



**Universitat Autònoma de Barcelona
Facultat de Veterinària
Departament de Ciència Animal i dels Aliments**

“Trabajo presentado para la superación de los 15 créditos del Modulo Trabajo Fin de Máster
del Máster Oficial en Calidad de Alimentos de Origen Animal”

Caracterización de emulsiones O/W formuladas con mazada y aceites vegetales obtenidas por homogenización convencional a alta presión

Autor: César Fernando Hernández Maya
Director: Antonio José Trujillo Mesa
Bellaterra (Cerdanyola del Valles), septiembre 2020

Declaro ser autor de este Trabajo Fin de Máster que se presenta para obtener el grado de Maestría en Calidad de Alimentos de Origen Animal en la Universidad Autónoma de Barcelona, España. Este trabajo no ha sido presentado antes para obtener ninguno grado o examen en cualquier otra universidad.

Firma

Bellaterra, 27 de agosto de 2020

El Doctor Antonio José Trujillo Mesa Catedrático de Universidad en el Área de Tecnología de los Alimentos del Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la Universitat Autònoma de Barcelona,

INFORMA

Que el trabajo titulado: “**Caracterización de emulsiones O/W formuladas con mazada y aceites vegetales obtenidas por homogenización convencional a alta presión**” ha sido realizado bajo mi supervisión y tutela por César Fernando Hernández Maya dentro del módulo Trabajo Fin de Máster en Calidad de Alimentos de Origen Animal de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Bellaterra, 27 de agosto de 2020.

Agradecimientos

A Dios, quien guía mi camino.

Al Dr. Antonio José Trujillo Mesa por su paciencia y consejos en la elaboración del presente trabajo, sin duda un gran profesional, muchas gracias por darme la oportunidad de participar en su proyecto de investigación.

Al Departamento de Ciencia de los Alimentos, en especial a Libni, por sus innumerables enseñanzas, quien ha sabido demostrar que un profesional se forma día a día.

A mis padres y a mi familia, muchos de mis logros se los debo a ustedes quienes con sus palabras de aliento no me han dejado decaer, motivándome alcanzar cada uno de mis sueños.

A ti Sofia, llegaste a mi vida para iluminarla, gracias por tu cariño que es mi felicidad, mis esfuerzos y anhelos te los dedico a ti.

Lista de abreviaturas

% Tanto por ciento

°C Grado Celsius

µm Micra

ANOVA Análisis de Varianza

BS Backscattering/ Retrodispersión

C16:0 Ácido palmítico

C18:0 Ácido esteárico

C18:1 Ácido oleico

C18:2 Ácido linoleico

C18:3 Ácido linolénico

D_(3,2) Diámetro medio en relación a la superficie-peso

D_(4,3) Diámetro medio en relación al volumen-peso

g Gramo

K Índice de consistencia

kg Kilogramo

mEq Miliequivalente

MFGM Membrana del glóbulo graso de la leche

mg Miligramo

min minuto

MPa Megapascal

mV milivoltio

MZ mazada

n Índice de comportamiento al flujo

O/W Aceite en agua

O/W/O Aceite en aAgua en aceite

p/p Peso/peso

p/v Peso/volumen

Pa Pascal

ppb Partes por billón

R² Índice de correlación

rpm Revoluciones por minuto

s Segundo

SDS Dodecilsulfato sódico

TSI Turbiscan Stability Index / Índice de estabilidad del Turbiscan

v/v Volumen/volumen

W/O Agua en Aceite

W/O/W Agua en Aceite en Agua

γ Velocidad de deformación o cizallamiento

τ Esfuerzo cortante

ω -3 Omega 3

ω -6 Omega 6

ω -9 Omega 9

Índice

Agradecimientos.....	I
Lista de abreviaturas.....	II
Índice	IV
Resumen	1
Abstract	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MATERIAL Y MÉTODOS	7
2.1. Preparación de emulsiones	7
2.2. Caracterización de las emulsiones	8
2.2.1. Distribución del tamaño de partícula	8
2.2.2. Potencial zeta.....	8
2.2.3. Determinación de propiedades reológicas.....	8
2.2.4. Determinación de estabilidad física	9
2.3. Análisis estadístico	10
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
3.1. Distribución y tamaño de partícula	11
3.2. Potencial Zeta.....	13
3.3 Determinación de propiedades reológicas.....	14
3.4. Determinación de estabilidad física	16
4. CONCLUSIONES	21
5. REFERENCIAS	22

Resumen

En este estudio, se elaboraron emulsiones de aceite en agua de mezclas de aceites de girasol y chía (ricas en ácidos grasos ω-3, 6 y 9), utilizando como emulgente la mazada, mediante homogenización convencional. Se investigó la influencia del emulsionante (5 y 7% de mazada), la concentración de aceite (10 y 20%) y la presión de homogeneización (20 y 100 MPa) sobre las propiedades de las partículas (tamaño y potencial zeta), la reología y la estabilidad física de las emulsiones. Las emulsiones tratadas a 100 MPa presentaron menor tamaño de partícula, en comparación a las obtenidas a baja presión (20 MPa). De manera similar las emulsiones con menor contenido de aceite presentaron menor tamaño de partícula, independientemente del porcentaje de mazada, y solo en las emulsiones con un 20% de aceite, la concentración de mazada tuvo un efecto positivo reduciendo su tamaño de partícula. En cuanto al comportamiento reológico, aquellas emulsiones con menor contenido de aceite presentaron los menores valores de índice de consistencia (K), mientras que el comportamiento al flujo (n), independientemente de la presión aplicada a las emulsiones con un 10% de aceite, presentaron un comportamiento reológico newtoniano ($n \approx 1$), a diferencia de aquellas formuladas con un 20% de aceite, que tuvieron un comportamiento reológico pseudoplástico ($n < 1$). Las emulsiones tratadas a 100 MPa fueron más estables a nivel físico en comparación a las tratadas a 20 MPa, y en especial aquellas formuladas con 7% de mazada y 20% de aceite, enlenteciendo los fenómenos de clarificación y cremado.

Palabras clave: emulsión O/W, mazada, aceites vegetales, homogenización convencional, baja y alta presión.

Abstract

In this study, oil-in-water emulsions of blends of sunflower and chia oils (rich in ω -3, 6 and 9 fatty acids) and buttermilk used as emulsifier, were produced by conventional homogenization. The influence of emulsifier (5 and 7% buttermilk), oil concentration (10 and 20%) and homogenization pressure (20 and 100 MPa) on the particle properties (size and zeta-potential), rheology and physical stability of the emulsions were investigated. Emulsions treated at 100 MPa had smaller particle size compared to those obtained at low pressure (20 MPa). Similarly, emulsions with lower oil content had smaller particle size, independently of the percentage of buttermilk, and only in emulsions with 20% oil, the buttermilk concentration had a positive effect on reducing its particle size. Regarding the rheological behaviour, emulsions with lower oil content showed the lowest consistency index values (K), while the flow behaviour (n), independently of the pressure applied to the emulsions with 10% oil, showed a Newtonian rheological behaviour ($n \approx 1$), in contrast with those formulated with 20% oil, which had a pseudoplastic rheological behaviour ($n < 1$). Emulsions treated at 100 MPa were more physically stable compared to those treated at 20 MPa, and especially, those formulated with 7% buttermilk and 20% oil, slowing down the clarification and creaming phenomena.

Key words: O/W emulsion, buttermilk, vegetable oils, conventional homogenization, low and high pressure.

1. INTRODUCCIÓN

Una emulsión es un sistema heterogéneo de dos fases líquidas inmiscibles, es decir una fase líquida que es dispersada en una fase continua, y que se incorpora en forma de gotas por la presencia de un agente emulsionante y un sistema de emulsificación. El tamaño de las emulsiones pueden variar ampliamente desde unos pocos nanómetros hasta decenas de micrómetros, dependiendo de la fase en la que se encuentren (Binks, 2007; Calderon et al., 2007; Velayati y Nouri, 2020).

La concentración inicial de las dos fases líquidas, en presencia de altas o bajas concentraciones de fase oleosa, el tipo y concentración de emulsionante utilizado, así como el proceso de homogenización utilizado, determinarán el tamaño de gota y tipo de emulsión (Niakousari et al., 2018). Las emulsiones por naturaleza son sistemas termodinámicamente inestables y tienden a alterarse con el tiempo mediante diferentes mecanismos fisicoquímicos, como la separación gravitacional, floculación, coalescencia y maduración de Ostwald (Tadros, 2016).

En base a la distribución de sus fases oleosa y acuosa, las emulsiones se pueden clasificar en: (1) emulsiones simples como aceite en agua (O/W, Oil/Water) donde las gotas de aceite son dispersadas en un medio acuoso, o agua en aceite (W/O, Water/Oil) donde las gotas de agua son dispersadas en un medio oleoso, y (2) emulsiones múltiples como aceite en agua en aceite (O/W/O) o agua en aceite en agua (W/O/W), en las que las gotas de la fase dispersa, a su vez contienen gotas dispersas de mucho menor tamaño (McClements, 2010; Velayati y Nouri, 2020).

El tamaño de las gotas o partículas define el tipo de emulsión en: (1) macroemulsiones, cuando el tamaño de partícula se sitúa en un intervalo de 1-100 μm , y debido al gran tamaño de sus gotas son sistemas opacos; (2) nanoemulsiones, con gotas muy pequeñas con tamaños en un intervalo de 20 a 500 nm, y son cinéticamente estables, transparentes o translúcidas; y (3) microemulsiones, con el tamaño más pequeño de partícula (10-100 nm), poseen la mejor estabilidad a la separación y agregación gravitacional de las emulsiones (McClements, 2010).

La distribución del tamaño de partícula en una emulsión está controlado por las condiciones de homogenización usadas, siendo variables la intensidad y la duración del aporte de energía, o por la composición del sistema (el tipo y concentración del emulsionante utilizado en las fases dispersas y continuas) (McClements, 2005). Por sus condiciones de homogenización pueden ser emulsiones de alta o baja energía. Las de alta energía se producen a partir de

dispositivos mecánicos los cuales utilizan fuerzas disruptivas intensas como la colisión, compresión, cizalla y cavitación, es decir permiten que una fase se disperse en otra, y son los más utilizados en la industria alimentaria como los mezcladores de alto cizallamiento, molinos coloidales, homogeneizadores de válvula, los microfluidificadores y los sonificadores. Los sistemas de baja energía se basan en la formación espontánea de una emulsión, siendo los métodos más utilizados la temperatura de inversión de fase, los métodos de emulsificación espontánea y el punto de inversión de la emulsión (McClements y Gumus, 2016).

Un emulsionante forma parte de la emulsión constituida por gotitas que se encuentran en la fase dispersa, mientras que el líquido que las rodea es la fase continua, y la línea divisoria entre la fase dispersa y la continua se denomina interfase. Las emulsiones O/W son sistemas inestables, por lo que las gotitas de aceite deben estabilizarse físicamente para evitar la separación espontánea entre las fases oleosa y acuosa. Los emulsionantes se absorben en la interfase O/W durante el proceso de emulsificación disminuyendo la tensión superficial entre estas dos fases, evitando la floculación y coalescencia de las gotitas, mediante repulsiones estéricas o electroestáticas (Berton-Carabin et al., 2014).

Los emulsionantes son moléculas anfifílicas de bajo o alto peso molecular, que tienden a migrar y absorberse en la interfase, formando gotas con menor consumo de energía y reduciendo su tensión interfacial. Los emulsionantes de bajo peso molecular son moléculas surfactantes tensioactivas, lípidos polares de fuentes naturales y glicolípidos. En la fase acuosa estos pueden formar diversas estructuras de asociación, de naturaleza micelar o líquido-cristalina, mientras que en la interfase forman capas monomoleculares, o dependiendo de las condiciones forma multicapas de naturaleza líquido-cristalina, ampliando la viscoelasticidad de la interfase y estabilidad de las emulsiones. Los emulsionantes de alto peso molecular se utilizan ampliamente para estabilizar emulsiones de O/W, y estos son proteínas, lipoproteínas, copolímeros de bloque (sintéticos) y algunos polisacáridos como la goma arábiga. En el campo de las emulsiones alimentarias, las proteínas son excelentes emulsionantes macromoleculares, que están presentes de manera significativa en muchas materias primas comestibles de origen animal como el huevo, la leche y de origen vegetal como la soja y el gluten de trigo (Muñoz et al., 2007; Berton-Carabin et al., 2014).

Las proteínas de la leche (caseínas y proteínas del suero), por su naturaleza anfifílica, son excelentes emulsionantes alimenticios de origen animal (Liang et al., 2017). La actividad

superficial de estas proteínas conduce a su rápida adsorción en la interfase O/W durante el proceso de emulsionado, produciendo una capa estabilizadora que protege las gotas de aceite frente a la floculación o coalescencia subsiguientes (Phan et al., 2013).

El suero de mantequilla o mazada es un subproducto obtenido la elaboración de la mantequilla a partir de la nata; tras su batido los glóbulos de grasa se rompen y la membrana del glóbulo graso de la leche (MFGM) se libera en la fase acuosa. La MFGM es una compleja membrana biológica que rodea los glóbulos grasos de la leche estabilizándolos contra la coalescencia, y contiene del 20 al 60% de proteína, carbohidratos, triglicéridos y fosfolípidos. La composición nutricional del suero de mantequilla es similar a la leche desnatada (caseína, proteínas del suero, lactosa y minerales) con diferencia que el contenido de fosfolípidos y proteínas es mayor, ya que incorpora la MFGM (Corredig and Dalgleish, 1998; Ihara et al., 2011). Debido a su cantidad de fosfolípidos, de naturaleza anfifílica, y de proteínas, el suero de mantequilla muestra buenas propiedades emulsionantes (Roesch et al., 2004; Phan et al., 2013).

La mazada por sus distintos ingredientes funcionales como emulsionantes, mejora las cualidades de los alimentos fabricados como por ejemplo en helado blando mejorando la resistencia al derretido/fusión, en yogur sin grasa o semidesnatado aumentando la viscosidad y disminuyendo su acidez, en quesos Cheddar y Mozzarella mejorando su textura y aumentando el cuerpo, en panadería mejorando el sabor y retardando la dureza de la miga, en bebidas naturales aportando gran cantidad de proteínas y minerales (Vanderghem et al., 2010). Por otro lado, es un gran antioxidante natural que actúa como agente reductor evitando la peroxidación de lípidos (Wong y Kitts, 2003).

La fase oleosa de una emulsión está constituida por aceites o grasas de origen animal o vegetal. Si bien existe la creencia generalizada que la grasa vegetal es mejor que la grasa animal, los beneficios de las grasas no se deben al tipo de alimento en el que se encuentran, sino al tipo de ácido graso que contienen: monoinsaturados, poliinsaturados y saturados (Rodríguez-Cruz et al., 2005). El aceite de girasol (*Helianthus annus L.*) es un aceite rico en ácidos grasos polinsaturados como el ácido linoleico (C18:2 *cis*-9,12) de la serie ω -6, y monoinsaturados como el oleico (C18:1 *cis*-9) de la serie ω -9, además de presentar un alto contenido de α -tocoferol siendo este más resistente a la foto-oxidación, y por otra parte γ -tocoferol que proporciona estabilidad oxidativa frente a la autooxidación lipídica (Gupta, 2002). El aceite de chía es un aceite obtenido a partir de las semillas de *Salvia hispánica* y

está compuesto por una elevada concentración de ácidos grasos insaturados, entre los que contiene un gran porcentaje de ácido α -linolénico (18:3 *cis*-9,12,15) de la serie ω -3, el más alto conocido a nivel vegetal, esencial para el crecimiento y desarrollo normal del cuerpo humano, así como ácido linoleico , ácidos grasos que son beneficiosos para la prevención y tratamiento de enfermedades como la hipertensión, trastornos inflamatorios y cáncer (Ixtaina et al., 2012; Muñoz et al., 2012; Rodrigues et al., 2015; Segura-Campos et al., 2016). Los aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados como ω -3 del aceite de chía pueden ser mezclados con el aceite de girasol obteniendo una proporción equilibrada ω -6/ ω -3 recomendadas por la FAO/OMS, que presenta una alta estabilidad oxidativa a temperaturas bajas de almacenamiento (Guittot et al., 2014), así como un aumento de lípidos bioactivos y contenido de antioxidantes naturales que desempeñan un papel importante en la prevención de enfermedades (Frankel y Huang, 1994).

La homogenización convencional es uno de los procesos más utilizados en la industria alimentaria para estabilizar alimentos y emulsiones lácteas, permitiendo mejorar las características sensoriales de productos como la leche, nata y helado, mejorando la aceptación por parte del consumidor (Innocente et al., 2009). Los homogeneizadores más utilizados en la industria alimentaria son los de válvula aplicando presiones de 20-30 MPa para reducir el tamaño de partícula y así mejorar su estabilidad física durante el almacenamiento. Sin embargo, a estas presiones de homogeneización la vida útil del producto no es prolongada, ya que estos se deterioran por inestabilidad física como floculación, coalescencia y cremado (Mollakhalili Meybodi et al., 2014). Los sistemas de homogenización convencional de válvula han ido mejorando con el tiempo, y actualmente existen equipos que trabajan hasta 150 MPa, denominando a estos tratamientos de alta presión (Bouaouina et al., 2006).

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar el potencial de la mazada o suero de mantequilla como emulgente en la producción de emulsiones O/W obtenidas por homogenización convencional aplicando altas presiones (100 MPa) en comparación a la estándar utilizada en la industria alimentaria (20 MPa), con la adición de aceites vegetales (girasol y chía) ricos en ácidos grasos ω 3, 6 y 9. El propósito de este estudio es conocer las características de estas emulsiones determinando el tamaño y la distribución de tamaño de partícula, el potencial zeta, las propiedades reológicas y su estabilidad física.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

La mazada en polvo (MAZADA 1%AD) se adquirió de RENY PICOT-ILAS, S.A (Anleo-Navia, Asturias) subproducto que se obtiene de la elaboración de mantequilla, con las siguientes especificaciones técnicas proporcionadas por la empresa productora sobre su composición: Grasa 6-12%; Proteínas ($N \times 6,38$): 28-34%; Humedad: $\leq 5,00\%$; Acidez: $\leq 0,16\%$; Cenizas: 7-8%; Inhibidores: ausentes; Aflatoxina M₁: $\leq 0,05$ ppb.

Los aceites vegetales utilizados en la preparación de las emulsiones fueron adquiridos de la empresa Gustav Heess (Santa Perpétua de Mogoda, Barcelona). De acuerdo a las especificaciones técnicas del fabricante, el aceite de chía (*Salvia hispánica L.*) es un aceite puro de semillas de chía obtenido por presión en frío y presenta las siguientes características: Densidad (20 °C) = 0,931; Índice de refracción (20 °C) = 1,475; Índice de acidez $\leq 4,0$ mg KOH/g ; Índice de peróxidos $\leq 10,0$ mEq O₂/kg; Impurezas insolubles $\leq 0,05\%$; Ácido oleico (C18:1) $\geq 5,0\%$; Ácido linoleico (C18:2) = 15,0-20,0%; Ácido α -linolénico (C18:3) $\geq 60,0\%$. El aceite de girasol (*Helianthus annuus L.*), según el fabricante, se obtuvo mediante presión o extracción y posterior refinado, y presenta las siguientes características: Densidad (20 °C) = 0,918-0,923; Índice de refracción (20 °C) = 1,461-1,468; Índice de acidez $\leq 0,5$ mg KOH/g; Índice de peróxidos $\leq 10,0$ mEq O₂/kg; Impurezas insolubles $\leq 0,05\%$; Ácido palmítico (C16:0) 4,0-9,0%; Ácido esteárico (C18:0) 1,0-7,0%; Ácido oleico (C18:1) 15,0-85,0%; Ácido linoleico (C18:2) = 50,0-72,0%.

2.1. Preparación de emulsiones

Se prepararon cuatro series de emulsiones del tipo O/W con un contenido variable de mazada (5 y 7%, p/p) y de mezcla de aceites (10 y 20%, p/p), siendo la mezcla de aceite compuesta por 50% de aceite de girasol y 50% de aceite de chía. Para la elaboración de las emulsiones se disolvió la mazada en sus diferentes concentraciones, en agua destilada utilizando un agitador STIRRER type BS (VELP Scientifica, Usmate, Italia) a 100 rpm durante 10 min, para después almacenarse toda la noche a una temperatura de 4 °C para su hidratación. Las premulsiones o emulsiones gruesas, se prepararon por adición lenta (1 min) de la fase oleosa a la fase acuosa, utilizando un homogeneizador Ultraturrax (modelo IKA T25, Staufen, Alemania) con un sistema rotor-estator (vástago S25N-18G) a 15.000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente las premulsiones fueron tratadas por un proceso de homogenización convencional utilizando un equipo Homolab (modelo 2.20 Fbf, Parma, Italia) a 20 y 100 MPa a temperatura de entrada de 20 °C, obteniendo las emulsiones con mazada al

5 y 7% y 10% aceite (MZ5-10 y MZ7-10), y con mazada al 5 y 7% y 20% aceite (MZ5-20 y MZ7-20). El experimento completo se repitió dos veces de manera independiente.

2.2. Caracterización de las emulsiones

2.2.1. Distribución del tamaño de partícula

Este análisis se realizó después del proceso de homogenización convencional y se utilizó un medidor de partícula Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Reino Unido). Este equipo utiliza un banco óptico y una unidad de dispersión por vía húmeda (Hidro MU) que permite realizar el análisis mediante disolución de la muestra con agua. Para la medida del tamaño de partícula, las emulsiones se diluyeron en agua destilada en proporciones de 1:1000 (v/v) y se emplearon los índices de refracción de 1,46 y 1,33 correspondientes a la mezcla de los aceites y el agua, respectivamente, una velocidad de agitación de 1500 rpm y un % de obscuración del 5-15%. Las emulsiones se diluyeron también con dodecilsulfato sódico al 1% SDS para comprobar la presencia de agregados o fenómenos de coalescencia entre partículas. Todas las muestras se analizaron por duplicado de forma aleatoria.

2.2.2. Potencial zeta

El potencial Zeta, o potencial ζ , es una abreviatura del potencial electrocinético en sistemas coloidales. Desde un punto de vista teórico, el potencial Zeta es el potencial eléctrico en la capa interfacial de una partícula o gota dispersa frente a un punto en la fase continua lejos de la interfase. En otras palabras, el potencial Zeta es la diferencia de potencial entre el medio de dispersión móvil y la capa estacionaria del medio de dispersión unido a la partícula dispersa. La magnitud del potencial Zeta proporciona una predicción de la estabilidad coloidal de la emulsión. Los valores de potencial Zeta de las partículas en las emulsiones se midieron usando un analizador de potencial Zeta (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Reino Unido) a 20 °C.

2.2.3. Determinación de propiedades reológicas

Se estudió el comportamiento reológico de las emulsiones al siguiente día de su elaboración, por medio de un reómetro rotatorio HAAKE™ RheoStress™ 1 (Thermo Electron Corporation, Karlsruhe, Alemania) a 20 °C con un sensor de cilindros concéntricos (Z34 DIN 53018/222-1498) y una taza o cilindro exterior hueco (Z34 DIN 53019/222-1499) para muestras líquidas. Para ello se determinó la curva de flujo (esfuerzo cortante frente a la velocidad de cizallamiento) en función al incremento y, posterior disminución de la velocidad

de cizallamiento $0,001 \text{ s}^{-1}$ y 100 s^{-1} durante 1 min. Estas curvas de flujo fueron ajustadas al modelo reológico de Ostwald de Waele o ley de la potencia:

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

Donde:

τ esfuerzo cortante (Pa)

K índice de consistencia ($\text{Pa} \times \text{s}^n$)

$\dot{\gamma}$ velocidad de cizallamiento (s^{-1})

n índice de comportamiento al flujo.

Las mediciones se realizaron por duplicado, homogenizando manualmente el contenido de los mismos cuidadosamente, previamente al análisis.

2.2.4. Determinación de estabilidad física

Se evaluó la estabilidad física de las emulsiones con un analizador óptico Turbiscan™ LAB (Formulaction, Toulouse, Francia). Este analizador se basa en el principio de la dispersión dinámica de la luz, y mide la intensidad de luz en Transmisión (T) y Retrodispersión (BS, de sus siglas del inglés backscattering), para detectar el cambio de tamaño de partícula en procesos de floculación y coalescencia, y la separación de fases en procesos de sedimentación o cremado. El equipo Turbiscan LAB tiene un cabezal de detección que se mueve hacia arriba y abajo en una celda cilíndrica de vidrio de fondo plano. El cabezal de detección está compuesto por una fuente de luz en el infrarrojo cercano ($\lambda = 850 \text{ nm}$) y dos detectores síncronos. El detector de transmisión recibe luz que atraviesa la muestra (0° del haz incidente), mientras que el detector de retrodispersión recibe luz dispersada por la muestra a 135° del haz incidente. Este último fue el detector utilizado por tratarse de muestras opacas.

El software del equipo Turbiscan™ LAB calcula un índice de estabilidad denominado Turbiscan Stability Index (TSI) que evalúa la estabilidad de un sistema disperso y se obtiene a partir de la siguiente fórmula:

$$TSI = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}_{BS})^2}{n - 1}}$$

Donde:

n Número de escaneos

x_i Retrodispersión promedio por minuto de medición

x_{BS} Valor promedio de x_i

Los valores del índice TSI se sitúan en un intervalo de 0 a 100. Valores más bajos de TSI indican un sistema más estable.

Las emulsiones se depositaron en los viales añadidos de azida sódica (NaN_3) al 0,02% (p/v) para evitar la proliferación del crecimiento microbiano. Las emulsiones se almacenaron a temperatura ambiente (20°C) y fueron escaneadas por duplicado durante un periodo de 15 días.

2.3. Análisis estadístico

Se realizó una estadística descriptiva calculando la media y la desviación estándar para cada variable en estudio según los tratamientos aplicados. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico R (versión 3.0.1) y al detectar una diferencia significativa (95%) entre los tratamientos se procedió a la comparación de medias por el Test de Tukey ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Distribución y tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partícula de una emulsión representa la fracción de las partículas dentro de diferentes clases de tamaño. Estas se representan en forma tabular o como gráfico de concentración de partículas (volumen o número porcentual) frente al tamaño de gota (diámetro o radio) (McClements, 2010).

En la Tabla 1 se muestra el diámetro medio de superficie-peso ($D_{3,2}$) y el diámetro medio volumen-peso ($D_{4,3}$) de partícula de las emulsiones. En este estudio, se analizaron emulsiones a diferentes concentraciones de mazada (5 y 7%), con distintas concentraciones de aceite (10 y 20%) y diferentes presiones de homogeneización (20 y 100 MPa). Las emulsiones de mazada que fueron tratadas a 100 MPa presentaron un tamaño de partícula más pequeño ($P \leq 0,05$) a diferencia de las emulsiones tratadas a 20 MPa, indicando que a mayor presión de homogeneización el tamaño de partícula se redujo. En cuanto al contenido de aceite se pudo apreciar que, a menor contenido de este, las emulsiones presentaron tamaños de partícula más pequeños ($P \leq 0,05$), independientemente del porcentaje de mazada utilizada como material emulgente. Finalmente, el aumento en el porcentaje de mazada utilizada tuvo un efecto significativo ($P \leq 0,05$) reduciendo el tamaño de partícula, solo en las emulsiones obtenidas con un 20% de aceite.

Los resultados obtenidos de tamaño de partícula en las emulsiones homogeneizadas a 20 MPa, están en la línea a los expuestos por otros autores. Así, Guggisberg et al. (2012) trabajando con emulsiones de aceite de girasol (10%) y suero de mantequilla como agente emulgente (4,5%), y homogeneizadas a 20-3 MPa en su primera y segunda etapas respectivamente, obtuvieron en sus emulsiones tamaños de partícula de 1,9 y 12,7 μm para $D_{(3,2)}$ y $D_{(4,3)}$, respectivamente. Los tamaños de partícula más grandes encontrados por estos investigadores podría explicarse por el hecho que las emulsiones fueron tratadas con un tratamiento térmico a 90 °C, lo que produce desnaturaleza de las proteínas del suero y agregación proteica, así como por diferencias en los equipos de homogeneización, factores que tienen influencia en el tamaño de partícula de las emulsiones. Phan et al. (2013) en estudios realizados en emulsiones con 35% de aceite de soja, mazada en polvo (2,3%) y un tratamiento de homogeneización de 21 MPa, mostraron un tamaño de partícula $D_{(3,2)}$ de 7,48 μm en las emulsiones. Es evidente que el tamaño de partícula de una emulsión se ve fuertemente influenciado por la cantidad de aceite de la emulsión, como se puede observar de los resultados del estudio anterior y de nuestros propios resultados.

Tabla 1. Medias y desviaciones estándar del tamaño de partícula ($D_{3,2}$ y $D_{4,3}$) y potencial zeta de las emulsiones obtenidas por homogenización convencional (20 y 100 MPa) con mazada (5 y 7%) como emulgente y diferentes porcentajes de aceite (10 y 20%).

Tratamientos	Emulsiones	$D_{3,2}$ (μm)	$D_{4,3}$ (μm)	Potencial Zeta (mV)
100 MPa	MZ5-10	$0,84 \pm 0,04^{\text{a}}$	$1,71 \pm 0,04^{\text{ab}}$	$-35,85 \pm 0,52^{\text{ab}}$
	MZ7-10	$0,86 \pm 0,36^{\text{a}}$	$1,14 \pm 0,06^{\text{a}}$	$-34,95 \pm 0,61^{\text{a}}$
	MZ5-20	$4,62 \pm 0,40^{\text{e}}$	$8,64 \pm 0,86^{\text{e}}$	$-34,86 \pm 0,60^{\text{a}}$
	MZ7-20	$2,74 \pm 0,17^{\text{c}}$	$5,40 \pm 0,21^{\text{d}}$	$-33,27 \pm 0,35^{\text{a}}$
20 MPa	MZ5-10	$2,20 \pm 0,12^{\text{b}}$	$3,66 \pm 0,17^{\text{c}}$	$-38,17 \pm 2,46^{\text{b}}$
	MZ7-10	$1,82 \pm 0,01^{\text{b}}$	$3,16 \pm 0,19^{\text{bc}}$	$-35,83 \pm 2,37^{\text{ab}}$
	MZ5-20	$5,43 \pm 0,24^{\text{f}}$	$10,37 \pm 0,54^{\text{f}}$	$-35,14 \pm 1,17^{\text{ab}}$
	MZ7-20	$3,95 \pm 0,31^{\text{d}}$	$6,02 \pm 1,97^{\text{d}}$	$-35,35 \pm 2,75^{\text{ab}}$

^{a-f} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$, Tukey test) para las diferentes emulsiones.

La Figura 1 muestra los perfiles de distribución del tamaño de partícula para las emulsiones en presencia o no de dodecilsulfato sódico (SDS) al 1%. Al analizar la distribución de las emulsiones con 10% de aceite podemos observar que estas, en su mayoría, son de tipo monomodal, aunque la curva es amplia abarcando tamaños de partícula que va desde 0,5 a 10 μm , mientras que las formuladas con un 20% de aceite son bimodales con un pico principal sobre las 10 μm y otro secundario de menor intensidad con una media de 1 μm . Estos resultados son comparables a las distribuciones de partículas descritas por Guggisberg et al. (2012) y Phan et al. (2013).

Cuando las emulsiones se diluyeron con la solución de SDS como agente desagregante, no se observaron grandes cambios en la distribución de partícula en las emulsiones con 10% de aceite indicando que en estas emulsiones no existen fenómenos de floculación entre partículas, y que el tamaño de partícula obtenido se debe exclusivamente al tamaño de las partículas y no a la formación de agregados de partículas. Por el contrario, en las emulsiones con 20% de aceite se produce un desplazamiento en la distribución de partícula hacia la izquierda, y en general la aparición de una distribución unimodal de menor tamaño de

partícula, indicando fenómenos de floculación o agregación de partícula en estas emulsiones concentradas en aceite.

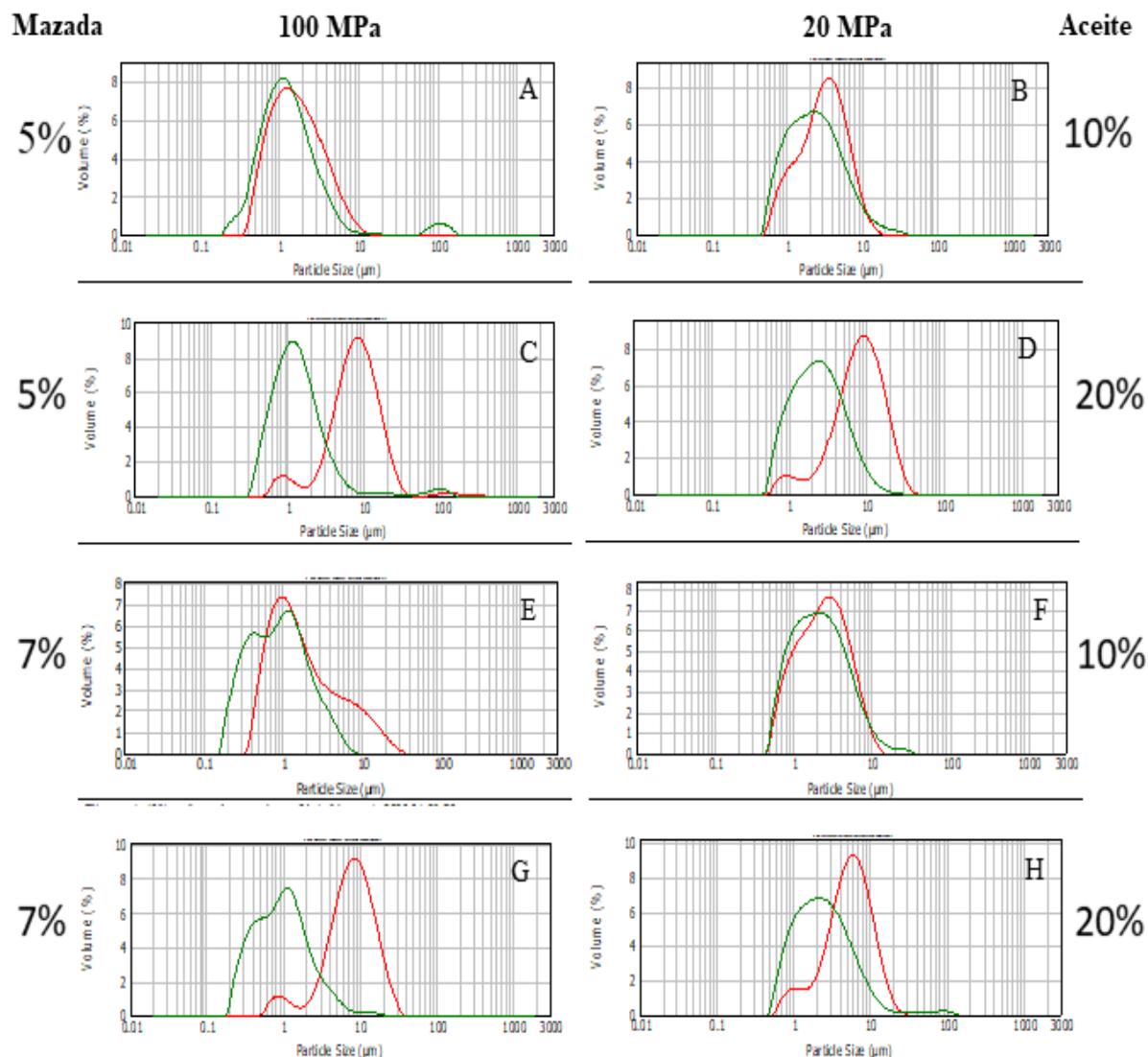


Figura 1. Perfiles de distribución del tamaño de partícula de emulsiones O/W tratadas por homogeneización convencional (20-100 MPa). Emulsiones elaboradas con 5% (A, B, C, D) y 7% (E, F, G, H) de mazada, y 10% (A, B, E, F) y 20% (C, D, G, H) de aceite. Emulsiones diluidas en agua (_____); Emulsiones diluidas en 1% SDS (_____).

3.2. Potencial Zeta

La Tabla 1 muestra la potencial zeta (mV) de las emulsiones estudiadas, pudiéndose observar valores entre -33 y -38 mV, y diferencias significativas ($P \leq 0,05$) solo entre la emulsión MZ5-10 tratada a 20 MPa, que fue la que presentó el valor más negativo de potencial zeta, con las emulsiones MZ7-10, MZ5-20 y MZ7-20 obtenidas por homogeneización a 100 MPa, con valores de potencial zeta menos negativos. Un gran valor positivo o negativo del

potencial zeta de las gotas indica una buena estabilidad física de las emulsiones debido a la repulsión electrostática de partículas individuales. En general, se considera que un valor de potencial zeta diferente de -30 mV a $+30$ mV tiene suficiente fuerza repulsiva para lograr una mejor estabilidad física coloidal. Por otro lado, un valor de potencial de zeta pequeño puede dar como resultado la agregación de partículas y la floculación debido a la atracción entre partículas por fuerzas de Van der Waals, pudiendo provocar inestabilidad física (Kulkarni, 2009; Batalla et al., 2014).

Sin embargo, el potencial zeta es uno de los múltiples indicadores de estabilidad física, y a veces no es un parámetro directamente relevante para evaluar la estabilidad cuando la diferencia de potenciales zeta entre varias emulsiones es pequeña, como ocurre en el caso de las emulsiones estudiadas. Así por ejemplo, Roland et al. (2003) no observaron ninguna correlación entre el potencial zeta ($-43,1$ a $-50,2$ mV) y la estabilidad general de las emulsiones estudiadas. De hecho, las emulsiones más estables visualmente en este último estudio exhibieron el potencial zeta más bajo. Parece ser que las diferencias absolutas en los valores de potenciales zeta deberían ser de al menos 10 mV para permitir la predicción de una estabilidad distinta. Según estos autores, otros factores, como la reducción de tamaño de partícula, también juegan un papel importante en la estabilización de las emulsiones.

3.3 Determinación de propiedades reológicas

Las propiedades reológicas de los alimentos se basan en respuestas de flujo o deformación cuando estos se someten a tensiones normales o tangenciales (Rao, 2014). La resistencia derivada de la falta de deslizamiento de las partes de un líquido es proporcional a la velocidad con que se separan unas de otras dentro de él, conocida como viscosidad, que es una medida de resistencia a la deformación de un fluido (Ramírez, 2006).

De acuerdo a los datos reológicos obtenidos (Tabla 2) se puede apreciar que las emulsiones con menor contenido de aceite (MZ5-10 y MZ7-10) para ambos tratamientos de homogeneización fueron las que presentaron los menores valores de índice de consistencia (K) sin diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre ellas. Todas estas emulsiones presentaron índices de comportamiento al flujo (n) cercano a 1, lo indica un comportamiento reológico newtoniano.

Sin embargo, las emulsiones de mazada con mayor contenido de aceite (20%) presentaron mayores ($P \leq 0,05$) valores de K , en comparación a las elaboradas con un 10% de aceites, siendo mayor K ($P \leq 0,05$) en las emulsiones obtenidas por homogeneización a 100 MPa, en comparación a las obtenidas a 20 MPa. Estas emulsiones, y a diferencia de las elaboradas con

un 10% de aceites, presentaron valores de $n < 1$, sobre todo las homogeneizadas a 100 MPa, indicando un comportamiento reológico pseudoplástico (Sheng, 2013). Esto puede ser debido a la ruptura de los agregados de partículas de estas emulsiones más concentradas en aceite bajo el efecto de altas velocidades de cizalla (Dickinson y Golding, 1997), y es consistente con los tamaños de partícula medidos en las diferentes emulsiones (Tabla 1).

Los resultados obtenidos para las emulsiones MZ5-20 concuerdan con el estudio realizado por Phan et al. (2013) elaborando emulsiones con aceite de soja (35%), mazada en polvo (2,3%) y un tratamiento de homogeneización de 21 MPa, ya que sus emulsiones presentaron también un comportamiento reológico pseudoplástico con valores de K y n de 0,02 y 0,83, respectivamente.

Tabla 2. Medias y desviaciones estándar para los parámetros reológicos de índice de consistencia (K), índice de comportamiento al flujo (n) e índice de correlación (R^2) de las emulsiones de estudio.

Tratamientos	Emulsiones	K (Pa × s)	n	R^2
100 MPa	MZ5-10	0,0023 ± 0,0002 ^a	1,0533 ± 0,0079 ^c	0,9998
	MZ7-10	0,0026 ± 0,0002 ^a	1,0478 ± 0,0061 ^c	0,9997
	MZ5-20	0,1673 ± 0,0160 ^c	0,6596 ± 0,0184 ^a	0,9999
	MZ7-20	0,1540 ± 0,0721 ^c	0,7067 ± 0,0463 ^a	0,9998
20 MPa	MZ5-10	0,0019 ± 0,0004 ^a	1,0608 ± 0,0010 ^c	0,9998
	MZ7-10	0,0025 ± 0,0001 ^a	1,0450 ± 0,0029 ^c	0,9995
	MZ5-20	0,0174 ± 0,0083 ^b	0,8016 ± 0,0710 ^b	1
	MZ7-20	0,0355 ± 0,0232 ^b	0,8716 ± 0,0609 ^b	1

^{a-c} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para las diferentes emulsiones.

De la misma manera, al elaborar emulsiones con suero de mantequilla enriquecidas con MFGM más Lacprodan PL-20 (aislado rico en fosfolípidos de leche y proteínas), aceite de soja (35%) siendo homogeneizadas a 9 y 2 MPa (primera y segunda etapas, respectivamente), Phan et al. (2014) obtuvieron valores de K y n de 0,01 y 0,86, respectivamente, valores similares a los hallados en el presente estudio en emulsiones tratadas a 20 MPa con un contenido de aceite de 20%.

3.4. Determinación de estabilidad física

La estabilidad física de las emulsiones almacenadas a temperatura ambiente durante un periodo de 15 días se valoró mediante el análisis del perfil de Backscattering (BS) o retrodispersión de luz.

Las Figuras 2 y 3 muestran los perfiles de retrodispersión de las emulsiones obtenidas por homogeneización convencional a 100 y 20 MPa, respectivamente. Al analizar los perfiles de retrodispersión se pueden observar 3 zonas del gráfico que muestran fenómenos de inestabilidad de las emulsiones: (1) de clarificación (descenso del ΔBS en la parte izquierda del gráfico), (2) aumento de tamaño de partícula (variaciones del ΔBS diferentes de 0 en la parte central del gráfico), y (3) cremado (aumento del ΔBS en la parte derecha del gráfico). De los gráficos, es visible que las emulsiones tratadas a 100 MPa fueron más estables a nivel físico que las tratadas a 20 MPa, y por otra parte aquellas emulsiones adicionadas de 7% de mazada fueron también más estables en comparación a las formuladas con 5% de mazada, para ambas presiones de homogeneización ensayadas. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Anihouvi et al. (2013) en emulsiones con 30% de grasa (rica en ácido láurico) y distinto contenido de mazada (5,1 y 7,1%) como agente emulsionante obtenidas por homogeneización con un sistema rotor-estartor (Ultra-Turrax T-45, IKA, Staufen, Alemania) a 10.000 rpm, ya que también observaron que al aumentar el contenido de proteína en la emulsión, esta se vuelve más estable al proceso de cremado.

Al analizar las emulsiones tratadas a 100 MPa (Figura 2), los gráficos de perfil de ΔBS, en función del tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente, presentaron un pico negativo en su parte izquierda y otro positivo en la parte derecha, indicando fenómenos de clarificación y cremado, y así de inestabilidad física durante su almacenamiento. Sin embargo, en estas emulsiones no se detectó cambio en el ΔBS en la parte central del gráfico, sugiriendo que el cremado se produce por la migración de partículas, sin producirse fenómenos de floculación o coalescencia que aceleren el proceso de cremado. El fenómeno de cremado fue más lento al utilizar concentraciones de mazada del 7%, a las dos concentraciones de aceites utilizadas (10 y 20%), y la emulsión que presentó peor comportamiento físico fue la MZ5-20, visible por su mayor área de clarificación (Fig. 2C). Estos resultados se relacionan y concuerdan con el tamaño de partícula obtenidos de cada una de las emulsiones (Tabla 1). La emulsión MZ7-20 presentó fenómenos de clarificación y cremado, aunque como se puede observar en el gráfico, la cinética de cremado se produjo en una primera etapa para después enlentecerse (Fig. 2D). Este mismo comportamiento fue observado por Lizarraga et al. (2008) en su estudio, ya que al aumentar el contenido de proteína (0,37 y 2,93%, p/p) en emulsiones homogeneizadas a 40

MPa utilizando un homogeneizador VH (Stanted-DRG, Stanted Fluid Power Ltd., Essex, Reino Unido), la emulsión se volvió más estable, y aunque se produjo un rápido cremado en la etapa inicial, luego este se hizo más lento, lo que indica que la emulsión es más estable (Mengual et al., 1999).

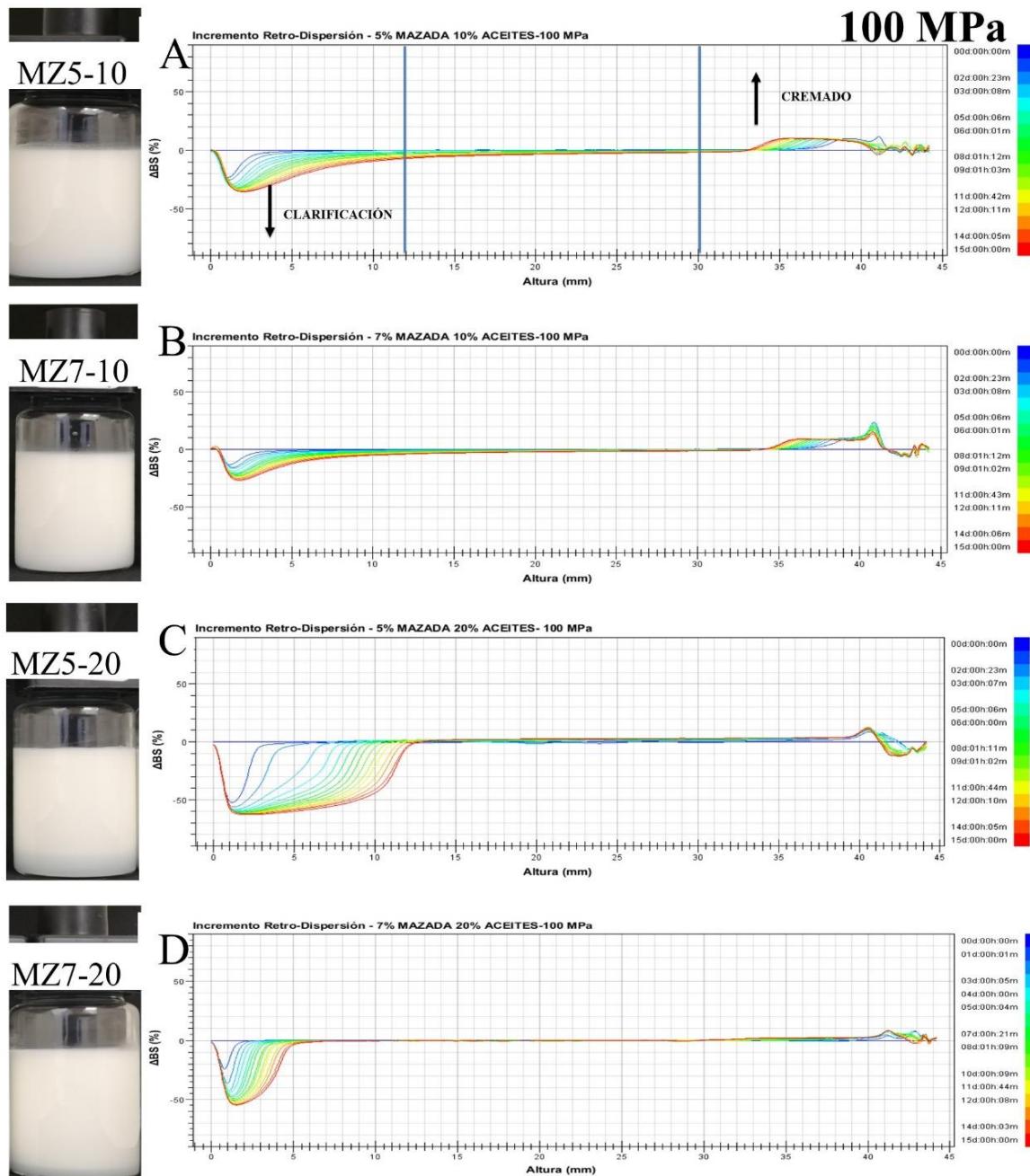


Figura 2. Perfiles de retrodispersión y aspecto visual de las emulsiones O/W tratadas por homogeneización a 100 MPa, elaboradas con (A, B) 5 y 7% de mazada y 10% de aceite (MZ5-10 y MZ7-10) y (C, D) 5 y 7% de mazada y 20% de aceite (MZ5-20 y MZ7-20) en función del tiempo de almacenamiento (15 días).

Al analizar los gráficos de Δ BS de las emulsiones tratadas a 20 MPa (Figura 3), se pudo observar una mayor inestabilidad física en comparación a las tratadas a 100 MPa, presentando en la parte derecha una disminución continuada durante el tiempo de almacenamiento del Δ BS, siendo más inestables las emulsiones con un contenido de mazada del 5% en comparación a las formuladas con un 7%. De nuevo la emulsión que presentó peor estabilidad física fue la MZ5-20 (Fig. 3C). Estos resultados se relacionan y concuerdan con el tamaño de partícula hallado de cada una de las emulsiones (Tabla 1). A diferencia de las tratadas a 100 MPa, las emulsiones tratadas a 20 MPa presentaron un aumento en su tamaño de partícula como se puede observar en el Δ BS en la parte central, que se explica por la existencia de fenómenos de floculación y coalescencia, con la formación de partículas de mayor tamaño y la migración de estas a la parte superior del contenedor de la emulsión produciéndose el cremado. Este mismo comportamiento fue observado por Ali et al. (2019) quienes trabajaron con nata (40% de grasa) homogeneizada a 20 MPa durante 4 min, describiendo similares fenómenos de migración de partículas e inestabilidad en las emulsiones producidas.

El parámetro Índice de Estabilidad de Turbiscan (TSI por sus siglas en inglés) es empleado para la evaluación de la estabilidad física en sistemas dispersos. Este parámetro tiene en cuenta todos los fenómenos que tienen lugar en la muestra (espesor del cremado y capa clarificación, procesos de sedimentación de partículas, floculación y coalescencia) y obtiene un valor promedio en cada punto de muestreo, pudiendo crear una curva de estabilidad física durante el almacenamiento de la emulsión. Cuanto más bajos sean los valores de TSI, más estable será la emulsión (Kang et al., 2011).

La Figura 4 muestra los valores de TSI de las emulsiones por un lapso de tiempo de 15 días. Las curvas de TSI indican que las emulsiones tratadas a 100 MPa fueron más estables a nivel físico en comparación a las tratadas a 20 MPa, y que las emulsiones formuladas con un 7% de mazada presentaron también mayor estabilidad física que las elaboradas con un 5%.

En cuanto al contenido de aceite de las emulsiones, no hubo un comportamiento global relacionado con su estabilidad física, y así las emulsiones que presentaron peor estabilidad física fueron aquellas formuladas con 5% mazada y 20% de aceite, mientras que las que presentaron la mejor estabilidad física fueron las añadidas del 7% de mazada con 20% de aceite, a las 2 presiones de homogeneización estudiadas. La explicación de que la mejor estabilidad física global de TSI la presentase la emulsión MZ7-20 podría residir en que esta emulsión fue formulada con un 7% de mazada y mostró una viscosidad elevada en comparación las elaboradas con un 10% de aceite. Un mayor contenido de emulgente

conjuntamente con una viscosidad más elevada podría enlentecer los fenómenos de clarificación y cremado de estas emulsiones, dificultando la migración de partículas.

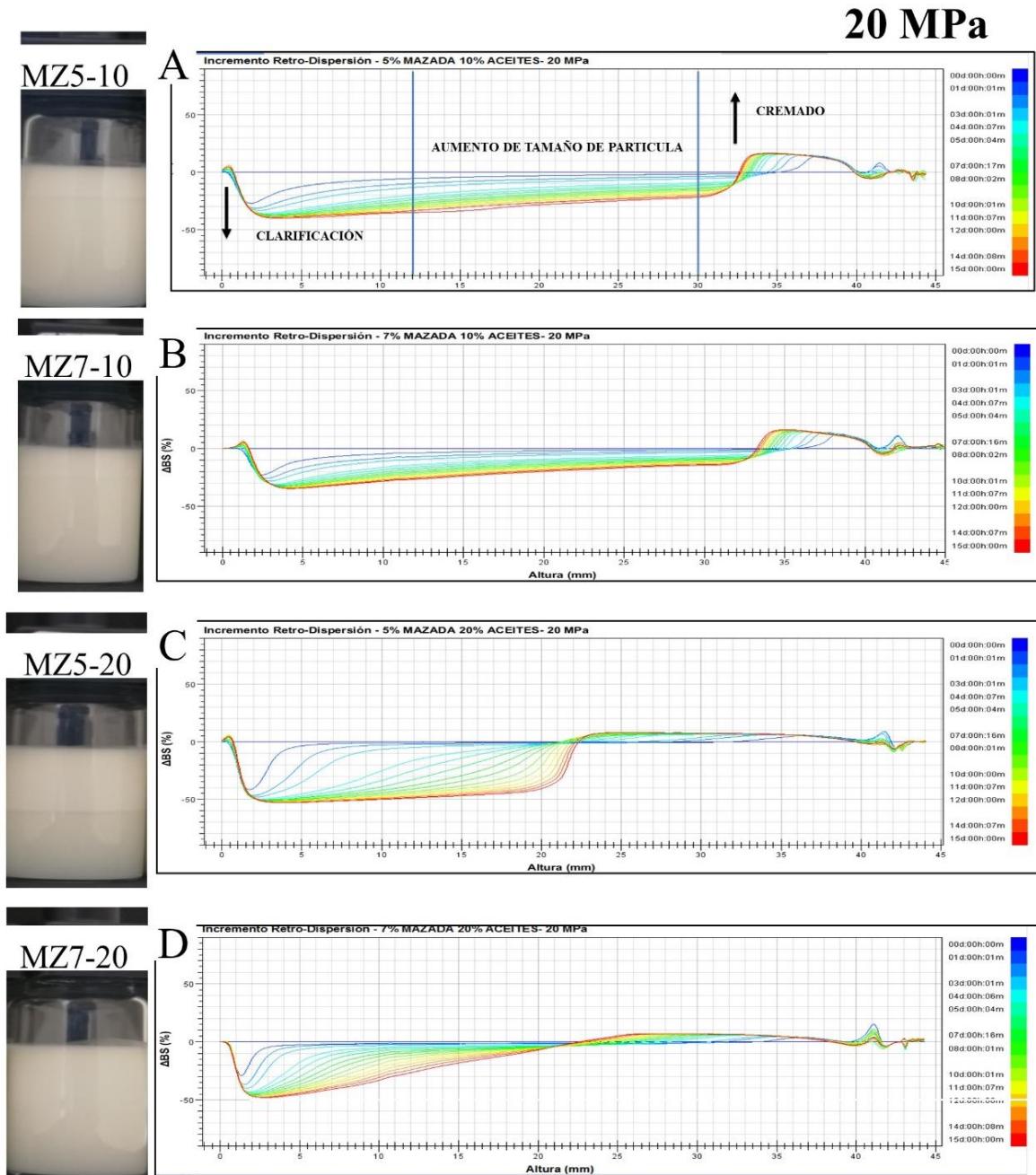


Figura 3. Perfiles de retrodispersión y aspecto visual de las emulsiones O/W tratadas por homogeneización a presión (20 MPa). Emulsiones elaboradas con 5% de mazada (MZ5) 10% de aceite (A); 7% mazada (MZ7) 10% aceite (B); 5% de mazada (MZ5) 20% de aceite (C); 7% mazada (MZ7) 20% aceite (D) en función del tiempo de almacenamiento (15 días).

Las emulsiones tratadas a 100 MPa se diferenciaron a nivel de estabilidad global de TSI en el orden de MZ5-20<MZ5-10<MZ7-10<MZ7-20, mientras que las tratadas a 20 MPa fue en el orden de MZ5-20=MZ5-10<MZ7-10<MZ7-20.

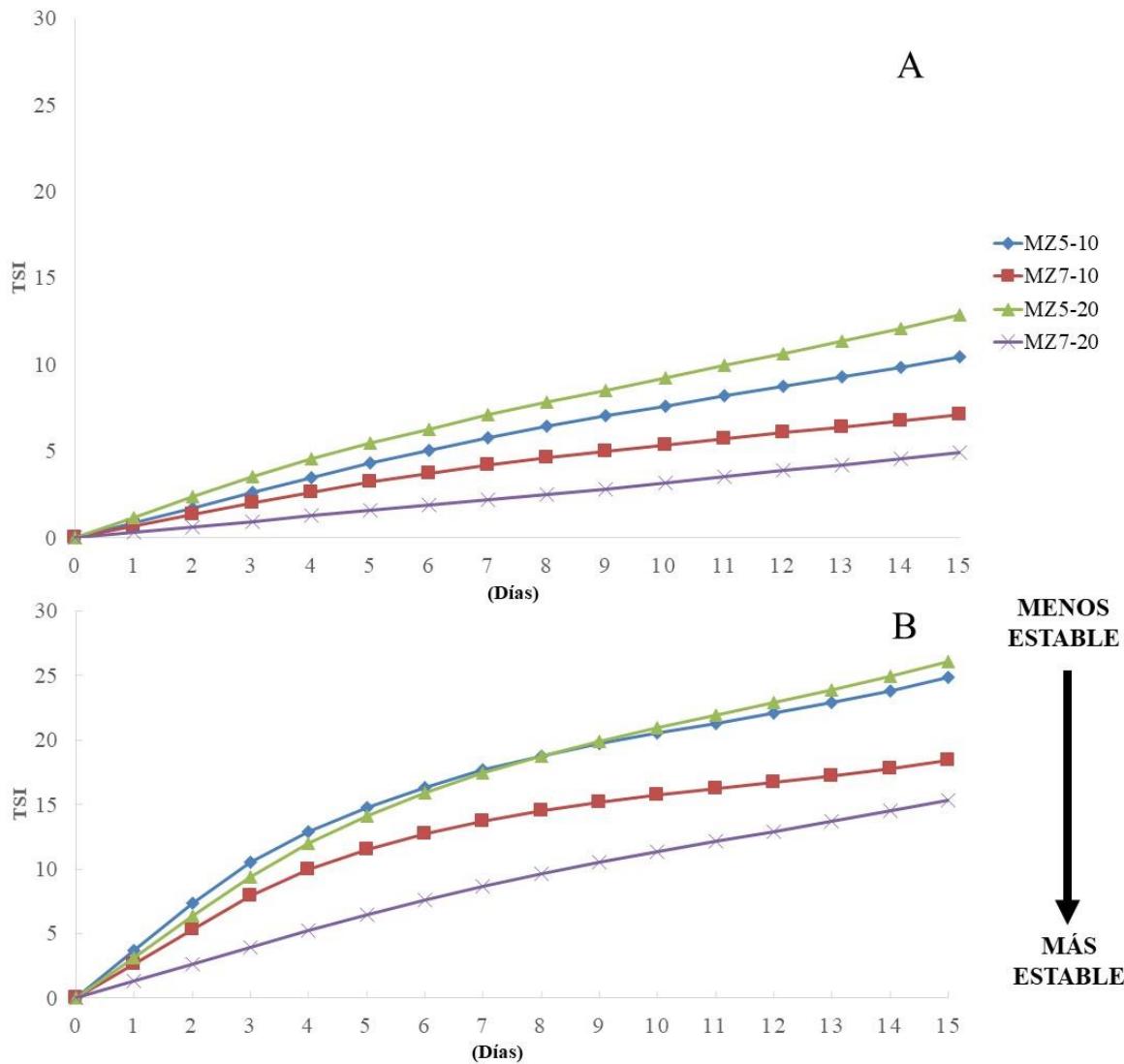


Figura 4. Índice de estabilidad Turbiscan (TSI siglas en inglés) en función del tiempo de almacenamiento (15 días) de las emulsiones O/W tratadas por homogeneización convencional a 100 y 20 MPa (A y B). Emulsiones MZ5-10 con 5% de mazada y 10% aceite (◊); MZ7-10 con 7% mazada y 10% de aceite (■); MZ5-20 con 5% de mazada y 20% de aceite (▲); MZ7-20 con 7% mazada y 20% aceite (×).

4. CONCLUSIONES

La homogenización a alta presión (100 MPa) produce emulsiones O/W, utilizando mazada como agente emulgente y aceites vegetales hasta una concentración del 20%, con características físicas mejoradas, en comparación al uso de bajas presiones (20 MPa).

Las emulsiones obtenidas a mayor presión de homogenización (100 MPa) presentan menor tamaño de partícula, en comparación a las obtenidas a baja presión (20 MPa). El empleo de aceite al 10% en la formulación de las emulsiones, independientemente del contenido de mazada, produce emulsiones con tamaños de partícula más pequeños, en comparación a las formuladas con 20% de aceite. Por otra parte, las emulsiones con un contenido de 10% de aceite, se caracterizan por tener una distribución monomodal, y no se observan cambios en la distribución de partícula al tratarlas con agentes desagregantes como el SDS al 1%, indicando la ausencia de fenómenos de floculación. Sin embargo, las emulsiones con 20% de aceite presentan una distribución bimodal, pasando a ser monomodal al ser tratadas con SDS y reduciéndose el tamaño de partícula, indicando fenómenos de floculación o agregación de partículas. Todas las emulsiones producidas se caracterizan por presentar un potencial zeta en un intervalo de -33 y -38 mV, lo que indica suficiente repulsión electroestática de partículas individuales y así, en general, una buena estabilidad física coloidal.

En cuanto a las propiedades reológicas de las emulsiones, el índice de consistencia (K) para las emulsiones con 20% de aceite es significativamente más elevado, en comparación a las emulsiones elaboradas con 10% de aceite, especialmente en aquellas tratadas a 100 MPa, mostrando un índice de comportamiento al flujo (n) que se sitúa por debajo de 1, lo que significa que estas emulsiones poseen un comportamiento reológico pseudoplástico, a diferencia de las elaboradas con un 10% de aceite que presentan un comportamiento reológico newtoniano con valores de $n \approx 1$.

Al analizar la estabilidad física de las emulsiones, durante un periodo de 15 días a temperatura ambiente, evaluado a través del perfil de retrodispersión o *backscattering* y del índice de estabilidad del Turbiscan, se puede observar que las emulsiones más estables al cremado son aquellas tratadas a 100 MPa con un mayor contenido de mazada, en especial la que se formuló con 20% de aceite debido a su mayor índice de consistencia, que enlentece los fenómenos de clarificación y cremado, dificultando la migración de partículas.

5. REFERENCIAS

- Ali F, Wang J, Ullah N. 2019. Oil/fat blending strategy for improving milk fat globule membrane stability and its effect on fatty acid composition. *Int J Dairy Technol.* 72(4):496–504. doi:10.1111/1471-0307.12604.
- Anihouvi PP, Danthine S, Kegelaers Y, Dombree A, Blecker C. 2013. Comparison of the physicochemical behavior of model oil-in-water emulsions based on different lauric vegetal fats. *Food Res Int.* 53(1):156–163. doi:10.1016/j.foodres.2013.04.011.
- Batalla J, Cuadros A, Martín-Martínez ES. 2014. Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas. *Latin-American J Phys Educ.* 8(4):4319 1–6.
- Bertoni-Carabin CC, Ropers MH, Genot C. 2014. Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Involvement of the Interfacial Layer. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 13(5):945–977. doi:10.1111/1541-4337.12097.
- Binks BP. 2007. Modern Aspects of Emulsion Science. Binks BP, editor. UK: Royal Society of Chemistry. <https://books.google.es/books?id=Im4oDwAAQBAJ>.
- Bouaouina H, Desrumaux A, Loisel C, Legrand J. 2006. Functional properties of whey proteins as affected by dynamic high-pressure treatment. *Int Dairy J.* 16(4):275–284. doi:10.1016/j.idairyj.2005.05.004.
- Calderon F, Schmitt V, Jerôme B. 2007. Emulsion Science: Basic Principles. In: Media SS& B, editor. Emulsion Science: basic principles.
- Corredig M, Dalgleish DG. 1998. Buttermilk properties in emulsions with soybean oil as affected by fat globule membrane-derived proteins. *J Food Sci.* 63(3):476–480. doi:10.1111/j.1365-2621.1998.tb15767.x.
- Dickinson E, Golding M. 1997. Depletion flocculation of emulsions containing unadsorbed sodium caseinate. *Food Hydrocoll.* 11(1):13–18. doi:10.1016/S0268-005X(97)80005-7.
- Frankel EN, Huang SW. 1994. Improving the oxidative stability of polyunsaturated vegetable oils by blending with high-oleic sunflower oil. *J Am Oil Chem Soc.* 71(3):255–259. doi:10.1007/BF02638050.
- Guggisberg D, Chollet M, Schreier K, Portmann R, Egger L. 2012. Effects of heat treatment of cream on the physical-chemical properties of model oil-in-buttermilk emulsions. *Int Dairy J.* 26(1):88–93. doi:10.1016/j.idairyj.2012.01.008.

- Guiotto EN, Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomás MC. 2014. Effect of storage conditions and antioxidants on the oxidative stability of sunflower-chia oil blends. *JAOCS, J Am Oil Chem Soc.* 91(5):767–776. doi:10.1007/s11746-014-2410-9.
- Gupta MK. 2002. Sunflower oil. In: *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*. Second Edi. UK. p. 135–137.
- Ihara K, Ochi H, Saito H, Iwatsuki K. 2011. Effects of Buttermilk Powders on Emulsification Properties and Acid Tolerance of Cream. *J Food Sci.* 76(2):C265–C271. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.02017.x.
- Innocente N, Biasutti M, Venir E, Spaziani M, Marchesini G. 2009. Effect of high-pressure homogenization on droplet size distribution and rheological properties of ice cream mixes. *J Dairy Sci.* 92(5):1864–1875. doi:10.3168/jds.2008-1797.
- Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomás MC. 2012. Oxidative stability of chia (*Salvia hispanica L.*) seed oil: Effect of antioxidants and storage conditions. *JAOCS, J Am Oil Chem Soc.* 89(6):1077–1090. doi:10.1007/s11746-011-1990-x.
- Kang W, Xu B, Wang Y, Li Y, Shan X, An F, Liu J. 2011. Stability mechanism of W/O crude oil emulsion stabilized by polymer and surfactant. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.* 384(1–3):555–560. doi:10.1016/j.colsurfa.2011.05.017.
- Kulkarni VS. 2009. *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems: Science and Technology*. In: Elsevier 2009, editor. *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems: Science and Technology*. Elsevier. UK. p. 66–67. [accessed 2020 Jun 27]. [https://books.google.es/books?id=Vm35Kcnb4zIC&pg=PA66&lpg=PA66&dq=The+significance+of+zeta+potential+is+that+its+value+can+be+related+to+the+short-and+long-term+stability+of+emulsions.+Emulsions+with+high+zeta+potential+\(negative+or+positive\)+are+electri](https://books.google.es/books?id=Vm35Kcnb4zIC&pg=PA66&lpg=PA66&dq=The+significance+of+zeta+potential+is+that+its+value+can+be+related+to+the+short-and+long-term+stability+of+emulsions.+Emulsions+with+high+zeta+potential+(negative+or+positive)+are+electri).
- Liang Y, Matia-Merino L, Gillies G, Patel H, Ye A, Golding M. 2017. The heat stability of milk protein-stabilized oil-in-water emulsions: A review. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 28:63–73. doi:10.1016/j.cocis.2017.03.007.
- Lizarraga MS, Pan LG, Añon MC, Santiago LG. 2008. Stability of concentrated emulsions measured by optical and rheological methods. Effect of processing conditions-I. Whey protein concentrate. Food Hydrocoll. 22(5):868–878.

doi:10.1016/j.foodhyd.2007.04.012.

McClements DJ. 2005. Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Second Edition. 2nd, ilustra ed. CRC Press 2004, editor. United States of America: CRC Press (Contemporary Food Science). <https://books.google.es/books?id=eXvLBQAAQBAJ>.

McClements DJ. 2010. Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components. *Annu Rev Food Sci Technol*. 1(1):241–269. doi:10.1146/annurev.food.080708.100722.

McClements DJ, Gumus CE. 2016. Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: molecular and physicochemical basis of functional performance. *Adv Colloid Interface Sci*. 234:3–26. doi:10.1016/j.cis.2016.03.002.

Mengual O, Meunier G, Cayre I, Puech K, Snabre P. 1999. Characterisation of instability of concentrated dispersions by a new optical analyser: The TURBISCAN MA 1000. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp*. 152(1–2):111–123. doi:10.1016/S0927-7757(98)00680-3.

Mollakhalili Meybodi N, Mohammadifar MA, Naseri AR. 2014. Effective factors on the stability of oil-in-water emulsion based beverage: A review. *J Food Qual Hazards Control*. 1(3):67–71.

Muñoz J, Alfaro MDC, Zapata I. 2007. Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas y Aceites*. 58(1):64–73. doi:10.3989/gya.2007.v58.i1.10.

Muñoz LA, Cobos A, Diaz O, Aguilera JM. 2012. Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *J Food Eng*. 108(1):216–224. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.06.037.

Niakousari M, Damyeh MS, Gahrue HH, Bekhit AEDA, Greiner R, Roohinejad S. 2018. Emulsion-based systems for delivery of food active compounds: formation, application, health and safety. In: Shahi R, Ralf G, Indrawati O, Wen J, editors. *Emulsion-based Systems for Delivery of Food Active Compounds: Formation, Application, Health and Safety*. John Wiley. Shiraz, Iran. p. 1–27.

Phan TT., Asaduzzaman M, Trung Le T, Fredrick E, Van der Meerden P, Dewettinck K. 2013. Composition and emulsifying properties of a milk fat globule membrane enriched material. *Int Dairy J*. 29(2):99–106. doi:10.1016/j.idairyj.2012.10.014.

- Phan TTQ, Le TT, Van der Meeren P, Dewettinck K. 2014. Comparison of emulsifying properties of milk fat globule membrane materials isolated from different dairy by-products. *J Dairy Sci.* 97(8):4799–4810. doi:10.3168/jds.2014-8030.
- Ramírez JS. 2006. Fundamentos de Reología de Alimentos. In: Introducción a la Reología de Alimentos. 1st ed. Cali- Colombia: JSR e-books. p. 9–10. [https://tarwi.lamolina.edu.pe/~dsa/Fundamentos de Reologia.pdf](https://tarwi.lamolina.edu.pe/~dsa/Fundamentos%20de%20Reologia.pdf).
- Rao MA. 2014. Introduction: Food Rheology and Structure. In: *Rheology of Fluid, Semisolid, and Solid Foods: Principles and Applications*. Boston, MA: Springer US. p. 1–26. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9230-6_1.
- Rodrigues JB, Paixão JA, Cruz AG, Bolini HMA. 2015. Chocolate Milk with Chia Oil: Ideal Sweetness, Sweeteners Equivalence, and Dynamic Sensory Evaluation Using a Time-Intensity Methodology. *J Food Sci.* 80(12):S2944–S2949. doi:10.1111/1750-3841.13120.
- Rodríguez-Cruz M, Tovar AR, del Prado M, Torres N. 2005. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Rev Investig Clin.* 57(3):457–472.
- Roesch RR, Rincon A, Corredig M. 2004. Emulsifying properties of fractions prepared from commercial buttermilk by microfiltration. *J Dairy Sci.* 87(12):4080–4087. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73550-X.
- Roland I, Piel G, Delattre L, Evrard B. 2003. Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design. *Int J Pharm.* 263(1–2):85–94. doi:10.1016/S0378-5173(03)00364-8.
- Segura-Campos MR, Chel-Guerrero LA, Castellanos-Ruelas AF, Betancur-Ancona DA. 2016. Chemical Characterization of Mexican Chia (*Salvia hispanica L.*) Flour. In: *Functional Properties of Traditional Foods*. Springer US. p. 131–137.
- Sheng JJ. 2013. Polymer Flooding-Fundamentals and Field Cases. In: *Enhanced Oil Recovery Field Case Studies*. First Edit. Texas, USA: Elsevier Inc. p. 63–82. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386545-8.00003-8>.
- Tadros TF. 2016. Emulsions: formation, stability, industrial applications. In: Gruyte WG& CK, editor. *Emulsions*. ProQuest E. Wokingham, UK. p. 9–14.

<http://ebookcentral.proquest.com/lib/uab-trial/detail.action?docID=4459607>.

Vanderghem C, Bodson P, Danthine S, Paquot M, Deroanne C, Blecker C. 2010. Milk fat globule membrane and buttermilks: From composition to valorization. *Biotechnol Agron Soc Environ.* 14(3):485–500.

Velayati A, Nouri A. 2020. Emulsification and emulsion flow in thermal recovery operations with a focus on SAGD operations: A critical review. *Fuel.* 267. doi:10.1016/j.fuel.2020.117141.

Wong PYY, Kitts DD. 2003. Chemistry of buttermilk solid antioxidant activity. *J Dairy Sci.* 86(5):1541–1547. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73739-4.