en presencia de Ca^{2+} ; mientras que alginatos ricos en bloques M y GM formarán geles elásticos. El alginato de sodio se puede entrecruzar con cationes divalentes (Ca^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , etc.) o trivalentes (Al^{3+} , etc.), preferentemente, en los sitios de unión de los iones sodio que se sitúan en los

segmentos poli-gulurónicos produciendo un modelo entrecruzado llamado “caja de huevo”. La reactividad con Ca^{2+} produce un gel insoluble en medio ácido pero soluble en medio alcalino (Gombotz y Wee, 1998).

La principal aplicación comercial del alginato es en forma de sal, siendo ampliamente utilizado en la industria alimentaria, farmacéutica y de papel. En la industria de bebidas y alimentos el alginato de sodio es uno de los ingredientes más importantes ya que se utiliza como estabilizante y espesante en una amplia gama de productos que incluyen gelatinas, leche con chocolate y helado, entre otros (Goh *et al.*, 2012).

Los derivados de alginato se utilizan también en la industria de procesamiento de alimentos para la producción de productos cárnicos, aros de cebolla y en la industria de la biotecnología para la producción de perlas para la inmovilización de células y enzimas e inclusive han sido ampliamente utilizados en la encapsulación de proteínas para su liberación controlada dentro del cuerpo humano (Gombotz y Wee, 1998).

2.3. Proteínas de lactosuero (PL)

Las proteínas de la leche se consumen ampliamente como alimento, particularmente en países desarrollados. Su uso en la dieta humana, desde épocas remotas, y su relativa facilidad de purificación a partir de la leche cruda han contribuido a su extensa caracterización; en consecuencia las proteínas de la leche son probablemente las mejor caracterizadas de las proteínas de todos los alimentos; por ejemplo, la estructura primaria de todas las proteínas de leche de bovino se conoce, así como la estructura tridimensional de la mayoría de las proteínas del lactosuero (PL) (Swaisgood, 2003). La leche contiene dos fuentes de proteínas, la caseína y el lactosuero (proteínas de

lactosuero). Las caseínas son las proteínas responsables de la cuajada en la elaboración de queso; mientras que las PL se mantienen en un medio acuoso (suero de leche). El lactosuero fue considerado en algún tiempo un producto de desecho; sin embargo, en los últimos años los componentes de la leche han sido reconocidos como alimentos funcionales propiciando con ello que en la actualidad el lactosuero sea considerado un co-producto del proceso de elaboración de queso y de la manufactura de caseína, ya que su consumo como suplemento alimenticio proporciona una serie de beneficios tales como modulación inmune, mejoramiento de la fuerza muscular y la composición corporal, prevención de enfermedades cardiovasculares y osteoporosis, entre otros (Marshall, 2004). Los componentes del lactosuero son lactosa, minerales (calcio, fósforo, sodio y potasio), lípidos y compuestos nitrogenados (PL, caseína soluble, enzimas) (Schmitt *et al.*, 1984).

La aplicación de tecnología en el procesamiento del lactosuero ha permitido el desarrollo de diferentes productos comerciales tales como suero reducido en lactosa, suero hidrolizado, suero desmineralizado, concentrado de proteínas de lactosuero (WPC, 34-89 % de proteína) y aislado de proteínas de lactosuero (WPI, > 90 % de proteína). El WPI y WPC son productos procesados a gran escala a través de procesos de membrana y cromatografía de intercambio iónico obteniéndose productos que contienen todas las PL, en las mismas proporciones que el suero original (Marshall, 2004; Goodall *et al.*, 2008).

Los productos derivados del lactosuero son considerados como productos GRAS (sustancias generalmente reconocidas como seguras, por sus siglas del inglés “generally recognized as safe”) por el Departamento de Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (USFDA) y presentan una gran diversidad de aplicaciones debido a sus

características funcionales tales como dispersabilidad, retención de agua, formación de espuma, actividad emulsionante, gelación y poder de amortiguación. Estas características se ven afectadas por diversos factores (Figura 2) (Goodall *et al.*, 2008; Dissanayake y Vasiljevic, 2009).

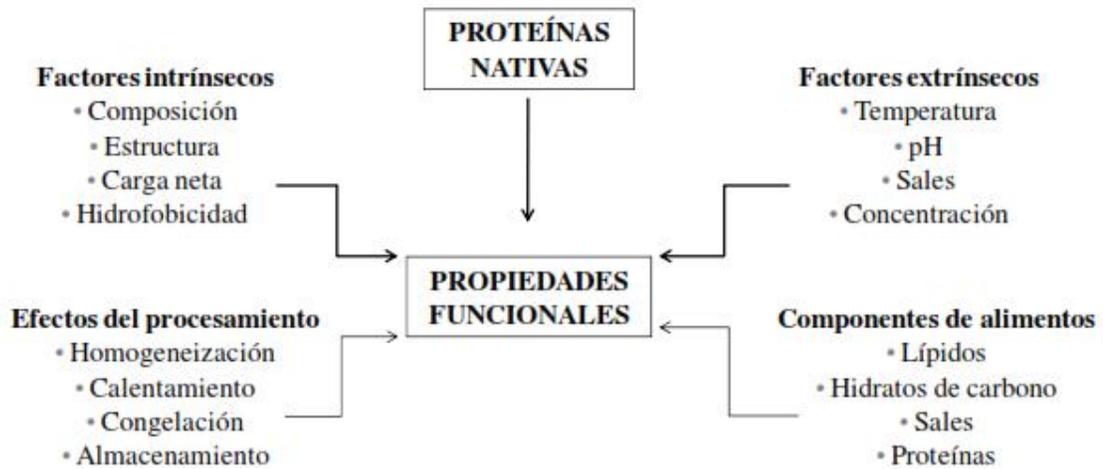


Figura 2. Factores que influyen sobre las propiedades funcionales de las proteínas de lactosuero. Fuente: Von-Staszewski, 2011.

Las principales PL son β -lactoglobulina (β -Lg) y α -lactoalbúmina (α -La), las cuales constituyen aproximadamente el 80 % de la proteína total del lactosuero y son consideradas las proteínas más importantes desde un punto de vista industrial y funcional (Schmitt *et al.*, 1984).

En su forma nativa existen como proteínas globulares compactas con alta solubilidad debido a un balance de varias fuerzas atractivas y repulsivas que ocurren entre diferentes partes de la cadena polipeptídica y entre la cadena polipeptídica y las moléculas del solvente; es decir, su solubilidad es influenciada por la gran proporción de residuos hidrofílicos en su superficie (Dissanayake y Vasiljevic, 2009).

2.3.1. β -lactoglobulina

La β -lactoglobulina (β -lg) es el componente mayoritario de las proteínas del lactosuero (56-60 %) por lo que contribuye en mayor medida a las propiedades funcionales del WPI, tales como actividad superficial, agregación y gelación térmica, capacidad de retención de agua, entre otras (Dissanayake y Vasiljevic, 2009; Ron *et al.*, 2010). El punto isoeléctrico de esta proteína es de aproximadamente 5.2, por lo que a valores de $\text{pH} > 5.2$ presenta dominios hidrofílicos electronegativos y un exceso de cargas positivas a valores de $\text{pH} < 5.2$; asimismo presenta una cadena polipeptídica de 162 aminoácidos y tiene un peso molecular de ~ 18.4 kDa (Fox, 2003; Mounsey *et al.*, 2008).

El polimorfismo genético es una característica de la β -lg y se ha informado que en leche de vaca existen seis variantes genéticas denominadas: A, B, C (presentes en la raza Jersey); E (identificada en Yak (*Bos grunniens*)); D y Dr (presentes en cruce de *Bos taurus* con *Bos indicus*). Las variantes A y B son las más comunes y difieren entre ellas en la sustitución de una glicina en la variante B por un ácido aspártico en la variante A (Figura 3). Su estructura presenta dos uniones disulfuro (entre Cys 160 – Cys 66 y Cys 119 – Cys 106) y también contiene un grupo sulfhidrilo libre (entre Cys 119 o Cys 121) lo que le confiere una estructura espacial rígida (Eigel *et al.*, 1984; Kilara y Vaghela, 2004). La conformación de la molécula de la β -lg es fuertemente dependiente del pH. A $\text{pH} > 3$ y $\text{pH} < 7$ existe como monómero. Entre $\text{pH} 3.1$ y 5.1 a bajas temperaturas y altas concentraciones de proteína, la β -lg se asocia hasta en forma octamérica.

Esta polimerización se da por medio de los grupos carboxilo; de esta manera la variante A tiene más posibilidad de formar octámeros que la variante B por la presencia de un

ácido aspártico más, en el lugar que la variante B tiene glicina. A otros valores de pH, incluyendo el pH natural de la leche (pH 6.5), la β -lg se presenta generalmente en forma dimérica (Kilara y Vaghela, 2004).

1	Leu	Ile	Val	Thr	Gln	Thr	Met	Lys	Gly	Leu	11	Asp	Ile	Gln	Lys	Val	Ala	Gly	Thr	Thr	Trp
21	Ser	Leu	Ala	Met	Ala	Ala	Ser	Asp	Ile	Ser	31	Leu	Leu	Asp	Ala	Gln	Ser	Ala	Pro	Leu	Arg
41					Gln in Variant D						51						Variant C His				
61	Val	Tyr	Val	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Thr	Pro	71	Glu	Gly	Asp	Leu	Glu	Ile	Leu	Leu	Gln	Lys
81	Asp	Glu	Asn	Asp	Glu	Cys	Ala	Gln	Lys	Lys	91	Ile	Ile	Ala	Glu	Lys	Thr	Lys	Ile	Pro	Ala
101	Val	Phe	Lys	Ile	Asp	Ala	Leu	Asn	Glu	Asn	111	Lys	Val	Leu	Val	Leu	Asp	Thr	Asp	Tyr	Lys
121	Lys	Thr	Leu	Leu	Phe	Cys	Met	Glu	Asn	Ser	131	Ala	Glu	Pro	Glu	Gln	Ser	Leu	Val	Cys	Gln
141	Cys	Leu	Val	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Asp	Asp	151	Glu	Ala	Leu	Glu	Lys	Phe	Asp	Lys	Ala	Leu
161	Lys	Ala	Leu	Pro	Met	His	Ile	Arg	Leu	Ser	162	Phe	Asn	Pro	Thr	Gln	Leu	Glu	Glu	Gln	Cys
	His	Ile	OH																		

Figura 3. Estructura primaria de la β -lg bovina A. Se indica la ubicación de las sustituciones en las distintas variantes genéticas. Fuente: Kilara y Vaghela, 2004.

2.3.2. α -lactoalbúmina

La α -lactoalbúmina (α -La) es considerada la típica proteína del lactosureo ya que está presente en la leche de todos los mamíferos y desempeña un papel importante como co-enzima en la síntesis de lactosa.

Esta proteína es el segundo componente mayoritario de las PL (20 %), presenta un punto isoeléctrico de aproximadamente 4.1, por lo que a valores de pH > 4.1 presenta dominios hidrofílicos electronegativos y un exceso de cargas positivas a valores de pH < 4.1, asimismo presenta una cadena polipeptídica de 123 aminoácidos y tiene un peso molecular de ~14.2 kDa (Mounsey *et al.*, 2008; Lee y Hong, 2009). En la α -La

encontramos tres variantes genéticas, siendo la variante B la más abundante; además se ha informado su capacidad para unirse con carbohidratos.

2.4. Coacervación compleja

Actualmente, las interacciones biopolímero-biopolímero (proteína-polisacárido) desempeñan un papel de gran relevancia en investigaciones en ciencias de los alimentos y biotecnología, ya que presentan influencia en la formación de la microestructura y propiedades reológicas de aquellos sistemas que los contienen, contribuyendo en gran medida a la textura, estabilidad mecánica, consistencia, así como en su apariencia y sabor (Semenova, 2007). La coacervación es definida por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) como “la separación de un sistema coloidal en dos fases líquidas” y es conducida esencialmente por fuerzas atractivas de polímeros de carga opuesta (Lee y Hong, 2009). La fase más concentrada en componentes coloidales es el coacervado y la otra fase es la solución en equilibrio (de Kruif *et al.*, 2004). Las proteínas y los polisacáridos son empleados con frecuencia de manera simultánea en la industria farmacéutica, biomédica y alimenticia debido a sus múltiples propiedades funcionales, por lo que el conocer las interacciones que se presentan entre estos biopolímeros es de gran importancia ya que su control o manipulación son un factor clave para desarrollar nuevos productos o alimentos procesados (Ye, 2008; Turgeon y Laneville, 2009; Liu *et al.*, 2011). La característica más interesante al formar diversos tipos de partículas y complejos es que sus propiedades funcionales son potencialmente mejores que las de las proteínas y los polisacáridos solos (Schmitt y Turgeon, 2011; Ru *et al.*, 2012). Cuando se prepara una solución en la que se incluyen dos biopolímeros se puede presentar uno de los siguientes

tres comportamientos: incompatibilidad termodinámica, miscibilidad y la formación de complejos (coacervados). Las interacciones atractivas entre dos biopolímeros pueden manifestarse en diversas formas: 1) La formación de pequeños complejos solubles, que se manifiestan en soluciones turbias; 2) La formación de un gel débil y homogéneo, si las interacciones son débiles, y 3) La precipitación de ambos biopolímeros, si las interacciones son fuertes, fenómeno que se conoce como coacervación compleja (de Kruif y Tuinier, 2001; Tolstoguzov, 2003).

Como se mencionó, la formación de coacervados es conducida principalmente por fuerzas atractivas electrostáticas las cuales se pueden ver afectadas por parámetros fisicoquímicos como pH, fuerza iónica, relación proteína a polisacárido, densidad de carga lineal del polisacárido, densidad de carga superficial de la proteína, concentración total de biopolímeros, etc. (Schmitt y Turgeon, 2011; Ru *et al.*, 2012). La coacervación compleja, generalmente, ocurre en un estrecho intervalo de pH, entre el pK_a de los grupos reactivos a lo largo de la cadena del polisacárido y el punto isoeléctrico (pI) de la proteína.

El esquema general (Figura 4) de coacervación entre proteína y polisacárido aniónico establece que la carga de los “parches” de las moléculas de proteína provocan que la proteína interactúe con el polisacárido para formar complejos solubles cuando el $pH > pI$ iniciándose el primer pH crítico (pH_c); sin embargo, al ir reduciendo aún más el pH, los complejos solubles incrementan en tamaño y número dando como resultado una nucleación y crecimiento llegando entonces a un segundo pH crítico ($pH_{\phi 1}$), en donde se forman complejos insolubles debido a la neutralización de cargas. Para algunos polisacáridos basados en ácido carboxílico tales como la pectina y el alginato de sodio

una mayor disminución del pH conduce a un tercer pH crítico ($\text{pH}_{\phi 2}$) en donde los complejos insolubles se disocian a complejos solubles (Liu *et al.*, 2010a, b).

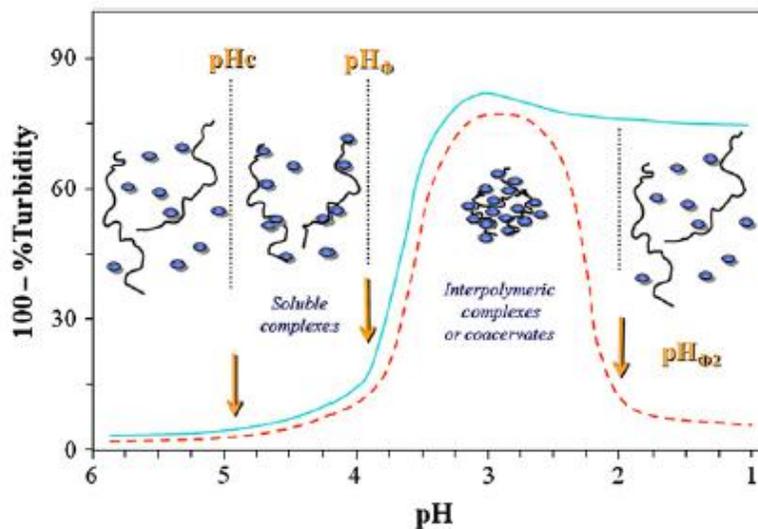


Figura 4. Representación esquemática de la evolución de la turbidez durante la acidificación de un sistema proteína-políelectrolito fuerte (curva sólida) o con un polielectrolito con un pK_a fijo a $\text{pH} = 2$ (curva punteada). Fuente: Turgeon y Laneuville, 2009.

Las aplicaciones industriales que se han dado a los coacervados es como ingredientes funcionales que contribuyen a estabilización interfacial, formación de películas comestibles para diversos alimentos (frutas, hortalizas, carnes, productos de panificación), procesos de micro y nano encapsulación de vitaminas y sabores, obtención de texturizantes como sustitutos de grasa y análogos de carne o caviar, formación y estabilización de emulsiones alimenticias, formación de nuevos geles alimenticios, recuperación de proteínas a partir de subproductos industriales y en tecnología ambiental para el tratamiento de aguas con alto contenido de metales pesados (Salazar, 2001; Tharanathan, 2003; Farris *et al.*, 2009; Turgeon y Laneuville, 2009). En

productos alimenticios la coacervación compleja proteína-polisacárido puede determinar su estabilidad, estructura, propiedades viscoelásticas, textura y percepción en la boca (Ye, 2008; Turgeon y Laneuville, 2009).

2.5. Espectrofotometría

La Espectrofotometría es una de las técnicas experimentales más utilizadas para la detección específica de moléculas. Se caracteriza por su precisión, sensibilidad y su aplicabilidad a moléculas de distinta naturaleza (contaminantes, biomoléculas, etc.) y estado de agregación (sólido, líquido, gas).

Los fundamentos fisicoquímicos de la espectrofotometría son relativamente sencillos, para ello se toma en cuenta que las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna. Las ondas electromagnéticas viajan a la velocidad de la luz y son caracterizadas por su frecuencia (f) y longitud de onda (λ). En un medio estas dos propiedades están relacionadas por:

$$c = \lambda f \quad (1)$$

Donde: c es la velocidad de la luz en el vacío ($3.0 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$)

La radiación puede exhibir propiedades de onda y de partícula. La luz visible actúa como si se realizara en unidades discretas llamadas fotones, en donde cada fotón tiene una energía (E) que puede ser calculada por:

$$E = h f \quad (2)$$

Donde: h es la constante de Planck ($6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$)

Cuando la radiación de una determinada λ choca contra un objeto, esta puede ser reflejada, transmitida o absorbida (Figura 5) y la proporción relativa de estos tipos de radiación determina la apariencia del objeto.

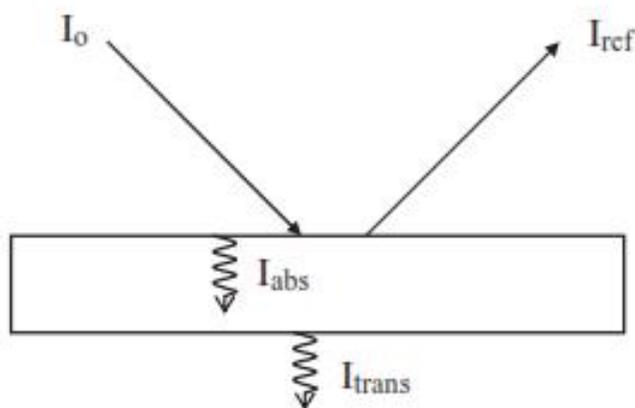


Figura 5. Efectos de la incidencia de luz sobre un objeto. Fuente: Sahin y Gülüm-Sumnu, 2006.

Un material se dice que es transparente cuando la luz que incide sobre el mismo pasa a través de él con un mínimo de reflexión y de absorción. Lo contrario de la transparencia es la opacidad, es decir, un objeto que no permite ninguna transmisión de luz, pero absorbe y/o refleja toda la luz que incide sobre él se denomina opaco. En superficies opacas, ciertas λ específicas de la luz son absorbidas y las demás se reflejan, dando como resultado la formación de color. Si toda la luz visible es absorbida, el objeto aparece en negro, mientras que si hay tanto reflexión como transmisión de luz, se dice que el material es translúcido (Sahin y Gülüm-Sumnu, 2006).

2.5.1. Leyes de absorción de radiación

Cuando se dice que una sustancia química absorbe luz a una determinada λ , significa que las moléculas de esa sustancia absorben fotones de esa longitud de onda; es decir,

cuando un haz de radiación monocromática de una determinada λ atraviesa una capa de disolución conteniendo una especie absorbente, la potencia (energía por unidad de tiempo y unidad de área) del haz incidente P se atenúa, disminuyendo hasta P_0 (Figura 6).

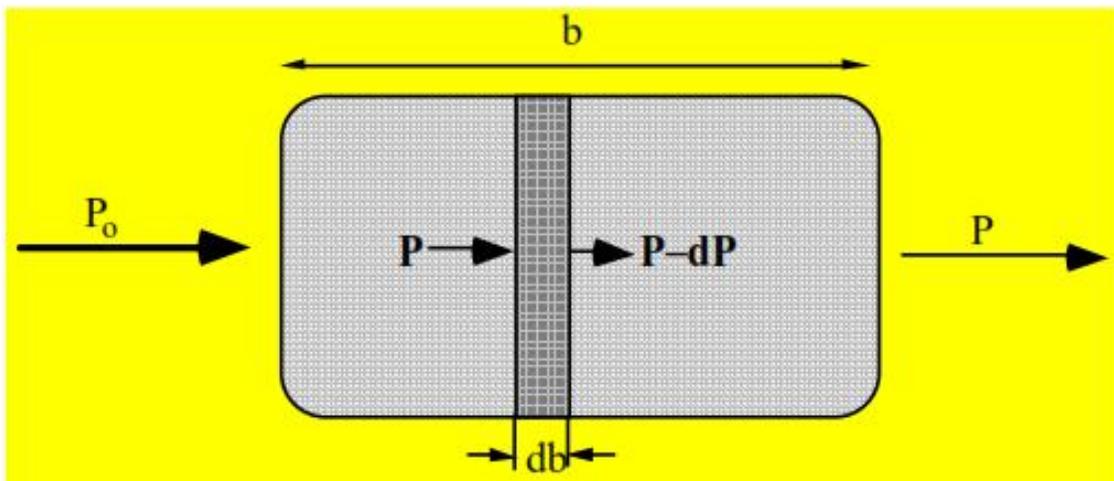


Figura 6. Esquema de la absorción de radiación en una solución. Fuente: González, 2008.

Se define la transmitancia (T) como la fracción de radiación incidente que consigue atravesar la muestra. Varía de 0 a 1 y puede expresarse también como porcentaje:

$$T = \frac{P}{P_0} ; \% T = \frac{P}{P_0} \times 100 \quad (3)$$

Un parámetro de mayor utilidad práctica es la absorbancia (A) definida como:

$$A = -\log T \quad (4)$$

2.6. Reología

Históricamente, la reología inicia con los conceptos de sólido elástico ideal y fluido viscoso ideal establecidos por Robert Hooke e Isaac Newton, respectivamente. El

término reología proviene del griego “*rheos*” (flujo) y “*logos*” (ciencia o palabra), por lo que puede ser considerada como la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia (Rao, 1999; Sahin y Gülüm-Sumnu, 2006). La reología como ciencia creció considerablemente debido a trabajos de investigación realizados en soluciones de polímeros sintéticos en diferentes solventes, en los cuales se observaba la respuesta física de los sistemas cuando se aplicaban esfuerzos y deformaciones; es decir, se estudiaba la relación entre las fuerzas ejercidas sobre el material y la deformación resultante como una función del tiempo. En este sentido las propiedades reológicas se definieron como aquellas propiedades mecánicas que resultan de la deformación y el flujo de un material en presencia de un esfuerzo (Steffe, 1996; Gülüm-Sumnu, 2006). De acuerdo con la definición de reología mencionada, existen dos conceptos fundamentales que es necesario tener presentes al realizar evaluaciones reológicas en un producto, dichos conceptos son:

- a) *Esfuerzo* definido como la fuerza (expresada en Pa) aplicada por unidad de área superficial que se requiere para el movimiento de un fluido. Dependiendo de la dirección de la fuerza con respecto a la incidencia sobre el área superficial se tiene: un esfuerzo normal (σ) cuando la fuerza es directamente perpendicular a la superficie y puede realizarse durante tensión o compresión y se tiene un esfuerzo de corte (τ) cuando la fuerza actúa en paralelo a la superficie.
- b) *Deformación* definida como la cantidad adimensional de la deformación relativa de un material. Si se aplica un esfuerzo normal la deformación se denota como ϵ y si se aplica un esfuerzo de corte la deformación se denota como γ (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Las propiedades reológicas de los alimentos en la industria son determinadas con diversos propósitos tales como: conocer la estructura del material, diseñar tuberías y seleccionar bombas, seleccionar y operar equipos de mezclado, diseñar y operar intercambiadores de calor, controlar procesos de elaboración de productos, diseñar maquinaria en función de los materiales que se involucran y a las características del producto terminado, ya que de ellas depende la aceptación que tendrá el producto por el consumidor, entre otros (Ramírez, 2006). En la práctica, las pruebas reológicas se llevan a cabo mediante la aplicación de una fuerza a la muestra bajo estudio y la medición de la magnitud de su deformación o bien aplicar una deformación y medir la resistencia que presenta.

En alimentos, las propiedades reológicas involucran grandes o pequeños esfuerzos según la alteración que se desee causar al producto; así esfuerzos pequeños comúnmente se emplean cuando se requiere un pequeño porcentaje (%) de deformación para no romper la estructura de la muestra y esfuerzos grandes se utilizan para deformar una muestra hasta el punto donde el cambio estructural permanezca.

La mayoría de los alimentos presentan una estructura sólida considerada elástica y una fase líquida que aporta un carácter viscoso a la estructura, por lo que se dice que presentan un comportamiento reológico denominado viscoelástico, dentro de este grupo se encuentran productos lácteos como el helado, el yogur y las bebidas lácteas fermentadas, entre otros. En general las propiedades viscoelásticas dependen de la temperatura y de la frecuencia de deformación, por lo tanto son comúnmente determinadas como una función de la temperatura a una frecuencia dada o viceversa, siendo los principales parámetros que se determinan el módulo de almacenamiento (G'),

que representa el carácter elástico del producto y el módulo de pérdida (G''), que representa su carácter viscoso (Rao, 1999; Ramos e Ibartz, 2006).

2.7. Evaluación sensorial

La evaluación sensorial desempeña un papel importante en la industria de alimentos, ya que actividades como la estandarización de los procesos y productos, así como el área de producción y promoción de productos requieren de conocer las metodologías adecuadas que les permitan evaluar los alimentos con el propósito de garantizar que serán competitivos en el mercado al asegurar que sus productos son aceptados por el consumidor al que van destinados. Es así como la evaluación sensorial surge como una disciplina para medir la calidad de los alimentos, conocer la opinión y mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor (Hernández, 2005).

El Instituto de Alimentos de Estados Unidos define la evaluación sensorial como “la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído”.

Sancho *et al.* (2002) definen la percepción como la interpretación de la sensación y menciona que ésta se puede medir sólo por métodos psicológicos, en tanto que los estímulos se miden por métodos físicos o químicos. Asimismo se ha generado información que establece que la secuencia de la percepción que tiene un consumidor hacia un alimento se da en el siguiente orden color, olor, textura, sabor y sonido. Los sentidos son los medios con los que el ser humano genera las percepciones que tiene hacia un producto alimenticio (Figura 7).

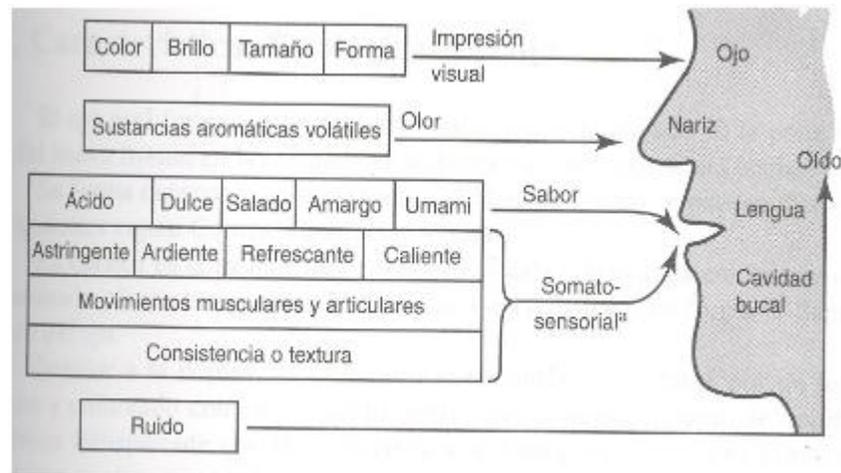


Figura 7. Percepciones de un consumidor hacia un producto alimenticio.

Fuente: Sancho *et al.*, 2002.

Las pruebas sensoriales empleadas en la industria de alimentos se dividen en tres grupos (Figura 8):

- Pruebas discriminativas.- Consisten en comparar dos o más muestras de un producto alimenticio, en donde el panelista indica si percibe la diferencia o no, además estas pruebas se utilizan para describir la diferencia y para estimar su tamaño.
- Pruebas descriptivas.- Permiten conocer las características del producto y las exigencias del consumidor; por medio de estas pruebas se realizan los cambios necesarios en las formulaciones hasta que el producto contenga los atributos que le permitan tener una mayor aceptación del consumidor.
- Pruebas afectivas.- Son aquellas pruebas en donde el panelista expresa el nivel de agrado, agrado y preferencia de un producto con relación a otro; en estas pruebas se utilizan escalas de calificación de las muestras evaluadas.

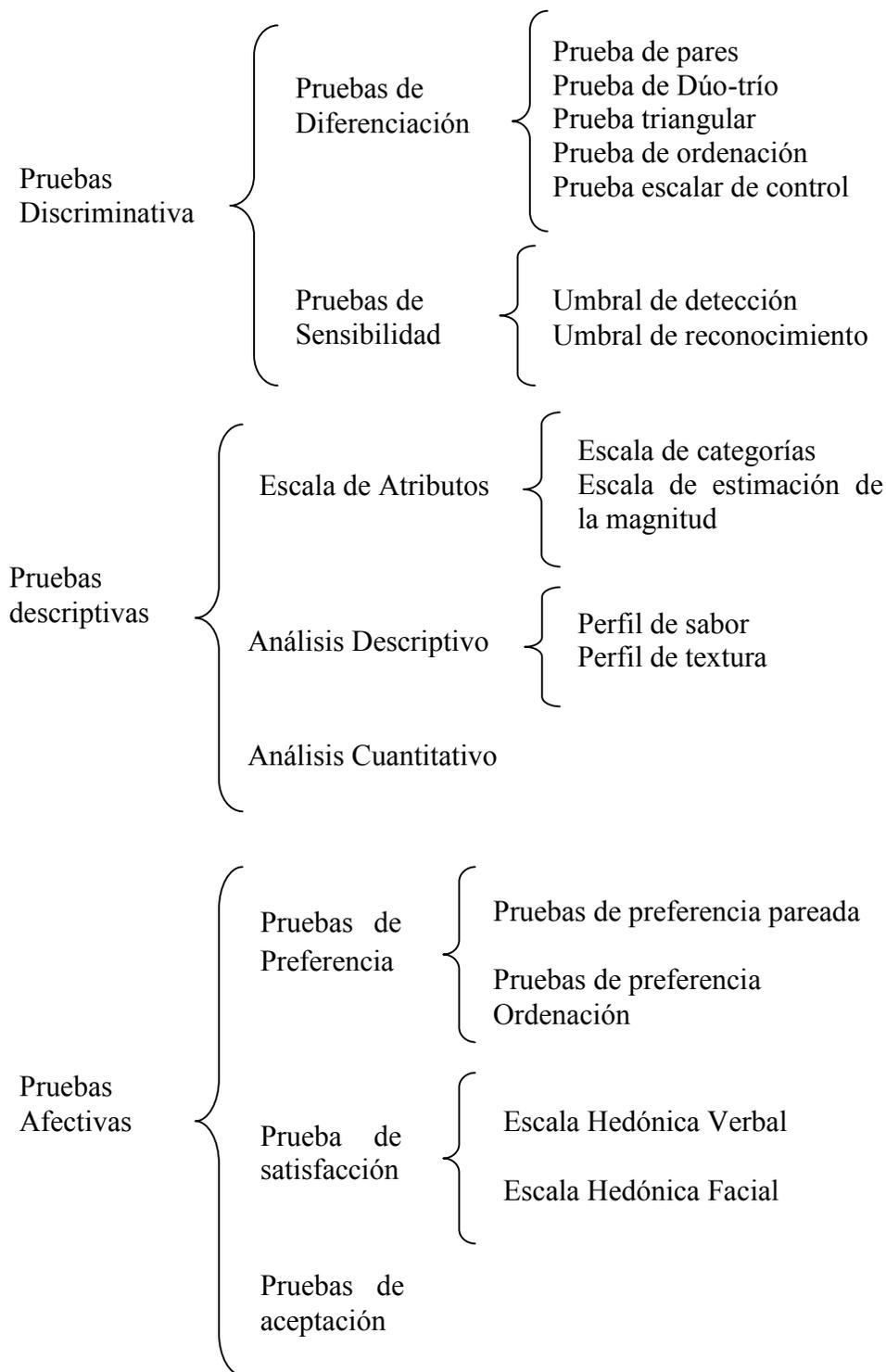


Figura 8. Clasificación de las pruebas sensoriales. Fuente: Hernández, 2005.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Para la formación de coacervados complejos se utilizaron los biopolímeros aislado de proteína de lactosuero (PL) (HilmarTM 9400, 93 % de proteína en base seca, Hilmar Cheese Company, Hilmar, CA, EUA) y alginato de sodio de alto contenido de ácido gulurónico (AS) (GRINSTED[®] FD 175, 60.5 % de ácido gulurónico, Danisco Mexicana, S.A de C.V., México, D. F.). Los ingredientes para la elaboración de yogur fueron leche entera en polvo (Nido[®], Nestle S.A de C.V., México, D. F.), leche descremada en polvo (Lactomix[®], Dilac S.A de C.V., México, D. F.), cultivo liofilizado de *Streptococcus salivarius* spp *thermophilus*, *Lactobacillus lactis* y *Lactobacillus delbrüeckii* spp. *bulgaricus* (CHOOZITTMMY800 LYO 5 DCU, Danisco France S.A.S, Dangé-Saint Romain, Francia).

El ácido clorhídrico (HCl) e hidróxido de sodio (NaOH) grado analítico fueron adquiridos de J.T. Baker. (Xalostoc, Méx., México). Para todos los experimentos se utilizó agua destilada.

3.2. Desarrollo y caracterización de coacervados CC_{PL/AS}

3.2.1. Preparación de disoluciones base

Se preparó una disolución base de AS a una concentración de 1 % (p/p). El AS se dispersó en agua destilada a temperatura ambiente (20 ± 2 °C), aplicando agitación

(Termo-agitador FELISA[®], FE-311, Zapopan, Jal., México) durante 4 h. Posteriormente se colocó en refrigeración (5 ± 1 °C) durante 12 h para asegurar la completa hidratación del biopolímero.

Se preparó una disolución base de PL a una concentración de 1 % (p/p). La PL se dispersó en agua destilada a temperatura ambiente (20 ± 2 °C), aplicando agitación (Termo-agitador FELISA[®], FE-311, Zapopan, Jal., México) durante 2 h. Posteriormente se colocó en refrigeración (5 ± 1 °C) durante 12 h para asegurar la completa hidratación del biopolímero.

3.2.2. Preparación y formación de coacervados $CC_{PL/AS}$

Con el propósito de estudiar el fenómeno de complejación que se presenta entre la PL y el AS como función del pH y relación en peso de biopolímeros ($R_{PL/AS}$) se elaboraron coacervados binarios los cuales fueron evaluados por el método turbidimétrico descrito por Devi y Maji (2010) y Gaspoz (2008) con algunas modificaciones: a) Las disoluciones base de PL y AS se ajustaron por separado a valores de pH 2.50, 3.00, 3.50, 4.00, 4.50, 5.00, 5.50 y 6.00 (pH-metro HANNA[®] Instruments Inc., HI-221, Woonseket, RI, EUA.) con disoluciones de HCl y NaOH 1, 0.5 y 0.1 N; b) A determinado pH ambas disoluciones base se mezclaron a una $R_{PL/AS}$ de 1:1, 2:1, 4:1, 6:1, 8:1 y 10:1 manteniendo una concentración total de biopolímeros de 1 % (p/p), agitando suavemente la mezcla durante 30 min a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y posteriormente dejando en reposo durante 48 h para alcanzar la fase de equilibrio; c) Las mezclas se centrifugaron (centrífuga Eppendorf[®], 5810-R, SP., Brasil) a 4000 rpm durante 20 min a 20 °C, con el propósito de separar los complejos solubles ($CS_{PL/AS}$) presentes en el sobrenadante del coacervado complejo ($CC_{PL/AS}$) y d) La absorbancia del sobrenadante (fase de equilibrio)

se midió a 20 ± 0.5 °C a una longitud de onda de 850 nm (espectrofotómetro UV Spectronics® Genesys™, 5 UV-Vis, Spectronics Instruments Inc., Rochester, NY, EUA), valor al cual los biopolímeros individuales no mostraron absorbancia significativa. Los valores críticos pH_c (formación de $\text{CS}_{\text{PL/AS}}$), $\text{pH}_{\phi 1}$ (asociación de $\text{CS}_{\text{PL/AS}}$ y formación de $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$) y $\text{pH}_{\phi 2}$ (disolución de los $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$), asociados con los eventos de formación de estructuras se determinaron gráficamente de acuerdo con Weinbreck *et al.*, 2004a y Liu *et al.*, 2009. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

3.2.3. Rendimiento y contenido de humedad de coacervados $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$

El rendimiento de los $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$ al variar el pH y la $R_{\text{PL/AS}}$, se determinó por separación de la fase coacervada de la fase en equilibrio (sobrenadante) mediante centrifugación (Centrífuga Eppendorf®, 5810-R, SP., Brasil) a 4000 rpm por 20 min a 20 ± 0.5 °C y posterior decantación. Los complejos $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$ se secaron a 50 ± 2 °C (RIOSSA®, H-33, Rius-Rocha S.A de C.V., México, D. F.) hasta peso constante. La humedad y el rendimiento se determinaron de acuerdo a las ecuaciones de la AOAC (1995) y Huang *et al.* (2012), respectivamente:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100 \quad (5)$$

Donde: m_1 = es peso del tubo; m_2 = peso del tubo más muestra húmeda y m_3 = peso del tubo más muestra seca

$$\text{Rendimiento } \text{CC}_{\text{PL/AS}} (\%) = \frac{m_i}{m_0} \times 100 \quad (6)$$

Donde: m_i = peso del $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$ seco y m_0 = peso total de los biopolímeros (PL + AS) en la dispersión

Todas las mediciones se realizaron por triplicado y se seleccionaron cuatro coacervados $CC_{PL/AS}$ con base en su rendimiento y pH de formación cercano al del yogur, alimento en el que se evaluó su aplicación.

3.2.4. Caracterización reológica de coacervados $CC_{PL/AS}$

Los coacervados $CC_{PL/AS}$ se sometieron a pruebas oscilatorias y pruebas de flujo en un reómetro Physica MCR 301 Shear Rheometer (Anton Paar, Messtechnik, Stuttgart, Alemania) empleando una geometría cono-plato (cono rotatorio de 50 mm de diámetro y ángulo de 1°) y un “gap” de 0.250 mm. La temperatura se mantuvo constante a 25 ± 0.01 °C a través de un sistema de control y medición de temperatura Physica TEK 150 P (Physica Messtechnik, Stuttgart, Alemania) (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004).

Curvas de flujo: Muestras de $CC_{PL/AS}$, de aproximadamente 2.0 g, se colocaron cuidadosamente en el plato y se procedió a dar un tiempo de reposo de 25 min para permitir la recuperación de la estructura y el equilibrio térmico. Se aplicó una velocidad de cizalla de 10^{-3} a 10^3 s^{-1} y se obtuvo la viscosidad aparente en función de la velocidad de cizalla.

Pruebas oscilatorias: Muestras de $CC_{PL/AS}$, de aproximadamente 2.0 g, se colocaron cuidadosamente en el plato y se procedió a dar un tiempo de reposo de 25 min para permitir la recuperación de la estructura y el equilibrio térmico. Se realizaron barridos de amplitud (0.01-100 % de deformación) empleando una frecuencia constante de 10 $rad\ s^{-1}$, con el propósito de determinar la región viscoelástica lineal (RVL) de los $CC_{PL/AS}$. Posteriormente, muestras de 2.0 g de $CC_{PL/AS}$ se sometieron a barridos de frecuencia aplicando una deformación de 0.3 % (correspondiente a la RVL) y variando

la frecuencia de 0.1 a 100 rad s⁻¹ (Wang *et al.*, 2007; Espinosa-Andrews *et al.*, 2010; Ru *et al.*, 2012). Los valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G''), así como los del factor de cedencia ($\tan \delta = G''/G'$) de los CC_{PL/AS}, se obtuvieron mediante el software RheoPlus/32 V2.62 del equipo. Todas las mediciones se llevaron a cabo por triplicado.

3.3. Variaciones de yogur

Se elaboraron dos yogures control, uno completo en grasa (Y_{CG}) a partir de leche conteniendo 3.0 ± 0.1 g de grasa láctea 100 g⁻¹ y uno bajo en grasa (Y_{BG}) a partir de leche conteniendo 1.5 ± 0.1 g de grasa láctea 100 g⁻¹. Además se elaboraron cuatro yogures bajos en grasa a partir de leche conteniendo 1.5 ± 0.1 g de grasa láctea 100 g⁻¹, adicionados con 1.5 g 100 g⁻¹ de uno de los cuatro CC_{PL/AS} seleccionados.

3.4. Elaboración de yogur

Leche entera en polvo (Nido[®], Nestle S.A de C.V., México, D. F.) y leche descremada en polvo (Lactomix[®], Dilac S.A de C.V., México, D. F.) se combinaron en las proporciones adecuadas para obtener los contenidos de grasa establecidos para las variaciones de yogur. Las mezclas de leche en polvo se rehidrataron hasta un contenido de sólidos no grasos de 9 g 100 g⁻¹ de leche, en agua a una temperatura de 30 °C, aplicando agitación moderada; posteriormente, las dispersiones de leche se refrigeraron a 5 ± 1 °C durante 24 h para asegurar una completa hidratación de los polvos, antes de ser utilizados. Lotes de 1 L de leche rehidratada se calentaron a 30 °C y se adicionaron con 60 g de azúcar L⁻¹. Cada mezcla se agitó vigorosamente a 4000 rpm por 2 min (ULTRA-TURRAX[®] T50 Basic, IKA[®]-WERKE Works Inc., Wilmington, NC, EUA) y

después se sometió a una temperatura de 80 °C durante 10 min. Posteriormente, todas las mezclas se enfriaron a 45 ± 1 °C y se inocularon con 0.05 g L⁻¹ de cultivo láctico e incubaron a 45 °C hasta alcanzar una acidez de 90-95 °D; en este punto los yogures se enfriaron y almacenaron a 5 ± 1 °C durante 24 h para posteriormente batirlos y adicionar el CC_{PL/AS} a aquellos yogures asignados. Finalmente los yogures se almacenaron nuevamente a 5 ± 1 °C hasta su caracterización. Todas las variaciones de yogur se elaboraron por triplicado.

3.5. Composición química del yogur

La variación en la composición de los yogures se analizó de acuerdo con los siguientes métodos: grasa por el método Gerber a los 7 d de almacenamiento, pH con un potenciómetro (HANNA[®], HI-221, Hanna Instruments Inc, Woonseket, RI, USA.) a los 7 y 15 d de almacenamiento y humedad por secado en horno (AOAC, 1995) a los 7 d de almacenamiento. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

3.6. Sinéresis del yogur

La susceptibilidad del yogur a sinéresis se determinó utilizando el método de Keogh y O’Kennedy (1998). Se centrifugaron 40 g de yogur (Centrífuga Eppendorf[®], 5810-R, SP., Brasil) a 222 x g por 10 min a 4 ± 0.5 °C. El sobrenadante se retiró mediante decantación, se procedió a pesar los tubos y se calculó el porcentaje de sinéresis con respecto al peso original del yogur.

3.7. Caracterización reológica del yogur

Los yogures se sometieron a pruebas oscilatorias dinámicas en un Reómetro. La geometría utilizada fue de cono-plato (cono rotatorio de 50 mm de diámetro y ángulo de

1°) y un “gap” de 0.051 mm. La temperatura se mantuvo constante a 5 ± 0.01 °C a través de un sistema de control y medición de temperatura Physica TEK 150 P (Physica Messtechnik, Stuttgart, Alemania) (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004).

Muestras de yogur de aproximadamente 1.5 g a una temperatura de 5 ± 0.01 °C se colocaron cuidadosamente en el plato y se dejaron reposar por 30 min para permitir la recuperación de su estructura; posteriormente se sometieron a barridos de amplitud aplicando una deformación de 0.01 a 100 % a una frecuencia de 1 Hz, con el propósito de determinar la RVL. Posteriormente, muestras de 1.5 g de yogur se sometieron a barridos de frecuencia aplicando una deformación de 0.1 % (correspondiente a la RVL) y variando la frecuencia de 0.1 a 10 Hz.

Los valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G''), así como los del factor de cedencia ($\tan \delta = G''/G'$) de los yogures, se obtuvieron mediante el software RheoPlus/32 V2.62 del equipo. Todas las mediciones se llevaron a cabo por triplicado a los 7 y 15 d de almacenamiento

3.8. Evaluación sensorial

La aceptabilidad sensorial de los yogures fue evaluada por un panel de 60 consumidores, integrado por estudiantes de la Universidad Autónoma Chapingo con edades de entre 15 y 25 años. Cada uno de los seis yogures (muestra de aproximadamente 10 g) a los 7 y 15 d de almacenamiento se colocaron en vasos de plástico de 20 mL, codificados con números aleatorios de tres dígitos y se presentaron de manera aleatoria a los panelistas. La aceptabilidad de los consumidores por el yogur se evaluó usando una escala hedónica de 7 puntos (1 = me disgusta extremadamente, 2 = me disgusta mucho, 3 = me disgusta

moderadamente, 4 = ni me disgusta ni me gusta, 5 = me gusta moderadamente, 6 = me gusta mucho y 7 = me gusta extremadamente).

3.9. Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar en la caracterización reológica de los CC_{PL/AS} y los yogures. Los datos obtenidos para cada uno de los tratamientos se sometieron a un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) y en los casos pertinentes se realizó comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los datos de evaluación sensorial se sometieron a ANOVA usando un diseño de bloques completos al azar y en los casos pertinentes se realizó comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), así mismo se realizó un análisis de componentes principales. El análisis de datos (ANOVA) se realizó utilizando el software SAS V.9.00. (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), mientras que el análisis de componentes principales se realizó con el software Statgraphics[®] Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA, EUA).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis turbidimétrico

La turbidez se debe principalmente al cambio en el tamaño y masa de los agregados presentes en una solución, por lo que cambios en la turbidez del sistema PL/AS estudiado indicaron la formación de complejos solubles e insolubles ($CS_{PL/AS}$ y $CC_{PL/AS}$) entre estos dos biopolímeros. La Figura 9 muestra que el comportamiento de complejación PL/AS siguió una tendencia similar a otros sistemas como goma arábica-quitosano (Espinosa-Andrews *et al.*, 2007), seroalbúmina bovina-pectina (Ru *et al.*, 2012), aislado de proteína de canola-alginato de sodio (Klassen *et al.*, 2011), aislado de proteína de lactosuero- λ -carragenina (Stone y Nickerson, 2012), entre otros.

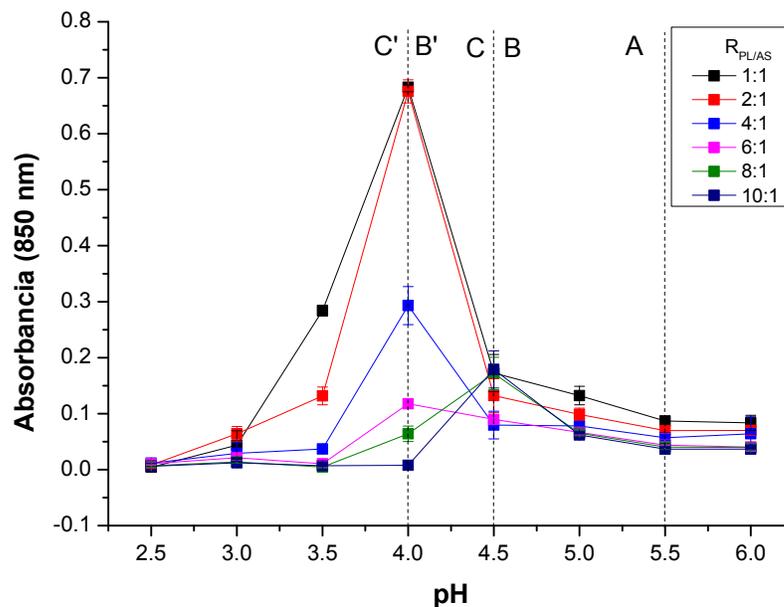


Figura 9. Absorbancia de dispersiones de aislado de proteína de lactosuero (PL)-alginato de sodio (AS) (1 % p/p) a diferentes relaciones PL/AS en función del pH.

En la Figura 9 puede observarse que los perfiles de titulación turbidimétrica (absorbancia vs pH), para diferentes $R_{PL/AS}$, exhibieron una tendencia similar, caracterizada por tres regiones en un rango de pH de 2.5 a 6.0:

- Una región A a valores de pH relativamente altos ($pH_c > 5.5$) en la que los valores de absorbancia fueron muy bajos y relativamente constantes. Los bajos valores de absorbancia en esta región indicaron que ambas macromoléculas permanecieron co-solubles, probablemente debido a repulsión electrostática entre sus cadenas cargadas negativamente. En adición, la naturaleza diluida de la dispersión (1 % p/p) contribuyó a esta co-solubilidad (Aryee y Nickerson, 2012).

- Una región intermedia B que comienza en un valor de pH crítico de inicio de formación de complejos solubles PL/AS (pH_{ϕ_1}) de ≈ 5.5 y que finaliza a valores de pH ≈ 4.5 para $R_{PL/AS}$ 8:1 y 10:1 y $pH \approx 4.0$ para $R_{PL/AS}$ 1:1, 2:1, 4:1 y 6:1, en la que los valores de absorbancia aumentaron significativamente, alcanzando valores de 0.683 ± 0.03 , 0.675 ± 0.02 , 0.293 ± 0.03 , 0.118 ± 0.01 , 0.171 ± 0.03 y 0.179 ± 0.03 para la $R_{PL/AS}$ 1:1, 2:1, 4:1, 6:1, 8:1 y 10:1, respectivamente. El incremento en los valores de absorbancia en esta región indicó la formación de complejos solubles PL/AS, mediante atracciones electrostáticas entre las cadenas cargadas opuestamente de ambos biopolímeros.

Conforme se acidificó el sistema PL/AS a valores de pH cercanos a 4.5, las cadenas de PL fueron adquiriendo carga superficial positiva ($pH < pI \approx 4.8$) (Weinbreck *et al.*, 2004b), lo cual en turno derivó en su interacción con cadenas de AS con carga opuesta ($pH > pKa \approx 1.88$) (Klemmer *et al.*, 2012). La solubilidad de los complejos se debió a la neutralización incompleta entre las moléculas de PL y las moléculas de AS.

- Una región C que comprende la formación de complejos coacervados insolubles ($CC_{PL/AS}$), iniciando a valores de pH_{ϕ_2} de 4.5 para $R_{PL/AS}$ 8:1 y 10:1 y 4.0 para $R_{PL/AS}$ 1:1, 2:1, 4:1 y 6:1, en la cual los complejos solubles PL/AS alcanzaron suficiente tamaño y número para comenzar a agregarse en complejos insolubles, produciéndose una disminución gradual y significativa ($p \leq 0.05$) en las lecturas de absorbancia del sobrenadante. Es en esta región donde se atribuye que las macromoléculas presentes en la mezcla alcanzan una relación eléctrica equivalente propiciando que las cargas se cancelen entre sí para dar una neutralización total de los complejos lo que lleva a una separación macroscópica de dos fases, una rica en biopolímeros y otra rica en solvente (Schmitt *et al.*, 1999; Cooper *et al.*, 2005; Aryee y Nickerson, 2012). El desplazamiento de pH_{ϕ_2} hacia la derecha conforme se incrementó $R_{PL/AS}$ ha sido informado por Ramírez-Santiago *et al.* (2012) y puede deberse a un sistema enriquecido con proteína cargado positivamente en presencia de un polisacárido altamente cargado negativamente (AS).

4.2. Diagrama de estado

La coacervación compleja, en general, ocurre en un estrecho rango de pH y se cree que sucede a través de dos eventos: la formación de complejos solubles (pH_{ϕ_1}) y la agregación de estos últimos en complejos insolubles (pH_{ϕ_2}).

La relación proteína-polisacárido que se emplee en una mezcla desempeña un papel importante en su coacervación compleja, ya que influye en el balance de cargas entre polisacáridos y proteínas, en la intensidad de las interacciones y en el grado de auto-agregación (Ye, 2008; Liu *et al.*, 2010b). El diagrama de fases que describió los valores críticos de pH en función de la $R_{PL/AS}$ (Figura 10) fue acorde con lo observado en la

Figura 9. A valores de $\text{pH} \geq \text{pH}_c$ los biopolímeros presentes en la mezcla se consideran co-solubles. Conforme $R_{\text{PL/AS}}$ incrementó de 1:1 a 4:1, lo valores de pH_c de los sistemas disminuyeron progresivamente ($p \leq 0.05$) de 5.47 a 5.01, y a partir de $R_{\text{PL/AS}}$ 4:1 a 10:1 permanecieron prácticamente constantes ($p > 0.05$), indicando ello independencia del pH_c respecto al valor de $R_{\text{PL/AS}}$. Los valores de pH_c para las distintas $R_{\text{PL/AS}}$ fueron: 5.47 ± 0.02 (1:1) $> 5.33 \pm 0.05$ (2:1) $> 5.01 \pm 0.03$ (4:1) $= 5.01 \pm 0.02$ (6:1) $= 4.99 \pm 0.01$ (8:1) $= 4.98 \pm 0.02$ (10:1).

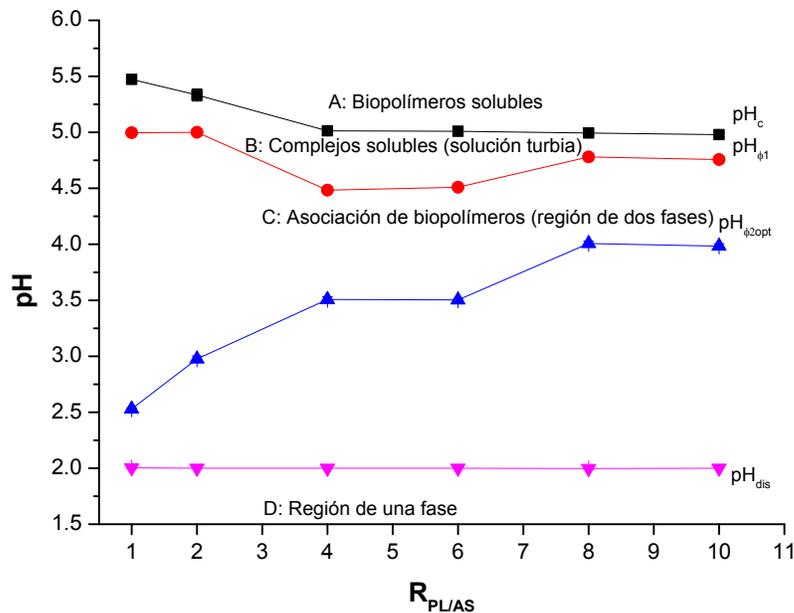


Figura 10. Diagrama de estado del sistema aislado de proteína de lactosuero-alginato de sodio (1 % p/p) a una temperatura de 25 ± 1 °C, como una función de la relación proteína-polisacárido.

De acuerdo con Aryee y Nickerson. (2012) la dependencia del pH_c con respecto a la relación de biopolímeros que se emplea en la mezcla presenta diferentes tendencias, lo cual puede estar relacionado con la presencia de agregados, el tamaño de las proteínas y los agregados, así como a las condiciones del solvente. Dependencia similar a la que

presentó el sistema en estudio PL/AS ha sido informada para los sistemas aislado de proteína de lenteja-goma arábica (Aryee y Nickerson, 2012), aislado de proteína de chícharo-AS (Klemmer *et al.*, 2012), aislado de proteína de lactosuero-(κ , λ , ι) carragenina (Stone y Nickerson *et al.*, 2012) y aislado de proteína de canola- AS/ ι carragenina (Klassen *et al.*, 2011), atribuyéndose este comportamiento a la interacción entre agregados proteína-proteína con las cadenas del polisacárido. En contraste, otros investigadores han encontrado independencia entre la relación proteína-polisacárido con el valor de pH_c , atribuyendo este comportamiento a que la formación de complejos solubles ocurre entre polisacáridos y proteínas individuales. Ejemplos de estos sistemas son: proteínas de lactosuero-goma arábica (Weinbreck *et al.*, 2003), β -lactoglobulina (libre de agregados)- pectina de alto/bajo metoxilo (Girard *et al.*, 2002) y aislado de proteína de chícharo-quitosano (Elmer *et al.*, 2011). Los valores críticos para el inicio de la formación de complejos solubles (pH_{ϕ_1}) para las diferentes $R_{\text{PL/AS}}$ variaron en un rango estrecho de pH de 4.48 a 5.00, presentando los siguientes valores: 4.99 ± 0.02 (1:1), 5.00 ± 0.03 (2:1), 4.48 ± 0.03 (4:1), 4.51 ± 0.02 (6:1), 4.78 ± 0.03 (8:1) y 4.75 ± 0.03 (10:1). Los valores críticos de máxima coacervación u óptimos para la formación de $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$ ($\text{pH}_{\phi_{2\text{opt}}}$) mostraron un desplazamiento hacia valores más altos de pH conforme se incrementó la $R_{\text{PL/AS}}$ y fueron diferentes estadísticamente ($p \leq 0.05$): 3.98 ± 0.02 (10:1) = 4.00 ± 0.02 (8:1) > 3.50 ± 0.01 (6:1) = 3.50 ± 0.02 (4:1) > 2.97 ± 0.02 (2:1) > 2.53 ± 0.01 (1:1).

La tendencia sobre la dependencia de $\text{pH}_{\phi_{2\text{opt}}}$ con respecto a la relación proteína-polisacárido es consistente con la literatura. Para sistemas aislado de proteína de lenteja-goma arábica (Aryee y Nickerson, 2012), proteínas de lactosuero-goma arábica

(Weinbreck *et al.*, 2004b) y aislado de proteína de chícharo-AS (Klemmer *et al.*, 2012) se ha señalado que los valores $\text{pH}_{\phi_{2\text{opt}}}$ tienden a desplazarse hacia valores más altos al incrementarse la relación proteína-polisacárido, dependiendo del sistema empleado, hasta cierta relación de biopolímeros, para posteriormente presentar una meseta o incrementos no significativos, sugiriendo que este comportamiento se debe al enlace de cadenas de polisacárido a una gran cantidad de moléculas de proteína disponibles. Por su parte, el pH correspondiente a la disolución de los $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$ (pH_{dis}) fue independiente de $R_{\text{PL/AS}}$ ($p > 0.05$) y se encontró a un valor de pH 2.0.

Los diagramas de fase son importantes en términos de tener una mayor comprensión sobre las regiones de pH en donde diferentes tipos de complejos PL/AS están presentes.

4.3. Rendimiento y contenido de humedad de coacervados $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$

El rendimiento de los $\text{CC}_{\text{PL/AS}}$ se adoptó como una medida para conocer el efecto de la $R_{\text{PL/AS}}$ (concentración total de biopolímeros de 1 % p/p) y pH sobre la eficiencia de coacervación compleja entre los biopolímeros PL y AS, ya que estos factores influyen en la configuración tridimensional y la densidad de carga de los biopolímeros, modificando de esta manera el grado de interacción electrostática entre ellos (Espinosa-Andrews *et al.*, 2007; Shinde y Nagarsenker, 2009).

En el Cuadro 1 se puede apreciar que el rendimiento de complejación para cada $R_{\text{PL/AS}}$ varía significativamente ($p \leq 0.05$) de acuerdo al pH en el que se encuentre el sistema, siendo la tendencia general que a mayor pH se necesita una mayor $R_{\text{PL/AS}}$ para obtener mayor rendimiento. Weinbreck *et al.* (2004b), Wang *et al.* (2007) y Shinde y Nagarsenker (2009) informaron comportamiento similar en el sistema proteína de

lactosuero-goma arábica, β -lactoglobulina-pectina y gelatina-AS, respectivamente. Espinosa-Andrews *et al.* (2007) mencionan que en el sistema goma arábica-quitosano el máximo rendimiento (~85 %) fue independiente de la relación en peso de biopolímeros que se utilizó. El cambio a valores inferiores de pH cuando la $R_{PL/AS}$ disminuye sugiere que un menor número de moléculas de PL están disponibles para las cadenas de AS por lo que es necesario un pH más ácido para obtener mayor número de cargas positivas en las cadenas de PL y que éstas lleguen a ser suficientes para compensar las cargas negativas del AS (Weinbreck *et al.*, 2004b). Además el rendimiento máximo (%) fue significativamente menor ($p \leq 0.05$), para una $R_{PL/AS}$ mayor, fenómeno fácilmente entendible si se considera que a mayor $R_{PL/AS}$ hay una menor concentración final de AS.

Cuadro 1. Efecto del pH y la $R_{PL/AS}$ sobre el rendimiento de $CC_{PL/AS}$.

pH	$R_{PL/AS}$					
	1:1	2:1	4:1	6:1	8:1	10:1
2.5	81.88 ^d ±0.39	73.73 ^c ±1.32	53.47 ^b ±0.31	39.43 ^b ±0.76	30.86 ^b ±0.20	26.67 ^a ±0.03
3.0	68.86 ^c ±0.70	76.20 ^c ±1.03	41.86 ^a ±1.17	34.93 ^a ±0.85	23.46 ^a ±1.45	26.98 ^a ±0.72
3.5	49.47 ^b ±0.50	63.89 ^b ±0.84	75.36 ^d ±0.27	78.84 ^d ±0.68	53.43 ^c ±0.24	35.64 ^b ±0.41
4.0	31.53 ^a ±1.22	42.96 ^a ±0.72	59.70 ^c ±0.35	68.74 ^c ±0.76	73.39 ^d ±0.66	75.83 ^c ±0.67

pH: pH del sistema aislado de proteína de lactosuero-alginato de sodio; $R_{PL/AS}$: relación en peso entre aislado de proteína de lactosuero-alginato de sodio.

^{a,b,c,d}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

A partir de los resultados del contenido de humedad de los $CC_{PL/AS}$ (Cuadro 2) se observó que un pH = 2.5 rindió los $CC_{PL/AS}$ de menor contenido de humedad ($p \leq 0.05$). En el resto de los pHs evaluados, aquellos $CC_{PL/AS}$ que presentaron los mayores rendimientos tendieron a presentar un menor contenido de humedad. La principal

característica de los $CC_{PL/AS}$ es la gran capacidad que tienen para ligar agua, al respecto Burgess (1990) menciona que el proceso de coacervación que se presenta entre los biopolímeros gelatina-goma arábica se da a través de una competición de fuerzas electrostáticas atractivas que tienden a acumularse en poli-iones cargados los cuales se dispersan por efectos de entropía y es entonces cuando los entrecruzamientos macromoleculares de dos poli-iones de carga opuesta se asocian como resultado de fuerzas electrostáticas para formar una fase coacervada capaz de entrapar grandes cantidades de agua entre sus agregados. Los contenidos de humedad que presentaron los $CC_{PL/AS}$ en este estudio son similares a lo reportado por Wang *et al.* (2007) para el sistema β -lactoglobulina-pectina en una relación de biopolímeros 5:1 y una concentración de NaCl de 0.01, 0.02 y 0.41 M, ya que reportaron un contenido de humedad de 90.9, 90.6 y 89.8 %, respectivamente.

Cuadro 2. Efecto del pH y la $R_{PL/AS}$ sobre el contenido de humedad de $CC_{PL/AS}$.

pH	$R_{PL/AS}$					
	1:1	2:1	4:1	6:1	8:1	10:1
2.5	91.43 ^a ±1.31	90.11 ^a ±1.05	87.15 ^a ±0.35	89.34 ^a ±0.43	88.50 ^a ±0.14	88.88 ^a ±0.37
3.0	98.06 ^c ±0.18	97.46 ^c ±0.32	97.59 ^d ±0.15	96.86 ^c ±0.12	97.03 ^c ±0.67	95.16 ^c ±1.03
3.5	96.52 ^{bc} ±0.14	94.51 ^b ±0.32	91.49 ^b ±0.14	92.41 ^b ±0.87	96.78 ^c ±0.17	97.68 ^d ±0.21
4.0	96.05 ^b ±0.36	95.30 ^b ±0.28	93.97 ^c ±0.11	93.15 ^b ±0.40	92.95 ^b ±0.12	91.24 ^b ±0.86

pH: pH del sistema aislado de proteína de lactosuero-alginato de sodio; $R_{PL/AS}$: relación en peso entre aislado de proteína de lactosuero-alginato de sodio.

^{a,b,c,d}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

Se seleccionaron cuatro $CC_{PL/AS}$ para su caracterización y aplicación en yogur, con base en su rendimiento y pH de formación cercano al de este derivado lácteo; estos $CC_{PL/AS}$ fueron: $CC_{3.5,4:1}$, $CC_{3.5,6:1}$, $CC_{4.0,8:1}$ y $CC_{4.0,10:1}$.

4.4. Caracterización reológica de coacervados CC_{PL/AS}

4.4.1. Curvas de flujo

La Figura 11 muestra la variación de la viscosidad aparente versus la velocidad de cizalla de los CC_{PL/AS}. El comportamiento bajo cizallamiento de los CC_{PL/AS} indicó que se comportaron como materiales estructurados típicos, mostrando una región Newtoniana a bajas velocidades de cizalla ($\sim 0.0023\text{-}0.0030\text{ s}^{-1}$) y una región de adelgazamiento al corte (shear thinning) a velocidades de cizalla superiores (Steffe, 1996). Al considerar la composición de los CC_{PL/AS}, el comportamiento bajo cizalladura se atribuye a modificaciones en la organización macromolecular que presentan los biopolímeros involucrados, como consecuencia de los cambios en la velocidad de cizalla a los que son sometidos.

El comportamiento de la viscosidad aparente de los CC_{PL/AS}, como función de la velocidad de cizalla es típico de muchos fluidos no-Newtonianos (fluidos poliméricos, dispersiones floculadas, coloides) y se debe probablemente a la formación de una estructura reversible o red en el reposo o estado de equilibrio.

A bajas velocidades de cizalla se considera que la tasa de ruptura de las uniones intermoleculares de los biopolímeros es equilibrada por nuevas uniones que se forman permitiendo de esta manera mantener una viscosidad constante. En contraste, a altas velocidades de cizalla la ruptura de uniones intermoleculares predomina sobre la formación de nuevas uniones, promoviendo la alineación de las moléculas en dirección del campo de cizallamiento y originando una disminución de la viscosidad aparente al incrementarse la velocidad de cizalla (Bastos *et al.*, 2010; Murillo-Martínez *et al.*, 2011).

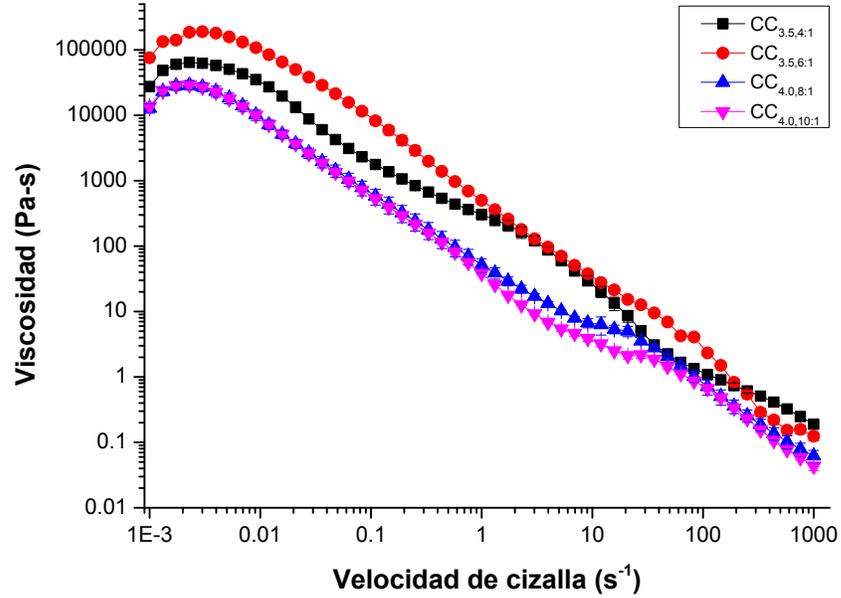


Figura 11. Variación de la viscosidad aparente de los $CC_{PL/AS}$ como función de la velocidad de cizalla.

Los datos experimentales de la Figura 11 se ajustaron al modelo de Carreau ($0.92 < R^2 < 0.96$), el cual describió el comportamiento pseudoplástico de estos sistemas biopoliméricos:

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

Donde: η = viscosidad aparente; γ = velocidad de cizalla; η_0 = viscosidad limitante a baja velocidad de cizalla; λ = tiempo constante asociado al tiempo de relajación de los biopolímeros en solución; η_{∞} = viscosidad a velocidad de cizalla infinita y n = índice de comportamiento de flujo

Los valores de los parámetros reológicos η_0 , λ y n de los $CC_{PL/AS}$ se muestran en el Cuadro 3, pudiendo observarse que los $CC_{3.5,4:1}$ y $CC_{3.5,6:1}$ formados a $pH = 3.5$, presentaron valores de η_0 mayores ($p \leq 0.05$) y valores de λ menores ($p \leq 0.05$) a

aquellos mostrados por los $CC_{4,0,8:1}$ y $CC_{4,0,10:1}$ formados a $pH = 4.0$. Lo anterior sugiere una interacción más fuerte entre los biopolímeros PL y AS a $pH = 3.5$ que a $pH = 4.0$, originándose estructuras con un tiempo de recuperación (λ) menor (Lobato-Calleros *et al.*, 2004; Murillo-Martínez *et al.*, 2011). En contraste, la interacción y resistencia de la estructura de los $CC_{3,5,4:1}$ y $CC_{3,5,6:1}$ fue dependiente de su $R_{PL/AS}$; mientras que las propiedades de flujo de los $CC_{4,0,8:1}$ y $CC_{4,0,10:1}$ fue independiente de su $R_{PL/AS}$.

Cuadro 3. Parámetros reológicos del modelo de Carreau para los $CC_{PL/AS}$.

Código del $CC_{PL/AS}$	η_0 (kPa-s)	λ (s)	n
$CC_{3,5,4:1}$	$57.12^b \pm 1.76$	$171.97^b \pm 18.79$	$0.53^a \pm 0.00$
$CC_{3,5,6:1}$	$133.82^c \pm 4.47$	$72.40^a \pm 15.98$	$0.63^b \pm 0.04$
$CC_{4,0,8:1}$	$30.16^a \pm 2.13$	$379.13^c \pm 23.94$	$0.51^a \pm 0.00$
$CC_{4,0,10:1}$	$30.88^a \pm 2.58$	$407.6^c \pm 0.74$	$0.53^a \pm 0.00$

$CC_{x,y}$: complejos coacervados formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde $x = pH$ y $y =$ relación en peso PL/AS; η_0 : viscosidad limitante a baja velocidad de cizalla; $\lambda =$ tiempo constante asociado al tiempo de relajación de los biopolímeros en solución y $n =$ índice de comportamiento de flujo.

^{a,b,c}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

Un mayor contenido de proteína confirió al $CC_{3,5,6:1}$ mayor valor de η_0 y menor valor de λ , que aquellos mostrados por el $CC_{3,5,4:1}$. Todos los $CC_{PL/AS}$ mostraron comportamiento pseudoplástico o de adelgazamiento al corte ($n < 1$), siendo el $CC_{3,5,6:1}$ el que exhibió menor pseudoplasticidad ($p \leq 0.05$). Comportamientos reológicos similares han sido observados en coacervados de aislado de proteína de lactosuero-quitano,

encontrándose que el uso de relaciones de 1:0.25 y 1:0.10 afectaron de manera significativa el comportamiento “shear thinnig” del sistema (Bastos *et al.*, 2010).

Moschakis *et al.* (2010) mencionaron que emulsiones recubiertas con WPI mostraron un comportamiento casi Newtoniano; sin embargo, al emplear polisacáridos (goma arábica y quitosano) para promover coacervación proteína-polisacárido, se creó un sistema que exhibió comportamiento pseudoplástico el cual es característico de interacciones asociativas.

4.4.2. Barridos de amplitud

Los barridos de deformación mostraron que tanto el pH como la $R_{PL/AS}$ afectaron la respuesta viscoelástica de los $CC_{PL/AS}$. Los datos del módulo elástico (G') (Figura 12) indicaron que los $CC_{PL/AS}$ presentaron una región viscoelástica lineal (RVL) en el rango de deformación de 0.01 a 0.47 %, caracterizada por valores de G' prácticamente constantes, seguida de una región viscoelástica no lineal a deformaciones mayores, en la que se presentó una inflexión pronunciada de los valores de G' . Es en esta última región donde ocurre la ruptura y la reformación de enlaces ocurrió a diferentes velocidades, dependiendo de la estructura de los $CC_{PL/AS}$ (Murillo-Martínez *et al.*, 2011). Los valores de G' en la RVL variaron de menor a mayor como sigue: $CC_{4,0,8:1} < CC_{4,0,10:1} < CC_{3,5,4:1} < CC_{3,5,6:1}$ (Cuadro 4), sugiriendo que valores de pH menores y valores de $R_{PL/AS}$ mayores, contribuyeron a la formación de una estructura coacervada altamente interconectada (Ramírez-Santiago *et al.*, 2012). Los valores del módulo viscoso (G'') de los $CC_{PL/AS}$ en la RVL (Figura 13) fueron más bajos que aquellos mostrados por G' y variaron de menor a mayor en el mismo orden que los valores de G' (Cuadro 4). A un porcentaje de deformación dado en la RVL el valor de G'' fue significativamente menor

que el correspondiente de G' , indicando ello un carácter predominantemente elástico de los $CC_{PL/AS}$, evidenciado por los bajos valores de $\tan \delta$ (Cuadro 4).

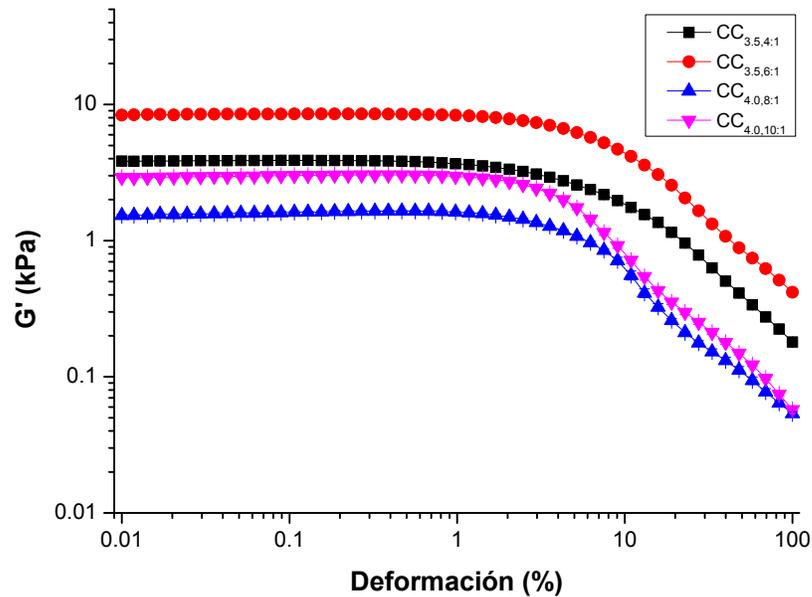


Figura 12. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los $CC_{PL/AS}$ como función de la deformación.

Cuadro 4. Valores del módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y $\tan \delta$ de los $CC_{PL/AS}$ en la región viscoelástica lineal.

Código del $CC_{PL/AS}$	G' (kPa)	G'' (kPa)	$\tan \delta$
$CC_{3,5,4:1}$	$3.85^c \pm 0.02$	$0.66^d \pm 0.02$	$0.17^c \pm 0.00$
$CC_{3,5,6:1}$	$8.52^d \pm 0.10$	$1.25^c \pm 0.01$	$0.14^b \pm 0.00$
$CC_{4,0,8:1}$	$1.64^a \pm 0.03$	$0.18^a \pm 0.00$	$0.11^a \pm 0.00$
$CC_{4,0,10:1}$	$3.04^b \pm 0.05$	$0.31^b \pm 0.00$	$0.10^a \pm 0.00$

$CC_{x,y}$: complejos coacervados formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde $x = pH$ y $y =$ relación en peso PL/AS.

^{a,b,c,d}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

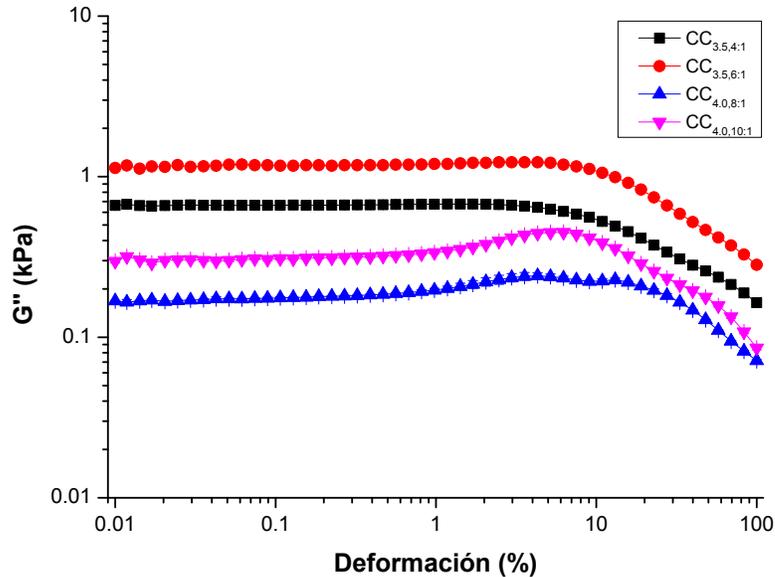


Figura 13. Variación del módulo de pérdida (G'') de los $CC_{PL/AS}$ como función de la deformación.

El comportamiento de G' y G'' a deformaciones mayores a $\sim 0.6\%$ (Figuras 12 y 13) difirió entre los $CC_{PL/AS}$; mientras que las curvas de G' y G'' de $CC_{3,5,4:1}$ y $CC_{3,5,6:1}$ se caracterizaron por un punto de inflexión descendente en los valores de estos dos módulos, aquellas de los $CC_{4,0,8:1}$ y $CC_{4,0,10:1}$ se caracterizaron por un punto de inflexión descendente para G' , pero por un punto de inflexión ascendente seguido de un punto de inflexión descendente para G'' al incrementarse el % de deformación. El comportamiento mostrado en la región viscoelástica no lineal (RVNL) para los $CC_{3,5,4:1}$ y $CC_{3,5,6:1}$ es conocido como “strain thinning” o adelgazamiento por deformación, comportamiento atribuido a un estado de entrecruzamiento o interconexión de las cadenas de PL con aquellas de AS a bajos valores de deformación (RVL); en contraste, al incrementarse el % de deformación las cadenas de PL y AS se des-entrecruzan y se alinean con el campo de flujo (Ramírez-Santiago *et al.*, 2012). Por su parte, el comportamiento mostrado por los $CC_{4,0,8:1}$ y $CC_{4,0,10:1}$ es conocido como “weak strain

overshoot”, característico de asociaciones intermoleculares (principalmente por interacciones electrostáticas y puentes de hidrogeno) entre polielectrolitos que presentan estructura extendida como consecuencia de las repulsión electrostática de los grupos cargados que se encuentran en las cadenas laterales. Cuando una deformación externa se impone la estructura resiste hasta cierta deformación critica, donde G'' se incrementa, pero una vez que este límite se supera la estructura comienza a romperse y se alinea con el campo de flujo (G'' disminuye) (Hyun *et al.*, 2002).

El comportamiento “strain thinning” es característico de una gran cantidad de emulsiones en tanto que el comportamiento “weak strain overshoot” ha sido informado para coacervados de aislado de proteína de lactosuero-pectina de bajo metoxilo y dispersiones de goma xantana al 4 % (p/p) (Hyun *et al.*, 2002; Ramírez-Santiago *et al.*, 2012). El factor de cedencia ($\tan \delta$) es un valor adimensional en función de la relación G''/G' , es decir, es un parámetro que compara la cantidad de energía pérdida durante un ciclo de prueba con la cantidad de energía almacenada en el mismo periodo, siendo un indicador del tipo de comportamiento que predomina en un material viscoelástico (Lobato-Calleros *et al.*, 2009).

Los $CC_{3,5,4:1}$ y $CC_{3,5,6:1}$ mostraron comportamiento predominantemente elástico en todo el rango de deformación estudiado ($\tan \delta < 1$) (Figura 14); por el contrario, los $CC_{4,0,8:1}$ y $CC_{4,0,10:1}$ mostraron comportamiento predominante elástico hasta una deformación menor a 26.84 y 33.76 %, respectivamente.

El comportamiento mostrado por los $CC_{PL/AS}$ podría sugerir que un valor de pH bajo (3.5) contribuyó a la formación de estructuras con mayor carácter elástico que aquellas formadas a pH= 4.0 (Wang *et al.*, 2007).

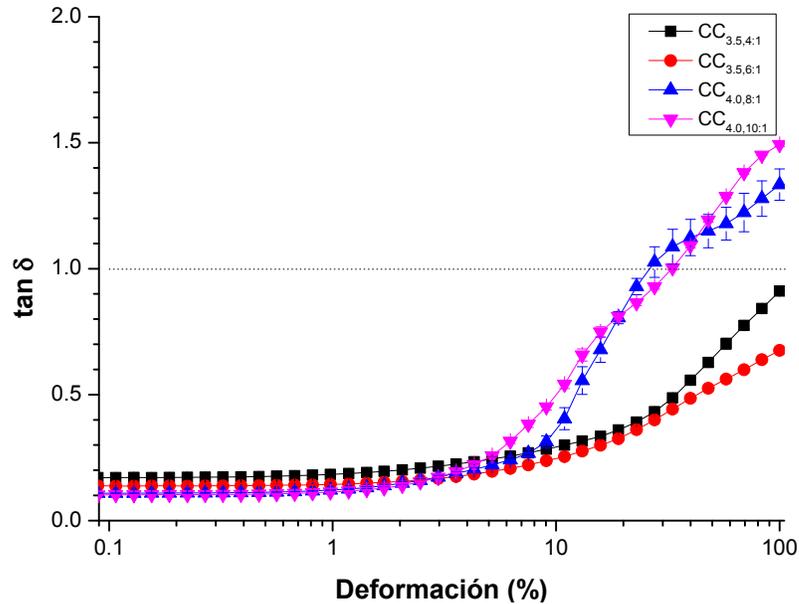


Figura 14. Variación del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los $CC_{PL/AS}$ como función de la deformación.

4.4.3. Barridos de frecuencia

Los $CC_{PL/AS}$ son materiales viscoelásticos por lo que su comportamiento reológico puede ser descrito mediante los parámetros módulo de almacenamiento (G'), el cual es una medida de su naturaleza elástica y módulo de pérdida (G''), el cual es una medida de su naturaleza viscosa (Lobato-Calleros *et al.*, 2006).

Los barridos de frecuencia ($0.1-100 \text{ rad s}^{-1}$) de los $CC_{PL/AS}$ se realizaron a una deformación de 0.3 % con la finalidad de estudiar el comportamiento reológico dentro de la RVL, de acuerdo con los resultados obtenidos en los barridos de amplitud previamente analizados. Las Figuras 15 y 16 muestran la variación de los módulos G' y G'' de los $CC_{PL/AS}$ como función de la frecuencia, pudiendo observarse que ambos módulos mostraron dependencia significativa con la frecuencia, incrementándose conforme la frecuencia se elevó (Cuadro 5).

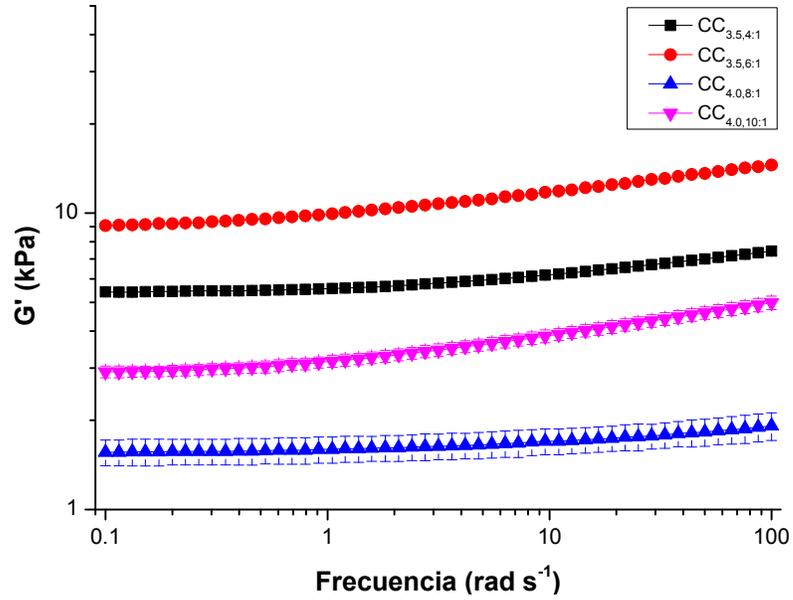


Figura 15. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los $CC_{PL/AS}$ como función de la frecuencia.

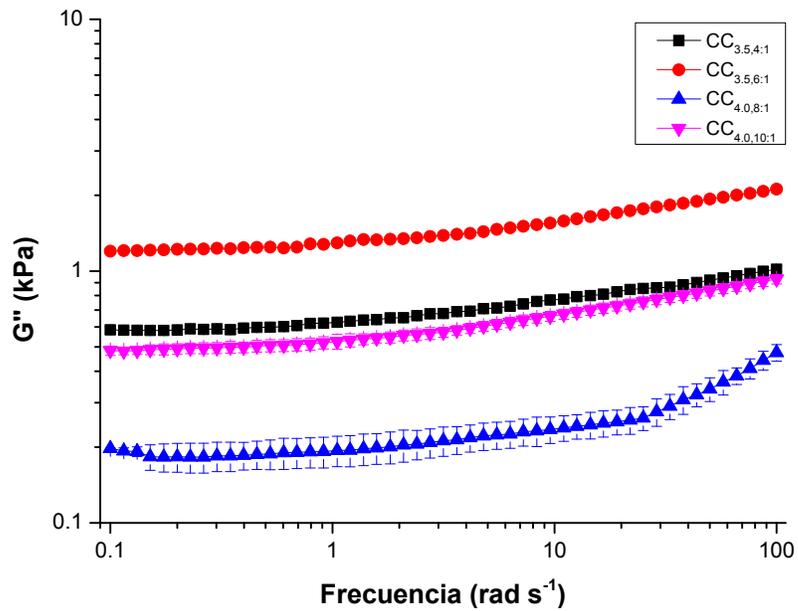


Figura 16. Variación del módulo de pérdida (G'') de los $CC_{PL/AS}$ como función de la frecuencia.

Cuadro 5. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los $CC_{PL/AS}$ en el límite inferior y superior de los barridos de frecuencia.

Código del $CC_{x,y}$	Frecuencia (rad s^{-1})			
	0.1		100	
	G' (kPa)	G'' (kPa)	G' (kPa)	G'' (kPa)
$CC_{3.5,4:1}$	$5.42^{cA} \pm 0.16$	$0.59^{cA} \pm 0.02$	$7.45^{cB} \pm 0.21$	$1.02^{cB} \pm 0.02$
$CC_{3.5,6:1}$	$9.08^{dA} \pm 0.21$	$1.20^{dA} \pm 0.01$	$14.55^{dB} \pm 0.35$	$2.12^{dB} \pm 0.06$
$CC_{4.0,8:1}$	$1.56^{aA} \pm 0.16$	$0.20^{aA} \pm 0.00$	$1.92^{aA} \pm 0.20$	$0.48^{aB} \pm 0.04$
$CC_{4.0,10:1}$	$2.92^{bA} \pm 0.14$	$0.49^{bA} \pm 0.02$	$4.99^{bB} \pm 0.26$	$0.93^{bB} \pm 0.04$

$CC_{x,y}$: complejos coacervados formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde x = pH y y = relación en peso PL/AS.

^{a,b,c,d}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

^{A,B}: superíndices con letras diferentes en una línea indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

La variación de los módulos G' y G'' con la frecuencia es acorde al comportamiento de interacciones débiles, topológicas entre cadenas de biopolímeros, más que el comportamiento de geles (Murillo-Martínez *et al.*, 2011). En el Cuadro 5 puede apreciarse que tanto a bajas como a altas frecuencias todos los $CC_{PL/AS}$ presentaron valores de G' y G'' estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$), sin embargo todos presentaron valores de $G' > G''$, lo que sugiere que presentaron comportamiento viscoelástico predominantemente elástico, lo cual es corroborado por los valores de $\tan \delta < 1$ (Figura 17). Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con el comportamiento predominantemente elástico de coacervados β -lg-pectina (Wang *et al.*, 2007) y albúmina sérico bovina-pectina (Ru *et al.*, 2012). No obstante, coacervados

formados por proteínas de lactosuero-goma arábica (Weinbreck *et al.*, 2004c), goma arábica-quitosano (Espinosa-Andrews *et al.*, 2010) y agar-gelatina (Singh *et al.*, 2007) han mostrado comportamiento predominantemente viscoso, por lo que se puede decir que las propiedades viscoelásticas que se observan en los diferentes sistemas reflejan las características de los pares de biopolímeros que se emplean. Los efectos del pH y de la $R_{PL/AS}$ de los $CC_{PL/AS}$ sobre el comportamiento de G' y G'' en los barridos de frecuencia, son congruentes con los observados en los barridos de amplitud y en las curvas de flujo; al disminuir el pH de formación de los $CC_{PL/AS}$ se incrementó su carácter viscoelástico, probablemente debido a un mayor número de cargas positivas en las cadenas de PL disponibles para la unión electrostática de cadenas de AS. Asimismo, cuando el pH de formación de los $CC_{PL/AS}$ se mantuvo constante y se aumentó la $R_{PL/AS}$, los módulos G' y G'' incrementaron, confirmando que la disponibilidad de un mayor número de cargas positivas en PL contribuyó a interacciones más fuertes con las cadenas de AS.

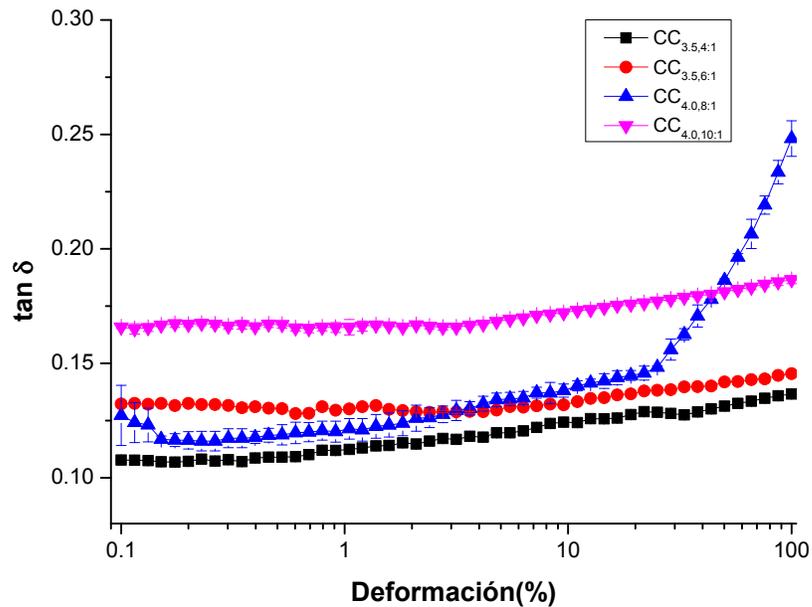


Figura 17. Variación del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los $CC_{PL/AS}$ como función de la frecuencia.

4.5. Composición química y sinéresis del yogur

El Y_{CG} presentó un contenido de grasa significativamente mayor ($p \leq 0.05$) con respecto a los yogures bajos en grasa (Cuadro 6), resultado predecible debido al mayor contenido de grasa en la leche usada para su elaboración, en comparación con aquella utilizada para la preparación del resto de los yogures. El contenido graso del Y_{BG} no difirió significativamente de aquellos de los yogures conteniendo CC_{PL/AS}. El Y_{BG} mostró menor contenido de sólidos totales ($p \leq 0.05$) respecto al Y_{CG} y aquellos yogures bajos en grasa conteniendo CC_{PL/AS}, como resultado de la disminución en el contenido graso de la leche a partir de la cual se elaboró. El contenido de sólidos totales de los yogures bajos en grasa conteniendo CC_{PL/AS} no difirió significativamente. Los valores de los contenidos de sólidos totales de los yogures variaron de forma opuesta a los correspondientes de humedad.

Cuadro 6. Composición química de las variaciones de yogur.

Código del yogur	Humedad (%)	Grasa (%)	Sólidos totales (%)
Y _{CG}	84.24 ^a ± 0.42	2.86 ^b ± 0.06	15.76 ^c ± 0.42
Y _{BG}	86.36 ^c ± 0.14	1.37 ^a ± 0.05	13.63 ^a ± 0.14
Y _{CC3.5,4:1}	85.00 ^{ab} ± 0.19	1.40 ^a ± 0.00	14.99 ^{bc} ± 0.19
Y _{CC3.5,6:1}	85.12 ^b ± 0.11	1.43 ^a ± 0.06	14.88 ^b ± 0.10
Y _{CC4.0,8:1}	85.24 ^b ± 0.21	1.40 ^a ± 0.00	14.76 ^b ± 0.20
Y _{CC4.0,10:1}	84.92 ^{ab} ± 0.46	1.43 ^a ± 0.05	15.07 ^{bc} ± 0.46

Y_{CG}: yogur completo en grasa; Y_{BG}: yogur bajo en grasa; Y_{CC_{x,y}}: yogures bajos en grasa adicionados con CC_{PL/AS} formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde x = pH y y = relación en peso PL/AS.

^{a,b,c} superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

El Cuadro 7 muestra el pH y la susceptibilidad a sinéresis de los yogures a los 7 y 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C. Los valores de pH de los yogures a los 7 d de almacenamiento variaron de 4.34 a 4.42; mientras que a los 15 d de almacenamiento variaron de 4.24 a 4.32. Se puede observar que hubo diferencias ($p \leq 0.05$) entre los valores de pH de los distintos yogures en el día 7 de almacenamiento, no así para el día 15. El pH de el Y_{CG} y el Y_{BG} no disminuyó significativamente durante el tiempo de almacenamiento; en contraste, los valores de pH de $Y_{CC3.5,4:1}$, $Y_{CC3.5,6:1}$, $Y_{CC4.0,8:1}$ y $Y_{CC4.0,10:1}$ disminuyeron ($p \leq 0.05$) durante el periodo de almacenamiento.

Cuadro 7. Valores de pH y sinéresis de los yogures a los 7 y 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

Código del yogur	pH 7 d	pH 15 d	Sinéresis 7 d (%)	Sinéresis 15 d (%)
Y_{CG}	$4.34^{aA} \pm 0.03$	$4.28^{aA} \pm 0.03$	$8.12^{aA} \pm 0.11$	$11.54^{aB} \pm 0.28$
Y_{BG}	$4.36^{abA} \pm 0.01$	$4.32^{aA} \pm 0.04$	$16.27^{eA} \pm 0.40$	$18.51^{eB} \pm 0.27$
$Y_{CC3.5,4:1}$	$4.42^{cB} \pm 0.01$	$4.25^{aA} \pm 0.03$	$14.14^{dA} \pm 0.43$	$17.51^{dB} \pm 0.28$
$Y_{CC3.5,6:1}$	$4.36^{abB} \pm 0.02$	$4.29^{aA} \pm 0.02$	$13.00^{cA} \pm 0.62$	$14.02^{bB} \pm 0.06$
$Y_{CC4.0,8:1}$	$4.34^{aB} \pm 0.01$	$4.24^{aA} \pm 0.02$	$11.75^{bA} \pm 0.35$	$14.16^{bB} \pm 0.39$
$Y_{CC4.0,10:1}$	$4.40^{bcB} \pm 0.01$	$4.26^{aA} \pm 0.03$	$15.36^{eA} \pm 0.21$	$16.31^{cB} \pm 0.09$

Y_{CG} : yogur completo en grasa; Y_{BG} : yogur bajo en grasa; $Y_{CCx,y}$: yogures bajos en grasa adicionados con $CC_{PL/AS}$ formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde x = pH y y = relación en peso PL/AS.

^{a,b,c,d,e}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

^{A,B}: superíndices con letras diferentes en una línea indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

Los valores de pH que presentaron los yogures fueron similares a los informados por otros autores: 4.22 (Hess *et al.*, 1997), 4.32-4.60 (Aryana y McGrew, 2007) y 4.15-4.62 (Tamjidi *et al.*, 2012). El descenso de pH durante el tiempo de almacenamiento es debido a la continúa actividad metabólica del cultivo láctico empleado en la elaboración del yogur, ya que éste continúa fermentando la lactosa durante su almacenamiento; es decir, después de la fermentación y una vez que se coloca el producto en refrigeración las bacterias ácido lácticas siguen con la producción de ácido láctico provocando el fenómeno llamado sobre-acidificación o post-acidificación (Serra *et al.*, 2009). Descensos en el pH con el tiempo de almacenamiento han sido mencionados en yogur “control” y yogur adicionado con microcápsulas de aceite de pescado; así como en yogur “control” y yogur adicionado con oligofructosa e inulina (Aryana y McGrew, 2007; Tamjidi *et al.*, 2012).

La sinéresis como principal defecto en el yogur puede ser definida como la expulsión de suero por contracción de la red estructural, el cual se hace visible sobre la superficie del gel (Sahan *et al.*, 2008; Lee y Lucey, 2010). La susceptibilidad a sinéresis que presentaron los yogures durante 7 y 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C se muestra en el Cuadro 7. Para todos los yogures el % de sinéresis fue significativamente mayor en el día 15 de almacenamiento con respecto a los valores mostrados el día 7. Diferentes resultados se han informado sobre la tendencia de los yogures a la susceptibilidad a sinéresis durante su almacenamiento. Supavititpatana *et al.* (2008) encontraron que la sinéresis de yogur batido aumentó durante su almacenamiento en un periodo de 21 d. Aryana y McGrew (2007) informaron incrementos en la susceptibilidad a sinéresis con el tiempo de almacenamiento en yogur “control” y en aquellos a los que se les adicionó prebióticos (oligofructosa e inulina). En contraste, Tamjidi *et al.* (2012) mencionaron

que yogur enriquecido con $0.8 \text{ g } 1000 \text{ g}^{-1}$ de microcápsulas de aceite de pescado mostró disminución en sinéresis durante el tiempo de almacenamiento. Sahan *et al.* (2008) encontraron que la adición de β -glucano en yogur disminuyó la sinéresis durante un periodo de almacenamiento de 15 d. Keogh y O'kenedy (1998) mencionaron que una combinación (50:50) de goma de algarrobo y goma xantana en yogur batido reduce la sinéresis durante su almacenamiento. Con base en lo expuesto, se puede inferir que la causa exacta de la sinéresis del yogur no está del todo clara; sin embargo, se ha generado información, en donde se menciona que la susceptibilidad a sinéresis está relacionada con una red inestable del gel y un reordenamiento excesivo cuando se tiene un gel con una red estructural débil (Lucey, 2001; Lee y Lucey, 2004).

El Y_{CG} presentó menor grado de sinéresis ($p \leq 0.05$) en los dos periodos de almacenamiento evaluados, en comparación con el resto de los yogures. La menor susceptibilidad a sinéresis del Y_{CG} puede ser atribuida a la formación de una red proteínica con mayor resistencia a la compactación y menor reordenamiento (Lee y Lucey, 2010). Asimismo, dado que en la leche homogeneizada las proteínas se adsorben sobre la superficie de los glóbulos de grasa, un mayor contenido en los niveles de grasa láctea puede proporcionar un incremento de la habilidad de las proteínas para inmovilizar agua (Keogh y O'kenedy, 1998).

La presencia de mayor número de glóbulos de grasa láctea puede conferir a la red proteínica del Y_{CG} una estructura más abierta, con mayor capacidad de retención de humedad, en comparación con aquellas de los yogures bajos en grasa en las que el número de glóbulos de grasa láctea fue reducido considerablemente. Los yogures bajos en grasa adicionados con $CC_{PL/AS}$ presentaron mayor susceptibilidad a sinéresis ($p \leq$

0.05) que el Y_{CG} , pero en general menor susceptibilidad que la exhibida por el Y_{BG} (Cuadro 7). A partir de los resultados expuestos puede inferirse que los $CC_{PL/AS}$ contribuyeron a una mayor retención de humedad en el yogur, probablemente unida a los biopolímeros que los constituyeron mediante enlaces por puente de hidrógeno.

4.6. Caracterización reológica del yogur

4.6.1. Barridos de amplitud

El yogur es un sistema alimenticio viscoelástico, constituido por una matriz proteínica en la que se encuentran principalmente atrapados glóbulos de grasa y elevadas cantidades de agua, por lo que su espectro mecánico puede ser descrito a través del módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G''), con la finalidad de estudiar su naturaleza elástica y viscosa, respectivamente (Penna *et al.*, 2001). Las curvas que definieron la variación de G' como función de la deformación mostraron que la RVL de los yogures comprendió el intervalo de deformación de 0.03-0.215 %, a 1 Hz de frecuencia, tanto a los 7 como a los 15 d de almacenamiento. Las curvas de G' y G'' versus deformación de todos los yogures presentaron forma y tendencia similares (Figuras 18 a 21), pudiendo observarse dos regiones principales: a) Una RVL con valores constantes de G' y G'' , lo que sugiere que en esta región los valores de estos módulos son independientes de la deformación. En esta región los valores de G' fueron mayores a aquellos de G'' , por lo que puede inferirse que todos los yogures mostraron comportamiento predominantemente elástico (Wang *et al.*, 2007; Aguirre-Mandujano *et al.*, 2009); b) Una región de comportamiento no lineal a deformaciones mayores a 0.293 %, asociada con la ruptura de la estructura de los yogures hasta el punto en que su comportamiento reológico se convirtió en predominantemente viscoso ($G'' > G'$) a deformaciones superiores a 30 %.

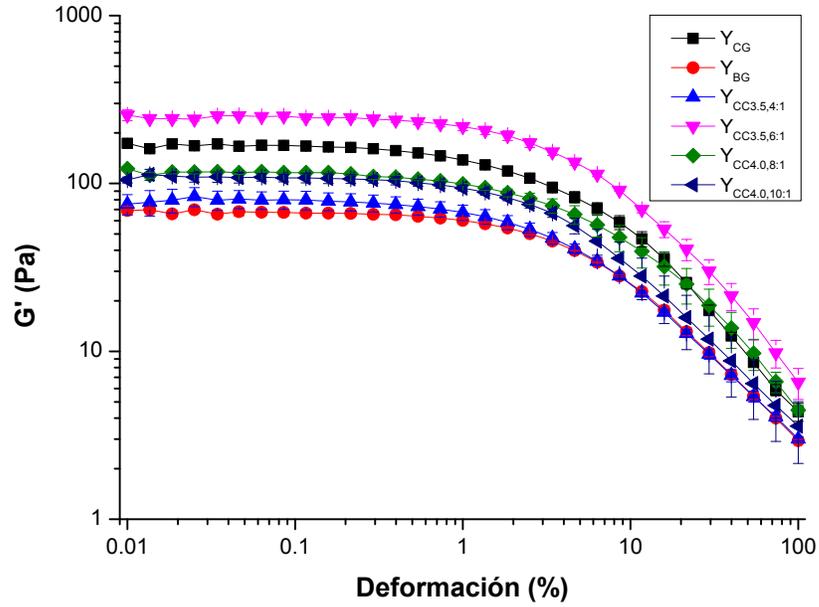


Figura 18. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los yogures como función de la deformación, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

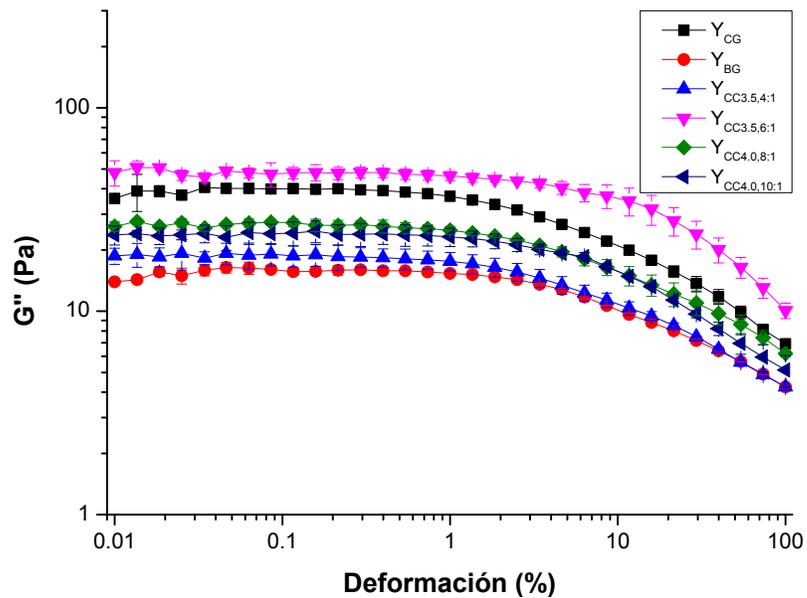


Figura 19. Variación del módulo de pérdida (G'') de los yogures como función de la deformación, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

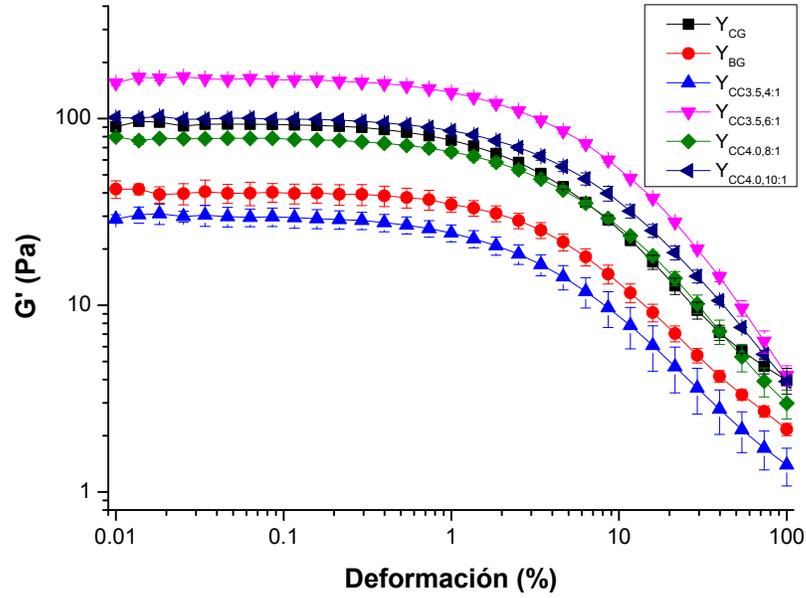


Figura 20. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los yogures como función de la deformación, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

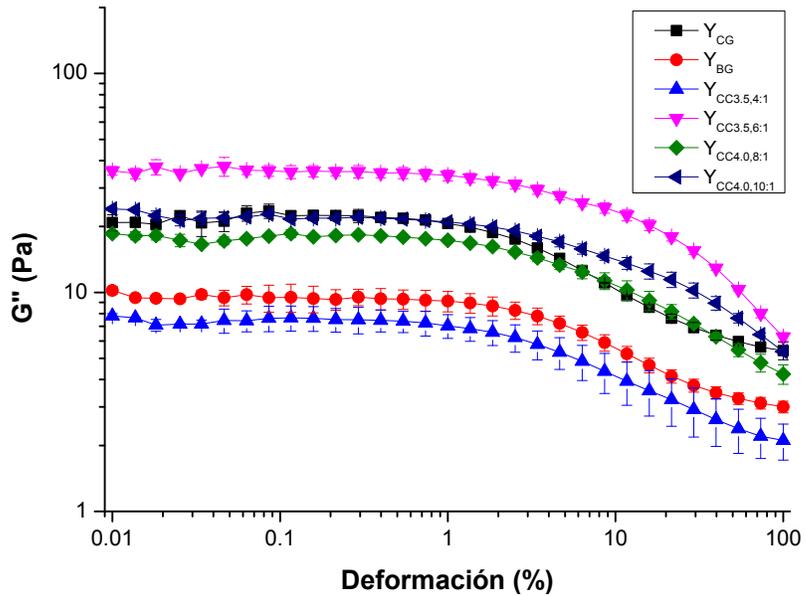


Figura 21. Variación del módulo de pérdida (G'') de los yogures como función de la deformación, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

La reducción en el contenido graso del yogur, así como el pH y la $R_{PL/AS}$ de los $CC_{PL/AS}$ usados en sustitución de la grasa láctea (GL) afectaron sus propiedades viscoelásticas, obteniendo yogures con una amplia gama de propiedades reológicas, dependiendo de su composición. Los valores de G' en la RVL de los yogures a los 7 d de almacenamiento difirieron significativamente ($p \leq 0.05$), variando de mayor a menor valor de la manera siguiente: $Y_{CC3.5,6:1} > Y_{CG} > Y_{CC4.0,8:1} = Y_{CC4.0,10:1} > Y_{CC3.5,4:1} = Y_{BG}$, mientras que para G'' la tendencia fue: $Y_{CC3.5,6:1} = Y_{CG} > Y_{CC4.0,8:1} = Y_{CC4.0,10:1} > Y_{CC3.5,4:1} = Y_{BG}$. A partir de los resultados obtenidos puede inferirse que la reducción de GL ocasionó una disminución significativa en las propiedades reológicas, siendo G' y G'' del yogur (Y_{BG}) significativamente menores a aquellos del Y_{CG} ; lo anterior como consecuencia de la pérdida de glóbulos de GL, uno de los principales componentes estructurales del yogur, los cuales se ha comprobado refuerzan la red proteínica (Aguirre-Mandujano *et al.*, 2009). Sandoval-Castilla *et al.* (2004) informaron que yogures con un menor número de glóbulos de grasa mostraron menor firmeza que los yogures completos en grasa debido a la disminución de su función como promotores estructurales dentro de la red estructural de proteínas. La incorporación de $CC_{PL/AS}$, a excepción del $CC_{3.5,4:1}$ ($Y_{CC3.5,4:1}$), reforzaron la red proteínica del yogur, exhibiendo los yogures $Y_{CC3.5,6:1}$, $Y_{CC4.0,8:1}$ y $Y_{CC4.0,10:1}$, valores de G' y G'' mayores ($p \leq 0.05$) a aquellos del Y_{BG} .

Entre los yogures conteniendo $CC_{PL/AS}$ se observaron diferencias significativas en sus valores de G' y G'' , pudiendo observarse que tanto el pH de formación como la $R_{PL/AS}$ de los $CC_{PL/AS}$, influyeron en el comportamiento reológico de los yogures a los que fueron incorporados. Para el caso de los $CC_{PL/AS}$ formados a $pH = 4.0$, la $R_{PL/AS}$ no afectó significativamente el carácter viscoelástico que confirieron al yogur; en contraste,

para el caso de los $CC_{PL/AS}$ obtenidos a pH de 3.5, incrementos en $R_{PL/AS}$ confirieron al yogur de un mayor carácter viscoelástico. De esta manera, el $CC_{3,5,6:1}$ rindió un yogur ($Y_{CC3,5,6:1}$) con carácter viscoelástico superior ($p \leq 0.05$) al del Y_{CG} ; mientras que el $CC_{3,5,4:1}$ produjo un yogur ($Y_{CC3,5,4:1}$) con carácter viscoelástico pobre, similar ($p > 0.05$) al del Y_{BG} . Estos resultados parecen indicar que la proteína excedente en el $CC_{3,5,6:1}$, en comparación con aquella presente en el $CC_{3,5,4:1}$, fue capaz de interactuar con las cadenas de caseína que conformaron la red proteínica del $Y_{CC3,5,6:1}$, reforzando su estructura e incrementando en turno su resistencia a la deformación. Cabe señalar que disminuciones en el pH causan aumentos en el número de cargas positivas en las PL, las cuales posiblemente estuvieron disponibles para interactuar con grupos $-COO^-$ no neutralizados de la caseína que conformó la red proteínica del yogur y con los componentes de las membranas de los glóbulos de GL.

Un carácter más elástico en el yogur se ha atribuido a un incremento en las interacciones inter-partícula causadas principalmente por la auto-agregación de proteínas de lactosuero, así como por agregados de proteínas de lactosuero adsorbidos en los glóbulos de grasa (Hrzeminski *et al.*, 2011). Houzé *et al.* (2005) mencionaron que altos niveles de proteína de lactosuero disminuyen la resistencia a fuerzas de cizalla y que un contenido reducido de grasa causa pérdida de estructura y viscosidad resultando en una alteración en apariencia, textura y sensación en la boca.

El elevado contenido de proteína de lactosuero de los $CC_{4,0,8:1}$ y $CC_{4,0,10:1}$, formados a pH =4.0, rindió yogures con menor grado de estructuración que el $Y_{CC3,5,6:1}$, aunque con mayor grado de estructuración que el Y_{BG} . Los valores de G' y G'' para los yogures después de 15 d de almacenamiento fueron menores ($p \leq 0.05$) a los exhibidos a los 7 d

de almacenamiento, a excepción del $Y_{CC4,0,10:1}$ que no presentó diferencia significativa en su comportamiento reológico durante el tiempo de almacenamiento (Cuadro 8), lo anterior indica que el yogur es un sistema alimenticio dinámico que sufre rearrreglos estructurales con el tiempo (Lee y Lucey, 2010).

En términos generales, los valores de G' y G'' de los yogures después de 15 d de almacenamiento, siguieron tendencias similares a aquellos exhibidos a los 7 d de almacenamiento (Cuadro 8).

Cuadro 8. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los yogures en la región viscoelástica lineal durante el tiempo de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

Código del yogur	7 d		15 d	
	G' (Pa)	G'' (Pa)	G' (Pa)	G'' (Pa)
Y_{CG}	$167.00^{cB} \pm 2.82$	$40.05^{cB} \pm 0.49$	$92.50^{cA} \pm 4.52$	$22.40^{bA} \pm 0.98$
Y_{BG}	$66.60^{aB} \pm 2.82$	$15.65^{aB} \pm 0.63$	$39.70^{aA} \pm 4.80$	$9.51^{aA} \pm 1.40$
$Y_{CC3,5,4:1}$	$79.65^{aB} \pm 10.11$	$18.70^{abB} \pm 2.26$	$29.45^{aA} \pm 3.60$	$7.66^{aA} \pm 1.00$
$Y_{CC3,5,6:1}$	$246.00^{dB} \pm 5.65$	$47.90^{cB} \pm 3.11$	$161.50^{dA} \pm 2.12$	$35.50^{cA} \pm 2.40$
$Y_{CC4,0,8:1}$	$116.00^{bB} \pm 1.41$	$27.25^{bB} \pm 1.20$	$77.25^{bA} \pm 1.76$	$18.55^{bA} \pm 0.77$
$Y_{CC4,0,10:1}$	$108.00^{bA} \pm 7.07$	$24.25^{bA} \pm 3.32$	$99.30^{cA} \pm 0.28$	$21.65^{bA} \pm 0.07$

Y_{CG} : yogur completo en grasa; Y_{BG} : yogur bajo en grasa; $Y_{CCx,y}$: yogures bajos en grasa adicionados con $CC_{PL/AS}$ formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde $x = pH$ y $y =$ relación en peso PL/AS.

^{a,b,c,d,e}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

^{A,B}: superíndices con letras diferentes en una línea indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

Los rearrreglos estructurales que experimentó el yogur durante el almacenamiento no modificaron su carácter predominantemente elástico en la RVL, presentando valores de $\tan \delta$ menores a la unidad; $\tan \delta$ es un valor adimensional, función de la relación G''/G' , el cual funciona como un indicador del tipo de comportamiento que predomina en un material viscoelástico (Lobato-Calleros *et al.*, 2009).

Considerando lo anterior se puede observar que todos los yogures presentaron un comportamiento predominantemente elástico a deformaciones menores de 30 % (Figuras 22 y 23). Asimismo se puede observar que se presentó el mismo comportamiento a los 7 y 15 d de almacenamiento (Cuadro 9).

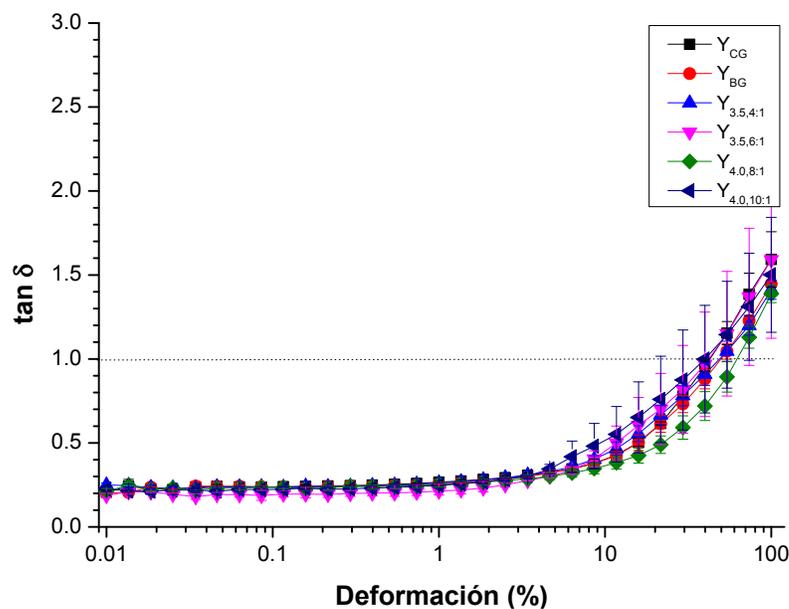


Figura 22. Variación del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures como función de la deformación, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

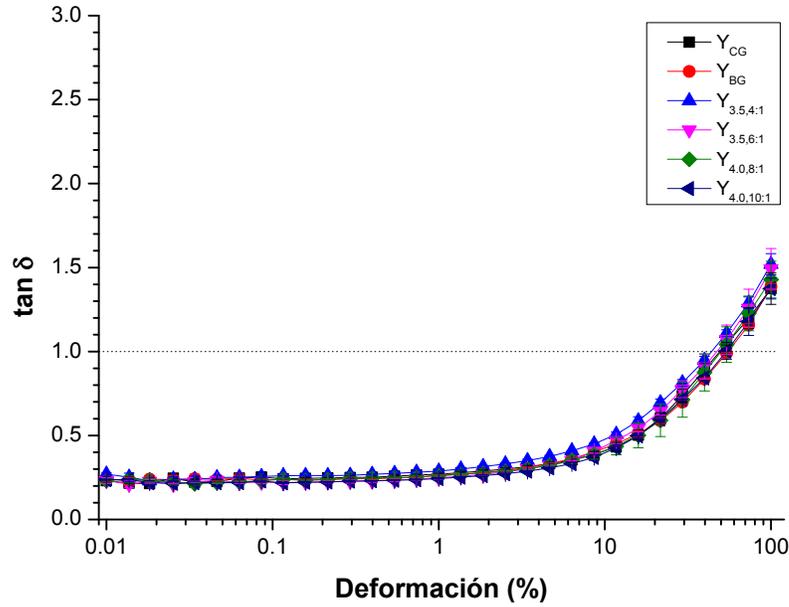


Figura 23. Variación del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures como función de la deformación, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

Cuadro 9. Valores del factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures en la región viscoelástica lineal durante el tiempo de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

Código del yogur	$\tan \delta$ (7 d)	$\tan \delta$ (15 d)
Y _{CG}	$0.24^{bA} \pm 0.00$	$0.24^{abA} \pm 0.00$
Y _{BG}	$0.23^{bA} \pm 0.00$	$0.23^{abA} \pm 0.00$
Y _{CC3.5,4:1}	$0.23^{bA} \pm 0.00$	$0.26^{bB} \pm 0.00$
Y _{CC3.5,6:1}	$0.19^{aA} \pm 0.02$	$0.21^{aA} \pm 0.01$
Y _{CC4.0,8:1}	$0.23^{bA} \pm 0.00$	$0.24^{abA} \pm 0.00$
Y _{CC4.0,10:1}	$0.22^{abA} \pm 0.02$	$0.21^{aA} \pm 0.00$

Y_{CG}: yogur completo en grasa; Y_{BG}: yogur bajo en grasa; Y_{CC_{x,y}}: yogures bajos en grasa adicionados con CC_{PL/AS} formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde x = pH y y = relación en peso PL/AS.

^{a,b}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias; ^{A,B}: superíndices con letras diferentes en una línea indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

4.6.2. Barridos de frecuencia

Para caracterizar la dependencia del comportamiento reológico de los yogures como función de la frecuencia, se determinaron sus propiedades viscoelásticas dentro de un rango de frecuencia de 0.1-10 Hz (Hassan *et al.*, 2003; González-Tomás *et al.*, 2008). De acuerdo con los resultados obtenidos de los barridos de amplitud, previamente analizados, los barridos de frecuencia se realizaron a una deformación constante de 0.1 % con el propósito de trabajar dentro de la RVL de los yogures.

Las Figuras 24, 25, 26 y 27 muestran la variación de G' y G'' de los yogures como función de la frecuencia después de 7 y 15 d de almacenamiento, pudiendo observarse que ambos módulos mostraron dependencia significativa con la frecuencia, incrementándose conforme la frecuencia se elevó.

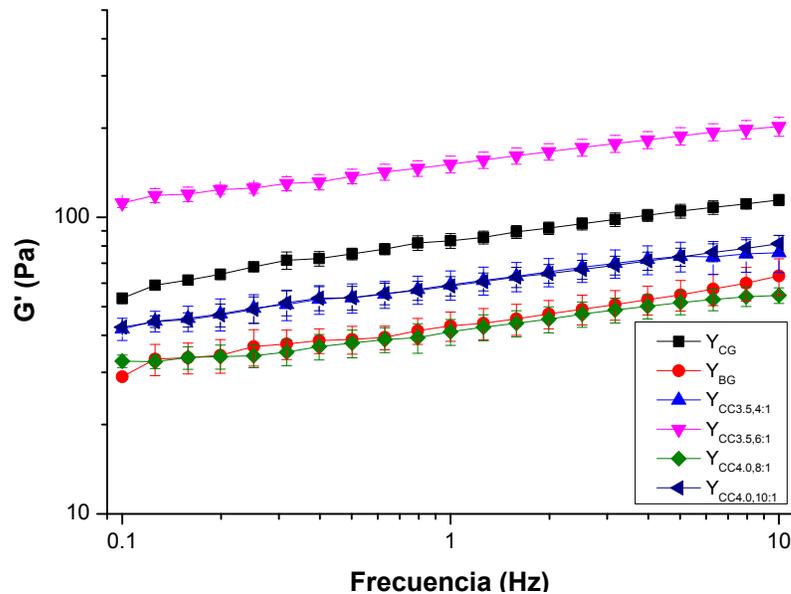


Figura 24. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los yogures como función de la frecuencia, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

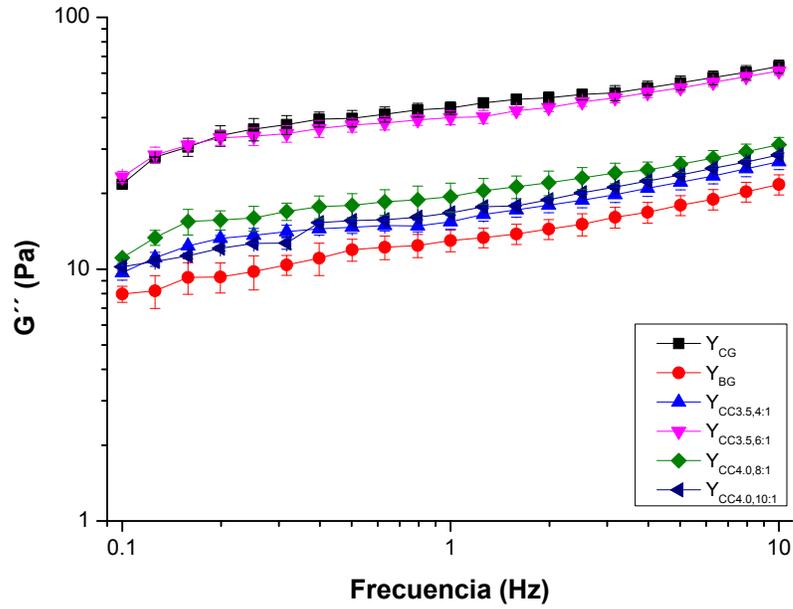


Figura 25. Variación del módulo de pérdida (G'') de los yogures como función de la frecuencia, después de 7 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

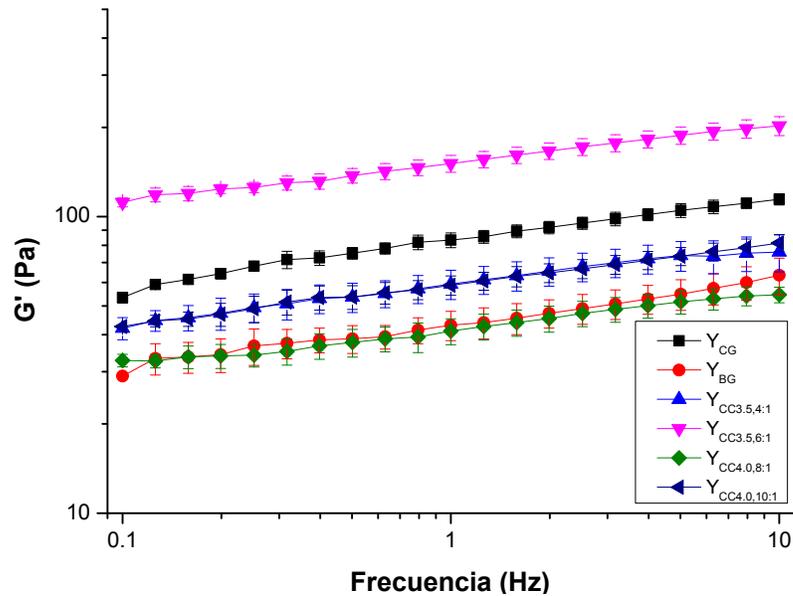


Figura 26. Variación del módulo de almacenamiento (G') de los yogures como función de la frecuencia, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

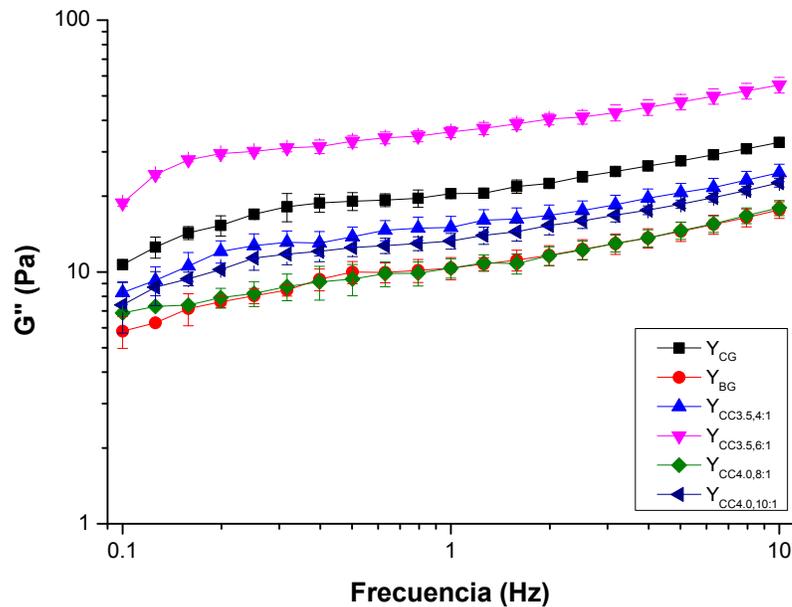


Figura 27. Variación del módulo de pérdida (G'') de los yogures como función de la frecuencia, después de 15 d de almacenamiento a 5 ± 1 °C.

En los Cuadros 10 y 11 puede apreciarse que tanto a bajas como a altas frecuencias todos los yogures presentaron valores de G' y G'' estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$); sin embargo todos presentaron valores de $G' > G''$, después de 7 y 15 d de almacenamiento, lo que sugiere que presentaron comportamiento viscoelástico predominantemente elástico.

Este comportamiento reológico es característico de geles viscoelásticos débiles y ha sido informado para yogures tradicionales, así como para aquellos adicionados con distintos tipos de PL, hidrocoloides y geles de monoglicéridos (Hassan *et al.*, 2003; González-Tomás *et al.*, 2008; Aguirre-Mandujano *et al.*, 2009).

Los yogures siguieron tendencias similares a las observadas en los barridos de amplitud. Al séptimo día de almacenamiento, tanto a bajas como a altas frecuencias, el Y_{CG} y el $Y_{CC3.5,6:1}$ presentaron módulos viscoelásticos similares ($p > 0.05$) y más elevados ($p \leq$

0.05) que los correspondientes al resto de los yogures. En general, los yogures $Y_{CC4.0,8:1}$ y $Y_{CC4.0,10:1}$ presentaron valores de G' y G'' intermedios a aquellos de los yogures Y_{CG} y $Y_{CC3.5,6:1}$ y los de Y_{BG} y $Y_{CC3.5,4:1}$.

El comportamiento reológico de los yogures dependiente de su composición fue semejante al observado en los barridos de amplitud, por lo que es posible inferir que los efectos del pH y de la $R_{PL/AS}$ usados para la formación de los $CC_{PL/AS}$ influyeron de manera similar sobre el comportamiento reológico de los yogures sometidos a variaciones de deformación o a variaciones de frecuencia.

Las diferencias en el comportamiento reológico de los yogures deben ser entonces explicadas en términos de las características de estructuración que surgen en los yogures debido a la composición e interacciones de los $CC_{PL/AS}$ con la red proteínica del producto. De esta manera se puede inferir que en el $Y_{CC3.5,6:1}$ se presentó un mayor número de interacciones a través de la red proteínica del yogur, ya que a mayor cantidad de uniones dentro de la matriz mayor es la elasticidad (mayor valor de G') de la estructura del gel (Everett y Olson, 2000). En contraste, para el resto de los sistemas no se generaron suficientes interacciones capaces de generar una estructura con elasticidad similar a la del Y_{CG} .

Con el tiempo de almacenamiento (15 d), los módulos G' y G'' del Y_{CG} sufrieron decremento significativo a bajas y altas frecuencias (Cuadros 10 y 11); mientras que aquellos del Y_{BG} permanecieron constantes ($p > 0.05$).

El comportamiento de G' y G'' de los yogures conteniendo $CC_{PL/AS}$ durante el almacenamiento fue variable y dependió del pH y la $R_{PL/AS}$ usados para su preparación.

Cuadro 10. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los yogures determinados a 0.1 Hz durante su almacenamiento a $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

Tratamiento	7 d de almacenamiento		15 d de almacenamiento	
	G' (Pa)	G'' (Pa)	G' (Pa)	G'' (Pa)
Y_{CG}	$125.50^{dB} \pm 3.53$	$21.75^{cB} \pm 0.49$	$53.35^{cA} \pm 2.19$	$10.70^{bA} \pm 0.14$
Y_{BG}	$36.60^{aA} \pm 2.82$	$7.97^{aA} \pm 0.57$	$29.00^{aA} \pm 0.14$	$5.82^{aA} \pm 0.84$
$Y_{CC3.5,4:1}$	$45.60^{abA} \pm 3.35$	$9.67^{abA} \pm 0.62$	$42.05^{bA} \pm 3.60$	$8.29^{abA} \pm 0.85$
$Y_{CC3.5,6:1}$	$125.00^{dA} \pm 4.24$	$23.25^{cB} \pm 1.20$	$112.00^{dA} \pm 3.88$	$18.80^{cA} \pm 0.56$
$Y_{CC4.0,8:1}$	$62.55^{cB} \pm 1.02$	$11.10^{bB} \pm 0.14$	$32.75^{baA} \pm 1.59$	$6.88^{aA} \pm 0.17$
$Y_{CC4.0,10:1}$	$56.30^{bcB} \pm 1.73$	$10.25^{abA} \pm 0.31$	$42.60^{bA} \pm 0.14$	$7.40^{abA} \pm 1.68$

Y_{CG} : yogur completo en grasa; Y_{BG} : yogur bajo en grasa; $Y_{CCx,y}$: yogures bajos en grasa adicionados con $CC_{PL/AS}$ formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde $x = pH$ y $y =$ relación en peso PL/AS.

^{a,b,c,d}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias; ^{A,B}: superíndices con letras diferentes en una línea indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

Cuadro 11. Valores de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') de los yogures determinados a 10 Hz durante su almacenamiento a $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

Tratamiento	7 d de almacenamiento		15 d de almacenamiento	
	G' (Pa)	G'' (Pa)	G' (Pa)	G'' (Pa)
Y_{CG}	$244^{bB} \pm 23.68$	$63.85^{cB} \pm 3.85$	$114.50^{bA} \pm 4.94$	$32.70^{bA} \pm 0.84$
Y_{BG}	$74.35^{aA} \pm 6.39$	$21.70^{aA} \pm 1.97$	$63.45^{aA} \pm 8.98$	$17.65^{aA} \pm 1.34$
$Y_{CC3.5,4:1}$	$82.25^{aA} \pm 8.37$	$26.75^{abA} \pm 1.87$	$76.00^{aA} \pm 10.90$	$24.80^{abA} \pm 1.97$
$Y_{CC3.5,6:1}$	$236.50^{bA} \pm 16.26$	$61.25^{cA} \pm 2.29$	$202.50^{cA} \pm 14.84$	$55.30^{cA} \pm 3.95$
$Y_{CC4.0,8:1}$	$107.00^{aB} \pm 7.07$	$31.25^{bB} \pm 2.15$	$54.55^{aA} \pm 3.28$	$18.00^{aA} \pm 1.23$
$Y_{CC4.0,10:1}$	$97.75^{aA} \pm 6.18$	$28.45^{abB} \pm 0.49$	$81.50^{abA} \pm 5.37$	$22.65^{aA} \pm 0.88$

Y_{CG} : yogur completo en grasa; Y_{BG} : yogur bajo en grasa; $Y_{CCx,y}$: yogures bajos en grasa adicionados con $CC_{PL/AS}$ formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde $x = pH$ y $y =$ relación en peso PL/AS.

^{a,b,c}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias; ^{A,B}: superíndices con letras diferentes en una línea indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

4.7. Evaluación sensorial

Después de 7 d de almacenamiento cambios en la composición del yogur no afectaron la percepción de sus atributos de cremosidad y aroma ($p > 0.05$), pero sí aquellos de dulzor, acidez, consistencia, granulosidad y aceptabilidad global ($p \leq 0.05$) (Cuadro 12).

El dulzor y la acidez del Y_{CG} fueron percibidos como significativamente menores a los correspondientes a los $Y_{CC3.5,6:1}$, $Y_{CC4.0,8:1}$ y $Y_{CC4.0,10:1}$. Los consumidores percibieron la consistencia y la granulosidad del Y_{CG} como iguales ($p > 0.05$) a aquellas del resto de los yogures. La aceptabilidad global del Y_{CG} fue indistinta ($p > 0.05$) a la obtenida para el resto de los yogures, a excepción del $Y_{CC4.0,8:1}$ que obtuvo mayor aceptabilidad global.

Los resultados de la evaluación sensorial de los yogures después de 15 d de almacenamiento (Cuadro 13), mostraron que los atributos sensoriales de los yogures sufrieron algunas modificaciones. Además de calificar como similares estadísticamente la cremosidad y el aroma de los distintos yogures, los consumidores también evaluaron como iguales ($p > 0.05$) los atributos de consistencia y granulosidad, manteniendo calificaciones diferenciadas para dulzor, acidez y aceptabilidad global.

El dulzor y la acidez del Y_{CG} fueron percibidos como menores ($p \leq 0.05$) a aquellos del resto de los yogures. En relación a la acidez estos resultados son acordes a los expresados en el Cuadro 12. Sorpresivamente, los yogures bajos en grasa con o sin coacervados después de 15 d de almacenamiento obtuvieron calificaciones mayores de aceptabilidad global respecto al Y_{CG} , estando estas en el rango de me gusta moderadamente y me gusta mucho. Una explicación probable a lo anterior, pudiera ser el hecho de que cada día más consumidores ingieren alimentos reducidos en grasa.

Cuadro 12. Medias de las calificaciones asignadas a los atributos y la aceptabilidad global de los yogures después de 7 d de almacenamiento.

Código del yogur	Cremosidad	Dulzor	Acidez	Aroma	Consistencia	Granulosidad	Aceptabilidad global
Y _{CG}	5.33 ^a ± 1.54	5.03 ^a ± 1.50	5.03 ^a ± 1.43	5.28 ^a ± 1.27	5.45 ^{ab} ± 1.21	5.46 ^{ab} ± 1.29	5.16 ^a ± 1.52
Y _{BG}	5.06 ^a ± 1.42	5.58 ^{ab} ± 1.46	5.43 ^{ab} ± 1.65	5.53 ^a ± 1.29	5.28 ^a ± 1.23	5.80 ^b ± 1.41	5.58 ^{ab} ± 1.29
Y _{CC3.5,4:1}	5.45 ^a ± 1.43	5.60 ^{ab} ± 1.35	5.36 ^{ab} ± 1.23	5.65 ^a ± 1.49	5.63 ^{ab} ± 1.44	5.28 ^{ab} ± 1.35	5.73 ^{ab} ± 1.48
Y _{CC3.5,6:1}	5.46 ^a ± 1.45	5.78 ^b ± 1.36	5.65 ^b ± 1.36	5.68 ^a ± 1.24	5.50 ^{ab} ± 1.49	5.46 ^{ab} ± 1.46	5.65 ^{ab} ± 1.40
Y _{CC4.0,8:1}	5.68 ^a ± 1.34	5.95 ^b ± 1.24	5.68 ^b ± 0.98	5.41 ^a ± 1.13	5.86 ^b ± 1.01	5.71 ^a ± 1.31	5.15 ^b ± 1.05
Y _{CC4.0,10:1}	5.51 ^a ± 1.21	5.81 ^b ± 1.28	5.46 ^{ab} ± 1.21	5.53 ^a ± 1.03	5.48 ^b ± 1.38	5.11 ^{ab} ± 1.46	5.40 ^a ± 1.54

Y_{CG}: yogur completo en grasa; Y_{BG}: yogur bajo en grasa; Y_{CCx,y}: yogures bajos en grasa adicionados con CC_{PL/AS} formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde x = pH y y = relación en peso PL/AS.

^{a,b}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

Cuadro 13. Medias de las calificaciones asignadas a los atributos y la aceptabilidad global de los yogures después de 15 d de almacenamiento.

Tratamientos	Cremosidad	Dulzor	Acidez	Aroma	Consistencia	Granulosidad	Aceptabilidad global
Y _{CG}	5.21 ^a ± 1.53	4.21 ^a ± 1.43	4.26 ^a ± 1.30	5.03 ^a ± 1.50	5.11 ^a ± 1.40	4.96 ^a ± 1.56	4.33 ^a ± 1.58
Y _{BG}	5.45 ^a ± 1.41	5.01 ^b ± 1.29	4.90 ^b ± 1.36	5.40 ^a ± 1.26	5.35 ^a ± 1.38	5.58 ^a ± 1.75	5.31 ^b ± 1.33
Y _{CC3.5,4:1}	5.33 ^a ± 1.27	5.51 ^{bc} ± 1.11	5.31 ^b ± 1.37	5.41 ^a ± 1.23	5.41 ^a ± 1.25	5.16 ^a ± 1.64	5.91 ^b ± 1.10
Y _{CC3.5,6:1}	5.46 ^a ± 1.25	5.61 ^c ± 1.09	5.21 ^b ± 1.12	5.48 ^a ± 1.34	5.41 ^a ± 1.21	5.01 ^a ± 1.58	5.83 ^b ± 1.06
Y _{CC4.0,8:1}	5.43 ^a ± 1.39	5.31 ^{bc} ± 1.24	5.21 ^b ± 1.36	5.11 ^a ± 1.41	5.51 ^a ± 1.32	5.35 ^a ± 1.54	5.76 ^b ± 1.14
Y _{CC4.0,10:1}	5.18 ^a ± 1.37	5.36 ^{bc} ± 1.35	5.03 ^b ± 1.54	5.26 ^a ± 1.35	5.20 ^a ± 1.43	4.91 ^a ± 1.49	5.48 ^b ± 1.28

Y_{CG}: yogur completo en grasa; Y_{BG}: yogur bajo en grasa; Y_{CC_{x,y}}: yogures bajos en grasa adicionados con CC_{PL/AS} formados por aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS), donde x = pH y y = relación en peso PL/AS.

^{a,b,c}: superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre medias.

Los mapas de preferencia son técnicas comúnmente utilizadas para examinar la relación entre los datos de los atributos sensoriales y la aceptabilidad global del producto por el consumidor. Una de estas técnicas es el mapa de preferencia interno, el cual es un análisis de componentes principales (ACP), que emplea las calificaciones individuales de los consumidores hacia los productos para obtener nuevas variables que corresponden a las principales dimensiones de la preferencia. El espacio producto se construye exclusivamente basándose en las calificaciones hedónicas a través de los productos (las observaciones) y el consumidor (las variables) (Thompson *et al.*, 2004; Young *et al.*, 2004).

El ACP de los atributos sensoriales y la aceptabilidad global indicó la relación entre ellos, así como la distribución de las distintas formulaciones de yogur en un espacio bidimensional. El ACP después de 7 d de elaborados los yogures, arrojó un primer componente principal que explicó el 53.76 % de la varianza total, el cual estuvo definido por los atributos de acidez y dulzor correlacionados positivamente con la aceptabilidad global (Figura 28). El segundo componente explicó el 21.09 % de la varianza y estuvo definido por los atributos de consistencia y cremosidad correlacionados negativamente con granulosidad. Los resultados expuestos indican que la aceptabilidad global de los yogures estuvo en gran medida relacionada con su acidez y dulzor. En adición, los yogures percibidos como consistentes y cremosos, fueron poco granulosos. Los dos componentes principales claramente diferenciaron a los yogures de acuerdo a su composición. De acuerdo a la posición de los yogures en el espacio bidimensional, puede inferirse en términos generales que el Y_{CG} y el Y_{BG} presentaron atributos sensoriales evaluados con calificaciones muy distintas a aquellas asignadas a los yogures

conteniendo $CC_{PL/AS}$, encontrándose estos últimos en posiciones que indican una mayor preferencia por sus atributos sensoriales; en particular el yogur $Y_{CC4,0,8:1}$ el cual presentó las calificaciones más altas en aceptabilidad global, consistencia y cremosidad. Del resto de los yogures incorporados con $CC_{PL/AS}$, el $Y_{CC4,0,10:1}$ fue el que presentó menor aceptabilidad global y los $Y_{CC3,5,6:1}$ y $Y_{CC3,5,4:1}$ una aceptabilidad global intermedia. En contraste, el Y_{CG} aunque presentó buena cremosidad y consistencia, exhibió bajas calificaciones de aceptabilidad global, al parecer relacionadas con su bajo dulzor y acidez. Por su parte, el Y_{BG} también recibió bajas calificaciones de aceptabilidad global, probablemente por haber sido percibido como granuloso y poco cremoso y consistente.

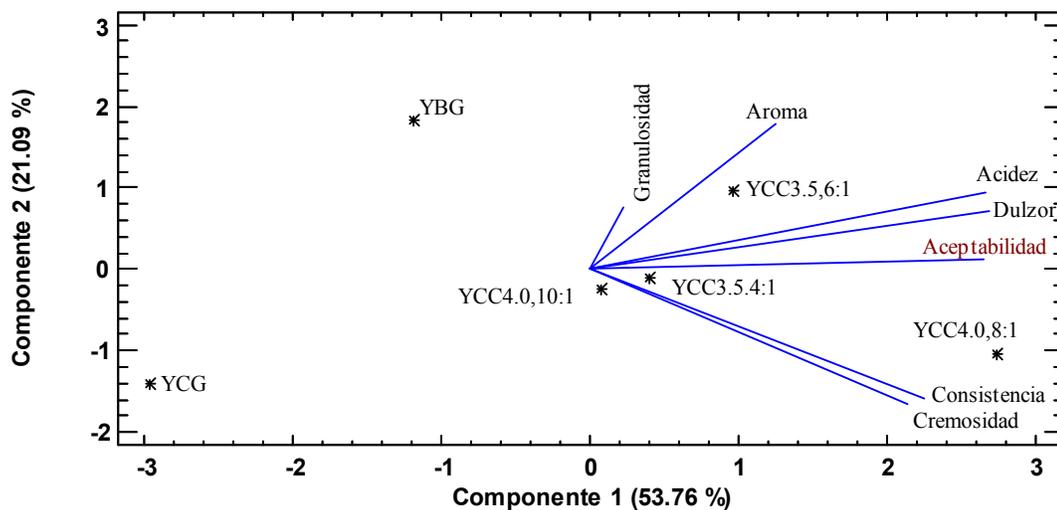


Figura 28. Análisis de Componentes Principales de los atributos sensoriales y aceptabilidad global de los yogures después de 7 d de elaborados.

El ACP después de 15 d de elaborados los yogures (Figura 29), arrojó un primer componente principal que explicó el 67.25 % de la varianza total, el cual estuvo definido por los atributos de acidez, dulzor, aroma y consistencia correlacionados positivamente con la aceptabilidad global. El segundo componente explicó el 20.32 % de la varianza y estuvo definido por los atributos de cremosidad y granulosidad correlacionados

positivamente. Al contrastar estos resultados con los obtenidos a los 7 d de elaborados los yogures, puede observarse que la aceptabilidad de los yogures después de 15 d de elaborados estuvo correlacionada con un mayor número de atributos sensoriales que a los 7 d de preparados los yogures.

Las posiciones del Y_{CG} y del Y_{BG} fueron consistentes con las observadas a los 7 d de almacenamiento, confirmando los atributos sensoriales ya referidos para ambos. Para el caso de los yogures conteniendo $CC_{PL/AS}$, el $Y_{CC4.0,10:1}$ continuó siendo el que obtuvo menor calificación de aceptabilidad global; mientras que $Y_{CC3.5,6:1}$ fue el que tuvo mayor aceptabilidad global, relacionado esto último con su mayor acidez, dulzor y aroma. El $Y_{CC4.0,8:1}$ fue percibido como más consistente y cremoso que el $Y_{CC3.5,6:1}$, pero su menor aroma, acidez y dulzor lo ubicaron con menor aceptabilidad global. Por su parte el $Y_{CC3.5,4:1}$ presentó aroma, acidez y dulzor intermedios a aquellos del $Y_{CC4.0,8:1}$ y $Y_{CC3.5,6:1}$, recibiendo una menor calificación de aceptabilidad global que este último.

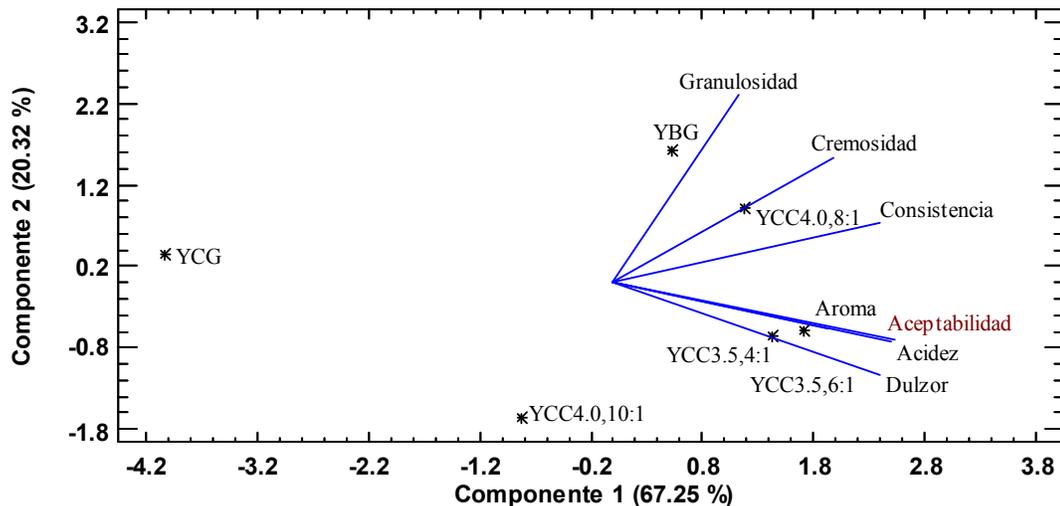


Figura 29. Análisis de Componentes Principales de los atributos sensoriales y aceptabilidad global de los yogures después de 15 d de elaborados.

5. CONCLUSIONES

El fenómeno de coacervación compleja entre aislado de proteína de lactosuero (PL) y alginato de sodio (AS) a pH = 3.5, fue óptima a una relación en peso PL/AS ($R_{PL/AS}$) de 4:1 y 6:1, con rendimientos de coacervados ($CC_{PL/AS}$) de 75.36 y 78.84 %, respectivamente; mientras que a pH = 4.0 la $R_{PL/AS}$ óptima fue de 8:1 y 10:1, con rendimientos de $CC_{PL/AS}$ de 73.39 y 75.83 %, respectivamente.

Todos los $CC_{PL/AS}$ presentaron comportamiento viscoelástico con carácter predominantemente elástico, lo que sugiere que en todos ellos la interacción electrostática entre las moléculas de PL y las cadenas de AS llevó a la formación de una red tridimensional bien estructurada, siendo el $CC_{3.5,6:1}$ (preparado a pH = 3.5 y una $R_{PL/AS}$ de 6:1) el que presentó los valores más elevados de los módulos elástico (G') y de pérdida (G'') en la región viscoelástica lineal.

La incorporación de $CC_{PL/AS}$ preparados a diferentes valores de pH (3.5 y 4.0) y distintas $R_{PL/AS}$ (4:1, 6:1, 8:1 y 10:1) en yogur reducido en grasa, rindió productos que difirieron en su composición química y grado de sinéresis; observándose de manera particular que la incorporación de $CC_{4.0,8:1}$ (preparado a pH = 4.0 y una $R_{PL/AS}$ de 8:1) y $CC_{3.5,6:1}$ (preparado a pH = 3.5 y una $R_{PL/AS}$ de 6:1) contribuyó a la obtención de yogures con la mitad del contenido de grasa láctea que el yogur completo en grasa (Y_{CG}), y con un menor grado de sinéresis durante el tiempo de almacenamiento, en comparación con el mostrado por el yogur bajo en grasa (Y_{BG}) sin $CC_{PL/AS}$.

La incorporación de $CC_{PL/AS}$ mejoró sensiblemente las propiedades reológicas de yogur bajo en grasa durante el tiempo de almacenamiento, presentando el $Y_{CC3.5,6:1}$, incorporado con $CC_{3.5,6:1}$, módulos viscoelásticos (G' y G'') comparables a los del Y_{CG} .

Los productos $Y_{CC4.0,8:1}$ y $Y_{CC3.5,6:1}$ exhibieron una mayor aceptabilidad global respecto al Y_{CG} y Y_{BG} , sugiriendo que la incorporación de $CC_{PL/AS}$ como sustitutos de grasa permite la elaboración de productos funcionales.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aguirre-Mandujano, E., C. Lobato-Calleros, C. I Beristain, H. S. García-Galindo, E.J. Vernon-Carter. 2009. Microstructure and viscoelastic properties of low-fat yoghurt structured by monoglyceride gels. *LWT-Food Science and Technology*. 42: 938-944.

Alvídrez M. A., B. E. González M, Z. Jiménez S. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 3: 1-6.

American Association of Cereal Chemists. 2001. The definition of dietary fiber. *En: Report on the dietary fiber definition Committee to the Board of Directors of the American Association of Cereal Chemists*. *Cereal Foods World*. 46: 112-126.

AOAC. 1995. *Association of Official Analytical Chemists*, 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA., EUA.

Araya L. H, M. Lutz R. 2003. Alimentos funcionales y saludables. *Revista Chilena de Nutrición*. 30: 8-14.

Aryana, K. J., P. McGrew. 2007. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT-Food Science and Technology*. 40: 1808-1814.

Aryee, F. N. A, M. T. Nickerson. 2012. Formation of electrostatic complexes involving mixtures of lentil protein isolates and gum Arabic polysaccharides. *Food Research International*. 48: 520-527.

Bastos, D. S., B. N. Barreto., H. K. S. Souza., M. Bastos., M. H. M. Rocha-Leao., C. T. Andrade, M. P. Goncalves. 2010. Characterization of a chitosan simple

extracted from Brazilian shrimps and its application to obtain insoluble complexes with a commercial whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*. 24: 709-718.

Becker T. A., D. R. Kipke, T. Brandon. 2001. Calcium alginate gel: a biocompatible and mechanically stable polymer for endovascular embolization. *Journal of Biomedical Materials Research*. 54: 76-86.

Beristain C, I., F. Cruz-Sosa, C. Lobato-Calleros, R. Pedroza-Islas, M. E. Rodríguez-Huezo, J. R. Verde-Calvo. 2006. Applications of soluble dietary fibers in beverages. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 5: 81-95.

Burgess, D. J. 1990. Practical analysis of complex coacervates systems. *Journal of Colloid and Interface Science*. 140: 227-238.

Cooper, C. L., P. L. Dubin., A. B. Kayitmazer, S. Turksen. 2005. Polyelectrolyte-protein complexes. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*.10: 52-78.

de Kruif, C. G., R. Tuinier. 2001. Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloids*. 15: 555-563.

de Kruif, C. G., F. Weinbreck, R. de Vries. 2004. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 9: 340-349.

Devi, N., T. K. Maji. 2010. Genipin crosslinked microcapsules of gelatin A and k-carrageenan polyelectrolyte complex for encapsulation of (*Neem Azadirachta indica* A. Juss.) seed oil. *Polymer Bulletin*. 65: 347-362.

Díaz J, B., M. E. Sosa M., J. F. Vélez R. 2004. Efecto de la adición de fibra y la disminución de grasa en las propiedades fisicoquímicas del yogur. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 3: 287-305.

Dissanayake, M., T. Vasiljevic. 2009. Functional properties of whey proteins affected by heat treatment and hydrodynamic high pressure shearing. *Journal of Dairy Science*. 92:1387-1397.

Eigel C, W. N., J. E. Butler., C. A. Ernstrom., H.M. Farrel Jr., V. R. Harwalker., R. Jenness, R. Whitney. 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk. Fifth revision. *Journal of Dairy Science*. 67: 1599-1631.

Elmer, C., A. C. Karaca., N. H. Low, M. T. Nickerson. 2011. Complex coacervation in pea protein isolate-chitosan mixtures. *Food Research International*. 44: 1441-1446.

Escudero A, E., P. González S. 2006. La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria* 21 (supl. 2): 61-72.

Espinosa-Andrews, H., J. G. Baéz González., F. Cruz-Sosa., E. J Vernon-Carter. 2007. Gum Arabic-chitosan complex coacervation. *Biomacromolecules*. 8: 1313-1318.

Espinosa-Andrews, H., O. Sandoval-Castilla, H. Vázquez-Torres., E. J. Vernon-Carter, C. Lobato-Calleros. 2010. Determination of the gum Arabic-chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. *Carbohydrate Polymers*. 79: 541-546.

Everett, D. W., N. F. Olson. 2000. Dynamic rheology of renneted milk gels containing fat globules stabilized with different surfactants. *Journal of Dairy Science*. 83: 1203–1209.

Farris, S., K. M. Schaich., L. S. Liu., L. Piergiovanni, K .L. Yam. 2009. Development of polyon-complex hydrogels as an alternative approach for the production of bio-based polymers for food packaging applications: a review. *Trends in Food Science & Technology* 20: 316-332.

Fox, P. F. 2003. Milk proteins: General and historical aspects. *En: Advanced dairy chemistry*. Volume 1, Proteins Part A. 3rd Ed. Fox, P. F. y P. L. H McSweeney (Eds). Kluwer Academic-Plenum Publishers. Nueva York, NY., EUA. pp. 1-48.

García C, M., A. Almaraz K., J. A. Ramírez M., N. Mata R., R. Cervantes B., F.E. Zarate M. 2002. Importancia de la fibra dietética en niños. *Acta Pediátrica de México*, 23: 85-88.

Garduño L, A., V. Morales V. 2005. Fibras dietéticas: beneficios de la salud y oportunidades de negocio en México en productos lácteos y cárnicos. México, D.F: Mundo Lácteo y Cárnico. Recuperado el 22 de febrero de 2010, de http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MLC004_fibrasWSF.pdf. Fecha de consulta 04/05/2012.

Gaserod, O., O. Smidsrod, G. Skjak-Braek. 1998. Microcapsules of alginate-chitosan-I: A quantitative study of the interaction between alginate and chitosan. *Biomaterials*. 19: 1815-1825.

Gaspoz, J. 2008. Diseño de biomateriales por coacervación de proteínas de lactosuero y alginato de sodio: Efecto del pH y fuerza iónica. *En: 2^{do} Encuentro de Jóvenes Investigadores en Ciencia y Tecnología de Materiales*. 17-18 de octubre de 2008. Misiones, Argentina.

Gimeno C. E. 2003. Alimentos funcionales: ¿alimentos del futuro?. *OFFARM*. 22: 68-71.

Girard, M., S. L. Turgeon, S. F. Gauthier. 2002. Interbiopolymer complexing between β -lactoglobulin and low- and high- methylated pectin measured by potentiometric titration and ultrafiltration. *Food Hydrocolloids*. 16: 585-591.

Goh, C. H., P. W. S. Heng, L. W. Chan. 2012. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications. *Carbohydrate Polymers*. 88: 1-12.

Gombotz, W.R., S. Wee. 1998. Protein release from alginate matrices. *Advance Drug Delivery Review*. 31: 267-285.

González-Tomás, L., S. Bayarri., A. J. Taylor, E. Costell. 2008. Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts. *International Dairy Journal*. 18: 858-866.

González, P. C. 2008. Análisis aplicado a la ingeniería química. Salamanca, España. Universidad de Salamanca.
ocw.usal.es/cienciasexperimentales/analisis-aplicado-a-la-ingenieria-quimica. Fecha de consulta 23/04/2010.

Goodall, S., A. S. Grandison., P. J. Jauregi. J. Price. 2008. Selective Separation of the Major Whey Proteins Using Ion Exchange Membranes. *Journal of Dairy Science*. 91: 1-10.

Hassan, A. N., R. Ipsen., T. Janzen, K. B. Qvist. 2003. Microstructure and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides. *Journal of Dairy Science*. 86: 1632-1638.

Hernández A, E. 2005. Evaluación sensorial. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogota, D. C. Colombia. 128p.

Hess, S. J., R. F. Roberts, G. R. Ziegler. 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.

Houzé, G., E. Cases., B. Colas, P Cayot. 2005. Viscoelastic properties of acid milk gel as affected by fat nature at low level. *International Dairy Journal*. 15:1006-1016.

Huang, G., Y. Sun., J. Xiao, J. Yang. 2012. Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry*. 135: 534-539.

Hyun, K., S. H. Kim., K. Hyun Ahn, S. J. Lee, S. 2002. Large amplitude oscillatory shear as a way to classify the complex fluids. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*. 107: 51–65.

Keogh, M. K., B. T. O' Kennedy. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science*. 63: 108-112.

Kilara, A., M. N. Vaghela. 2004. Whey proteins. *En: Proteins in food processing*. Yada, R. Y. (Ed.). Woodhead Publishing Limited & CRC Press. Cambridge, Inglaterra, pp. 72-99.

Klassen, D. R., C. M. Elmer, M. T. Nickerson. 2011. Associative phase separation involving canola protein isolate with both sulphated and carboxylate polysaccharides. *Food Chemistry*. 126: 1094-1101.

Klemmer, K.J., L. Waldner., A. Stone., N. H. Low, M. T. Nickerson. 2012. Complex coacervation of pea protein isolate and alginate polysaccharides. *Food Chemistry*. 130: 710-715.

Krzeminski, A., K. Großhable, J. Hinrichs. 2011. Structural properties of stirred yoghurt as influenced by whey proteins. *LWT-Food Science and Technology*. 44: 2134-2140.

Lee, A., Y. Hong. 2009. Coacervate formation of α -lactalbumina-chitosan and β -lactoglobulin-chitosan complexes. *Food Research International*. 42: 733-738.

Lee, W. J., J. A. Lucey. 2004. Structure and physical properties of yogurt gels: Effect of inoculation rate and incubation temperature. *Journal of Dairy Science* 87: 3153-3164.

Lee, W. J., J. A. Lucey. 2010. Formation and physical properties of yogurt. *The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies*. 23: 1137-1136.

Liu, S., N. H. Low, N. T. Nickerson. 2009. Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate-gum Arabic complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 1521-1526.

Liu, S., C. Elmer., N. H. Low, M. T. Nickerson. 2010a. Effect of pH on the functional behavior of pea protein isolate-gum Arabic complexes. *Food Research International*. 43: 489-495.

Liu, S., Y. Cao., S. Ghosh., D. Rousseau., N. H. Low, M. T. Nickerson. 2010b. Intermolecular interactions during complex coacervation of pea protein isolate and gum Arabic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 552-556.

Liu, C., X. Q. Yang., M. G. Lin., R. Y. Zhao., C. H. Tang., L. Luo, L. Liu. 2011. Complex coacervation of chitosan and soy globulins in aqueous solution: a electrophoretic mobility and light scattering study. *Food Science & Technology*. 46: 1363-1369.

Lobato-Calleros, C., O. Martínez-Torrijos, O. Sandoval-Castilla., J. P. Pérez-Orozco, E. J. Vernon-Carter. 2004. Flow and creep compliance properties of reduced-fat yogurts containing protein-based fat replacers. *International Dairy Journal*. 14: 777-782.

Lobato-Calleros, C., E. Rodríguez, O. Sandoval-Castilla, E. J. Vernon-Carter, J. Alvarez-Rodríguez. 2006. Reduced-fat white fresh cheese-like products obtained from

W₁/O/W₂ multiple emulsions: viscoelastic and high-resolution image analyses. *Food Research International*. 39: 678-685.

Lobato-Calleros, C., M. T Recillas-Mota., T. Espinosa-Solares, J. Alvarez-Rodríguez, E. J. Vernon-Carter. 2009. Microstructural and rheological properties of low-fat stirred yogurts made with skim milk and multiple emulsions. *Journal of Texture Studies*. 40: 657-675.

Lucey, J. A. 2001. The relationship between rheological parameters and whey separation in acid milk gels. *Food Hydrocolloids*. 15: 603-608.

Martínez A, O. L., M. O. Román M., E. L. Gutiérrez E., G. B. Medina M., M. Cadavid C., O. A. Flórez A. 2008. Desarrollo y evaluación de un postre lácteo con fibra de naranja. *VITAE*. 15: 219-225.

Marshall, K. 2004. Therapeutic applications of whey wroteins. *Alternative Medicine Review*. 9 (2): 136-156.

Mazza, G. 2000. *Alimentos funcionales-aspectos bioquímicos y de procesado*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 477 p.

Molina M, M. E., A. P. Martín I. 2007. La fibra dietética procesada como alimento funcional. *OFFARM*. 26: 70-77.

Moschakis, T., B. S. Murray, C. G. Biliaderis. 2010. Modifications in stability and structure of whey protein-coated O/W emulsions by interacting chitosan and gum arabic mixed dispersions. *Food Hydrocolloids*. 24: 8-17.

Mounsey, J. S., B. T. O'Kennedy., M. A. Fenelon, A. Brodkorb. 2008. The effect of heating on β -lactoglobulin-chitosan mixtures as influenced by pH and ionic strength. *Food Hydrocolloids*. 22: 65-73.

Murillo-Martínez, M. M., R. Pedroza-Islas., C. Lobato-Calleros, A. Martínez-Ferez, E. J. Vernon-Carter. 2011. Designing W₁/O/W₂ double emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes for producing edible films: Rheological, mechanical and water vapour properties. *Food Hydrocolloids*. 25: 577-585.

Nelson, A. L. 2001. *High-fiber ingredients*. Ed. Eagan Press. St. Paul, MN. EUA, 97p.

Pelayo Z, C. 2003. Las frutas y hortalizas como alimentos funcionales. *ContactoS* 47: 12-19.

Penna, A. L. B., K. Sivieri, M. N. Oliviera. 2001. Relation between quality and rheological properties of lactic beverages. *Journal of Food Engineering*, 49: 7-13.

Ramírez N, J. S. 2006. Introducción a la reología de alimentos. *Revisiones de la Ciencia, Tecnología e Ingeniería de los Alimentos*, 6: 1-42.

Ramírez-Santiago, C., C. Lobato-Calleros, H. Espinosa-Andrews, E. J. Vernon-Carter. 2012. Viscoelastic properties and overall sensory acceptability of reduced-fat Petit-Suisse cheese made by replacing milk fat with complex coacervates. *Dairy Science and Technology*. 92: 383-398.

Ramos M, A., A. Ibarz. 2006. Comportamiento viscoelástico de pulpa de membrillo en función de la concentración de sólidos solubles. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 26: 214-219.

Rao, M. A. 1999. *Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications*. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland, EUA, 433p.

Ron, N., P. Zimet., J. Bargarum, Y. D. Livney. 2010. Beta-lactoglobulin-polysaccharide complexes as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. *International Dairy Journal*. 20: 686-693.

Ru, Q., Y. Wang., J. Lee., Y. Ding, Q. Huang. 2012. Turbidity and rheological properties of bovine serum albumin/pectin coacervates: Effect of salt concentration and initial protein/polysaccharide ratio. *Carbohydrate Polymers*. 88: 838-846.

Rojas-Hidalgo, E. 1994. La fibra dietética: los carbohidratos en nutrición humana. Madrid. Aula Médica. pp 121-137.

Sahan, N., K. Yasar, A. A. Hayaloglu. 2008. Physical, chemical and flavour quality on non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloids*. 22: 1291-1297.

Sahin, S., S. Gülüm-Sumnu. 2006. *Physical properties of foods*. Ed. Springer. Nueva York, EUA, pp 39-166.

Salazar A, R. Y. 2001. Elaboración de complejos polielectrolitos a partir de quitosan-pectina y su aplicación en tecnología ambiental. Tesis Maestría en Ciencias con Especialidad en Microbiología, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. 116p.

Sancho, J., E Bota, J. J. de Castro. 2002. *Introducción al Análisis Sensorial de los alimentos*. Ed. Alfaomega. Zaragoza, España. 336p.

Sandoval-Castilla, O., C. Lobato-Calleros, E. Aguirre-Mandujano, E. J. Vernon-Carter. 2004. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal* 14:151-159.

Santana, H. E. 2009. Expone Granotec México tendencias en alimentos funcionales. México, D. F. Énfasis Alimentación.

<http://www.alimentacion.enfasis.com.notas/12776>. Fecha de consulta 08/11/2010

SAS V.9.00. 2002. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.

Schmitt, R. H., V. S. Packard, H. A. Morris. 1984. Effect of processing of whey protein functionality. *Journal of Dairy Science*. 67: 2723-2733.

Schmitt, C., C. Sanchez., F. Thomas, J. Hardy. 1999. Complex coacervation between β -lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. *Food Hydrocolloids*. 13: 483-496.

Schmitt, C., S. L. Turgeon. 2011. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science*. 167: 63-70.

Semenova, M. G. 2007. Thermodynamic analysis of the impact of molecular interactions on the functionality of food biopolymers in solution and in colloidal systems. *Food Hydrocolloids*, 21: 23–45.

Serra, M., A. J. Trujillo, B. Guamis, V. Ferragut. 2009. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food Hydrocolloids*. 23: 82-91.

Servicio Nacional del Consumidor (SERNAC). 2004. Alimentos funcionales. Santiago de Chile. Servicio Nacional del Consumidor.
<http://www.sernac.cl/download.php?id=1098&n=2>. Fecha de consulta 10/03/2010.

Shinde, U. A., M. S. Nagarsenker. 2009. Characterization of gelatin-sodium alginate complex coacervation system. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 71: 313-317.

Silveira R, M. B., S. Monereo M., B. Molina B. 2003. Alimentos funcionales y nutrición óptima ¿cerca o lejos?. *Revista Española de Salud Pública*. 77: 317-331.

Singh S, S., V. K. Aswal, H. B. Bohidar. 2007. Structural studies of agar–gelatin complex coacervates by small angle neutron scattering, rheology and differential scanning calorimetry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41: 301-307.

Statgraphics Centurion XVI. 2010. StatPoint Technologies Inc. Warrenton, VA, USA.

Steffe, J. F. 1996. *Rheological methods in food process engineering*. 2nd Ed. Freeman Press. East Lansing, MI, EUA, 418p.

Stone, A. K., M. T. Nickerson. 2012. Formation and functionality of whey protein isolate-(kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes. *Food Hydrocolloids*. 27: 271-277.

Supavititpatana, P., T. I. Wirjantoro., A. Apichartsrangkoon, P. Raviyan. 2008. Addition of gelatin enhanced gelation of corn-milk yogurt. *Food Chemistry*. 106: 211-216

Sutherland, L. W. 1991. Alginates. *En: Biomaterials: Novel materials from biological sources*. Byrom, D (Ed.). Stockton Press. Nueva York, EUA, 365p.

Swaigood, H. E. 2003. Chemistry of the caseins. *En: Advanced dairy chemistry*. Volume 1, Proteins Part A. 3rd Ed. Fox, P. F. y P. L. H McSweeney (Eds). Kluwer Academic-Plenum Publishers. Nueva York, EUA. pp. 139-201.

Tabilo-Munizaga, G., G. V. Barbosa-Cánovas. 2005. Rheology for the food industry. *Journal of food Engineering*. 67:147-156.

Tamjidi, F., A. Nasirpour, M. Shahedi. 2012. Physicochemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil. *Food Science and Technology International*. 18: 381-390.

Tharanathan, R. N., 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science and Technology* 14: 71-78.

Thompson, J. L., M.A. Drake, K. Lopetcharat, M. D. Yates. 2004. Preference mapping of commercial chocolate milks. *Journal of Food Science*. 69: 406-413

Tolstoguzov, V. B. 2003. Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocolloids*. 17: 1-23

Trumbo, P., S. Schliker., A. A Yates, M. Poos. 2002. Dietary references intakes for energy carbohydrate, fiber, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. *Journal of the American Dietetic Association* 102: 1621-1630.

Turgeon, S. L., S. I. Laneville. 2009. Protein+polysacchride coacervates and complexes: from scientific background to their application as functional ingredients in food products. *En: Modern Biopolymer Science*. Kasapis, S., I. T. Norton y J. B. Ubbink (editors). Academic Press. San Diego, CA, EUA, pp 327-363.

Vilaplana, M. 2001. Aspectos nutricionales y terapéuticos de la fibra dietética. *OFFARM*. 20: 96-100.

Von-Staszewski, M. 2011. Impacto de la interacción entre polifenoles de té verde y proteínas de lactosuero sobre las propiedades biológicas y funcionales de las mezclas. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. pp 23-49.

Wang, X., J. Lee., Y. Wang, Q. Huang. 2007. Composition and rheological properties of β -lactoglobulin/pectin coacervates: Effects of salt concentration and initial protein/polysaccharide ratio. *Biomacromolecules*. 8: 892-997.

Weinbreck, F., R. de Vries., P. Schrooyen, C.G. de Kruig. 2003. Complex coacervation of whey proteins and gum Arabic. *Biomacromolecules*. 4: 293-303.

Weinbreck, F., H. Nieuwenhuijse., G. W. Robijn, C. G. de Kruif. 2004a. Complexation of whey proteins with carrageenan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 3550-3555.

Weinbreck, F., R. H. Tromp, C. G. de Kruif. 2004b. Composition and structure of whey protein/gum Arabic coacervates. *Biomacromolecules*. 5: 1437-1445.

Weinbreck, F., R. H. W. Wientjes., H. Nieuwenhuijse., G. W. Robijn, C. G. de Kruif. 2004c. Rheological properties of whey protein/gum Arabic coacervates. *Journal of Rheology*. 48: 1215-1228.

Ye, A. 2008. Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications- a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 43: 406-415.

Young, N. D., M. A. Drake., K. Lopetcharat, M. R. McDaniel. 2004. Preference mapping of cheddar cheese with varying maturity levels. *Journal of Dairy Science*. 87: 11-19.

Zeni, S. N. 2007. Alimentos funcionales y metabolismo óseo. *Actualiz Osteología*. 3: 85-89.