



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**PROPIEDADES ESTRUCTURALES, REOLÓGICAS Y
SENSORIALES DE YOGUR AL SUSTITUIR LA GRASA LÁCTEA
POR EMULSIONES MÚLTIPLES Y LA SACAROSA POR UN
ESTEVIÓSIDO**

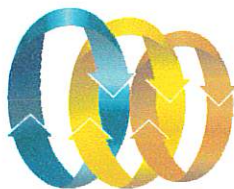
T E S I S

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN CIENCIA Y TECNOLOGIA AGROALIMENTARIA**

PRESENTA:

CESAR RAMIREZ SANTIAGO



Mayo, 2008

Chapingo, Estado de México.

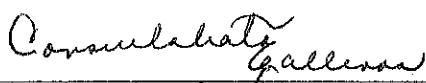


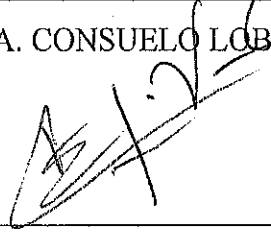
**DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

**PROPIEDADES ESTRUCTURALES, REOLÓGICAS Y
SENSORIALES DE YOGUR AL SUSTITUIR LA GRASA LÁCTEA
POR EMULSIONES MÚLTIPLES Y LA SACAROSA POR UN
ESTEVIÓSIDO**

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

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

DIRECTORA: 
DRA. CONSUELO LOBATO CALLEROS

ASESOR: 
DR. E. JAIME VERNON CARTER

ASESOR: 
M. C. DAVID RUBIO HERNÁNDEZ

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo financiero en el proyecto (No. De convenio: 52317-2)

Al apoyo recibió por CONACYT con la beca de la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria de la Universidad Autónoma Chapingo incluida en el Padrón Nacional de Posgrado del CONACYT

A la Dra. Consuelo S. O. Lobato Calleros por la dirección de esta investigación.

Al Dr. E Jaime Vernon C. por su ayuda incondicional y por sus acertadas aportaciones en el proyecto.

Al M. C. David Rubio por su colaboración y sugerencias en esta investigación.

AL Dr. Francisco Cruz Sosa, por el apoyo en la obtención del edulcorante utilizado en esta investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS

Cesar Ramirez Santiago, realizó sus estudios de licenciatura en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo. De manera profesional ha trabajado en calidad y desarrollo de productos en la industria de bebidas gaseosas y energéticas así como en la industria de harinas. Ha tomado varios cursos de actualización en reología y cromatografía de gases en el área de alimentos

PROPIEDADES ESTRUCTURALES, REOLÓGICAS Y SENSORIALES DE YOGUR AL SUSTITUIR LA GRASA LÁCTEA POR EMULSIONES MÚLTIPLES Y LA SACAROSA POR UN ESTEVIÓSIDO

STRUCTURAL RHEOLOGICAL AND SENSORIAL PROPERTIES OF YOGURT IN SUBSTITUTING MILK-FAT BY MULTIPLE EMULSIONS AND SUCROSE BY STEVIOSIDE.

Ramirez-Santiago C; Lobato Calleros C. S. O; Vernon-Carter E J; Rubio-Hernández D.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue establecer la relación entre la composición y las propiedades reológicas de yogures bajos en grasa elaborados mediante la sustitución de la grasa láctea (MF) por aceite de canola emulsionado y de la sacarosa (SA) por esteviosido (ST). La morfología y la estabilidad de emulsiones ($W_1/O/W_2$) que variaron en la fracción en masa (ϕ_1) de la fase acuosa interna (W_1) a la fase oleosa (O) y en la fracción en masa (ϕ_2) de la emulsión interna (W_1/O) a la fase acuosa externa (W_2) fueron evaluadas. Once variaciones de yogur fueron preparadas por sustitución de MF y/o sacarosa por emulsiones múltiples ($W_1/O/W_2$) y esteviosido. La composición, la sinéresis y las propiedades reológicas de los yogures fueron determinadas. La incorporación de ST y las emulsiones $W_1/O/W_2$ promovieron un mayor carácter viscoelástico en los yogures. La presencia de ST fue relacionada con valores de sinéresis mayores en los yogures.

Palabras clave: esteviosido, emulsiones múltiples, yogur, reología

ABSTRACT

The objective of this work was to establish the relationship between composition and rheological properties of low-fat yogurts made by substitution of milk fat (MF) for emulsified canola oil and sucrose (SA) for stevioside (ST). Morphology and stability of multiple emulsions ($W_1/O/W_2$) that varied in the mass fraction (ϕ_1) of inner aqueous phase (W_1) to oil phase (O), and the mass fraction (ϕ_2) of internal emulsion (W_1/O) to external aqueous phase (W_2) were evaluated. Eleven yogurt variations were prepared by substituting MF and/or sucrose for multiple emulsions ($W_1/O/W_2$) and stevioside. Composition, syneresis and rheological properties of the yogurts were determined. Incorporation of ST and $W_1/O/W_2$ emulsions promoted higher viscoelasticity in the yogurts. ST presence was related to greater values of syneresis in the yogurts.

Key words: stevioside, multiple emulsions, yogurt, rheology

INDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS.....	ii
DATOS BIOGRÁFICOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	iv
INDICE DE CUADROS.....	vii
INDICE DE FIGURAS.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS.....	3
3. OBJETIVOS.....	3
3.1 Objetivo general.....	3
3.2 Objetivos particulares.....	3
4. ANTECEDENTES.....	5
4.1 Edulcorantes.....	5
4.2 Estevia.....	6
4.3 Yogur.....	7
4.4 Emulsiones.....	8
4.4.1 Tipos de emulsiones.....	8
4.5 Emulsificante.....	9
4.6 Estabilización de emulsiones.....	10
4.7 Emulsificantes y estabilizantes.....	12
4.8 Desestabilización de emulsiones.....	14
4.9 Emulsiones múltiples.....	15
4.9.1 Estabilidad de emulsiones múltiples.....	15
4.10 Pectinas.....	16
4.11 Reología.....	17
4.11.1 Propiedades reológicas de los alimentos.....	20
4.11.2 El yogur en la reología.....	22
4.12 Evaluación sensorial.....	23
4.12.1 Estimación de magnitud.....	24

5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
5.1 Formulación y preparación de las emulsiones múltiples.....	26
5.2 Evaluación de las emulsiones.....	28
5.3 Determinación sensorial de la equivalencia de dulzor esteviósido-sacarosa.....	29
5.4 Tratamientos de yogur.....	31
5.5 Proceso de elaboración de los yogures.....	32
5.6 Análisis químico proximal.....	33
5.7 Prueba de sinéresis.....	34
5.8 Análisis reológico.....	34
5.9 Análisis de datos.....	35
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
6.1 Morfología y tamaño de los glóbulos de las emulsiones.....	36
6.2 Características de las emulsiones múltiples ($W_1/O/W_2$).....	38
6.3 Equivalencia de dulzor esteviósido-sacarosa.....	41
6.4 Composición química proximal de los yogures.....	43
6.5 Comportamiento reológico de los yogures.....	46
7. CONCLUSIONES.....	53
8. BIBLIOGRAFIA.....	54

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Composición de las emulsiones internas (W_1/O).....	27
Cuadro 2. Tratamientos de yogur.....	32
Cuadro 3 Variación del diámetro ($D_{1,0}$) con el tiempo de almacenamiento y tasa de coalescencia de las gotas de aceite de las emulsiones múltiples $W_1/O/W_2$	40
Cuadro 4. Magnitud de dulzura de yogures conteniendo sacarosa y diferentes concentraciones de esteviósido.....	42
Cuadro 5 Composición química proximal y sinéresis de los yogures.....	45
Cuadro 6. Valores del módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures durante el tiempo de almacenamiento.....	51

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura del esteviósido.....	7
Figura 2. Escala HLB.....	13
Figura 3. Microfotografías de las emulsiones internas.....	36
Figura 4. Microfotografías de los glóbulos de aceite las emulsiones múltiples....	39
Figura 5. Variación en el número de gotas de aceite de las emulsiones múltiples con el tiempo de almacenamiento.....	41
Figura 6 Comportamiento del módulo de almacenamiento G' de los tratamientos de yogur a 24 h de elaborados.....	47
Figura 7 Comportamiento del módulo de pérdida G'' de los tratamientos de yogur a 24 h de elaborados.....	48
Figura 8 Comportamiento de $\tan \delta$, de los tratamientos de yogur a las 24 h de elaborados.....	48

1. INTRODUCCIÓN

La ingesta indiscriminada de glúcidos, colesterol y grasas saturadas, es algo cotidiano. La endoculturación se fortalece con los nuevos conceptos impuestos por la publicidad de comida chatarra a la que es sometida la población mundial. Este consumo excesivo de “alimentos altos en grasa y carbohidratos” trae trastornos gravísimos al desarrollo y el equilibrio del organismo de los individuos. Es muy común que los médicos prescriban una dieta hipo-glucémica y libre de grasa del tipo saturadas, por problemas relacionados con desórdenes alimenticios, producto de una ingesta irracional de los mismos, tales como la diabetes o la obesidad (Wagner y Daciw, 2002).

La industria de alimentos ha respondido a esta demanda y, como consecuencia ha habido un rápido aumento en alimentos y bebidas dietéticas disponibles a los consumidores, en varios mercados del mundo (Tamime *et al.*, 1994; Sivieri y Oliveira, 2002). El descubrimiento de un gran número de edulcorantes durante la última década ha activado el desarrollo de nuevos productos libres de azúcar, particularmente para los diabéticos, personas con dietas especiales y/o para personas obesas (Ozdemir y Sadikoglu, 1998). Yogures bajos en calorías, descremados y semidescremados, han seguido una tendencia similar, y han ganado gran popularidad en Europa y América del Norte. La calidad de estos productos depende de la textura, debido a que la cantidad de sólidos es baja. Así, el uso de estabilizantes para mejorar la textura y reducir la separación del suero es una práctica común (Mistry y Hassan, 1992).

No obstante la relevancia tecnológica, comercial y de salud de los edulcorantes naturales, poco se conoce sobre el efecto que tienen sobre las propiedades sensoriales y reológicas de de bebidas lácteas.

El yogur es un alimento lácteo de alto valor nutricional y de alto valor para la salud. La reducción del contenido de colesterol, grasas saturadas y glúcidos, causa efectos importantes en la salud en cualquier etapa de la vida. El reemplazo de la grasa y de la sacarosa puede influenciar la calidad del producto, especialmente el sabor y las propiedades reológicas. El objetivo de este trabajo fue investigar el cambio en las propiedades reológicas y la calidad sensorial del yogur producido con diferentes emulsiones múltiples como sustituto de grasa y la adición de un esteviósido como sustituto de sacarosa.

2. HIPÓTESIS

La incorporación de esteviósido y de emulsiones múltiples ($E_{\phi 1 \phi 2}$), en sustitución de la sacarosa y de la grasa láctea, respectivamente, permiten la obtención de yogur formulado con componentes naturales, reducido en densidad energética, prácticamente exento de grasa láctea y con propiedades mecánico-sensoriales comparables a aquellas presentadas por un yogur tradicional, como resultado de las propiedades funcionales del esteviósido y de las emulsiones múltiples.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Establecer la relación entre la composición y las propiedades reológicas de yogur bajo en grasa, al sustituir la grasa láctea por emulsiones múltiples y la sacarosa por un esteviósido natural.

3.2 Objetivos particulares

Determinar sensorialmente la concentración de esteviósido (g L^{-1}) que proporcione a un yogur bajo en grasa un dulzor igual al proporcionado por 60 g de sacarosa L^{-1} .

Establecer formulaciones de yogures control: Y_{SACG} (15 g de grasa láctea L^{-1} , 60 g de sacarosa L^{-1}); Y_{STCG} (15 g de grasa láctea L^{-1} , esteviósido) y Y_{STSG} (0.1 g de grasa láctea L^{-1} , esteviósido).

Establecer tratamientos de yogur reducidos en grasa láctea (0.1 g de grasa láctea L^{-1}) que varíen en el tipo de agente edulcorante (sacarosa o esteviósido) y las relaciones de las fases ϕ_1 (W_1/O) y ϕ_2 ($W_1/O/W_2$) de las emulsiones múltiples usadas en sustitución de la grasa láctea.

Analizar la composición química proximal (proteína, grasa, humedad y acidez) y sinéresis de los yogures.

Determinar las propiedades reológicas: módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures durante el tiempo de almacenamiento.

4. ANTECEDENTES

Cuando el azúcar es removido de los alimentos, tiene que ser sustituido por sustancias alternativas, que mantienen el sabor dulce de los productos y que puede tener otras funciones, actuando como agentes de volumen tales como los polioles (Figueirido Jr, 1997; Anderson, 1998).

4.1 Edulcorantes

Los edulcorantes son sustancias alternativas al uso de azúcares que dan un sabor dulce a los alimentos (Ministério de Saúde, 1997) y son utilizados parcial o totalmente como sustitutos de la sacarosa. Por tiempos inmemoriales, los seres humanos han consumido miel y frutas para obtener ese sabor dulce, y se ha utilizado la sacarosa como producto común para endulzar los alimentos. Durante las últimas décadas, los edulcorantes artificiales bajos en calorías, como el aspartame, acesulfame y sucralosa, se han vuelto alternativas de reemplazo (Calorie Control Council, 2002).

Existen dos categorías de edulcorantes: calóricos, que contienen algunas calorías y proporciona energía; y no calóricos (es decir los tipos artificiales) no contienen calorías y no proporciona energía. Incluso azúcares con un grupo alcohol, como el sorbitol, manitol y xilitol, también son conocidos como edulcorantes de volumen (Rael, 2000).

Otra forma de clasificar se basa en sus características naturales o artificiales. Los segundos se sintetizan en un laboratorio, son mucho más dulces que el azúcar y se emplean en porciones pequeñas (sacarina, aspartame, acesulfame k y sucralosa). Los edulcorantes naturales se extraen

de la naturaleza y se utilizan sin alteración química. Existen varios productos naturales útiles como edulcorantes, tales como los rebaudiósidos y los esteviósidos (Midmore y Rank, 2002).

4.2 Estevia

La *Stevia rebaudiana* bertonii, conocida también como “hierba dulce”, originaria del Paraguay, es una planta arbustiva semiperenne que se propaga naturalmente. Su importancia económica radica en que, en sus hojas posee una sustancia denominada esteviósido, constituida por una mezcla de por lo menos seis glucósidos diterpénicos, que es 100 a 400 veces más dulce que la sacarosa y que por sus características físico-químicas y toxicológicas permite su inclusión en la dieta humana para ser utilizada como un edulcorante dietético natural, sin efectos colaterales. Su inclusión en el Código Alimentario Argentino (CAA, resolución 101 del 22 de febrero de 1993) define al esteviósido como un “polvo blanco cristalino, inodoro, no higroscópico, no fermentable, de sabor dulce aún en soluciones muy diluidas, muy soluble en agua” (Yasusada y Shinji, 2003).

Propiedades físico-químicas del esteviósido, deseables para la elaboración de alimentos: Resistencia al calor. Su estructura no se modifica por su exposición a altas temperaturas y por lo tanto no pierde su poder edulcorante; es estable a temperaturas de procesamiento de alimentos (pasteurización, esterilización y cocción); alta solubilidad en agua y en soluciones hidroalcohólicas; estable en un rango de pH de 3 a 9, aún a 100 °C. Por encima de pH 9 se produce una rápida pérdida del dulzor; nulo aporte de calorías (Penner, 2004; Soto y Del Val, 2002).

La medicina paraguaya utiliza la *Stevia rebaudiana* B como hipoglucemiante, digestivo, cardiotónico, diurético, hipotensor, vasodilatador, antiácido, etc. También tiene efectos benéficos en la absorción de grasas y la presión arterial. Podríamos describir al esteviósido como un glucósido integrado por una molécula de esteviol al cual se le adhiere la soforosa a través de un grupo hidroxilo en el carbono número 13. Su fórmula empírica es $C_{38}H_{60}O_{18}$ (Figura 1) (Penner, 2004; Soto y Del Val, 2002).

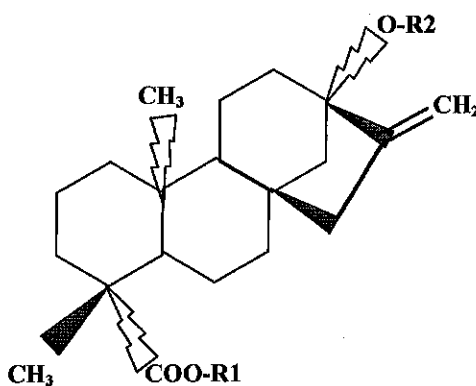


Figura 1. Estructura del esteviósido

4.3Yogur

De acuerdo con el Código de Regulación Federal (FDA, por sus siglas en inglés), el yogur es definido como “un alimento producido mediante uno o más ingredientes lácteos (crema, leche, leche parcialmente descremada, y leche descremada), con un cultivo de bacterias ácido lácticas que contienen: *lactobacillus delbrueckii* subs. *bulgaricus* y *streptococcus thermophilus*. El yogur antes de la adición de sabores, debe contener 3.25 % de grasa láctea y no menos de 8.25% de sólidos no grasos, una acidez por arriba del 0.9 % expresada en ácido láctico. Este producto lácteo deberá llevar un tratamiento térmico antes de la fermentación lo que destruirá todo

microorganismo patógeno viable, lo que dará una larga vida de anaquel. Yogures bajos en grasa y libres de grasa Láctea tienen una descripción similar, con contenidos de 0.5 a 2 % y por debajo de 0.5 % de grasa Láctea, respectivamente (FDA, 1996 a y b).

4.4 Emulsiones

Una emulsión es un sistema de multifases dispersas que contienen dos pequeñas fases de líquidos inmiscibles, donde al menos uno se encuentra disperso en otro en forma de gotitas (Becher, 1972; H&F, 1998). La fase constituida por las pequeñas gotitas se denomina fase interna o dispersa y la matriz en la que están dispersas se denomina fase externa o continua (Ranken, 1988).

4.4.1 Tipos de emulsiones

Dependiendo del tipo de fase dispersa existen dos tipos de emulsiones: Aceite en agua (O/W), en las que la fase continua es agua y la fase dispersa es aceite disperso en forma de gotas. Agua en aceite (W/O), en las que gotas de agua se distribuyen en una fase continua de aceite (Ranken, 1988; H&F, 1998).

Las emulsiones son en principio inestables, con el tiempo las gotas de la fase dispersa tienden a reagruparse, separándose de la otra fase. Para que una emulsión se mantenga estable durante un período largo de tiempo se utilizan emulsificantes, cuyas moléculas se sitúan en la capa límite (interfase) formada entre las gotas dispersas y la fase continua homogénea. Las propiedades de cada emulsificante difieren, por lo que en general se usan mezclas, que se comportan mejor que

los componentes individuales (Fennema, 2000). Una especie química puede actuar tanto como agente emulsificante, como agente estabilizante; por ejemplo las proteínas. Sin embargo, hay otros compuestos que predominantemente actúan como estabilizantes (pectina) o como emulsificantes (emulsificantes de bajo peso molecular). Los polisacáridos actúan como estabilizantes, a través de modificaciones en la viscosidad o gelación de la fase continua, Por su parte, las proteínas tienen un alta tendencia a ser adsorbidas en las interfases aceite-agua (Dickinson, 2003).

4.5 Emulsificante

Un emulsificante es un compuesto químico ó mezcla de componentes que tienen la capacidad de promover la formación de la emulsión y la estabilización por acción interfacial; mientras que un estabilizante es aquel compuesto químico ó mezcla de componentes que puede ofrecer estabilidad a una emulsión, posiblemente por mecanismos que incluyen la adsorción, pero no necesariamente por este último mecanismo (Garti y Reichman 1993).

Químicamente los emulsificantes son ésteres de ácidos grasos y polialcoholes o ácidos orgánicos, con excepción de la lecitina que es un fosfolípido. Los emulsificantes son sustancias anfífilas debido a que su estructura química presenta a la vez, propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas. La estructura química de los emulsificantes les confiere propiedades emulgentes, puesto que sus moléculas son capaces de situarse en interfases aceite/agua, contribuyendo a aumentar la estabilidad de estos sistemas termodinámicamente inestables. La mayoría de los emulsificantes macromoleculares son proteínas hidrosolubles, que generalmente estabilizan emulsiones O/W (Multon, 1986; Dominic, 1993).

Los emulsificantes reducen la tensión interfacial promoviendo la formación de áreas superficiales grandes con un aporte reducido de energía suministrada como agitación mecánica. Esta última influye en gran medida en el tamaño de las gotas de emulsión (fase dispersa); a mayor agitación, menor tamaño de gota (Fennema, 2000).

4.6 Estabilización de emulsiones

Las emulsiones son termodinámicamente inestables, los sistemas reducen la tensión de la interfase entre la fase lipofílica y la fase hidrofílica por coalescencia. Esto puede conducir a una separación de fases completa (H&F, 1998)

Una emulsión estable es aquella que no muestra cambios notables en el tamaño y la forma de sus gotas, en su estado de agregación o en el arreglo espacial a través de un tiempo de almacenamiento determinado (Dickinson, 2001 y 2003). La estabilidad de las emulsiones depende de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos que la integran, en especial de los emulsificantes. La amplia variedad de emulsificantes permite una gran diversificación de sus usos en emulsiones (Muguet *et al.*, 2001).

A continuación se mencionan los factores que intervienen en la estabilidad de emulsiones:

Tensión interfacial: Por su carácter anfifílico, los emulsificantes se concentran en la interfase aceite-agua, produciendo una disminución de la tensión interfacial y de la energía necesaria para la formar emulsiones; no obstante, la energía libre de la interfase es positiva por lo que persiste un estado de inestabilidad termodinámica (Dominic, 1993).

Repulsión: Las gotas dispersas están sometidas a la acción de dos fuerzas independientes: fuerzas de atracción de Van Der Waals y fuerzas de repulsión electrostática, éstas últimas como resultado de la presencia de dobles capas eléctricas en las superficies de las gotas. Las fuerzas de repulsión entre cargas eléctricas del mismo signo, situadas en la superficie de las gotas, retrasa su aglomeración. La interacción neta entre las gotas se obtiene sumando estos dos términos; si las fuerzas de repulsión exceden a las de atracción, existe una barrera de energía que se opone a la coalición. La estabilidad de la emulsión se considera dependiente del balance entre las fuerzas de atracción y repulsión como una función de distancia entre dos gotas (Dominic, 1993).

Estabilización por sólidos finamente divididos: Partículas pequeñas de sólidos, (sales básicas de metales y fragmentos celulares de plantas) pueden estabilizar una emulsión. Éstas estabilizarán la emulsión si se localizan en la interfase de los dos líquidos, donde actuarán como barrera mecánica para prevenir la coalescencia de las gotas. La distribución de las partículas sólidas en una emulsión depende de las tensiones de interfase del sistema, principalmente de la tensión entre sólido y agua (γ_{SW}); la tensión entre agua y aceite (γ_{WO}) y la tensión entre sólido y aceite (γ_{SO}) (Fennema, 2000).

Estabilización por macromoléculas: Sustancias de elevado peso molecular (gomas y proteínas), son capaces de formar películas gruesas alrededor de las gotas de una emulsión, formando una barrera física contra la coalescencia. Cuando estas macromoléculas son proteínas, las moléculas se extienden y adsorben en la interfase, de forma que sus grupos no polares se orienten hacia la fase oleosa y los grupos polares lo hagan hacia la fase acuosa. El efecto estabilizante sobre la emulsión depende de las características reológicas o viscoelásticas y el grosor de la película

proteínica (Fennema, 2000). Otro efecto de algunas macromoléculas consiste en el aumento de viscosidad de la fase continua, lo cual retarda los procesos de floculación y coalescencia. En este último caso, existe una amplia gama de polisacáridos que son utilizados con este fin (Fennema, 2000), como la pectina

4.7 Emulsificantes y estabilizantes

La estabilidad física de una emulsión puede mejorarse por aumento de la viscosidad de la fase continua, por adición de estabilizantes o reducción y mantenimiento del tamaño de gota. En algunos casos la emulsión puede tener un punto de cedencia causado por un estabilizante (hidrocoloide) que previene la floculación de las gotas de aceite, (H&F, 1998).

Los estabilizantes son disueltos en la fase continua e incrementan la viscosidad o disminuyen el punto de cedencia. Esta restricción de movilidad de las gotas y la baja coalición entre las gotas reduce el riesgo de coalescencia. Las moléculas de emulsificantes tienen carácter hidrofílico-lipofílico, estas son adsorbidas entre la interfase dispersa y la fase continua formando una película densa alrededor de las gotas de la fase dispersa. Esta película previene la coalescencia de las gotas de la emulsión (H&F, 1998).

Existen varias clasificaciones de los emulsificantes que a menudo ocultan su función y aplicabilidad, con base en su: naturaleza química, actividad superficial, grupo funcional o propiedades hidrofílicas-lipofílicas (balance hidrofílico-lipofílico, HLB) (Fennema, 2000). El valor de HLB de los emulsificantes, proporciona información sobre su carácter lipofílico e hidrofílico y por tanto sobre sus tendencias de solubilidad. Un emulsificante con valor de HLB

elevado, es aquel en el que predominan los grupos hidrofílicos y por tanto es hidrosoluble; mientras que un emulsificante con valor de HLB bajo, contiene predominantemente grupos lipofílicos y es liposoluble (Rosano, 1997).

Griffin (1949) propuso el balance hidrofílico-lipofílico (HLB) como una medida de la afinidad relativa del surfactante para las fases agua y aceite. El HLB depende esencialmente del surfactante aunque el método original de Griffin, toma en cuenta la naturaleza del aceite. Hoy el HLB se mide en escala de 0 a 20 la importancia relativa del grupo hidrofílico y del grupo lipofílico en la molécula de surfactante. El sistema HLB originalmente fue desarrollado para productos etoxilados y, de hecho, predice mejor las propiedades emulsificantes para alcoholes etoxilados - tensioactivos basados en alcoholes grasos modificados por reacciones con óxido del etileno (Figura 2). El sistema también está diseñado para emulsiones que contienen agua (Jean-Louis, 1999).

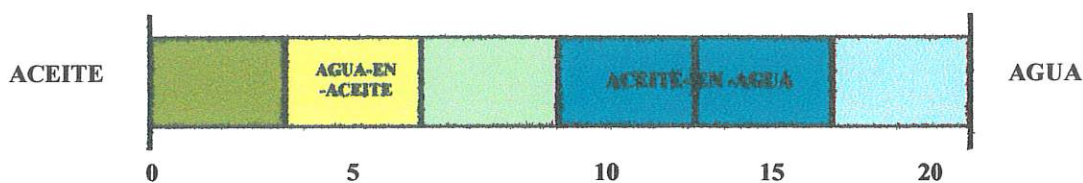


Figura 2. Escala HLB

El actual sistema HLB vislumbra dos tipos básicos de emulsión: aceite-en-agua y agua-en-aceite. La primera fase mencionada es la fase discontinua, la fase que se emulsifica adentro de la otra, fase continua. Bancroft postuló que el emulsificante forma una tercera fase, una capa en la interfase donde las dos fases anteriores se unen al mezclarlas. También predijo que la fase donde el emulsificante es más soluble sería la fase continua. La fase continua no necesita ser la más grande; emulsiones existen adonde la fase discontinua es más grande en cuanto a porcentaje de

peso. Una prueba sencilla: si la emulsión se diluye fácilmente en agua, el agua forma la fase continua (Jean-Louis, 1999).

El valor de HLB de los emulsificantes sirve para evaluar las propiedades individuales y en mezclas de los emulsificantes seleccionados, de tal forma que se pueda obtener un tamaño óptimo de las gotas y número adecuado de compartimentos en la emulsión (Rosano, 1997).

4.8 Desestabilización de emulsiones

Básicamente tres mecanismos pueden causar la inestabilidad física de las emulsiones:

Cremado: Se produce bajo la acción de la fuerza gravitatoria entre fases que tienen distinta densidad. El cremado de las gotas de aceite en una emulsión O/W es causado por la diferencia de densidades de las fases. Es un proceso reversible, pudiendo restablecerse el sistema por agitación ligera (H&F, 1998).

Floculación o agregación: consiste en agregación de las gotas de la fase dispersa, en dímeros, trímeros, etc. a través de interacciones entre sus superficies. No implica ruptura de la película interfacial que rodea normalmente a cada glóbulo y tampoco modifica el tamaño de los glóbulos originales. La principal causa de floculación es la carga electrostática inadecuada de la superficie del glóbulo. Es un proceso reversible (Dominic 1993).

Coalescencia: Implica la ruptura de la película interfacial, el agrupamiento de los glóbulos y la reducción del área interfacial. Ocurre cuando dos o más gotas de la fase dispersa de la emulsión

se acercan para formar una gota más grande. Estos mecanismos favorecer el fenómeno de coalescencia. La coalescencia es una forma más severa de inestabilidad que el cremado y es irreversible (Dominic 1993).

4.9 Emulsiones múltiples

Existen dos importantes formas de emulsiones múltiples: agua-aceite-agua $W_1/O/W_2$ y aceite-agua-aceite $O_1/W/O_2$ (Nissim, 1997). Las emulsiones múltiples $W_1/O/W_2$ están compuestas por glóbulos de grasa que contiene microglóbulos acuosos, dispersos en una fase acuosa. La aplicación principal de las emulsiones múltiples la constituye la segregación y la extracción de sustancias como toxinas, iones pesados, ácido láctico. También se han usado para la encapsulación de medicamentos o sustancias sensibles, como la insulina y algunas proteínas (Muguet *et al.*, 2001; Jiao, 2002).

4.9.1 Estabilidad de emulsiones múltiples

La estabilidad de las emulsiones agua-aceite-agua ($W_1/O/W_2$) es afectada por factores como:

- 1) Efectos osmóticos entre fases.
- 2) Concentración de aditivos y emulsificantes.
- 3) Interacciones entre emulsificantes y espesantes.
- 4) Actividad interfacial de los emulsificantes, dependiente de su valor de HLB.
- 5) Propiedades estructurales y mecánicas de la película interfacial

6) Desestabilización de la emulsión interna, a través de la unión y formación de gotas de agua más grandes, las cuales luego migran a la fase acuosa externa, atravesando la fase oleosa (Jiao, 2002).

4.10 Pectinas

Las pectinas son muy conocidas como aditivos en alimentos, utilizadas por su habilidad para estabilizar y formar geles. Esta se extrae de las paredes de las células de las plantas, especialmente de la cáscara de los cítricos, de los frutos de manzana y de la pulpa de la remolacha azucarera.

Las pectinas son una cadena lineal de unidades parcialmente metiladas de ácido α -D-galacturónico con un peso molecular aproximado de 20,000 a 400,000. El ácido galacturónico está presente como metilester, amida y ácido. Las unidades de ácido galacturónico están unidos por enlaces α -1,4 glicosídicos, los grupos carboxil son parcialmente esterificados con metanol. En varios casos los grupos alcoholes secundarios de las pectinas sólo pueden tener grupos acetyl. También se encuentran bajas cantidades de residuos de α -L-ramnosa y de D-galactosa, D-glucosa, D-xilosa, D-arabinosa y L-fucosa (Rolin, 1993; H&F, 1998).

Las pectinas extraídas de la cáscara de los cítricos, frutos de manzana y pulpa de la remolacha azucarera, se pueden diferenciar en su estructura molecular, por ejemplo: peso molecular, grado de esterificación, contenido del grupo acetyl, contenido de azúcares, o de la distribución del grupo carboxil metoxilado, lo que le da a las pectinas diferentes propiedades funcionales, aquellas con

un grado de esterificación de ácido galacturónico de $> 50\%$ son conocidas como pectinas de alto metoxilo. Estas requieren de la presencia de valores de pH bajos y alta concentración de sacarosa para gelificar. Dichas condiciones pueden ayudar a minimizar la repulsión electrostática entre las cadenas poliméricas. Pectinas de bajo metoxilo con un grado de esterificación $< 50\%$ gelan en presencia de iones calcio (H&F, 1998).

Las pectinas amidadas son la mayoría de las pectinas bajo metoxilo y tienen la ventaja de tolerar más variaciones en el contenido de calcio. Las principales aplicaciones de las pectinas como aditivos alimentarios se basan en su acción como agentes gelificantes y espesantes. Las pectinas pueden ser adsorbidas a los flóculos de caseína por interacción electrostáticas donde los grupos carboxilo con carga negativa interactúan con las cargas positivas de la superficie de los flóculos de caseína. Las moléculas de pectina adsorbidas forman una barrera a la interacción entre partículas de caseína y las protegen de floculación, principalmente por repulsión estérica. Los complejos de micelas de caseína con pectina adsorbida constituyen una red de soporte, la cual proporciona estabilidad de bebidas lácteas ácidas (May, 1999).

4.11 Reología

La reología es definida como la ciencia de la deformación y el flujo de material. Estudia y formula las leyes del comportamiento mecánico de los materiales. La reología es aplicada a todos los materiales, desde gases hasta sólidos (Muller, 1973; Steffe, 1996).

Toda prueba reológica se lleva a cabo mediante la aplicación de una fuerza a una muestra y la medición de su deformación o, equivalentemente, aplicar una deformación y medir la resistencia que presenta. Las relaciones entre el esfuerzo y la deformación que resultan de dichas pruebas se denominan ecuaciones constitutivas. La reología estudia la relación entre fuerzas ejercidas sobre un material y la deformación resultante como una función del tiempo. Para corregir las variaciones por tamaño y forma de los materiales, las fuerzas se recalculan referidas a la fuerza por unidad de área (esfuerzo) y la deformación se debe tomar relativa al tamaño pertinente (longitud) del material (Rosenthal, 2001).

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

Esfuerzo. Medida de fuerza por unidad de área superficial, expresada en Pascales (Pa). La dirección de la fuerza con respecto a la incidencia sobre el área superficial determina el tipo de esfuerzo. El esfuerzo normal (σ) ocurre cuando la fuerza es directamente perpendicular a la superficie y puede realizarse durante tensión o compresión. El esfuerzo de corte (τ) ocurre cuando la fuerza actúa en paralelo a la superficie (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Deformación. Cantidad adimensional de la deformación relativa de un material; si el esfuerzo aplicado es de tensión o compresión la deformación se denota como ϵ y si el esfuerzo aplicado es

de corte, la deformación del material se denota como γ (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Debido a la gran diversidad y comportamiento de los materiales, se toman puntos de referencia constituidos por sustancias ideales: Al sólido ideal se le conoce como sólido de Hooke, en memoria de Robert Hooke descubridor de la elasticidad; mientras que al líquido ideal se le conoce como líquido Newtoniano, en honor a Isaac Newton. Ningún producto real, por anómalo que sea, es más sólido que el sólido de Hooke o más líquido que el líquido Newtoniano (Muller, 1973).

Un sólido se describe como un material cuya característica distintiva es la rigidez y un líquido o fluido se describe como un material cuya característica particular es la viscosidad (Morris, 1995). Si se combina un sólido de Hooke con un fluido Newtoniano se obtiene el conocido modelo de Maxwell; este modelo matemático permite explicar el comportamiento de fluidos viscoelásticos, pero tiene como restricción su aplicación solamente cuando el comportamiento es viscoelástico lineal (Muller, 1973).

La zona viscoelástica lineal se presenta cuando la relación entre el esfuerzo aplicado y la deformación resultante es solo función del tiempo; es decir, existe una relación lineal entre el esfuerzo aplicado y la deformación resultante (Fiszman *et al*, 1983; Purkayasta *et al*, 1985).

4.11.1 Propiedades reológicas de los alimentos

Las propiedades reológicas de los alimentos involucran pequeños o grandes esfuerzos. Esfuerzos pequeños se usan cuando se requiere un porcentaje de deformación bajo para romper la muestra; aplicados durante las pruebas fundamentales. Esfuerzos grandes se usan para deformar una muestra hasta el punto donde el cambio estructural permanece (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Entre las pruebas en las que se aplican esfuerzos pequeños se encuentran las oscilatorias, de relajación y determinación del rendimiento del esfuerzo. Las pruebas oscilatorias son pruebas reológicas dinámicas en las que la deformación, velocidad de deformación y el esfuerzo aplicado oscilan sinusoidalmente con el tiempo con una frecuencia angular (Rosenthal, 2001)

Los ensayos dinámicos son adecuados para caracterizar con el tiempo materiales viscoelásticos no alterados. La ventaja principal es que se puede determinar en un intervalo de escalas de tiempo, la contribución de las componentes viscoso (G''), elástico (G') y factor de cedencia ($\tan \delta = G''/G'$). Una desventaja importante la constituye la necesidad de su realización en la denominada zona viscoelástica lineal; es decir, en la región donde el esfuerzo es proporcional a la deformación, para que los datos puedan ser interpretados correctamente (Rosenthal, 2001; Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005):

Para un material elástico ideal el esfuerzo está en fase con la deformación

Para un material viscoso ideal el esfuerzo está desfasado 90° con la deformación

Para sistemas viscoelásticos la fase de retraso entre esfuerzo y deformación se sitúa entre 0 y 90°.

Módulo de almacenamiento (G'): es asociado con la habilidad para almacenar energía mientras la integridad estructural del alimento se mantiene (Tunick *et al.*, 1993). La magnitud de G' es dependiente de los arreglos en la estructura del alimento que toman lugar en el proceso de oscilación y representa el comportamiento elástico de la muestra (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Módulo de pérdida (G''); es una medida de la habilidad del alimento para disipar energía e indicativo de la ruptura de la estructura (Tunick *et al.*, 1993) y representa el comportamiento viscoso del alimento (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Si el valor de G' es mayor que aquel de G'' , el comportamiento mecánico del alimento es predominantemente sólido; es decir, la deformación puede ser esencialmente elástica o recuperable; por el contrario, si el valor de G'' es mayor al de G' , la energía usada para deformar el material es disipada viscosamente y el alimento se comporta predominantemente como líquido (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

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

4.11.2 El yogur en la reología

El yogur se comporta con las propiedades de un fluido no newtoniano y con una fuerza dependiente del tiempo de ambos tipos tixotrópico y viscoelástico. Las curvas de flujo muestran valores de fluencia de deformación. Este material plástico es caracterizado por la presencia de una estructura labil, que es fracturada bajo una deformación y sólo construido parcialmente por arriba del resto de las condiciones o en condiciones de baja deformación. Las propiedades de flujo del yogur dependen de la temperatura a la que se realice la prueba. Un acercamiento a la caracterización reológica del yogur puede ser diferente, dependiendo de la investigación, de la técnica experimental o del análisis de los tratamientos del experimento (De Lorenzi *et al*, 1995).

En otros trabajos, la propiedades de flujo están correlacionadas con los parámetros del proceso de elaboración (Labropoulos *et al*, 1981); la adición de frutas e hidrocoloides como la pectina, modifican las propiedades reológicas, sensoriales o de composición (Ramaswamy y Basak, 1992; Biliaderis *et al*, 1992; Windhab, 1991).

Una caracterización reológica en yogur se puede llevar acabo por pruebas de mediciones de flujo oscilatorias (Steventon *et al*, 1991); otros trabajos presentan un acercamiento a la descripción de las propiedades que dependen del tiempo del yogur, como en un rango de esfuerzo constante en la base de una ecuación de estado, una ecuación cinética y del parámetro introducido que describe el estado estructural del material como una función del esfuerzo y el tiempo (Benezech y Maingonnat, 1992).

4.12 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es una disciplina científica que evoca, mide, analiza e interpreta las reacciones que producen las características de los alimentos, al ser percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído” (Meilgaard *et al.* 1999).

La evaluación sensorial es una herramienta importante para establecer la vida útil de los alimentos. Su eficacia radica en el hecho que los cambios que experimenta el producto, como lucen, huelen, saben y se sienten, se traducen en modificaciones de uno o más parámetros sensoriales, provocando el deterioro del mismo, lo que se traduce en una disminución de su aceptabilidad hasta llegar en el caso extremo de un rechazo de ese alimento. De ahí la importancia de contar con metodología que facilite la estimación en forma real de la vida útil que pueda tener el alimento. Son muchas las iniciativas que se han propuesto con este fin (Wittig de Penna, 1981).

Se han diseñado diversas pruebas de evaluación sensorial, de acuerdo al objetivo que se persigue mediante su aplicación. Entre estas pruebas se encuentran las de tipo discriminativo, usadas para determinar si dos o más productos son diferentes o no. Se utilizan para igualación de productos, verificación de cambios en un producto ya sea por modificaciones en las materias primas o en el proceso-, control de calidad y comprobación de la vida útil de un producto (Escandón, 1990).

Existen diversas pruebas discriminativas, como la prueba triangular aplicada para determinar si existe una diferencia sensorial no especificada entre dos productos; muy útil cuando las

diferencias posibles pueden ser caracterizadas por uno o más atributos. Como cada prueba puede involucrar una cantidad considerable de degustaciones, la prueba triangular no debe usarse con muestras que produzcan fatiga sensorial, que tengan efectos muy perdurables o que produzcan una adaptación rápida (Daget, 1977).

La prueba duo-trio también se usa para determinar si hay una diferencia sensorial no especificada entre dos productos. El objetivo es que el juez compare dos muestras contra una de referencia e identifique cuál es diferente/cuál igual a la referencia (Pedrero y Pangborn, 1989).

La prueba pareada direccional se aplica para determinar si dos muestras difieren en un atributo específico. Es muy útil cuando las diferencias posibles pueden ser atribuidas a un solo atributo (Pedrero y Pangborn, 1989).

Otras técnicas utilizadas en la evaluación sensorial son las escalas de proporción que expresan la intensidad del atributo percibido (dulzor, dureza, etc.) o una reacción a tal atributo. La validez y la fiabilidad de las mediciones de intensidad son sumamente dependientes de la selección de la técnica de escala y el entrenamiento del panel sensorial en el uso de escalas. Existen tres tipos comúnmente utilizadas: de categorización, lineales y de estimación de magnitud.

4.12.1 Estimación de magnitud

Para que un edulcorante pueda sustituir a la sacarosa con éxito en los alimentos, es preciso realizar estudios que permitan un conocimiento previo de la concentración de edulcorantes a ser

utilizados en sus equivalencias a la sacarosa. Una metodología para la obtención de estas variaciones en magnitud puede ser el método de estimación de magnitud (Moskowitz, 1970).

En el método de estimación de magnitud los panelistas deben recibir una muestra de referencia con una intensidad designada con un valor arbitrario, por ejemplo 10, seguido por una serie de muestras aleatorizadas, con intensidades mayores o menores a la de la referencia. Los panelistas deberán estimar el poder edulcorante de las muestras presentadas y atribuir un valor a cada muestra en relación a la referencia. Por ejemplo, si una muestra presenta el doble del dulzor de la referencia se le asignara un valor de 20 o bien si los panelistas asignan un valor de 5 la intensidad de dulzor percibida será la mitad de la referencia. A los panelistas se les mencionara que una referencia podría ser cambiada periódicamente, conforme a lo que se les solicite en la prueba (Meilgaard *et al*, 1999).

De acuerdo con Moskowitz (1970), el principio del método de estimación de magnitud, proporciona la obtención de herramientas importantes para la evaluación de alimentos a través del análisis sensorial.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Formulación y preparación de las emulsiones múltiples

Se formularon cuatro emulsiones múltiples del tipo $W_1/O/W_2$ ($E_{\phi_1\phi_2}$) que variaron en la fracción de la fase acuosa interna (W_1)/fase oleosa (O) (ϕ_1) de la emulsión interna (W_1/O) y en la fracción de la emulsión interna (W_1/O)/fase acuosa externa (W_2) (ϕ_2): $E_{0.3, 0.3}$; $E_{0.3, 0.2}$; $E_{0.2, 0.3}$ y $E_{0.2, 0.2}$. La fase acuosa interna W_1 de las emulsiones múltiples estuvo constituida por agua destilada conteniendo goma Gelana® (GG) (CP Kelco, S. A de C. V., México); mientras que la fase acuosa externa W_2 estuvo formada por agua destilada conteniendo pectina de bajo metoxilo acetilada (PA) (Genu® pectin LM-106 AS, Cp Kelco, S.A. de C.V., México) como agente emulsificante/estabilizante (Cuadro 1). La fase oleosa consistió en aceite de canola (AC) (Capullo®, Unilever de México, S.A. de C.V.) adicionado con un emulsificante lipofílico (EL) (ricinoleato de propilenglicol Grinsted® PGPR 90, Danisco, S.A. de C.V., México) y un emulsificante hidrofílico (EH) (mono y diglicéridos esterificados con ácido diacetiltartárico Panodan® SDK Datem, Danisco, S.A. de C.V., México). La composición de las emulsiones internas se muestra en el cuadro 1.

La preparación de las emulsiones múltiples ($E_{\phi_1\phi_2}$) se realizó por el método de dos etapas (Musashino *et al.*, 2001): En la primera etapa se formó una emulsión interna (W_1/O) (cuadro 1) a través de la incorporación, gota a gota de la fase acuosa (W_1) a la fase oleosa (O), con la ayuda de un homogenizador de alto corte Silverson L4R (Silverson Machines, Ltd., Waterside, Chesham, Buckinghamshire, Inglaterra) operado a 5800 rpm por 5 min, manteniendo una temperatura de 20 ± 2 °C mediante el uso de un baño de hielo.

Cuadro 1. Composición de las emulsiones internas (W_1/O).

Componente	$(W_1/O)_{\phi 1 = 0.3}$		$(W_1/O)_{\phi 1 = 0.2}$	
	Fase acuosa (W_1) (g 100g ⁻¹ de emulsión)	Fase oleosa (O) (g 100g ⁻¹ de emulsión)	Fase acuosa (W_1) (g 100g ⁻¹ de emulsión)	Fase oleosa (O) (g 100g ⁻¹ de emulsión)
Agua destilada	28.30	-	18.90	-
Emulsificante hidrofílico Panodan® Datem	1.60	-	1.01	-
Gelana®	0.01	-	0.01	-
Aceite de canola Capullo®	-	63.60	-	72.70
Emulsificante lipofílico Grinsted® PGPR 90	-	6.40	-	7.30

En la segunda etapa se prepararon las emulsiones múltiples $E_{\phi 1 \phi 2}$ por re-emulsificación de las emulsiones internas W_1/O en la fase acuosa externa (W_2) conteniendo PA (2 g/ 100 g de emulsión). En forma previa se prepararon las dispersiones W_2 , incorporando la PA en agua (20 ± 2 °C). Las emulsiones $E_{0.3, 0.2}$ y $E_{0.2, 0.2}$ contuvieron 20 % (p/p) de emulsión interna y 80 % (p/p) de fase acuosa externa (W_2); mientras que las emulsiones $E_{0.3, 0.3}$ y $E_{0.2, 0.3}$ contuvieron 30 % (p/p) de emulsión interna y 70 % (p/p) de W_2 . La W_1/O se adicionó gota a gota a la dispersión W_2 , mediante la acción de un homogenizador de alto corte Silverson L4R, operado a 5200 rpm durante 3 min.

La preparación de las emulsiones se realizó por triplicado, aplicando un diseño experimental completamente al azar.

5.2 Evaluación de las emulsiones

El diámetro medio ($D_{1,0}$) de los glóbulos acuosos presentes en la emulsión interna (W_1/O) se determinó 1 h después de preparadas, usando un microscopio óptico (Olympus BX45, Olympus Optical Co., Tokio, Japón), equipado con un analizador de imágenes (cámara digital y software Imagen-Pro Plus versión 4.1) (Media Cybernetics Inc. EUA). Se tomaron 2 mL de emulsión interna, se diluyeron adicionando 20 mL de aceite vegetal (Sandoval-Castilla, 2006) y se observaron bajo el microscopio óptico usando un dispositivo de microfotografía U-TV1 X. Mediante el procedimiento antes descrito se verificó visualmente la formación de las emulsiones y se tomaron fotografías de las mismas en distintas zonas de manera aleatoria con una cámara digital Camedia C-3030 (Olympus Optical Co. LTD).

Para la evaluación de la morfología y el diámetro medio ($D_{1,0}$) presentes de las gotas de aceite de las emulsiones múltiples se siguió un procedimiento similar al usado en las emulsiones internas, usando agua destilada como medio de dilución (Garti, 1997). Adicionalmente se determinó la tasa de coalescencia de las emulsiones múltiples, para lo cual se mantuvieron bajo refrigeración (4 ± 1 °C) y analizaron variaciones en el $D_{1,0}$ de las gotas de aceite cada 24 h, durante seis días. A partir de los datos de $D_{1,0}$ se calcularon los diámetros volumétricos $D_{3,0}$ de las gotas de aceite de las emulsiones múltiples mediante la siguiente ecuación:

$$d[m, n] = \left(\frac{\sum V_i d_i^{m-3}}{\sum V_i d_i^{n-3}} \right)^{1/m-n}$$

Donde: V_i es el volumen de las gotas formadas de la i gota, d_i es el diámetro de la gota i , m y n dependen de la relación de diámetros a calcular.

La tasa de coalescencia se define como el tiempo que tarda la fase dispersa en aumentar su tamaño, al unirse unas gotas con otras y permite conocer el grado de estabilidad de la emulsión. La constante de coalescencia (C), se calculó a partir de la tasa de cambio en el número de gotas de aceite mL^{-1} de la emulsión con el tiempo (N_t), utilizando las siguientes ecuaciones:

$$N_t = N_0 e^{(-Ct)}$$

$$N_t = 6\phi 10^{12} / \pi (D_{3,0} t)^3$$

Donde: N_0 es el número de gotas inicial (24 h después de elaboradas las emulsiones)

ϕ es la fracción volumétrica de la fase oleosa = 0.2 ó 0.3.

$D_{3,0}(t)$ es el diámetro medio volumétrico superficial (μm) en el tiempo

Para cada emulsión se graficó $\ln N_t$ contra tiempo (s), obteniéndose rectas, cuyas pendientes correspondieron a los valores de la constante de coalescencia C (s^{-1}) de las emulsiones y a partir de éstos se clasificaron en: muy estables ($<10^{-11}$), estables (10^{-6} - 10^{-11}) e inestables ($>10^{-6}$) (Sherman, 1968).

5.3 Determinación sensorial de la equivalencia de dulzor esteviósido-sacarosa

Se conformó un panel sensorial a través de la selección de académicos y estudiantes que trabajan en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la UACH con base en su habilidad para

diferenciar el dulzor, mediante pruebas triangulares, de disoluciones conteniendo SA y ST (10 °C) a diferentes concentraciones (20, 40, 60 y 80 g L⁻¹ y 0.17, 0.18, 0.19 y 0.20 g L⁻¹, respectivamente). El panel seleccionado (n=9) fue entrenado en pruebas de dulzor utilizando escalas de magnitud (Cardoso *et al.*, 2004).

Para determinar la cantidad de ST (g L⁻¹ de yogur) que proporcione una magnitud de dulzura equivalente a la conferida por 60 g de SA L⁻¹ de yogur, concentración comúnmente usada, los panelistas compararon la dulzura de un yogur de referencia conteniendo 60 g de SA L⁻¹ con cuatro yogures conteniendo 0.17, 0.18, 0.19 y 0.20 g de ST L⁻¹. Muestras de 45 mL de los yogures conteniendo ST, codificadas con números de tres dígitos aleatorios, fueron presentadas en orden aleatorio a los panelistas junto con una muestra del yogur de referencia, todos a una temperatura de 10 °C. Se entregó a los panelistas una escala de magnitud no estructurada con un punto central correspondiente al yogur de referencia, marcado con un valor de 100 y se les solicitó compararan la magnitud del dulzor del yogur de referencia con aquella proporcionada por los yogures conteniendo diferentes concentraciones de ST y entonces marcaran en la escala la ubicación de cada yogur con ST (Meilgaard *et al.*, 1999). Asimismo se solicitó a los panelistas que informaran sobre la percepción de cualquier sabor residual. Cada panelista evaluó por quintuplicado el dulzor de los yogures.

Se estimaron los valores de magnitud del dulzor de los yogures conteniendo distintas concentraciones de ST (0.17, 0.18, 0.19 y 0.20 g de ST L⁻¹) en comparación con aquel yogur elaborado con SA (60 g de SA L⁻¹) y se calculó la relación: magnitud media de dulzura de cada yogur conteniendo ST, dividiendo el valor medio entre 100 (valor de magnitud de dulzura

asignada al yogur de referencia conteniendo SA). Para la elaboración subsecuente de los tratamientos de yogur se eligió la concentración de ST que mostró un valor cercano a 1.

Para determinar si los consumidores distinguirían diferencias en el dulzor proporcionado por el yogur de referencia y el dulzor conferido por el yogur conteniendo la concentración de ST seleccionada, se realizaron pruebas de triángulo con consumidores. Esta prueba se efectuó con 90 consumidores de yogur, a los cuales se les proporcionó el yogur de referencia y aquel con ST (uno de los cuales fue duplicado) y se les solicitó que indicaran cuál de ellos era distinto. Los yogures se codificaron con números de tres dígitos aleatorios, todas las combinaciones balanceadas, se presentaron al azar a los consumidores. Los resultados se analizaron de acuerdo a lo propuesto por Meilgaard *et al* (1999).

5.4 Tratamientos de yogur

Se prepararon cuatro tratamientos de productos tipo yogur a partir de leche descremada (0.1 g de grasa láctea L^{-1}) usando sacarosa (SA) (60 g L^{-1}) como edulcorante y una de las emulsiones múltiples $E_{\phi_1 \phi_2}$ en sustitución de la grasa láctea, en cantidad equivalente a 15 g de emulsión interna (Cuadro 2). Adicionalmente se prepararon cuatro tratamientos de yogur a partir de leche descremada usando esteviósido (ST) (extraído de *Stevia Rebaudiana* B., proporcionado por la Universidad Autónoma metropolitana) (0.19 g L^{-1}) como edulcorante y una de las emulsiones múltiples $E_{\phi_1 \phi_2}$ en sustitución de la grasa láctea, en la cantidad equivalente a 15 g de emulsión interna (Cuadro 2). Como yogures control se prepararon los siguientes: Yogur completo en grasa (Y_{SACG}) conteniendo 15 g de grasa láctea L^{-1} y 60 g de SA L^{-1} ; yogur completo en grasa láctea

(Y_{STCG}) conteniendo 15 g de grasa láctea L⁻¹ y 0.19 g de ST L⁻¹ y yogur bajo en grasa (Y_{STSG}) conteniendo 0.1 g de grasa láctea L⁻¹ y 0.19 g de ST L⁻¹.

Cuadro 2. Tratamientos de yogur.

*Código del yogur	Grasa láctea (g L ⁻¹)	Emulsión (E _{φ1φ2})/ g L ⁻¹	Sacarosa (g L ⁻¹)	Esteviósido (g L ⁻¹)
Y _{SACG}	15	-	60	-
Y _{STCG}	15	-	-	0.19
Y _{STSG}	0.1	-	-	0.19
Y _{SA,0.3,0.3}	0.1	E _{0.3,0.3} /50	60	-
Y _{SA,0.3,0.2}	0.1	E _{0.3,0.2} /75	60	-
Y _{SA,0.2,0.3}	0.1	E _{0.2,0.3} /50	60	-
Y _{SA,0.2,0.2}	0.1	E _{0.2,0.2} /75	60	-
Y _{ST,0.3,0.3}	0.1	E _{0.3,0.3} /50	-	0.19
Y _{ST,0.3,0.2}	0.1	E _{0.3,0.2} /75	-	0.19
Y _{ST,0.2,0.3}	0.1	E _{0.2,0.3} /50	-	0.19
Y _{ST,0.2,0.2}	0.1	E _{0.2,0.2} /75	-	0.19

*SA: sacarosa, ST: esteviósido, CG: completo en grasa, SG: bajo en grasa, subíndices numéricos: φ1 (fracción de W₁/O) y φ2 (fracción de W₁/O/W₂).

5.5 Proceso de elaboración de los yogures

Lotes de 3 L de cada tratamiento de yogur se elaboraron por triplicado, a partir de leche descremada en polvo (LDP) (Lactomix, DILAC, S.A. de C.V., México) hidratada o mezclas de leche entera en polvo (LEP) (NIDO®, Nestlé, S.A. de C.V., México) y LDP hidratadas, de acuerdo al contenido en grasa láctea L⁻¹ establecido para cada tratamiento (Cuadro 2). El contenido de sólidos no grasos lácteos para todos los casos fue de 105 ± 1 g L⁻¹. La LDP y las mezclas de LDP y LEP se hidrataron en agua a 40 ± 1 °C durante 24 h antes de proceder a la elaboración del yogur (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004).

Para la preparación de los yogures conteniendo emulsiones múltiples, estas últimas se incorporaron a la leche hidratada (75 g L^{-1} y 50 g L^{-1} para $\phi_1=0.2$ y $\phi_1=0.3$, respectivamente) a una temperatura de $45 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, aplicando agitación (2200 rpm durante 3 min) con un homogenizador de alto corte Silverson L4R. Una vez estandarizado el tipo y contenido graso de la leche correspondiente a cada tratamiento, ésta se pasteurizó ($85 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min), enfrió ($45 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e inoculó con 0.3 g de cultivo láctico liofilizado (*S. salivarius* ssp. *thermophilus* y *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (1:1) (MY800 LYO Danisco®, Danisco, S.A. de C.V., México) L^{-1} . La fermentación de la leche se realizó a $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y una vez alcanzada una acidez de $85 \pm 1^{\circ}\text{D}$ se procedió al enfriamiento del yogur y su almacenamiento a 4°C , por 12 h. Se retiró el yogur de refrigeración y se procedió a batir mediante un agitador caframo (CAFRAMO modelo RZR1, Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, EUA) a 500 rpm durante 1 min (Diaz *et al*, 2004), después de lo cual se almacenó bajo las mismas condiciones de refrigeración hasta su caracterización química y reológica.

Para la preparación de los tratamientos de yogur se aplicó un diseño experimental completamente al azar.

5.6 Análisis químico proximal

Al tercer día de elaborados, los yogures se sometieron a determinaciones de proteína (método Kjeldahl), grasa (método de Gerber modificado para yogur) y humedad (método de secado a la estufa) (AOAC, 1998). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

5.7 Prueba de sinéresis

Los yogures, después de 1 y 15 días de elaborados, fueron sujetos a pruebas de sinéresis (Kalab, 1998): 40 g de yogur (4 ± 1 °C) se colocaron en tubos para centrífuga, cuyo peso previamente fue registrado, y se centrifugaron a $222 \times g$ por 10 min, a una temperatura de 4 ± 1 °C. Después de retirar el sobrenadante mediante decantación, los tubos se pesaron y se calculó el porcentaje de sinéresis de las muestras usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ sinéresis: } P_{mo} - P_{mc} / P_{mo} \times 100$$

Donde:

P_{mo} = peso de la muestra original (40 g)

P_{mc} = peso de la muestra centrifugada y decantada.

5.8 Análisis reológico

Los yogures se sometieron a pruebas oscilatorias dinámicas en un reómetro Physica MCR 301 Dynamic Shear Rheometer (Antón Paar Messtechnik, Stuttgart, Alemania). La geometría usada fue de cono-plato, en la cual el cono rotatorio tuvo 50 mm de diámetro y un ángulo de 1° (CP50-1-SN5550). La distancia entre cono y plato se fijó en 0.051 mm. Muestras de los yogures (3.8 mL) se colocaron cuidadosamente en el plato, dejándose reposar por 3 min para que la estructura se recuperara; posteriormente se sometieron a barridos de amplitud para determinar la región viscoelástica lineal, manteniendo una temperatura de 5 ± 0.1 °C (control de temperatura Physica TEK 150P) (Physica Messtechnik, Stuttgart, Alemania) y aplicando una deformación de 0.02 a

50 % a una frecuencia de 1 Hz (Lobato-Calleros *et al.*, 2004). Todas las mediciones se llevaron a cabo por triplicado y en los períodos de post-elaboración de 1, 5 10 y 15 días. Mediante el software RheoPlus/32 V2.62, se obtuvieron los valores del módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y factor de cedencia ($\tan \delta$) de los tratamientos de yogur.

5.9 Análisis de datos

Los datos de composición química, propiedades reológicas y sensoriales de los yogures se sometieron a análisis de varianza de clasificación simple y en los casos pertinentes a pruebas de Tukey de comparación de medias. La significancia fue establecida en $p \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico Statgraphics versión plus 5.1 (Statistical Graphics Corp. Manugistics, Inc., Cambridge, Ma.).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Morfología y tamaño de los glóbulos de las emulsiones

La dilución en aceite y la observación microscópica de las emulsiones internas $(W_1/O)_{\phi_1=0.3}$ y $(W_1/O)_{\phi_1=0.2}$, confirmaron la formación de emulsiones del tipo W/O, formadas por pequeñas gotas esféricas de agua distribuidas individualmente en la fase oleosa continua (Figura. 3).

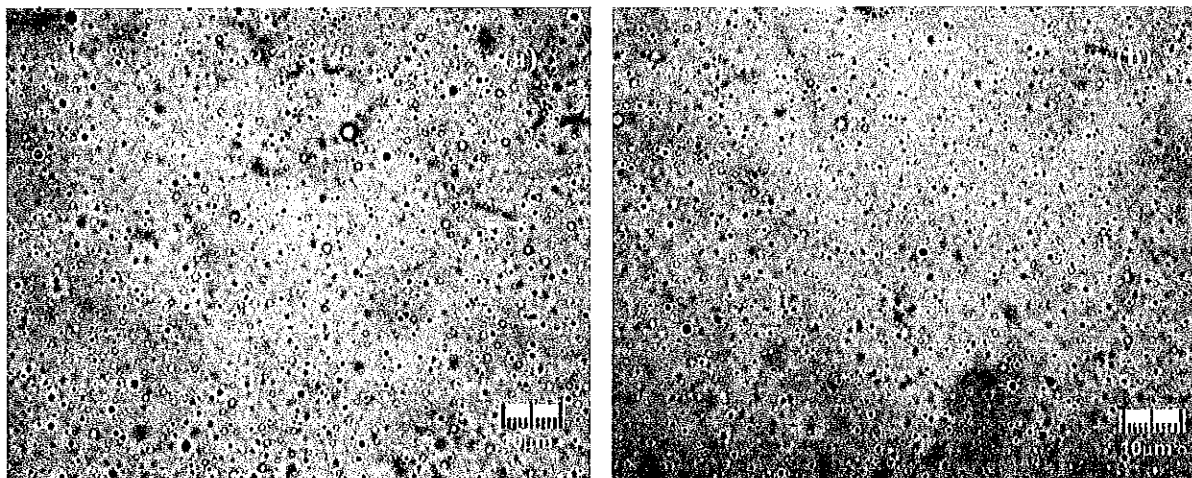


Figura 3. Microfotografías de las emulsiones internas: (a) $(W_1/O)_{\phi_1=0.3}$ y (b) $(W_1/O)_{\phi_1=0.2}$, que muestran la presencia de numerosos glóbulos de agua contenidos en la fase oleosa (Amplificación 100x).

A partir de la morfología exhibida por las emulsiones W_1/O , se puede inferir que el proceso de emulsificación fue adecuado, interviniendo en su eficiencia los emulsificantes de bajo peso molecular (EBPM) involucrados, así como el trabajo mecánico ejercido mediante el homogenizador (Garti, 1997).

Incrementos en el valor de ϕ_1 de las emulsiones internas resultó en la formación de gotas de agua de mayor tamaño. El valor $D_{1,0}$ de las gotas de agua de la emulsión W_1/O ($\phi_{1,0.3}$) ($0.115 \pm 0.0 \mu\text{m}$) fue significativamente mayor ($p \leq 0.05$) que el exhibido por las gotas de la emulsión

W₁/O ($\phi_{1,0.2}$) ($0.085 \pm 0.0 \mu\text{m}$). Los resultados antes expuestos pueden ser atribuidos a: (a) Menor cantidad de emulsificante lipofílico en la emulsión W₁/O ($\phi_{1,0.3}$) que aquella presente en la emulsión W₁/O ($\phi_{1,0.2}$) y (b) Presencia de mayor número de glóbulos de agua en la emulsión W₁/O ($\phi_{1,0.3}$), en comparación con los presentes en la emulsión W₁/O ($\phi_{1,0.2}$) y (c). La dispersión de una fase acuosa en una oleosa, en forma de numerosas gotas, representa un aumento importante en la superficie en contacto entre ambas fases, produciéndose por tanto un incremento en la energía del sistema. Esta energía, llamada tensión superficial, es superada a través de la aplicación de energía mecánica (homogenización) y la actividad superficial de emulsificantes de bajo peso molecular (Pomeranz, 1991).

Para el caso específico de emulsiones W/O, la acción del emulsificante lipofílico es preponderante. Los emulsificantes, debido a su carácter amfifílico, migran rápidamente a la interfase y cubren la superficie de las gotas proporcionando una barrera que reduce la oportunidad de que dos gotas sufran coalescencia al chocar (Pomeranz, 1991). Durante la preparación de emulsiones W/O, las moléculas del emulsificante lipofílico, Grinsted en este caso, se difunden rápidamente a la interfase agua-aceite y sus grupos lipofílicos penetran la fase oleosa externa a través de interacciones hidrofóbicas i.e. fuerzas de atracción de Van Der Waals, formando así una película superficial que confiere estabilidad a la emulsión. La película del emulsificante lipofílico se extiende sobre el lado oleoso y la fase acuosa queda encerrada en forma de pequeñas gotas. En contraste, el emulsificante hidrofílico, Panodan en este caso, se difunde lentamente a la interfase, adhiriéndose preferentemente a la fase acuosa mediante interacciones dipolo-dipolo (Pomeranz 1991; Dickinson, 1992; Owusu y Zhu, 1996).

La presencia de mayor cantidad de fase acuosa en la emulsión W_1/O ($\phi_{1,0.3}$) involucró un aumento en el número de gotas acuosas presentes en la emulsión, lo cual a su vez pudo favorecer la ocurrencia mayor número de colisiones entre las gotas acuosas y en consecuencia de los fenómenos de floculación y coalescencia. El primero consistente en la reunión de dos o más gotas, sin que cada una de ellas pierda su integridad; y el segundo comprendiendo el proceso por el cual dos o más gotas se fusionan para formar una gota de mayor tamaño (McClements, 1999).

6.2 Características de las emulsiones múltiples ($W_1/O/W_2$)

Todas las emulsiones múltiples ($W_1/O/W_2$) consistieron de gotas de aceite de emulsión interna W_1/O ($\phi_{1,0.3}$ y $\phi_{1,0.2}$), dispersas en una fase acuosa externa W_2 ($\phi_{2,0.3}$ y $\phi_{2,0.2}$) (Figura.4). En el interior de las gotas de aceite, pudo apreciarse la presencia de numerosas gotas de agua; característica morfológica que permitió su clasificación en tipo C. Cuando las gotas de emulsión interna contienen una sola gota de fase dispersa, la emulsión múltiple se clasifica como tipo A; cuando la emulsión interna contiene pocas gotas de fase dispersa, la emulsión múltiple se considera de tipo B y cuando la emulsión interna contiene numerosas gotas de fase dispersa, la emulsión múltiple se clasifica como tipo C (Garti, 1997).

Los valores $D_{1,0}$ de las gotas de aceite de las emulsiones múltiples después de un día de elaboración fueron similares ($p > 0.05$) y variaron de 3.24 a 3.35 μm (Cuadro 3). Al transcurrir el tiempo de almacenamiento el $D_{1,0}$ de las emulsiones aumentó (Figura. 5) alcanzando valores de 4.66 a 5.30 μm a los seis días de preparadas (Cuadro 3), indicando ello la ocurrencia de una ligera cantidad de coalescencia.

El tamaño de las gotas de aceite de las distintas emulsiones difirió significativamente ($p \leq 0.05$) al finalizar el período de almacenamiento. La emulsión $E_{0.3, 0.3}$ presentó gotas de aceite más pequeñas ($p \leq 0.05$) que las encontradas en la emulsión $E_{0.2, 0.3}$, pero de tamaño similar ($p > 0.05$) a los mostrados por las gotas de aceite de las emulsiones $E_{0.3, 0.2}$ y $E_{0.2, 0.2}$ (Cuadro 3).

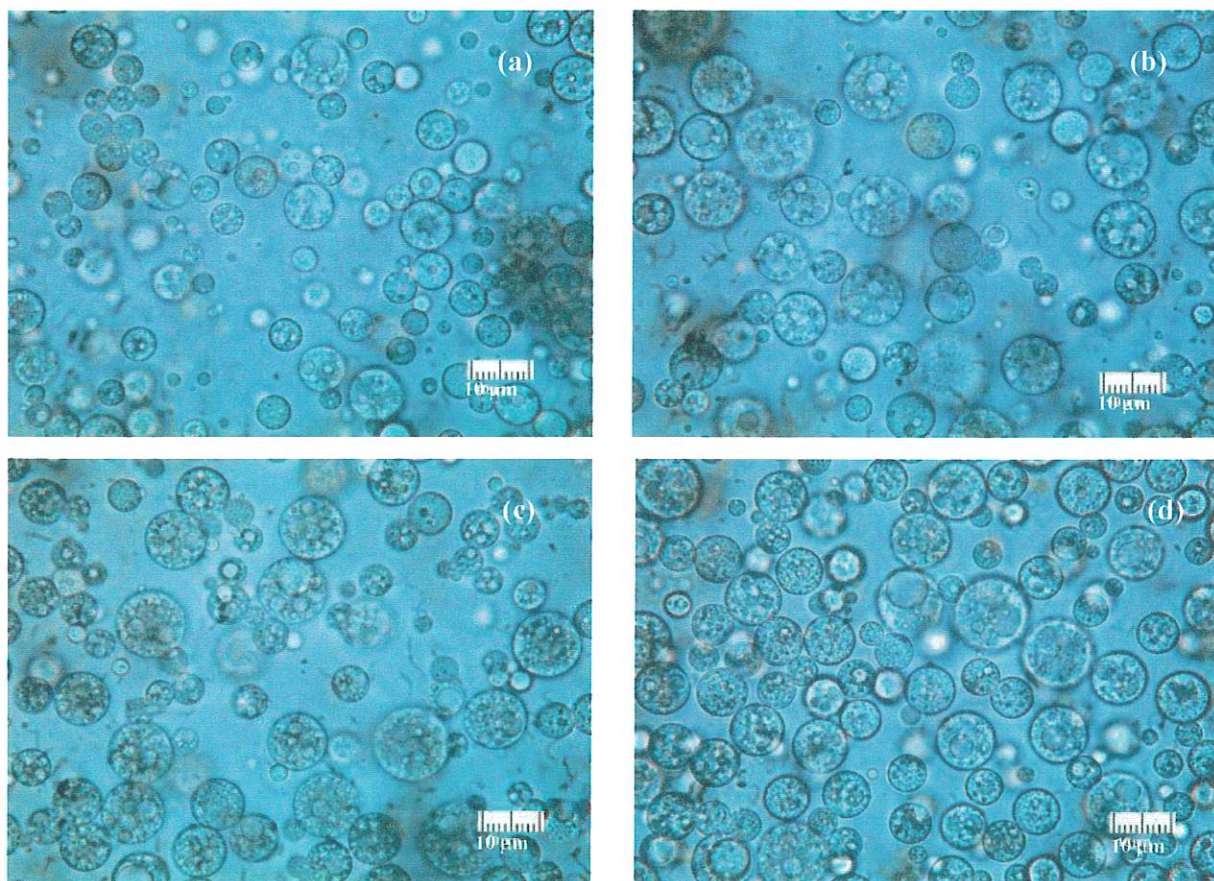


Figura 4. Microfotografías de los glóbulos de aceite de las emulsiones múltiples: (a) $E_{0.3, 0.3}$; (b) $E_{0.3, 0.2}$; (c) $E_{0.2, 0.3}$ y (d) $E_{0.2, 0.2}$ (Amplificación 100 $\times$).

Los valores $D_{1,0}$ de las gotas de las emulsiones $E_{0.3, 0.3}$ y $E_{0.3, 0.2}$ aumentaron 1.37 y 1.55 μm , respectivamente, a los seis días de elaboradas; mientras que los aumentos observados en $D_{1,0}$ para

las emulsiones $E_{0.2, 0.2}$ y $E_{0.2, 0.3}$ fueron de 1.75 y 2.01 μm , respectivamente. Los valores de tasa de coalescencia de las emulsiones (Cuadro 3) revelaron su carácter estable, de acuerdo con Sherman (1968). La emulsión $E_{0.2, 0.3}$, presentó la tasa de coalescencia más alta (2.30×10^{-6}); mientras que el resto de las emulsiones mostró valores similares entre 1.69 a 1.87×10^{-6} . Con base en lo antes expuesto, se infiere que aumentos en ϕ_1 y en consecuencia de emulsificante hidrofílico, favorecieron la estabilidad de las gotas de aceite de las emulsiones múltiples, probablemente por migración de moléculas del emulsificante hidrofílico de la fase interna a la interfase externa. Garti (1997), menciona que compuestos dispersos o disueltos en la fase interna de emulsiones dobles tienden a liberarse a la fase acuosa externa.

Cuadro 3 Variación del diámetro ($D_{1,0}$) con el tiempo de almacenamiento y tasa de coalescencia de las gotas de aceite de las emulsiones múltiples $W_1/O/W_2$.

*Código de la emulsión	Día 1 (μm)	Día 6 (μm)	Tasa de coalescencia ($\times 10^6$)/ R^2
$E_{0.3, 0.3}$	3.29 ^a (0.2)	4.66 ^a (0.6)	1.87 ^a /0.97
$E_{0.3, 0.2}$	3.35 ^a (0.5)	4.90 ^{ab} (0.2)	1.69 ^a /0.92
$E_{0.2, 0.3}$	3.29 ^a (0.2)	5.30 ^b (0.5)	2.30 ^a /0.90
$E_{0.2, 0.2}$	3.24 ^a (0.3)	4.99 ^{ab} (0.2)	1.72 ^a /0.91

* $E_{\phi_1\phi_2}$: ϕ_1 (fracción de W_1/O) y ϕ_2 (fracción de $W_1/O/W_2$). Letras diferentes como superíndices en una misma columna indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$), números entre paréntesis indican la desviación estándar.

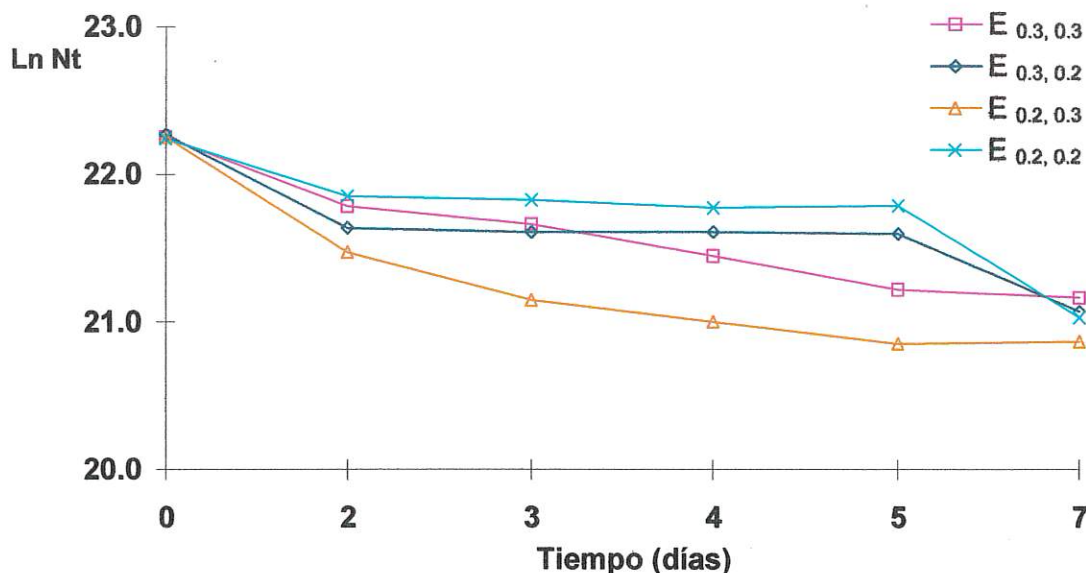


Figura 5. Variación en el número de gotas de aceite de las emulsiones múltiples con el tiempo de almacenamiento.

6.3 Equivalencia de dulzor esteviósido-sacarosa

Los valores de magnitud media de dulzura de los yogures conteniendo diferentes concentraciones de ST en comparación con la magnitud de dulzura asignada al yogur $Y_{60.00SA}$ de referencia conteniendo 60 g de SA L^{-1} , se muestran en la tabla 4. Una concentración de 0.19 g de ST L^{-1} de yogur ($Y_{0.19ST}$) proporcionó una dulzura comparable ($p > 0.05$) a la generada por la presencia de 60 g de SA L^{-1} yogur ($Y_{60.00SA}$); mientras que concentraciones menores o mayores a 0.19 g de ST L^{-1} de yogur generaron dulzores menores y mayores significativamente ($p \leq 0.05$) al proporcionado por $Y_{60.00SA}$. Con base en los datos antes expuestos se calculó la relación del dulzor esteviósido-sacarosa (R_{ST-SA} , g de ST que equivalen en dulzor a 1 g de SA) y el poder edulcorante del esteviósido (P_{edST} , número de veces que el ST es más dulce que la SA) en el yogur (Cardoso *et al.*, 2004):

$$R_{ST-SA(10\text{ }^{\circ}\text{C})} = ST \text{ (g L}^{-1}\text{)}/SA \text{ (g L}^{-1}\text{)} = Z ; R_{ST-SA} = 0.19(\text{g L}^{-1})/60 \text{ (g L}^{-1}\text{)} = 0.00316$$

$$P_{edST(10\text{ }^{\circ}\text{C})} = 1 \text{ g SA}/Z \text{ g ST}; P_{edST} = 1 \text{ g SA}/0.00316 \text{ g ST} = 316.5$$

Goto y Clemente (1998) informaron que el esteviósido (principal componente del extracto *Stevia rebaudiana* Br.), proporciona un dulzor de 10 a 300 veces mayor que la sacarosa; mientras que el rebaudiósido A, que aparece como el segundo glucósido más importante del extracto, produce un dulzor de 250 a 400 veces mayor que el de la sacarosa. El dulzor del extracto de Stevia se incrementa al aumentar el valor de la fracción en masa rebaudiósido A/esteviósido.

Cuadro 4. Magnitud de dulzura de yogures conteniendo sacarosa y diferentes concentraciones de esteviósido.

Código de yogur	Magnitud de dulzura
Y _{0.17ST}	0.63 ^a (0.06)
Y _{0.18ST}	0.83 ^b (0.05)
Y _{0.19ST}	0.99 ^c (0.02)
Y _{60.00SA}	1.00 ^c (0.00)
Y _{0.20ST}	1.19 ^d (0.05)

ST: esteviósido; SA: sacarosa. Letras diferentes como superíndices en una misma columna indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$), números entre paréntesis indican la desviación estándar.

La percepción del sabor dulce de los edulcorantes en sistemas alimenticios depende de la composición del medio dispersante, la temperatura de consumo y la concentración de los diferentes componentes del edulcorante. Se ha encontrado que el dulzor de la bebida Chá-Mate, conteniendo Stevia, aumenta a temperaturas mayores de 6°C (Cardoso *et al.*, 2004).

Los resultados de la prueba de triángulo realizada con consumidores, demostró que el dulzor del yogur $Y_{0.19ST}$ fue comparable ($p > 0.05$) al del $Y_{60.00SA}$, no pudiendo los consumidores diferenciar los dos yogures.

6.4 Composición química proximal de los yogures

Variaciones en la composición de la leche, en relación a la fracción grasa y al agente edulcorante, resultaron en variaciones ($p \leq 0.05$) en los contenidos de grasa y humedad, pero no de proteína ($p > 0.05$) de los yogures (Cuadro 5). Los yogures control Y_{STCG} y Y_{SACG} mostraron mayores contenidos de grasa que el yogur control Y_{STSG} y los yogures conteniendo emulsiones (Y_{ST, ϕ_1, ϕ_2} y Y_{SA, ϕ_1, ϕ_2}), debido a que la leche usada para la elaboración de los primeros contuvo 15 g de grasa láctea L^{-1} , en comparación con 0.1 g de grasa láctea L^{-1} del tercero y 10.5 y 12 g de aceite L^{-1} de los últimos (de acuerdo con los valores de ϕ_1).

Las variaciones en los contenidos de humedad de los yogures se debieron a diferencias en la contribución de sólidos L^{-1} por parte del agente edulcorante utilizado en su elaboración. De esta manera los yogures conteniendo sacarosa SA presentaron menores ($p \leq 0.05$) contenidos de humedad que los yogures conteniendo ST i.e. el yogur Y_{SACG} presentó 82.3 % de humedad, en comparación con 87.4 % del Y_{STCG} (Cuadro 5).

Todos los yogures presentaron contenidos de proteína similares ($p > 0.05$) (Cuadro 5), debido a que se prepararon a partir de leche estandarizada a la misma cantidad de sólidos no grasos lácteos.

La acidez de los yogures aumentó durante el almacenamiento hasta valores de 88.7 a 90.3 °D (Cuadro 5). Los cambios de acidez en el yogur se deben básicamente a la transformación progresiva de la lactosa en ácido láctico durante el almacenamiento. Díaz *et al* (2004) y Pirkul *et al.* (1998) informaron que los valores de acidez de yogures bajos en grasa aumentaron de 0.85 a 1.1 % después de 14 días de almacenamiento.

La variación de los datos de sinéresis (Cuadro 5) de los yogures control $Y_{SACG} < Y_{STCG} < Y_{STSG}$ al 1° y 15° días de almacenamiento, evidenciaron que la reducción del contenido graso y la sustitución de SA por ST disminuyeron la retención de lactosuero en la red proteínica. Se ha informado que los yogures bajos en grasa normalmente son bajos en sólidos totales y consecuentemente sufren de separación de lactosuero (Harwalkar y Kalab 1986). La incorporación de emulsiones E_{ϕ_1, ϕ_2} en sustitución de la grasa láctea presentó un efecto favorable sobre la retención de lactosuero en los yogures Y_{ϕ_1, ϕ_2} , exhibiendo estos últimos menor sinéresis ($p < 0.05$) que el yogur Y_{STSG} bajo en grasa.

Los yogures Y_{ϕ_1, ϕ_2} exhibieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en sus valores de sinéresis al 1° y 15° d de almacenamiento, dependiendo del valor de ϕ_2 (relacionado con la cantidad de PA presente en la fase W_2 de la emulsión) y el tipo de edulcorante usado en la preparación del yogur. En general, valores elevados de ϕ_2 y presencia de sacarosa rindieron yogures con menor sinéresis.

Cuadro 5 Composición química proximal y sinéresis de los yogures.

*Código del yogur	Grasa (%)	Proteína (%)	Humedad (%)	Acidez día 15 (°D)	Sinéresis día 1 (%)	Sinéresis día 15 (%)
Y _{STCG}	1.6 ^d (0.1)	3.6 ^a (0.1)	87.4 ^c (0.1)	88.7 ^a (0.6)	6.2 ^b (0.4)	9.5 ^e (0.0)
Y _{SACG}	1.6 ^d (0.1)	3.9 ^a (0.1)	82.3 ^a (0.3)	89.3 ^{ab} (0.6)	4.6 ^a (0.7)	5.3 ^a (0.1)
Y _{STSG}	0.1 ^a (0.0)	4.0 ^a (0.0)	89.0 ^{de} (0.1)	90.3 ^b (0.5)	12.5 ^e (0.5)	14.2 ^h (0.1)
Y _{ST,0.3,0.3}	1.1 ^b (0.0)	3.8 ^a (0.1)	87.3 ^c (0.3)	89.7 ^{ab} (0.6)	8.4 ^c (0.0)	9.5 ^e (0.1)
Y _{ST,0.3,0.2}	1.1 ^b (0.0)	3.6 ^a (0.1)	88.8 ^{cdc} (1.0)	90.3 ^b (0.6)	9.5 ^d (0.1)	10.2 ^f (0.2)
Y _{ST,0.2,0.3}	1.2 ^{bc} (0.2)	3.8 ^a (0.1)	89.7 ^e (0.6)	90.0 ^{ab} (0.0)	9.8 ^d (0.1)	10.8 ^g (0.1)
Y _{ST,0.2,0.2}	1.4 ^c (0.1)	3.6 ^a (0.1)	88.0 ^{cd} (0.9)	90.3 ^b (0.6)	8.6 ^c (0.1)	9.5 ^e (0.0)
Y _{SA,0.3,0.3}	1.1 ^b (0.0)	3.8 ^a (0.1)	85.0 ^b (0.0)	90.3 ^b (0.6)	5.8 ^b (0.1)	6.3 ^{bc} (0.1)
Y _{SA,0.3,0.2}	1.1 ^b (0.0)	3.5 ^a (0.1)	84.8 ^b (0.3)	90.0 ^{ab} (0.0)	5.4 ^{ab} (0.1)	6.5 ^c (0.1)
Y _{SA,0.2,0.3}	1.2 ^{bc} (0.1)	4.7 ^a (0.1)	85.2 ^b (0.3)	90.3 ^b (0.6)	6.2 ^b (0.2)	7.4 ^d (0.0)
Y _{SA,0.2,0.2}	1.3 ^{bc} (0.0)	3.6 ^a (0.1)	84.3 ^b (0.8)	90.0 ^{ab} (0.0)	5.5 ^{ab} (0.2)	6.1 ^b (0.2)

ST: estevióside; SA: sacarosa; Y₁₄₂: $\phi 1$ (fracción de W₁/O) y $\phi 2$ (fracción de W₁/O/W₂). Letras diferentes como superíndices en una misma columna indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$), números entre paréntesis indican la desviación estándar.

De esta manera los yogures Y_{SA,0.3,0.2} y Y_{SA,0.2,0.2} mostraron valores de sinéresis comparables ($p > 0.05$) al del yogur control completo en grasa Y_{SACG} al primer día de almacenamiento (tabla 5). De los resultados antes expuestos se infiere que la presencia de una mayor cantidad de sólidos no lácteos con elevada capacidad ligante de agua (SA y PA) contribuyó a una mayor inmovilización de lactosuero en la red proteínica del yogur (FDA, 1996b). Se ha observado también que la sinéresis disminuye al aumentar la concentración de leche descremada en polvo (LDP), debido al enriquecimiento del yogur con lactosa, proteínas y sales minerales con el correspondiente aumento de sólidos totales (Castillo *et al.*, 2004). La expulsión de lactosuero de

la red proteínica de los yogures se incrementó con el tiempo de almacenamiento, indicando rearrreglos de la red proteínica durante este período (Ozdemir y Sadikoglu, 1998).

6.5 Comportamiento reológico de los yogures

Las variaciones de los valores de G' y G'' de todos los yogures en función de la deformación (Figuras. 6 y 7), después de un día de elaborados, mostraron tendencias similares, pudiendo identificarse tres zonas de comportamiento: Zona I, a deformaciones de 0.02 hasta alrededor de 0.08 %, en la que los valores de ambos módulos permanecieron prácticamente constantes, por lo que fue identificada como zona viscoelástica lineal; Zona II, a deformaciones mayores de 0.08 % hasta aproximadamente 4.0 %, en la que los valores de ambos módulos disminuyeron de forma no lineal y Zona III, a valores de deformación mayores de 4.0 % en la que los valores de G' y G'' sufrieron disminución pronunciada. En la zona I, los valores de ambos módulos fueron independientes de la deformación y aquellos de G' fueron mayores a los de G'' (Fig. 7), indicando esto que los yogures tuvieron una estructura predominantemente elástica. En la zona II, los valores de ambos módulos (G' y G'') disminuyeron de manera no lineal, indicando ello una ruptura parcial de la estructura elástica del yogur (red proteínica). Finalmente, en la zona III, los valores de G' disminuyeron más rápidamente que los de G'' ; las curvas de ambos módulos se cruzaron y G'' alcanzó valores mayores que G' , presentándose entonces el desarrollo típico de un fluido viscoelástico (Hess *et al.*, 1997; Keogh y O'Kennedy, 1998).

En correspondencia a la variación de los valores de G' y G'' , los valores de $\tan \delta$ (G''/G') de los yogures (Figura. 8) permanecieron casi constantes hasta una deformación de alrededor de

0.8 %, aumentaron después de manera no lineal y finalmente aumentaron linealmente, alcanzando valores iguales o mayores a la unidad a deformaciones superiores del 30 %. Existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los valores de G' , G'' y $\tan \delta$, respectivos a la zona viscoelástica lineal, de los yogures (Cuadro 6), como resultado de variaciones en la composición de la leche a partir de la que se prepararon.

En general todos los yogures presentaron valores de G' y G'' mayores ($p \leq 0.05$) que aquellos exhibidos por el yogur Y_{SACG} (Cuadro 6). La sustitución de SA por ST, sin reducir el contenido graso, resultó en un yogurt Y_{STCG} con valores de G' y G'' más elevados que los correspondientes al Y_{SACG} (Cuadro 6). Con estos resultados se puede inferir que el arreglo estructural del yogur es modificado cuando ST se incorpora en sustitución de la SA en su formulación, generándose un reforzamiento de la estructura de gel del yogur.

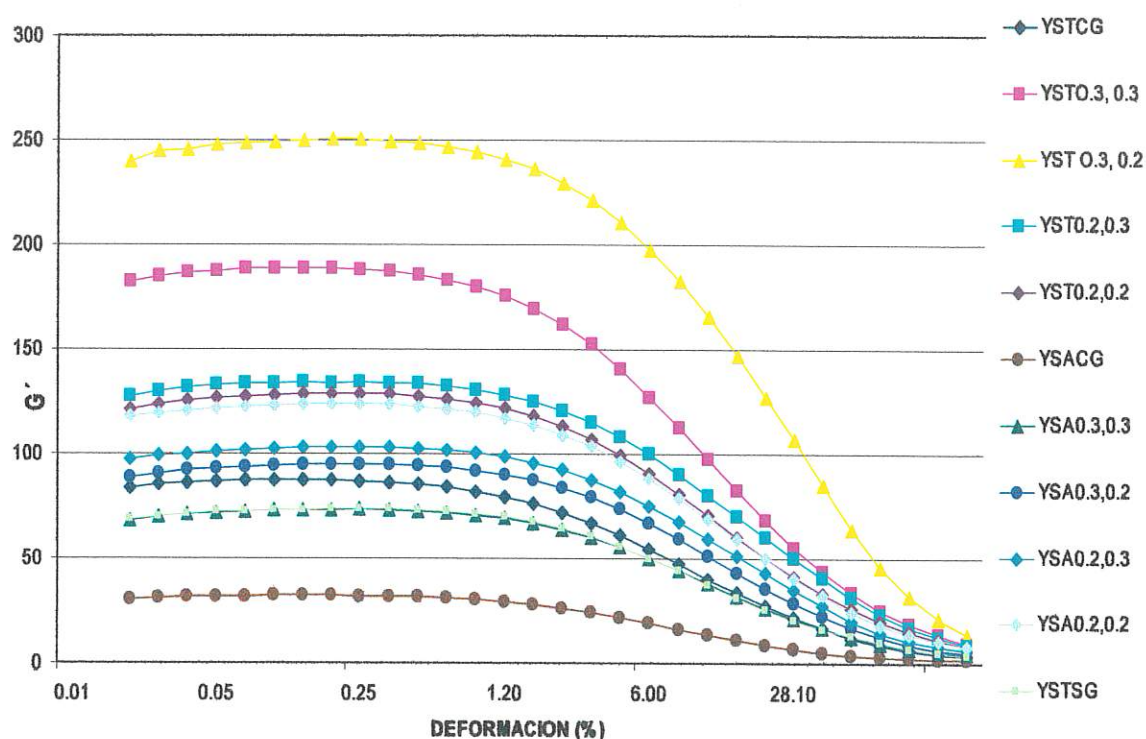


Figura 6 Comportamiento del módulo de almacenamiento G' de los tratamientos de yogur a 24 h de elaborados

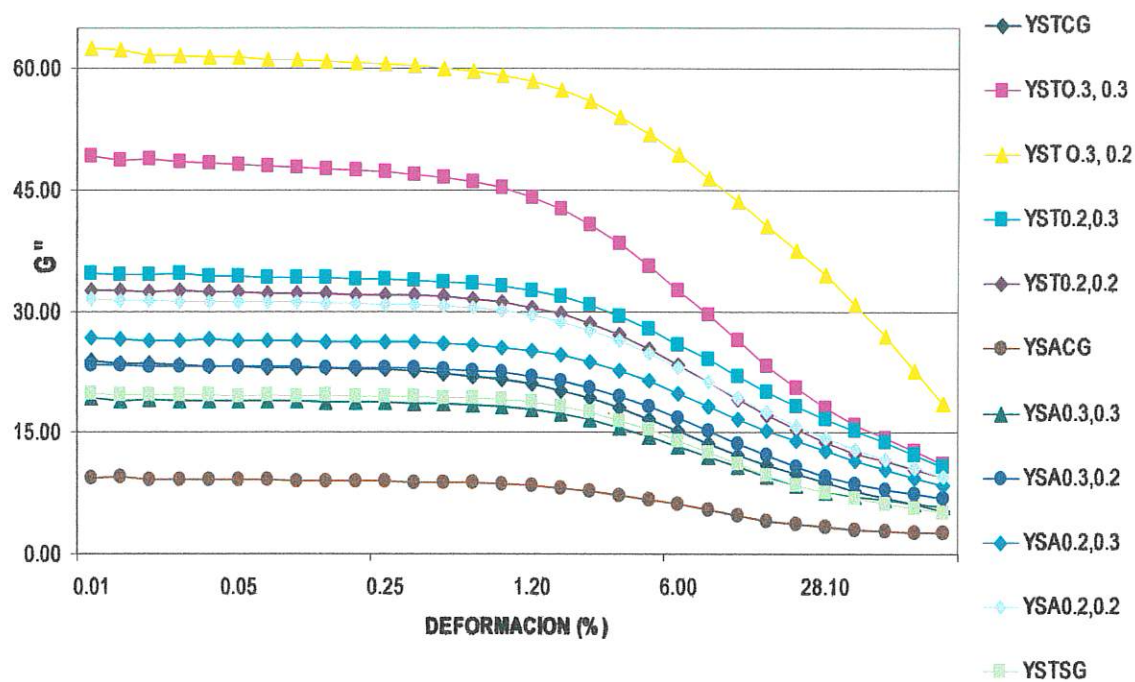


Figura 7 Comportamiento del módulo de pérdida G'' de los tratamientos de yogur a 24 h de elaborados

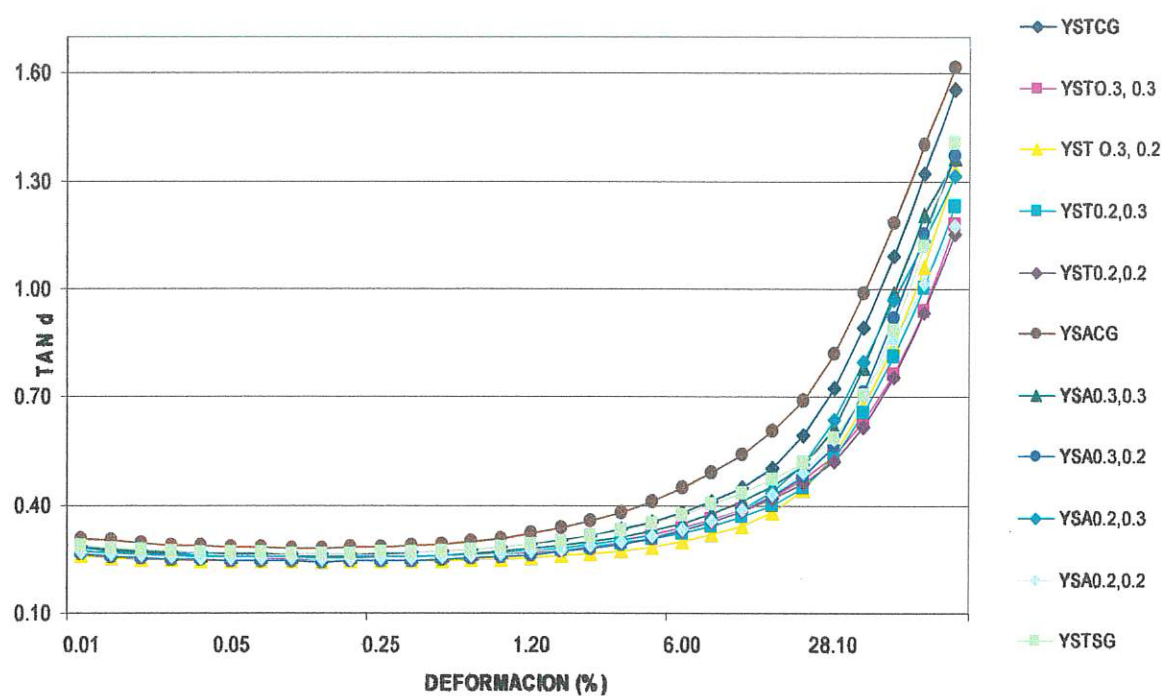


Figura 8 Comportamiento de $\tan \delta$, de los tratamientos de yogur a las 24 h de elaborados

La respuesta de un alimento ante la aplicación de un esfuerzo está directamente relacionada con el arreglo estructural de las moléculas de sus componentes (Lobato-Calleros *et al.* 1999). Haque y Aryana (2002) informaron de diferencias en la microestructura de yogur al sustituir la SA por aspartame; el yogur preparado con sacarosa mostró una matriz conformada por micelas de caseína asociadas en aglomerados, presentando zonas con grandes espacios; mientras que el yogur conteniendo aspartame estuvo formado por micelas de caseína arregladas en forma de polímeros longitudinales dobles, indicando esto último un incremento en la tendencia de las micelas de caseína a polimerizarse. Las moléculas de aspartame contienen regiones hidrofóbicas e hidrofílicas, por lo que desempeñan un papel importante durante la formación de geles (Tanford, 1980). El ST por hidrólisis produce tres unidades de glucosa, de carácter hidrofílico, y un diterpeno (aglucona esteviol) de carácter hidrofóbico (Soto y Del Val, 2002). Es probable que la fracción del ST conformada por el diterpeno haya reforzado la estructura proteínica del yogur de manera similar a lo informado para aspartame.

Al disminuir el contenido graso de la leche, se obtuvo un yogur Y_{STSG} que presentó valores de G' y G'' comparables ($p > 0.05$) a los del yogur Y_{STCG} al primer día de almacenamiento, pero menores ($p \leq 0.05$) a aquellos del yogur Y_{STCG} a los 5, 10 y 15 d de almacenamiento (Cuadro 6). Sandoval-Castilla *et al.*, (2004), encontraron que reducciones en el contenido graso de yogures producen estructuras con menor resistencia a la deformación, debido a la presencia de un menor número de glóbulos grasos actuando como agentes ligantes de las micelas de caseína. Se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los valores de G' y de G'' de los yogures en los que la grasa láctea se sustituyó mediante emulsiones E_{ϕ_1, ϕ_2} , atribuidas a variaciones en los valores de ϕ_1 y ϕ_2 y al tipo de edulcorante utilizado (SA o ST).

La presencia de ST en sustitución de la sacarosa rindió yogures Y_{ST, ϕ_1, ϕ_2} que exhibieron valores mayores ($p \leq 0.05$) de G' y G'' que los mostrados por los yogures Y_{SA, ϕ_1, ϕ_2} , durante todo el tiempo de almacenamiento (Cuadro 6), lo cual es acorde a lo mencionado anteriormente sobre los yogures control Y_{SACG} y Y_{STCG} .

Al disminuir el valor de ϕ_1 en las emulsiones E_{ϕ_1, ϕ_2} (manteniendo constante el valor de ϕ_2) se obtuvieron yogures Y_{SA, ϕ_1, ϕ_2} con valores mayores ($p \leq 0.05$) de G' y G'' (Cuadro 6), con mayor carácter viscoelástico. Lo anterior probablemente estuvo relacionado con la presencia de un mayor número de gotas de aceite actuando en la estructuración del yogur. Cabe recordar que la cantidad de emulsión E_{ϕ_1, ϕ_2} adicionada a la leche descremada usada para la preparación de los yogures, fue de 75 g L^{-1} y 50 g L^{-1} , para valores de ϕ_1 de 0.2 y 0.3, respectivamente. En contraste, los yogures Y_{ST, ϕ_1, ϕ_2} conteniendo emulsiones E_{ϕ_1, ϕ_2} con valores de $\phi_1 = 0.2$ presentaron valores menores ($p \leq 0.05$) de G' y G'' (Cuadro 6). Estos resultados parecen indicar que la presencia de mayor número de gotas de aceite inhibió la interacción entre micelas de caseína y el esteviósido para dar origen a una estructura más débil con menor carácter viscoelástico. La red proteínica actúa como soporte estructural del yogur (Mottar *et al.*, 1989), por tanto, el grado de asociación entre micelas de caseína y las gotas de aceite de las emulsiones E_{ϕ_1, ϕ_2} , define en gran medida la respuesta mecánica del producto ante la aplicación de un esfuerzo externo. Sandoval-Castilla *et al.* (2004), informaron que el arreglo estructural de la red proteínica de yogures bajos en grasa incorporados con sustitutos de grasa estuvo afectado por la morfología, el tamaño de partícula, la interacción con las micelas de caseína y la habilidad para ligar agua de estos últimos.

Cuadro 6. Valores del módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y factor de cedencia ($\tan \delta$) de los yogures durante el tiempo de almacenamiento.

Código del yogur	G' (1 d) (Pa)	G'' (1 d) (Pa)	$\tan \delta$ (1 d) (adim)	G' (5 d) (Pa)	G'' (5 d) (Pa)	$\tan \delta$ (5 d) (adim)	G' (10 d) (Pa)	G'' (10 d) (Pa)	$\tan \delta$ (10 d) (adim)	G' (15 d) (Pa)	G'' (15 d) (Pa)	$\tan \delta$ (15 d) (adim)
Y _{STCG}	73.6 ^b (5.2)	19.6 ^b (1.4)	0.27 ^d (0.0)	115.8 ^c (5.4)	29.1 ^{cd} (1.5)	0.25 ^c (0.0)	139.5 ^{de} (5.8)	36.4 ^d (1.9)	0.26 ^c (0.0)	223.0 ^e (28.0)	55.8 ^e (6.4)	0.25 ^b (0.0)
Y _{SACG}	32.4 ^a (0.7)	9.2 ^a (0.2)	0.28 ^e (0.0)	37.4 ^a (1.2)	8.65 ^a (1.2)	0.23 ^a (0.0)	35.9 ^a (3.0)	9.6 ^a (0.7)	0.27 ^d (0.0)	51.3 ^a (1.1)	13.4 ^a (0.3)	0.26 ^c (0.0)
Y _{STSG}	73.5 ^b (4.0)	19.6 ^b (1.0)	0.27 ^d (0.0)	81.7 ^b (0.7)	20.6 ^b (0.5)	0.25 ^c (0.0)	80.85 ^b (1.3)	20.5 ^b (0.3)	0.25 ^b (0.0)	83.2 ^b (2.5)	20.8 ^b (0.6)	0.25 ^b (0.0)
Y _{ST,0.3,0.3}	202.3 ^e (11.3)	51.2 ^e (2.7)	0.25 ^b (0.0)	218.3 ^f (8.5)	55.5 ^g (2.0)	0.25 ^c (0.0)	202.8 ^g (3.2)	49.3 ^e (0.7)	0.24 ^a (0.0)	302.7 ⁱ (6.0)	73.3 ⁱ (1.7)	0.24 ^a (0.0)
Y _{ST,0.3,0.2}	241.5 ^f (3.2)	59.0 ^f (0.8)	0.24 ^a (0.0)	338.5 ^g (8.2)	80.9 ^h (1.6)	0.24 ^b (0.0)	248.7 ⁱ (7.3)	61.4 ^g (1.5)	0.25 ^b (0.0)	366.8 ^g (9.8)	87.6 ^g (2.2)	0.24 ^a (0.0)
Y _{ST,0.2,0.3}	131.7 ^d (0.5)	35.1 ^d (0.1)	0.25 ^b (0.0)	132.7 ^d (4.7)	34.5 ^e (1.4)	0.26 ^d (0.0)	224.0 ^h (11.7)	54.4 ^f (2.7)	0.24 ^a (0.0)	216.3 ^e (10.0)	53.1 ^e (2.5)	0.25 ^b (0.0)
Y _{ST,0.2,0.2}	139.5 ^d (2.7)	33.1 ^d (0.7)	0.25 ^b (0.0)	155.2 ^e (9.8)	38.6 ^f (2.1)	0.25 ^c (0.0)	160.8 ^f (5.0)	39.0 ^d (1.2)	0.24 ^a (0.0)	184.2 ^d (5.2)	44.1 ^d (1.5)	0.24 ^a (0.0)
Y _{SA,0.3,0.3}	74.7 ^b (1.7)	19.3 ^b (0.3)	0.26 ^c (0.0)	74.7 ^b (1.2)	18.8 ^b (0.2)	0.25 ^c (0.0)	88.0 ^b (2.0)	21.5 ^b (0.5)	0.24 ^a (0.0)	92.3 ^b (2.5)	22.7 ^b (0.6)	0.25 ^b (0.0)
Y _{SA,0.3,0.2}	98.1 ^c (2.6)	23.9 ^c (0.5)	0.24 ^a (0.0)	104.9 ^c (4.1)	25.6 ^c (1.0)	0.24 ^b (0.0)	127.0 ^{cd} (2.3)	30.5 ^e (0.3)	0.24 ^a (0.0)	112.0 ^{bc} (2.0)	26.6 ^{bc} (0.5)	0.24 ^a (0.0)
Y _{SA,0.2,0.3}	98.0 ^c (3.1)	25.2 ^c (0.8)	0.26 ^c (0.0)	117.7 ^{cd} (4.7)	29.4 ^d (1.0)	0.25 ^c (0.0)	116.8 ^c (5.5)	29.4 ^c (1.3)	0.25 ^b (0.0)	125.8 ^c (3.8)	31.5 ^c (1.0)	0.25 ^b (0.0)
Y _{SA,0.2,0.2}	129.2 ^d (3.8)	32.5 ^d (1.0)	0.25 ^b (0.0)	166.8 ^e (4.2)	41.6 ^f (1.0)	0.25 ^c (0.0)	145.8 ^{ef} (6.5)	35.7 ^d (1.6)	0.24 ^a (0.0)	162.0 ^d (5.3)	40.0 ^d (1.2)	0.25 ^b (0.0)

ST: esteviosido; SA: sacarosa; Y_{0.2}: $\phi 1$ (fracción de W_1/O) y $\phi 2$ (fracción de $W_1/O/W_2$). Letras diferentes como superíndices en una misma columna indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$), números entre paréntesis indican la desviación estándar.

El comportamiento reológico de los yogures también fue afectado por el valor de ϕ_2 (fracción de emulsión interna/fase acuosa externa (W_2)) de las emulsiones E_{ϕ_1, ϕ_2} que contuvieron. A valores de $\phi_2 = 0.2$ (manteniendo constante el valor de ϕ_1) tanto los yogures Y_{ST, ϕ_1, ϕ_2} , como los yogures Y_{SA, ϕ_1, ϕ_2} , mostraron valores mayores ($p \leq 0.05$) de G' y G'' respecto a aquellos exhibidos por los yogures conteniendo emulsiones con $\phi_2 = 0.3$ (Cuadro 6). El comportamiento descrito parece estar relacionado con la presencia de una mayor cantidad de W_2 y en consecuencia de pectina en las emulsiones y en el yogur cuando $\phi_2 = 0.2$. Se ha informado que cierta cantidad de proteína asociada con la pectina, es capaz de adsorberse en la interfase aceite-agua, quedando la fracción sacárida de la molécula orientada hacia la fase acuosa continua, resultando gotas de aceite estables, rodeadas por moléculas de pectina. Estas últimas mediante sus grupos carboxilato negativos, pueden interactuar entre sí o con otras moléculas a través de cationes o grupos con carga parcial positiva (Parker *et al.*, 1993; Rolin, 1993; Leroux, *et al.*, 2003). La pectina confiere al yogur calidad y estabilidad mediante su interacción con las caseínas, las cuales juegan un papel muy importante en la formación y estructura del gel. Durante la fermentación, las proteínas de la leche, inicialmente moléculas anfóteras, cambian su carga total. A pH isoeléctrico (4.6) la carga total es cero. A un pH mayor, la caseína tiene carga negativa y a un pH menor tiene carga positiva. En cuanto a la pectina, no anfótera, su grado de disociación es mínimo a pH 2.5 y máximo a un pH próximo a 6.5. Por tanto, la leche presenta carga total positiva a pH bajo, mientras que la pectina se encuentra cargada negativamente. La pectina adsorbida a la interfase aceite-agua puede interactuar con las micelas de caseína (Bellavita y Guanaja, 1998) y de esta manera influir en el reforzamiento de la estructura del yogur.

7. CONCLUSIONES

- Una concentración de 0.19 g de esteviósido L^{-1} de yogur confirió un dulzor equivalente al proporcionado por 60 g de sacarosa L^{-1} de yogur.
- La incorporación de esteviósido en sustitución de sacarosa resultó en yogures con mayor carácter viscoelástico.
- La sustitución de la grasa láctea por emulsiones múltiples formuladas con pectina de bajo metoxilo acetilada como agente emulsificante/estabilizante externo, reforzó el carácter viscoelástico del yogur.
- Variaciones en los valores de las fracciones fase acuosa interna/fase oleosa y emulsión interna/fase acuosa externa de las emulsiones múltiples, causaron modificaciones en el comportamiento reológico de los yogures.
- La incorporación de esteviósido en sustitución de la sacarosa estuvo relacionada con mayores índices de sinéresis en el yogur.
- El uso de esteviósido y pectina de bajo metoxilo acetilada permitió resolver el detrimento en las propiedades mecánicas que exhiben los yogures bajos en grasa y en sacáridos.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson G. H. 1998. Macronutrient substitutes: definition and rationale. Nutritional implications of macronutrient substitutes. *Food and Chemical Toxicology*. 36: 145–148.
2. AOAC. 1998. *Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists*, Washinton D.C. USA.
3. Becher P. 1972. *Emulsiones: Teoría y práctica*. Ed. Blume 2ª edición. España pp 83-375
4. Bellavita, R. y Guananja, G. 1998. Bebidas lácteas refrescantes. *Tecnología Láctea Latinoamericana*. 12: 8-51.
5. Benezech, T. y Maingonnat, J. 1992. Flow properties of stirred yoghurt: modelling and influence of cooling conditions. Proc. XIth Int. Congr. Rheology, Brussels, pp. 693-5.
6. Biliaderis, C., Khan, M. y Blank, G. 1992. Rheological and sensory properties of yogurt from skim milk and ultrafiltered retentates. *Dairy J.* 31: 1-23.
7. Calorie Control Council. 2002. Low-calorie sweeteners. Disponible en: <http://www.caloriecontrol.org/lowcalqa.html> Consultado el 25/02/2002.
8. Cardoso J. M. P, Battocchio J. R y Cardello H. M. A. B. 2004. Equivalência de dulçor e poder edulcorante de edulcorantes em função da temperatura de consumo em bebidas preparadas com Chá-Mate em pó solúvel. *Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas*. 24(3): 448-452.
9. Castillo, M., Borregales, C., Sánchez, M. D. 2004. Influencia de la pectina sobre las propiedades reológicas del yogur. *Revista de la facultad de farmacia* Vol. 46 (2): 33-37.
10. Daget, N. 1977. Sensory evaluation or sensory measurement. Nestlé Research News. pp: 43-56.
11. De Lorenzi L, Priel S y. Torriano G. 1995. Rheological Behaviour of Low-fat and Full-fat Stirred Yoghurt. *Int. Dairy Journal* 5: 661-671

12. Díaz, J. B. Sosa, M. M. E. y Vélez R. J. F. 2004. Efecto de la adición de fibra y la disminución de grasas en las propiedades fisicoquímicas de yogur. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 3: 287-305.
13. Dickinson, E. 1992. *An Introduction to Food Colloids*. Oxford University Press, Oxford, Reino Unido.
14. Dickinson E. 2001. Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology, *Colloids and Surfaces B*. 20: 197–210
15. Dickinson E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocol*. 17: 25-39.
16. Dominic W. 1993. *Química de Alimentos, Mecanismos y Teoría* Ed Acribia. Zaragoza, España.
17. Escandón, S. 1990. Evaluación Sensorial. Folleto. Firmenich de México S. A. de C. V.
18. Food and Drug Administration (FDA). 1996a. *Lowfat yogurt*. 21CFR 131.203, Code of Federal Regulations. U.S. Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.
19. Food and Drug Administration (FDA). 1996b. *Nonfat yogurt* 21 CFR 131.206, Code of Federal Regulations. U.S. Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.
20. Fennema O. R. 2000. *Química de Alimentos*. 2ª Ed. Acribia. Zaragoza, España
21. Figueiredo Jr I. 1997. Açúcar e gordura: substitutos à altura. *Engenharia de Alimentos* 14: 18–23.
22. Fiszman S. M., Castell, E. y Duran, L. 1983. Medida del comportamiento reológico de los alimentos sólidos. Bases técnicas *Rev. Agronómica y Tecnológica de Alimentos* 23(2): 164-173.
23. Garti, N. Y Reichman, D. 1993. Hydrocolloids as food emulsifiers and stabilizers. *Food Structure* 12:411-426

24. Garti, N. 1997. Double emulsions scope, limitations and new achievements. *Colloids and surfaces* 123:233-246}
25. Griffin W. C. 1949. Classification of surface active agents by HLB, J. *Soc. Cosmetic Chemists*. 1: 311
26. Goto A. y Clemente E. 1998. Influência do Rebaudiosídeo A na solubilidade e no sabor do Esteviosídeo. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 18 (1): 3-6.
27. H & F (Held at FI Food Ingredients Europe). 1998. Chances and limits for the use of pectin as emulsifier. Lecture of the master class of emulsion technology. *News from research and development*. 3-5 november. Frankfurt , Germany.
28. Haque Z. Z. y Aryana K. J. 2002. Effect of sweeteners on the microstructure of yogurt. *Food Sci.Technol. Res*. 8(1): 21-23.
29. Harwalkar V. R. y Kalab M. 1986. Relationship between microstructure and susceptibility to syneresis in yogurt made from reconstituted nonfat dry milk. *Food microstructure*. 5: 287-294.
30. Hess S. J. Roberts R. F. y Ziegler G. R. 1997. Rheological properties of nonfat yogurt stabilized using *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* producing exopolysaccharide or using commercial stabilizer systems. *J. Dairy Sci*. 80: 252-263.
31. Jean-Louis S. 1999. Formulación, Composición y Fabricación de Emulsiones para Obtener las Propiedades deseadas. Estado del Arte Parte A: Introducción y Conceptos de Formulación Fisicoquímica. Cuaderno FIRP S747-A Universidad de los Andes. Escuela de Ingeniería Química. Mérida-Venezuela
32. Jiao J. 2002 Multiple emulsion stability: pressure balance and interfacial film strength. *Juornal of colloid and interface science*. 250.

33. Kalab, M. 1998. Watery yogurt? ©SCIMAT 1998. Disponible en: www.ciberus.ca/~scimat. Consultado el: octubre 2002.
34. Keogh, M. K. y O'Kennedy, B.T. 1998. Rheology of stirred yogurt as affected by milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of food science* 53 (1): 108-112.
35. Labropoulos, A., Palmer, J.K. y Lopez, A. 1981. Whey protein denaturation of UHT processed milk and its effect on rheology of yoghurt. *J. Texture Studies*. 12: 365-374.
36. Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V. y Mazoyer, J., 2003. Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids* 17: 455-462
37. Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E. y Vernon-Carter, E. J. 1999. Propiedades reológicas de análogos de queso: efectos de sustituto de grasa y humedad. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 2(3): 119-124.
38. Lobato-Calleros, C. Martinez-Torrijos O., Sandoval-Castilla O., Pérez-Orozco J.P y Vernon-Carter E.J. 2004. Flow and creep compliance properties of reduced-fat yoghurts containing protein-based fat replacers. *International Dairy Journal International*. 14: 777-782.
39. May, C.D. 1999. Pectins. *Thickening and Gelling Agents for Food*. A. Imeson Ed. 2nd ed. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, MA. USA. 230-261
40. McClements, D. J. 1999. *Food Emulsions. Principles, Practice and techniques*. Boca Raton, Florida, EUA. CRC Press
41. Meilgaard M, Civille GV y Carr BT. 1999. *Sensory evaluation techniques*, 3rd edition. C RC Press. Boca Raton, Florida, USA;pp.199, 222
42. Midmore David J. y Rank Andrew H. 2002. A new rural industry –Stevia to replace imported chemical sweeteners. Rural Industries Research and Development

- Corporation. Disponible en: <http://www.ahs.cqu.edu.au/info/science/psg/>. Consultado el: mayo 2007.
43. Ministério da Saúde. 1997. Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares—Definições, Classificação e Emprego. Ministério da Saúde, Secretaria da Vigilância Sanitária, Portaria nº 540 de 27 de Outubro de 1997, Brazil.
 44. Mistry V V y Hassan H N. 1992. Manufacture of nonfat yogurt from a high milk protein powder. *Journal of Food Science* 75: 947–957.
 45. Morris E. R. 1995. *Polysaccharide rheology and In-mouth perception. Food Polysaccharides and their Applications*. A.M. Stephen Ed. Marcel Dekker, Inc. New York. USA. 517-547.
 46. Moskowitz, H. R. 1970. Ratio scales of sugar sweetness. *Perception Psychophys.* 7: 315-320.
 47. Mottar, J. Bassier, A. Joniau, M. y Baert, J. 1989. effect of heat-induced association of whey proteins and casein micelles of yogurt texture. *Journal of Dairy Science.* 72: 2247-2256.
 48. Muguet V., Seiller M., Barratt G., Ozer O., Marty J. P. y Grossiord, J. L. 2001. *Formulation of shear rate sensitive multiple emulsions. J. Controlled Release*, 70: 37-49.
 49. Multon J. L. 1986. *Aditivos y Auxiliares de Fabricación en las Industrias Agroalimentarias*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
 50. Muller H. G. 1973. *Introducción a la Reología de los Alimentos*. Ed Acribia, Zaragoza España.
 51. Musashino, K., Hasegawa, Y., Imaoka, H., Adachi, S. y Matsuno, R. 2001. Preparation of W/O/W múltiple Emulsions with Polymers in the Outer Aqueous Phase. *Food Sci. Technol. Res.*, 7(1): 78-83

52. Nissim G. 1997. *Progress in Stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications*. *Wiss U. Technology*. 30(3): 222-235
53. Ozdemir M y Sadikoglu H 1998 Characterization of rheological properties of systems containing sugar substitutes and carrageenan. *International Journal of Food Science and Technology* 33: 439-444.
54. Owusu A. R. K. y Zhu Q. H. 1996. Interfacial parameters for spans and tweens in relation to water-in-oil-in-water multiple emulsion stability. *Food Hydrocoll.* 10: 245-250.
55. Parker, A., Boulenger, P., Kravtchenko, T.P. 1993. Effect of the addition of high methoxy pectin on the rheology and colloidal stability of acid milk drinks. En *Food Hydrocolloids Structures, Properties, and Functions*. K. Nishinari and E. Doi Eds. Plenum Press, New York, N.Y. pp: 307-312.
56. Pedrero, D. y Pangborn, R M. 1989. Evaluación Sensorial de los Alimentos, Métodos Analíticos. Ed. Alhambra. México
57. Penner R. 2004. *Paraguay Vende*. Septiembre 9-21.
58. Pirkul, T. Temiz, A. y Kemal, Y. 1998. Fortification of yogurt with calcium salts and its effects on starter microorganisms and yogurt quality. *International Dairy Journal*. 11:547-551.
59. Pomeranz Y. 1991. *Functional Properties of Food Components*. 2ª edición. Academic Press, Inc. San Diego, CA. USA.
60. Purkayasta A S., Peleg M., Jonson E. A. y Normand M. D. 1985. A computer aided characterization of the compressive creep behavior of potato and Cheddar cheese. *J Food Sci.* 50: 45-55.
61. Rael S. 2000. Artificial sweeteners – What's out there? EHPP Nutrition Newsletter 1st. Disponible en: <http://www.unn.edu/ehpp/Listserve3.htm>. Consultado el: 25/02/ 2002.

62. Ramaswamy, H.S. y Basak, S. 1992. Pectin and raspberry concentrate effects on the rheology of stirred commercial yoghurt. *J. Food Sci.*, 57(2): 357-360.
63. Ranken M. D. 1988. *Manual de Industrias de los Alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
64. Rolin, C. 1993. Pectin. En *Industrial Gums Polysaccharides and their Derivatives* R.L. Whistler and J.N. BeMiller Eds. Third edition. Academic Press, Inc. San Diego, CA. pp: 257-293.
65. Rosano H. L. 1997. Stability of W1/O/W2 multiple emulsion influence of ripening and interfacial interactions. *Colloids and Surfaces A*. 138:109-121
66. Rosenthal J. A. 2001 *Textura de los alimentos medida y percepción*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
67. Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, E.J. 2004. Microstructure and texture of yogur as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14: 151-159.
68. Sandoval-Castilla, O. 2006. Acción de emulsiones múltiples en la microestructura, propiedades mecánicas y funcionalidad de queso fresco. Tesis de maestría en Biotecnología Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México D. F.
69. Sherman, P. 1968. General Properties of emulsions and their constituents. En P. Sherman (Ed). *Emulsion Science*. Londres, Inglaterra. Academic Press. pp 332-333
70. Sivieri K y Oliveira M N. 2002. Avaliação da validade- prateleira de bebidas lácteas preparadas com 'fat replacers' (Litesse e Dairy-LoTM). *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 22: 24-31.
71. Soto Alicia Ester y Del Val Susana. 2002. Extracción de los principios edulcorantes de la stevia rebaudiana. *Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos* 20: 5-9

72. Steffe J. 1996. *Rheological Methods in Food Process Engineering*. 2ª Edición. Freeman Press. MI, USA.
73. Steventon, A.J., Parkinson, C.J., Fryer, P.J. y Bottomley, R.C. 1991. *The rheology of yoghurt*. In *Rheology of Food, Pharmaceutical and Biological Materials with General Rheology*, ed. E. Carter, Elsevier Applied Science, Barking. USA. pp 196-210.
74. Tabilo-Munizaga, G. y Barbosa-Cánovas, V. 2005. Rheology for the food industry. *Journal of food Engineering* 67:147-156.
75. Tamime A Y, Barclay M N I, Davies G y Barrantes E. 1994. Production of low-calorie yogurt using skim milk powder and fat substitute. 1. A review. *Milchwissenschaft* 49: 85–88.
76. Tanford C. 1980. In *"The hydrophobic effect", Formation of micelles and biological membranes*. 2nd ed. John Wiley & Sons. New York, NY. pp 30-41.
77. Wagner J. R. y Daciw M. G. 2002. *Stevia rebaudiana bertonii*, Kaá-heé. *Ciencia y Tecnología*. 52-64
78. Windhab, E. 1991. Caratterizzazione reologica e strutturale di prodotti alimentari dispersi. *I quaderni dell'Istituto Lattiero Caseario di Thiene*, 30, Thiene Italy. 95: 1-19
79. Wittig de Penna E. 1981. "Evaluación Sensorial, una metodología que mide calidad. II. Evaluación de calidad mediante el test de valoración con escala de Karlsruhe". *Alimentos*; 6(1): 25-31
80. Yasusada Q. Y Shinji U. 2003. ¿En qué consiste el "Método de cultivo usando la Stevia?": Presentación del "Método de cultivo usando la Stevia" Asunción-Paraguay. JAPÓN Asistencia oficial para el Desarrollo. Marzo