

Instituto Politécnico Nacional



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
CIENCIA APLICADA Y TECNOLOGÍA
AVANZADA**

UNIDAD QUERÉTARO

POSGRADO EN TECNOLOGÍA AVANZADA

TESIS

**Estudio reológico de yogur adicionado con
almidón retrogradado**

PRESENTA

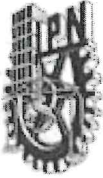
Marco Antonio Dircio Morales

Director de Tesis

Dra. Ma. Guadalupe del Carmen Méndez Montealvo

Dr. Gonzalo Velazquez de la Cruz

Querétaro, Qro. Junio del 2018.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Querétaro siendo las 12 horas del día 13 del mes de Junio del 2018 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICATA-IPN, Qro. para examinar la tesis titulada:

Estudio reológico de yogur adicionado con almidón retrogradado

Presentada por el alumno:

Dircio	Morales	Marco Antonio							
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)							
		Con registro:	B	1	6	1	2	4	5

aspirante de:

Maestría en Tecnología Avanzada

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis


 Dra. Ma. Guadalupe del Carmen Méndez Montealvo


 Dr. Gonzalo Velazquez de la Cruz


 Dr. Pedro Alberto Vázquez Landaverde


 Dr. Eduardo Morales Sánchez


 Dr. Ernesto Hernández Hernández

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


 Dr. Alejandro Alfredo Lozano

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
 CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
 CIENCIA APLICADA
 Y TECNOLOGÍA AVANZADA
 UNIDAD QUERÉTARO
 DIRECCIÓN



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F. el día 13 del mes de junio del año 2018, el que suscribe Marco Antonio Dircio Morales alumno del Programa de Maestría en Tecnología Avanzada, con número de registro B161245, adscrito al Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada unidad Querétaro, manifiesto que es el autor intelectual del presente trabajo de Tesis “Estudio reológico de yogur adicionado con almidón retrogradado” bajo la dirección de la Dra. Ma. Guadalupe del Carmen Méndez Montealvo y el Dr. Gonzalo Velazquez de la Cruz cede los derechos del trabajo titulado al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: Cerro Blanco No. 141, Col Colinas del Cimatario, Santiago de Querétaro, Qro., México. CP. 76090 email: gvelazquezd@ipn.mx y/o cmendez@ipn.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

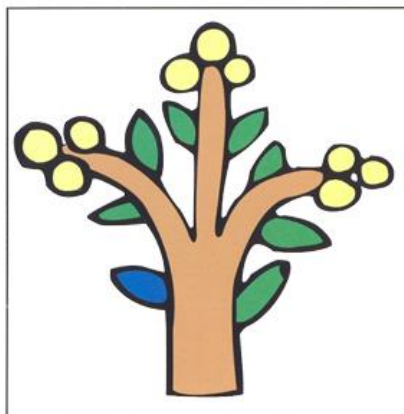
C. Marco Antonio Dircio Morales



El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Química del Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (CICATA-IPN, Qro.), bajo la dirección de la Dra. Ma. Guadalupe del Carmen Méndez Montealvo y el Dr. Gonzalo Velazquez de la Cruz.

Se agradece al Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA, Unidad Saltillo) y al Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI-IPN) y a los doctores Ernesto Hernández Hernández, Heidi Andrea Fonseca Florido y Perla Osorio Díaz por el apoyo otorgado durante el desarrollo del proyecto.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada que sirvió como apoyo durante mi permanencia en la maestría.



CEPROBI - IPN



Agradecimientos

Antes que nada, quiero dar gracias a Dios por siempre acompañarme, por su amor y bendiciones que me trajeron hasta aquí. Por darme el mayor regalo: la vida y la fuerza para seguir cada día.

Quiero agradecer a mis asesores: la Dra. Lupita y el Dr. Gonzalo por permitirme formar parte de su grupo de trabajo. Por sus enseñanzas, paciencia, apoyo y confianza durante el desarrollo de este proyecto.

A los miembros de mi comité tutorial: el Dr. Pedro Alberto Vázquez Landaverde, Dr. Eduardo Morales Sánchez y el Dr. Ernesto Hernández Hernández por sus sugerencias y comentarios que sirvieron para mejorar este proyecto.

Gracias a mis padres y mis hermanos, Jonathan, Jocelyn, Karen, Eli, Migue y Pau, porque nunca me han abandonado, por guiarme en esta aventura, por el amor infinito e incondicional.

A mis amigos y compañeros de casa Fanny, Obed y Olguin porque hicieron que estos años viviendo juntos fueran los mejores. Gracias porque somos una familia.

Quiero agradecer a mis amigos que más que amigos son mis hermanos Rudy, Jimmy, Estefany y Quiñones, gracias por sus consejos, por su confianza, amistad y cariño, y sobre todo porque siempre han estado apoyándome, alentándome, infinitas gracias.

Gracias a mis amigos y compañeros de CICATA por esas horas de risas y buenos momentos.

Dedicatoria

Con todo mi amor y cariño para mis padres, sin ellos esto no sería posible. Para mis sobrinos Keyla y Dylan que han traído alegría a la familia.

**“Cada caída es una oportunidad
para levantarse”**

Anónimo



Índice

Tabla de contenido

Índice.....	8
Índice de tablas y figuras	9
Resumen.....	11
Abstract	12
Capítulo 1. Introducción.....	13
Capítulo 2. Marco Teórico	15
2.1. Reología en alimentos.....	15
2.1.1.2. Métodos dinámicos u oscilatorios.....	23
2.2. Reología del yogur	27
2.3. Propiedades físicas y químicas del yogur	29
2.4. Yogur como alimento funcional	30
2.5. Probióticos.....	30
2.6. Prebióticos.....	31
2.7. Almidón.....	32
2.8. Almidón resistente	33
Capítulo 3. Justificación.....	36
Capítulo 4. Hipótesis.....	37
Capítulo 5. Objetivos.....	38
Capítulo 6. Metodología	39
6.1. Obtención de almidón retrogradado	39
6.2. Sinéresis.....	39
6.3. Mediciones reológicas	39
6.4. Cuantificación del AT y AR.....	41
Capítulo 7. Resultados.....	42
Capítulo 8. Conclusiones	61



Índice de tablas y figuras

Figura 1. Ciclo de histéresis observado para un fluido tixotrópico (Ibarrola, 2018).....	16
Figura 2. Ciclo de histéresis para un fluido reopéctico (Ibarrola, 2018)	17
Figura 3. Elemento de Maxwell.....	19
Figura 4. Prueba de esfuerzo constante o recuperación	20
Figura 5. Relación deformación-tiempo de un cuerpo viscoelástico bajo un esfuerzo constante.	21
Figura 6. Curva de modelo de creep (Bourne, 2002).	22
Figura 7. Deformación oscilatoria y respuesta del esfuerzo, mostrando el ángulo de fase entre estímulo y respuesta.	24
Figura 8. Respuesta de materiales viscoelásticos durante la gelación	24
Figura 9. Respuesta de un material real sometido a un ensayo oscilatorio.	25
Figura 10. Capacidad de retención de agua (sinéresis) del yogur bebible con 30% de amilosa de almidón retrogradado a diferentes concentraciones y almacenado a los 0, 7 y 14 días.....	42
Figura 11. Capacidad de retención de agua (sinéresis) del yogur bebible con 70% de amilosa de almidón retrogradado a diferentes concentraciones y almacenado a los 0, 7 y 14 días.....	43
Figura 12. Comportamiento tixotrópico de yogur control a día cero (cd0) y con 30% de amilosa con 7.5% de sólidos a los 7 días de almacenamiento (30A7.5c7d).....	45
Figura 13. Comportamiento de yogur con almidón retrogradado con 30 y 70% de amilosa en función de n (índice de comportamiento de fluido, obtenido por modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia).	46
Figura 14. Comportamiento de yogur con almidón retrogradado con 30 y 70% de amilosa en función de K (índice de consistencia), obtenido por modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia).....	48
Figura 15. Reograma de barrido de deformación de 0.01-1% de deformación a yogur control y con 30% de amilosa, 5% de sólidos (p/p) a 7 días de almacenamiento a 10°C.....	50
Figura 16. Reograma de barrido de frecuencia de 0.05 a 5 Hz en yogur con almidón retrogradado con 30% de amilosa a diferentes concentraciones, c (control), a tiempo cero de almacenamiento.	51
Figura 17. Reograma de barrido de frecuencia de 0.05 a 5 Hz en yogur con almidón retrogradado con 70% de amilosa a diferentes concentraciones, c (control), a tiempo cero de almacenamiento.	52

Figura 18. Curvas de prueba de cedencia- recuperación en yogur bebible con 30 y 70% de amilosa almacenado durante 7 días.	60
Figura 19. Porcentaje de almidón total para los yogures almacenados durante 7 días.....	61
Figura 20. Porcentaje de almidón resistente para los yogurts almacenados durante 7 días. 61	
Figura 21. Micrografías electrónicas de barrido de los polvos de almidón retrogradado con 70% (lado izquierdo) y 30% (lado derecho) de amilosa.	61
Figura 22. Micrografías electrónicas de barrido de yogurt control (lado izquierdo); muestra de yogur con 30% de amilosa y 7.5% de sólidos (centro); muestra de yogur con 70% de amilosa y 7.5% de sólidos (lado derecho).....	61
Tabla 1. Parametros del modelo de Ostwald-de Waele	47
Tabla 2. Cuadro comparativo de pruebas oscilatorias en yogur bebible adicionado con almidón retrogradado con 30% de amilosa a 0, 7 y 14 días de almacenamiento. G' (módulo de almacenamiento), G'' (módulo de pérdida), $\alpha\omega$ (frecuencia), $\tan \delta$ (ángulo de desfasamiento), η^* (viscosidad aparente), [] (concentración en p/p).	53
Tabla 3. Cuadro comparativo de pruebas oscilatorias en yogur bebible adicionado con almidón retrogradado con 70% de amilosa a 0, 7 y 14 días de almacenamiento. G' (módulo de almacenamiento), G'' (módulo de pérdida), $\alpha\omega$ (frecuencia), $\tan \delta$ (ángulo de desfasamiento), η^* (viscosidad aparente), [] (concentración en p/p).	55
Tabla 4. Parametros reológicos del modelo de Maxwell de yogur bebible con almidón retrogradado con 30% de amilosa evaluado a los 0. 7 y 14 días de almacenamiento. Donde J_0 (deformación instantánea), J_1 (deformación retardada), μ_0 (viscosidad), λ_{ret} (tiempo de relajación), [] (concentración en p/p).....	57
Tabla 5. Parametros reológicos del modelo de Maxwell de yogur bebible con almidón retrogradado con 70% de amilosa evaluado a los 0. 7 y 14 días de almacenamiento. Donde J_0 (deformación instantánea), J_1 (deformación retardada), μ_0 (viscosidad), λ_{ret} (tiempo de relajación), [] (concentración en p/p).....	59



Resumen

El yogur es uno de los productos de mayor aceptación y comercialización a nivel mundial debido a su sabor y a la amplia gama de beneficios a la salud. Sin embargo, uno de sus mayores defectos tecnológicos es la pérdida en su calidad debido a la poca estabilidad en la matriz ocasionando una disminución de su viscosidad y aumento de su sinéresis durante el almacenamiento. Una de las alternativas para mejorar su calidad es el uso de almidones como el almidón retrogradado, el cual contiene una fracción de almidón resistente. Diversos estudios han demostrado que su incorporación en la formulación de los alimentos modifica las propiedades fisicoquímicas, incluyendo la textura. De la misma forma, debido a la mínima digestibilidad, su efecto se asemeja a la fibra dietética, mejorando la estabilidad del producto y reduciendo la cantidad de carbohidratos disponibles.

El presente trabajo consiste en modificar las propiedades de un yogur comercial bebible adicionando almidón retrogradado para aumentar la estabilidad y reducir la sinéresis. Para lograr este objetivo, fue necesario analizar las propiedades reológicas del yogur adicionado con almidón retrogradado a diferentes concentraciones y almacenado durante 14 días en refrigeración. El almidón retrogradado se obtuvo del almidón de maíz con diferentes contenidos de amilosa para evaluar la estabilidad del sistema y las modificaciones que presentó el yogur. La adición de almidón retrogradado no solo incrementó la viscosidad del yogur, sino que además estabilizó al sistema otorgando mayor firmeza al gel debido a su capacidad de retención de agua, disminuyendo su sinéresis y proporcionando cierto porcentaje de almidón resistente tipo 3 (AR3).

Palabras clave: almidón retrogradado, almidón resistente, yogurt, reología



Abstract

Yogurt is one of the most acceptable and widespread global marketing dairy product, because of its flavor and the huge benefits that provide to human health. However, one of its greatest technological defect is the quality lost because of the matrix' low stability inducing a decreasing in the viscosity and an increasing syneresis during storage. An alternative to improve its quality is the used of starches such like retrograded starch, that contains a fraction of resistant starch. Many studies have demonstrated that including into food formulation, modified physicochemical properties even texture. In the same way, due to minimal digestibility, its effect is same to dietary fiber that just not only improve stability's product, but reduces the amount of the disponibility of carbohydrates.

The present work consists in the addition of retrograded starch into a comercial drinking yogurt adding retrograded starch in order to increase stability and reducing syneresis. To accomplish this goal, it required to analyze rheological properties of yogurt adding retrograded starch in differents concetrations and storage for 14 days in refrigeration. This retrograded starch was obtained from native maize starch with different amylose amounts to assess stability and modifications of yogurt. The addition of retrograded starch not only increases viscosity besides stabilized the system giving more steadiness to the gel due to its water retention capability, decreasing syneresis and also providing a percentage of resistan starch type 3 (RS3).

Key words: retrograded starch, resistant starch, yogurt, rheology



Capítulo 1. Introducción

Desde el punto de vista reológico, la viscoelasticidad engloba el comportamiento de muchos fluidos que pueden exhibir elasticidad y flujo cuando son sometidos a un esfuerzo de cizallamiento. La mayor parte de las pastas y emulsiones concentradas, así como los geles, suelen mostrar viscoelasticidad. A bajas deformaciones, el fluido viscoelástico se comporta literalmente como un sólido elástico. A altas deformaciones, estos fluyen de forma viscosa; es decir, como líquidos. La viscoelasticidad de los fluidos puede evaluarse por varios procedimientos experimentales, de los cuales pueden destacarse los experimentos de relajación del esfuerzo, cedencia a la deformación, recuperación de la deformación y pruebas oscilatorias.

Debido a su relevancia industrial, el yogur ha sido ampliamente estudiado. Es producido por la fermentación de bacterias ácido-lácticas de la leche siendo uno de los principales productos que se comercializan a nivel mundial. Hoy en día, se considera al yogur como un alimento funcional puesto que contiene probióticos y prebióticos que ayudan y protegen la flora intestinal, la cual tiene importancia significativa para el organismo. El objetivo principal de los alimentos funcionales es proveer de algún ingrediente específico, ya sea añadido o modificado en el alimento y que produzca un beneficio sobre la salud. El yogur es uno de los alimentos con mayor aceptación en el mercado global. Así mismo, la adición de fibra dietética en los productos lácteos es uno de los campos de los alimentos funcionales (Razaei *et al.*, 2015). La fibra dietética tiene importantes funciones en la salud incluyendo la regulación de los movimientos intestinales (Razaei *et al.*, 2015). La fibra puede aumentar la textura y las propiedades sensoriales de los alimentos debido a su capacidad de interaccionar con el agua para formar geles o mejorar las propiedades de estructura en los alimentos (Soukoulis *et al.*, 2009). El almidón resistente (AR) es una fracción de almidón que puede resistir la digestión hasta llegar al colón (Fuentes-Zaragoza *et al.*, 2011). El almidón resistente se encuentra de forma natural en frutas (Lehman *et al.*, 2002; BelloPérez *et al.*,

2006), leguminosas (Vargas-Torres *et al.*, 2006) y tubérculos (Lösel y Claus, 2005). Sus propiedades fisiológicas son similares a la fibra soluble y puede ser fermentado por una gran cantidad de microorganismos que son útiles en el colón (Dundar y Gocmen, 2013).

Estudios anteriores, como los realizados por Rezaei *et al.* (2015), han demostrado que la adición de almidón resistente al yogur congelado aumenta la estabilidad y propiedades reológicas, además de generar un efecto benéfico para la salud, ya que actúa como fibra dietética ayudando a la acción de la microbiota intestinal.



Capítulo 2. Marco Teórico

2.1. Reología en alimentos

De acuerdo con Alvarado (2013), la relación que existe entre el esfuerzo (τ) requerido para inducir una determinada velocidad de deformación de cizallamiento (dv/dx), es lo que define el comportamiento reológico de un fluido. Aquellos fluidos que mantienen la consistencia constante de manera independiente de la velocidad de corte son conocidos como Newtonianos, sin embargo aquellos que su consistencia depende de la velocidad se denominan no-Newtonianos. La mayoría de los alimentos se comportan como fluidos no-Newtonianos. Así, Alvarado menciona una clasificación propuesta por Gasperetto en 1983, agrupando a los fluidos no-Newtonianos en tres grupos: aquellos que se comportan de manera independiente del tiempo cuando son sometidos a un esfuerzo; fluidos dependientes del tiempo y viscoelásticos.

Dentro de los fluidos independientes del tiempo se encuentran los reofluidizantes y reoespesantes los cuales cambian su viscosidad conforme aumenta la velocidad de corte. La viscosidad se denomina como la resistencia a flujo. En los reofluidizantes, conocidos también como pseudoplásticos, la viscosidad disminuye conforme aumenta la velocidad de corte o cizallamiento. Contrario a ellos, en los reoespesantes (dilatantes) la viscosidad aumenta en medida que incrementa la velocidad de corte.

Se conocen varios modelos reológicos para representar estos fluidos (Núñez-Santiago *et al.*, 2001), entre ellos el modelo de Ostwald de Waele o ley de la potencia, la cual esta dada por la ecuación 1.

$$\tau = k(\dot{\gamma})^n$$

Ecuación 1

Despejando la Ecuación 1, transformandola en ecuación de la recta queda de la siguiente manera:

$$\log \tau = \log K + n \log \dot{\gamma} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde K es el índice de consistencia y n es el índice de comportamiento de flujo. El término entre paréntesis se denomina velocidad de corte ($\dot{\gamma}$). Debido a que n determina el modo en que se desarrolla el flujo, si n es menor a 1 el fluido se denomina reofluidizante. Por el contrario, cuando n es mayor a 1 el fluido se denomina reoespesante. La mayoría de los fluidos no-Newtonianos son reofluidizantes: jugos y puré de frutas y salsas, así como algunos polímeros fundidos como el poliestireno. Los fluidos reoespesantes son más raros, como el cemento y las suspensiones concentradas de almidón de maíz.

Por otra parte, dentro de los fluidos dependientes del tiempo se encuentran los tixotrópicos y los reopécticos. La tixotropía es una disminución de la viscosidad aparente cuando se aplica una velocidad de corte, seguida de una recuperación gradual cuando dicho esfuerzo se le retira. El efecto de la tixotropía en una muestra podría ser observado por la Figura 1, donde se presenta una reducción en la viscosidad después de la aplicación previa de una cizalla; de esta forma se observa un ciclo de histéresis denominado ciclo de tixotropía, al medirse una viscosidad mayor al incrementar la velocidad de corte, esta viscosidad disminuye paulatinamente al reducir nuevamente la velocidad de cizalla.

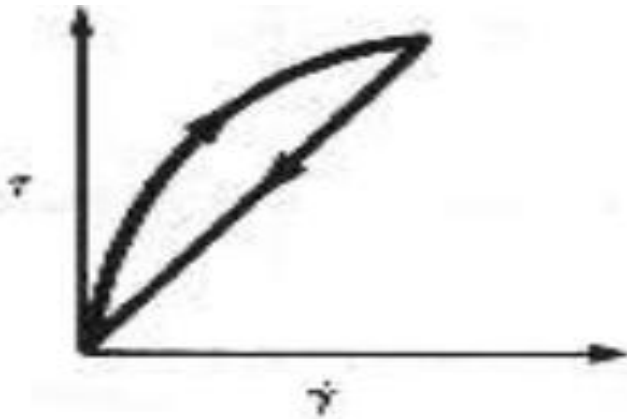


Figura 1. Ciclo de histéresis observado para un fluido tixotrópico (Ibarrola, 2018).

Por otra parte, los fluidos reopécticos presentan un comportamiento inverso a la tixotropía (Figura 2), que se manifiesta en un incremento de la viscosidad aparente cuando aumenta la velocidad de corte, materiales como el poliéster son fluidos reopécticos. Ambos tipos de comportamientos, tixotropía y reopexia, presentan el fenómeno de histéresis cuando se realiza la curva τ vs $\dot{\gamma}$ (Núñez-Santiago *et al.*, 2001). La histéresis es un proceso de deformación en el que las fases de carga y descarga no coinciden, por lo que se forma el bucle (Ibarrola, 2018).

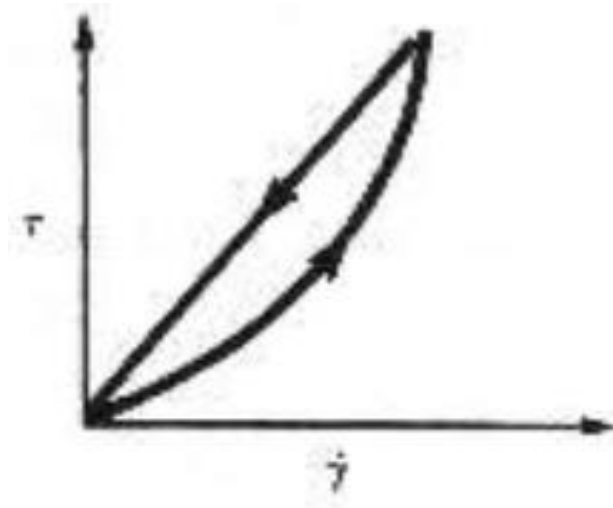


Figura 2. Ciclo de histéresis para un fluido reopéctico (Ibarrola, 2018)

Por otra parte la mayoría de los materiales manifiestan simultáneamente flujo viscoso y elasticidad, fenómeno conocido como viscoelasticidad. Estos materiales se caracterizan por la presencia de una estructura tridimensional incompleta que se destruye por aplicación de un esfuerzo y sólo se recupera parcialmente cuando el esfuerzo es removido. Mientras más completa y resistente a la ruptura es la estructura, más pronunciada es su elasticidad, y mientras más fácil se rompa su estructura, mayor es su comportamiento viscoso (Borwankar & Shoemaker, 1992; Steffe, 1992).

De hecho, cuando se mide el comportamiento reológico de estos materiales en un intervalo de esfuerzos o deformaciones, se pueden encontrar dos grandes grupos: aquellos considerados como viscoelásticos lineales, en los cuales las

propiedades viscoelásticas están en función del tiempo y no de la magnitud de la deformación ni de la velocidad de deformación.

La otra clase de materiales viscoelásticos son los no lineales que exhiben propiedades mecánicas en función del tiempo y de la magnitud del esfuerzo aplicado. Y como se mencionó anteriormente, presentan comportamiento tanto viscoso como elástico, como ejemplos se pueden mencionar los polímeros orgánicos, materiales de construcción, plásticos, etc.

2.1.1. Métodos para determinación de viscoelasticidad

En la práctica, todos los materiales que exhiben propiedades viscoelásticas son, en general, no lineales. Es decir, que muestran comportamiento no-Newtoniano al someterse a cierto esfuerzo, o bien, no siguen la ley de Hooke al someterse a una deformación constante (Muller, 1973; Sherman, 1979). Esta ley dicta que la deformación de un material elástico es directamente proporcional al esfuerzo aplicado. De esta forma si se aplica un esfuerzo sobre un sólido elástico este tiende a deformarse hasta que la fuerza cesa y recupera su deformación inicial, por otra parte, si dicho esfuerzo es aplicado sobre un líquido, éste se deforma sin recuperar su forma inicial cuando cesa la fuerza.

Mientras que los materiales viscoelásticos al presentar una respuesta no lineal a la de deformación y debido a su capacidad de recuperar su estructura almacenando energía, muestran una deformación permanente menor que la deformación total aplicada a la muestra, es decir, a bajas deformaciones los fluidos viscoelásticos se comportan como sólidos elásticos. Sin embargo, si la magnitud de la deformación se excede, la estructura interna del sistema se colapsa produciendo el flujo de los materiales.

Una forma sencilla de explicar este comportamiento viscoelástico es mediante el modelo de Maxwell (Figura 3). Dicho modelo consiste en un resorte y un pistón en serie, donde el resorte representa la respuesta elástica del fluido y el pistón el flujo viscoso (Rojas, et al., 2012).

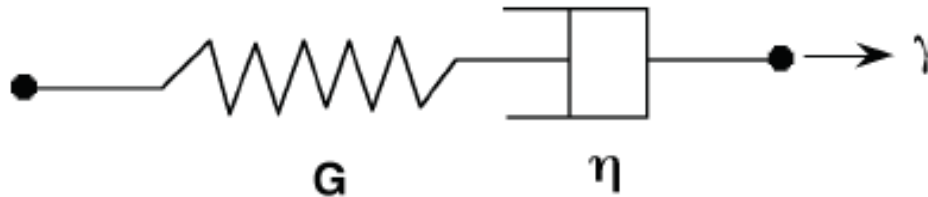


Figura 3. Elemento de Maxwell

Donde al aplicar una deformación relativa γ en la Figura 3, el resorte reacciona primero provocando el movimiento del pistón, pero una vez que se retira dicha deformación, el resorte regresa a su forma original, usando la energía que almacenó durante su deformación. Mientras que el pistón no logra recuperarse puesto que su desplazamiento es permanente. Dicho comportamiento, para un fluido viscoelástico lineal simple, se puede describir en términos del esfuerzo y la tasa de deformación utilizando la Ecuación 3.

$$\tau + \lambda \frac{d\tau}{dt} = \eta_0 \dot{\gamma}$$

Ecuación 3

Donde λ es el tiempo de relajación; $\eta_0 = \Gamma_0 \lambda$ y Γ_0 es el módulo de comportamiento elástico. El tiempo de relajación es el tiempo necesario para que el modelo alcance el 63% de la deformación máxima (Osorio- Tobón, et al., 2005).

Existen diferentes técnicas o parámetros que permiten caracterizar o clasificar estos materiales viscoelásticos. A continuación se describirán algunos de ellos.

2.1.1.1. Prueba de esfuerzo constante o recuperación

En una prueba de esfuerzo constante o recuperación (o creep, en inglés), se aplica un esfuerzo instantáneo a una muestra y se observa la deformación producida a través del tiempo. Los tipos de curvas ideales que se pueden obtener con esta prueba se muestran en la Figura 4 (Tabilo-Munizaga & Barbosa-Cánovas, 2005).

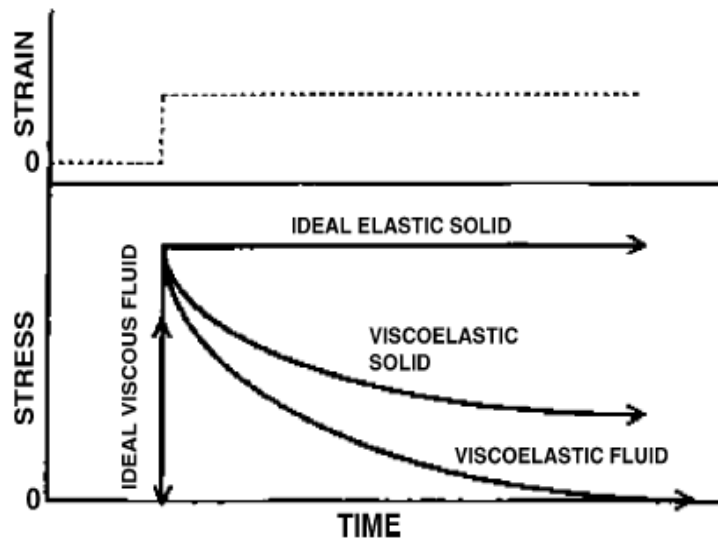


Figura 4. Prueba de esfuerzo constante o recuperación

Para la prueba de cedencia-recuperación, se obtiene básicamente un comportamiento típico mostrado en la Figura 5.

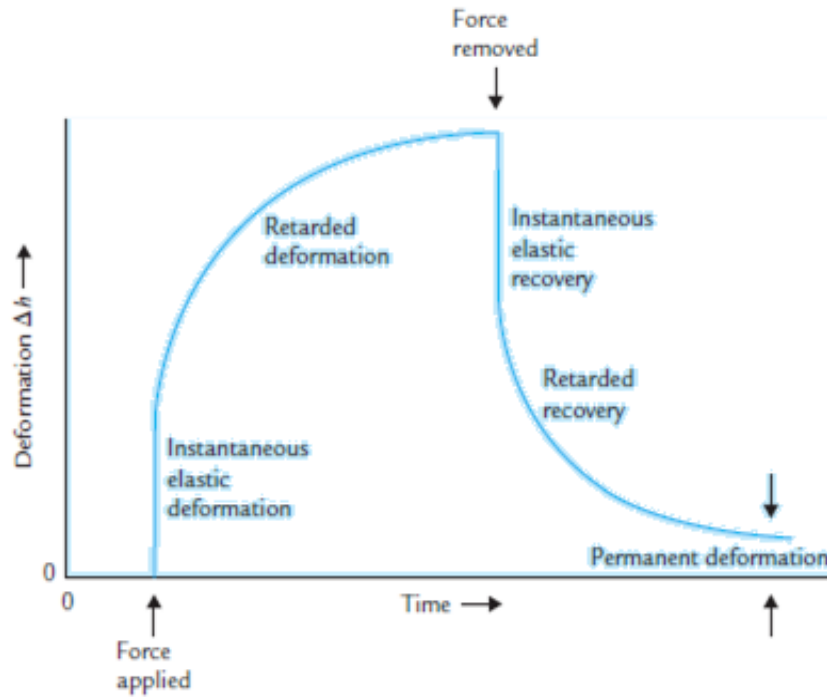


Figura 5. Relación deformación-tiempo de un cuerpo viscoelástico bajo un esfuerzo constante.

De acuerdo con Bourne (2002) una curva típica de cedencia-recuperación se divide en tres secciones:

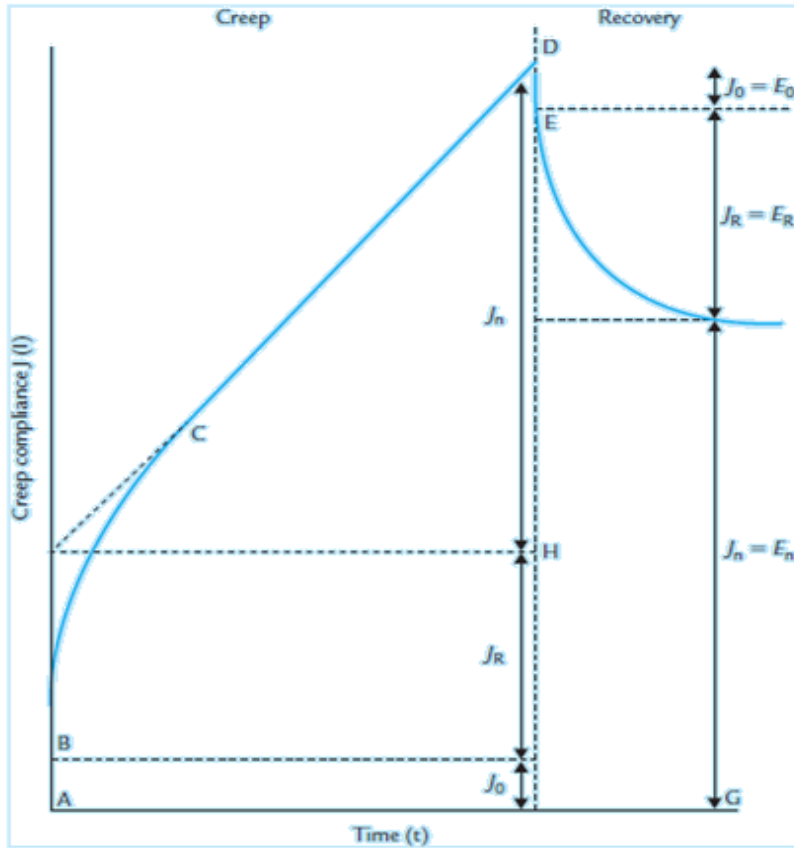


Figura 6. Curva de modelo de creep (Bourne, 2002).

La sección 1, indicada por la letra A, es denotada como cedencia instantánea y tiene como símbolo J_0 descrito por la Ecuación 4.

$$J_0 = \frac{1}{E_0} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde E_0 es el módulo elástico instantáneo (módulo de Young) y $E_0(t)$ es la deformación instantánea.

La sección 2 es la región elástica retardada dependiente del tiempo denotada por B-C y el símbolo J_R descrito por la Ecuación 5.

$$J_R = J_m [1 - \exp(-t/\tau_m)] \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde J_R es la recuperación elástica retardada, J_m es la recuperación elástica principal y τ_m es el tiempo principal retardado.

La sección 3 es la región lineal de la recuperación elástica indicada en la región C-D y por el símbolo J_n la cual es la recuperación Newtoniana.

Cuando el esfuerzo es removido puede existir una recuperación elástica instantánea desde D a E; o una recuperación elástica retardada de E a F. Básicamente, esta prueba de cedencia-recuperación nos permite elucidar el arreglo de la estructura interna de la matriz del sistema al evaluar su comportamiento de elástico y firmeza.

2.1.1.2. Métodos dinámicos u oscilatorios

Otro de los métodos que existe para estudiar a los fluidos viscoelásticos son los métodos dinámicos u oscilatorios. Actualmente, las pruebas dinámicas son el método más común de estudio del comportamiento viscoelástico de muchos materiales, incluyendo a los alimentos, debido a que aportan resultados rápidos como mínimos cambios físicos y químicos (Núñez- Santiago, et al., 2001). Estas mediciones se basan en que la deformación es la misma en todos los puntos de la muestra, así como la inercia de la muestra es predecible y que el material se comporta como una sustancia viscoelástica lineal.

Un experimento oscilatorio (Rojas, et al., 2012) consiste en someter un fluido a un esfuerzo o deformación sinusoidal, dicha deformación puede expresarse en forma matemática como la Ecuación 6.

$$\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t) \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde γ_0 es la amplitud de la onda de deformación y ω es la frecuencia de oscilación. El esfuerzo resultante a la deformación se describe en la Ecuación 7.

$$\tau = \tau_0 \sin(\omega t + \delta) \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde δ es el ángulo de fase. Las ecuaciones para γ y τ se representan en la Figura 7. El ángulo de fase δ es cero para los sólidos elásticos y 90° para los

líquidos Newtonianos. Un fluido viscoelástico exhibe un ángulo de fase entre cero y 90°.

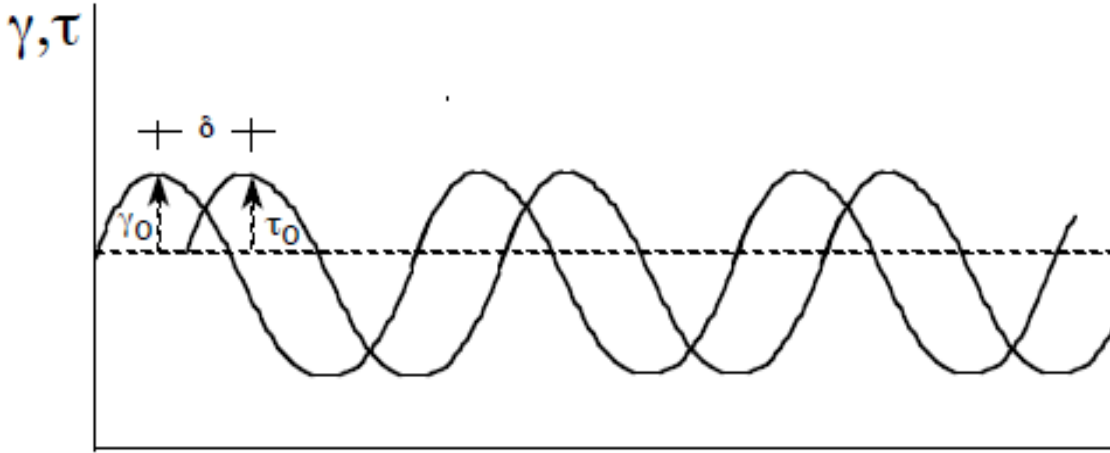


Figura 7. Deformación oscilatoria y respuesta del esfuerzo, mostrando el ángulo de fase entre estímulo y respuesta.

Este comportamiento puede ser descrito mediante números complejos; en tal sentido, el esfuerzo se descompone en dos componentes, un componente en fase y otro fuera de fase, como se describe en la Ecuación 8.

$$G^* = G' + i G''$$

Ecuación 8

Considerando que los geles son materiales viscoelásticos, se usan estas mediciones para estudiar sus características y propiedades como gelación y punto de fusión (Tabilo-Munizaga & Barbosa-Cánovas, 2005).

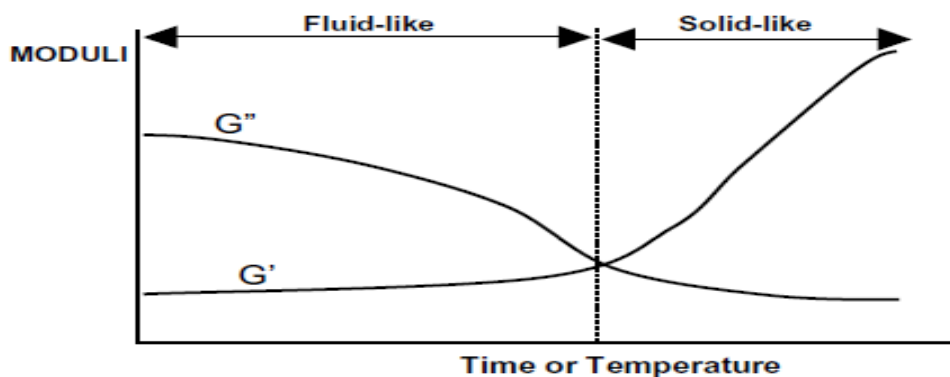


Figura 8. Respuesta de materiales viscoelásticos durante la gelación

En estas pruebas oscilatorias o dinámicas, Figura 8, la señal en fase, G' , también conocido como el módulo de almacenamiento, es una medida de la energía de deformación almacenada de la muestra cuando se le aplica un esfuerzo, representando el comportamiento elástico del material. Por otra parte, y de manera inversa, la señal fuera de fase, G'' , o módulo de pérdida, es una medida de la energía de deformación utilizada y disipada de la muestra durante el esfuerzo que se somete, por lo que representa el comportamiento viscoso del material (Tabilo-Munizaga & Barbosa-Cánovas, 2005).

Como se puede observar en la Figura 8, a bajas frecuencias G'' es mayor que G' , es decir el material se comporta como un líquido. Por otro lado, al aumentar la frecuencia, esta tendencia se invierte y G' es mayor que G'' , el material se estará comportando más como un sólido. La frecuencia en la cual G' y G'' se intersectan da lugar al tiempo característico o tiempo de respuesta del material.

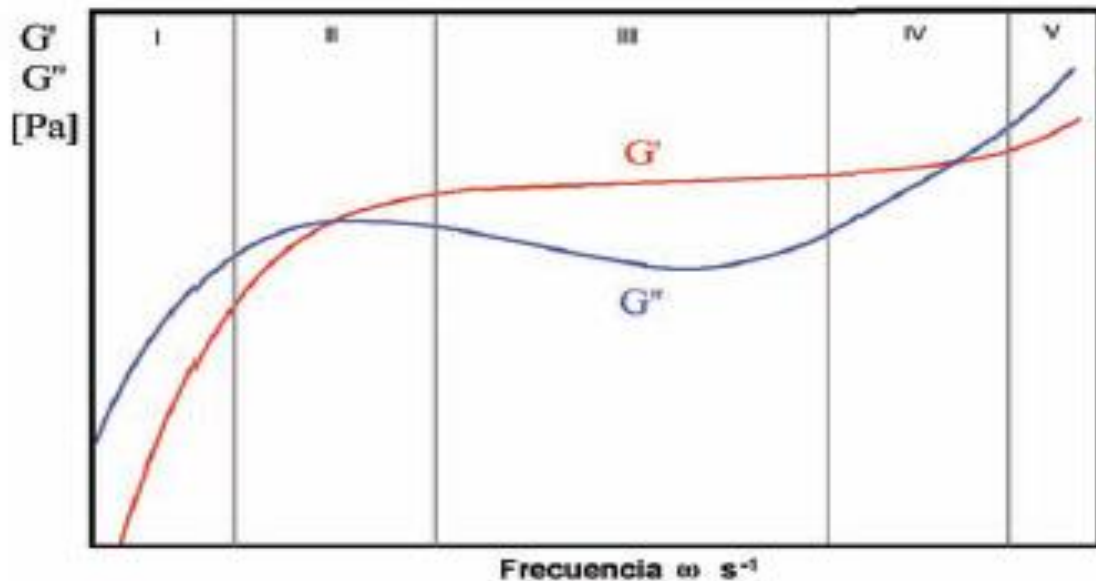


Figura 9. Respuesta de un material real sometido a un ensayo oscilatorio.

De acuerdo a la Figura 9 (Rojas, et al., 2012), se observa que el material pasa por múltiples transiciones en un ensayo oscilatorio. La zona I, conocida como

la zona de flujo o terminal donde G'' predomina, y tal como se mencionó con anterioridad esto indica que predomina un comportamiento viscoso. En esta zona G'' aumenta linealmente con la frecuencia mientras que G' lo hace al cuadrado de la frecuencia.

La zona II es la zona de transición al flujo, esta zona se puede observar a partir de frecuencias elevadas, cuando aun G' es mayor a G'' , se encuentra además un punto de intersección entre los módulos que marca el comienzo del comportamiento viscoso, el inverso de esta frecuencia de corte corresponde al tiempo de respuesta del material (λ), tal como el que se calcula por el modelo de Maxwell.

La zona III o también denominada como zona gomosa, se observa una "meseta" exhibida por G' la cual se considera esencialmente constante en ese rango de frecuencia. En esta zona, el comportamiento elástico predomina y el material, por lo tanto, se comporta como un sólido. En algunos casos cuando la pendiente según la cual disminuye G'' es suficientemente pequeña, se considera que esta zona se aproxima a un comportamiento viscoelástico lineal.

La zona IV corresponde a la zona de transición vítrea donde G'' comienza a aumentar rápidamente y se produce otro corte entre los módulos, lo cual representa un segundo tiempo característico del material. Finalmente, la zona V corresponde a la región cristalina donde G'' predomina.

Tanto el modelo de Ostwald-de Waele, pruebas oscilatorias y de cedencia-recuperación, permiten tener una mayor información y caracterizar un material, por decir alimentos de acuerdo a sus propiedades reológicas, y con base en estas observar sus cambios fisicoquímicos que están relacionadas.

2.2. Reología del yogur

En el campo de los alimentos, se puede enlistar una infinidad de ejemplos, donde además de aroma, el sabor y la apariencia, la viscoelasticidad influye en la aceptación por parte del consumidor. Alimentos como la gelatina, la clara de huevo cocida, salchichas y surimi son considerados geles (Tabilo-Munizaga & Barbosa-Cánovas, 2005), ya que de acuerdo con Tabilo-Munizaga & Barbosa-Cánovas (2005) un gel es un coloide de dos fases, una sólida y una líquida, donde la fase sólida forma una estructura de red que atrapa el agua otorgando propiedades similares a un sólido. Así mismo, estos investigadores afirman que las macromoléculas responsables para la formación de estas estructuras en forma de red se deben a las proteínas y a los polisacáridos.

El yogur es un gel de proteínas de partículas agregadas de caseína que se forman si no existe una perturbación mecánica (Rönnegard & Dejmek, 1993). De igual manera, Rönnegard & Dejmek mencionan que los cambios en el pH y la temperatura de las micelas de caseína también juegan un papel importante para la formación del gel, ya que permiten que se lleve a cabo la agregación de las caseínas, descrito anteriormente por Heertje *et al.* (1985) y Roefs *et al.* (1985).

Por otra parte, en 2009, Gauche *et al.*, encontraron que el yogur con una adición de un 30% de suero de leche, presenta un comportamiento dependiente del tiempo y una disminución del índice de consistencia. Una nueva alternativa creciente para la formulación de yogur es la utilización de almidones nativos o modificados, ya que mejoran dichas propiedades fisicoquímicas y reológicas, para alargar la vida de anaquel del producto (Anaya-Torres, et al., 2016).

Por otro lado, investigadores como Andrade et al., (2010), evaluaron el efecto de la adición de fibra de salvado de trigo (0, 1, 3, 5% p/v) y el tiempo de almacenamiento en el comportamiento reológico de un yogur de leche de búfala, donde encontraron que el yogur presentaba un comportamiento reofluidizante y tixotrópico. La adición del salvado de trigo influyó de manera directamente proporcional al índice de consistencia y directamente proporcional al índice de flujo, siendo menos consistente y con una tendencia a fluido newtoniano, esto

debido a una pérdida en la firmeza de la matriz proteica teniendo mayor sinéresis y pérdida de la consistencia.

Mientras que Anaya-Torres et al. (2016) analizaron el efecto de almidones nativos (maíz y trigo) sobre las propiedades del yogur de leche de cabra encontrando un aumento en la acidez esto se pudo deber a la disponibilidad de otro tipo de carbohidratos provenientes del propio almidón, así mismo se reduce su sinéresis siendo que los almidones son utilizados para la retención de agua en la estructura de geles débiles como encontraron que aunque el módulo de almacenamiento G' predominó sobre G'' su región viscoelástica lineal se encontró en un rango de deformación de 0.01 a 0.1% característico de un gel débil. Así mismo, Lobato-Calleros et al. (2014), encontraron que al adicionar almidones modificados (tapioca y de maíz ceroso) y almidón nativo de maíz, como sustitutos de grasas en yogurts con leche de vaca promovieron la formación de geles más estables.

2.3. Propiedades físicas y químicas del yogur

En el mercado el yogur se puede encontrar comúnmente de dos formas, asentado o batido (Macedo-y-Ramírez & Vélez-Ruíz, 2015) y bebible, en estos la consistencia y la sinéresis son dos propiedades de gran importancia para el consumidor y el productor, puesto que determina la calidad del producto (Tamime & Robinson, 1999) (Vélez & Rivas, 2001) (Ramirez- Santiago, et al., 2010) (Vélez-Ruiz, et al., 2012).

Las diferencias entre ambos tipos de yogur, bebible y batido, radican principalmente en su proceso de elaboración (Vera-Balcázar, 2011): el yogur batido es el producto en el que la inoculación de la leche pasteurizada se realiza en tanques de incubación produciéndose en ellos la coagulación, luego se bate y posteriormente se envasa. En cuanto al yogur bebible, su elaboración es similar al batido, pero antes del envasado es sometido a un proceso para romper el gel y así obtener una forma líquida.

Diversos estudios han demostrado que la adición de nuevos ingredientes, entre ellos prebióticos como la fibra y almidones modificados, modifica la estructura del gel tanto física como químicamente, por lo que es importante conocer los efectos (Andrade, et al., 2010).

De acuerdo con Vélez & Rivas (2001) los defectos del yogur comercial se relacionan más con alteraciones en sus características físicas y sensoriales, que por contaminación microbiológica. Entre los defectos más importantes que estos investigadores destacan son las variaciones en la viscosidad y separación del suero (sinéresis), esto se debe a la falta de fuerza del gel en el caso del yogur asentado y disminución de la viscosidad en el yogur bebible. Así mismo, indican que el incremento en el contenido de sólidos no grasos en la leche en un rango de 8.5-9% logra mejorar la fuerza del gel en el yogur asentado y la viscosidad en el caso del yogur bebible.

2.4. Yogur como alimento funcional

De acuerdo con el Gobierno de Japón, en 1984, se definieron a los alimentos funcionales como productos alimenticios fortificados con ingredientes específicos que otorgan favorables efectos fisiológicos (Hardy, 2000) (Stanton, et al., 2005). Estos pueden ser alimentos naturales a los cuales se les ha añadido, eliminado o modificado un componente por medios biotecnológicos, o aquellos alimentos en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes o una combinación de cualquiera de estas posibilidades (Parra & Ricardo, 2012) (Ferrer & Dalmau, 2001). El efecto positivo de un alimento funcional puede ser tanto en el mantenimiento del estado de salud como en la reducción de padecer una enfermedad (Diplock, et al., 1991). Es por eso que además de ser un excelente alimento de origen lácteo, el yogur es un medio adecuado para la incorporación de nutrientes como la fibra, calcio, entre otros, así como la adición de prebióticos y probióticos (Vélez- Ruiz, et al., 2012) (Aportela- Palacios, et al., 2005) (Vélez- Ruiz, 2008) (Tamjidi, et al., 2012).

2.5. Probióticos

La nueva tecnología de alimentos funcionales es la adición de probióticos, que son microorganismos vivos agregados como suplementos en la dieta, beneficiando al desarrollo de la flora microbiana en el intestino (Fuller, 1989).

Los probióticos estimulan las funciones protectoras del sistema digestivo. Una vez que se encuentran dentro del intestino, estos microorganismos tienen un efecto protector ya que inhiben la multiplicación de los patógenos y la producción de sus toxinas (Cagigas & Blanco, 2002). Debido a que las bacterias ácido lácticas utilizan azúcares como la glucosa y la lactosa para la producción de ácido acético mediante la fermentación (Penna, 1998), el yogur tiene las condiciones necesarias para ser considerado como un alimento probiótico, ya que contiene microorganismos vivos, y una parte de ellos pueden permanecer en el sistema intestinal e interactúan con la flora bacteriana (Marcos, 2000).

2.6. Prebióticos

Los prebióticos son ingredientes que son adicionados a un alimento en específico, con el propósito de producir beneficios estimulando el crecimiento y/o actividad de las bacterias que habitan en el colon (Cagigas & Blanco, 2002), lo que a su vez eleva el potencial de salud del hospedero. Estos son principalmente componentes de fructo y galacto oligosacáridos (Torres, 1999); de igual manera se incluye a la fibra dietética, definida por Trowel *et al.* (1996) como diferentes compuestos de origen vegetal que presentan como común denominador, macromoléculas no digeribles, debido a que las enzimas del intestino humano no pueden hidrolizarlas (Trowell, et al., 1976).

Toda fibra dietética llega al intestino grueso sin haber sido transformada digestivamente. Las bacterias del colon, con sus numerosas enzimas digestivas de alta actividad metabólica, la pueden digerir en mayor o menor medida dependiendo de su composición química y de su estructura (De las Cagigas-Reig & Blanco-Anesto, 2002). De esta fermentación se obtienen como producto ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales son volátiles y son absorbidos rápidamente. De estos AGCC se obtienen principalmente butirato, acetato y propionato. El butirato aporta mayor cantidad de energía y desempeña importantes funciones en la biología del colon (Velazquéz, et al., 1996): suministra la mayor parte de la energía que necesitan las células de la mucosa colónica, además de que estimula el crecimiento y la diferenciación de las células, y también inhibe el crecimiento de las células tumorales. Por eso la fibra otorga beneficios a la salud como la disminución del índice glucémico, colesterol y prevención de enfermedades cardiovasculares, entre otros.

Es por ello que surge la necesidad de crear alimentos funcionales adicionados principalmente con prebióticos.

2.7. Almidón

Por sus propiedades funcionales, el almidón es ampliamente usado en diversos alimentos como salsas, sopas, repostería y productos lácteos, entre otros (Waterschoot, et al., 2014). Sin embargo, el uso de almidones nativos en aplicaciones industriales es limitado puesto que presentan baja resistencia a la deformación, a altas temperaturas y a ácidos, así como baja capacidad de gelificación, elevada tendencia a retrogradar y/o su baja estabilidad durante los ciclos de congelación-descongelación (Waterschoot, et al., 2014).

Además, debido a su tamaño y complejidad, el gránulo de almidón nativo no es digerible por el organismo humano puesto que presenta una estructura semicristalina, por lo que se deben utilizar procesos de calor y humedad para transformarlo (Pineda-Gómez, et al., 2010). La gelatinización es quizá la transición más importante del almidón. Es un proceso térmico que sufre cuando los gránulos se hidratan al calentarse en un medio acuoso lo que origina la pérdida del orden molecular dentro del gránulo cambiando su forma semicristalina a una amorfa (Gómez-Aldapa & Tovar-Benítez, 2008), iniciando con la lixiviación de la amilosa al medio. En este punto el hinchamiento es irreversible debido a la disociación de las dobles hélices de la amilopectina. Las moléculas de amilosa que se encuentran fuera del gránulo forman una malla tridimensional produciendo un gel (Gómez-Aldapa & Tovar-Benítez, 2008). Los geles formados presentan diferentes propiedades dependiendo del contenido de amilosa y amilopectina. Por ejemplo, el almidón modificado de maíz céreo o *waxy* no contiene amilosa, por lo que no forma geles. A diferencia de los almidones normales (contenido aproximado de 27% de amilosa) y de los altos en amilosa (aproximadamente 55-70%) que sí forman geles.

Por otra parte, la retrogradación es el proceso inverso a la gelatinización, donde el almidón gelatinizado se reorganiza de un estado amorfo a uno cristalino. La velocidad de retrogradación del almidón está determinada por factores como la proporción entre la amilopectina y la amilosa (Jane & Chen, 1992) (Klucinec &

Thompson, 2002), así como el contenido y la interacción de lípidos con la amilosa y la amilopectina (Gudmundsson & Eliasson, 1990) (Ward, et al., 1994), los cuales están determinados principalmente por la fuente botánica del almidón (Ottenhof, et al., 2005), pero también por las condiciones de almacenamiento de los productos ricos en este polímero (Fernández, et al., 1999).

Es por ello que el porcentaje de amilosa y amilopectina juegan un papel importante durante la gelatinización y retrogradación del almidón ya que estas diferencias otorgan diferentes características a los geles las cuales se ven reflejadas en sus propiedades reológicas, como el aumento en la viscosidad y en los módulos de almacenamiento y pérdida (G' y G'').

2.8. Almidón resistente

Como se mencionó anteriormente, la aplicación del almidón en alimentos ha tenido mayor demanda en los últimos años, sin embargo el uso de almidón nativo es muy poco usado por lo que es necesario modificarlo por diferentes tratamientos químicos, físicos o enzimáticos. Por otro lado, de acuerdo a la acción de las enzimas y la velocidad de digestión, el almidón se clasifica en tres fracciones de rápida digestión (ARD), lenta digestión (ALD) y almidón resistente (AR) (Raigond, et al., 2015). La primera fracción es aquella que en un lapso de 20 minutos es convertida por las enzimas en moléculas de glucosa. Por otro lado, el ALD el tiempo de digestión por las enzimas es de 120 minutos para convertirlo en glucosa. Finalmente, la fracción de almidón que resiste la digestión se le conoce como almidón resistente (Langkilde, et al., 2002) y además puede ser fermentado en el colon (Englyst & Cummings, 1982). Las semillas, cereales, granos y algunos frutos contienen de forma natural porcentajes de almidón resistente. El plátano verde es la fuente que contienen altos porcentajes de almidón resistente (47-57%) (Rodríguez, et al., 2008) así como la papa cruda con un contenido de 75% (Bednar, et al., 2001).

El almidón resistente (AR) se puede cuantificar como la diferencia entre el almidón total (AT) y la suma entre el almidón de digestión rápida (ADR) y el

almidón de digestión lenta (ADL) (Sajilata, et al., 2006) como se describe en la Ecuación 9.

$$\mathbf{AR = AT - (ADR + ADL)} \qquad \text{Ecuación 9}$$

De acuerdo a la forma de obtención, el almidón resistente se clasifica en cinco tipos (Champ, 2004):

Almidón resistente tipo 1 (AR 1): esta fracción es físicamente inaccesible a la digestión enzimática ya que está atrapado en la matriz alimentaria (Sajilata, et al., 2006).

Almidón resistente tipo 2 (AR2): se puede obtener de gránulos nativos que no han sido sometidos a cocción.

Almidón resistente tipo 3 (AR3): ha sido gelatinizado y posteriormente retrogradado (Wepner, et al., 1999).

Almidón resistente tipo 4 (AR4): esta fracción se obtiene después de la modificación química del almidón como esterificación, eterificación y entrecruzamiento (Ashwar, et al., 2016).

Almidón resistente tipo 5 (AR5): Además de las características estructurales, otros factores intrínsecos pueden afectar la actividad enzimática y por lo tanto la ruptura del gránulo (Ashwar, et al., 2016). Esto incluye el complejo amilosa- lípido y la presencia de inhibidores nativos de α -amilasa en alimentos con almidón (Fuentes- Zaragoza, et al., 2011).

De acuerdo a esta clasificación, en el presente trabajo a partir de almidón retrogradado se evaluará el porcentaje de AR obtenido, que con base en la clasificación anterior corresponde a la fracción de AR tipo 3.

2.8.1. Aplicación y beneficios de almidón resistente

El almidón resistente es reconocido como un tipo de fibra dietética, la cual es ampliamente usada en la formulación de alimentos funcionales. Tanto investigadores como nutriólogos concuerdan que la ingesta de alimentos ricos en fibra otorga beneficios a la salud (Fernandez-Lopez, et al., 2007) la reducción del índice glicémico, el colesterol, así como la prevención de enfermedades como obesidad, problemas cardiovasculares y cáncer (Canovas & Pérez-Alvarez, 2006).

En cuanto a su uso en alimentos, se ha reportado que el almidón resistente otorga efectos favorables a las propiedades fisicoquímicas y reológicas tales como aumento de viscosidad, formación de gel, índice de hinchamiento, e índice de retención de agua (Fausto, et al., 1997). De acuerdo con investigaciones de Ashwar, *et al.*, 2016, encontraron que AR2 y AR3 forman bajos volúmenes ricos en fibra, además que aumentan la apariencia y textura de los alimentos así como una mejora en la sensación en la boca al consumirlos. De igual forma, Fuentes-Zaragoza, et al. (2011) mencionan que el AR3 incrementa su porcentaje en alimentos cocidos que son almacenados a bajas temperaturas o temperatura ambiente, lo que lo vuelve termoestable, permitiendo su uso como ingrediente en una amplia variedad de alimentos convencionales. La formación de AR3 se debe a la retrogradación de la amilosa, por lo que la ingesta prolongadas en dietas ricas en amilosa mejora los niveles de colesterol y triglicéridos mejor que dietas ricas en amilopectina (Mikulíková, et al., 2008).



Capítulo 3. Justificación

El yogur es un alimento funcional ampliamente aceptado y comercializado a nivel mundial por sus diversas características nutricionales, sin embargo se han buscado nuevas formulaciones adicionando almidones modificados, con el fin de favorecer sus propiedades fisicoquímicas y reológicas. Por ello, se propone agregar almidón retrogrado (con 30 y 70% de amilosa) a un yogur comercial que potenciará estas propiedades además de impartir mayor estabilidad a la matriz reduciendo su separación del suero, alargando la estabilidad del producto puesto que fortalece la estructura de gel. Además, favorece la formación de almidón resistente tipo 3, lo que otorgaría beneficios al consumidor puesto que actúa como fibra soluble.



Capítulo 4. Hipótesis

El almidón retrogradado modificará las características reológicas del yogur aumentando su viscosidad, estabilidad y firmeza del gel después de 14 días. Así mismo, este efecto será más significativo al adicionar almidón retrogradado con alto contenido en amilosa (70%) formando un gel verdadero con mayor estabilidad promoviendo la formación de almidón resistente (AR).



5 Capítulo 5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del almidón retrogradado con 30 y 70% de amilosa sobre las propiedades reológicas, de estabilidad y formación de almidón resistente en el yogur.

5.2. Objetivo específicos

1. Evaluar las propiedades reológicas de flujo, dinámicas y cedencia-recuperación del yogur adicionado con almidón retrogradado obtenido de almidón nativo con 30 y 70% de amilosa.
2. Evaluar la estabilidad del yogur adicionado con almidón retrogradado a diferentes días de almacenamiento mediante pruebas reológicas y separación del suero.
3. Determinar el porcentaje de almidón resistente y total en el yogur almacenado.



Capítulo 6. Metodología

6.1. Obtención de almidón retrogradado

Se usó almidón normal de maíz y alto en amilosa (Hylon VII) adquiridos de la empresa *National starch and chemical S.A. de C.V.* (Toluca, México). Estos dos almidones fueron modificados por tratamiento térmico descrito a continuación:

Se preparó una solución al 5% (p/p) precalentando en una parrilla eléctrica hasta alcanzar los 60 °C durante 15 min. Posteriormente, se llevó a autoclave a 15 psi durante 30 min. Después de este segundo tiempo, se secaron en una estufa con entrada de aire a 40 °C durante 48 h. Pasando el periodo de secado se pasó a hacer una molienda con un molino de café y tamizando en una malla de 250 µm, para posteriormente dejar almacenado durante 7 días hasta su uso, con el fin de estandarizar el tiempo de adición al yogurt.

6.2. Sinéresis

Para evaluar la capacidad de retención de agua (sinéresis) de los materiales, se siguió la técnica de Kessler (1998), usando una centrífuga Rotofix 32 A Hettich a 4000 rpm durante 20 min. Con este procedimiento el suero es separado y pesado, expresando el porcentaje de sinéresis de acuerdo con la Ecuación 10 (Macedo-y-Ramírez & Vélez-Ruíz, 2015):

$$\% \text{ sinéresis} = (\text{masa de suero}) / (\text{masa de muestra}) \times 100 \quad \text{Ecuación 10}$$

6.3. Mediciones reológicas

Para las mediciones reológicas, se usó el reómetro marca AntonPaar, modelo Physica MCR 101, utilizando una geometría plato-plato liso con un diámetro de 50 mm y una distancia entre platos de 1 mm. Como muestra se empleó un yogurt bebible comercial marca Yoplait®, el cual se obtuvo en la

presentación que se distribuye en el mercado. Se adicionó almidón retrogradado con 30 y 70% de amilosa, a diferentes concentraciones, de 0, 2.5, 5, 7.5 y 10% p/p agregado al yogurt y almacenado a 10°C evaluando a los 0, 7 y 14 días de almacenamiento.

Estandarización de la medición

Se adicionó el almidón al yogurt mezclando homogéneamente dejando reposar por 24 h. Una vez pasado el tiempo de reposo, se vertió en cajas Petri agitando 10 veces, dejando reposar durante 15 min en refrigeración posteriormente se colocaron en el reómetro dejando nuevamente reposar por 5 min con la finalidad que el sistema se estabilizara (Anaya-Torres, *et al.*, 2016). Pasando este segundo tiempo de reposo se realizaron las mediciones reológicas descritas a continuación, enfatizando que el procedimiento anterior se realizó con cada una de las mediciones.

6.3.1. Curva de flujo

Para las curvas de flujo se aplicaron cuatro ciclos de medición: dos ciclos ascendentes y dos ciclos descendentes de 0.03 a 300 s⁻¹, a 10°C para definir las características de flujo empleando el modelo de Oswald-de Waele (la ley de la potencia).

6.3.2. Barrido de deformación

Para los barridos de amplitud de deformación, se realizaron en un intervalo de 0.01 a 1% de deformación, a una frecuencia constante de 1 Hz a 10°C para determinar la región viscoelástica lineal (RVL).

6.3.3. Barrido de frecuencia

Los barridos de frecuencia se realizaron en un intervalo de 0.05 a 5 Hz, con una amplitud de la deformación constante de 0.07%, evaluando los parámetros: módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G''), tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta$) y viscosidad compleja $|\eta^*|$ (Pa*s).

6.3.4. Cedencia- recuperación (*Creep- recovery*)

Para esta prueba se aplicó un esfuerzo constante de 1 Pa por 5 min, liberando la misma y se monitoreó la deformación resultante por otros 10 min, graficando la deformación en función de tiempo.

6.4. Cuantificación del AT y AR

La cuantificación del almidón total se realizó con el método de amiloglucosidasa/ α -amilasa utilizando el kit de Megazyme K-TSTA-50A/K- TSTA-100A 06/17.

Para la determinación de almidón resistente se usó la técnica de AR del kit de Megazyme K-RSTAR 02/17.

6.5. Microscopia electrónica de barrido

Para la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés) se usó un microscopio electrónico de barrido Phenom Pro (Phenom-World., Netherlands). Analizándose las muestras de yogur con 30 y 70% de amilosa con 7.5% de sólidos de almidón retrogradado con 7 días de almacenamiento y los polvos de almidón retrogradado de 30 y 70% de amilosa. Para realizar la prueba, las muestras de yogur adicionado con almidón se liofilizaron, el polvo se colocó sobre una cinta adhesiva de carbono.



Capítulo 7. Resultados

7.1. Sinéresis

De acuerdo al análisis estadístico de grupos homogéneos por la prueba de Tukey HSD, en los yogures con almidón retrogrado con 30% de amilosa (Figura 10); existe diferencia significativa al aumentar la concentración de almidón retrogrado. Ya que el porcentaje de sinéresis se reduce de 65 hasta 42%, control y con la adición de 10% de sólidos, respectivamente. Esto se debe a que el almidón retrogrado aumenta la capacidad de retención de agua del gel de yogur otorgando mayor volumen, lo cual se refleja en el aumento de viscosidad, que más adelante se analizará con mayor detalle. De acuerdo al análisis estadístico, al pasar 7 y 14 días de almacenamiento no existe una diferencia significativa en el control y los yogurts con almidón retrogrado tanto con 30 y 70% de amilosa a las diferentes concentraciones.

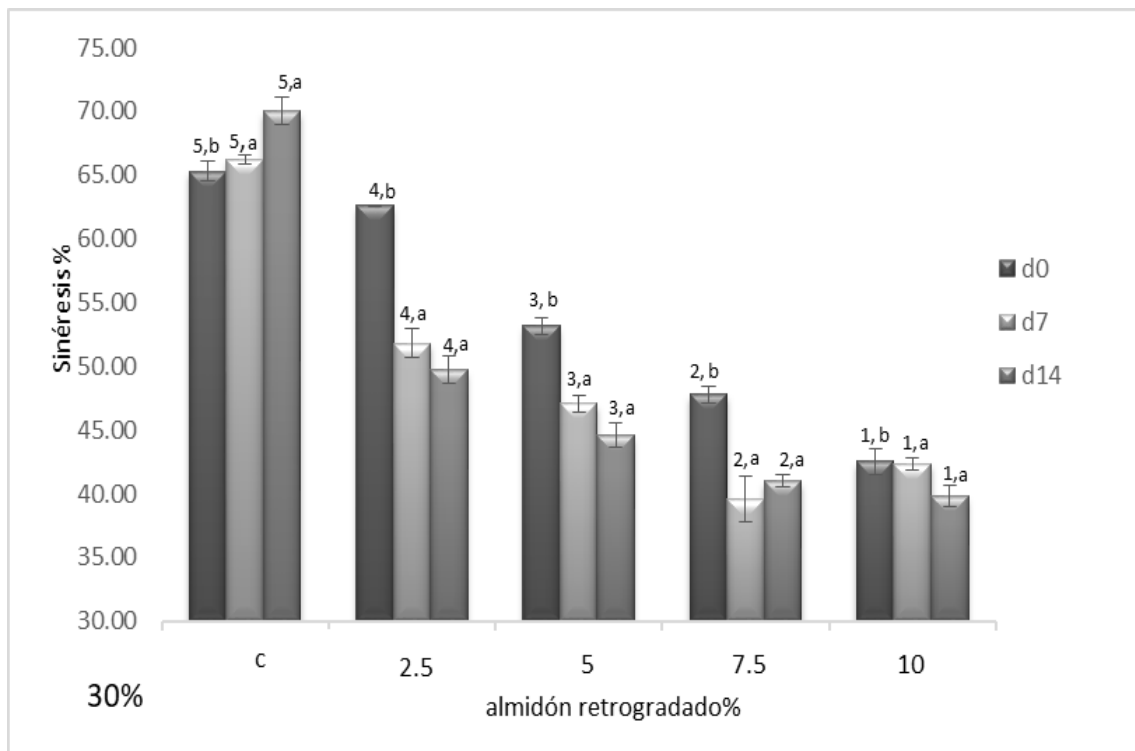


Figura 10. Capacidad de retención de agua (sinéresis) del yogur bebible con 30% de amilosa de almidón retrogrado a diferentes concentraciones y almacenado a los 0, 7 y 14 días.

Nota: los números corresponden a los grupos que pertenecen de acuerdo con la significancia estadística en la concentración y las letras corresponden con la significancia de los grupos estadísticos referente a los días de almacenamiento.

Es decir, el almidón retrogradado otorga estabilidad al yogur, puesto que al no haber cambios en el porcentaje de sinéresis, indica que reduce la separación del suero del yogurt, siendo este fenómeno un factor importante para evaluar la calidad del producto (Vélez & Rivas, 2001).

Por otro lado, los yogures que contienen almidón retrogradado con 70% de amilosa (Figura 11), de acuerdo al análisis estadístico, existe diferencia significativa en ambas variables de concentración y tiempo de almacenamiento. Puesto que existe una tendencia de decremento en el porcentaje de sinéresis al incrementar el porcentaje de sólidos de almidón retrogradado, el cual al pasar los días de almacenamiento (7 y 14 días) continúan disminuyendo, es decir, es menor la separación del suero del yogur.

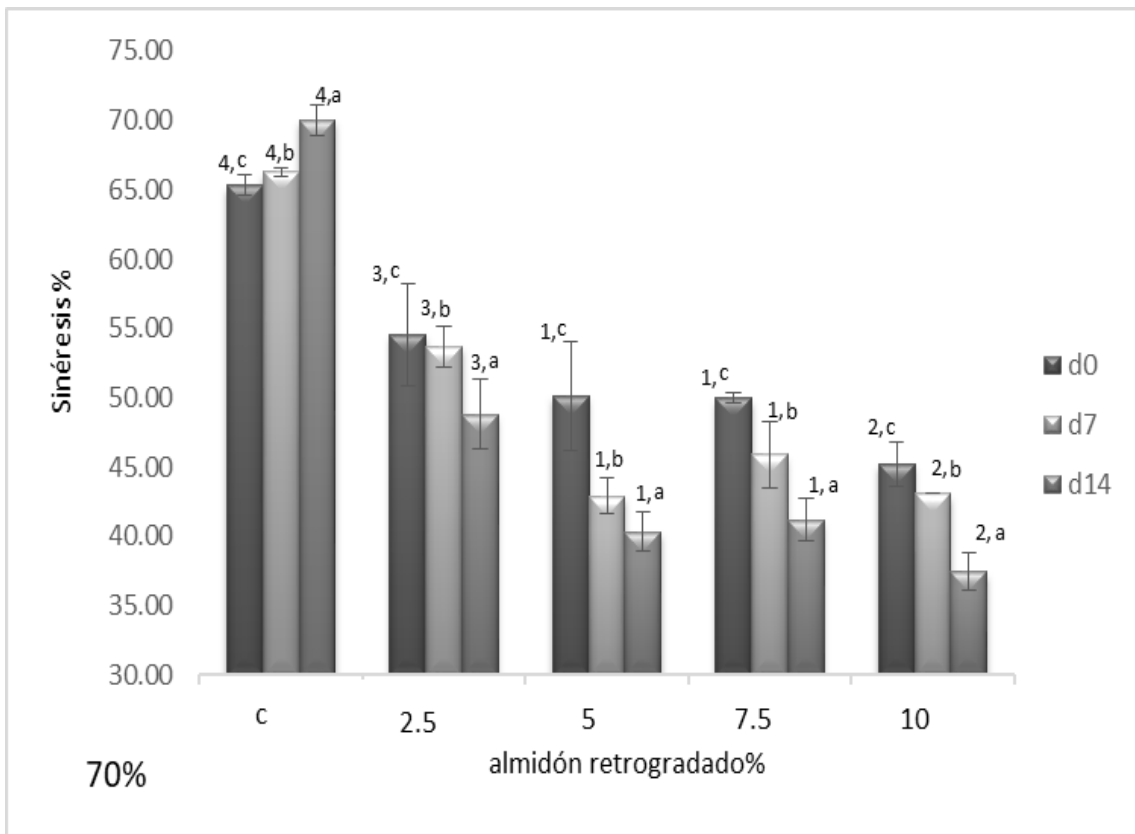


Figura 11. Capacidad de retención de agua (sinéresis) del yogur bebible con 70% de amilosa de almidón retrogradado a diferentes concentraciones y almacenado a los 0, 7 y 14 días.

Nota: los números corresponden a los grupos que pertenecen de acuerdo con la significancia estadística en la concentración y las letras corresponden con la significancia de los grupos estadísticos referente a los días de almacenamiento.

El almidón retrogradado aumenta la capacidad de retención de agua del yogur, ya que contribuyen al efecto de malla en la red tridimensional del gel formado en el yogur (Macedo y Ramírez, 2015), esto se ve reflejado en la disminución de la sinéresis del suero, esta propiedad es mayor en las muestras con 30% de amilosa manteniéndose conforme transcurre el tiempo de almacenamiento, sin embargo aquellos que contienen 70% de amilosa, su porcentaje de sinéresis continúan disminuyendo cuando se deja en almacenamiento durante 7 y 14 días.

7.2. Mediciones reológicas

7.2.1. Pruebas rotacionales: curva de flujo

El yogur control (Figura 12a) presentó un comportamiento tixotrópico, así mismo esta curva fue mayor al adicionarse 7.5% de almidón retrogradado (Figura 12b), sin embargo este comportamiento no solo se mantuvo a este tratamiento, sino que en todas la muestras de yogur con diferentes contenidos de amilosa, concentración y días de almacenamiento. Este fenómeno de tixotropía se produce cuando existe un debilitamiento de la estructura y cambios de la consistencia conforme transcurre el tiempo (Alvarado, 2013), es decir, al someterse a una velocidad de corte de 0.03 a 300 s^{-1} y posteriormente de 300 a 0.03 s^{-1} , se observa un bucle de histéresis. Dicho bucle se debe a que el sistema disminuye su viscosidad aparente conforme el tiempo, misma que recupera cuando se retira dicha velocidad de corte (Alvarado, 2013) (Muller, 1977).

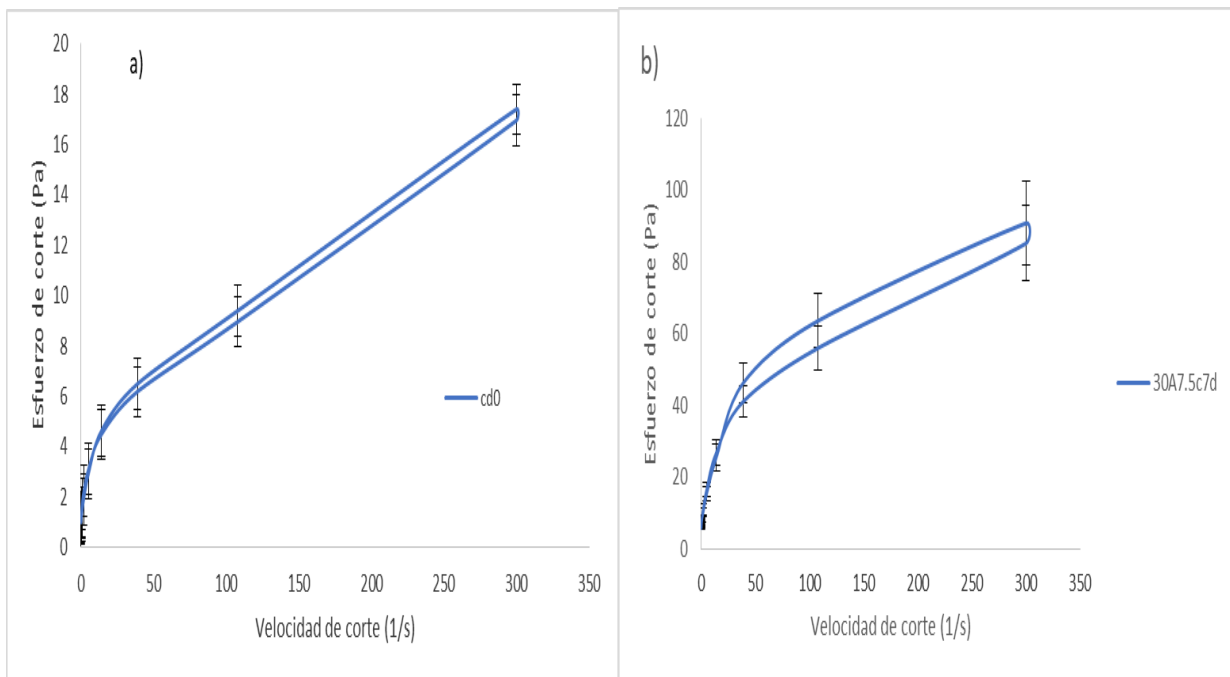


Figura 12. Comportamiento tixotrópico de yogur control a día cero (cd0) y con 30% de amilosa con 7.5% de sólidos a los 7 días de almacenamiento (30A7.5c7d).

El modelo de Oswald-de Waele o ley de la potencia permite determinar el tipo de fluido no-Newtoniano si es del grupo dependiente o independiente del tiempo así como la consistencia. En el caso de las muestras de yogur con almidón retrogradado (Figura 13) los resultados obtenidos indicaron que todas las muestras tienen un comportamiento no-Newtoniano del tipo refluidizante, ya que los valores de n (índice de comportamiento del flujo) son menores a 1 (Figura 13a y 13b), es decir, la viscosidad aparente disminuye a medida que aumenta la velocidad de corte (Alvarado, 2013).

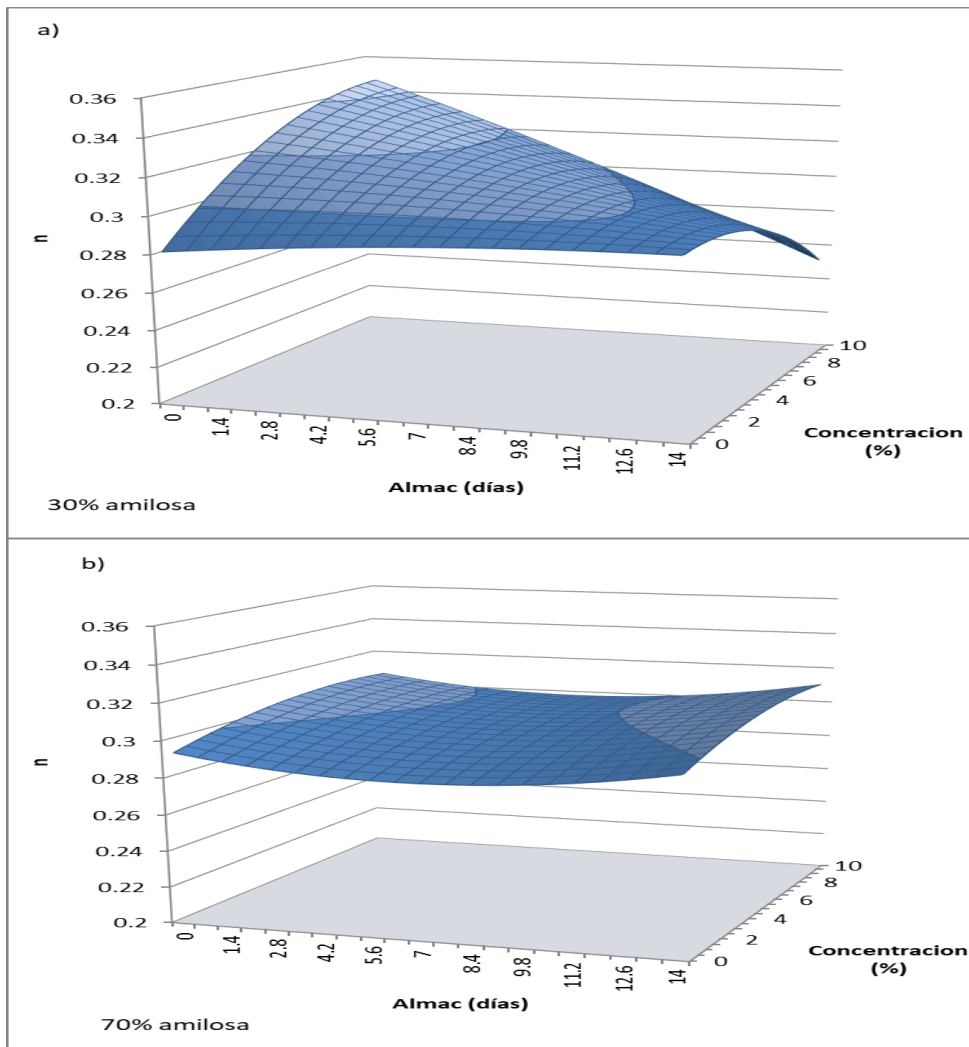


Figura 13. Comportamiento de yogur con almidón retrogradado con 30 y 70% de amilosa en función de n (índice de comportamiento de fluido, obtenido por modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia)).

Sin embargo, en los yogures con almidón retrogradado con 30% de amilosa (Tabla 1) al aumentar la concentración de este almidón, el valor de n incrementa al tiempo cero de almacenamiento entre un rango de 0.28-0.35. Pero al pasar los días en almacenamiento de cero a catorce días, los yogures con 7.5 y 10% de almidón retrogradado, sus valores n descienden de 0.324 a 0.303 y de 0.355 a 0.222, respectivamente, debido a la inestabilidad de la estructura del yogur, por lo que tiene mayor fluidez. Es decir, si n se aproxima a 1 se vuelve más independiente de la velocidad de corte, se aproxima a un flujo Newtoniano, sin embargo para las muestras de yogur con almidón retrogradado con 30% de amilosa, se observa que n se vuelve más dependiente a la velocidad de corte, en otras palabras, la viscosidad continua disminuyendo esto podría ser debido a la ruptura de la estructura del gel (Andrade, et al., 2010).

Tabla 1. Parametros del modelo de Ostwald-de Waele

Amilosa	Concentración	Día	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n
-	Control	0	0.994	2.235	0.298
-		7	0.996	2.386	0.278
-		14	0.994	2.845	0.288
30	2.5	0	0.994	2.923	0.307
		7	0.993	5.019	0.304
		14	0.994	3.621	0.309
	5	0	0.993	5.681	0.324
		7	0.994	7.204	0.311
		14	0.998	6.179	0.278
	7.5	0	0.991	8.156	0.324
		7	0.991	12.325	0.305
		14	0.993	10.046	0.303
	10	0	0.993	6.748	0.355
		7	0.992	11.445	0.321
		14	0.996	24.638	0.222
70	2.5	0	0.965	3.895	0.300
		7	0.992	6.012	0.307
		14	0.997	3.784	0.315
	5	0	0.995	6.072	0.301
		7	0.994	8.972	0.292
		14	0.993	6.464	0.308
	7.5	0	0.995	5.446	0.304
		7	0.995	11.987	0.293
		14	0.994	7.674	0.311
	10	0	0.994	7.739	0.312
		7	0.995	11.524	0.300
		14	0.995	6.849	0.308

Por otro lado, como se comentó en la sección anterior, el almidón retrogradado reduce la sinéresis del yogur evitando la separación del suero, este comportamiento se refleja en los valores de K, índice de consistencia, ya que al estar relacionada con la viscosidad, se observa que de acuerdo a la gráfica de respuesta de superficie, los yogures con almidón retrogradado con 30% de amilosa, estos valores de K (Figura 14a) aumentan en función de la concentración y del tiempo de almacenamiento, puesto que el control a tiempo cero y el yogur con 10% de almidón retrogradado a 14 días de almacenamiento, tienen K de 2.235 y 24.638 Pa.sⁿ, respectivamente.

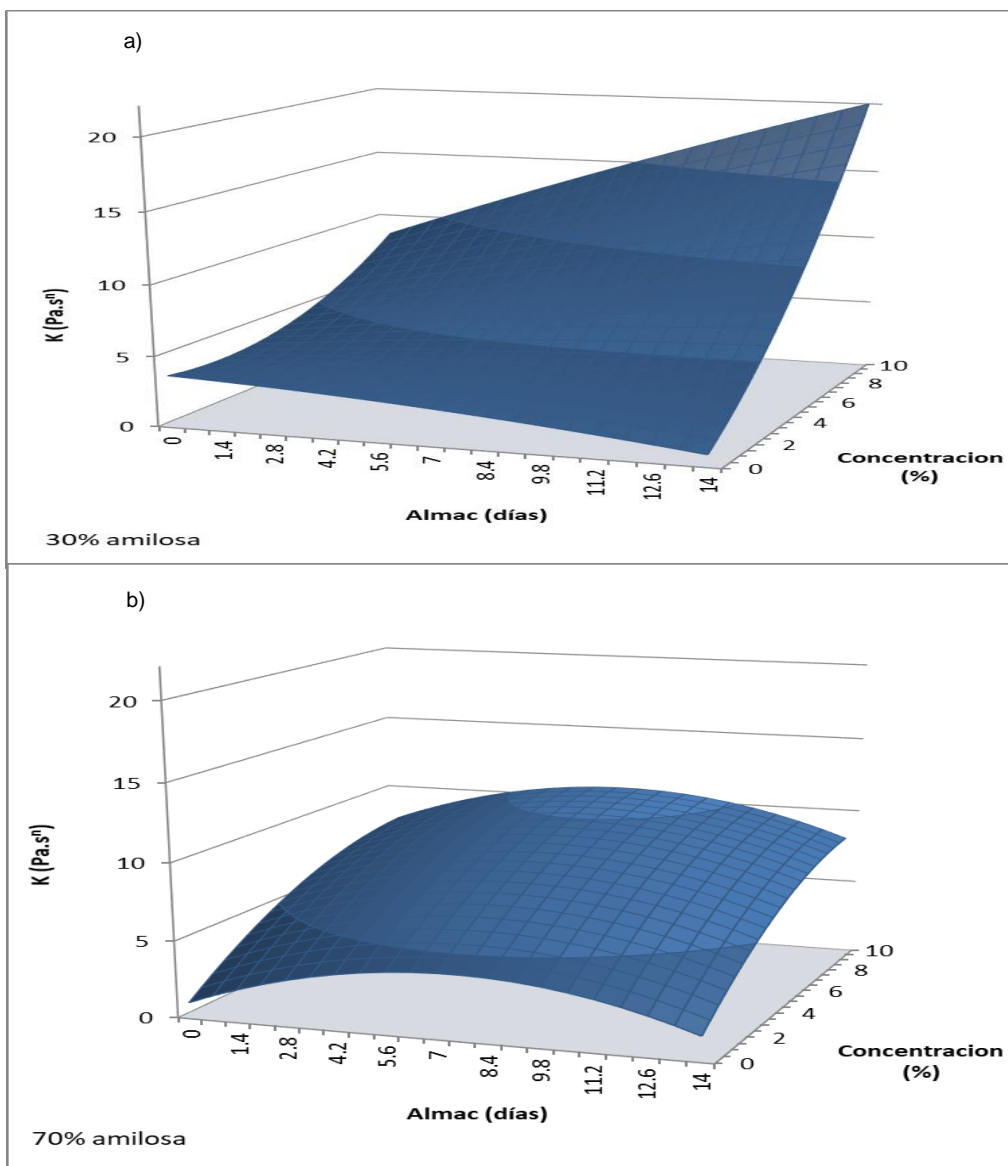


Figura 14. Comportamiento de yogur con almidón retrogradado con 30 y 70% de amilosa en función de K (índice de consistencia), obtenido por modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia).

Estando relacionado con los resultados obtenidos en el porcentaje de sinéresis, éstos disminuían explicando el aumento en la consistencia del yogur, obteniéndose un sistema viscoso por su incremento en la capacidad de retención de agua (Rezaei, et al., 2015) pero con mayor inestabilidad al tiempo de almacenamiento.

Es importante resaltar el efecto que otorga el porcentaje de amilosa ya que, como se comentó anteriormente, los yogures con 30% de amilosa aumentaron la consistencia, pero sus valores de n descendieron durante el almacenamiento, efecto opuesto en los yogures con 70% de amilosa. Estos materiales (Figura 13b) presentaron valores de n en un rango de 0.292-0.308, es decir la variación fue menor que en los yogures con 30% de amilosa (Figura 13a), por lo que un mayor contenido de amilosa otorgó mayor estabilidad al yogur. Ya que de igual forma, la variación en K (Figura 14b) fue menor, en un rango de 3.78-11.987 Pa.sⁿ. Aunque este valor de 11.987 Pa.sⁿ lo obtuvo la muestra de yogur con 7.5% de sólidos a los 7 días de almacenamiento, es similar a la muestra con 10% de almidón retrogradado al mismo tiempo de almacenamiento. Sin embargo no existe diferencia significativa con el yogur con 70% de amilosa y 10% de sólidos, esto se debe a que se presenta una sobresaturación de sólidos agregados por lo que no se refleja un cambio, pero dichos valores disminuyen a los 14 días. Esta reducción en su consistencia se relaciona con el porcentaje mayor de sinéresis, en comparación con los de 30% de amilosa. Por lo que se estaría obteniendo un sistema en malla más fluido, es decir, menos viscoso pero con mayor estabilidad. Comparado con lo reportado por Andrade et al. (2010) al evaluar un yogurt de leche de búfala adicionado con 3% de salvado de trigo, reportaron una reducción en K de 3.91 a 2.86 Pa.sⁿ, a 0 y 21 días de almacenamiento, respectivamente, mientras que n aumento de 0.6 a 0.8, es decir menos consistente y reofluidizante, aproximándose más a un fluido Newtoniano, indicando que este comportamiento, en función al tiempo de almacenamiento, ocasionó pérdida de la firmeza de la matriz proteica, mayor sinéresis y pérdida de la consistencia.

7.2.2. Barrido de deformación

Los barridos de deformación se realizan para establecer la región viscoelástica lineal (RVL) del sistema, donde se presenta una relación de equilibrio entre el esfuerzo y la deformación, es decir entre el comportamiento elástico y viscoso. Aplicándose un intervalo de deformación de 0.01 a 1%, tal como se muestra en la Figura 15, se encontró que dentro de este intervalo de deformación se encontraba la región viscoelástica lineal para todas las muestras, teniendo diferentes porcentaje de amilosa, concentraciones y días de almacenamiento, en forma representativa, se muestra en el gráfico el control y el yogur agregado con 5% p/p de almidón retrogradado con 30% de amilosa a 7 días de almacenamiento.

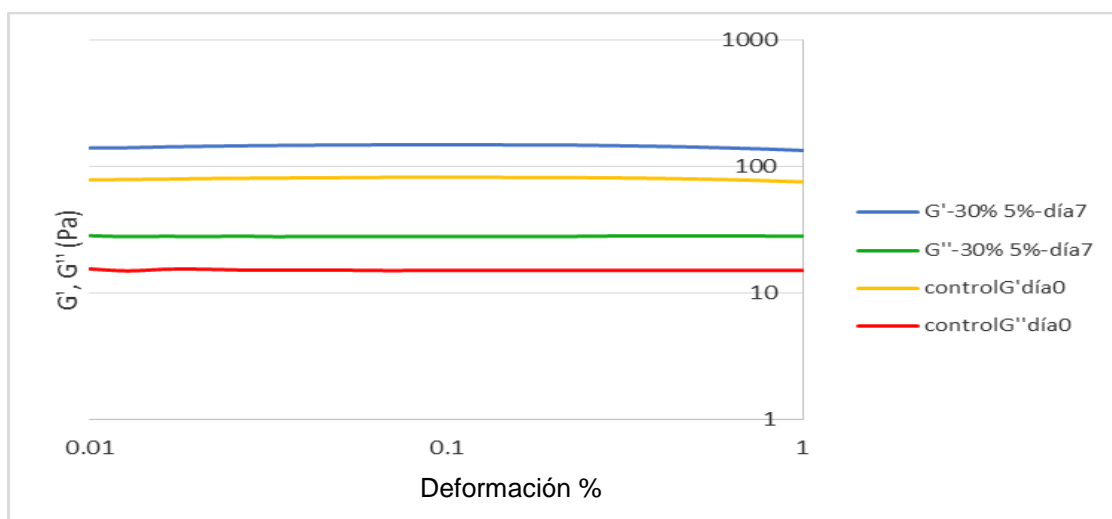


Figura 15. Reograma de barrido de deformación de 0.01-1% de deformación a yogur control y con 30% de amilosa, 5% de sólidos (p/p) a 7 días de almacenamiento a 10°C.

La RVL se encontró en un intervalo de deformación muy bajo, esto quiere decir que la matriz del gel es muy débil (Anaya-Torres, et al., 2016), por lo que el gel del yogur se vence a deformaciones mayores al 1%. Por lo tanto para este sistema a 10 °C, la deformación que se empleó en los barridos de frecuencia fue de 0.07%, ya que con esta deformación se trabaja dentro de la RVL con todos los tratamientos.

7.2.3. Barridos de frecuencia

Los barridos de frecuencia se utilizan para determinar el comportamiento viscoelástico de los materiales, primordialmente geles. Se usan para identificar si predomina mayormente el comportamiento elástico o viscoso, y así, otorgan una idea clarificada acerca del arreglo estructural del gel. En estas pruebas oscilatorias, se evaluaron los parámetros de módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y viscosidad aparente (η^*).

De acuerdo a la Figura 16, el yogur con 30% de amilosa a tiempo cero de almacenamiento, presenta valores más altos de G' (Figura 16a) que de G'' (figura 16b), predominando mayormente el comportamiento elástico en el gel (Aguirre-Mandujano, et al., 2009), ya que G' incrementa al aumentar la adición de sólidos. Sin embargo, estos valores de G' son muy cercanos entre el yogur control con aquel que tiene 2.5% de sólidos agregados, de la misma forma entre 5 y 7.5% de sólidos agregados, siendo que a 10% G' incrementa notoriamente, indicativo de la formación de un gel fuerte.

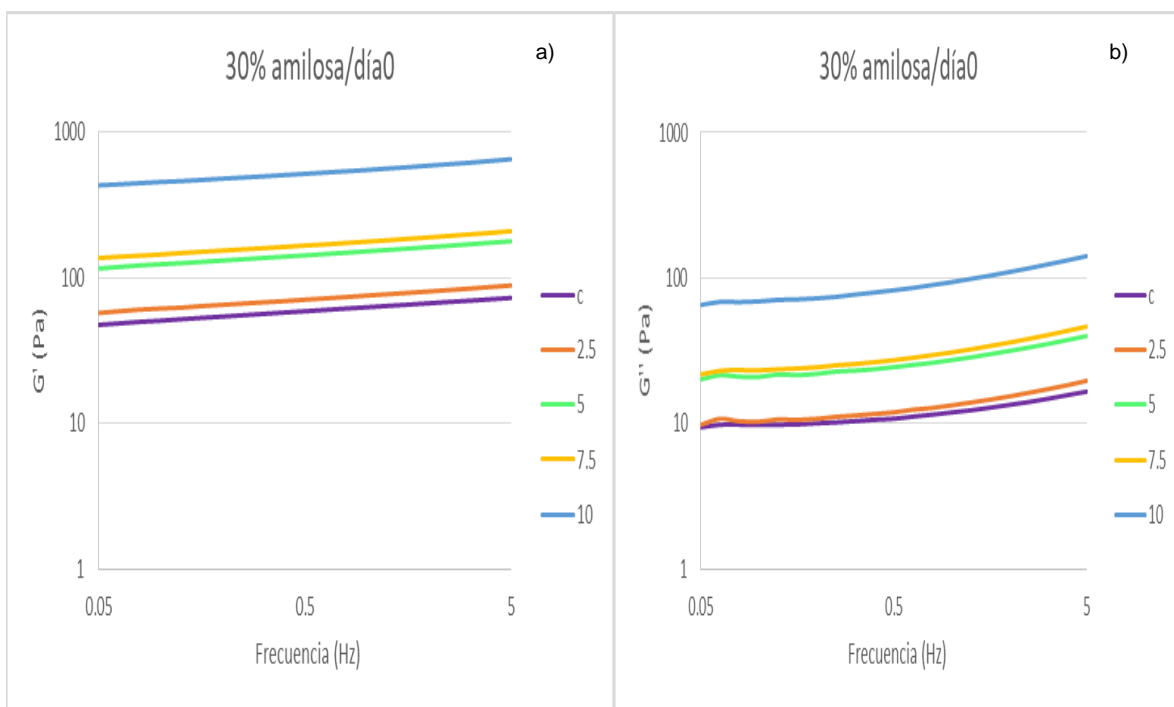


Figura 16. Reograma de barrido de frecuencia de 0.05 a 5 Hz en yogur con almidón retrogradado con 30% de amilosa a diferentes concentraciones, c (control), a tiempo cero de almacenamiento.

Por otro lado, en los materiales con 70% de amilosa el comportamiento es similar en aquellos con 30% de amilosa donde continua predominando G' sobre G'' . Pero el rango de unidades con 70% de amilosa es menor, ya que los valores están alrededor de 100 Pa (Figura 17) y con pocas variaciones entre concentraciones, indicando la formación de gel firme puesto que G' su pendiente es menor que G'' por lo que al ser más independiente de la frecuencia se obtiene un gel con mayor firmeza pero con menor comportamiento elástico que aquellos con 30% de amilosa. Sin embargo es importante analizar que sucede con estos comportamientos conforme el tiempo de almacenamiento.

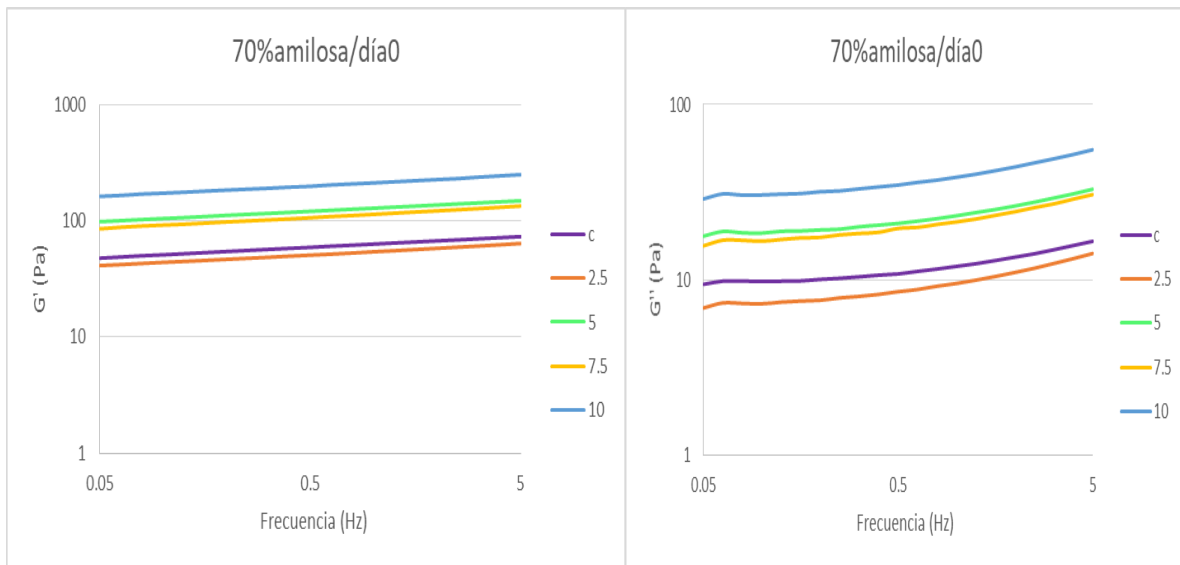


Figura 17. Reograma de barrido de frecuencia de 0.05 a 5 Hz en yogur con almidón retrogradado con 70% de amilosa a diferentes concentraciones, c (control), a tiempo cero de almacenamiento.

Donde para las muestras de yogur almacenados a tiempo cero con almidón retrogradado con 30% de amilosa (Tabla 2) y frecuencia de 0.50 Hz (puesto que es valor medio del barrido de frecuencia, Figuras 16 y 17), presentaron valores altos en G' , es decir su módulo de almacenamiento incrementó conforme aumentaba la concentración de almidón retrogradado, en un rango de 59.06 a 520.17 Pa, del control y con 10% de almidón retrogradado, respectivamente. Así como sus valores de viscosidad compleja η^* tuvieron valores de 19.11 a 167.67 Pa.s, el control y 10% de sólidos, respectivamente. Es decir, la adición de almidón

retrogradado con 30% de amilosa promueve la formación de un gel con mayor rigidez, puesto que se ve reflejado al aumentar la concentración, y por efecto aumenta la viscosidad, lo cual se observa en su disminución de sinéresis, ya que el gel formado aumenta su capacidad de retención de agua o suero para caso de este producto láctico.

Durante el almacenamiento a 10°C se presenta un incremento en G' a los 7 días y posteriormente disminuye a los 14 días, como se observa en el yogur con 2.5% de sólidos adicionados (Tabla 2), presenta valores de 70.92, 99.63 y 71.31 Pa, a los 0, 7 y 14 días de almacenamiento, respectivamente. Esta reducción de G' durante el almacenamiento, se debe a que la estructura interna del gel se debilita, y por ello se reduce el comportamiento elástico.

Tabla 2. Cuadro comparativo de pruebas oscilatorias en yogur bebible adicionado con almidón retrogradado con 30% de amilosa a 0, 7 y 14 días de almacenamiento. G' (módulo de almacenamiento), G'' (módulo de pérdida), $\alpha\omega$ (frecuencia), $\tan \delta$ (ángulo de desfaseamiento), η^* (viscosidad aparente), [] (concentración en p/p).

%amilosa	días	[]	G' (Pa)	G'' (Pa)	$\alpha\omega$ (Hz)	$\tan \delta$	η^* (Pa.s)
	0	0	59.06	10.79	0.50	0.1830	19.11
		2.5	70.92	11.95	0.50	0.1686	22.89
		5	143.08	24.45	0.50	0.1718	46.20
		7.5	167.03	27.31	0.50	0.1639	53.88
		10	520.17	82.58	0.50	0.1595	167.67
30	7	0	51.12	9.51	0.50	0.1867	16.56
		2.5	99.63	17.03	0.50	0.1721	32.18
		5	147.75	25.28	0.50	0.1713	47.60
		7.5	914.25	140.58	0.50	0.1598	295.00
		10	347.25	59.33	0.50	0.1710	112.28
	14	0	52.65	9.12	0.50	0.1730	17.01
		2.5	71.31	11.90	0.50	0.1668	23.01
		5	151.50	25.54	0.50	0.1686	48.90
		7.5	632.37	99.77	0.50	0.1618	203.97
		10	312.00	51.98	0.50	0.1668	100.35

De la misma forma, la viscosidad compleja para 2.5% de sólidos sus valores disminuyen de 22.89, 32.18 y 23.01 Pa.s a los 0, 7 y 14 días, respectivamente. La reducción en los valores de la viscosidad compleja indica que, efectivamente se produce un debilitamiento en la estructura del gel aumentando su capacidad de fluir, contrario como se observó en los valores de índice de consistencia K en las

pruebas de curvas de flujo. Dichos valores de K aumentaron conforme incrementaron la concentración y el tiempo de almacenamiento, obteniéndose una matriz que conforma una malla o red con capacidad de retener agua aumentando su consistencia, pero dicha retención de agua ocasiona una estructura de gel débil y más suave con menor estabilidad y menor viscosidad por lo que fluye.

Por otro lado, los yogures que contienen almidón retrogradado con 70% de amilosa (Tabla 3) obtuvieron valores menores de G' a tiempo cero en un rango de 59.06 Pa para el control y de 50.58 a 197.50 Pa conforme aumenta la concentración de sólidos, así como en viscosidad compleja los valores se encuentran en un rango de 16.33 a 63.83 Pa.s.

Contrario se observó con los yogures con 30% de amilosa (Tabla 2), que presentan valores mayores en su G' y η^* de 70.92 a 520.17 Pa y de 22.89 a 167.67 Pa.s, en G' y η^* , respectivamente. Dicho cambio importante se debe principalmente al contenido de amilosa y amilopectina, el cual en los yogures que presentan una relación de 70amilosa/30amilopectina, la amilosa al encontrarse en mayor proporción y por su estructura lineal y facilidad de empaquetamiento, la absorción de agua es menor contrario con las muestras que contienen 30amilosa/70amilopectina, en esta relación, la amilopectina predomina y al tener una estructura ramificada y más compleja, otorga mayor capacidad de retención de agua, lo que forma un gel más viscoso y por ende valores mayores en su módulo de almacenamiento G' , tal como lo reportaron Lobato-Calleros et al. (2014), al adicionar a un yogur almidones modificados de tapioca, maíz ceroso y maíz nativo.

Tabla 3. Cuadro comparativo de pruebas oscilatorias en yogur bebible adicionado con almidón retrogradado con 70% de amilosa a 0, 7 y 14 días de almacenamiento. G' (módulo de almacenamiento), G'' (módulo de pérdida), $\alpha\omega$ (frecuencia), $\tan \delta$ (ángulo de desfaseamiento), η^* (viscosidad aparente), $[\]$ (concentración en p/p).

%amilosa	días	[]	G' (Pa)	G'' (Pa)	$\alpha\omega$ (Hz)	$\tan \delta$	η^* (Pa.s)
	0	0	59.06	10.79	0.5	0.1830	19.11
		2.5	50.58	8.55	0.5	0.1691	16.33
		5	120.47	20.99	0.5	0.1749	38.92
		7.5	106.02	19.63	0.5	0.1847	34.33
		10	197.50	34.75	0.5	0.1760	63.83
70	7	0	51.12	9.51	0.5	0.1867	16.56
		2.5	114.78	19.90	0.5	0.1738	37.05
		5	174.75	30.30	0.5	0.1733	56.48
		7.5	335.38	58.78	0.5	0.1754	108.38
		10	353.70	61.82	0.5	0.1756	114.30
	14	0	52.65	9.12	0.5	0.1730	17.01
		2.5	77.55	13.25	0.5	0.1710	25.03
		5	163.00	27.37	0.5	0.1673	52.70
		7.5	207.00	35.87	0.5	0.1733	66.73
		10	397.50	67.40	0.5	0.1698	128.35

Mientras que durante el almacenamiento, los yogures con 70% de amilosa sus valores de G' no disminuyen tanto, es decir tienen mayor estabilidad como se observa por ejemplo, al 7.5% de sólidos, G' es de 106.02, 335.38 y 207 Pa, a los 0, 7 y 14 días de almacenamiento, respectivamente. Mientras que los sistemas con 30% de amilosa, a la misma concentración, su G' es de 167.03, 914.25 y 632.37 Pa. Dicha caída de 7 a 14 días en G' en las muestras con 30% de amilosa se debe al debilitamiento del gel, contrario a los yogures con 70% de amilosa su caída es menor, es decir, si existe un debilitamiento en la estructura del gel pero debido a la presencia de la amilosa le otorga mayor estabilidad. Sin embargo, un comportamiento interesante y curioso del yogur con 10% de sólidos con 30% amilosa disminuyen sus valores de G' de 347.25 a 312 Pa, a los 7 y 14 días, respectivamente. Cuando con 7.5% de sólidos, como se indicó anteriormente, sus valores son de 914.25 y 632.37 Pa. Parece ser que 7.5% de sólidos, es una concentración máxima donde los componentes en el yogur interactúan entre sí formando una red en el gel con mayor firmeza, mientras que al 10% de sólidos se

genera un sistema sobresaturado por lo que se pierde la interacción entre los componentes ocurriendo el debilitamiento del gel.

Las diferencias que otorga el contenido de amilosa, de igual forma se refleja en la viscosidad compleja, puesto que el control tiene valores de 19.11, 16.56 y 17.01 Pa.s a los 0, 7 y 14 días, respectivamente; mientras que los yogures con 70% de amilosa como se mencionaba previamente, esta viscosidad aumenta en un rango de 16.33-63.83, 37.05-114.30 y 25.03-128.35 Pa.s, a los 0, 7 y 14 días de almacenamiento, respectivamente. Contrario con aquellos con 30% de amilosa que su viscosidad disminuían conforme el tiempo de almacenamiento. Es decir, aumenta la resistencia del gel a fluir, por lo que se tiene un gel con menor consistencia, mayor viscosidad y mayor rigidez, otorgando así, mayor estabilidad tal como se mostró en el modelo de Ostwald-de Waele donde los valores en n y K se mantuvieron durante el almacenamiento.

7.2.4. Prueba de cedencia- recuperación (Creep-recovery test)

La prueba de cedencia-recuperación se basa principalmente en el modelo de Maxwell donde usando un resorte y un pistón conectados en serie, describe el comportamiento viscoelástico de un material como su capacidad de deformarse y recuperar su forma original cuando se retira el esfuerzo, usando la energía que almacenó durante su deformación. Evaluando los parámetros del modelo de Maxwell (Tabla 4) se encontró que el yogur control a tiempo cero obtuvo un deformación instantánea J_0 de 0.02905 Pa^{-1} mientras que las muestras de yogur con almidón retrogrado con 30% de amilosa y con 2.5% de sólidos tiene un valor similar de J_0 al control, ya que el almidón retrogrado a esta concentración forma un gel no tan rígido por la ausencia suficiente de sólidos que integren una estructura más elástica. Dicha malla tridimensional en el gel es más elástica conforme aumenta la concentración puesto que su deformación instantánea reduce de 0.00817 , 0.00564 y 0.00178 Pa^{-1} , con 5, 7.5 y 10% de sólidos agregados de almidón retrogradado, respectivamente.

Tabla 4. Parametros reológicos del modelo de Maxwell de yogur bebible con almidón retrogradado con 30% de amilosa evaluado a los 0, 7 y 14 días de almacenamiento. Donde J_0 (deformación instantánea), J_1 (deformación retardada), μ_0 (viscosidad), λ_{ret} (tiempo de relajación), [] (concentración en p/p).

%amilosa	días	[%]	J_0 (Pa^{-1})	J_1 (Pa^{-1})	μ_0 (Pa.s)	λ_{ret} (s)
	0	0	0.02905	0.03447	11765.6849	30.9615
		2.5	0.02905	0.02829	13420.0727	28.9503
		5	0.00817	0.00796	48693.0344	26.4291
		7.5	0.00564	0.00410	59508.5929	15.0390
		10	0.00178	0.00131	312495.3267	22.1490
	7	0	0.02740	0.02557	15211.3883	31.8289
30		2.5	0.01304	0.01268	30460.7303	28.2355
		5	0.00815	0.00689	51098.0181	28.0402
		7.5	0.00151	0.00127	219330.0317	24.3047
		10	0.00337	0.00303	124797.8222	30.9473
	14	0	0.02748	0.02310	14450.9029	35.1390
		2.5	0.01947	0.01480	22817.4207	34.0244
		5	0.00818	0.00632	54204.9863	29.8808
		7.5	0.00277	0.00222	171416.2700	25.7717
		10	0.00318	0.00307	123836.1952	28.6257

El almidón retrogradado con 30% de amilosa otorga firmeza al yogur, que incluso al transcurrir 7 días aumenta, puesto que los valores de J_0 en el control es de 0.02740 Pa^{-1} , mientras que en las muestras de yogur son de 0.01304 , 0.00815 y 0.00151 Pa^{-1} , con 2.5, 5 y 7.5% de sólidos agregados, respectivamente. Cuando al 10% de sólidos su deformación instantánea aumenta de 0.00178 , 0.00337 y 0.00318 Pa^{-1} , a los 0, 7 y 14 días de almacenamiento, respectivamente. Este cambio que sufre durante el tiempo se correlaciona con la disminución en su módulo almacenamiento G' , donde el comportamiento elástico del material disminuye reflejándose en el debilitamiento de la estructura interna del gel teniendo así mayor cedencia a la deformación.

Por otro lado, el tiempo de relajación λ_{ret} que es el tiempo en que el material alcance el 63% de la deformación máxima; este tiempo de relajación es menor cuando se adiciona almidón retrogradado, puesto que el control a tiempo cero tiene un valor de 30.96 s, mientras que al adicionar almidón retrogradado con 30% de amilosa disminuye a 28.95, 26.42, 15.03 y 22.14 s con 2.5, 5, 7.5 y 10% de sólidos, respectivamente, indicando que en menor tiempo los sistemas llegan a su punto de deformación máxima, es decir presentan mayor resistencia a la deformación. Mientras que al pasar los días de almacenamiento este tiempo de relajación aumenta así como J_0 en un rango de 0.01304 - 0.00337 Pa^{-1} en 7 días y de 0.02748 - 0.00318 Pa^{-1} en 14 días, indicando una debilitación en el gel por lo que estos valores de deformación instantánea aumentan.

Cómo se mencionó con anterioridad, el almidón retrogradado otorga firmeza al yogur ya que una reducción en J_0 indica menor deformación, es decir aumenta su propiedad elástica, sin embargo este efecto de elasticidad es mayor en los yogures con 70% de amilosa (Tabla 5), puesto que al tiempo cero tienen valor de J_0 de 0.0280 , 0.0105 , 0.0103 y 0.0057 Pa^{-1} , con 2.5, 5, 7.5 y 10% de sólidos agregados, respectivamente. Aunque estos valores son mayores comparados con los yogures que contienen 30% de amilosa, durante el almacenamiento sus valores de J_0 disminuyen a 0.0120 , 0.0064 , 0.0034 y 0.0034 Pa^{-1} , con 2.5, 5, 7.5 y 10% de sólidos agregados, respectivamente. Y a los 14 días de 0.0154 , 0.0071 ,

0.0044 y 0.0027 Pa⁻¹, con 2.5, 5, 7.5 y 10% de sólidos agregados, respectivamente. Así igual, disminuye su tiempo de relajación, ejemplo con 10% de sólidos agregados se reduce de 29.73 a 17.17 s, de 7 a 14 días de almacenamiento, respectivamente. Es decir, le toma menor tiempo al gel con 70% de amilosa en llegar a su deformación máxima, siendo esta deformación con un valor mínimo.

Tabla 5. *Parámetros reológicos del modelo de Maxwell de yogur bebible con almidón retrogradado con 70% de amilosa evaluado a los 0, 7 y 14 días de almacenamiento. Donde J₀ (deformación instantánea), J₁ (deformación retardada), μ₀ (viscosidad), λ_{ret} (tiempo de relajación), [] (concentración en p/p).*

%amilosa	días	[%]	J ₀ (Pa ⁻¹)	J ₁ (Pa ⁻¹)	μ ₀ (Pa.s)	λ _{ret} (s)
	0	0	0.0291	0.0364	12838.1031	34.4459
		2.5	0.0280	0.0243	17010.8460	35.9572
		5	0.0105	0.0124	35957.0548	27.1769
		7.5	0.0103	0.0103	41668.3979	29.4568
		10	0.0057	0.0063	76685.7125	29.7303
	7	0	0.0274	0.0270	16526.6566	35.3031
70		2.5	0.0120	0.0111	36278.3613	31.9135
		5	0.0064	0.0067	64394.8294	31.2500
		7.5	0.0034	0.0032	119860.5199	32.0884
		10	0.0034	0.0033	126233.5208	28.9822
	14	0	0.0275	0.0245	15638.1244	39.0192
		2.5	0.0154	0.0154	28873.4391	29.5755
		5	0.0071	0.0060	64502.3874	29.9426
		7.5	0.0044	0.0042	97321.0037	30.5604
		10	0.0027	0.0017	1114560.5862	17.1710

La prueba de cedencia-recuperación permitió elucidar como es la estructura interna del gel y su capacidad de deformarse y recuperarse como se muestra en la Figura 18, donde los sistemas con 70% de amilosa su curva de cedencia-recuperación es menor comparado con los yogurts que contienen 30% amilosa tal como lo obtenido en el modelo de Maxwell (Tabla 4 y 5), indicando que los yogures con 30% de amilosa son geles que debido a su alta capacidad de retención de agua, asociado a los resultados de sinéresis, tienen mayor viscosidad (μ₀), sin embargo este efecto debilita al gel por el alto contenido de amilopectina y por ello la matriz del gel tiene mayor deformación con poca capacidad de

recuperarse. Contrario sucede con la matriz de los yogures con 70% de amilosa, que por su poca capacidad de retención de agua tienen menor viscosidad pero mayor resistencia a la deformación y mayor recuperación para volver a su forma original, y así estos valores conforme el almacenamiento se tornan con mayor rigidez, comprobando que tienen mayor estabilidad, en otras palabras, se obtiene un gel de yogur más rígido pero manteniéndose en estado bebible con mayor estabilidad ya que se reduce la separación del suero y tiene menor viscosidad.

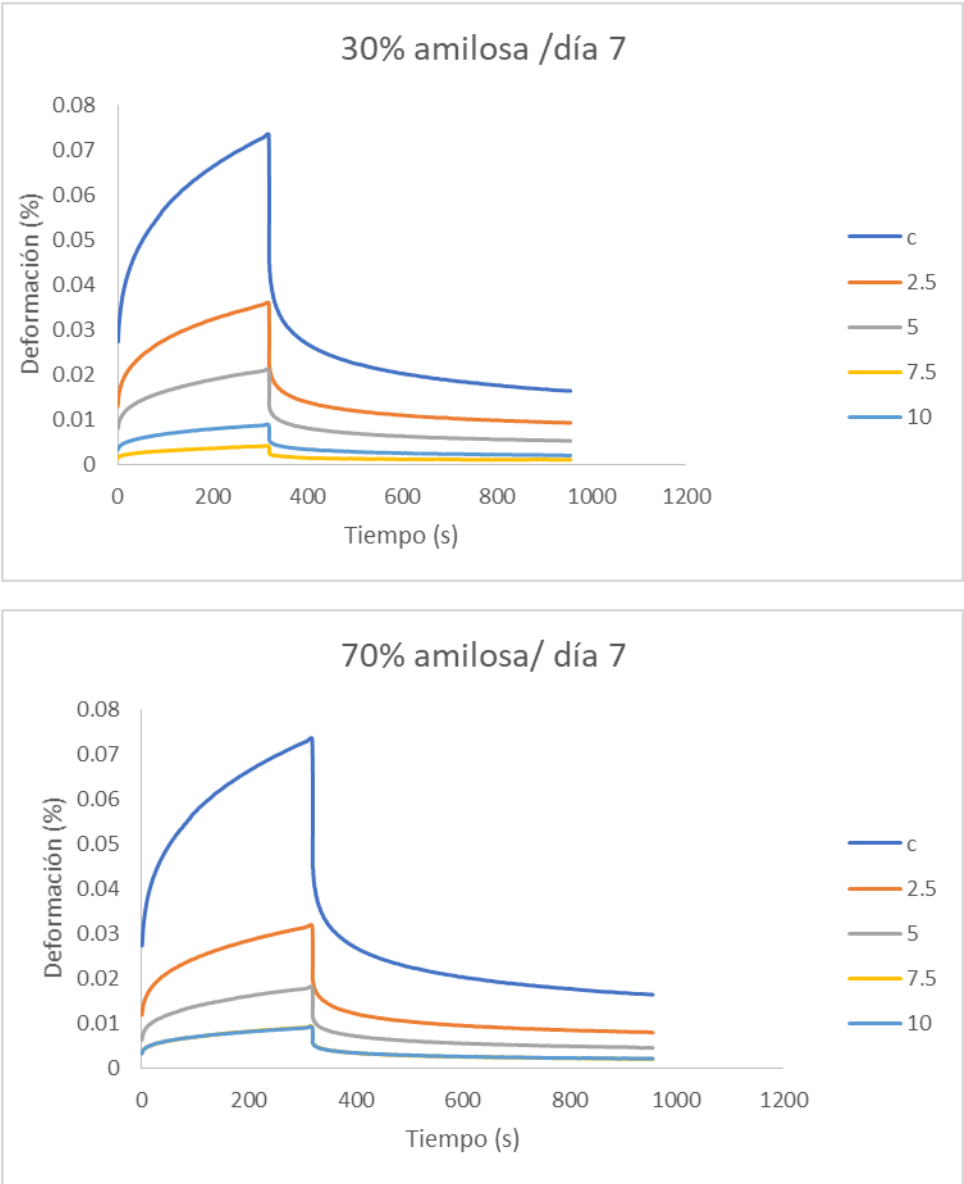


Figura 18. Curvas de prueba de cedencia- recuperación en yogur bebible con 30 y 70% de amilosa almacenado durante 7 días.

7.3. Cuantificación de almidón total AT y almidón resistente

AR

Para estas técnicas se midió el almidón retrogradado en polvo, esto con el fin de usarlo como control. En la cuantificación de almidón total (AT) (Figura 19), dichos polvos con 30 y 70% de amilosa presentaron porcentajes de $86.06\% \pm 1.35$ y $82.58\% \pm 1.46$, respectivamente, similar a lo reportado por Paredes et al. (2013), donde evaluaron el almidón total en papa cocida que obtuvo un valor de 85.5%.

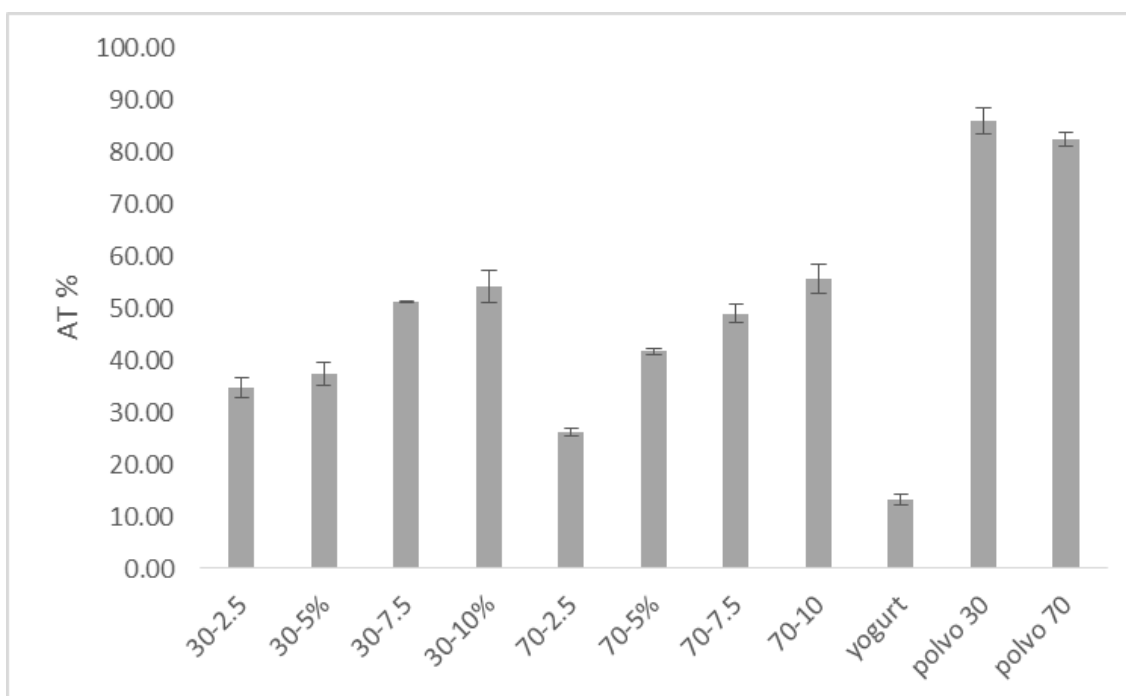


Figura 19. Porcentaje de almidón total para los yogures almacenados durante 7 días.

Por otro lado, se observa que este porcentaje disminuye al adicionarse al yogur, mientras que la tendencia del porcentaje de AT aumenta en función a la concentración de sólidos agregados.

La cuantificación de almidón resistente AR (Figura 20) en los yogures con almidón retrogradado con 30% de amilosa a los 7 días de almacenamiento, aumentan su contenido de AR de 2.02 a 4.16% con 2.5% y 7.5% de sólidos agregados, respectivamente. Sin embargo, al adicionar 10% de almidón retrogradado el valor de AR disminuye hasta 1%, correlacionándose con el incremento en la viscosidad, reducción del módulo del almacenamiento y disminución en la sinéresis, ya que al hidratarse las cadenas de amilosa y amilopectina otorgan estos cambios y por ende se pierde la conformación de AR.

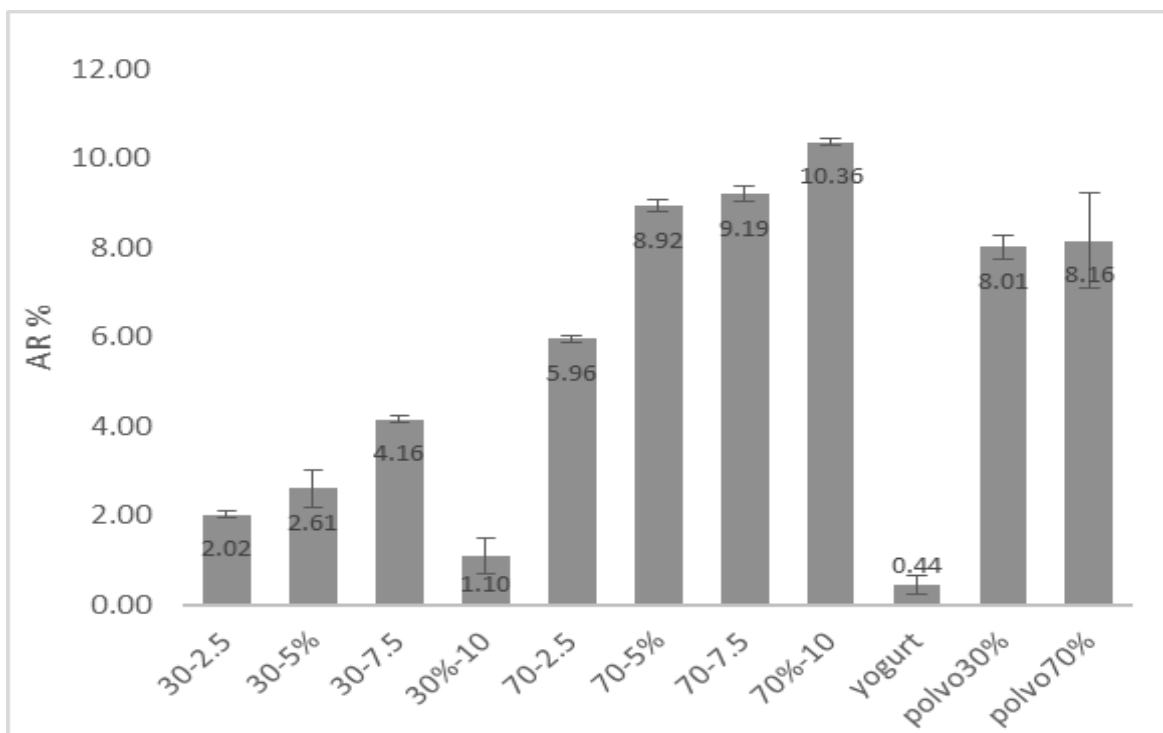


Figura 20. Porcentaje de almidón resistente para los yogurts almacenados durante 7 días.

Para el caso de las muestras de yogur con 70% de amilosa, el incremento en el porcentaje de AR aumenta en un rango de 5.96 a 10.35% de 2.5 a 10% de sólidos agregados. Estos valores se asemejan a lo reportado por Paredes et al. (2013) al cuantificar AR en papa cocida teniendo un porcentaje de 6.5%.

Al correlacionar los valores de AR en el yogur con las pruebas de cedencia-recuperación, donde se observó que a 70% de amilosa los sistemas tienen menor viscosidad pero conforman una matriz en el gel más rígida, debido al alto porcentaje de AR y compactación en las cadenas de amilosa es lo que otorga esa resistencia a la deformación y por lo tanto mayor recuperación.

7.4. Microscopia electrónica de barrido

En las micrografías de los polvos de almidón retrogradado (Figura 21) no se observan gránulos de almidón sino partículas amorfas de diversos tamaños. Pero al adicionar almidón retrogradado en el yogur (Figura 22) se puede observar el cambio en la estructura del yogur control al adicionar 30% de amilosa, se distinguen unos aglomerados de las partículas de almidón otorgando mayores volúmenes con superficies rugosas.

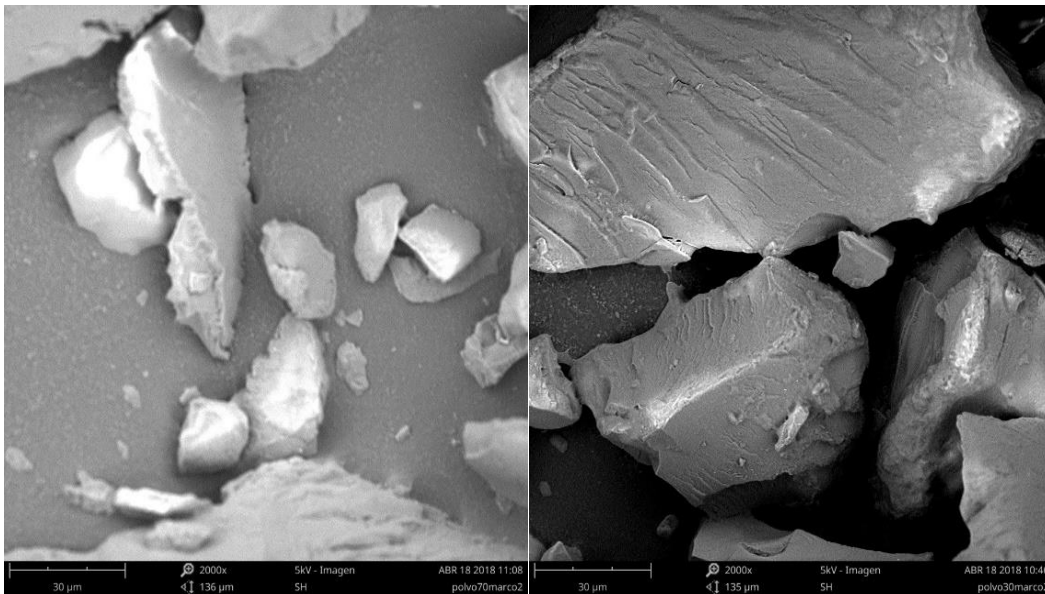


Figura 21. Micrografías electrónicas de barrido de los polvos de almidón retrogradado con 70% (lado izquierdo) y 30% (lado derecho) de amilosa.

Mientras que al 70% de amilosa (Figura 22 lado derecho) no hay presencia de estos aglomerados, sino que es similar a la superficie de la muestra control con la diferencia de zonas estriadas. Estas zonas estriadas pudieran ser conjuntos de cadenas de amilosa reorganizadas que están aglomeradas y distribuidas por toda la matriz lo que otorga los cambios en las características reológicas del gel.

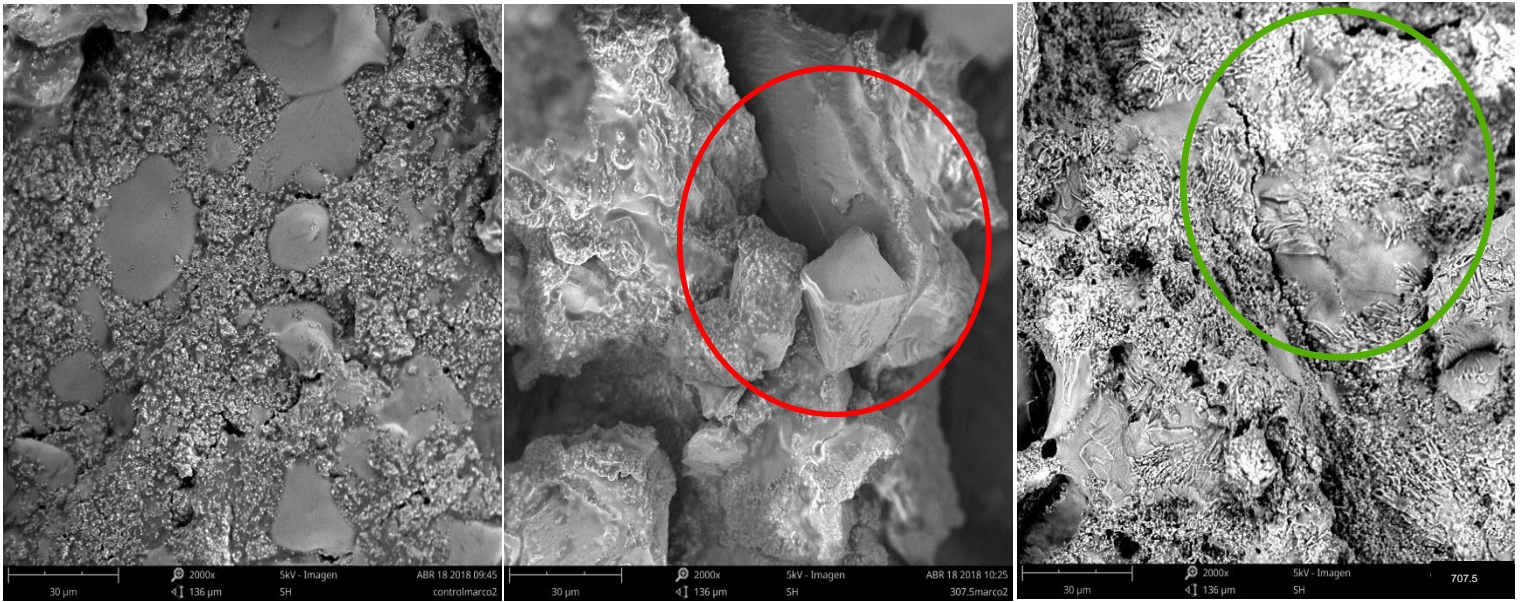


Figura 22. Micrografías electrónicas de barrido de yogurt control (lado izquierdo); muestra de yogurt con 30% de amilosa y 7.5% de sólidos (centro); muestra de yogurt con 70% de amilosa y 7.5% de sólidos (lado derecho).



Capítulo 8. Conclusiones

En el presente trabajo se concluye que el yogur con almidón retrogrado con 30 y 70% de amilosa tienen un comportamiento no-Newtoniano del tipo reofluidizante y con dependencia en el tiempo, describiéndose también como tixotrópico.

Es importante resaltar el efecto de la proporción amilosa/amilopectina, puesto que el contenido de amilosa otorga diferencias significativas en los yogures; en aquellos que contienen 30% de amilosa por el alto contenido de amilopectina aumentan su viscosidad y capacidad de retención de agua lo que se refleja en la disminución de separación del suero láctico, formando un gel más verdadero en el yogur lo que se ve reflejado en su G' y creep, no obstante, conforme a los días de almacenamiento esta rigidez o firmeza se pierde por el debilitamiento de la estructura del gel, lo que conlleva a que tenga mayor cedencia a la deformación y menor capacidad de recuperación, pero a pesar de ello sigue manteniendo valores más que el control.

Por otro lado, al adicionar almidón retrogrado con alto contenido de amilosa (70%) contribuye la formación de geles más rígidos, con menor viscosidad pero mayor estabilidad durante el tiempo de almacenamiento. De igual forma, la matriz del gel aumenta su capacidad elástica reduciendo su cedencia a la deformación e incrementando su recuperación.

Finalmente, el almidón retrogrado favorece la formación de almidón resistente tipo 3. Puesto que con 30% de amilosa y 7.5% de sólidos de almidón retrogrado se obtuvo 4% de almidón resistente, mientras que con 70% de amilosa con 7.5% de sólidos agregados se obtuvo 10% de AR, ambos a 7 días almacenamiento. Como aporte relevante se tiene que el uso de almidón retrogrado debido a sus cambios reológicos, otorgan diferentes texturas para el yogur sin el

uso de aditivos químicos y aumentan la estabilidad del producto. Con 30% de amilosa se tiene un yogurt más espeso pero suave, siendo tipo yogur batido, mientras que con 70% de amilosa, se mantiene un yogurt bebible por su baja viscosidad, pero una estructura de gel más rígida y con mayor estabilidad durante el almacenamiento. La adición de almidón resistente en ambos se espera tenga un efecto benéfico a la salud del consumidor en pruebas in-vivo.



Capítulo 9. Referencias Bibliográficas

Aguirre-Mandujano, E. y otros, 2009. Microstructure and viscoelastic properties of low-fat yoghurt structured by monoglyceride gels. *Food science and Technology*, Volumen 42, pp. 938-944.

Alvarado, J., 2013. *Principios de ingeniería aplicados a alimentos*. Segunda ed. Quito, Ecuador: Secretaria general de la O.E.A..

Anaya-Torres, T. y otros, 2016. Efecto de almidones nativos sobre las propiedades del yogurt de leche de cabra. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(2), pp. 459-464.

Andrade, R. D., Arteaga, M. R. & Simanca, M. M., 2010. Efecto del salvado de trigo en el comportamiento reológico del yogurt de leche de búfala. *Información Tecnológica*, 21(5), pp. 117- 124.

Aportela- Palacios, A., Sosa- Morales, M. & Vélez- Ruíz, J., 2005. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt with fiber and calcium. *Journal of Texture Studies*, Volumen 36, pp. 333- 349.

Ashwar, B. A. y otros, 2016. Preparation, health benefits and applications of resistant starch- a review. *Starch/ Stärke*, Volumen 68, pp. 287- 301.

Bednar, G., Patil, A., Murray, S. & Grieshop, C., 2001. Starch and fibre fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability and their large bowel fermentability in vitro in a canine model. *J. Nutr.*, Volumen 131, pp. 276-286.

Bello-Pérez, L., Agama-Acevedo, S.-A., Moreno-Damián, E. & y Figueroa, J., 2000. Some structural, physicochemical and functional studies of banana starches isolated from two varieties growing in Guerrero, Mexico. *Starch/ Stärke*. 52 (2-3), pp. 68-73.

Bourne, M., 2002. *Food texture and viscosity: concept and measurement*. second edition ed. Geneva, New York: Academic press.

Cagigas, R. A. L. & Blanco, A. J., 2002. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment. Nutr.* , 16(1), pp. 63- 8.

Canovas, A. & Pérez-Alvarez, J., 2006. La fibra dietética: Un ingrediente para el desarrollo de alimentos funcionales. *Aliment*, Volumen 370, pp. 65-68.

Champ, M., 2004. *Starch in food: Structure, Function and applications*. Cambridge: Woodhead Publishing.

De las Cagigas-Reig, A. L. & Blanco-Anesto, J., 2002. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment Nutr*, 16(1), pp. 63-8.

Diplock, A. y otros, 1991. Scientific concepts of functional food in Europe consensus documents. *BR J Nutr*, 81(S1).

Englyst, H. N. & Cummings, J., 1982. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, Volumen 107, pp. 307-318.

Fausto, F., Kacchi, A. & Mehta, D., 1997. Starch products in confectionery. *Bever. Food World*, Volumen 26, pp. 4-16.

Fernández, A., Waniska, R. & Rooney, L., 1999. Changes in starch properties of corn tortillas during storage. Time on the retrogradation of banana starch extrudate. *J. Agric. Food Chem.*, Volumen 53, pp. 1081-1086.

Fernandez-Lopez, J. y otros, 2007. Orange fibre as potential functional ingredient for dry-cured sausages. *European Food Research and Technology*, Volumen 226, pp. 1-6.

Ferrer, B. & Dalmau, J., 2001. Alimentos funcionales: probióticos. *Acta Pediátrica Española*, Volumen 59, pp. 150-155.

Fuentes-Zaragoza, E. y otros, 2011. Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch/ Stärke*, Volumen 63, pp. 406-415.

Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animal. *J. Applied Bacter*, 66(3), pp. 65-78.

Gauche, C. y otros, 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. *LWT- Food Science and Technology*, 42(1), pp. 239-243.

Gómez-Aldapa, C. A. & Tovar-Benítez, T., 2008. *Caracterización morfológica (Zea mays L) obtenido por diferentes métodos de aislamiento.*, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo: Tesis de Licenciatura.

Gudmundsson, M. & Eliasson, A., 1990. Retrogradation of amylopectin and the effects of amylose and added surfactants/emulsifiers.. *Carbohydrate Polymers*, Volumen 13, pp. 295-315.

Hardy, G., 2000. Nutraceuticals and functional foods: Introduction and meaning. *Nutrition*, Volumen 16, pp. 688- 697.

Ibarrola, L. E., 2018. *Facultad de Ciencias exactas, físicas y Naturales (FCEFyN)*. [En línea] Available at: <http://www.efn.unc.edu.ar/departamentos/aero/Asignaturas/MecFluid/material/introducci%F3n%20no%20newtonianos.pdf> [Último acceso: 12 Marzo 2018].

Jane, J. & Chen, J., 1992. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. *Cereal Chem.*, 69(1), pp. 60-65.

Keogh, M. & O'Kennedy, B., 1998. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of food science*, 63(1).

Klucinec, D. & Thompson, D., 2002. Amylopectin nature and amylose-to-amylopectin ratio as influences on the behavior of gels of dispersed starch. *Cereal Chem*, 79(1), pp. 24-35.

Langkilde, A., Champ, M. & Andersson, H., 2002. Effects og high- resistant-starch banana flour (RS2) on in vitro fermentation and the small- bowel excretion of energy, nutrients and sterols: an ileostomy study. *Am J Clin Nutr*, Volumen 75, pp. 104- 111.

Lehman, U., Jacobasch, G. & Schmiedl, D., 2002 . Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *J. Agric. Food Chem*, Volumen 50, pp. 5236- 5240.

Lobato-Calleros, C., Ramírez-Santiago, C., Verno-Carter, E. & Alvarez-Ramirez, J., 2014. Impact of native and chemically modified starches addition as

fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt. *Journal of Food Engineering*, Volumen 131, pp. 110-115.

Macedo-y-Ramírez, R. C. & Vélez-Ruíz, J., 2015. Propiedades fisicoquímicas y de flujo de un yogur asentado enriquecido con microcápsulas que contienen ácidos grasos omega 3. *Información Tecnológica*, 26(5), pp. 87- 96.

Marcos, A., 2000. *III Cumbre Internacional del Yogurt*. Barcelona: Danone S.A. Monografía..

Mckinley, M., 2006. The nutrition and health benefits of yoghurt. *International journal of dairy technology*, 58(1), pp. 1-12.

Mikulíková, D., Masár, S. & Kraic, J., 2008. Biodiversity of legume health-promoting starch. *Starch*, Volumen 60, pp. 426-432.

Muller & G., H., 1977. *Introducción a la Reología de los Alimentos*. Traducido por Burgos González, J.. Zaragoza, España: Acribia.

Núñez- Santiago, M., Méndez- Montealvo, M. & Solorza- Feria, J., 2001. *Introducción a la Reología*. Primera edición ed. México: Instituto Politécnico Nacional.

Osorio- Tobón, J. F., Ciro-Velásquez, H. J. & Mejía, L. G., 2005. Caracterización reológica y textural del queso EDAM. *Dyna*, 72(147), pp. 33-45.

Ottenhof, M., Hill, S. & Farhat, I., 2005. Comparative study of the retrogradation of intermediate water content cereoso maize, wheat, and potato starches. *J. Agric. Food Chem.*, Volumen 53, pp. 631-638.

Paredes, C. y otros, 2013. Determinación de diferentes tipos de almidón en *Solanum Tuberosum*, papa proveniente del altiplano de la Paz. *Revista Boliviana de Química*, 30(1), pp. 1-4.

Parra, H. & Ricardo, A., 2012. Yogur en la salud humana. *La sallista de Investigación*, 9(2), pp. 162- 177.

Penna, F., 1998. Diarrea y probióticos. Simposio sobre la utilidad de los probióticos en el manejo de las diarreas. *Rev Enfer Infec Ped*, XI(6), p. 182.

Pineda-Gómez, P. y otros, 2010. Papel del agua en la gelatinización del almidón de maíz: estudio por calorimetría diferencial de barrido. *Ingeniería y Ciencia*, 6(11), pp. 129-141.

Raigond, P., Ezekiel, R. & Raigond, B., 2015. Resistant starch in food: a review. *J sci Food Agric*, Volumen 95, pp. 1968-1978.

Ramirez- Santiago, C. y otros, 2010. Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from *Pachyrhizus erosus* L. Urban: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. *Journal of Food Engineering*, Volumen 101, pp. 229-235.

Rezaei, R. y otros, 2015. Effect of resistant starch and aging conditions on the physicochemical properties of frozen soy yogurt. *J Food Sci Technol*, 52(12), pp. 8164-8171.

Rodriguez, S. y otros, 2008. Characterization of a fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. *Food Chemistry*, Volumen 107, pp. 1515-1521.

Rojas, O., Briceño, M. I. & Avendaño, J., 2012. *Fundamentos de Reología*, Mérida-Venezuela: FIRP.

Rønnegard, E. & Dejmek, 1993. Development and breakdown of structure in yoghurt studied by oscillatory rheological measurements. *Le Lait, INRA Editions*, 73(4), pp. 371-379.

Sajilata, M. G., Singhal, R. S. & Kulkarni, P. R., 2006. Resistant starch- A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* , Volumen 5, pp. 1- 17.

Stanton, C., Ross, R., Fitzgerald, G. & Van Sinderen, D., 2005. Fermented functional foods based on probiotics and their bioactive metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, Volumen 16, pp. 198- 203.

Tabilo-Munizaga, G. & Barbosa-Cánovas, G., 2005. Rheology for the food industry. *Journal of food engineering*, Volumen 67, pp. 147-156.

Tamime, A. & Robinson, R., 1999. *Yogurt Science and Technology*. 3a edición, pp 791 ed. NY, EU: Woodhead Publishing Ltd. And CRC Press LLC.

Tamjidi, F., Nasirpour, A. & Shahedi, M., 2012. Physicochemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil. *Food Sci. & Technol. Int.*, 18(4), pp. 381-90.

Tester, R. & Karkalas, J., 2002. II. Polysaccharides from Eukaryotes. En: *Biopolymers, vol. 6. Polysaccharides*. Weinheim: Wiley- VCH, pp. 381- 438 pp.

Torres, R., 1999. *Flora intestinal, probióticos y salud*. Guadalajara: Edit. Gráfica Nueva, Yakult.

Trowell, H., Southgate, D. & Wolevwe, T., 1976. Dietary fiber redefined. *Lancet*, 1(196), pp. 7-8.

US/FDA-DHHs, 2016. *21CFR131.203: Low fat yogurt*. [En línea] Available at:

[https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=131.2](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=131.203)

[03](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=131.203)

[Último acceso: 04 12 2016].

USDA, 2001. *Specifications for Yogurt, Nonfat Yogurt and Lowfat Yogurt*. Washington, DC.: Programs, Dairy. Agricultural Marketing Services. United States Department of Agriculture.

Velazquéz, O., Lederrer, H. & Rombean, J., 1996. Butyrate and the colonocyte. Implications for neoplasia. *Dig Dis Sci*, 41(7), pp. 27-39.

Vélez- Ruiz, J., 2008. *Rheological properties of yogurt*. NY, USA: Nova Science Publishers.

Vélez- Ruiz, J., Hernández- Carranza, P. & Sosa- Morales, M., 2012. Physicochemical and flow properties of low fat yogurt fortified with calcium and fiber. *Journal of Food Processing and Preservation*, Volumen 37, pp. 210- 221.

Vélez, J. & Rivas, A., 2001. Revisión: Propiedades y características del yogur. *Revista Internacional Información Tecnológica*, 12(6), pp. 35- 42.

Vera-Balcázar, M. E., 2011. *Elaboración y aplicación gastronómica del yogur*. Universidad de Cuenca: s.n.

Ward, K., Hosenev, R. & Seib, P., 1994. Retrogradation of amylopectin from maize and wheat starches. *Cereal Chem*, 71(2), pp. 150-155.

Waterschoot, J., Gomand, S. V., Fierens, E. & Delcour, J. A., 2014. Starch blends and their physicochemical properties. *Starch/ Stärke*, pp. 66: 1-13.

Wepner, B., Berghofer, E., Miesenberger, E. & Tiefenbacher, K., 1999. Citrate starch: Application as resistant starch in different food systems. *Starch/ Stärke*, Volumen 51, pp. 354- 361.