UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa



Casa abierta al tiempo

MICROESTRUCTURA, PROPIEDADES REOLÓGICAS Y TERMOFÍSICAS EN YOGURT BAJO EN GRASA, INCORPORANDO FASES CRISTALINAS DE LÍQUIDOS

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN BIOTECNOLOGÍA
P R E S E N T A
ELEAZAR AGUIRRE MANDUJANO

Codirector Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter
Codirector Dra. Consuelo Silvia Olivia Lobato Calleros

México, D.F. **Febrero de 2009**

El Posgrado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana
esta incluido en el Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y
además cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el convenio
471-01/Doctorado en Biotecnología

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la

Unidad Iztapalapa aprobó la tesis

MICROESTRUCTURA, PROPIEDADES REOLÓGICAS Y TERMOFÍSICAS EN YOGURT BAJO EN GRASA, INCORPORANDO FASES CRISTALINAS DE LÍQUIDOS

Que presentó

ELEAZAR AGUIRRE MANDUJANO

El día 27 de febrero de 2009

Comité Tutorial

Codirector: **Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter**
Universidad Autónoma Metropolitana

Codirector: **Dra. Consuelo Silvia O. Lobato Calleros**
Universidad Autónoma Chapingo

Asesor: **Dr. Cesar I. Beristain Guevara**
Universidad Veracruzana

Comité de evaluación:

Presidente: Dra. Elsa Bósquez Molina

Secretario: Dra. María Eva Rodríguez Huezo

Vocal: Dr. César Pérez Alonso

Vocal: Dr. Juan Orozco Villafuerte

Este trabajo esta dedicado de manera especial a mis hijos Eleazar, Sandra Luz, Erandy y Juan Carlos, a mis padres Ciro y Josefa y a todas las personas cercanas que me alentaron y confiaron en la terminación de este proyecto.

RECONOCIMIENTOS

Mi Agradecimiento más sincero:

Al Dr. Jaime Vernon Carter por la valiosa dirección, paciencia en el desarrollo de este proyecto y por sus excelentes contribuciones.

Al Dr. Cesar I. Beristaín Guevara por dirigir y supervisar todo lo referente a las pruebas de calorimetría diferencial de barrido.

A la Dra. Consuelo S.O. Lobato Calleros por su apoyo, comprensión y asesoría que me proporcionó para la culminación de este proyecto.

A la Dra. Elsa Bósquez Molina, por la revisión del documento y aportaciones que enriquecieron este trabajo.

A la Dra. María Eva Rodríguez Huezo, por su interés, sugerencias y la revisión del documento.

Al Dr. César Pérez Alonso, por su interés, sugerencias y la revisión del documento.

Al Dr. *Juan Orozco Villafuerte*, por su interés, sugerencias y la revisión del documento.

A la Biol. Yolanda Hornelas de Uribe por su asesoría en la determinación y el análisis de microscopía electrónica.

A Ofelia Sandoval Castilla por su apoyo en la realización de la investigación.

A mis hermanos Rubén, José, Yolanda y Angélica y sus familias por su apoyo, cariño e interés.

A la Universidad Autónoma Metropolitana por permitirme formar parte del programa de doctorado en biotecnología.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al área de química por el apoyo que me otorgaron para realizar los estudios de doctorado

Al CONACYT, por el financiamiento parcial de este proyecto, a través del convenio U-81157 Z, “Acomplejamiento-desacomplejamiento intermolecular de compuestos fenólicos lipo e hidrofílicos, incorporados en emulsiones dobles estabilizadas con biopolímeros para minimizar su degradación y maximizar sus propiedades.

Al CONACyT, por facilitarme la beca que permitió realizar estos estudios.

A SUPERA, por la beca proporcionada para la terminación de los estudios.

INDICE

	Página
Índice	I
Índice de figuras	III
Índice de tablas	V
Resumen	VI
Abstract	VIII
3. Introducción	1
4. Antecedentes	3
Monoglicéridos	6
Polimorfismo de monoglicéridos	12
2.3 Estado cristalino de monoglicéridos	14
2.4 Fase lamelar de monoglicéridos	14
2.5 Fase alfa-gel de monoglicéridos	17
2.6 Fase beta o coagel de monoglicéridos	20
2.7 Fases cristalinas como agentes estabilizantes y estructurantes	21
2.8 Calorimetría Diferencial de Barrido	23
3. Justificación	26
4. Objetivos	29
4.1 Objetivo general	29
4.2 Objetivos particulares	29
5 Hipótesis	30
6. Materiales y métodos	30
6.1. Materiales	30
6.2 Preparación de geles de monoglicéridos	30
6.3. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) de geles de MG	31

6.4 Tratamientos de yogurt 32
6.5 Elaboración de yogurt 32
6.6. Análisis químicos 33
6.7. Sinéresis de yogurt 33
6.8. Mediciones reológicas dinámicas 33
6.9. Microestructura del yogurt 34
6.10. Análisis estadístico 35
7. Resultados y discusión 36
7.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) 36
7.2. Composición química y sinéresis del yogurt 38
7.3. Microestructura del yogurt 40
7.4. Propiedades viscoelásticas del yogurt 45
8. Conclusiones 49
9. Referencias 50

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción de glicerólisis para la producción de mono-diglicéridos 8

Figura 2. Representación de las estructuras moleculares de monoglicéridos 13

Fig. 3. Estructura de DATEM. Ester del ácido diacetil tartárico de monoglicérido 16

Fig. 4. Proyecciones de Newman de las conformaciones de la cadena hidrocarbonada de monoglicéridos debidas a la rotación de enlaces C-C 18

Figura 5. Estructura tridimensional de la mesofase lamelar 19

Figura 6. Representación esquemática de los procesos moleculares que ocurren durante las transiciones de fases líquido cristalinas en T_{Krafft} 22

Figura 7. Termograma de gel de monopalmitina-monoestearina (en relación 0.30:0.65) ($MG_{0.3MP,0.65MS}$), sujeto a régimen de calentamiento y enfriamiento 32

Figura 8. Micrografías de SEM de yogurt control completo en grasa (Y_{100}) y Yogurt control bajo en grasa (Y_{50}) 37

Figura 9. Micrografías SEM de: (a) Yogurt $Y_{0.1MP,0.87MS}$ elaborado con gel de monopalmitina- monoestearina (en relación 0.1:0.87) ($MG_{0.1MP,0.87MS}$); (b) Yogurt $Y_{0.3MP,0.65MS}$ elaborado con el gel de monopalmitina-monoestearina (en relación 0.3:0.65) ($MG_{0.3MP,0.65MS}$) y (c) Yogurt $Y_{0.43MP,0.50MS}$ elaborado con el gel de monopalmitina-monoestearina (en relación 0.43:0.50) ($MG_{0.43MP,0.50MS}$) 38

Figura. 10. Variación de: (a) Módulo de almacenamiento (G'); (b) Módulo de pérdida (G''), y (c) Tangente de pérdida (tan δ) de los diferentes tratamientos de yogurt como una función de la frecuencia 41

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de equilibrio de la reacción de glicerólisis 10

Tabla 2. Composición de mono-diglicéridos y monoglicéridos destilados 11

Tabla 2. Datos térmicos DSC de transiciones de monoglicéridos 39

Tabla 3. Composición química y sinéresis de tratamientos de yogurt 41

RESUMEN

El mercado de alimentos reducidos en calorías o bajos en grasa ha estado creciendo de manera importante en Europa y Norteamérica, la demanda de estos alimentos por parte de los consumidores ha favorecidos el desarrollo y la comercialización de productos tales el yogurt. Sin embargo, debido a que la textura del yogur es extremadamente frágil, modificaciones en su contenido graso provoca alteraciones en su microestructura y en sus propiedades mecánicas y sensoriales. Con la finalidad de evitar la pérdida de las propiedades mecánicas del yogur, últimamente se ha promovido la incorporación de monoglicéridos, moléculas de bajo peso molecular, que presentan un comportamiento polimórfico en ambientes acuosos y promuevan la formación de estructuras en alimentos bajos en grasa. Se ha estudiado su aplicación en alimentos untables, estabilizando emulsiones aceite-agua, estabilizando espumas, pero no hay estudios relacionados con la elaboración de yogurt bajo en grasa adicionado con fases líquido-cristalinas. Por lo anterior, en el presente trabajo se elaboraron yogures bajos en grasa adicionados con mezclas de monoglicéridos en su fase cristalina fase α-gel, se determinaron los cambios en su microestructura y propiedades reológicas y se compararon con el yogur completo en grasa.

Se prepararon tres geles de monoglicéridos conteniendo 5 g de mezclas de monopalmitina/monoestearina en proporciones de 0.10:0.87, 0.30:0.65 y 0.43:0.50, además de 0.05 g de cosurfactante aniónico en 100 mL de agua. Los resultados de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) indicaron que cuando los tres geles fueron enfriados por debajo de la temperatura Krafft (T_{krafft}), cada uno de ellos se encontró predominantemente en la fase α-gel y posteriormente fueron utilizados, bajo estas condiciones, en la elaboración de tres tratamientos de yogurt bajos en grasa ($Y_{0.1MP,0.87MS}$, $Y_{0.3MP,0.65MS}$, y $Y_{0.43MP,0.50MS}$). Las micrografías electrónicas de barrido mostraron que las estructuras de $Y_{0.1MP,0.87MS}$ y $Y_{0.3MP,0.65MS}$ estuvieron caracterizadas por agregados de micelas de caseína, con los geles de MG adheridos a su superficie

y comparativamente presentaron huecos más pequeños que los que presentó el yogurt control completo en grasa (Y_{100}). Los tratamientos $Y_{0.1MP,0.87MS}$ y $Y_{0.3MP,0.65MS}$ exhibieron parámetros viscoelásticos más grandes durante todo el barrido de frecuencia experimental que Y_{100}, $Y_{0.43MP,0.50MS}$ y que el yogurt control bajo en grasa (Y_{50}).

ABSTRACT

The market for foods low in calories and low in fat has been growing significantly in Europe and North America, demand for these foods by consumers has favored the development and commercialization of products such yogurt. However, because the texture of yogurt is extremely fragile, changes in fat content leads to changes in microstructure, mechanical and sensory properties. To avoid the loss of the mechanical properties of the yogurt, recently was promoted incorporation of monoglycerides, low molecular weight molecules that have a polymorphic behavior in aqueous environments and promote the formation of structures in low-fat. It considered its application in food spreads, stabilizing oil-water emulsions and foams stabilized, but no studies related to the development of low-fat yogurt in addition to liquid-crystalline phases. Therefore, in this study were prepared low-fat yogurts with added mixtures of monoglycerides in its crystalline α-gel phase, identified changes in the microstructure and rheological properties and compared with full-fat yogurt.

Three monoglyceride gels (MG gels) made up by 5 g of monopalmitin/monostearin blends in ratios of 0.10:0.87, 0.30:0.65 and 0.43:0.50, and 0.05 g of an anionic co surfactant per 100 mL of water were prepared. Differential Scanning Calorimetry (DSC) results indicated that when cooled below the Krafft temperature (T_{krafft}) the three MG gels were predominantly in the a-gel phase, and were used under this condition to prepare three low-fat yogurt variations ($Y_{0.1MP,0.87MS}$, $Y_{0.3MP,0.65MS}$, and $Y_{0.43MP,0.50MS}$). Scanning electron micrographs showed that $Y_{0.1MP,0.87MS}$ and $Y_{0.3MP,0.65MS}$ structure was characterized by aggregated fused casein micelles, which had attached to their surface MG gels, with comparatively smaller interspaced voids than those showed by the control full-fat yogurt (Y_{100}). $Y_{0.1MP,0.87MS}$ and $Y_{0.3MP,0.65MS}$ exhibited higher viscoelastic parameters over the whole frequency experimental sweep than Y_{100}, $Y_{0.43MP,0.50MS}$, and low-fat control yogurt (Y_{50}).

1. INTRODUCCIÓN

Los yogures bajos en grasa y sin grasa son cada vez más populares debido a sus características potencialmente nutricionales y terapéuticas. El yogurt es esencialmente un gel compuesto en el cual las proteínas del suero desnaturalizadas actúan como relleno o aglutinantes con una matriz de caseína, en la que los glóbulos de grasa se incorporan dentro de la estructura final. La composición particular y el arreglo estructural del yogurt son los responsables de la agradable sensación que presenta al comerlo, siendo su firmeza y cremosidad algunos de los atributos sensoriales percibidos por los consumidores. Las reducciones en el contenido de grasa del yogurt alteran sus características mecánico-sensoriales debido al proceso de estructuración del yogurt completo en grasa que implica la interacción de los glóbulos de grasa con la red de proteína, actuando como agentes enlazantes de proteína. La reducción de los sólidos de grasa en el yogurt esta asociada con una pobre textura, donde comúnmente la grasa removida es sustituida por leche en polvo descremada, caseinato de sodio o concentrados de proteína de suero.

Así, los yogures bajos en grasa pueden ser producidos sustituyendo parcialmente el contenido de grasa de la leche con productos de bajo contenido calórico, conocidos como sustitutos de grasa. Una interesante y simple alternativa para la formulación de yogures reducidos en grasa es mediante la creación de bloques físicos (elementos estructurales), dentro de la fase continua que permitan sustituir la funcionalidad de la grasa láctea removida. Pequeñas moléculas de surfactantes solubles en agua, tales como los monoglicéridos y los fosfolípidos forman coloides de asociación en agua, dando lugar a diferentes estructuras. Una gran variedad de fases mesomórficas pueden ser formadas, de acuerdo a la estructura química del surfactante, temperatura, contenido de agua y otras variables. Una importante característica es la temperatura en la cual la solubilidad aparente del surfactante se incrementa marcadamente, llamada el punto Krafft (T_{krafft}). Por arriba de esta temperatura la puede ocurrir la formación de micelas. Por debajo de $T_{krafft,}$ se puede formar un gel

denominado fase α-gel, el cual tiene una muy baja solubilidad en agua, no está en equilibrio termodinámico y tiende a cambiar en una dispersión de cristales en agua. Este cambio puede ser bastante lento si el surfactante no es puro, prácticamente todas las formulaciones técnicas se presentan como una mezcla. Estas fases consisten de bicapas de lípidos de moléculas de emulsificante con cadenas hidrocarbonadas cristalinas, separadas por delgadas capas de agua.

Cuando estos surfactantes son capaces de formar α-geles metaestables, se añaden a diferentes productos debido a que promueven la formación de una amplia estructura. Además, la interacción de monoglicéridos con las proteínas de la leche juega un papel muy importante en la organización estructural y funcionalidad de estos sistemas. Las transiciones térmicas de estas fases liquido-cristalinas, por si solas o cuando se adicionan a productos alimenticios, pueden ser estudiadas por técnicas de calorimetría diferencial de barrido (DSC), a partir de las cuales se obtiene un gran conocimiento de su influencia en las propiedades funcionales que imparten a estos sistemas.

2. ANTECEDENTES

El mercado de alimentos reducidos en calorías o bajos en grasa ha estado creciendo de manera importante en Europa y Norteamérica; la demanda de estos alimentos por parte de los consumidores ha favorecido el desarrollo y la comercialización de productos tales como leches descremadas, yogurt y queso cottage, aderezos, y bebidas lácteas de reducido contenido graso, entre otras (Tamime *et al.* 1995). El comportamiento de los consumidores antes mencionado se debe a la búsqueda de una alimentación más saludable, que les permita reducir los riesgos al padecimiento de ciertas enfermedades y el mantenimiento de un peso corporal adecuado. Especial atención han recibido los derivados lácteos, debido a que la grasa butírica contiene cantidades relativamente elevadas de ácidos grasos saturados y de colesterol (Robles *et al*. 1997).

Uno de los derivados lácteos que en la actualidad ha tenido una aceptación importante es el yogurt, debido a los beneficios que aporta a la salud y por su fácil forma de preparación. Se ha informado que el yogurt proporciona beneficios a la salud, a través de la reducción de los síntomas de intolerancia a la lactosa, constituye una fuente importante de calcio, muestra actividad anticarcinogénica y proporciona beneficios en el tracto intestinal al incrementar su flora microbiana, entre otros. Con base en lo antes mencionado, el yogurt además de ser considerado como un alimento nutritivo, es reconocido como un alimento funcional (Díaz-Jiménez *et al*. 2004; Sandoval-Castilla *et al*. 2004).

El yogurt es producido por fermentación de la leche mediante la acción de bacterias ácido-lácticas termófilas homofermentativas (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*) que crecen simbióticamente; la producción

de ácido láctico causa que el pH del sistema disminuya progresivamente, lo cual a su vez provoca que las micelas de caseína se desintegren en pequeñas unidades que se agregan como un coprecipitado, formando pequeños filamentos o cadenas de proteína (Mottar *et al*. 1989). La desestabilización de la caseína cerca de su punto isoeléctrico origina su floculación en la forma de geles ácidos (van Vliet e*t al*. 1989), cuyas estructuras más o menos rígidas, están formadas normalmente por cadenas de moléculas poliméricas que se entrecruzan formando redes o matrices tridimensionales que tienen la capacidad de atrapar agua, grasa, otros lípidos, azúcares, sabores y otros ingredientes (Parnell-Clunies *et al*. 1988; Rohm y Kovac 1994). Además de los agregados de caseína, las proteínas del suero y los glóbulos de grasa actúan como relleno e interactúan con la matriz de proteína a través de enlaces cruzados reforzando la red (Xu *et al.* 2008). La estructura de gel del yogurt es responsable de sus propiedades funcionales, su textura es extremadamente frágil, especialmente durante la fermentación; modificaciones en la composición de la leche, modifican la estructura original del gel, tanto física como químicamente, por lo que sus propiedades mecánicas también se modifican (Tamime *et al*. 1995).

La grasa emulsionada afecta marcadamente el proceso de gelificación y las propiedades de los geles del yogurt, debido a su participación en la formación de una red de proteína con capacidad de retención de agua y disminución consecuente de sinéresis en el producto. Aguilera y Kinsella (1991) establecieron que los glóbulos de grasa son envueltos por la proteína e interactúan con las partículas de caseína en el gel para formar una matriz entrecruzada. En estudios de microscopía electrónica de geles lácteos con y sin grasa Xiong *et al*. (1991) reportaron que aquellos geles que no contenían glóbulos de grasa presentaron un número menor de enlaces entrecruzados por unidad de área en comparación con aquellos observados en yogures completos en grasa. Adicionalmente, los geles libres de grasa fueron menos capaces de retener la humedad que los que contenían grasa.

Es importante señalar que la grasa sin embargo, juega un papel importante en la modificación de las propiedades de los alimentos, incluyendo sensación bucal, apariencia (brillo, color, opacidad), estructura (textura, consistencia, perfil de fundido) transferencia de calor, y efectos no sensoriales (saciedad), además de ser un precursor importante de los sabores, transportador de aromas y modulador de sabores.

No obstante, en los últimos años se ha generado preocupación por las cantidades de grasa consumidas por la población. En la dieta típica de personas de algunos países desarrollados, el 41% de las calorías provienen de la grasa, lo cual ha sido relacionado con desórdenes alimenticios y de salud. Una dieta incluyendo alimentos ricos en grasa es inapropiada y genera anomalías metabólicas y varias enfermedades, como la ateroesclerosis y la trombosis (Corral y Lobato, 1993).

En la actualidad el interés sobre una buena nutrición va en aumento, fomentado por las campañas de orientación alimentaria y nutrimental que desarrolla el gobierno a través de la Comisión Nacional de Alimentación y organismos coordinados. Los expertos en salud recomiendan que solamente el 30% o menos de las calorías diarias deben provenir de grasas; sin embargo, la mayoría de los consumidores encuentra difícil renunciar a aquellos alimentos ricos en grasa de origen animal, como los derivados lácteos, entre los que se encuentra el yogurt (Brauss *et al*. 1999). Esta situación ha dado origen al desarrollo de diversos tipos de alimentos bajos en calorías y grasa, entre los que también se encuentran productos sustitutos de yogurt.

El contenido de grasa del yogurt, usualmente de 0.5-3.5%, provee la percepción de cremosidad y sensación bucal. La naturaleza del material de la membrana de los glóbulos determina los tipos de interacción que pueden ocurrir entre los glóbulos de grasa y la matriz de proteína. Los glóbulos de grasa actúan como un relleno inerte cuando la membrana del glóbulo nativo está intacta, ya que interactúan con las

partículas de caseína. (Lucey *et al*. 1998). La disminución del contenido graso de la leche utilizada en la elaboración del yogurt, permite obtener productos con menor densidad energética y contenidos más bajos de ácidos grasos saturados y de colesterol, en comparación con su contraparte completa en grasa. Sin embargo, también se modifican la estructura, viscosidad, cremosidad, sensación bucal, la formación y percepción de sabor y aroma en el yogurt (Cayot *et al*. 2008). La reducción de grasa de manera indiscriminada en el yogurt, provocará alteraciones en sus características sensoriales, composición y arreglo interno de sus componentes o microestructura (Modler y Kalab 1983; Akalin *et al*. 2008). Dichas alteraciones afectan a su vez la aceptación, la calidad y el valor comercial del producto.

Para contrarrestar los efectos adversos de la disminución de la grasa sobre los derivados lácteos, se ha recomendado la sustitución de la grasa por ingredientes bajos en calorías, los cuales tienen propiedades similares a la grasa y son conocidos como sustitutos de grasa. Actualmente este tipo de ingredientes son utilizados de manera común en la industria de los alimentos. Se ha informado que los sustitutos de grasa actúan como componentes funcionales de los sistemas alimenticios, permitiendo simular las propiedades físicas de la grasa y confieren las características sensoriales deseadas en el alimento.

2.1 Monoglicéridos

Actualmente se dispone de un gran número de emulsificantes, basados en componentes de grasas y aceites comestibles, con numerosas aplicaciones en alimentos. Aproximadamente 500 000 toneladas de emulsificantes son producidos anualmente en el mundo. Los emulsificantes tienen la habilidad para estabilizar las emulsiones, favorecen las interacciones interfaciales entre todos los componentes

del alimento y cumplen muchos otras funciones dentro de los alimentos, como son: espumantes, antiespumantes, encapsulantes. Los mono y diglicéridos son probablemente los emulsificantes sintéticos de grado alimenticio más comúnmente utilizados (Golding y Sein 2004).

Los monoglicéridos son obtenidos por interesterificación o glicerólisis a temperaturas de entre 180-200°C, en ambientes alcalinos. La glicerólisis es la reacción de la grasa o aceite con glicerol en presencia de catalizadores inorgánicos (metóxido de sodio, NaOH, acetatos y estearatos de calcio y magnesio, entre otros), en esta reacción se lleva a cabo la transesterificación de una cadena acílica del triglicérido a una molécula de glicerol. A partir de ella se obtienen diversos productos tales como: 1,2 y 1,3 diglicéridos; 1-monoglicéridos; 2-monoglicéridos y glicerol (Figura 1) (Krog 1997).

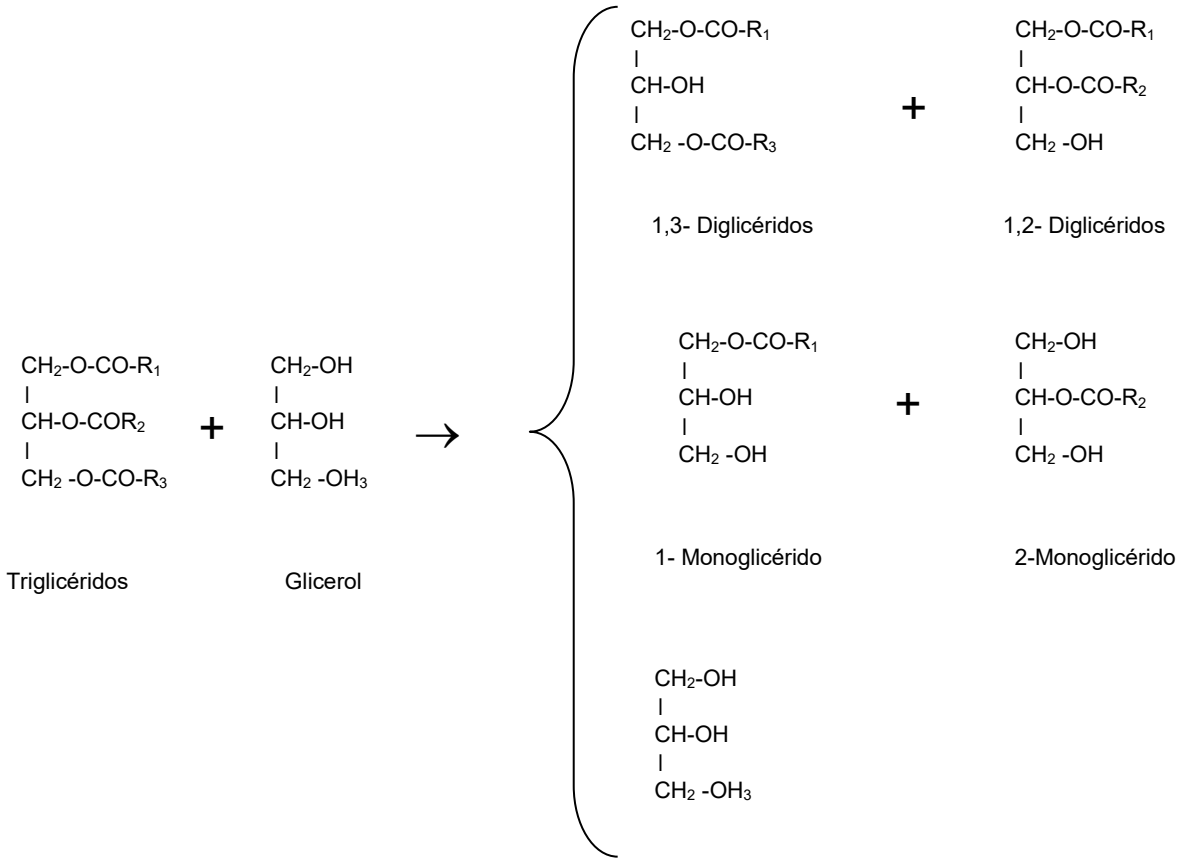


Fig. 1. Reacción de glicerólisis para la producción de mono-diglicéridos

La composición de equilibrio de la reacción de glicerólisis de cada uno de los productos se presenta en la tabla 1.

Debido a la alta cantidad de diglicéridos producidos, el producto impuro se le denomina “mono-diglicéridos”.

Los 1-monoglicéridos comerciales se obtienen por destilación de la mezcla, obteniendo un producto más puro cuyo contenido de monoglicéridos es mayor del 95% (Boyle 1997). Este producto final se le conoce como monoglicéridos destilados y su composición se muestra en la tabla 2.

En ambientes acuosos la mayoría de los emulsificantes, incluyendo los monoglicéridos, tienden a agregarse en micelas a una concentración crítica o a precipitar como cristales líquidos; la agregación es conducida principalmente por la presencia de las partes hidrofóbicas de las moléculas. El tipo de agregados formados durante la adsorción en las interfaces de los sistemas donde interactúan reflejará el balance entre la parte polar y la parte hidrofóbica del emulsificante.

Estos ingredientes en agua se presentan en diferentes fases polimórficas, algunas de las cuales se presentan como fases líquido-cristalinas y tienen una gran aplicación dentro de la industria de alimentos, sobre todo en aquellos productos basados en emulsiones. Por lo general son utilizados como estabilizadores, interactuando en la interfase con los grupos polares de la fase lipídica y la acuosa, ayudando a la estabilidad, promoviendo las propiedades reológicas en alimentos, en la formación y estabilización de microcápsulas en cosméticos y para propósitos médicos y farmacéuticos; Los sistemas líquido-cristalinos juegan un papel importante en la estructuración de los sistemas alimenticios y como sustitutos de grasa, presentan una gran flexibilidad funcional, lo que les permite utilizarlos en la elaboración de productos con una gran diversidad de propiedades específicas (Heertje *et al*. 1998).

Tabla 1. Composición de equilibrio de la reacción de glicerólisis

Cantidad de glicerol adicionada al triglicérido (% p/p)	Mezcla de equilibrio		
	Triglicéridos (%p/p)	Diglicéridos (%p/p)	Monoglicéridos (%p/p)
0	100	-	-
7	35	50	15
14	15	45	40
16	11	43	46
20	8	39	53
24	5	35	60

Fuente: Krog, 1997.

Tabla 2. Composición de monoglicéridos destilados

Glicérido	Monoglicéridos destilados (%)
1-Monoglicérido	80.4- 90.0
2-Monoglicérido	4.7-17
Diglicérido	3.6
Triglicérido	0.7
Ácido graso libre	0.5

Fuente: Boyle 1997

Los procesos de estructuración de sistemas alimenticios se llevan a cabo debido a la cristalización de los monoglicéridos en agua a partir de un estado lamelar líquido-cristalino, que se transforma en una fase α-gel hasta otra denominada fase β-cristalina o coagel, en la cual las moléculas de monoglicérido tienen una forma de placa de β-cristales en agua. (Sein *et al*. 2002).

2.2 Polimorfismo de monoglicéridos

Los monoglicéridos en agua presentan la habilidad de absorber agua y asumir estructuras moleculares únicas a diferentes temperaturas y contenidos de agua, llamadas mesofases. Estas estructuras generalmente son estudiadas en diagramas de fase de temperatura-composición (Ojijo *et al.* 2004). La formación y las propiedades de las mesofases dependen de la concentración de monoglicérido, temperatura, agitación y cantidad de agua. Estas moléculas pueden existir en seis mesofases diferentes: cristales, fluido isotrópico, lamelar, gel, cúbico y hexagonal (Boyle 1997; Krog 1997). Algunas de ellas como la fase lamelar, la fase α-gel y la β o coagel son fases líquido cristalinas y presentan propiedades que han sido aprovechadas en muchos alimentos.

El proceso de gelificación de los monoglicéridos depende fuertemente de las transiciones moleculares que se llevan a cabo a partir de la fase líquido-cristalina lamelar a la fase α-gel y a la coagel (β-cristales en agua). Las orientaciones moleculares de los lípidos polares (incluyen a los monoglicéridos) en su estado cristalino y las fases liquido-cristalinas se muestran en la figura 2.

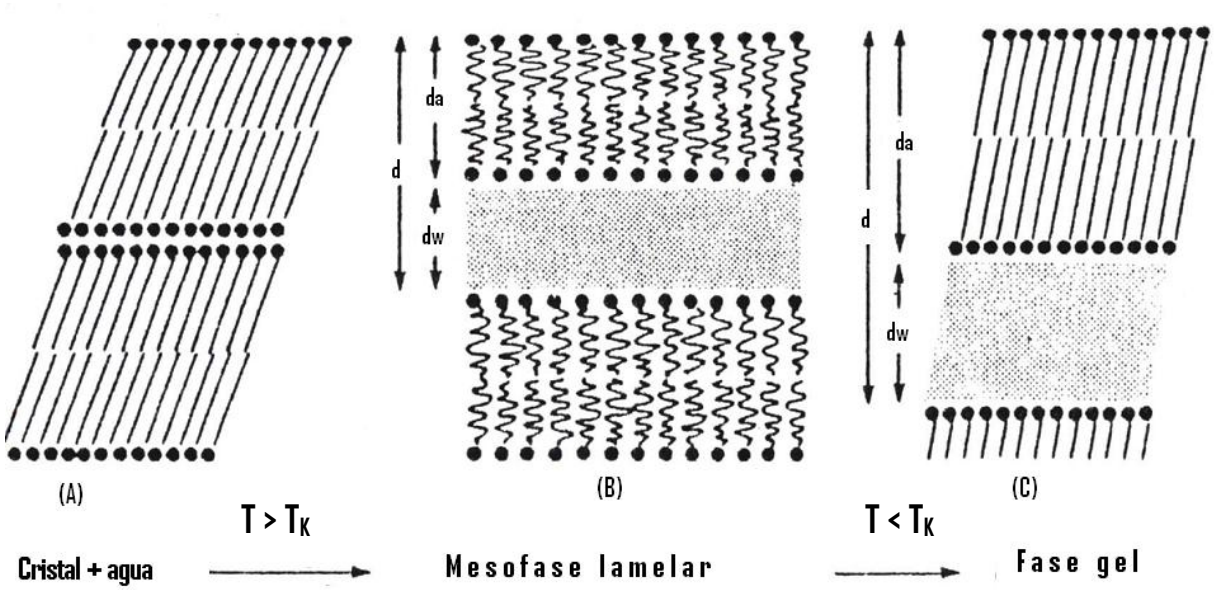


Figura 2. Representación de las estructuras moleculares de monoglicéridos (a) Monoglicérido en estado cristalino; (b) Mesofase lamelar en presencia de agua (c) Mesofase α-gel. T_K es la temperatura Krafft.
Fuente: Krog, 1997

2.3 Estado cristalino de monoglicéridos

Los monoglicéridos a temperatura ambiente se encuentran en una forma cristalina denominada fase beta. En esta fase cristalina los monoglicéridos se orientan en bicapas con sus grupos polares orientados “cabeza” con “cabeza”, separados por capas de cadenas hidrocarbonadas y empacadas en una doble cadena. Las moléculas de agua no están presentes entre las bicapas de lípido, las cuales están empacadas en una estructura rígida, debido a las interacciones de Van der Walls y los enlaces de hidrógeno intermolecular (Fig. 2). Estos enlaces unen a las moléculas de monoglicérido de manera lateral y entre las dos mitades de la bicapa, dando como resultados que la movilidad de las moléculas queda restringida tal como sucede en un cristal. (Chupin *et al*. 2001).

2.4 Fase lamelar de monoglicéridos

Cuando el monoglicérido en disolución se calienta hasta una temperatura cercana a los 40°C, se forma una fase lamelar, la cual es capaz de fijar una gran cantidad de agua. La fase lamelar en estas condiciones es una estructura plana donde las moléculas de monoglicérido se empacan en una bicapa, separadas por agua, generalmente es un fluido viscoso (Fig. 2 y 5). Las moléculas de monoglicérido se someten a muchas transiciones y tienen una alta movilidad lateral, presentando un estado desordenado y rotación axial (Sein *et al*. 2002). La absorción de agua entre las bicapas provoca hinchamiento, el cual es favorecido por la presencia de un cosurfactante que provoca repulsiones electrostáticas entre las capas. El hinchamiento de la fase lamelar puede variar de 10 hasta 20 Å en monoglicéridos puros y hasta varios cientos de Å en monoglicéridos destilados comerciales, los cuales contienen aproximadamente 95% de monoglicérido y pequeñas cantidades de

ácidos grasos ionizados. Con la adición de un cosurfactante aniónico, como el DATEM, ester del ácido diacetil tartárico de monoglicérido (Fig. 3), se incrementa la fijación de agua en las bicapas, debido al incremento de la repulsión electrostática de las partes ionizadas del lípido, hasta en varios cientos de Å. La adición de DATEM en estos sistemas también ayuda a disminuir la posibilidad de formar la fase cúbica (Krog 1997; Sein *et al.* 2002).

La fase cúbica puede formarse cuando se incrementa la temperatura o por la disminución del contenidos de agua en el sistema, Bos et al. (1997) establecieron que existen diferentes estructuras para la fase cúbica y dependen de la estructura del lípido. Una de ellas consiste en bicapas de lípidos con curvatura infinita con un arreglo parecido a canales interconectados, las cadenas acílicas se encuentran como un líquido fundido, en estado desordenado. La fase cúbica puede absorber hasta un 40% en peso de agua y se encuentra dispersa, formando lo que algunos autores le llaman “cubosomas” (Boyle 1997). La habilidad para atrapar agua ha permitido su uso como agente transportador de agua en productos farmacéuticos, en cosméticos y pastas dentales. Sin embargo, para la estructuración de alimentos bajos en grasa se utiliza preferentemente la fase líquido cristalina α-gel.

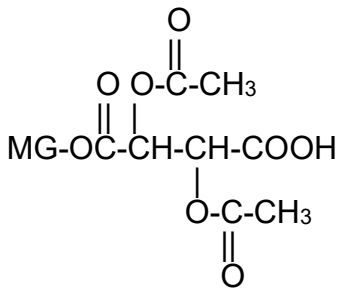


Fig. 3. Estructura de DATEM. Ester del ácido diacetil tartárico de monoglicérido

2.5 Fase alfa-gel de monoglicéridos

El gel es un estado cristalino del emulsificante, conteniendo capas de agua entre los grupos polares, la estructura es similar a la lamelar, pero las cadenas hidrocarbonadas del monoglicérido están en estado sólido y se orientan de manera paralela unas con otras en un empacamiento de tipo α-cristalino. Las cadenas se inclinan en un ángulo de 54° con respecto a la capa de agua en el gel y las cadenas presentan rotación libre (Fig. 5). Moléculas amfifílicas, como los monoglicéridos pueden presentar diferentes estados de ordenamiento, los cuales dependen de la conformación de las cadenas hidrocarbonadas. Si se modifica la temperatura, el movimiento de las cadenas también cambia y se pueden presentar giros en sus átomos de carbono centrales, provocando muchas transiciones de tipo gauche-trans (Fig. 4). En la conformación trans los radicales terminales de la cadena se encuentran más separados entre sí, provocando que la cadena se encuentre extendida al máximo, mientras que en la conformación gauche la cadena se tuerce y el ordenamiento es modificado. Cuando la fase lamelar es enfriada por debajo de la temperatura Krafft, se forma la fase cristalina α-gel, la movilidad de las cadenas es disminuida drásticamente y las transiciones gauche-trans son también minimizadas. Las moléculas se alinean de una manera trans en un empacamiento tipo α-cristalino (Sein et al. 2002).

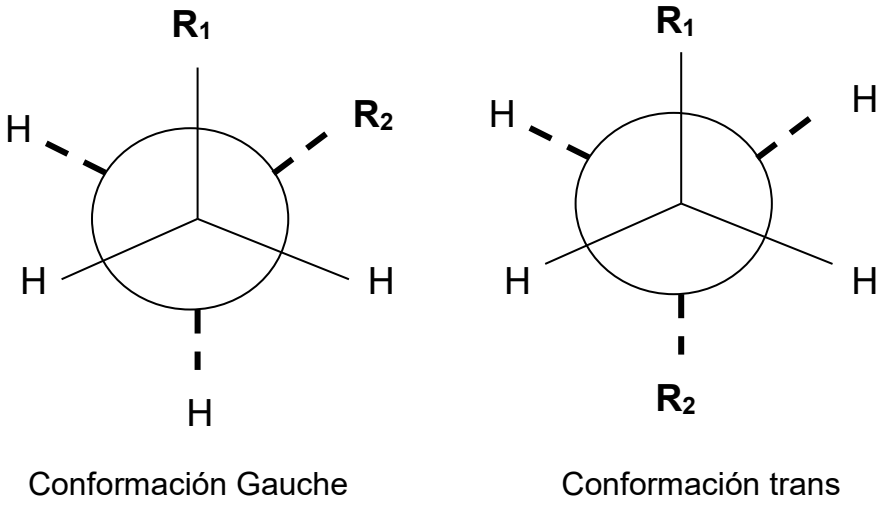


Fig. 4. Proyecciones de Newman de las conformaciones de la cadena hidrocarbonada de monoglicéridos debidas a la rotación de enlaces C-C.

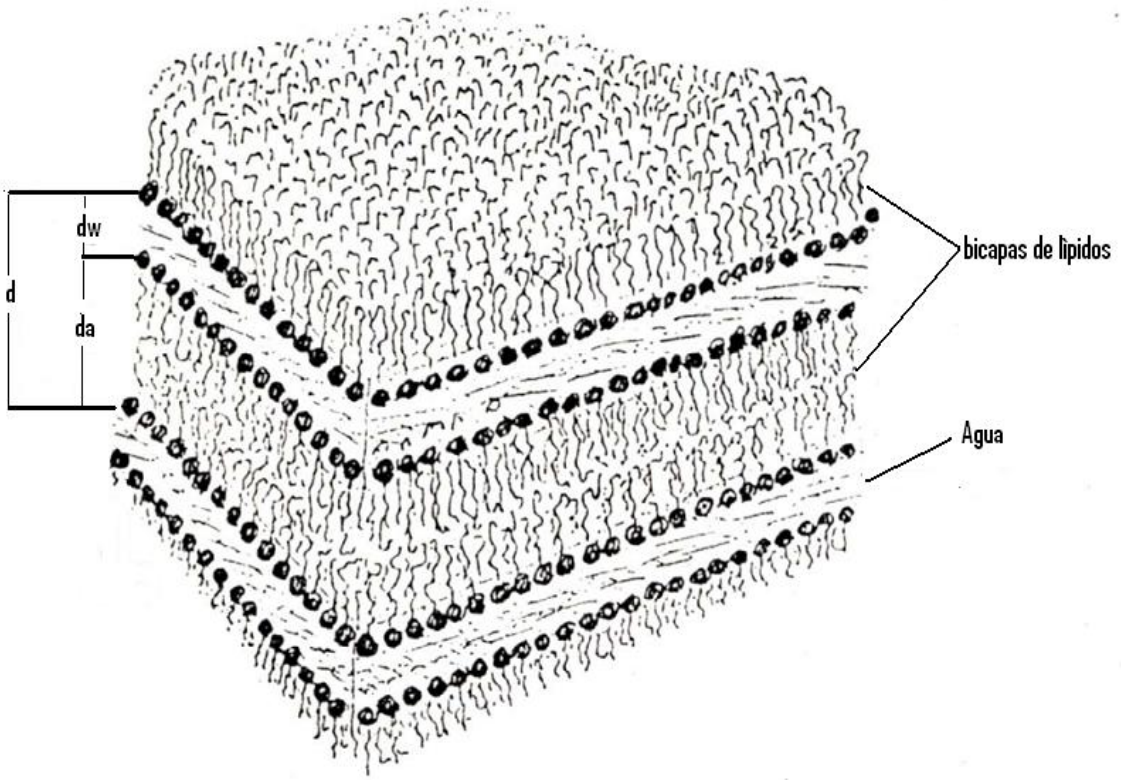


Fig 5. Estructura tridimensional de la mesofase lamelar. D, d_w y d_a son parámetros estructurales medidos por análisis de difracción de Rayos X.
Fuente: Krog, 1997)

En estas condiciones las moléculas se alinean de manera tal que permiten que las interacciones de van der Walls de las cadenas hidrocarbonadas sean máximas y se consiga el empacamiento tipo α-cristalino mencionado, pero se mantienen las bicapas individuales en un α-gel hinchado, con una gran capa de agua entre las moléculas de monoglicérido. Para los monoglicéridos que no presentan polimorfismo la fase α-cristalina formada es muy estable, tal es el caso de los lactilatos de estearoil de sodio, monoestearatos de tetraglicerol, polisorbatos y DATEM. La estabilidad de la estructura gel del monoglicérido o de otros emulsificantes en sistemas acuosos es un factor importante en las propiedades funcionales de los emulsificantes, cuando estos geles son utilizados como agentes estabilizantes de espumas (Krog 1997).

2.6 Fase beta o coagel de monoglicéridos

Finalmente, la fase α es termodinámicamente inestable por lo que de manera lenta se convierte en la fase β-cristalina. El agua que se encuentra entre las bicapas de monoglicéridos es expulsada y se forma una suspensión de cristales y agua denominada coagel. La formación del coagel conlleva la transformación de la estructura cristalina de cristales α a una forma β, los cuales forman una red estable donde las moléculas se ordenan con las cabezas polares dirigidas hacia el exterior de los cristales (Bergenstahl 1997; Heertje ***et al.*** 1998). Las moléculas de los emulsificantes en su forma anhidra, generalmente se ordenan en la forma α-cristalina, mientras que con la presencia de agua, se ordenan en la fase β-cristalina (Krog 1997). La temperatura de la transición gel-coagel depende de la historia térmica de la muestra. La transición ocurre a 25-30°C si la muestra es recalentada inmediatamente después de la formación del coagel, pero si la muestra se almacena

durante varias semanas a 4 °C la temperatura de transición se incrementa hasta 45 °C. Por otro lado, a temperaturas bajas y con altos contenidos de humedad la transformación de fase α-gel a coagel ocurre extremadamente lenta (Chupin *et al*. 2001). La estabilidad de los geles de monoglicéridos en su fase α-gel depende de su composición, los monoglicéridos con cadenas de ácidos grasos con C_{16} – C_{20} son más estables en la forma gel que aquellos MG con longitudes de cadena más corta. En la figura 6 se presentan las transiciones de fase de los monoglicéridos, en ella se hace énfasis en la temperatura de transición T_{Krafft}.

2.7 Fases cristalinas como agentes estabilizantes y estructurantes

El uso de las fases liquido-cristalinas en la estabilización de emulsiones se ha llevado a cabo hace varias décadas, cada mesofase tiene propiedades específicas que pueden aprovecharse en diferentes productos alimenticios (Heertje *et al.* 1998). El comportamiento polimórfico mencionado antes, permite que las fases líquido-cristalinas puedan utilizarse como agentes formadores de estructuras, las cuales en presentan áreas superficiales muy grandes. Debido a su naturaleza amfifílica, tienen la capacidad de interaccionar con moléculas hidrofílicas y/o hidrofóbicas. Lo anterior permite que cada una de las mesofases pueda ser utilizada para diversas aplicaciones: la fase cristalina α-gel se ha utilizado en panadería, para formación y estabilización de espumas en pasteles, en los cuales se han determinado el efecto del estado físico del emulsificante sobre la formación de espuma en la pasta, y se encontró que el emulsificante en su forma α-gel proporcionaba mejores propiedades de aeración que los emulsificantes adicionados en su forma β-cristalina. Además, al adicionar emulsificantes que presentan el primer tipo de fase permiten estabilizar las burbujas de manera más adecuada que la segunda, debido a que la fase α-gel presenta excelentes propiedades para la formación de espumas y su alta capacidad

para incorporar grandes cantidades de agua (Richardson *et al.* 2004: Sagalowicz *et al*. 2006).

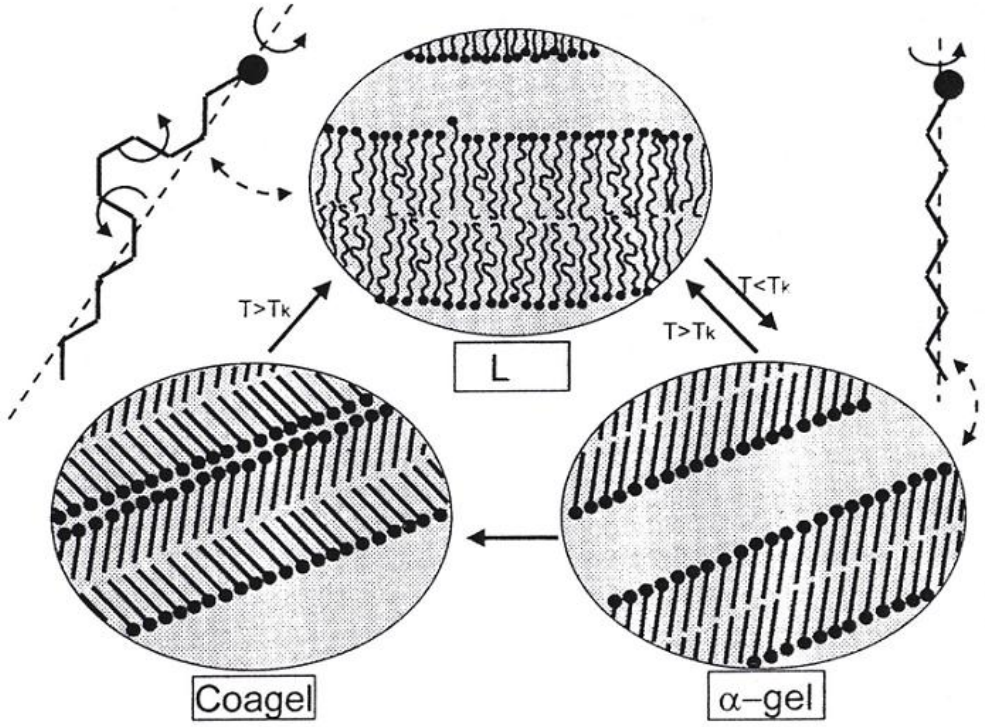


Figura 6. Representación esquemática de los procesos moleculares que ocurren durante las transiciones de las fases líquido cristalinas en T_{Krafft}
Fuente: Sein *et al.* 2002

Otras aplicaciones de las fases cristalinas en sistemas alimenticios son las siguientes (Krog 1997):

1. Controlar la desestabilización controlada de las cremas batidas, ayudando a mejorar su estabilidad, textura y sensación bucal; se adicionan con derivados para incrementar la viscosidad superficial de emulsiones, lo cual permite obtener una mejor estabilidad, previniendo la coalescencia.
2. Interaccionan con componentes del almidón, formando complejos insolubles en agua con amilasa, disminuyendo la tasa de retrogradación de la amilopectina y mejorando la textura en productos tales como papas procesadas, cereales para desayunos, pastas.
3. Se han utilizado como agentes estructurantes en diferentes campos: farmacéuticos, cosméticos y detergentes, cremas y como vehículos para drogas y medicamentos,
4. En el diseño de productos firmes bajos en grasa, en los cuales mejora su estabilidad y propiedades mecánicas.

En general las fases líquido-cristalinas juegan un papel importante en el desarrollo de estructuras de diferentes productos, como son los de bajo contenido calórico, en los que se sustituye la grasa butírica por la incorporación de importantes cantidades de agua, obteniendo de esa manera sistemas con una gran estabilidad y con estructuras y funcionalidad adecuadas (Heertje *et al*. 1998).

2.8 Calorimetría Diferencial de Barrido

Los alimentos son sistemas complicados, pero su estado físico es gobernado por las transiciones de fase de sus principales componentes. Las transiciones de fase de los alimentos son muy similares tienen a las que se llevan a cabo en los polímeros sintéticos. Sin embargo, la presencia de agua en los alimentos es probablemente el compuesto más significativo como diluyente y afecta los estados físicos y las propiedades de los demás componentes (lípidos, proteínas y carbohidratos).

Durante los procesos de transformación, almacenamiento y distribución de los alimentos ocurren diversas transiciones de fase de sus componentes. Estos pueden existir en estado líquido, como sólidos cristalinos o estados amorfos no cristalinos, pero cuando se modifican las condiciones pueden sufrir cristalizaciones, desnaturalización o cambios de estado que afectan la calidad del alimento.

De los componentes de los alimentos, los lípidos tienen un comportamiento diferente de los demás componentes, son moléculas insolubles en agua y presentan transiciones que incluyen cristalización dentro de varias formas polimórficas. Su estudio permite al tecnólogo en alimentos aprovechar las propiedades de sus diferentes estados para la aplicación en el desarrollo de productos. La estabilidad, temperatura de fusión, calores de fusión y capacidades caloríficas de las grasas han sido estudiadas por medio de diferentes métodos instrumentales tales como: Small angle X-ray scattering (SAXS), deuterium nuclear magnetic resonance (NMR), diferential scanning calorimetry (DSC), o micro DSC (Sagalowicz *et al*. 2006). Sin embargo, la calorimetría diferencial de barrido es una de las principales técnicas utilizadas para la determinación del comportamiento de solidificación de lípidos (Ross 1995).

En la calorimetría diferencial de barrido se mide la energía necesaria para establecer una diferencia de temperaturas cercana a cero, entre una sustancia y un material inerte de referencia, donde los dos materiales son sujetos a idénticos regimenes de temperatura, en un ambiente de calentamiento o enfriamiento de tasa controlada. La

energía requerida para mantener esta pequeña diferencia de temperaturas es una medida de los cambios en la entalpía o en la capacidad calorífica de la muestra con respecto a la referencia. Paralelamente se grafica el flujo de calor aplicado con respecto al incremento de la temperatura, a partir de este termograma se pueden calcular las temperaturas de transición y las transiciones cristalinas de diversos componentes alimenticios, incluyendo los lípidos (Heertje *et al*. 1998).

3. JUSTIFICACIÓN

Las propiedades macroscópicas de las redes formadas por los lípidos son muy importantes en la industria de los alimentos que contienen cantidades significativas de grasas. Tales productos incluyen mantequilla, margarina, chocolate, quesos crema, helados y yogur, entre otros. La mayoría de los atributos sensoriales (untabilidad, sensación bucal, textura, etc.) dependen de las características mecánicas que promueven las redes cristalinas de grasa (Narine *et al*. 1999). Aunado a lo anterior, las estructuras cristalinas de la grasa integran una clase especial de materiales, los cuales presentan propiedades viscoelásticas. Además de la grasa, los derivados lácteos contienen proteína, la cual se encuentra formando micelas e interacciona con los otros componentes de la leche. La gelificación de la leche por acidificación es un paso esencial para la elaboración del yogurt. Desde el punto de vista estructural el yogurt consiste de micelas de caseína formando pequeñas cadenas interconectadas. Por lo que la fase líquida se encuentra inmovilizada en los espacios intersticiales de la red de proteína, las dimensiones de estos espacios dependen de la composición de la leche utilizada para la elaboración del yogurt, una alta concentración de proteína en la leche provocará que los espacios intersticiales en el gel sean pequeños. La estructura de la red es uno de los factores más importantes que determinan la susceptibilidad de estos productos a la sinéresis, por lo que modificaciones en la estructura de la red, provocarán cambios en la sinéresis (Kalab 1993). Las propiedades reológicas de geles de yogurt están gobernadas por la composición de la leche, la temperatura y el tiempo de pretratamiento térmico de la leche, el tipo y cantidad del cultivo utilizado en la fermentación, la temperatura de la fermentación y las condiciones de almacenamiento (Tamime *et al*. 1995). Numerosas investigaciones se han llevado a cabo para estudiar la forma en que estos parámetros influyen en la estructura del gel de yogurt empleando métodos reológicos dinámicos, por ejemplo, el estudio del

ccomportamiento de flujo de yogures comerciales y su relación con la degradación progresiva de la estructura con respecto a la temperatura (Ramaswamy y Basak 1991); la caracterización del yogur como un gel a partir de datos reológicos (Horne, 1999); la modificación de los cambios texturales con respecto a la modificación de la fracción proteica de la leche destinada a la elaboración de yogur (Puvanenthiran *et al*. 2002); el impacto de la temperatura de incubación y pretratamiento térmico de la leche sobre las propiedades reológicas del gel (Lee y Lucey 2006). En todos ellos los estudios reológicos permitieron determinar los cambios estructurales en la red del gel.

La textura del yogurt es extremadamente frágil, depende principalmente de la consistencia de la red del gel, modificaciones en la composición alteran la microestructura del yogurt. Sandoval-Castilla *et al*. (2004) reportaron que una reducción en la grasa en el yogurt modifica sustancialmente la firmeza del producto, debido a que existe un menor número de glóbulos de grasa promotores de la estructura en la red de proteína y especialmente durante la fermentación varía cuando se disminuyen la cantidad de sólidos grasos.

Con la finalidad de evitar el decremento de las propiedades impartidas por la grasa en los alimentos bajos en calorías, se ha promovido la incorporación de ingredientes que permitan obtener productos con las propiedades similares a sus contrapartes naturales. Una alternativa la presentan los denominados sustitutos de grasa y componentes que promuevan la formación de estructuras en los geles y las emulsiones presentes en los alimentos. Últimamente se ha explorado la posibilidad de utilizar productos de bajo peso molecular y que tienen la capacidad de formar diferentes mesofases en ambientes acuosos, los monoglicéridos. Los monoglicéridos presentan un comportamiento polimórfico el cual ha sido considerado como una posibilidad para estructurar alimentos bajos en grasa, en particular alimentos untables (Sein 2002). Se ha estudiado ampliamente su efecto en la estabilización de emulsiones aceite-agua (Dickinson 1995; Dickinson y McClemens 1995, Chen y Dickinson 2000; Holstborg *et al*. 1999; Ojijo *et al*. 2004)),

su comportamiento polimórfico en solución acuosa (Heertje *et al*. 1998; Chupin *et al*. 2001; Sein *et a*l. 2002) y su efecto en las propiedades interfaciales de espumas y emulsiones (Richardson *et al*. 2004). Sin embargo, no hay reportes relacionados con la elaboración de yogurt bajo en grasa, adicionado con fases líquido-cristalinas que permitan obtener productos con estructuras adecuadas, similares a su contraparte completo en grasa. Por lo anterior en el presente trabajo se elaboraron yogures bajos en grasa adicionados con mezclas de monoglicéridos en su fase α-gel, se determinaron los cambios en la microestructura y propiedades reológicas y se compararon con el yogurt completo en grasa.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

1. Estudiar las transiciones térmicas de geles elaborados con mezclas de monopalmitina-monoestearina (geles de monoglicéridos) en diferentes proporciones, mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC)

2. Evaluar la sinéresis, comportamiento reológico y microestructura de yogures bajos en grasa, incorporados con diferentes geles de monoglicéridos, en comparación con un yogurt completo en grasa y un yogurt bajo en grasa sin adición de estos geles.

4.2 Objetivos particulares

- Construir los termogramas de las diferentes mezclas de monoglicéridos, para determinar sus transiciones de fase.
- Determinar las características calorimétricas de los surfactantes y las temperaturas de sus fases polimórficas más estables.

- Evaluar los cambios en las propiedades viscoelásticas de yogurt como respuesta a modificaciones en su contenido graso.

- Determinar el efecto que tiene la reducción de la grasa y la adición de fases líquido cristalinas sobre la microestructura del yogurt.

5. HIPÓTESIS

La adición de fases líquido cristalinas en yogurt modificado en su contenido graso, permite obtener productos de bajo contenido calórico, de distinta microestructura, pero con las mismas características reológicas que los productos completos en grasa que se pretenden desplazar.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materiales

Las siguientes mezclas de monoglicéridos (MB) fueron utilizadas: Hymono 8803 (MB0.1MP,0.87MS) el cual se elaboro a base de aceite de soya, conteniendo 0.10 g de monopalmitina (MP) y 0.87 g de monostearina (MS) por g; Hymono 1103 (MB0.3MP,0.65MS) a base de lardo y conteniendo 0.30 g de MP y 0.65 g de MS por g; e Hymono 8903 (MB0.43MP,0.50MS) a base de aceite de palma, conteniendo 0.43 g de MP y 0.50 g de MS por g, de acuerdo a la información proporcionada por el proveedor. El ester ácido diacetil tartárico de monoglicérido (DATEM 1935) fue utilizado como un cosurfactante aniónico. Todos los materiales mencionados fueron proporcionados por Quest International (Zwijndrecht, The Netherlands). Leche entera en polvo (NIDO®, Nestle, S.A. de C.V. México), leche descremada en polvo (Lactomix®, DILAC S.A. de C.V. México), y cultivos lácticos (MY800, *S. salivarius ssp. thermophilus* y *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, Industrias Cuamex S.A. de C.V., México), fueron utilizados para la preparación de los tratamientos de yogurt.

6.2. Preparación de geles de monoglicéridos

Los geles de monoglicéridos ($MG_{0.1MP,0.87MS}$, $MG_{0.3MP,0.65MS}$, y $MG_{0.43MP,0.50MS}$) fueron preparados mediante la adición de 5 g de los respectivos MB y 50 mg de DATEM 1935 en agua destilada hasta un volumen total de 100 mL. El pH de las dispersiones fue ajustado a 6 con una solución de HCl. Las dispersiones fueron agitadas a 300 rpm durante 30 min en un recipiente a baño maría a 58 ± 1°C, se enfriaron a temperatura ambiente, se mantuvieron en refrigeración a 5 ± 1°C durante 5 horas antes de ser caracterizadas o usadas en la preparación de los tratamientos de yogurt.

6.3. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) de geles de MG

Cada uno de los geles de MG (~10 mg) fueron colocados en charolas de aluminio, selladas herméticamente y pesadas. Una charola de aluminio vacía y sellada fue utilizada como muestra de referencia y el equipo DSC (TA Instruments 2910, acoplado con un sistema de enfriamiento RCS, New Castle DE, USA) fue calibrado con Indio (p.f. 156.6 °C; _Hm = 25.8 J.g-1). Las muestras fueron calentadas utilizando una rampa de calentamiento de 3.5 °C/min, desde 20 °C hasta 70 °C, y entonces enfriadas hasta 25 °C a la misma tasa. Los datos fueron procesados con el programa Universal Analysis (TA Instruments, New Castle, DE, USA). La T_{krafft} (la temperatura de inicio del pico del termograma) fue obtenida dibujando la tangente, del lado de la temperatura más baja del pico, desde el punto donde existe mayor tasa de cambio hasta la intersección con la línea base (Heertje *et al*. 1998). Los cambios de entalpía durante el calentamiento (ΔH_h), representados por un flujo de calor positivo (transición endotérmica), y durante el enfriamiento (ΔH_c), representados por el flujo de calor negativo (transición exotérmica) fueron determinados mediante las áreas de las superficies de los picos de los termogramas correspondientes. El grado de la transición de gel α-cristalina a coagel fue estimada a partir de los valores de la

relación de los cambios de entalpía durante el calentamiento y el enfriamiento ($\Delta H_h/\Delta H_c$) (Sein et al. 2002).

6.4. Tratamientos de yogurt

Un yogurt control complete en grasa (Y100) fue elaborado a partir de leche entera en polvo reconstituida (NIDO®, Nestle, S.A. de C.V., México), con 30 ± 0.3 g de grasa de leche L^{-1} y 120 ± 1 g de sólidos de lácteos totales L^{-1}. Un yogurt bajo en grasa (Y50) fue elaborado a partir de leche baja en grasa reconstituida, preparada mezclando leche descremada en polvo (Lactomix®, DILAC S.A. de C.V., México) y leche entera en polvo hasta obtener 15 ± 0.1 g de grasa de láctea L^{-1} y 120 ± 1 g de sólidos totales L^{-1}. Tres tratamientos de yogurt bajos en grasa fueron elaborados utilizando lotes de leche conteniendo 15 ± 0.1 g de grasa láctea L^{-1}, 120 ± 1 g de sólidos totales L^{-1}, y 100 mL de cada uno de los geles de MG ($MG_{0.1MP,\ 0.87MS}$, $MG_{0.3MP,\ 0.65MS}$, y $MG_{0.43MP,0.50MS}$) L^{-1}, para obtener los tratamientos de yogurt $Y_{0.1MP,0.87MS}$, $Y_{0.3MP,0.65MS}$, y $Y_{0.43MP,0.50MS}$.

6.5. Elaboración de yogurt

Se prepararon 10 L de cada uno de los tratamientos de yogurt. Mezclas de leche en polvo entera y leche en polvo descremada fueron reconstituidas a 30 ± 1 °C con agitación moderada. Las dispersiones fueron refrigeradas a 4 °C por 24 h, para permitir la completa hidratación de los polvos, antes de usarlos. Inicialmente las leches reconstituidas fueron calentadas a 30 ± 1 °C y 60 g L^{-1} de azúcar fueron agregados. Cada uno de los lotes de leche fueron entonces calentados hasta 70 ± 1 °C, agitados vigorosamente (2200 rpm, 3 min) con un agitador mecánico, en una tina pasteurizadota a 80 ± 1 °C durante 10 min (Lobato-Calleros *et. al*., 2004). En todos los casos la leche fue enfriada hasta 45 ± 1 °C. En este punto fueron adicionados a cada lote de leche 100 mL del gel de MG específico con agitación moderada, para

preparar los tratamientos de yogurt $Y_{0.1MP,0.87MS}$, $Y_{0.3MP,0.65MS}$, y $Y_{0.43MP,0.50MS}$, asegurando de que la temperatura se mantuviera por debajo de la T_{krafft}. Posteriormente, todos los lotes de leche fueron inoculados con 0.03 g L^{-1} de cultivos lácticos (MY800, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, Industrias Cuamex S.A. de C.V., México), e incubados a 45 °C hasta que una acidez de 90-95°D fue alcanzada. Los yogures fueron enfriados y almacenados a 4 °C. Los tratamientos de yogurt fueron retirados después de 5 días de almacenamiento para análisis químicos, sinéresis, evaluación reológica y microestructural.

6.6. Análisis químicos

Se realizaron las siguientes determinaciones a todos los tratamientos de yogurt: Proteína por el método Kjeldhal, grasa por el método Gerber y sólidos totales por secado en estufa (AOAC 1995).

6.7. Sinéresis de yogurt

La susceptibilidad a la sinéresis del yogurt fue determinada de acuerdo al método de Keogh y O' Kennedy (1998). Tubos de centrífuga conteniendo 40 g de yogurt fueron centrifugados 222 × g durante 10 min a 4 ºC. El sobrenadante claro fue decantado, pesado y se expresó como porcentaje en peso, en relación al peso original del yogurt.

6.8. Mediciones reológicas dinámicas

Mediciones dinámicas oscilatorias fueron llevadas a cabo con un reómetro RHEOPLUS/32 V2.62 rheometer (Anton Paar, Messtechnik,Stuttgart, Germany), con una geometrías cono-plato, en la cual el cono de rotación fue de 50 mm de diámetro, y con ángulo de 2°. La temperatura se mantuvo mediante un sistema de control y medición de temperatura Physica TEK 150P. Las muestras de yogurt fueron colocadas cuidadosamente en el sistema de medición y se dejaron en reposo durante 1 h para permitir que se equilibrara la temperatura y se permitiera la recuperación de la estructura del yogurt. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo a 5°C. Con objeto de determinar la zona viscoelástica lineal, se llevaron a cabo barridos de amplitud (0.01–10 % de deformación, 1 Hz) en los tratamientos de yogurt. El modulo de almacenamiento (G'), modulo de pérdida (G''), y la tangente de perdida o tan δ (G"/G') en función de la frecuencia fueron determinados en un intervalo de frecuencia de 0.1 a 100 Hz, a una deformación de 0.1 % en la región lineal. Estos parámetros representan los componentes elástico, viscoso y viscoelástico de los yogures, respectivamente (Tunick, 2000). Por otro lado, tan δ expresa la contribución relativa de los componentes viscoso y elástico.

6.9. Microestructura del yogurt

Muestras de 0.3 g de los tratamientos de yogurt fueron cortadas de aproximadamente 1 cm bajo la superficie y preparadas de acuerdo al método descrito por Sandoval-Castilla *et al.* (2004). Las muestras fueron mezcladas con 0.3 g de solución acuosa de agar al 0.3% (Oxoid código L13) a 45°C y posteriormente fueron se solidificaron por enfriamiento a 20 °C. Las muestras gelificadas fueron entonces cortadas en cubos de aproximadamente 1 mm de diámetro y fijadas en solución de glutaraldehido al 2 % en una solución amortiguadora de fosfatos 0.1M (pH 7.2), esta primera fijación de las proteínas se llevó a cabo a temperatura ambiente, durante 2 horas, seguida por 24 horas a 4°C (McManus *et al*. 1993). Con el objeto de permitir la fijación de los lípidos insaturados, las muestras fijadas se

lavaron con amortiguador de fosfatos y postfijadas en una solución de tetraóxido de osmio al 1%, durante 2 h y lavadas con solución amortiguadora de fosfatos. Posteriormente fueron deshidratadas con soluciones de etanol (1 h en cada una), cuyas concentraciones fueron: 30%, 50%, 70%, 80% y 90%, y finalmente en etanol absoluto durante 24 h. Con objeto de eliminar el agua y etanol residuales, las muestras fueron colocadas en un secador Tecnics CPA II Critical Point Dryer (Tousimis, Rockville, MD), purgadas con CO_2 líquido, hasta que el etanol fue totalmente reemplazado, posteriormente se selló la cámara y se calentó hasta 31ºC, hasta la total evaporación del CO_2 líquido. Las muestras secas fueron fracturadas con una cuchilla, los fragmentos fueron montadas en tacones de aluminio (Kalab 1979) y cubiertos con oro al vació en un Fine Coat Jeol-JFC-1100 (Jeol Ltd., Akishima, Japan). La microestructura de las muestras de yogurt fue examinada con un microscopio de barrido de alto vacío Jeol JSM-035 (Jeol Ltd., Akishima, Japan) a 20 kV, a una magnificación de 2500 y 5500 ×.

6.10. Análisis estadístico

El análisis estadístico de la composición química, sinéresis y datos reológicos se llevaron a cabo mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey utilizando el paquete estadístico Statgraphics 7 (Statistical Graphics Corp. Manugistics Inc., Cambridge, 187 MA). Todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Todos los termogramas de los geles de MG estuvieron caracterizados por solamente un pico bien definido tanto en la zona de calentamiento como en la de enfriamiento. La Fig. 7 muestra el termograma para $MG_{0.3MP,0.65MS}$, el cual es representativo de todos lo MG estudiados.

El flujo de calor positivo indica transiciones endotérmicas del $MG_{0.3MP,0.65MS}$ dentro de la fase, mientras que los valores de flujo de calor positivo muestran transiciones exotérmicas de la fase lamelar a la fase α-gel (Heertje *et al*. 1998). Las temperaturas de inicio de las transiciones (T_{krafft}) y la relación de las entalpías de transición durante el calentamiento y el enfriamiento ($\Delta H_h/\Delta H_c$) se muestran en la Tabla 3. Como se puede observar, los valores de la T_{krafft} se incrementaron en los geles de MG, de manera similar a los contenidos de monoestearina (monoglicérido que presenta peso molecular mayor que la monopalmitina).

Es bien conocido que las temperaturas de fusión de monoglicéridos se incrementan con la longitud de la cadena y el peso molecular (Lehninger 1991). De la misma manera, la relación ($\Delta H_h/\Delta H_c$ de los geles de MG fueron influenciados por la relación de monopalmitina/monoestearina, variando desde 1.05 hasta 1.25 (Tabla 2).

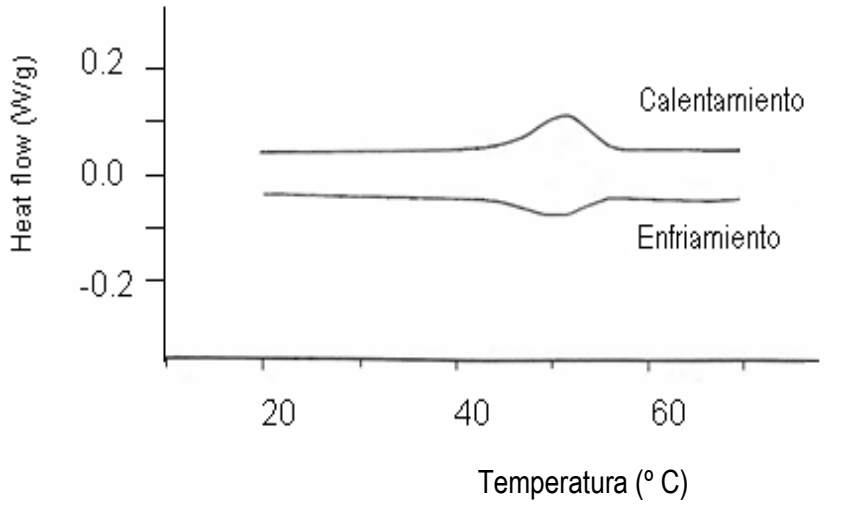


Figura 7. Termograma de gel de monopalmitina-monoestearina (en relación 0.30:0.65) ($MG_{0.3MP,0.65MS}$), sujeto régimen de calentamiento y enfriamiento

Los valores de esta relación fueron cercanos a la unidad cuando la proporción de monostearina fue más alta en los geles de MG (MG $_{0.1MP,0.87MS}$), mientras que este valor se alejó de la unidad a medida que el contenido de monopalmitina se incrementó ($MG_{0.43MP,0.50MS}$). La relación $\Delta H_h/\Delta H_c$ es también conocida como el índice de coagel (Heertje *et al*. 1998) y proporciona una medida de si el sistema monoglicérido-agua se encuentra en la fase α-gel o coagel, o si está formado por mezclas de ambas fases. El índice de coagel puede presentar valores de 1 (fase α-gel pura) hasta aproximadamente 2 (coagel puro). En el caso de que coexistan mezclas de α-gel y coagel esta razón exhibe valores entre 1 y 2. En este caso puede ser inferido que los tres geles de MG investigados estuvieron formados predominantemente en la forma α-gel (Bergenstahl 1997; Heertje *et al*. 1998).

7.2. Composición química y sinéresis del yogurt

La composición química promedio de los tratamientos de yogurt se presenta en la Tabla 3. Los sólidos totales, y los contenidos de proteína y grasa en todos los tratamientos presentaron valores entre 16.17 hasta16.74 %, 3.43 a 3.91 %, y 1.45 a 3.01 %, respectivamente. Y100 y Y50 tuvieron contenidos de sólidos totales similares, pero Y50 presentó un contenido de proteína más alto y menor contenido de grasa que Y100. Esto puede ser atribuido a la reducción del contenido de grasa láctea de este tratamiento. Los tratamientos de yogurt que contuvieron los geles de MG tuvieron composición química similar entre ellos, pero significativamente diferentes al tratamiento Y100. Sin embargo, estos yogures exhibieron variaciones

significativas más altas en sólidos totales y contenidos de grasa que el tratamiento Y50, pero no hubo diferencias significativas en el contenido de proteína.

Tabla 3. Datos térmicos DSC de transiciones de monoglicéridos (medias ± SD)

Código de los geles de monoglicéridos	Contenido de monoestearina en MB (g/g)	Contenido de monopalmitina en MB (g/g)	$\Delta H_h/\Delta H_c$	T_{kraff_t} (° C)
$MG_{0.1MP,0.87MS}$	0.87	0.10	1.05 ±0.0[a]	51.6 ±0.4[c]
$MG_{0.3MP,0.65MS}$	0.65	0.30	1.18 ±0.0[b]	50.2 ± 0.1[b]
$MG_{0.43MP,0.50MS}$	0.50	0.43	1.25 ±0.0[c]	47.6 ±0.2[a]

MB: Mezclas de monoglicéridos utilizados para preparar los geles de MG.
Medias en columnas seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

El porcentaje de sinéresis de los yogures después de la centrifugación a 4 °C, estuvo en un rango de 1.54 a 6.00 % (Tabla 3). Y50 exhibió un porcentaje de sinéresis significativamente más alto que Y100. Puesto que la proteína se adsorbe sobre la superficie de los glóbulos de grasa homogeneizada, por lo que al disminuirse los niveles de grasa, se incrementó la capacidad de inmovilizar agua por un mayor contenido relativo de proteína (Keogh y O'Kennedy 1998). Todos los yogures incorporados con geles de MG mostraron un porcentaje de sinéresis menor que Y50, y en el caso de $Y_{0.3MP,0.65MS}$ su porcentaje de sinéresis fue significativamente más bajo que el de Y100. Los elementos estructurales derivados de los geles de MG podrían obstaculizar el flujo del suero a través del gel de yogurt, disminuyendo la cantidad de agua disponible para la sinéresis. Una gran cantidad de agua puede ser incorporada entre las bicapas de monoglicéridos en la fase α-gel (Krog 1997).

7.3. Microestructura del yogurt

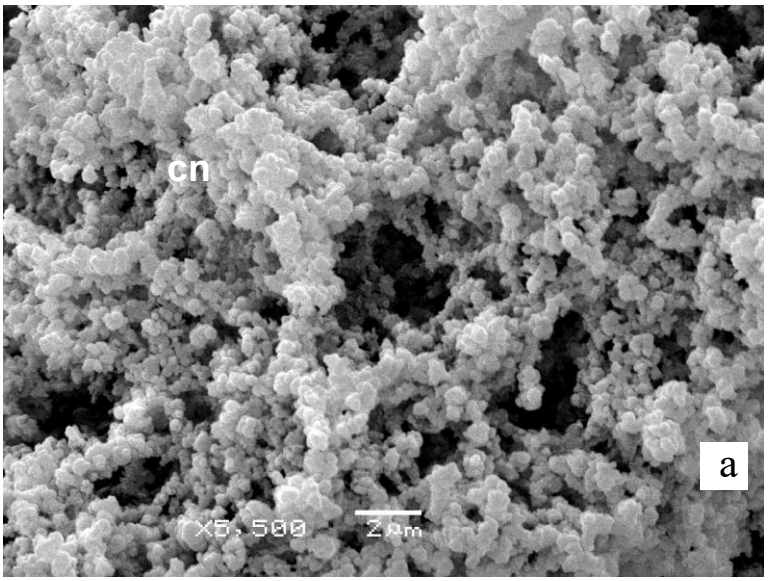
La microestructura de Y100 consistió en una gruesa red de proteína compuesta por cadenas y agregados de micelas de caseína fusionadas, cuya forma globular es todavía perceptible, alternadas por los huecos ocupados originalmente por el suero y los glóbulos de grasa (Fig. 8a). La red de proteína de Y50 (Fig. 8b) fue más fina que la de Y100 como consecuencia de pequeños agregados de micelas de caseína fusionados, probablemente debido a un menor número de glóbulos de grasa que actúan como agentes enlazantes de proteína (Sandoval-Castilla *et al.* 2004).

Tabla 4. Composición química y sinéresis de tratamientos de yogurt (medias ± SD)

Código de tratamientos de yogurt	Sólidos totales (g por 100 g)	Grasa (g por 100 g)	Proteína (g por 100 g)	Sineresis (g por 100 g)
Y_{100}	16.21±0.1[a]	3.01±0.1[c]	3.43±0.2[a]	3.88 ±0.2[b]
Y_{50}	16.17±0.1[a]	1.45±0.0[a]	3.91±0.1[b]	6.00 ± 0.1[c]
$Y_{0.43MP,0.50MS}$	16.59±0.2[b]	1.63±0.1[b]	3.80±0.1[b]	3.04 ± 0.3[b]
$Y_{0.3MP,0.65MS}$	16.67±0.2[b]	1.58±0.0[b]	3.86±0.1[b]	1.54 ± 0.7[a]
$Y_{0.1MP,0.87MS}$	16.74±0.3[b]	1.59±0.1[b]	3.87±0.2[b]	3.87 ± 0.7[b]

Medias en columnas seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Las micelas de caseína en los tratamientos de yogurt bajo en grasa, incorporados con los geles de MG formaron redes con diferentes estructuras (Fig. 9) que las observadas para Y100 y Y50 (Figs. 8a y 8b). Además, las diferencias estructurales que exhibieron los yogures adicionados con geles de MG dependieron de las proporciones de monopalmitina/monostearina. Así, en $Y_{0.1MP,0.87MS}$ (Fig. 9a) la estructura parece estar compuesta predominantemente por agregados fusionados a micelas de caseína en lugar de cadenas, comparativamente con espacios huecos más pequeños que los mostrados por Y100 (Fig. 8a). Muchas de estas micelas de caseína fusionadas han integrado en su superficie un material de forma irregular, el cual no fue visto en las micrografías de Y100 y Y50, de modo que probablemente es el gel de $MG_{0.1MP,0.87MS}$. La distribución espacial de las micelas de caseína en $Y_{0.3MP,0.65MS}$ (Fig. 9b) fue similar al $Y_{0.1MP,0.87MS}$ (Fig. 9a) pero con huecos más grandes. La presencia del material que cubre las micelas de caseína fue menos extendida, de manera similar como la proporción de monoestearina fue menor en los MG. Ocasionalmente algunos fragmentos de estos materiales de forma irregular fueron también atacados por los *Lactobacilli y Streptococci* (Fig. 9b). Finalmente, $Y_{0.43MP,0.50MS}$ (Fig. 9c) mostró un comportamiento de agregación de las micelas de caseína similar a $Y_{0.1MP,0.87MS}$ (Fig. 9a) y $Y_{0.3MP,0.65MS}$ (Fig. 9b); sin embargo, los huecos fueron caracterizados por ser muy pequeños, pero más numerosos que en los otros dos tratamientos de yogurt bajos en grasa, incorporados con geles de MG, resultando en una red de proteína altamente interrumpida. Es importante mencionar que en este yogurt se observaron estructuras semejantes a placas lisas no integradas a la red de proteína, además de fragmentos del material de forma irregular observado en $Y_{0.1MP,0.87MS}$ y $Y_{0.3MP,0.65MS}$. Suponemos que estas estructuras correspondieron a el gel no integrado de MG $_{0.43MP,0.50MS}$.


cn
X5,500
2μm
a

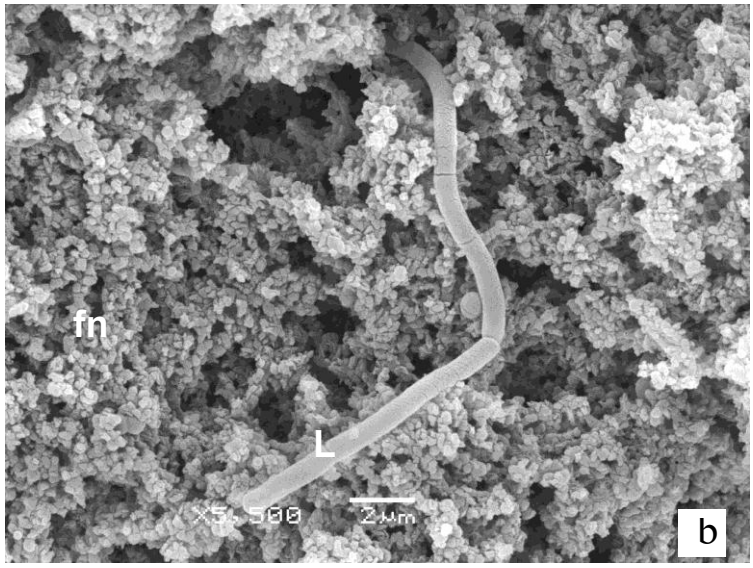

fn
L
X5,500
2μm
b

Figura 8. Micrografías de SEM de: (a) yogurt control completo en grasa (Y_{100}), donde se observa una gruesa red de proteína (cn) integrada por cadenas y agregados de micelas de caseína fusionadas; (b) Yogurt control bajo en grasa (Y_{50}), donde se observa una fina red de proteína (fn) formada por pequeños agregados de micelas de caseína fusionadas y Lactobacilos (L). Magnificación de 5500 ×, barra de escala bar = 2 μm.

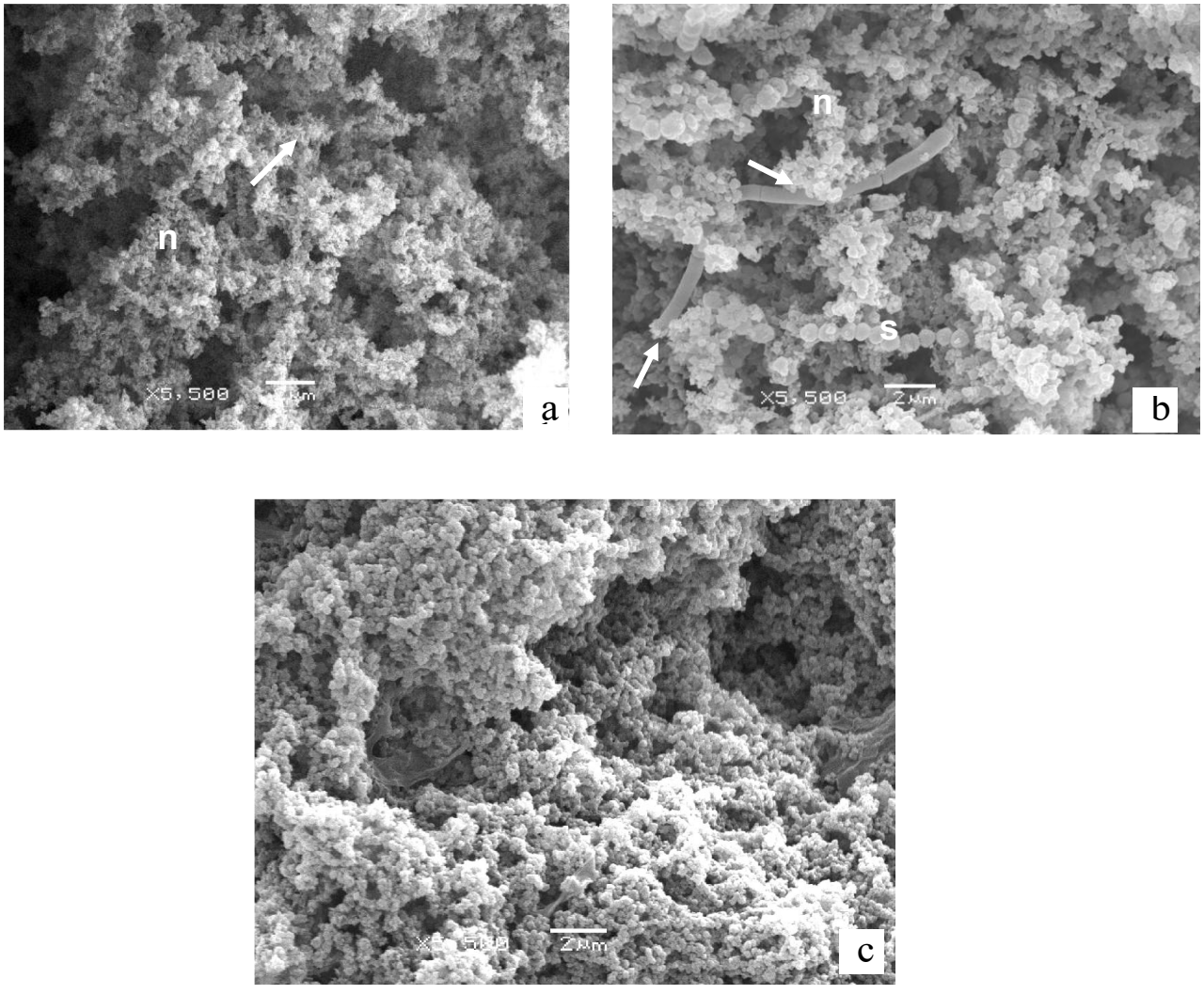


Figura 9. Micrografías SEM de: (a) Yogurt $Y_{0.1MP,0.87MS}$ elaborado con gel de monopalmitina-monoestearina (en relación 0.1:0.87) ($MG_{0.1MP,0.87MS}$), donde se pueden observar los agregados de las micelas de caseína fusionadas forman la red de proteína (n) tienen integrada en su superficie un material de forma irregular (indicado por la flecha blanca) el cual presumiblemente es el gel de $MG_{0.1MP,0.87MS}$.(b) Yogurt $Y_{0.3MP,0.65MS}$ elaborado con el gel de monopalmitina-monoestearina (en

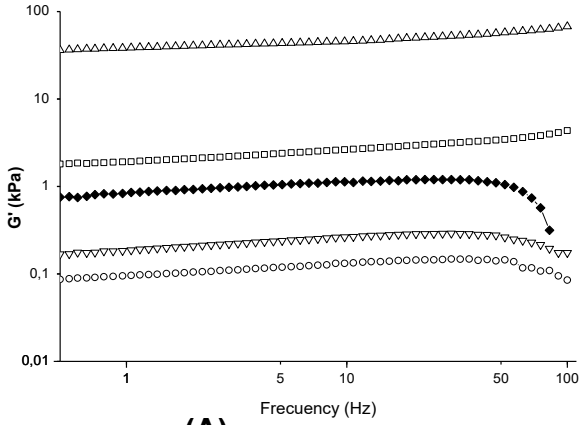
relación 0.3:0.65) ($MG_{0.3MP,0.65MS}$), donde se observa una red de proteína (n) con grandes huecos espaciados y menos cobertura por el material de forma irregular (indicado por las flechas blancas). Ocasionalmente se observan fragmentos de este material junto a lactobacilos (L) y Estreptococos (S); (c) Yogurt $Y_{0.43MP,0.50MS}$ elaborado con el gel de monopalmitina-monoestearina (en relación 0.43:0.50) l ($MG_{0.43MP,0.50MS}$), donde la red de proteína (n) fue altamente interrumpida por pequeños y numerosos huecos, y una estructura suave tipo manta que no está integrada a la red de proteína, presumiblemente compuesta por el gel de $MG_{0.43MP,0.50MS}$ (MG).

7.4. Propiedades viscoelásticas del yogurt

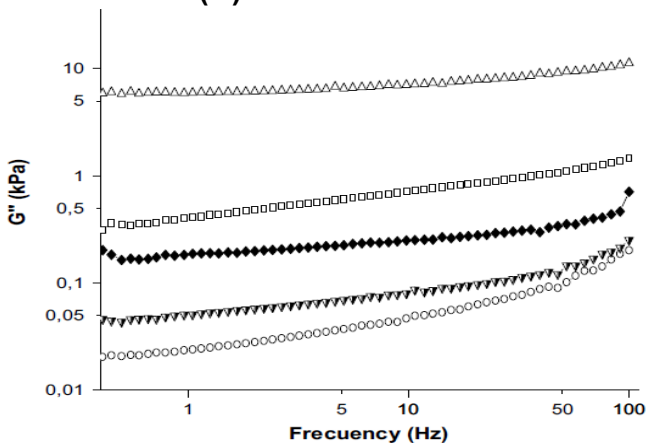
Los materiales viscoelásticos como el yogurt pueden describirse reológicamente en forma adecuada con dos parámetros, el módulo de almacenamiento (G') el cual es una medida de su naturaleza elástica y el modulo de pérdida (G'') el cual es una medida de su naturaleza viscosa (Penna, Sivieri y Oliveira 2001). Los barridos de frecuencia mostraron diferencias entre los yogures (Fig. 10). Los datos de G' (Fig. 10a) indicaron que todos los tratamientos mostraron una muy pequeña dependencia de la frecuencia en un intervalo de 0.1- 40 Hz, seguido por inflexiones hacia arriba o hacia abajo en frecuencias de alrededor de 40 Hz. La composición química de los yogures afectó tanto la magnitud de G' como el tipo de inflexión exhibida. La variación en la magnitud de G' de mayor a menor valores después del punto de inflexión fue $Y_{0.1MP,0.87MS}$ > $Y_{0.3MP,0.65MS}$ > Y100 > Y50 > $Y_{0.43MP,0.50MS}$. La presencia de un menor número de glóbulos de grasa que actúan como promotores de la red de proteína en Y50 comparada con Y100 resultó, como se esperaba, en un menor comportamiento elástico (menor valor de G'). Los tres tratamientos de yogurt bajo en grasa adicionados con geles de MG mostraron valores diferentes de G' que los exhibidos por los yogures Y100 y Y50, y estas diferencias no pueden ser explicadas en función del contenidos de sólidos totales (más sólidos de leche MB) contenidos en las formulaciones, y deben ser explicados en términos de la estructuración que se lleva a cabo en los yogures, y más probablemente, por la composición de los geles de MG y sus interacciones con la red de proteína, como pueden ser observadas en las micrografías de los tratamientos de yogurt adicionados con MG (Fig. 9). Debido a que las proteínas de la leche y las moléculas de monoglicéridos están presentes en estos yogures, no se puede excluir que pueden ocurrir interacciones entre ambos tipos de compuestos (Chupin *et al*. 2001) causando de esta manera, modificaciones

mecánicas y estructurales en este sistema alimenticio. Como se puede observar en el cuadro3, a medida que el contenido de monoestearina fue más alto en el gel de MG, el índice de coagel fue más cercano a la unidad, indicando que el α-gel fue más estable y que su transición a coagel se lleva a cabo a una tasa más lenta. En términos prácticos, parece ser que cuando las fases α-gel son más estables, tienen más tiempo que les permite interactuar y promover la formación de estructuras con otros ingredientes de la formulación, como en el caso de $Y_{0.1MP,0.87MS}$ (Fig. 9a) y $Y_{0.3MP,0.65MS}$ (Fig. 9b) los cuales exhibieron valores más altos de G' que Y100 y Y50.
En el caso de $Y_{0.43MP,0.50MS}$, se tiene que asumir que la adición de la fase α-gel no fue lo suficientemente estable (Tabla 2), y no participó en la misma medida para la construcción de la estructura (Fig. 9c), dando como resultado una red menos densa y exhibiendo los menores valores de G'. Aunado a lo anterior, los tratamientos $Y_{0.1MP,0.87MS}$ y $Y_{0.3MP,0.65MS}$ (Fig. 9a) exhibieron una estructura más resistente contra la ruptura a medida que la se incrementó la frecuencia en comparación con Y100, Y50, y $Y_{0.43MP,0.50MS}$, los últimos tres tratamientos presentaron una inflexión hacia abajo en G' a frecuencias entre 40-50 Hz. La inflexión sugiere que el cuerpo del yogurt se rompe y la magnitud de frecuencia que puede soportar antes de que se rompa es evidenciada por el cambio del punto de inflexión. En contraste, $Y_{0.1MP,0.87MS}$ y $Y_{0.3MP,0.65MS}$ no exhibieron una inflexión hacia abajo en el rango de frecuencia estudiada, corroborando con esto que los geles de MG fueron integrados dentro de la estructura de proteína reforzándola. Las curvas de G''-frecuencia para los tratamientos de yogurt son mostradas en la Fig. 10b. En términos generales, la dependencia de G'' con la frecuencia fue más marcada que la de G' con la frecuencia. Sin embargo, las magnitudes de G'' exhibidos por los diferentes tratamientos de yogurt siguieron el mismo orden como ocurrieron con G' antes del punto de inflexión. De esta manera, los valores de G'' variaron de los más altos a los más bajos de la siguiente manera: $Y_{0.1MP,0.87MS}$ > $Y_{0.3MP,0.65MS}$ > Y100 > Y50 > $Y_{0.43MP,0.50MS}$. Para todos los yogures, el valor de G' antes del punto de inflexión fue siempre más grande que aquel para G''. Cuando G' > G'', el material exhibirá un comportamiento de sólido (la deformación en el rango lineal será esencialmente

elástico y recuperable). Sin embargo, si G'' > G', el material se comporta como un líquido (la energía utilizada para deformar el material se disipará en forma viscosa).



(A)



(B)

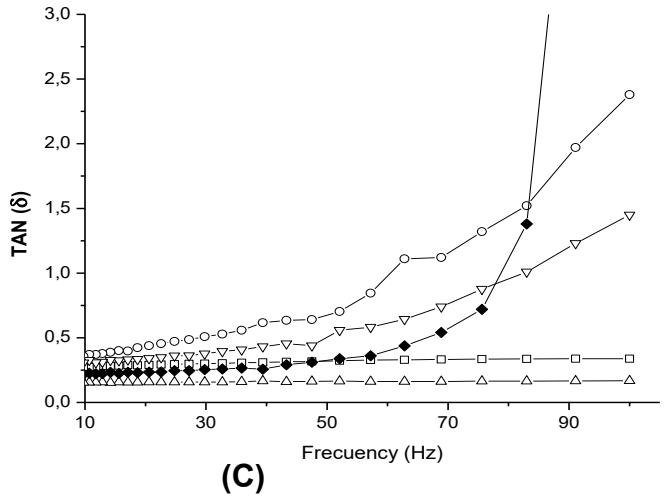


Figura 10. Variación de: (a) Módulo de almacenamiento (G'); (b) Módulo de pérdida (G''), y (c) Tangente de pérdida (tan δ) de los diferentes tratamientos de yogurt como una función de la frecuencia: (□) $Y_{0.3MP, 0.65MS}$; (o) $Y_{0.43MP, 0.5MS}$; (Δ)$Y_{0.1MP, 0.87MS}$; (∇) Y_{50}; (♦) Y_{100}

En este sentido, los tratamientos de yogurt se comportaron de manera tipo sólido a frecuencias menores de 40 Hz, incluso cuando el módulo viscoelástico estuvo como una función de la frecuencia (Quintana *et al*. 2002). Este comportamiento se puede ver mejor observando la Fig. 10c, donde los cambios en los valores de la tangente de pérdida contra la frecuencia de los diferentes tratamientos de yogurt son presentados. Los yogures $Y_{0.1MP,0.87MS}$ y $Y_{0.3MP,0.65MS}$ mostraron valores de tan δ prácticamente constantes (< 0.3) durante todo el barrido de frecuencia del experimento, mientras que los yogures Y100, Y50, y $Y_{0.43MP,0.50MS}$ exhibieron un ligero aumento en el valor de tan δ hasta alrededor de 40 Hz, seguido por un fuerte aumento en tan δ (valores > 1) a frecuencias más altas de 75 Hz.

8. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que cuando los geles de monoglicéridos fueron adicionados predominantemente en su fase α-gel a los diferentes tratamientos de yogurt, permitieron obtener geles mas estructurados que aquellos que aquellos a los que no se les adicionaron.

El comportamiento reológicos de los yogures bajos en grasa se modificó con la adición de las fases líquido-cristalinas, en particular la fase α-gel jugó un papel importante en la estructuración de estos sistemas.

La adición de agentes estructurantes en su fase α-gel permitió obtener yogures bajos en grasa con propiedades reológicas similares al yogurt completo en grasa, sin adición de geles de monoglicéridos.

Una mejor estructuración fue obtenida conforme la proporción de monoestearina (monoglicérido con mayor peso molecular y cadena hidrocarbonada más grande)

contra la de monopalmitina (monoglicérido con menor peso molecular y menor tamaño de cadena hidrocarbonada) fue más alta.

Cuando se adicionaron a la leche monoglicéridos con altas proporciones de monoestearina (0.87 y 0.65) y bajos contenidos de monopalmitina (0.1 y 0.3) se obtuvieron yogures con baja susceptibilidad a la sinéresis y más alto carácter viscoelástico, indicando que los geles de monoglicéridos se integraron y reforzaron la red de proteína de manera más efectiva, lo anterior fue evidenciado mediante las micrografías de microscopía electrónica de barrido.

9. REFERENCIAS

Aguilera, J.M., and Kinsella, J.E. 1991. Compression strenght of dairy gels and microstructural interpretation. *Journal of Food Science 56*: 1224-1228.

Akalin, A.S., Unal, G., Gonc, S., Fenderya, S. 2008. Effects of whey protein concentrate and fructooligosaccharide on the rheological and sensory properties of reduced-fat probiotic yoghurt. *Milchwissenschaft 63*: 171-174

AOAC. 1995. *Official methods of analysis* (16th ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Bergenstahl B. 1997. Physicochemical aspects of an emulsifier functionality. Chpt. 6 in: *Food emulsifiers and their applications,* ed. G. Hasenhuettl and R. W. Hartel. Chapman y Hall, New York, pp. 147-172.

Bos, M., Nylander, T.,Arnebrant,., lark D.C. 1997. Protein/Emulsifiers interactions. Chp. 5 In: *Food Emulsifiers and their applications*. Ed. S.E. Gerard L. Hasenhuettl and Richard W. Hartel. Chapman and Hall Inc. New York. pp. 95-146.

Boyle E. 1997. Monoglycerides in food systems: Current and future uses. *Food technology* 51 (8): 52-59.

Brauss M.S., Linforth R.S.T., Cayeux I., Harvey B. Taylo A.J. 1999. Altering the fat content affects flavor release in a model yogurt system. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 47: 2055-2059

Cayot, P., Schenker, F., Houzé, G., Sulmont-Rossé, C., y Colas, B. 2008. Creaminess in relation to consistency and particle size in stirred fat-free yogurt. *International Dairy Journal 18*: 303-311.

Chen, J., Dickinson E., Langton M. Hermansson A. 2000. Mechanical properties and microstructure of heat-set whey protein emulsions gels: effect of emulsifiers. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 33: 299-307

Chupin, V., Boots, J.W.P, Killian J.A., Demel R.A. y de Kruijff B. 2001. Lipid organization and dynamics of the monostearoylglycerol-water system. A ^{2}H NMR study. *Chemistry and Physics of Lipids* 109: 15-28.

Corral S.A., Lobato C.C. 1993. Elaboración de un embutido tipo salchicha con bajo contenido en colesterol. *Rev. Lácteos y Cárnicos Mexicanos* 8 (1): 18-21.

Diaz-Jimenez B., Sosa Morales M.E. y Velez-Ruiz. 2004. Effect of fiber addition and fat reduction on yogurt physichemical properties. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 3: 287-305.

Dickinson E., Hong S.T. 1995. Influence of Water-Soluble Nonionic Emulsifier on the Rheology of Heat-Set Protein-Stabilized. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*

Dickinson y McClemens. 1995. Advances in Food Colloids. Blackie Academic and Professional. Chapman and Hall ed. London UK. pp 211-244

Golding M. and Sein A. 2004. Surface rheology of aqueous casein-monoglyceride dispersions. *Food Hydrocolloids* 18: 451-461.

Heertje I., Roijers E.C. and Hendrickx H.A.C.M. 1998. Liquid crystalline phases in the structuring of food products. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 31: 388-396.

Holsborg J., Pedersen B.V., Krog N., Olesen S.K. 1999. Physical properties of diglycerol esters in relation to rheology and stability of protein-stabilized emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 12: 383-390.

Horne D.S. 1999. Formation and structure of acidified milk gels. *International Dairy Journal* 9: 261-268

Kalab M. 1993. Practical aspects of electron microscopy in dairy research. *Food Structure* 12: 95-114.

Kalab M. 1979. Microstructure of dairy foods 1. Milk products based on protein. *Journal of Dairy Science*. 62:1352-1364.

Keogh, M. K., & O'Kennedy, B. T. 1998. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science, 63*(1): 108-112

Krog N.J. 1997. Food emulsifiers and their chemical and physical properties. In: *Food Emulsions*. Larsson, K., Frieberg, S.E. (Eds.). Marcel Dekker Inc. New York and Basel pp. 127-202

Lehninger, A.L. 1991. *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular*, 2nd edn. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.

Lucey J.A., Munro P.A. y Singh H. 1998. Rheological properties and microstructure of acid milk gels as affected by fat content and heat treatment. *Journal of Food Science* 4: 660-664.

Modler H.W., Kalab M. 1983. Microstructure of togurt stabilized with milk proteins. *Journal of Dairy Science* 66: 430-437.

Mottar J., Bassier A., Joniau M., Baert J. 1989. Effect heat-induced association of proteins micelles on curt texture. *Journal of Dairy Science* 72 (9): 2247-2256.

Ojijo N.K., Neeman I., Eger S. y Shimoni E. 2004. Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. *Journal of the Science of Food and Agricultural* 84: 1585-1593.

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

Parnell-clunies E. Kakuda Y. DeMan J.M. and Cazzola F. 1988. Gelation profiles of yogurt as affected by heat treatment of milk. *Journal of Dairy Science* 71: 582-588.

Puvanenthiran A., Williams R.P.W., Augustin M.A. 2002. Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal* 12: 383-391.

Quintana, J. M., Califano, A. N., Zaritzky, N. E., & Partal, P. 2002. Effect of salt on the rheological properties of low-in-fat o/w emulsions stabilized with polysaccharides. *Food Science and Technology International,* 8(4): 213-221.

Ramaswamy, H. S. and Basak, S. 1991. Rheology of stirred yogurts. *Journal of Texture Studies.* 22: 231-241.

Richardson G., Bergenstahl B., Langton M., Standing M. and Hermansson A.M. 2004. The function of α-crystalline emulsifiers on expanding foam surfaces. *Food Hydrocollods* 18: 655-663

Robles M. J.C., Lobato C.C., Aguirre M.E., Santos M.A., Vernon C.E. 1997. Características texturales de queso Manchego bajo en grasa. Efecto de los sustitutos de grasa. *Avances en Ingeniería Química* 7 (1): 49-54.

Rohm, H. and Alesa Kovac. 1994. Effects of starter cultures on linear viscoelastic and physical properties of yogurt gels. *Journal of Texture Studies* 25: 311-329.

Ross H. 1995. Food components and polymers. USA: Academia Press Inc. pp. 109-156.

Sagalowicz L., Leser M.E., Watzke H.J., Michel M. 2006. Monoglyceride self-assembly structures as delivery vehicles. *Trends in Food Science and Technology* 17: 204-214.

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

Sein, A., Verheij, J. A., & Agterof, W. G. M. 2002. Rheological characterization, crystallization, and gelation behavior of monoglyceride gels. *Journal of Colloid and Interface Science* 249: 412-422.

Tamime A.Y. Kalab M., Muir D.D. y Barrantes E. 1995. The microstructure of set-style, natural yogurt made by substituting microparticulate whey protein for milk fat. *Journal of the Society of Dairy Technology* 48: 107-111.

Tunick, M.H. 2000. Symposium: Dairy products rheology. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. *Journal of Dairy Science, 83,* 1892-1898.

van Vliet T., Roefs S.P.F.M., Zoon P. And Walstra P. 1989. Rheological properties of casein gels. *Journal of Dairy Research* 56: 529-534.

Xiong Y.L., Aguilera J.M. and Kinsella J.E. 1991. Emulsified milk fat effects on rheology of acid-induced milk gels. *Journal of Food Science* 56 (4), 920-925.

Xu Z.M., Emmanouelidou D.G., Raphaelides S.N. y Antoniou K.D. 2008. Effects of heating temperature and fat content on the structure development of set yogurt. *Journal of Food Engineering* 85: 590-597.