

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**DISEÑO DE MEMBRANA INTERFACIAL PARA ALIMENTOS
EMULSIONADOS COMO FUENTE DE ÁCIDOS GRASOS
POLIINSATURADOS**

POR

MINERVA BAUTISTA VILLARREAL

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ALIMENTOS**

MARZO, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**DISEÑO DE MEMBRANA INTERFACIAL PARA ALIMENTOS
EMULSIONADOS COMO FUENTE DE ÁCIDOS GRASOS
POLIINSATURADOS**

POR

MINERVA BAUTISTA VILLARREAL

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ALIMENTOS**

MARZO, 2019



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

FCB-SP-0374/2019

MINERVA BAUTISTA VILLARREAL

Alumna del Doctorado en Ciencias
con Acentuación en Alimentos
Presente.-

En sesión del Comité Doctoral celebrada el día 1 de Marzo del 2019, fue **APROBADA** la tesis titulada: **"DISEÑO DE MEMBRANA INTERFACIAL PARA ALIMENTOS EMULSIONADOS COMO FUENTE DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS"**. Así mismo le informo que puede seguir con los trámites académicos correspondientes para su titulación.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Alere Flammam Veritatis"
Ciudad Universitaria, 5 de Marzo de 2019


DR. PABLO ZAPATA BENAVIDES
Secretario Técnico de Posgrado



**SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO**

c.c.p. Dr. Juan Gabriel Báez González. Director de tesis.
c.c.p. archivo
mirthala



*"Educación de clase mundial,
un compromiso social"*

Ciudad Universitaria. C.P. 66451, A.P. 46 "F" San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.
Tel. (81) 83294000 Ext 3651
diana.resendezpr@uanl.edu.mx

**DISEÑO DE MEMBRANA INTERFACIAL PARA ALIMENTOS
EMULSIONADOS COMO FUENTE DE ACIDOS GRASOS
POLIINSATURADOS**

Comité de Tesis



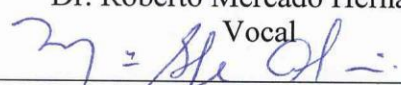
Dr. Juan Gabriel Báez González
Presidente



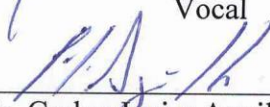
Dra. María Adriana Núñez González
Secretario



Dr. Roberto Mercado Hernández
Vocal



Dra. María Guadalupe de Jesús Alanís Guzmán
Vocal



Dr. Carlos Javier Aguilera González
Vocal

**DISEÑO DE MEMBRANA INTERFACIAL PARA ALIMENTOS
EMULSIONADOS COMO FUENTE DE ACIDOS GRASOS
POLIINSATURADOS**

Dirección de Tesis



Dr. Juan Gabriel Báez González
Director



Dr. José Rodríguez Rodríguez
Director externo

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a mi madre **Minerva Norma Villarreal Martínez** por todo su apoyo para lograr culminar éste sueño. Por estar conmigo y al pendiente aún en sus momentos más difíciles, y por siempre alentarme a luchar por mis sueños, por más complicado que se vea el panorama y a no rendirme hasta llegar a la meta.

También quiero darle las gracias al **Dr. Juan Gabriel Báez González** por su guía, por ser a parte de mi director de tesis mi "coach" en mi carrera profesional así como los otros proyectos que se estuvieron desarrollando a la par de éste, por sus consejos y por siempre darme un espacio en su apretada agenda.

A la **Dra. María Adriana Núñez González** y al **Dr. José Rodríguez Rodríguez** por su tiempo y observaciones para siempre mejorar éste proyecto, así como el apoyo brindado para el análisis de cromatografía de gases de las muestras.

A la **Dra. Claudia T. Gallardo Rivera** por siempre tener palabras de aliento y sugerencias para la escritura del artículo y desarrollo de éste proyecto.

A la **Dra. María Guadalupe de Jesús Alanís Guzmán**, al **Dr. Carlos Leonel García Díaz** y al **Dr. Carlos Abel Amaya Guerra** por sus observaciones durante los seminarios para la mejora continua de éste proyecto.

Al **Dr. Carlos Javier Aguilera González** por sus consejos, por trasmitirme su gran pasión por la investigación y ser el primero con el que me inicié en éste camino de la investigación cuando ingresé a la Facultad de Ciencias Biológicas.

Al **Dr. Roberto Mercado Hernández** por su apoyo con la parte estadística.

Al **Dr. Eristeo García Márquez** por su gran apoyo para la revisión y redacción de mi artículo de investigación,

A la **M.C. Karla Guadalupe García Alanís** por su ayuda y sugerencias para la realización de los análisis sensoriales.

Al **CONACYT** por la beca #277814 que me otorgó para la realización de mi Doctorado.

A mis amigos **Adriana, Ricardo, Arturo, David Neder y Ana** por sus palabras y apoyo durante la realización de mis experimentos.

A mis compañeras **Cinthya, Alejandra, Analia, Verónica, Edith y Jeny** con quienes pasé gratos momentos en el laboratorio durante la realización de éste proyecto.

A mi equipo de laboratorio: **Brenda, Zaira, Katy, Alex, Diana, Emanuel, Héctor y Cinthia**, muchas gracias por todo su apoyo.

DEDICATORIA

En primer lugar, a **Dios** por darme la fuerza y la paciencia para lograr culminar éste gran proyecto. "Gracias Dios" por darme ánimo en todos esos momentos.

A mi madre **Minerva** por su gran amor y apoyo constante durante todo el desarrollo de éste proyecto. Por impulsarme a iniciarlo y por siempre alentarme a superarme como profesionalista, así como en los proyectos que se desarrollaron a la par de éste.

A mí abuelita **Ernestina** (†) por todas sus enseñanzas, sus consejos y por quererme tanto.

A mis maestros quienes me han transmitido su gran pasión por la investigación, y sus ganas por aportar de manera constante siempre algo nuevo ¡Mil gracias!

A mis amigos de toda la vida: **Sandra, Mitzy, Ale, Lupita, Edgar, Ricardo y Marisol** quienes siempre me apoyan en mis decisiones, han sido mis compañeros en este viaje que se llama “vida” y por estar orgullosos de mí porque concluí la realización de este proyecto.

"Nunca dejes de luchar por tus sueños"

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1. Mayonesas y aderezos.....	5
2.2. Ingredientes	8
2.3. Aceites.....	8
2.3.1. Aceite de soya	9
2.4. Biopolímeros	10
2.4.1. Goma xantana.....	11
2.4.2. Goma guar	11
2.4.3. Almidones	11
2.4.4. Proteínas.....	17
2.5. Macroestructura y componentes principales de la yema de huevo.....	18
2.5.1. Gránulos	18
2.5.2. Plasma	19
2.5.3. Lipoproteínas de baja densidad (LDL)	20
2.5.4. Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)	21
2.5.5. Lipoproteínas de alta densidad (HDL).....	22
2.5.6. Fosvitina	22

2.5.7. Livetinas.....	23
2.6. Sustancias biológicamente activas en el huevo.....	23
2.7. El colesterol y sus efectos en la salud.....	24
2.8. Métodos para reducir el colesterol presente en la yema de huevo.....	25
2.9. Harinas vegetales.....	26
2.9.1. Harina de quinua.....	26
2.9.2. Harina de amaranto.....	26
2.9.3. Harina de chícharo.....	27
2.10. Inestabilidad en emulsiones.....	27
2.11. Propiedades interfaciales y su caracterización.....	29
3. JUSTIFICACION.....	31
4. HIPOTESIS.....	32
5. OBJETIVO DEL TRABAJO.....	33
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
6.1. Materia prima.....	34
6.2 Reducción de colesterol en la yema.....	34
6.2.1 Extracción de gránulos de yema.....	34
6.2.2 Complejo de polisacáridos aniónicos con yema.....	35
6.2.3 Extracción con solventes.....	35
6.3 Caracterización fisicoquímica y microestructural.....	36
6.3.1 Cuantificación de colesterol por Cromatografía de Gases.....	36

6.3.3 Determinación de miliequivalentes.....	36
6.3.4 Capacidad emulsionante.....	37
6.3.5 Capacidad gelificante.....	37
6.3.6 Análisis de microestructural.....	38
6.4 Elaboración de emulsiones sin utilizar yema de huevo empleando harinas vegetales.....	39
6.4.1 Análisis bromatológico de las harinas.....	39
6.4.2 Capacidad emulsionante de harinas	39
6.4.3 Elaboración de emulsiones empleando harinas.....	39
6.4.4 Estabilidad física.....	40
6.4.5 Potencial zeta	42
6.4.6 Curvas de flujo de emulsiones.....	42
6.4.7 Análisis sensorial.....	43
6.5 Elaboración de aderezos reducidos en grasa utilizando almidón de camote	44
6.5.1 Extracción y caracterización del almidón de camote.....	44
6.5.2 Análisis bromatológico.....	44
6.5.3 Caracterización térmica.....	45
6.5.4 Gelatinización del almidón de camote.....	45
6.5.5 Formulaciones de emulsiones reducidas en grasa.....	46
6.5.6 Estabilidad física	46
6.5.7 Curvas de flujo	46
6.5.8 Análisis sensorial	47

6.6 Análisis estadístico.....	47
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
7.1.1 Reducción de colesterol en la yema.....	48
7.1.2 Potencial zeta	49
7.1.3 Determinación de miliequivalentes.....	51
7.1.4 Tamaño de partícula.....	54
7.1.5 Capacidad emulsionante.....	55
7.1.6 Capacidad gelificante	56
7.1.7 Análisis microestructural	57
7.2 Elaboración de emulsiones sin utilizar yema de huevo, sustituida empleando harinas vegetales.....	58
7.2.1 Análisis bromatológico de harinas vegetales	58
7.2.2 Capacidad emulsionante de harinas vegetales	59
7.2.3 Curvas de flujo de emulsiones	60
7.2.4 Cinética de coalescencia	62
7.2.5 Potencial zeta	62
7.2.6 Índice de cremado	64
7.3 Pruebas sensoriales.....	64
7.3.1 Prueba de ordenamiento.....	64
7.3.2 Prueba de nivel de agrado.....	65
7.4 Elaboración de aderezos reducidos en grasa utilizando almidón de camote	66
7.4.1 Análisis bromatológico del almidón de camote.....	66

7.4.2 Rendimiento	67
7.4.3 Capacidad gelificante	68
7.4.4 Capacidad emulsionante.....	68
7.4.5 Temperatura de gelatinización y entalpía	69
7.4.6 Índice de cremado	69
7.4.7 Cinética de coalescencia	70
7.4.8 Curvas de flujo	71
7.4.9 Prueba definitiva	72
8. CONCLUSIONES	76
9. PERSPECTIVAS	78
10. BIBLIOGRAFIA.....	79
11. RESUMEN BIOGRÁFICO.....	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes principales para mayonesas	6
Tabla 2. Características de algunos almidones usados en la industria alimentaria.	17
Tabla 3. Interpretación de resultados de capacidad gelificante.....	38
Tabla 4. Formulaciones de aderezos sin yema de huevo.	40
Tabla 5. Formulaciones de aderezos con almidón de camote.....	46
Tabla 6. Remoción de colesterol.....	48
Tabla 7. Tamaño de partícula de complejos.....	55
Tabla 8. Resultados de capacidad emulsionante.....	56
Tabla 9. Resultados de capacidad gelificante.	57
Tabla 10. Análisis bromatológico de harinas vegetales.....	59
Tabla 11. Capacidad emulsionante de harinas vegetales.	60
Tabla 12. Valores de coeficiente de consistencia "K" e índice de flujo "n" de las formulaciones desarrolladas.....	61
Tabla 13. Tasa de coalescencia para las formulaciones desarrolladas.....	62
Tabla 14. Potencial- ζ de harinas.	63
Tabla 15. Potencial- ζ de los aderezos.	63
Tabla 16. Resultados prueba de ordenamiento	65
Tabla 17. “Calificaciones (media \pm DS) de los atributos aspecto, olor, sabor y textura de las evaluaciones sensoriales realizadas.....	67
Tabla 18. Resultados de análisis bromatológico de almidón de camote.....	67
Tabla 19. Rendimiento de extracción del almidón de camote.	67
Tabla 20. Capacidad gelificante del almidón de camote.....	68

Tabla 21. Capacidad emulsionante de almidón de camote	69
Tabla 22. Temperatura de gelatinización y entalpía de almidón de camote.	69
Tabla 23. Tasa de coalescencia de las formulaciones desarrolladas.	71
Tabla 24. Valores de coeficiente de consistencia "K" e índice de flujo "n" de las formulaciones desarrolladas.	71
Tabla 25. "Calificaciones (media \pm DS) de los atributos aspecto, olor, sabor y textura de las evaluaciones sensoriales realizadas.	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Las estructuras de los segmentos de amilosa y amilopectina (Frasier-Reid, 2008).	12
Figura 2. Enrollamiento helicoidal de la amilosa.(Badui, 2013).	12
Figura 3. Micrografías del almidón de maíz a) 40X; b) 400X; c) 1000X.....	13
Figura 4. Gránulos de almidón en los tubérculos de batata (<i>Ipomoea batatas</i>).	14
Figura 5. Micrografías del almidón de papa a) 40X; b) 400X; c) 1000X. (Medina 2007).	14
Figura 6. Modelo esquemático de los gránulos de la yema de huevo a pH 6.5 que consiste en submicelas de HDL unidas por fosvitina a través de puentes de fosfato de calcio y vesículas de LDL incrustadas. (Strixner y Kulozik 2013).....	19
Figura 7. Representación esquemática de las LDL (Huopalahti et al 2007).....	20
Figura 8. Camote (<i>Ipomoea batatas</i>)	44
Figura 9. Potencial zeta de yema de huevo, goma de mezquite (MG) y goma arábica (AG)	50
Figure 10. Potencial zeta de yema de huevo, AG _{3%} , y MG _{3%}	51
Figura 11. Titulación potenciométrica de yema de huevo, (a), goma arábica (b) y goma de mezquite (c).....	53
Figura 12. Micrografías: a) AG _{1%} , b) AG _{3%} ,c) AG _{10%} , d) GM _{1%} , e) GM _{3%} ,f) GM _{10%} , g) Na _G y h)S _A	58
Figura 13. Curvas de flujo de los aderezos.	61
Figura 14. Gráfica de índice de cremado de las emulsiones.	64
Figura 15. Gráfica de índice de cremado de las emulsiones con almidón de camote.	72

Figura 16. Curvas de flujo de formulaciones con almidón de camote comparándolos con fórmula comercial.	74
Figura 17. Evaluación de sabor de los aderezos.	75
Figura 18. Evaluación de olor de los aderezos.....	76
Figura 19. . Resultados de evaluación sensorial (aspecto, olor, sabor y textura).	77

RESUMEN

En la industria alimentaria en el campo de investigación y producción en materia de emulsiones, los aderezos son un producto importante debido a sus cualidades para condimentar el sabor de los alimentos. Dentro de los ingredientes empleados se encuentra la yema de huevo la cual actúa como emulsionante en éste tipo de productos, el problema es que posee una elevada cantidad de colesterol, el cual puede contribuir al desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Por lo que en ésta investigación, se emplearon diferentes métodos para reducir el colesterol presente en la yema de huevo: separación física de los gránulos contenidos en la yema (Na_G), las otras dos consistieron en la separación de colesterol usando complejos con biopolímeros: goma arábica (AG) y goma de mezquite (MG), y la cuarta usando acetona como solvente (S_A). Se diseñaron emulsiones sin utilizar yema de huevo empleando harinas vegetales, y también se utilizó el complejo de $GM_{3\%}$ para la formulación de aderezos reducidos en grasa utilizando almidón de camote. Para el diseño de las membranas interfaciales se determinó el potencial zeta de las harinas vegetales, así como del complejo $GM_{3\%}$; además se analizaron las curvas de flujo de las emulsiones desarrolladas, así como el tamaño de partícula y el índice de cremado, y finalmente se realizó el análisis sensorial de las mejores formulaciones. En orden de porcentaje de reducción de colesterol de los diferentes métodos usados para remover el colesterol de menor a mayor fueron: $Na_G < S_A < AG < MG$. El AD Comercial y el AD Chícharo presentaron el menor índice de cremado ($p < 0.05$), seguido de AD Ctrl, AD Quinoa y AD Amaranto, lo cual se puede relacionar con la tasa de coalescencia la cual muestra que son emulsiones estables. En la prueba de ordenamiento los jueces prefirieron el AD Amaranto. El uso de harinas de origen vegetal y biopolímeros permitió el diseño de la membrana interfacial para sustituir total o parcialmente la yema de huevo en la elaboración de formulaciones con alta estabilidad.

ABSTRACT

In the food industry in the field of research and production of emulsions, dressings are an important product due to their qualities to flavor the taste of food. Among the ingredients used is the egg yolk which act as an emulsifier in this type of products, the problem is that it has a high amount of cholesterol, which can contribute to the development of cardiovascular diseases. In this investigation, different methods were used to reduce cholesterol in egg yolk: physical separation of the granules contained in the yolk (Na_G), the other two consisted of separation of cholesterol using complex biopolymers: gum arabic (AG) and mesquite gum (MG) and the fourth using acetone as a solvent (SA). The emulsions were designed with vegetable flours instead of egg yolk, and the GM_{3%} complex was mixed with sweet potato starch and used for the formulation of reduced fat dressings using. For the design of the interfacial membranes, the zeta potential of the vegetables flours was determined, as well as the GM_{3%} complex; also the flow curves of developed emulsions and the particle size, and the rate of creaming were analyzed and finally a sensory analysis was performed with the best formulations. In order of percentage of cholesterol reduction of the different methods used to remove cholesterol from lowest to highest were: Na_G < S_A < AG < MG. AD Comercial and AD Chicharo had the lowest cremation index ($p < 0.05$), followed by AD Ctrl, AD Quinoa and AD Amaranth, which can be related to the coalescence rate which shows that they are stable emulsions. In the ordination test the judges preferred AD Amarath. The use of flours of vegetable origin and biopolymers allowed the design of the interfacial membrane to totally or partially replace the egg yolk in the preparation of formulations with high stability.

1. INTRODUCCIÓN

La mayonesa es una emulsión aceite en agua (O/W), el mayor componente (aceite) es forzado a formar pequeñas gotas que se dispersan en la poca cantidad de fase continua haciéndola una emulsión difícil de preparar. Comercialmente la mayonesa contiene cerca de 80% de aceite. Los aderezos poseen una menor cantidad de aceite, 50% de aceite máximo y pueden contener almidones para dar la consistencia deseada.

La gran cantidad de aceite usado para elaborar la mayonesa, no favorece la formación de una emulsión O/W, por lo que es necesario el empleo de un emulsionante. El emulsionante funciona en la superficie de dos líquidos inmiscibles y reduce la tensión interfacial entre dos fases reforzando la superficie de contacto entre ellos. En la elaboración de mayonesas el uso de emulsionante sintéticos no está permitido, la única fuente de emulsionante para estabilizarla se obtiene de la yema de huevo. Los más adecuados para sistemas aceite en agua son los emulsionantes hidrofílicos. La lecitina es un surfactante de bajo peso molecular que se encuentra en la yema de huevo y es utilizado para estabilizar la emulsión, también se utilizan surfactantes de alto peso molecular, como las proteínas encontradas en la yema de huevo (Smith y Hui 2004). Sin embargo, debido a la tendencia actual del consumidor

a eliminar de su dieta productos que contengan colesterol como es el caso del huevo que contiene de 200 a 300 mg de colesterol / 100g que casi es el límite de ingesta establecido por la American Heart Association de ≤ 300 mg por día (Sun et al. 2011; Miranda et al. 2015). El colesterol elevado es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular, México encabeza las estadísticas de obesidad, en adultos y niños. De Enero a Noviembre del 2014 se diagnosticaron, 323 mil 110 casos nuevos de obesidad. El aumento de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), tiene un impacto directo en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, debido a que se ha asociado un valor alto de éste en plasma formando la placa aterosclerótica, la cual origina ese tipo de enfermedades (Gould et al. 2007). Las lipoproteínas de alta densidad (HDL), son transportadas al hígado para su posterior eliminación, a través del intestino y representan la única forma de eliminar el exceso de colesterol del tejido periférico (Morgan et al. 2016). En 2005 se

recomendó una ingesta diaria menor de 300 mg/dL de colesterol para adultos sanos y menos de 200 mg/dL de colesterol para personas con colesterol elevado (Virani et al. 2011). En México las enfermedades cardiovasculares constituyen un problema importante de salud pública, además de dislipidemias (altos niveles de colesterol, triglicéridos o ambos) y obesidad (Secretaría de Salud 2001), por lo que es importante el desarrollo de alimentos que ayuden a evitar éste tipo de enfermedades.

Se han realizado investigaciones para disminuir la cantidad de colesterol presente en la yema de huevo empleando solventes como hexano, acetona, etanol. En otros trabajos se han realizado la extracción de gránulos de la yema de huevo, y otro método empleado ha sido el uso de betaciclodextrinas.

También se han estudiado emulsionantes alternativos para ofrecer nuevas opciones a los intolerantes al huevo. Entre ellos destacan proteínas de origen animal y vegetal. Así, se han usado proteína de suero de leche (Franco et al. 1998), proteínas de soja, proteínas de guisante (Franco et al. 2000), proteína de trigo (y una serie de tensoactivos de bajo peso molecular: mono y diglicéridos, y ésteres de mono y diglicéridos), hidratos de carbono derivados de emulsionantes (éster de almidón, éster de sacarosa y polisorbatos), e hidrocoloides (Zhen y Boye 2012).

También el consumidor busca productos bajos en grasa, por lo que el empleo de almidones es una buena opción para lograrlo. Son empleados para proveer una sensación similar a la grasa al paladar a los productos alimenticios (Zhen y Boye 2012).

Por lo anterior en esta investigación se buscó desarrollar la tecnología para producir emulsiones con alto contenido de aceite y bajas en colesterol empleando biopolímeros para diseñar la membrana interfacial que aseguren la estabilidad física y química durante la elaboración y almacenamiento.

2. ANTECEDENTES

2.1. Mayonesas y aderezos

Muchos productos alimenticios son emulsiones aceite en agua (O/W), donde las gotas de aceite son usualmente estabilizadas por moléculas de proteína que, junto a otros agentes de superficie activa, forman una capa protectora fuerte y cohesiva que resiste a la tensión y al estrés de cizallamiento protegiendo a las gotas de aceite de la coalescencia (Dickinson y Stainsby 1982).

La mayonesa es un producto alimenticio utilizado frecuentemente en la preparación de ensaladas, sándwiches y muchos otros productos alimenticios. La formulación y procesamiento exitoso requieren entender el uso y aplicación de cada ingrediente y los pasos críticos del proceso para formar la estructura delicada de las mayonesas y aderezos. La mayonesa es una emulsión aceite en agua (O/W) con un alto contenido de aceite mayor de 65% y hasta el 80%. Cuando ésta emulsión contiene menos del 50% de aceite se le denomina aderezo. Según el Codex Alimentarius (1995) se describe a la mayonesa como un alimento semisólido emulsionado preparado con aceite o aceites (contenido total de aceite \geq 65%) en una fase acuosa acidificada con vinagre (no menos del 2.5% en peso) o algunos otros compuestos que brinden acidez como el jugo de limón, entre otros, yema de huevo (líquida, congelada o deshidratada), agua y algunos ingredientes como clara de huevo, azúcar, sal, condimentos, jugo de limón, leche en polvo. La yema de huevo se utiliza como emulsionante, el pH cercano al neutral (6.6-6.9) facilita la liberación de los componentes de la yema en el proceso de emulsificación (Anton y Gandemer 1999).

La mayonesa generalmente se prepara utilizando la yema cercana al pH neutral antes de la acidificación con el vinagre. La mayonesa tradicional se produce en un proceso por lotes en el cual se adiciona lentamente el aceite a la fase acuosa bajo agitación vigorosa con lo que se forma la emulsión O/W (Depree y Savage 2001).

Los ingredientes principales en la elaboración de mayonesas se describen en la Tabla 1. De acuerdo con la 21CFR 169.140, la mayonesa contiene aceite vegetal (mínimo 65%

por peso), acidificantes (vinagre, jugo de limón o de lima), yema de huevo (líquida, congelada o el huevo entero) y otros ingredientes (sal, azúcar, especias, glutamato monosódico, secuestrantes de iones metálicos, ácido cítrico o málico e inhibidores de cristalización). La mayonesa comercial contiene entre un 77-82% de aceite (cártamo, maíz, o de soya). La yema de huevo líquida (45% de sólidos) es el emulsionante usado en un intervalo de 7-9% del peso total de la fórmula. Los otros ingredientes son: vinagre (2.8-4.5%), sal (1.2-1.8%), azúcar (1-2.5%), pimienta negra (0.1-0.2) y harina de mostaza (0.2-0.8%). El agua se agrega para completar el porcentaje de 100% (Stauffer 1996).

Tabla 1. Ingredientes principales para mayonesas

Ingrediente	% peso	Fase de la emulsión
Aceite vegetal	65-80%	Aceite
Yema de huevo	7.0-9.0	Emulsionante, interfase
Vinagre (4.5% ácido acético)	9.4-10.8	Acuosa
Azúcar	1.0-2.5	Acuosa
Sal	1.2-1.8	Acuosa
Especias		
Harina de mostaza	0.2-2.8	
Pimienta blanca	0.1-0.2	
Oleoresina paprika, ajo, etc.	0.1	
Agua	Para completar el 100%	Acuosa.

La yema de huevo es muy utilizada en la elaboración de alimentos como emulsificante, porque imparte un sabor deseable, color y sensación agradable al paladar (Baldwin 1990; Bringe y Cheng 1995).

La capacidad emulsificante de las lipoproteínas de la yema de huevo se atribuye a la alta flexibilidad de sus estructuras, permitiendo una gran afinidad y absorción en las

interfaces aceite en agua, y también por su habilidad de formar films viscoelásticos (Kiosseoglou 1989).

Las lipoproteínas de baja densidad LDL, como algunas levitinas (gránulos insolubles de lipoproteínas de alta densidad y fosfoproteínas llamadas fosvitinas unidas por puentes fosfocálcico), desempeñan un papel importante en la estabilización de la interfaz O/W (Mel'nikov 2002). El incremento de la actividad emulsificante del huevo después del secado térmico se atribuye al despliegue de las lipoproteínas LDL, lo que incrementa la hidrofobicidad y flexibilidad molecular, permitiendo una fácil y efectiva adsorción de las moléculas en la interface o/w (Guilmineau y Kulozik 2006).

De todos los ingredientes presentes en la mayonesa, la yema de huevo es el más crítico para la estabilidad del producto (Hasenhuettl 2008). Sin embargo, el problema con esta es su alto contenido de colesterol, por lo que se han llevado a cabo diferentes intentos para desarrollar mayonesas bajas en colesterol con características similares a la real (Laca et al. 2010).

Usando otro emulsificante junto con la yema de huevo, o reemplazándola completamente proporciona varias ventajas, como disminuir el contenido de colesterol, y en general, en el contenido de grasa, e incrementar la estabilidad microbiológica y, en algunos casos, disminuir el costo de manufactura (Riscardo et al. 2003).

Para lograr mayonesas con propiedades adecuadas de la emulsión y altamente estables, se han realizado muchas investigaciones utilizando proteínas con varios emulsificantes y gomas como la goma xantana y goma guar (Bortnowska y Tokarczyk 2009; Lorenzo et al. 2008). Las interacciones goma-proteína pueden desempeñar un rol importante comparado con la contribución individual del polímero (Abu Ghoush et al. 2008).

En estudios previos se ha utilizado la goma xantana para la elaboración de aderezos, en combinación con goma arábica y alginato de propilenglicol, inhibiendo la oxidación lipídica y además por su capacidad estabilizante/ emulsificante, esto es debido a su carácter anfifílico y parcialmente debido a la presencia de goma xantana (Paraskevopoulou et al. 2007), la goma xantana al emplearse en concentraciones

mayores al 0.10% en emulsiones aporta viscosidad, teniendo como resultado un sistema estable (Drakos y Kiosseoglou 2006).

Se han desarrollado mayonesas bajas en colesterol, empleando leche de soya como sustituto de la yema de huevo, en conjunto con goma xantana, goma guar y mono y diacilglicéridos, un incremento en el contenido de goma xantana seguido de goma guar proporcionó una mayor estabilidad al calor, un mayor coeficiente de consistencia, viscosidad, y aceptación por el consumidor (Nikzade et al. 2012). La adición de goma incrementa la elasticidad de la emulsión por sí misma como resultado de la formación de un gel fuerte en la fase continua, impartiendo una más firme y adhesiva estructura en la fase continua y también produciendo un menor tamaño de partícula (Raymundo et al. 2001).

2.2. Ingredientes

Los ingredientes empleados en emulsiones alimenticias como aderezos y mayonesas interactúan unos con otros de forma física y/o química y dichas interacciones determinan la calidad de los productos finales. La naturaleza y el papel que desempeña cada ingrediente utilizado en aderezos y mayonesas son descritos a continuación:

2.3. Aceites

Los aceites contienen diferentes tipos de moléculas, incluyendo triacilglicéridos, ácidos grasos, y fosfolípidos. Es la mayor fuente de energía y nutrientes. El aceite tiene rol importante en las emulsiones alimenticias, contribuye a la viscosidad, textura, efecto lubricante, apariencia, sabor y vida de anaquel del producto final. El aceite también es responsable de disolver ingredientes como vitaminas, colorantes, antioxidantes y surfactantes.

Los tipos de aceites comúnmente utilizados en la formulación de aderezos y mayonesas son el aceite de soya, canola, girasol, algunas veces de algodón y oliva. Los ácidos grasos que componen los aceites en general son ácidos grasos saturados (AGS) e insaturados (AGI). Los insaturados a su vez pueden ser monoinsaturados (AGMI) o ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). Desde el punto de vista de uso nutricional, los AGPI se clasifican a su vez en las familias: omega-3, omega-6 y omega-9. Los ácidos

grasos omega-9 pueden ser formados por los organismos animales, considerándose no esenciales; mientras que los omega-3 y omega-6 son considerados esenciales, lo cual significa que debemos consumir una determinada cantidad y proporción entre ellos (Valenzuela y Sanhueza 2009).

Los aceites de origen vegetal fuente de omega-3 son: aceite de canola, chía y linaza. Los aceites de origen marino se caracterizan por su alto contenido de ácidos grasos omega-3, la diferencia entre los de origen vegetal y los de origen marino es que los aceites de origen vegetal contienen como principal componente de omega-3 el ácido alfa linolénico (C18:3,ALN), en cambio los de origen marino se caracterizan por su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga siendo los más importantes el ácido eicosapentaenoico (C20:5,EPA) y el ácido docosahexaenoico (C22:6 DHA) (Valenzuela y Sanhueza 2009). La FAO/OMS recomiendan un consumo diario de al menos 500mg/día de EPA y DHA en adultos (Valenzuela y Sanhueza 2009). La International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids recomienda una ingesta mínima de DHA+ EPA combinados de 500 mg/día, para la salud cardiovascular (Kris et al. 2009).

2.3.1. Aceite de soya

La soya (*Glycine max*) pertenece a las leguminosas, aunque por su elevado contenido de aceite se incluye también, junto con la canola, el algodón y el cacahuate en las oleaginosas. Estados Unidos y Brasil cosechan conjuntamente más del 80% de la producción mundial (Badui 2006). El aceite de soya es rico en ácidos grasos insaturados, entre ellos se encuentra el ácido linolénico el cual es susceptible a la rancidez oxidativa, pero al ser hidrogenado para disminuir su sensibilidad al oxígeno y a la luz (Smith y Hui 2004). El aceite de soya presenta altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, siendo el ácido linoléico el principal (53%), ácido oleico (22%), el ácido alfa linolénico (0.05%) y ácido palmítico (16.6%) (Durán et al. 2015).

El aceite de soya domina el mercado debido a su alto valor de proteína, que es mayor que el de otros aceites. Del 1.45% de materia insaponificable típica del aceite de soya, 16% son esteroides, 8.5% tocoferoles y 26% hidrocarburos. El 50% restante de materia insaponificable consiste de componentes menores y sin identificar. Los esteroides son 5.2% β -sitosterol, 25% campesterol, y 23% estigmasterol (Hamond et al. 2005). El

aceite de soya es el más empleado en elaboración de mayonesas y aderezos (Smith y Hui 2004).

2.4. Biopolímeros

Dentro de los materiales utilizados en emulsiones se encuentran las gomas, el término goma se utiliza para referirse a polisacáridos o sus derivados, obtenidos de plantas o por procesamiento microbiológico, que poseen la capacidad en solución, de incrementar la viscosidad y/o de formar geles (Whistler y Daniel 1985; Whistler 1973; Pasquel 2001). Las gomas realizan al menos tres funciones en el procesamiento de los alimentos: emulsionantes, estabilizantes y espesantes. Además, algunas también son agentes gelificantes, formadoras de cuerpo, agentes de suspensión y aumentan la capacidad para la dispersión de gases en sólidos o líquidos (Considine y Considine 1983).

Los estabilizantes retardan o evitan cualquiera de los siguientes procesos (Walker 1984):

- a) Cristalización, usualmente del agua o del azúcar.
- b) Sedimentación gravitacional de partículas en suspensión.
- c) Encuentro entre partículas, gotitas o burbujas en un medio fluido.
- d) Floculación, coagulación o coalescencia de fracciones dispersas.
- e) Desagregación de agregados.
- f) Descremado
- g) Pérdida de pequeñas moléculas o iones debido a cambios en el potencial químico del ión o molécula disuelta, o debido a la formación de una película impermeable.
- h) Sinéresis en geles. Aunque la sinéresis usualmente sucede como resultado de la presencia de gomas, en algunos casos donde una goma es adicionada para formar un gel (esto es una función no estabilizante), una u otra goma pueden ser adicionadas para prevenir la sinéresis, convirtiéndose, por tanto, en un estabilizante.

2.4.1. Goma xantana

La goma xantana es un polisacárido extracelular producido por la bacteria *Xanthomonas campestris*, un organismo unicelular encontrado en las hojas de vegetales como la calabaza (*Brassica spp.*) (Williams y Philips 2000). La goma xantana posee un puente lineal (1→4) unido a la β-D-glucosa como columna vertebral (como la celulosa), pero cada dos unidades de glucosa está unida a un trisacárido al C-3, consiste en un residuo de ácido glucorónico unido mediante un puente (1→4) a una manosa y (1→2) a una segunda manosa que conecta al puente (Philips y Williams 2000). La goma xantana es un excelente estabilizante, no solo por su habilidad de incrementar la viscosidad de la emulsión, sino también por su propiedad antioxidante, que hemos reportado previamente. La goma xantana es un antioxidante efectivo si se localiza en la interface aceite en agua, que es el sitio donde se lleva a cabo la reacción de oxidación (Sun y Gunasekaran 2009).

2.4.2. Goma guar

La goma guar es parte del endospermo de semillas obtenidas de la planta de guar conocida como Cluster Bean. La goma guar es usada como estabilizante y agente espesante en industrias como: alimentos, farmacéuticos, cosméticos, textiles, y recuperación de petróleo. En la industria alimenticia, la goma guar es utilizada por su viscosidad en varios productos como: salsa, sopas, productos lácteos y horneados. La alta viscosidad de la goma guar se atribuye a su alto peso molecular 0.1 a 2.8 millones. La molécula de la goma guar está compuesta de cadenas lineales de β-1,4- manosa unidas al azar con α-1,6-galactosa (Mudgil et al. 2014).

2.4.3. Almidones

El almidón es utilizado como reserva energética en el reino vegetal y se encuentra en pequeños gránulos, la cual por su estructura compacta le permite almacenar mucha glucosa en una reducida partícula. El almidón está compuesto estructuralmente por dos polisacáridos: la amilosa y la amilopectina. La amilosa es un polímero lineal de unidades glucosa unidas por enlaces glucosídicos α (1,4) (Figura 1), está conformado por largas cadenas lineales con 200 – 300 unidades y pesos moleculares de hasta un millón de

daltones, en la Figura 2 se muestra la estructura helicoidal de la amilosa, en la que cada vuelta de la hélice equivale a seis moléculas de glucosa.

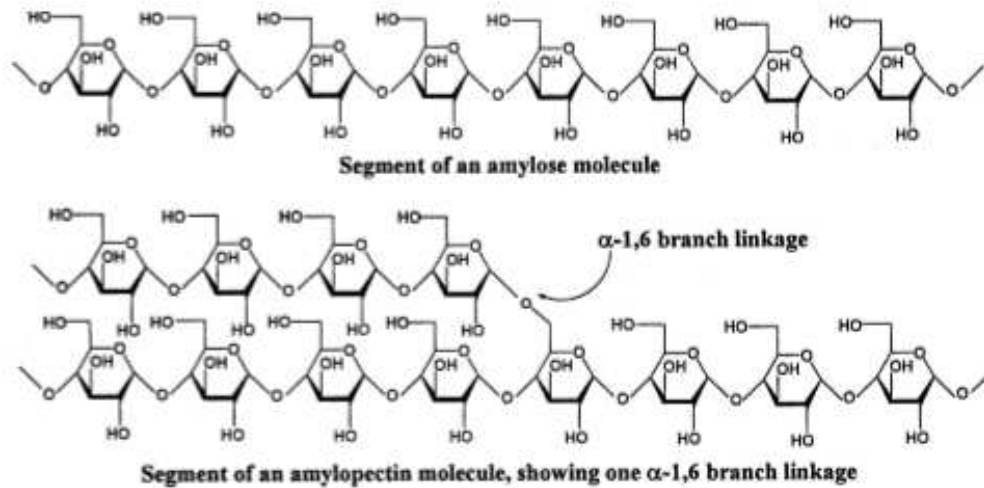


Figura 1. Las estructuras de los segmentos de amilosa y amilopectina (Fraser-Reid, 2008).

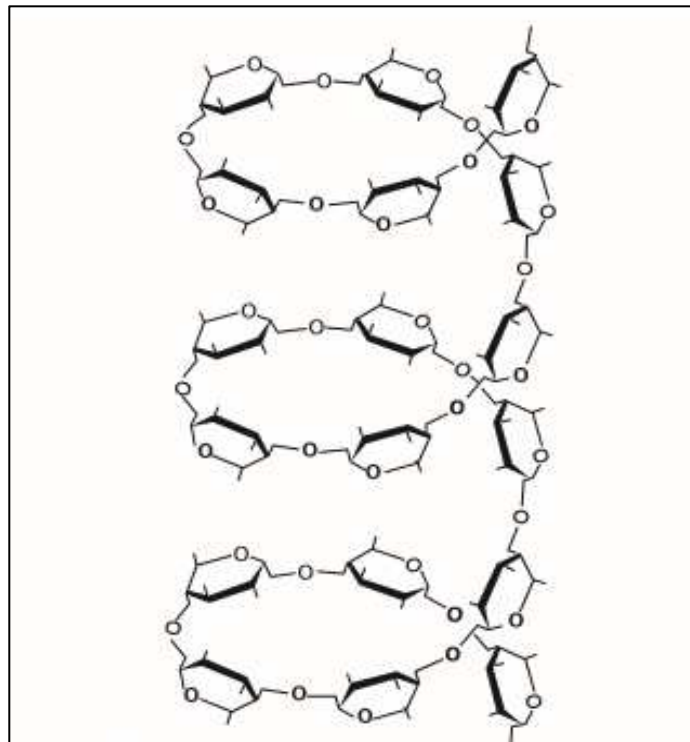


Figura 2. Enrollamiento helicoidal de la amilosa. (Badui, 2013).

La amilopectina suele diferenciarse de la amilosa por su estructura, que es similar a la de un árbol, estructuralmente está compuesta de glucosa unida con enlaces α (1-4) con 4.2 a 5.9 % de enlaces α (1-6) en las ramificaciones (Figura 1) localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa, su peso molecular es muy alto y depende de las fracciones, algunas llegan hasta los 200 millones de daltones, el doble en comparación a la amilosa.

Los almidones contienen comúnmente un 25% de amilosa y un 75% de amilopectina. La concentración de estos dos polímeros está regida genéticamente, así como el tamaño y la forma de granulo que son característicos de cada especie. Ambos polisacáridos influyen en las propiedades reológicas y sensoriales de los alimentos, principalmente por su capacidad de hidratación y gelatinización (Badui 2013, Gil 2010, Fraser-Reid 2008).

Almidón de maíz

Es obtenido del cereal (*Zea mays*), en México el almidón más ampliamente utilizado en emulsiones tipo mayonesa es el almidón de maíz. Esto debido a que en México es el mayor productor de maíz, se destinan cerca de 1.4 millones de hectáreas (Panorama agroalimentario 2016) para su cultivo ya que el maíz es considerado un alimento básico por su consumo en diferentes comidas y platillos principalmente para el consumo de su harina en la tortilla. El almidón de maíz contiene 26-31 % de amilosa y 69-74 de amilopectina (Badui 2013). La forma del gránulo varía, los pequeños tienen forma más suave y redonda, en cambio los grandes tienden a ser más irregulares, Figura 3 (Medina 2007).

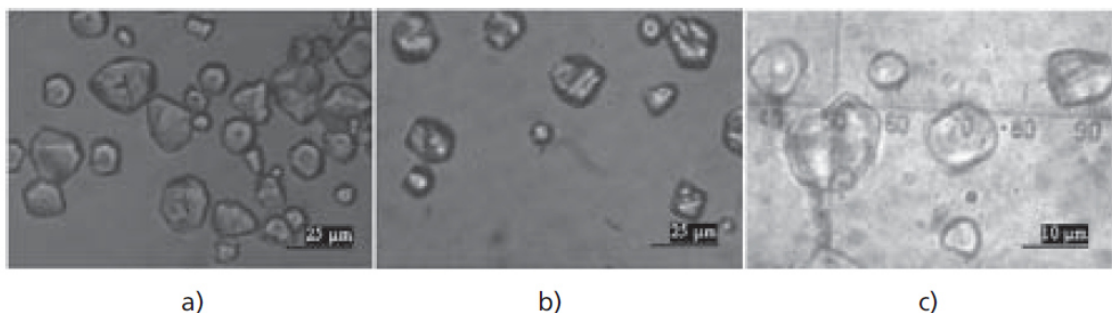


Figura 3. Micrografías del almidón de maíz a) 400X; b) 400X; c) 1000X (Medina, 2007).

Almidón de camote

Es obtenido de la raíz (*Ipomoea batatas*) actualmente es uno de los cultivos más importantes en Asia y África por su fuente calórica. En Japón es el segundo cultivo más importante y su producción es destinada principalmente para la obtención y el uso del almidón industrialmente. En México se producen 41, 722.05 toneladas de camote en el 2015 (Agro Moderna 2016). El almidón de camote posee de un 15-25% de amilosa y el resto de amilopectina (Vargas 2012). En la Figura 4 se muestra el gránulo de almidón de camote.

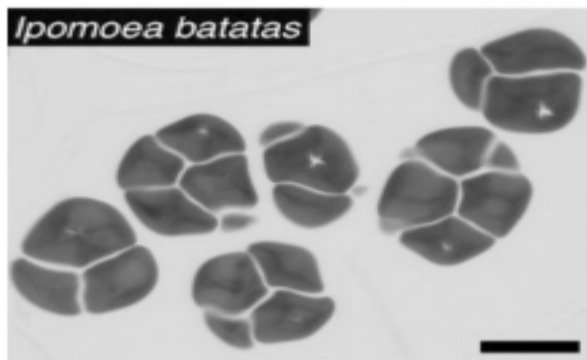


Figura 4. Gránulos de almidón en los tubérculos de batata (*Ipomoea batatas*) (Yasunori, 2015).

Almidón de papa

Es obtenido del tubérculo (*Solanum tuberosum*), la producción de papa en el 2013 fue de 1, 629,938.04 toneladas (SIAP). Los gránulos de almidón de papa varían, los más grandes tienen estructura elíptica, mientras que los pequeños tienden a ser circulares como se muestra en la Figura 5 (Medina 2007).

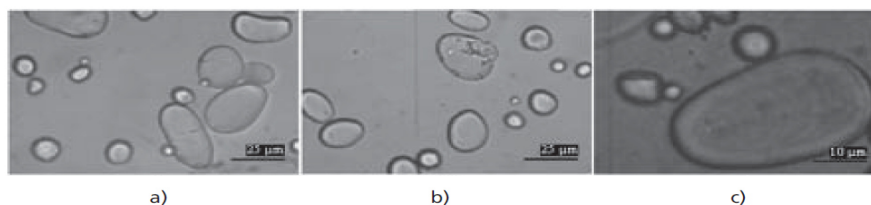


Figura 5. Micrografías del almidón de papa a) 400X; b) 400X; c) 1000X (Medina 2007).

Almidón modificado

El almidón es utilizado como materia prima para modificar la textura y consistencia de los alimentos por sus propiedades estabilizante, espesante y gelificante, estos factores se ven influenciados por el contenido de amilosa y amilopectina los cuales son dependientes del tipo de especie y de la organización molecular de los gránulos (Bello 2002). Los gránulos de almidón son insolubles en agua debido a su estructura altamente organizada, por lo que para poder emplearse en la industria alimenticia deben ser sometidos a algún tratamiento previo. Los procesos de modificación van encaminados a cambiar las características e integridad del gránulo de almidón alterando sus propiedades de cocimiento, gelatinización o retrogradación, para ser usados como agentes estabilizadores, emulsionantes, humectantes, espesantes, fibra (almidón resistente). Los diferentes métodos usados para modificar el almidón incluyen:

a) Modificaciones químicas: Generalmente se logra a través de la derivatización como la esterificación, eterificación, entrecruzamiento, hidrólisis ácida, blanqueamiento y oxidación, y sustitución (estabilización), usados para optimizar las características estructurales y las propiedades funcionales y nutricionales para aplicaciones específicas. La adición de almidón modificado químicamente con características glucémicas bajas o lentas podría ayudar a disminuir la carga glucémica general de los alimentos, como los panes y los pasteles, donde están presentes cantidades significativas, en forma de carbohidratos de fácil absorción. Algunas aplicaciones nuevas de almidones modificados químicamente son como quelantes, crioprotectores, coadyuvantes de secado, sustitutos de grasa, portadores de sabor y precursores de sabor y color (BeMiller 2016).

b) Modificaciones físicas: Las modificaciones físicas de los almidones son modificaciones de las propiedades del almidón impartidas por tratamientos físicos que no producen ninguna modificación química del almidón que no sea escisiones limitadas de enlaces glicosídicos. Dentro de éstas modificaciones se encuentran los tratamientos térmicos que incluyen aquellas que producen almidones pregelatinizados, tratamientos de calor-humedad, microondas, calentamiento de almidón seco y tratamiento de presión osmótica. Los tratamientos no térmicos como: sonicación, molienda, altas presiones, campos eléctrico pulsados, congelación y descongelación y liofilización (BeMiller 2018).

c) Modificaciones enzimáticas: El almidón puede ser despolimerizado o extendido usando varias enzimas, como la amiloglucosidasa, pululanasa, α -amilasa, β -amilasa e isomerasa, se utiliza en la producción de maltodextrina, almidones modificados o jarabes de glucosa y fructosa (Chen 2018).

Los gránulos poseen una estructura micelar cristalina y la amilopectina se asocia mediante enlaces de hidrógeno con las cadenas lineales de amilosa, por lo que hace al gránulo de almidón insoluble en agua fría. Un calentamiento continuo del almidón con cantidad suficiente de agua hace que pierda su capacidad de birrefringencia debido a que el gránulo retiene más agua, comienza hincharse y aumentar de volumen hasta 40 % su peso, el calor proporciona la energía necesaria para romper los enlaces de hidrógeno que unen las micelas cristalinas, permitiendo solubilizar la amilosa e incrementando su viscosidad, el rango de temperatura en el que tiene lugar el hinchamiento del gránulo y por consiguiente la formación del gel se le conoce como "temperatura de gelatinización" la cual varía dependiendo de la especie botánica, esta temperatura en realidad es un intervalo esto porque aunque se trate de la misma fuente botánica los gránulos tienen diferente composición y grado de cristalinidad, lo que provoca que unos sean más resistentes que otros, por esta razón el intervalo llega a presentar una diferencia de 8 a 12°C (Tabla 2) entre la temperatura de gelatinización de los primeros gránulos y la de los últimos. (Bello 2002; Badui 2013).

Tabla 2. Características de algunos almidones usados en la industria alimentaria.

Tipo	Amilopectina (%)	Amilosa (%)	Temperatura de gelatinización (°C)	Tamaño del gránulo (µm)
Maíz	69-74	26-31	62-72	5-25
Maíz rico en amilosa	20-45	55-80	67-80	5-25
Papa	73-77	18-27	58-67	5-100
Arroz	83	17	62-78	2-5
Tapioca	82	18	51-65	5-35
Maíz céreo	99-100	0-1	63-72	5-25
Sorgo céreo	99-100	0-1	67-74	5-25
Trigo	76	24	58-64	11-41

(Badui 2013).

2.4.4. Proteínas

Las membranas interfaciales formadas por proteínas son por lo general relativamente delgadas y eléctricamente cargadas, por lo tanto, el principal mecanismo que previene la floculación de las gotas en emulsiones estabilizadas con proteínas es la repulsión electrostática (Claesson et al. 2004). Por consiguiente, emulsiones estabilizadas con proteínas son particularmente sensibles al pH y los efectos de la fuerza iónica, y tienden a flocular a pH próximos al punto isoeléctrico de las proteínas adsorbidas y cuando la fuerza iónica supere un determinado nivel. Las emulsiones estabilizadas por proteínas globulares también son especialmente sensibles a los tratamientos térmicos, debido a que estas proteínas se despliegan cuando la temperatura excede un valor crítico, exponiendo los grupos reactivos no polares y sulfhidrilo. Estos grupos reactivos aumentan las interacciones atractivas entre las gotas, lo que puede conducir a la floculación. Cabe señalar que un número de métodos han sido desarrollados para intentar mejorar las propiedades emulsionantes de las proteínas, incluyendo hidrólisis limitada para formar péptidos, modificación de la estructura de la proteína por agentes químicos, físicos, enzimáticos o de medios genéticos, y la mezcla de las proteínas con otros ingredientes.

La composición de un huevo es 75% agua, 12% proteínas y lípidos, y cerca de 1% de carbohidratos y minerales, aproximadamente (Burley y Vadehra 1989; Li-Chan et al. 2008).

2.5. Macroestructura y componentes principales de la yema de huevo

La yema de huevo corresponde al 36% del peso total del huevo de gallina (Kiosseoglou 1989; Thapon y Bourgeois 1994; Li-Chan et al. 2008). Sus principales componentes son lípidos, aproximadamente 65% de la materia seca y la relación de lípido a proteína es de aproximadamente 2:1. Sus principales componentes son agua 51%, proteínas 16%, lípidos 32.6%, minerales 1.7% y carbohidratos 0.6% (Clark 2014). Es un sistema complejo, con diferentes niveles de estructuración que consiste en agregados (gránulos) en suspensión en un líquido amarillo claro (plasma) que contiene lipoproteínas y proteínas.

2.5.1. Gránulos

Los gránulos consisten en complejos circulares (Figura 6), con un diámetro que va de 0.3 a 2 μm (Chang et al. 1977). Por consiguiente, la yema puede ser separada fácilmente en dos fracciones después de una dilución dos veces con NaCl 0.3M y una centrifugación a 10,000 g (30 min) de acuerdo con el método de (McBee y Coterril 1979) un sobrenadante oscuro llamado plasma y un pellet pálido llamado gránulos. Los gránulos representan 22% de la materia seca de yema, que representa aproximadamente el 50% de las proteínas de la yema de huevo y un 7% de lípidos de la yema (Dyer-Hurdon y Nnanna 1993; Anton y Gandemer 1997). Están constituidos principalmente por lipoproteínas de alta densidad (HDL) (70%) y fosvitina (16%) unidos por puentes fosfocálcico entre los grupos fosfato de sus residuos fosfoseril (Burley y Cook 1961; Saari et al. 1964). Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (12%) se incluyen en la estructura granular. A baja fuerza iónica, los gránulos se encuentran en forma insoluble formando complejos (HDL-fosvitina) y contienen una alta proporción de aminoácidos ácidos de fosfoserina, capaces de unirse a calcio (Causeret et al. 1991). Los puentes fosfocálcicos numerosos, hacen la estructura del gránulo muy compacta, mal hidratados, débilmente accesibles a las enzimas, y conducen a una eficiente protección frente a la desnaturalización térmica y la gelificación. A una fuerza iónica de más de 0.3 M de NaCl, los puentes fosfocálcico se rompen porque el sodio monovalente reemplaza al calcio divalente. En tales condiciones, la solubilidad de los gránulos alcanza 80% porque la fosvitina es una proteína soluble y el HDL se comporta como una proteína soluble

(Cook y Martin 1969; Daimer y Kulozik 2009). La disrupción total de los gránulos ocurre cuando la fuerza iónica alcanza 1.71M de NaCl. La acidificación o alcalinización de manera similar causa la disrupción de los gránulos y la solubilización de estos constituyentes incrementando el número de (NH_3^+) o (COO^-) , induciendo repulsión electrostática entre los componentes granulares (Huopalahti 2007).

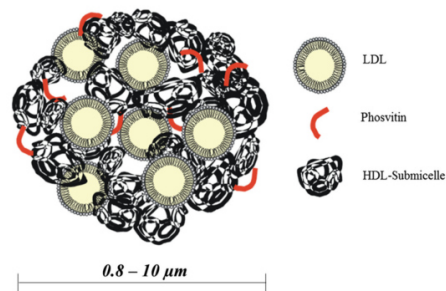


Figura 6. Modelo esquemático de los gránulos de la yema de huevo a pH 6.5 que consiste en submicelas de HDL unidas por fosvitina a través de puentes de fosfato de calcio y vesículas de LDL incrustadas (Strixner y Kulozik 2013).

2.5.2. Plasma

El plasma comprende 78% de la materia seca de yema y se compone de 85% de LDL y 15% de glicoproteínas, principalmente α -, β -, γ -livetinas (Burley y Cook 1961; Strixner y Kulozik 2013). Se forma la fase acuosa donde las partículas de yema están en suspensión. En él se encuentran aproximadamente el 90% de los lípidos de la yema (incluyendo casi todos los carotenoides) y 50% de las proteínas de las yemas. El plasma contiene aproximadamente 73% de lípidos, proteínas 25% y 2% de cenizas. Los lípidos del plasma se distribuyen en: 70% de triglicéridos, 25% de fosfolípidos y 5% de colesterol.

2.5.3. Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

Los LDL son partículas esféricas con un diámetro de 20 a 60 nm con un núcleo lipídico estabilizado por una capa externa de fosfolípidos y apoproteínas, llamadas lipovitelleninas (Strixner y Kulozik 2013). Las LDL son derivados de proteínas de suero sanguíneo materno que se sintetizan en el hígado de gallina, internalizado por el

crecimiento de ovocitos a través de receptores de endocitosis mediada, y parcialmente madurado a través de la proteólisis (Jolivet et al. 2006).

Los LDL son solubles en solución acuosa, cualquiera que sea el pH y condiciones iónicas. Los fosfolípidos son parte esencial en la estabilidad de la estructura LDL (Figura 7) porque las fuerzas de asociación son esencialmente hidrofóbicas (Burley 1975). Algo de colesterol está incluido en la película de fosfolípido aumentando su rigidez. LDL se compone de 11- 17% de proteína y 83 - 89% de lípidos, de los cuales 84% es lípido neutral y el 26% de fosfolípidos (Martin et al. 1964). Se compone de dos subgrupos: LDL₁ (10x10⁶ Da) y LDL₂ (3 x 10⁶ Da) (Martin et al. 1964). Las LDL son las principales proteínas de la yema que aportan la capacidad emulsificante, esto se debe a la interacción de las apoproteínas anfífilas y los fosfolípidos lo que permite el transporte de estos compuestos anfífilos insolubles a través de la fase acuosa hasta que se forma la interface. Las apoproteínas y los fosfolípidos disminuyen la tensión interfacial y evitan la ruptura de la interface.

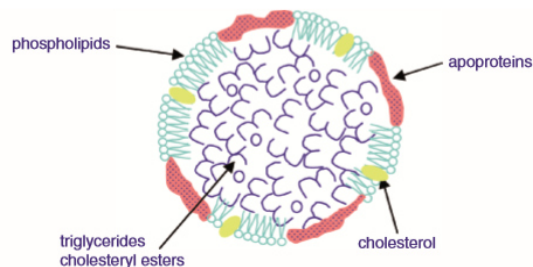


Figura 7. Representación esquemática de las LDL (Huopalahti et al 2007).

El punto isoeléctrico de todas las apoproteínas se encuentra entre 6.3 a 7.5 (Kojima y Nakamura 1985).

2.5.4. Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) de la sangre de gallina con los precursores de las LDL de la yema de huevo, y poseen un rango de tamaño de 80 a 350 nm, y se encuentran también presentes en el plasma (Huopalahti et al. 2007; Sirvente et al. 2007).

VLDL contienen principalmente dos apoproteínas: Apo-VLDL II y apo-B. Apo -VLDL II es la única apoproteína de las lipoproteínas de la sangre que son transferidas a la yema en grandes cantidades sin ninguna modificación y se llama entonces apovitellenina I (Jolivet et al. 2008). El peso molecular de Apo-B es de 500 kDa, es muy similar a la apolipoproteína humana B-100, un componente proteico principal de las LDL aterogénicas. La apolipoproteína B-100 humana tiene una estructura de pentapartita compuesta de tres dominios anfipáticos α -helicoidales alternando con dos anfipáticos β - plegada, NH_2 - α_1 - β_1 - α_2 - β_2 - α_3 - COOH . Durante su transferencia a la yema, la sangre de gallina la apo-B se elimina enzimáticamente por la catepsina D endógena, dando como resultado la producción de fragmentos de Apo-B. Estos fragmentos forman parte en la red de proteínas en la superficie de las LDL y ayudan a estabilizarlos (Jolivet et al. 2008).

Apo-VLDL II, llamada apovitellenina I en la yema es un homodímero pequeño con subunidades unidas por disulfuro, y su peso molecular es de 9 kDa (Huopalathi et al. 2007; Jolivet et al. 2008).

2.5.5. Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Es el segundo grupo de lipoproteínas en la yema y está localizada en los gránulos y está designada como lipovitelina, representa 36% proteínas de la yema. Su peso molecular es de 400 kDa y tienen un diámetro de 7 a 20 nm (Burley y Cook 1961). La HDL está conformada por dos monómeros de 200 kDa cada uno. Cada uno formado de una proteína globular estructurada conformada por una cavidad conformada por dos hojas β -plegadas, constituida por aminoácidos hidrofóbicos (Anderson et al. 1998). Las HDL están conformadas por dos grupos α y β HDL, a pH debajo de 7 ocurre una dimerización reversible, alcanzando un 50% a pH 10.5 y 7.8 respectivamente, los grupos sulfhidrilo y fósforo de las proteínas no están involucrados directamente en éstas reacciones.

Las HDL son acomplejadas con fosvitinas para formar estructuras granulares a través de puentes fosfocálcicos, ambas provienen del mismo precursor llamado vitellogenina (Wang et al. 1983).

2.5.6. Fosvitina

Es una fosfoglicoproteína con una elevada cantidad de fósforo por lo cual posee una fuerte afinidad por los metales, particularmente por el hierro. La fosvitina representa cerca del 11% de las proteínas de la yema. Está formada por los polipéptidos: α -fosvitina contiene tres o cuatro subunidades de 35 a 40 kDa, mientras que la β -fosvitina contiene cuatro o cinco subunidades de 45 kDa. El punto isoeléctrico de la fosvitina es a pH 4. Es la proteína más fosforilada con 50% de fosfoserinas induciendo una importante carga negativa de cerca de -179 mV. Forman numerosos bloques en el centro de la secuencia, pueden llevar hasta 15 residuos consecutivos, mientras que los extremos C-terminal y N-terminal son ricos en aminoácidos hidrofóbicos. Estas características limitan el plegamiento de la proteína que presenta una configuración alargada en solución acuosa debido a sus numerosas repulsiones electrostáticas internas. Su alta densidad de carga conduce a la agregación con HDL a través de puentes fosfocálcicos para formar gránulos en la yema de huevo (Anton 2013). Debido a su alta capacidad de carga y su capacidad de agregación, limita la adsorción de la proteína en la interfase aire-agua. En algunos estudios recientes (Belhomme et al. 2007; Belhomme 2008) se ha demostrado que la

fosvitina es capaz de anclarse en las interfases aire-agua a pesar de sus numerosas cargas negativas.

Debido a su carácter polianiónico la fosvitina posee una fuerte capacidad quelante (Huopalahti 2007). Las condiciones adecuadas para la fijación de hierro son pH 6.5 y una fuerza iónica de 0.15 M (Castellani et al. 2004).

2.5.7. Livetinas

Se encuentran en la fase soluble de la yema, se compone de inmunoglobulinas (γ -livetina), albúmina sérica (α -livetina) y glicoproteínas (β -livetina) y se sugiere que son constituyentes sanguíneos traslocados (Jolivet et al. 2008).

Livetin fraction (IgY)

Incluye α -livetina que es una albúmina, β -livetina cuyo principal componente es α -2-glicoproteína y la γ -livetina donde predomina la inmunoglobulina Y (IgY).

La α -livetina tiene un peso molecular de 70 kDa y su punto isoeléctrico entre 4.3 y 5.7 (Williams 1962). Está implicada en la alergia al huevo.

Beta livetina

Tiene un peso molecular de 45 kDa, está compuesta de 14.3% de nitrógeno y 7% de hexosa (Martín et al. 1957).

2.6. Sustancias biológicamente activas en el huevo

Se han encontrado compuestos con actividad biológica tanto en la yema como en la clara de huevo, con actividad antimicrobiana, antioxidante, inmunomoduladora y péptidos derivados de la proteína del huevo con actividad antihipertensiva (Laca et al. 2010).

La industria productora de huevo busca aprovechar sus diferentes fracciones para el desarrollo de nuevos productos con valor agregado.

Existen diferentes métodos para el fraccionamiento de la yema de huevo como: métodos por extracción con solventes orgánicos (Kwan et al. 1991; Sheumack y Burley 1988), métodos por calentamientos (Liot 2002) y extracción con fluidos supercríticos (Aro

2007). La separación a nivel industrial de los componentes de la yema de huevo sólo ha sido posible con los gránulos y el plasma (Anton et al. 2001).

2.7. El colesterol y sus efectos en la salud

El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas y los ácidos biliares, además de formar parte de la estructura de las membranas celulares (Morgan et al. 2016). El aumento del "colesterol malo" (LDL) tiene un impacto directo en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, debido a que se ha asociado un valor alto de éste en plasma formando la placa aterosclerótica, la cual origina ese tipo de enfermedades (Gould et al. 2007). El "colesterol bueno" (HDL), es transportado al hígado para su posterior eliminación, a través del intestino, representa la única forma de eliminar el exceso de colesterol del tejido periférico (Morgan et al. 2016). En el 2004 el National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATPIII) recomendó un objetivo de "colesterol malo" (LDL-C) de <70 mg/dL en pacientes con cardiopatía coronaria. En 2005 recomendó una ingesta diaria menor de 300 mg/dL de colesterol para adultos sanos y menos de 200 mg/dL de colesterol para personas con colesterol elevado (Virani et al. 2011).

En México las enfermedades cardiovasculares constituyen un problema importante de salud pública, además de dislipidemias (altos niveles de colesterol, triglicéridos o ambos) y obesidad (Secretaría de Salud 2001). En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012 se evaluaron a 38,208 personas adultas, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en México fue de 71.28%. La obesidad fue más alta en el sexo femenino (37.5%) que en el masculino (26.8%), en cuanto al sobrepeso el sexo masculino tuvo una prevalencia de 42.5% y el femenino de 35.9% (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012). Por lo anterior se buscan alimentos saludables libres de colesterol.

2.8. Métodos para reducir el colesterol presente en la yema de huevo

Muchos investigadores han trabajado en disminuir la cantidad de colesterol presente en la yema de huevo. Warren et al. (1998) usando solventes como hexano, para la extracción. El hexano forma una mezcla con los sólidos de la yema, requiere un proceso de filtrado, remover el solvente y secar por un tiempo prolongado. El proceso remueve cerca del 66% de colesterol. Borges et al. (1996) usaron una relación de 1:12 p/p (yema: acetona) a 100 rpm por 2 minutos a éstas condiciones se mantuvieron las propiedades emulsionantes; Paraskevopoulou et al. (1997) extrajeron colesterol de la yema con etanol-agua 20:80(v/v), y 1.5% (p/v) polisorbato 80 y homogenizar, después de eso la dispersión fue centrifugada y la yema precipitado tuvo 7.1 ± 0.3 mg de colesterol.

Laca et al. (2010) trabajaron con la extracción de los gránulos de yema de huevo. Para ello mezclaron la yema con agua (1:15 v/v), el pH se ajustó a 7 con 1N de NaOH y se mantuvo toda la noche a 4°C, antes de centrifugar a 10,000g por 45 minutos, y los gránulos tuvieron una concentración de 291mg de colesterol/100g de yema, equivalente a una reducción del 77% de colesterol. Jeong et al. (2014) el colesterol removido fue 25% unido a betaciclodextrinas a 40°C, 30 minutos de mezclado y separados por centrifugación. Chiu et al. (2004) empleó la inmovilización con β -ciclodextrina con quitosano (Ch-BCD) por enlace cruzado con 1,6 disocianato de hexametileno (HMDI) reactivo para absorber el colesterol de la yema. Éste método logró la remoción del 92% del colesterol presente en la yema. El colesterol fue removido usando 1%w/v Ch-BCD en una proporción 1:30 yema-agua en una mezcla de betaciclodextrinas con quitosano. Rojas, dos Reis Coimbra, Minim y Freitas (2007) usaron pectinas de alto metoxilo en una concentración de 3% p/p, fuerza iónica 0.39M y el pH igual a 9.2 y se obtuvo una reducción de 83.4% de colesterol. Hsieh et al. (1994) desarrollaron un complejo con la yema de huevo y la goma acacia usando concentraciones: 1%, 3%, 5% y 10% (p/p) con una extracción de colesterol de: 70,86,79 y 59% respectivamente.

Debido al alto contenido de colesterol en la yema es una desventaja, también se han estudiado proteínas vegetales como: la proteína de soya (Puppo et al. 2000; Diftis et al. 2005), proteína de chícharo (Franco et al. 2000) y proteína de trigo (Ghoush et al. 2008) para su aplicación como emulsionantes en alimentos.

2.9. Harinas vegetales

2.9.1. Harina de quinua

El consumo de la quinua data de 5,000 años. Posee un alto contenido de proteína y de una excelente calidad nutricional, debido a que presenta un elevado contenido de lisina y metionina entre los aminoácidos que la componen. Entre sus propiedades también es considerada libre de gluten, por lo que puede ser consumida por pacientes celíacos (Nowak 2016). Debido a su alto potencial nutritivo ha sido clasificada por la FAO como uno de los cultivos que puede contribuir a la seguridad alimentaria en el siglo 21 (FAO Regional Office for Latin America y PROINPA 2011). Estudios realizados en animales han reportado una actividad gastro protectora de las semillas de quinua (Schoenlechner et al. 2010; Stikic et al. 2012). Estos efectos se atribuyen al contenido de arabinosa presente en la fibra dietética de la quinua (Nascimento et al. 2014).

Entre los lípidos que la componen están los ácidos grasos insaturados (ácidos linoleico y linolénico), así como vitaminas (folato y tocoferoles), minerales (hierro, cobre, manganeso y potasio) y otros fitoquímicos como (ácidos fenólicos y flavonoides como el kaempferol y la quercetina). El contenido de proteína varía de 14 a 18%, dentro de los aminoácidos esenciales se encuentra la metionina (4-10g/kg de materia seca) y de lisina (51-64 g/kg de materia seca) (Gorinstein et al. 2002; Bhargava et al. 2007). Los lípidos presentes en la semilla de quinua representan de 4.4 a 8.8%, siendo el de mayor contenido dentro del grupo de los cereales (Wang y Zhu 2016). Entre el 55-63% de los ácidos grasos son insaturados, y dentro de estos el ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1 n-9) y ácido linoleico (C18:2 n-6) son los de mayor presencia (Calderelli et al. 2010).

2.9.2. Harina de amaranto

Es un pseudocereal, producido en Perú y Argentina principalmente, pero también en México (Cornejo 2007). Sus semillas poseen 14-19% de proteínas de almacenamiento, y éstas presentan lisina y metionina de forma dominante, los cuales son aminoácidos limitantes en cereales y leguminosas, respectivamente (Salcedo et al. 2002). Las mayores fracciones de proteína presentes en la semilla de amaranto son: albúmina, 7S globulina, 11S- globulina, globulina-P y glutelina (Condés et al. 2009).

2.9.3. Harina de chícharo

El chícharo (*Pisum sativum*) se encuentra ampliamente distribuido en muchas partes del mundo y es considerado como una de las leguminosas más importantes. Es una fuente importante de proteína (Nalle et al. 2010). Los granos de leguminosas son una fuente importante de proteína (18-25% base seca) y carbohidratos (50-60%, base seca), almidón (22.45%, base seca), fibra dietética y una pequeña cantidad de oligosacáridos (Hemeda y Mohamed 2012), así como vitaminas y minerales (Han et al. 2010).

La proteína de chícharo ha sido usada como emulsionante en emulsiones líquidas (Amine et al. 2014; Barac et al. 2012) y como emulsionante en emulsiones secadas por aspersión para la microencapsulación de aceite (Aberkane et al. 2014; Gharsallaoui et al. 2012).

2.10. Inestabilidad en emulsiones

Las interacciones proteína-polisacárido juegan un papel importante en el control de la estructura, textura y estabilidad de sistemas alimenticios. Para controlar estas interacciones y obtener propiedades funcionales deseables se requiere el entender los factores que afectan las interacciones proteína-polisacárido. La naturaleza de estas interacciones puede conducir a un comportamiento de fases segregativo o agregativo, dependiendo de las características del biopolímero (densidad de carga, tipo y distribución de los grupos reactivos, tamaño), concentración de biopolímero, y condiciones del solvente (pH, temperatura y fuerza iónica). En general una separación de fases ocurre cuando ambos proteína y polisacárido poseen carga similar. Un comportamiento asociativo de fases (también conocido como coacervación compleja) típicamente ocurre como atracción electrostática entre proteínas y/o polisacáridos con carga opuesta, llevando a una separación de biopolímero y solvente. Durante la formación del coacervado complejo, ambas la entropía conformacional de los biopolímeros y la entropía asociada con la mezcla del solvente se reduce, lo que permite la liberación de agua y contraiones durante la complejación, lo que conduce a la estabilidad del coacervado (Liu et al. 2009). Las proteínas constituyen un importante grupo de agentes emulsionantes usados en alimentos por sus propiedades de superficie activa, las cuales son una consecuencia de su conformación. Su solubilidad e

hidrofobicidad son los factores que determinan en mayor parte su actividad emulsionante, mientras que la flexibilidad molecular de las proteínas es importante para la estabilidad de la emulsión. Los polisacáridos son comúnmente usados para mejorar la estabilidad de las emulsiones alimenticias. Los polisacáridos solubles en agua, a menudo llamados gomas o hidrocoloides, poseen poca actividad superficial. Los hidrocoloides estabilizan la emulsión mediante el aumento de la viscosidad de la fase continua. En consecuencia, las colisiones entre las gotas de la fase dispersa son menos frecuentes, lo que retrasa la separación de las fases (Soares et al. 2009). Las interacciones proteína-polisacárido se han estudiado ampliamente porque aparecen en la mayoría de los sistemas alimenticios. Muchos estudios han reportado que la interacción sinérgica ocurre en alimentos emulsionados y la estabilidad de la emulsión se favorece cuando se mezclan proteínas con polisacáridos. Las proteínas son los tensoactivos naturales poliméricos y típicamente forman una capa primaria adsorbida en la interfase aceite-agua, mientras que, los polisacáridos hidrófilos pueden formar una capa secundaria gruesa, que mejora las propiedades de estabilización estérica en el exterior de las gotas recubiertas con proteína (Soares et al. 2009). Fuertes complejos electrostáticos atractivos son formados con mezclas de proteínas cargadas positivamente ($\text{pH} < \text{pI}$) y polisacáridos cargados negativamente. Complejos débiles se tienden a formar entre polisacáridos aniónicos y proteínas con carga neta zero ($\text{pH} \approx \text{pI}$) o carga neta negativa ($\text{pH} > \text{pI}$). Así el ajuste del pH y/o fuerza iónica de la fase acuosa, la fuerza de las interacciones proteína-polisacárido puede variar substancialmente (Rodríguez y Pilosof 2011). Se han empleado proteínas vegetales como: lenteja (Karaca et al. 2011), proteína de chícharo en emulsiones o/w (Karaca et al. 2011), y por otro lado se ha demostrado que la proteína de chíca posee una excelente capacidad de retención de aceite ($\text{OHC} = 4.04\text{g/g}$) por lo que puede ser usada como ingrediente funcional en las emulsiones alimenticias (Olivos et al. 2010). Por otro lado se han elaborado emulsiones empleando gránulos de yema de huevo en la elaboración de mayonesas bajas en colesterol, las cuales mostraron características similares a la mayonesa comercial (Laca et al. 2010). También se han elaborado emulsiones con gránulos de yema de huevo y goma guar (0.05% w/v) (Alben y Ibanoglu 2010).

Se ha estudiado el efecto de la interacción entre la goma arábica y la proteína de soya para estabilizar emulsiones o/w (Wang et al. 2011), así como la interacción entre la proteína de chícharo con la goma arábica mediante los efectos del pH, sal y de la relación de biopolímero empleada en la mezcla en la formación de complejos solubles e insolubles (Liu 2009). Se han obtenido coacervados empleando la mezcla de goma arábica y proteína de chícharo a pH 3.5 disminuyendo la tensión interfacial en la interfase o/w al ser comparada con la proteína sola (Rodríguez y Pilosof 2011).

2.11. Propiedades interfaciales y su caracterización

La región interfacial es la que rodea a cada gota de la emulsión y contiene una mezcla de aceite, agua y agentes de superficie activa (Hunter 1986). Esta región desempeña un papel determinante en muchas de las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de las emulsiones de alimentos.

La composición y estructura de la región interfacial se determina por el tipo y la concentración de tensoactivos presentes en el sistema antes de la formación de la emulsión, así como por los eventos que se producen durante y después de la formación de la emulsión, por ejemplo: la adsorción competitiva y de desplazamiento.

La región interfacial es donde los agentes de superficie activa se acumulan, lo que puede conducir a la aceleración de reacciones de oxidación, ya sea por el aumento de la concentración local de moléculas o por unir diferentes especies reactivas (McClements y Decker 2000).

Las características interfaciales que son las más importantes en la determinación de las propiedades globales las emulsiones alimenticias son:

Composición interfacial: El tipo y concentración de sustancias tensoactivas presentes en una interfaz tiene una fuerte influencia en la energía libre del sistema, estructura, dimensiones, características eléctricas y reología, y por lo tanto desempeña un papel importante en las propiedades de la emulsión.

Propiedades eléctricas interfaciales: Las características eléctricas de la interfase (por ejemplo: densidad de carga de la superficie, y el potencial de la superficie) juegan un papel importante en la determinación de la magnitud y el alcance de las interacciones

electrostáticas entre las gotas de la emulsión, además de influir en la adsorción de los iones en la superficie de la gota).

Carga eléctrica de la gota: Otra propiedad que define las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de las emulsiones alimenticias es la magnitud y signo de las cargas eléctricas de las gotas. El origen de esta carga es normalmente la adsorción de moléculas de emulsionantes que son ionizados o ionizables. Las proteínas pueden ser neutras, cargadas positivamente o negativamente, dependiendo del pH de la solución en comparación con su punto isoeléctrico. Los polisacáridos de superficie activa también pueden tener carga eléctrica dependiendo de los grupos funcionales presentes en su estructura. Como resultado de todo lo anterior, las gotas de la emulsión pueden tener carga eléctrica dependiendo del tipo de moléculas de superficie activa presentes y el pH de la fase acuosa. La carga eléctrica de las gotas se puede determinar mediante el potencial zeta (ζ) (Hunter 1986).

Potencial zeta

La potencial zeta (ζ) es el potencial de superficie efectivo de la gota suspendida en un medio, que toma en cuenta que las especies cargadas en el medio circundante se pueden unir a la superficie de la gota y alterar su carga neta. La carga de las gotas es importante porque determina la naturaleza de las interacciones con otras especies cargadas. El origen de la carga eléctrica de las gotas es normalmente la adsorción de las moléculas del emulsionante que son aniónicas o iónicas. La potencial zeta es una medida de la estabilidad de una partícula e indica el potencial que se requiere para penetrar la capa de iones circundante en la partícula para desestabilizarla. Por lo tanto, el potencial zeta es la potencia electrostática que existe entre la separación de las capas que rodean a la partícula (McClements 2005).

3. JUSTIFICACION

La industria alimentaria ha desarrollado en México un importante campo de investigación y producción en materia de emulsiones, los aderezos ocupan un lugar especial en el renglón de consumo, en virtud de sus cualidades para condimentar y resaltar el sabor de los alimentos.

Es de interés para esta industria reducir la cantidad de yema de huevo empleada para la elaboración de este tipo de productos ya que al disminuirla bajará el contenido de colesterol que en exceso puede contribuir al desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

Por lo que en este proyecto se diseñaron membranas interfaciales con la innovación del empleo de harinas vegetales en sustitución a la yema de huevo, con lo que se busca contribuir con la industria para el desarrollo de este tipo de productos.

4. HIPOTESIS

“El uso de harinas de origen vegetal y biopolímeros permite diseñar la membrana interfacial para sustituir total o parcialmente la yema de huevo obteniendo formulaciones con alta estabilidad sin detrimento en la aceptación sensorial”

5. OBJETIVO DEL TRABAJO

Objetivo General

Diseñar la membrana interfacial que permita producir aderezos de alta estabilidad, con bajo contenido en colesterol, empleando biopolímeros que brinden estabilidad fisicoquímica.

Objetivos específicos

- Implementar métodos para cuantificar y reducir el colesterol (solventes, separación de gránulos de yema de huevo, y uso de biopolímeros).
- Desarrollar emulsiones con alto contenido de aceite, sin colesterol sustituyendo la yema de huevo por harina de origen vegetal.
- Desarrollar emulsiones reducidas en grasa utilizando almidón modificado.
- Analizar sensoralmente las mejores formulaciones desarrolladas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materia prima

Para la realización de este estudio se empleó huevo comprado en un mercado local (Monterrey, México), marca "El dorado". La membrana vitelina fue cortada con un escarpelo y el contenido de la yema fue recolectado en vaso de vidrio. La yema se mezcló suavemente agitando con una varilla de vidrio. La solución fue mantenida a 4°C en refrigeración a pH 7. La goma arábica y goma de mezquite fueron obtenidas como lágrima y purificadas de acuerdo al método de (Beristain et al 1996) de Natural Products of México. Cloruro de sodio, acetona, alcohol etílico al 96% y hexano grado reactivo fueron comprados con Desarrollo de Especialidades Química (DEQ), el estándar de colesterol fue adquirido con Sigma-Aldrich Chemical (Toluca, México). Las harinas vegetales (chícharo, quinoa, amaranto) fueron muestras donadas por la empresa FXM (Monterrey, México). El camote (*Ipomoea batata*) fue adquirido en un mercado local (Monterrey, México).

6.2 Reducción de colesterol en la yema

La yema de huevo fue tratada con cuatro métodos para reducir el contenido de colesterol. El primero fue una separación física de los gránulos contenidos en la yema (N_{AG}) usando soluciones salinas acuosas y la fuerza centrífuga, los otros dos consistieron en la separación de colesterol usando complejos con biopolímeros: goma arábica (AG) y goma de mezquite (MG), y el cuarto usando acetona como solvente (S_A).

6.2.1 Extracción de gránulos de yema

El colesterol fue removido usando el método de Strixner and Kulozik (2013). Se pesaron 8.5 g de yema de huevo, y fueron mezclados con 11.4 g de NaCl al 0.15M a 25°C, después la mezcla fue agitada vigorosamente en vortex. El contenido fue centrifugado (Harmle Labnet Z326, Wehingen, Germany) a 10,000 g por 45 minutos a 25°C. Finalmente la proteína fue separada cuidadosamente de la fracción acuosa por

decantación. El producto obtenido fue liofilizado y almacenado a -20°C hasta su análisis por cromatografía de gases.

6.2.2 Complejo de polisacáridos aniónicos con yema

La formación de complejos fue obtenida en base a la metodología U.S. Patent 5302405 (1994). Las soluciones stock fueron preparadas a 1% ($\text{AG}_{1\%}$), 3% ($\text{AG}_{3\%}$), y 10% ($\text{AG}_{10\%}$) de goma arábica, y 1% ($\text{MG}_{1\%}$), 3% ($\text{MG}_{3\%}$) y 10% ($\text{MG}_{10\%}$) de goma de mezquite, respectivamente, fueron mantenidos en agitación toda la noche. Todas las soluciones fueron peso/peso (p/p) y todos los experimentos fueron realizados por separado.

Posteriormente se mezclaron 3 g de yema con 1 g de solución de goma (las concentraciones mencionadas arriba), y se añadieron 4 g de agua. La solución fue mezclada por 1 minuto en vortex (Mixer Labnet International, NJ, EUA) y centrifugada (Hermle Labnet Z326, Wehingen, Germany) a 6,000g por 15 minutos a 25°C . Después se decantó y se agregaron 0.5 g de solución a 0.9M de NaCl y se mezcló 1 minuto en vortex. A continuación, se agregaron 6 g de etanol y se centrifugaron a 6,000 g por 15 minutos, en ésta parte del proceso, lípidos y colesterol son separados del precipitado para obtener complejos de proteína, después de eso la solución se decantó y 6 g de etanol fueron agregados nuevamente en la misma relación, finalmente la solución se decantó y se pesó el precipitado (U.S. Patent 5302405). Las muestras fueron liofilizadas y almacenadas a -20°C hasta su análisis por Cromatografía de gases.

6.2.3 Extracción con solventes

La extracción de colesterol con solventes (S_A) fue realizada usando el método descrito por Borges et al. (1996) usando una relación (w/w) 1:12 (yema: acetona), y mezclando a 100 rpm por 2 minutos en la propela (IKA Eurostar 60 digital, Wilmington, Estados Unidos de América), se dejó reposar 10 minutos. El solvente fue decantado y el precipitado fue recuperado y lavado con agua. Las muestras fueron liofilizadas y almacenadas a -20°C hasta su análisis por Cromatografía de gases.

6.3 Caracterización

de fisicoquímica y microestructural

6.3.1 Cuantificación de colesterol por Cromatografía Gases

El método 26.052 of AOAC fue usado. Primero para la hidrólisis ácida, 0.2 g de muestra fueron pesados y mezclados con 2 ml de metanol con H₂SO₄ al 7% v/v. Después, las muestras fueron calentadas por 90 minutos a 80°C, posteriormente las muestras fueron atemperadas a 25 °C. Se agregaron 3ml de hexano y fueron mezclados 1 minuto en el vortex (Mixer Labnet International, Inc.). La solución se dejó reposar hasta la formación de dos fases. La fase de arriba fue recuperada, esto fue hecho dos veces y las muestras se aforaron en un matraz de 10 ml con hexano. Finalmente la muestra fue analizada en Cromatógrafo de gases (7890B Agilent Technologies, Alemania) acoplado a un espectrómetro de masas (5977A Agilent Technologies, Alemania) y equipada con a HP 5MS columna capilar (longitud: 30m; ID: 0.25 mm; espesor de la película 0.25µm). La muestra inyectada fue 1 microlitro en modo split. Las condiciones de la columna fueron: temperatura de la columna 70 °C, mantenida por 1 minuto, después la temperatura de 200 °C fue alcanzada con una rampa de temperatura de 10 °C/ min, ésta temperatura fue mantenida por 2 minutos, una segunda rampa de temperatura 10 °C/min a 300 °C fue mantenida por 7 minutos, el inyector de temperatura fue 250 °C y la temperatura de la superficie del ion fuente y cuadropolo fue 230 y 150 °C respectivamente, el flujo del gas acarreador helio fue 1ml/min. El tipo de ionización con un impacto de electrones fue de 70 eV y el modo de adquisición de escaneo con un rango de 30 a 400 uma. La curva de calibración fue elaborada con un estándar de colesterol de 20 a 120 ppm. Los análisis fueron realizados por triplicado.

6.3.2 Determinación de miliequivalentes

Se determinó el punto de equivalencia de las soluciones de polisacáridos. Se pesaron muestras individuales de 10 g (yema de huevo, goma arábiga y goma de mezquite) luego se agregaron 90 g de agua (p/p), y se mezclaron por 20 minutos. Se usaron 50 ml de

éstas soluciones para determinar el número de equivalentes químicos de las macromoléculas conjugadas utilizadas. El punto de equivalencia de la yema, goma arábiga y goma de mezquite fue determinado por la curva de titulación potenciométrica. Las titulaciones fueron realizadas agregando 0.5 ml de NaOH al 0.08 N para que la muestra esté en un rango de pH 3 a 11, y con agitación constante. Las soluciones se mantuvieron durante 60 s se permitió un tiempo de equilibrio entre dos dosis, y se aseguró de que la reacción alcanzara el equilibrio (Espinosa-Andrews et al. 2010). Los valores resultantes se registraron utilizando un medidor de pH (Hana instrumentos pH 211 Microprocesador pH Meter, USA).

6.3.3 Capacidad emulsionante

El emulsionante fue mezclado en una concentración de 10% (productos de los métodos Na_G, S_A, AG_{3%} y MG_{3%} muestras con alto rendimiento) con sal (1.59%), azúcar (1.06%) y agua (11%). Después el vinagre (3.17%) fue agregado y mantenido en agitación constante a 300 rpm en el agitador (IKA Eurostar 60 digital, Wilmington, Estados Unidos de América). La prueba termina cuando no es posible integrar más aceite y se observa una capa del mismo en la superficie (McClements 2005). Los valores se estimaron en porcentaje de aceite emulsionado.

6.3.4 Capacidad gelificante

Se prepararon soluciones al 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16% w/v de cada muestra (Na_G, S_A, AG_{3%} y MG_{3%}). Posteriormente se calentaron por 1 hora en baño de agua a 100 °C, y después de ese tiempo se enfriaron con agua. Posteriormente se colocaron en refrigeración a 6 °C por 2 horas. Finalmente se invirtieron los tubos de prueba, se observaron y se registraron los resultados de acuerdo a la Tabla 3 (Siddiq et al. 2010).

Tabla 3. Interpretación de resultados de capacidad gelificante.

Resultados	Interpretación
+	La muestra se desliza por las paredes del tubo. Gelificación completa
-	La muestra no se desliza por las paredes del tubo. No hay gelificación
<u>±</u>	Gelificación irregular

6.3.5 Análisis microestructural

La topología se analizó empleando microscopía electrónica de barrido (SEM) con la metodología reportada por Valverde et al. (2016). Las muestras fueron analizadas empleando microscopía electrónica de barrido (SEM) y fueron fijadas en 3% de glutaraldehído en 25 mM de buffer de fosfatos. Después de eso, la muestra fue deshidratada en soluciones de etanol al 20, 40, 60, 80 y 100%, y soluciones de acetona 20, 40, 60, 80 y 100%. Finalmente fueron deshidratadas en un desecador al vacío. Los fragmentos de las fracciones secas fueron colocados en tiras de aluminio SEM y se recubieron con oro-paladio. El microscopio utilizado fue JEOL JSM-6490LV (JEOL, Tokyo, Japan), empleando un voltaje de 5 kV.

6.4 Elaboración de emulsiones sin utilizar yema de huevo empleando harinas vegetales.

6.4.1 Análisis bromatológico de las harinas

Se analizó el contenido de humedad, proteína, grasa, cenizas y fibra cruda de acuerdo con los métodos AOAC 934.06, 920.152, 945.16, 940.26 y 962.09, respectivamente a las harinas de quinoa, amaranto y chícharo (AOAC 1998).

6.4.2 Capacidad emulsionante de harinas

El emulsionante fue mezclado en una concentración de 10% (harinas de quinoa, amaranto y chícharo) con sal (1.59%), azúcar (1.06%) y agua (11%). Después el vinagre (3.17%) fue agregado y mantenido en agitación constante a 300 rpm en el agitador (IKA Eurostar 60 digital). La prueba termina cuando no es posible integrar más aceite y se observa una capa del mismo en la superficie (McClements 2005). Los valores se estimaron en porcentaje de aceite emulsionado.

6.4.3 Elaboración de emulsiones empleando harinas

Primero se mezclaron los emulsionantes (yema ó harina vegetal) en la propela IKA Eurostar 60 digital (Wilmington, Estados Unidos de América) a 500 rpm con agua, posteriormente se agregaron: goma xantana, azúcar, vinagre y sal, y finalmente se agregó el aceite a flujo constante. La mezcla se homogenizó en el equipo IKA T50 digital Ultra Turrax (Wilmington, Estados Unidos de América) por 2 minutos a 3,000 rpm y 3 minutos a 5,000 rpm. Las formulaciones se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Formulaciones de aderezos sin yema de huevo.

Ingredientes	ADCtrl	ADQuinoa	ADamaranto	ADChícharo
Agua	27.31	27.31	27.31	27.31
Yema de huevo	3	-----	-----	-----
Harina de quinoa	-----	3	-----	-----
Harina de amaranto	-----	-----	3	-----
Harina de chícharo	-----	-----	-----	3
Aceite	50	50	50	50
Goma xantana	0.292	0.292	0.292	0.292
Vinagre	11.5	11.5	11.5	11.5
Sal	1.15	1.15	1.15	1.15
Azúcar	5.75	5.75	5.75	5.75
TOTAL	100	100	100	100

AD Ctrl=Aderezo control, AD Quinoa= Aderezo de quinoa, AD Amaranto= AD Amaranto, AD Chícharo= Aderezo de chícharo.

6.4.4 Estabilidad física

Tasa de coalescencia

La distribución del tamaño de partícula de las emulsiones, fue monitoreada con el equipo Malvern Mastersizer 3000 (Malvern Instruments, Ltd, Worcestershire, UK) usando la unidad Hydro LV con agua como dispersante. Los datos de intensidad de dispersión angular del analizador para calcular el tamaño de las partículas que crean el patrón de dispersión utilizando la teoría de Mie de la dispersión de la luz. El software

calcula la distribución de partículas de tamaño [D (3,2)]. Las propiedades ópticas de la muestra fueron definidas como sigue: índice de refracción 1.460 y de absorción 0.100.

La tasa de coalescencia presenta una cinética de primer orden (Sherman 1969; Ye et al. 2004) y se expresa con la fórmula:

$$\frac{N_t}{N_0} = e^{-K_c t}$$

Donde: N_t es la concentración en número de gotas al tiempo t , N_0 es la concentración en número de las gotas recién formadas (tiempo=0), y K_c es la constante de velocidad, que está relacionada con la probabilidad de que la película interfacial se rompa en el tiempo t (Sherman 1969). El volumen de las gotas de la emulsión permanece constante cuando no hay liberación de aceite en la emulsión. La relación entre el número de gotas de la emulsión, N , y el diámetro de gota promedio medido en volumen, d_{30} , está dado por:

$$\frac{4}{3}\pi \left(\frac{d_{30}}{2}\right)^2 N = \text{constante}$$

El número relativo de gotas de emulsión puede obtenerse con la siguiente expresión (Sherman 1969; Ye et al. 2004).

$$\frac{N_t}{N_0} = \left[\frac{(d_{30_{t=0}})}{(d_{30_{t=t}})} \right]^3$$

Si la gráfica $\ln(N_t/N_0)$ vs t para la emulsión da una línea recta, entonces la pendiente es K_c .

Índice de cremado

Las emulsiones se almacenaron en tubos de ensayo, llenando hasta 8 cm cada uno y se monitoreó ésta altura durante un mes. Este ensayo permite ver de manera visual el comportamiento de la emulsión con el tiempo de almacenamiento. Para calcularlo se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de cremado} = (H_1/H_3) * 100$$

Donde:

H_1 : Altura de capa opaca

H_3 : Altura total

La emulsión más estable es la más cercano a cero.

6.4.5 Potencial zeta

El potencial zeta se determinó usando un equipo de dispersión de luz electroforética Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Ltd, Worcestershire, Reino Unido). Las mediciones se llevaron a cabo utilizando una dip cell (ZEN1002, Malvern Instrument) a 25°C usando las soluciones diluidas. El potencial zeta es relacionado con la velocidad que las gotas de la emulsión migran a través del campo electroforético. El software convierte las mediciones de movilidad electroforética en valores de potencial zeta usando el modelo de Smoluchowsky. El potencial zeta de las soluciones de yema de huevo/soluciones de polisacáridos a diferentes pH fue medido con el método de Navidghasemizad et al. (2015). Se diluyeron 0.1g de muestra a un volumen final de 20 ml usando agua destilada y el pH fue ajustado a valores de 2 ,3 ,4 ,5 ,6 ,7 ,8 ,9 y 10 usando 0.1M de HCl o 0.1M de NaOH para ajustar el pH. El potencial zeta se calculó a partir del promedio de tres mediciones en la emulsión diluida, y los resultados se reportaron como la media y la desviación estándar (Onsaard et al. 2006).

6.4.6 Curvas de flujo de emulsiones

Se obtuvieron las curvas de flujo y la viscosidad de las emulsiones desarrolladas comparándolas con un aderezo comercial (marca McCormick) en función de la tasa de corte (1 a 100 s⁻¹) utilizando una prueba rotacional con un reómetro ReolabQC y una geometría CC27 a una temperatura de 25°C.

6.4.7 Análisis sensorial

Prueba de ordenamiento

Se realizó una **prueba de ordenamiento** tipo afectiva para conocer la preferencia de las muestras de aderezo de amaranto, chícharo y quinoa, a un panel no entrenado de 59 jueces en el Laboratorio de Alimentos de la FCB donde se cuenta con una buena iluminación y se minimizó la influencia de estímulos externos en los juicios emitidos. El panel estuvo conformado por 32% hombres y 68% mujeres entre 19 – 24 años de edad alumnos de esta misma Facultad. Se pidió a los jueces que calificaran las muestras codificadas de acuerdo a su sabor, siendo 1 el aderezo preferido, 2 intermedio y el 3 como el menos preferido, teniendo así el aderezo de mayor preferencia menor puntuación y el de menor preferencia una mayor puntuación.

Prueba de nivel de agrado

Se realizó una prueba afectiva de nivel de agrado, para medir el grado de satisfacción de las tres muestras evaluadas en la prueba de ordenamiento, a un panel no entrenado de 81 jueces en el Laboratorio de Alimentos de la FCB, la edad promedio de los jueces fue de 19 a 21 años dentro de los cuales fueron el 35% hombres y 65% mujeres. Cada juez evaluó el aspecto, olor, sabor y textura para cada muestra en una recta de 10 cm para cada atributo, cuyos extremos se etiquetaron con “No me gusta nada” y “me gusta mucho”. Las muestras fueron codificadas de la siguiente manera: 198 (aderezo de quinoa), 427 (aderezo de chícharo) y 350 (aderezo de amaranto), el orden de presentación de las mismas fue balanceado y presentado en vasos desechables de 25 ml transparentes y como acarreador galletas saladas.

6. 5 Elaboración de aderezos reducidos en grasa utilizando almidón de camote

6.5.1 Extracción y caracterización del almidón de camote

Para la extracción del almidón se utilizó camote (*Ipomoea batatas*) (Figura 8) el cual se lavó, peló y posteriormente se cortó en cubos, para después mezclar con tres volúmenes de agua destilada y se virtió en una licuadora (Osterizer, Mexico®) por 5 min a máxima velocidad, a continuación la suspensión se centrifugó a 1,500 rpm/ 5 min y después se decantó, el residuo sobrante se volvió a licuar con dos volúmenes de agua y posteriormente se dejó reposar 60min y se decantó, el sedimento se volvió a licuar durante un minuto a máxima velocidad para después dejar reposar 60min. Posteriormente el sedimento se filtró a través de un tamiz (Manitox, Mexico®) de 105µm de apertura de malla. Los sólidos remanes fueron eliminados y el filtrado se lavó hasta que el agua del lavado estuvo translúcida, lo cual indicó que el almidón fue extraído. Posteriormente la fracción con almidón se secó en una estufa (Riossa Digital, México®) a 40°C por 24 h y después fue almacenado en contenedores de color ámbar (Ganga y Corke 1999).



Figura 8. Camote (*Ipomoea batatas*)

6.5.2 Análisis bromatológico

Se analizó el contenido de humedad, proteína, grasa, cenizas y fibra cruda de acuerdo con los métodos AOAC 934.06, 920.152, 945.16, 940.26 y 962.09, respectivamente al almidón de camote (AOAC 1998).

6.5.3 Caracterización térmica

La determinación de las temperaturas y entalpía de gelatinización se realizaron mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), de acuerdo con el método de Hernández et al, (2008). Esto se realizó en un equipo TA Instruments (DSC Q-2000, Crawley, UK) 2mg de muestra se colocaron en las celdas de aluminio para DSC, y se les adicionó 10 μ L de agua destilada, las celdas se sellaron y se mantuvieron en equilibrio por 1 h. Posteriormente se sometieron a un barrido con una velocidad de calentamiento de 10°C/min, desde 30 a 120°C. Una celda vacía se usó como referencia para todas las mediciones. Como resultado se obtuvieron los termogramas en los cuales se observa una gráfica del flujo de calor (eje Y) contra la temperatura (eje X), estos se analizaron con el software Universal Analysis, para obtener la temperatura pico de gelatinización (T_p) y la entalpía de gelatinización (ΔH).

6.5.4 Gelatinización del almidón de camote

Al aumentar la temperatura del almidón en presencia de agua sufre un proceso que se llama gelatinización, es la disrupción del orden molecular dentro del gránulo, el incremento del gránulo normalmente es un 9.1%. Este método es basado en la temperatura de gelatinización del almidón de camote teóricamente, la cual abarca un intervalo entre 70-78°C (Hernández et al. 2008). El almidón en presencia de agua será calentado hasta lograr tener una apariencia de gel, la cual debe estar dentro del intervalo antes mencionado, posteriormente será enfriado y utilizado para formar la emulsión.

6.5.5 Formulaciones de emulsiones reducidas en grasa

Primero se calentó el almidón con el agua a 78°C para formar el gel, posteriormente en la propela IKA Eurostar 60 digital se agregaron el complejo reducido en colesterol de yema:goma de mezquite, GM_{3%}, azúcar, vinagre y sal, se mezclaron a 500 rpm y finalmente se agregó el aceite a flujo constante. La mezcla se homogenizó en el equipo IKA T50 digital UltraTurrax por 2 min a 3,000 rpm y 3 min a 5,000 rpm. Las formulaciones se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Formulaciones de aderezos con almidón de camote

Ingredientes	F1	F2	F3	F4
Agua	38.4	36.4	36.7	38.7
Complejo GM_{3%}	4	4	4	4
Aceite	45	45	45	45
Almidón	2	4	4	2
Vinagre	4.7	4.7	4.7	4.7
Sal	1.4	1.4	1.4	1.4
Azúcar	4.2	4.2	4.2	4.2
Goma xantana	0.3	0.3	0	0
TOTAL	100	100	100	100

6.5.6 Estabilidad física

Se realizaron los análisis de índice de cremado y la medición de la tasa de coalescencia como se describe en las secciones: 6.4.4 para las emulsiones elaboradas con harinas vegetales.

6.5.7 Curvas de flujo

Se realizaron las curvas de flujo como se describe en la sección 6.4.5 para las emulsiones desarrolladas comparándolas con un aderezo comercial (Hellmann's light) elaboradas con harinas vegetales.

6.5.8 Análisis sensorial

Prueba definitiva

Se realizó la prueba de nivel de agrado como se menciona en la sección 6.4.7, añadiendo la muestra 609 (aderezo con almidón de camote). Los resultados de la prueba hedónica se analizaron mediante ANOVA y como post-anova se empleó la prueba de Tukey, con un $\alpha= 0.05$. Los atributos evaluados fueron: aspecto, olor, sabor y textura.

6.6 Análisis estadístico

Todas las mediciones fueron realizadas por triplicado usando análisis ANOVA con un valor de confianza del 95% ($p<0.05$) usando un software SPSS 20. Para determinar la significancia estadística, para analizar las diferencias entre los valores se utilizó un análisis de varianza de una sola vía y la prueba de Tukey.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1.1 Reducción de colesterol en la yema

Se cuantificó la reducción de colesterol obtenida por los diferentes tratamientos, encontrando que existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos. En orden de porcentaje de reducción de colesterol de los diferentes métodos usados para remover el colesterol de menor a mayor fueron: $Na_G < S_A < AG < MG$, los cuales se presentan en la Tabla 6. El colesterol eliminado con el método Na_G fue de 51.43%, la ventaja reportada por los autores es que el método Na_G con disolvente iónico contiene una menor cantidad de fosfolípidos que la yema. La remoción de colesterol con el método Na_G fue de 25.5% menos que lo reportado por Laca et al. (2010).

Tabla 6. Remoción de colesterol

Método	% de remoción de colesterol
Na_G	51.43 ± 1.86^e
$AG_{1\%}$	93.26 ± 0.55^{ab}
$AG_{3\%}$	83.85 ± 3.80^c
$AG_{10\%}$	89.93 ± 2.31^b
$MG_{1\%}$	97.24 ± 1.81^a
$MG_{3\%}$	96.68 ± 1.01^a
$MG_{10\%}$	96.60 ± 2.04^a
S_A	64.15 ± 1.29^d

Nota: Diferentes letras dentro de la columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

El método S_A en el cual el colesterol fue removido con acetona, lo disminuyó a un 64.15%, Warren et al. (1988) usó hexano y removió un 65.77% de colesterol y Froning et al. (1990) usó dióxido de carbono supercrítico a 306 atm/45°C y redujo 34.45%. Su et al. (2015) usó un método para el fraccionamiento de los fosfolípidos de la yema, triacilglicerol y colesterol combinándolos con la extracción de etanol, baja temperatura de cristalización y atrapamiento con β -CD, juntos removieron un 94.22% de colesterol,

es un método que tiene un largo proceso y toma tiempo. En el método Na_G el pH fue de 6.7 y redujo 51.43%, Laca et al. (2010) redujeron 76.91% y Borges et al. (1996) lo removieron en valores de 62.2% y 65.7%. Los cuales son valores similares a los obtenidos en esta investigación.

En el método usando goma arábica AG_{1%}, AG_{3%}, AG_{10%}, la remoción de colesterol fue 93.26%, 83.85% y 89.93%, respectivamente. La estructura de la goma arábica es un heteropolosacárido ramificado compuesto de D-galactosa (~40%), L-arabinosa (~24%), L-ramnosa (~13%) y dos ácidos urónicos responsables de la naturaleza polianiónica de la goma, ácido D-glucurónico (~21%) y ácido 4-O-metil-D-glucurónico (~2%) (Islam et al. 1997). Es posible que éstos ácidos y la goma de mezquite interactúen con los ácidos grasos de la yema y los encapsulen, dejando libre el colesterol. La goma arábica se ha usado como agente quelante para extraer colesterol debido a su capacidad de formar compuestos insolubles en agua (García et al. 2007).

En el método MG, con goma de mezquite se obtuvo una alta reducción de colesterol ($p < 0.05$); obteniendo para la goma de mezquite MG_{1%}, MG_{3%} y MG_{10%}, una extracción de colesterol de 97.24%, 96.68% y 96.60% respectivamente. Se considera a la goma de mezquite un AGP (polisacárido unido covalentemente a proteína), el componente polisacárido es una columna vertebral de unidades de D-galactosa, L-arabinosa, ácido-D-glucurónico y 4-O-ácido metil glucurónico. Debido a que se forma una estructura ramificada, proporciona una alta solubilidad en agua (White, 1946, 1947a, b, 1948; Cunnen y Smith, 1948a), es posible que éstos ácidos interactúen con los ácidos grasos de la yema y los encapsulen, dejando libre el colesterol.

7.1.2 Potencial zeta

La interacción entre biopolímeros puede ser segregante como la repulsión estérica o asociativa como las atracciones hidrofóbicas y puentes hidrógeno (De Kruif y Tuinier 2001). La interacción electrostática es la fuerza más común para la formación de complejos (Samant et al. 1993). La carga de los biopolímeros y proteínas es afectada por

el pH. En el presente trabajo, la influencia del pH en el potencial zeta (ζ) de la yema de huevo, goma de mezquite, AG_{3%} y GM_{3%} fue estudiado en un rango de pH de 2-10.

El potencial zeta de la yema de huevo fue positivo a valores de pH 2 a 3(+15.46mV y +13.89mV, respectivamente), mientras que fue negativo a pH de 5 y arriba (Figura 9), esto es similar reportado por Navidghasemizad et al. (2015) quienes obtuvieron valores de 10.4 mV a pH3, y a pH 6 y mayores el potencial zeta fue negativo. El pI de la yema de huevo fue a pH 4.6, a éste pH el potencial zeta de la goma de mezquite fue de -14.8 mV y para la goma arábica de -16 mV, ésta carga opuesta entre la yema de huevo y los biopolímeros permite la formación del complejo.

La goma de mezquite tiene valores de -2.25mV a -24.61mV, debido a la disociación de las unidades de ácido glucurónico presentes en el polímero, similar a la de la goma arábica (Sarika et al. 2015).

El AG_{3%} mostró potencial zeta positivo (+ 6.74mV y + 11.77mV, respectivamente) a pH 2-3, el pI fue de pH 3.7, y en un rango de pH 4-10 el potencial zeta fue negativo (Figura 10). También se investigó el potencial zeta de MG_{3%} y tuvo un valor más alto que AG_{3%}, a pH 2-3 el potencial zeta fue de (+16.26mV y +18.86mV, respectivamente), el pI fue de 3.9 y a pH 4-10 el potencial zeta fue de (-1.97mV a -18.98mV, respectivamente).

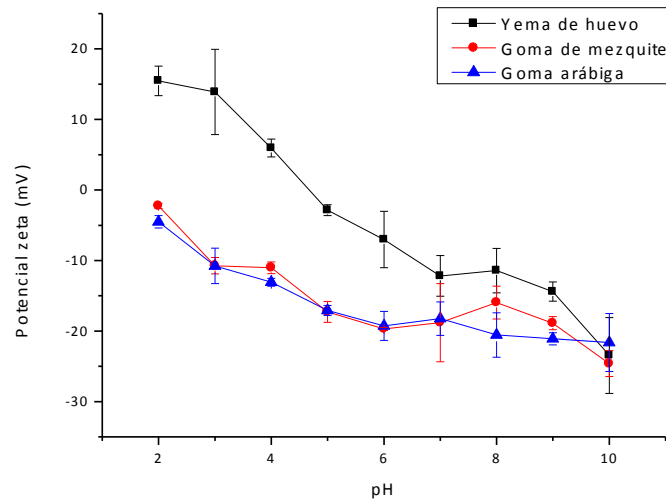


Figura 9. Potencial zeta de yema de huevo, goma de mezquite (MG) y goma arábica (AG) .

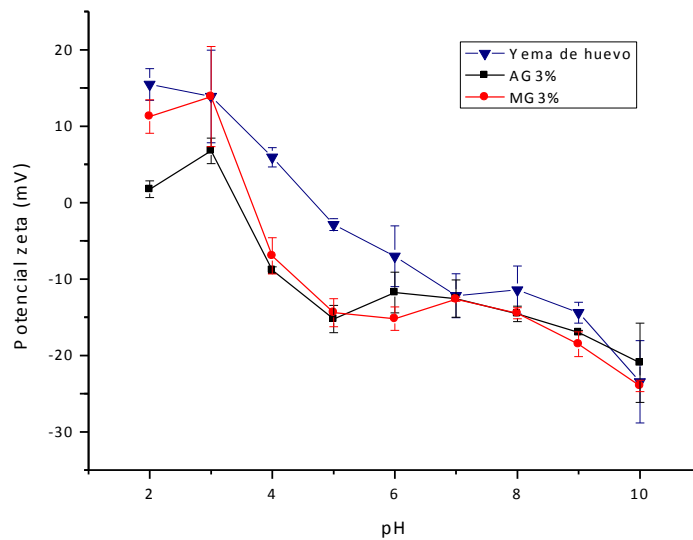
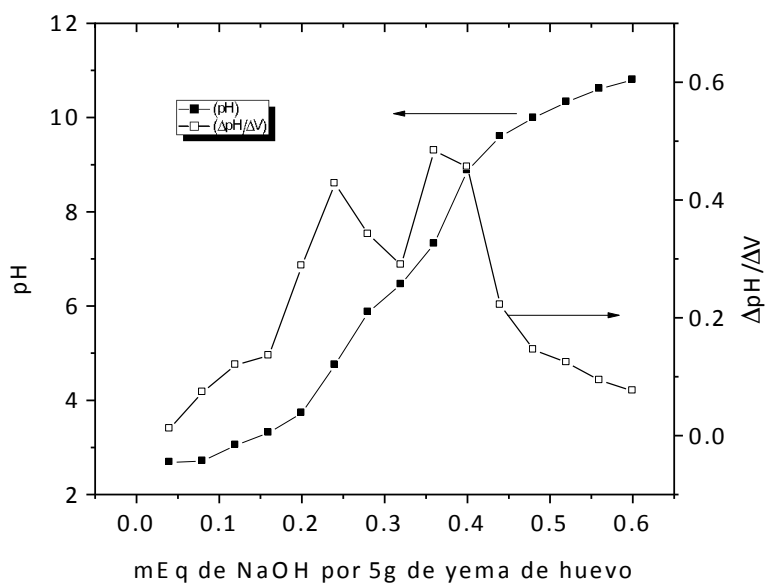


Figura 10. Potencial zeta de yema de huevo, AG_{3%}, y MG_{3%}.

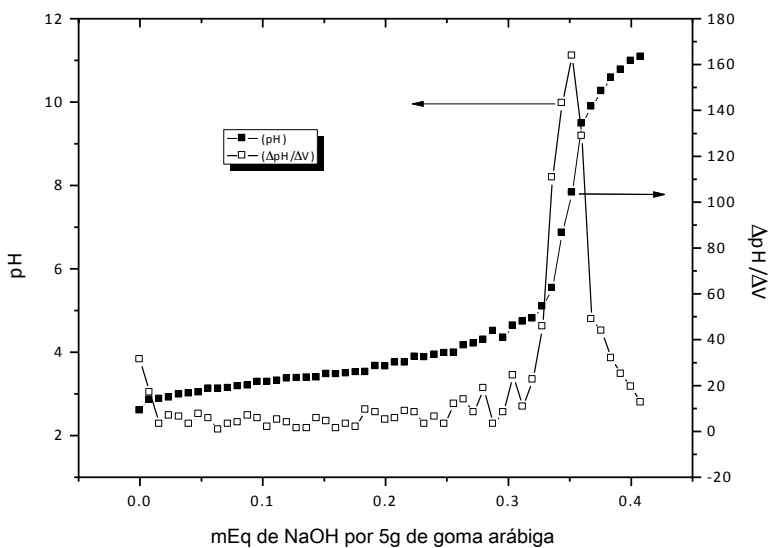
7.1.3 Determinación de miliequivalentes

Los grupos neutralizados permitieron la evaluación de miliequivalentes de formas libres de ácido y sal. Se cuantificaron los grupos aniónicos totales y el peso equivalente de

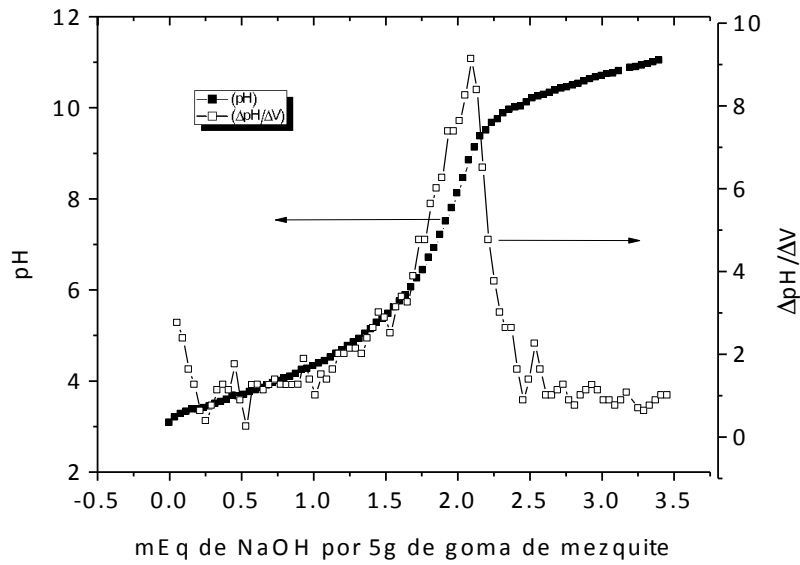
policationes y complejos de yema, respectivamente. En función a la titulación ácido-base, se determinó el punto de equivalencia de las soluciones de yema, goma arábica y goma de mezquite en el punto de inflexión de las curvas de titulación (Figura 11). Los miliequivalentes de NaOH y la inflexión del punto determinaron la concentración de grupos disociados en goma arábica y mezquite. Del mismo modo, la inflexión del punto se obtuvo por yema de huevo. El NaOH se disocia produciendo contraiones, estos son capaces de interactuar separadamente con el ion residual reactivo de la goma arábica, goma de mezquite y la yema de huevo. Ambas soluciones conteniendo partículas coloidales altamente cargadas (Avadi et al. 2010). En base a nuestros datos se neutralizaron goma arábica, goma de mezquite y yema con miliequivalentes por gramo (mEq / g) en base seca; 0.354 para goma arábica, 0.424 goma mezquite, los valores para goma arábica fueron similares a los reportados por Espinosa-Andrews (2010) y 0.072 yema de huevo, respectivamente. La cantidad requerida de equivalente de yema y goma arábica en base a miliequivalentes de NaOH fue de 5 g de yema por gramo de goma arábica y de 5.9 g de yema por gramo de mezquite. Los valores de goma de mezquite fueron 19.8% más efectivos que la goma arábica. La macromolécula de goma de mezquite contiene más grupos reactivos que la goma arábica. En base a las relaciones de masa calculadas, se formaron complejos con 1%, 3% y 10% de ambos. Estos valores, se usaron para obtener las microestructuras de los complejos de proteína-quelantes aniónicos.



(a)



(b)



(c)

Figura 11. Titulación potenciométrica de yema de huevo (a), goma arábica (b) y goma de mezquite (c).

7.1.4 Tamaño de partícula

Para Na_G la medición del tamaño de partícula está dentro del rango reportado por (Strixner y Kulozik 2013), ellos obtuvieron un rango de tamaño de partícula de 0.8 a 9 μm (Tabla 7). En los tratamientos AG y MG se observa un tamaño grande de partícula, esto es debido a la formación de un complejo entre el agente quelante (goma arábica o goma de mezquite) y la fracción de lipoproteína de la yema de huevo (Hsieh et al. 1994).

Tabla 7. Tamaño de partícula de complejos.

Método	D _(3,2) (μm)
Na _G	1.28±0.005 ^f
AG _{1%}	1.61±0.012 ^e
AG _{3%}	2.40±0.006 ^b
AG _{10%}	4.64±0.032 ^a
MG _{1%}	2.15±0.015 ^c
MG _{3%}	1.8±0.010 ^d
MG _{10%}	1.24±0.006 ^g
S _A	2.13±0.006 ^c
Yema	-----

7.1.5 Capacidad emulsionante

Con frecuencia se han investigado las proteínas, polisacáridos y surfactantes con mejores propiedades emulsionantes. Se sabe que sus propiedades emulsionantes funcionan en casos específicos. Por lo que se determinó la propiedad emulsionante de los productos de los diferentes tratamientos.

Como se muestra en la Tabla 8, al comparar la capacidad emulsionante de los métodos discutidos, la yema de huevo soporta el mayor porcentaje de aceite, seguida por el Na_G, lo cual es similar a lo obtenido por Laca et al. (2010). En el AG_{3%} se obtuvo una menor capacidad emulsionante que el Na_G, esto debido a que al usar goma arábica hay una pérdida del 66% de las proteínas, las cuales son responsables de la capacidad emulsionante de la yema junto con los lípidos (García et al. 2007). Para el complejo de yema de huevo con goma de mezquite (MG_{3%}) la capacidad emulsionante fue de 62.95%, el etanol empleado en los complejos de biopolímeros disuelve los fosfolípidos y el colesterol pero no la grasa, lo que lo hace un solvente ideal para éstas extracciones. Se forma una monocapa de agua que previene la desnaturalización de la proteína (Beyer

1991) y con el S_A fue de 72.33%. Los productos de Na_G pueden ser usados en productos como muffins (Marcet et al. 2015) y aderezos (Laca 2010).

Tabla 8. Resultados de capacidad emulsionante.

Tratamiento	% de aceite
Yema	85.06± 0.018 ^a
Na_G	79.52± 0.023 ^b
AG_{3%}	63.57± 0.052 ^d
MG_{3%}	62.95± 0.032 ^d
S_A	72.33± 0.022 ^c

*La capacidad emulsionante fue realizada solamente en las muestras con alto rendimiento.

7.1.6 Capacidad gelificante

La formación de geles resulta del equilibrio entre interacciones de repulsión electrostática y las de atracción de Van der Waals. La gelificación permite la formación de estructuras continuas más o menos ordenadas. En general, los geles presentan un comportamiento de sólidos con cierto grado de elasticidad. Cuando están implicadas fuerzas de Van der Waals ó de London, el gel es inestable y variará con la agitación mecánica. Cuando están presentes los puentes de hidrógeno, el gel puede transformarse reversiblemente en solución, por calentamiento. Los enlaces covalentes dan una alta estabilidad al gel (Bourgeois y Le Roux 1986).

La gelificación se presenta al aumentar la temperatura, al reaccionar las proteínas con el agua, existiendo una separación de las proteínas, siendo insolubles por la formación de enlaces entre hidrógenos y grupos sulfuro hidrofóbicos. La yema comienza a espesarse a 65°C y deja de ser fluida a partir de los 70°C. Se presenta pérdida en la solubilidad, es

decir cambios en el fluido, al estado "sólido" (gel) o semisólido (espesamiento) (Pomeranz 1978).

Se evaluaron las soluciones del 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16% w/v de cada tratamiento (Na_G , $\text{AG}_{3\%}$, $\text{MG}_{3\%}$, S_A) de acuerdo a la metodología de Siddiq et al. (2010). El mejor gel que se formó fue con el tratamiento de Na_G , debido a su composición en base seca de 64% de proteínas lo cual favorece la formación del gel (Tabla 9).

La goma de mezquite contiene una pequeña fracción de proteína ($2.7 \pm 0.06\%$) ligada a la parte central de la estructura primaria de carbohidratos (Pérez et al. 2011), lo cual se puede relacionar con que presente capacidad gelificante al 14 y 16%.

Tabla 9. Resultados de capacidad gelificante.

Tratamiento	Na_G	$\text{AG}_{3\%}$	$\text{MG}_{3\%}$	S_A
Concentración				
2%	-	-	-	-
4%	\pm	-	\pm	\pm
6%	\pm			\pm
8%	\pm	\pm	\pm	\pm
10%	\pm	\pm	\pm	\pm
12%	\pm	\pm	\pm	\pm
14%	\pm	\pm	+	+
16%	+	+	+	+

No hay gelificación (-), gelificación completa (+), o gelificación parcial (\pm)

7.1.7 Análisis microestructural

La Figura 12 presenta las micrografías de los diferentes tratamientos, primero de los gránulos (Na_G) que presentan estructuras irregulares con pequeños agregados probablemente son complejos HDL- fosvitina unidos a puentes fosfocálcicos entre los grupos fosfato (Huopalathi et al. 2007). La microestructura de los tratamientos con goma arábica (AG) muestra pequeños agregados, debido a la interacción del biopolímero, probablemente de los grupos carboxilo con las lipoproteínas de la yema. En las micrografías de los diferentes tratamientos, los tratamientos con goma de mezquite

(GM) muestran estructuras esféricas con tamaños de 2 a 3 μm que probablemente corresponden a la interacción de proteínas de arabinogalactano (AGP) en goma de mezquite y la interacción con lipoproteínas de yema de huevo (López et al. 2006).

Las micrografías de yema de huevo muestran una estructura irregular porque es un sistema complejo con muchas partículas en suspensión en un fluido que contiene proteínas. Las micrografías de yema de huevo con acetona (S_A) muestran estructuras irregulares con pequeños agregados.

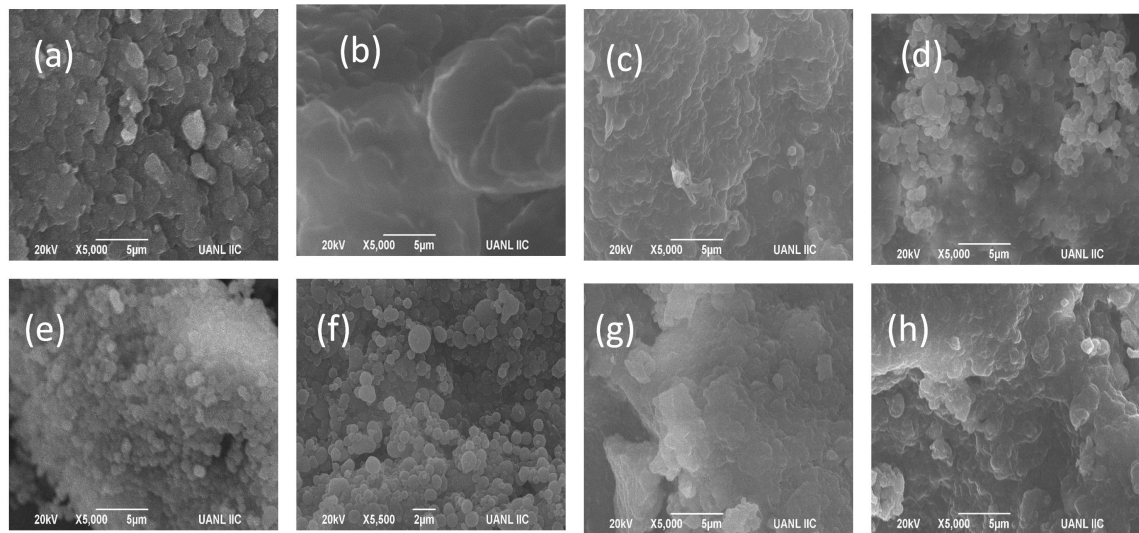


Figura 12. Micrografías: a) AG_{1%}, b) AG_{3%}, c) AG_{10%}, d) GM_{1%}, e) GM_{3%}, f) GM_{10%}, g) Na_G y h) S_A.

7.2 Elaboración de emulsiones sin utilizar yema de huevo, sustituida empleando harinas vegetales

7.2.1 Análisis bromatológico de harinas vegetales

Se realizó el análisis bromatológico de las harinas de quinoa, amaranto y chícharo y en la Tabla 10 se presentan los resultados:

Tabla 10. Análisis bromatológico de harinas vegetales.

Análisis	Harina de chícharo (g/ 100g)	de Harina de quinoa (g/ 100g)	Harina de amaranto (g/100g)
Humedad	7.37± 0.31 ^a	6.38± 0.36 ^b	7.18± 0.10 ^a
Grasa	0.014± 0.001 ^c	0.06± 0.00 ^a	0.37± 0.00 ^b
Ceniza	2.72± 0.013 ^b	2.96± 0.04 ^a	1.54± 0.02 ^c
Fibra	0.18± 0.02 ^a	0.02 ± 0.00 ^b	0.01± 0.00 ^b
Proteína	20.07 ± 0.037 ^a	10.9± 0.35 ^b	11.28± 0.37 ^b
Extracto Libre de Nitrógeno	77.02± 0.037 ^b	86.06± 0.39 ^a	87.13 ± 0.36 ^a

La harina que posee significativamente mayor porcentaje de proteína es la de chícharo, éste resultado coincide con lo reportado por Aluko, Mofolasayo y Watts (2009), quienes reportan 20-30% de proteína. Además la proteína de chícharo posee un perfil balanceado de aminoácidos y es una excelente fuente de lisina (Schneider y Lacampagne 2000). La cantidad de proteína presente en la harina de quinoa es similar a lo reportado por Nascimento et al. (2014) de 12.10g/100g y para el amaranto de 13.4g/100g.

7.2.2 Capacidad emulsionante de harinas vegetales

Como se muestra en la Tabla 11, se observan diferencias significativas entre la harina de amaranto comparadas con la de chícharo y quinoa. El porcentaje de aceite que pueden integrar se encuentra cercano al 60%. El *Codex Alimentarius* (1995) establece que cuando una emulsión contiene menos del 50% de aceite se le denomina aderezo, y que cuando presenta un porcentaje mayor de 65% y hasta el 80% se le denomina mayonesa. Por lo anterior se decidió formular aderezos empleando éstas harinas vegetales.

Tabla 11. Capacidad emulsionante de harinas vegetales.

Harina	% de aceite
Quinoa	63.28±0.57 ^b
Amaranto	65.73±0.78 ^a
Chícharo	63.77±0.45 ^b

7.2.3 Curvas de flujo de emulsiones

La viscosidad es la medida de la resistencia de un fluido a deformarse. Los fluidos se clasifican en newtonianos y no newtonianos. Los no newtonianos son aquellos en los que la relación entre el esfuerzo cortante y la deformación no es lineal, dentro de los fluidos no newtonianos se encuentran los fluidos pseudoplásticos, cuyo comportamiento está explicado por la ley de potencia:

$$\sigma = K \dot{\gamma}^n$$

K = índice de consistencia (Pa sⁿ)

$\dot{\gamma}$ = Velocidad de corte (s⁻¹)

n = índice de flujo, si $n < 1$ es pseudoplástico

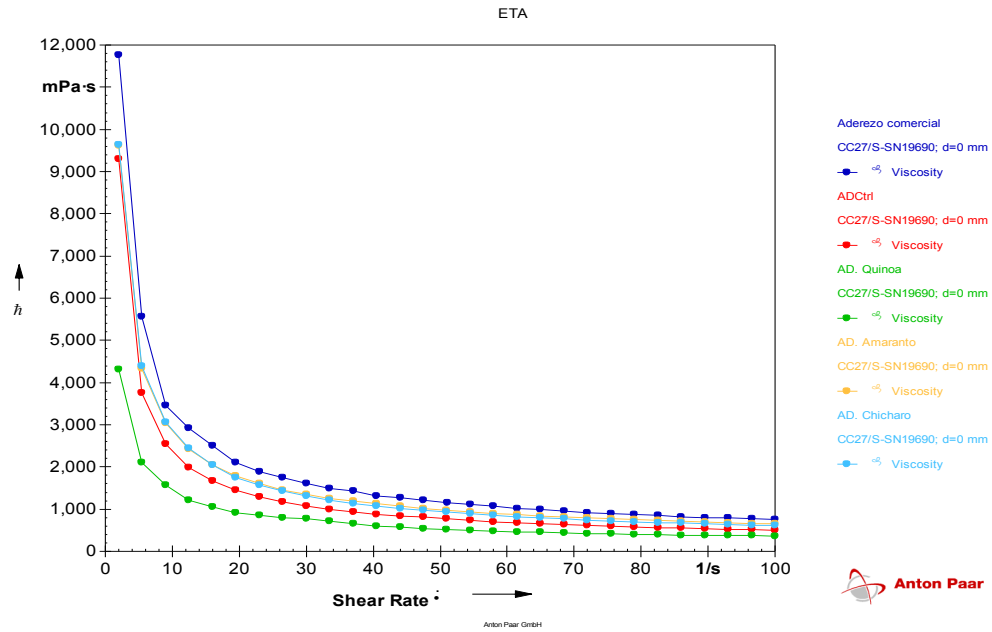


Figura 13. Curvas de flujo de los aderezos.

Tabla 12. Valores de coeficiente de consistencia "K" e índice de flujo "n" de las formulaciones desarrolladas.

Formulación	K (Pa·s ⁿ)	n
AD comercial	14.29 ± 0.89 ^b	0.2395 ± 0.02 ^a
AD Ctrl	12.46 ± 0.93a ^{ab}	0.4833 ± 0.02 ^d
AD Quinoa	10.75 ± 0.48 ^a	0.5193 ± 0.01 ^c
AD Amaranto	13.94 ± 0.51 ^b	0.3309 ± 0.01 ^c
AD Chicharo	13.31 ± 0.71 ^{ab}	0.3030 ± 0.01 ^b

En la Figura 13 se observa que todos los aderezos se comportan de acuerdo a la ley de potencia, además el aderezo con harina de amaranto tiene un comportamiento similar al aderezo comercial. Al analizar el valor del coeficiente de consistencia (Tabla 12), no se observaron diferencias significativas entre los aderezos de chícharo, amaranto, quinoa y comercial, esto indica características viscosas más pronunciadas lo cual corresponde a una estructura de red más fuerte (Zhen y Boye 2012). Para el índice de flujo no se observaron diferencias significativas entre el aderezo comercial (marca McCormick) y el de amaranto. Entre mayor sea el valor en un aderezo para ensaladas representa una

disminución en la pseudoplasticidad, lo que significa que hay menos entrecruzamientos presentes en la muestra (Zhen y Boye 2012).

7.2.4 Cinética de coalescencia

Las emulsiones son sistemas altamente dinámicos en los que las gotas se mueven continuamente y con frecuencia colisionan entre sí, por ejemplo, debido al movimiento browniano, la gravedad o las fuerzas mecánicas aplicadas (McClements 2016).

Se analizó la cinética de coalescencia para las diferentes formulaciones (Tabla 13).

Tabla 13. Tasa de coalescencia para las formulaciones desarrolladas.

Formulación	K_c (s⁻¹)
AD Comercial	-2×10^{-7} ^c
AD Ctrl	1.33×10^{-7} ^b
AD Quinoa	3.3×10^{-8} ^b
AD Amaranto	5.22×10^{-7} ^a
AD Chícharo	6×10^{-8} ^b

Las formulaciones AD Comercial, AD Ctrl y AD Amaranto son estables debido a que poseen una tasa de coalescencia dentro del rango de (1×10^{-6} - 1×10^{-7}) como se presenta en la Tabla 13, y las formulaciones AD Chícharo y AD Quinoa son muy estables ya que se encuentran en el rango de (1×10^{-8} - 1×10^{-9}) (Sherman 1969).

7.2.5 Potencial zeta

El potencial- ζ es el potencial entre la capa líquida seguida de la superficie (fuertemente unida a la partícula) y la fase continua. El valor numérico de potencial puede relacionarse con la estabilidad de las emulsiones. Emulsiones con alto potencial (superior a 30 mV o inferior a -30 mV) se estabilizan electrostáticamente, mientras que emulsiones con bajo potencial tienden a coagular o flocular (Wang et al. 2011).

En la Tabla 14 se muestra el potencial- ζ de las soluciones al 3% de las harinas de amaranto, quinoa y chícharo, todas las harinas presentaron un potencial zeta negativo, la harina de amaranto presentó diferencias significativas contra la harina de chícharo y la harina de quinoa. El potencial zeta de la harina de amaranto coincide con lo reportado por Polanco (2017).

Todos los aderezos presentaron un potencial negativo, el AD Ctrl obtuvo el potencial más negativo (-24.94 mV) y el AD Amaranto presentó el potencial menos negativo (-15.62 mV) como se muestra en la Tabla 15.

Tabla 14. Potencial- ζ de harinas.

Muestra	Potencial-ζ (mV)
Quinoa	- 17.32 \pm 0.18 ^b
Amaranto	- 15.29 \pm 0.17 ^a
Chícharo	- 17.35 \pm 0.10 ^b

Tabla 15. Potencial- ζ de los aderezos.

Formulación	Potencial-ζ (mV)
AD Ctrl	-24.94 \pm 3.60 ^a
AD Quinoa	-17.37 \pm 3.41 ^b
AD Amaranto	-15.62 \pm 0.98 ^b
AD Chícharo	-17.34 \pm 0.59 ^b

De acuerdo Cano et al. (2018) la estabilidad de las emulsiones desarrolladas fue AD Ctrl moderadamente estable, AD Quinoa, AD Amaranto y AD Chícharo fueron relativamente estables; de acuerdo con la teoría de Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek (DLVO) la estabilidad de las partículas depende de la suma de las fuerzas atractivas de Van Der Waals y las fuerzas de repulsión electrostática causadas por la doble capa eléctrica. El potencial zeta brinda información de las fuerzas electrostáticas

repulsivas, no considera las fuerzas atractivas de Van Der Waals, y por lo tanto es común encontrar sistemas estables con bajos valores absolutos de potencial zeta y viceversa.

7.2.6 Índice de cremado

Otro factor importante para conocer la estabilidad de las emulsiones es el índice de cremado, en la Figura 14 se presentan los resultados.

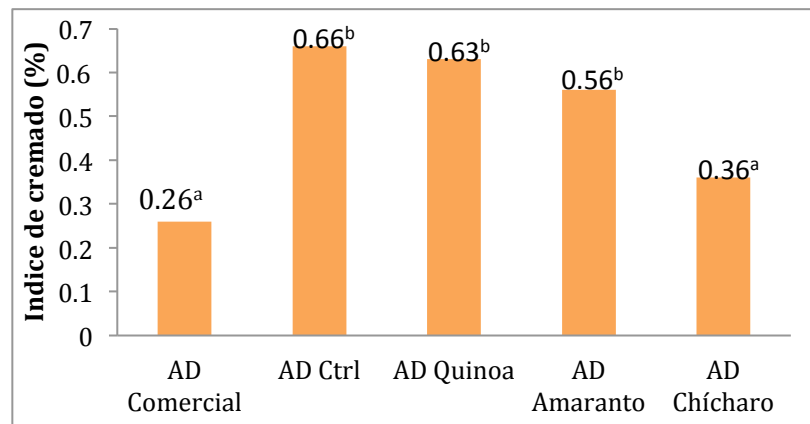


Figura 14. Gráfica de índice de cremado de las emulsiones.

El AD Comercial y el AD Chícharo presentaron el menor índice de cremado ($p < 0.05$), seguido de AD Ctrl, AD Quinoa y AD Amaranto, lo cual se puede relacionar con la tasa de coalescencia la cual muestra que son emulsiones estables.

7.3 Pruebas sensoriales

7.3.1 Prueba de ordenamiento

La prueba de ordenamiento tipo afectiva consiste en acomodar las muestras de acuerdo a la preferencia de los consumidores sin preocuparse por la magnitud de la diferencia. En éste caso, en base a las hojas de respuestas presentadas a los jueces no entrenados, el aderezo más preferido es el de menor puntuación y el menos preferido el de mayor puntuación. Se realizó una comparación múltiple mediante la suma de rangos

y el análisis de datos ordinales mediante la prueba de Kramer, obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 16.

Tabla 16. Resultados prueba de ordenamiento

Muestras	AD	AD	AD
	Amaranto	Chícharo	Quinoa
Suma de rangos	88 ^a	141 ^b	125 ^b

a, b = suma de rango con distintos supraíndices indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

Como se aprecia en la Tabla 16, el AD Amaranto fue el más preferido estadísticamente y no hubo diferencias significativas entre el AD Chícharo y el AD Quinoa.

La preferencia dirigida al AD Amaranto puede estar relacionado con las curvas de flujo, en las que su comportamiento es similar al aderezo comercial, lo que muestra que su consistencia es semejante.

7.3.2 Prueba de nivel de agrado

Se realizó la prueba de nivel de agrado de los aderezos desarrollados para conocer su aceptación por los consumidores. Los atributos evaluados fueron: aspecto, olor, sabor y textura (Tabla 17).

Tabla 17. “Calificaciones (media \pm DS) de los atributos aspecto, olor, sabor y textura de las evaluaciones sensoriales realizadas.

Atributo	198 (quinoa)	427 (chícharo)	350 (amaranto)
Aspecto	7.29 \pm 2.79 ^a	6.85 \pm 2.76 ^a	7.34 \pm 2.36 ^a
Olor	6.46 \pm 2.61 ^{ab}	5.65 \pm 2.91 ^b	6.80 \pm 2.33 ^a
Sabor	6.77 \pm 2.89 ^a	4.53 \pm 3.36 ^b	7.83 \pm 2.50 ^a
Textura	7.33 \pm 2.89 ^a	6.54 \pm 3.06 ^a	7.45 \pm 2.29 ^a
Apreciación Global	6.94 \pm 2.81 ^a	5.90 \pm 3.15 ^b	7.36 \pm 2.39 ^a

a y b = supraíndices distintos indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

Los jueces describen un agrado significativamente mayor en el olor y sabor de los aderezos de amaranto y quinoa sobre el de chícharo. Para la textura y aspecto no hubo diferencias significativas entre las formulaciones desarrolladas. En la apreciación global no se observaron diferencias significativas entre los aderezos de quinoa y amaranto.

7.4 Elaboración de aderezos reducidos en grasa utilizando almidón de camote

7.4.1 Análisis bromatológico del almidón de camote

En la Tabla 18 se muestran los resultados del análisis bromatológico. Es posible apreciar que el contenido de carbohidratos es similar a lo reportado por Hernández et al. (2008) de 98.93% para el camote. El porcentaje de proteína es menor a lo reportado por Guízar et al. (2008) el cual presenta un valor de 0.67% para *Dioscorea remotiflora*, y menor que el reportado por Hernández et al. (2008) de 0.22% para el camote. El valor de ceniza es mayor a lo obtenido por Guízar et al. 2008 de 0.73% presente en *Dioscorea sparsiflora*.

Tabla 18. Resultados de análisis bromatológico de almidón de camote.

Análisis	Almidón de camote (g/ 100g)
Humedad	0.07 ± 0.00
Grasa	0.10 ± 0.04
Ceniza	1.18 ± 0.42
Fibra	0 ± 0.00
Proteína	0 ± 0.00
Extracto Libre de Nitrógeno	98.64 ± 0.26

7.4.2 Rendimiento

El rendimiento de extracción de almidón se presenta en la Tabla 19. El rendimiento fue menor a lo reportado por Guízar et al. (2018), los cuales reportaron un rendimiento de 12 a 18% para *Dioscorea esculenta* y *Dioscorea alata* respectivamente.

Tabla 19. Rendimiento de extracción del almidón de camote.

Muestras	Peso del camote (g)	Almidón extraído (g)	% de almidón
1	37.61	1.53	4.07
2	37.8	1.26	3.33
3	37.68	1.32	3.5
Promedio	37.69 ±0.08	1.37±0.12	3.63±0.31

7.4.3 Capacidad gelificante

Los resultados de la prueba de capacidad gelificante se muestran en la Tabla 20, se observa que de un 2 a 8% hay una gelificación parcial y del 10 al 16% hay una gelificación completa. Cuando se someten a calentamiento los gránulos de almidón en presencia de agua, sufren una transición de orden-desorden, llamado gelatinización (Jacobs y Delcour 1998; O'Brien y Wang 2008). A medida que aumenta la temperatura, hay una mayor difusión de agua dentro del gránulo, se produce una hidratación progresiva y la amilosa que se comporta como un disolvente de la amilopectina comienza a lixiviar. Al llevarse a cabo el proceso de gelatinización hay una pérdida de la birrefringencia y la cristalinidad, por la disociación de las dobles hélices formadas por la amilopectina y la amilosa (Martín y López 2009).

Tabla 20. Capacidad gelificante del almidón de camote.

Concentración	Capacidad gelificante
2%	±
4%	±
6%	±
8%	±
10%	+
12%	+
14%	+
16%	+

No hay gelificación (-), gelificación completa (+), o gelificación parcial (±)

7.4.4 Capacidad emulsionante

Se evaluó la capacidad emulsionante del almidón de camote como se observa en la Tabla 21, obteniéndose un 35.56%, por lo que puede ser usado para la elaboración de aderezos, la US Food and Drug Administration establece que los aderezos deben contener al menos un 30% de aceite vegetal (USFDA 2012).

Tabla 21. Capacidad emulsionante de almidón de camote.

Repetición	% de aceite
1	34.62
2	36.16
3	35.90
Promedio	35.56± 0.82

7.4.5 Temperatura de gelatinización y entalpía

En la Tabla 22 se presentan los resultados de gelatinización y entalpía. La temperatura de gelatinización es similar a la reportada por Osundahunsi et al. (2003) de 70.7°C . La entalpía de gelatinización (ΔH) concuerda con lo reportado por Moorthy (2002) de 10.18 J/g y Osundahunsi et al. (2003) de 10.5 J/g. Los valores de entalpía menores están relacionados con mayores niveles de amilosa (Czuchajowska et al. 1998).

Tabla 22. Temperatura de gelatinización y entalpía de almidón de camote.

Parámetro	Experimental
Temperatura de gelatinización	de 69.08°C
Entalpía de gelatinización (ΔH)	10.72 J/g

7.4.6 Índice de cremado

Después de realizar las formulaciones de la Tabla 5 se determinó el índice de cremado, que nos permite analizar el comportamiento de la emulsión, entre mayor sean los valores del índice de cremado más inestable es la emulsión, en la Figura 16 se presentan los resultados. Aunque solamente se observaron diferencias significativas entre el AD Control y las formulaciones F1, F2, F3 y F4, la que presentó menor índice de cremado fue la F3, es importante destacar que ésta formulación sólo posee almidón de camote (4%) y no contiene goma xantana siendo la de menor índice de cremado (0.66 %), seguida por la F2 que posee la misma cantidad de almidón y 0.3% de goma xantana

que presentó un índice de cremado de (1.66%). Lo anterior se relaciona con lo reportado por (Rahmati et al. 2014) quien menciona que si es agregado suficiente biopolímero a una emulsión con gotas cargadas de manera opuesta, puede saturar la superficie de las gotas y formar un sistema estable, ya que las gotas estarán recubiertas con biopolímero. A pH menor que el punto isoeléctrico, las proteínas están positivamente cargadas, el punto isoeléctrico para la yema de huevo es de 5.3. Debido a la presencia de las proteínas y las lipoproteínas de la yema, la molécula de xantana como una goma aniónica, puede ser adsorbida en la interface a través de fuerzas electrostáticas atractivas, que en consecuencia da una capa de recubrimiento más gruesa.

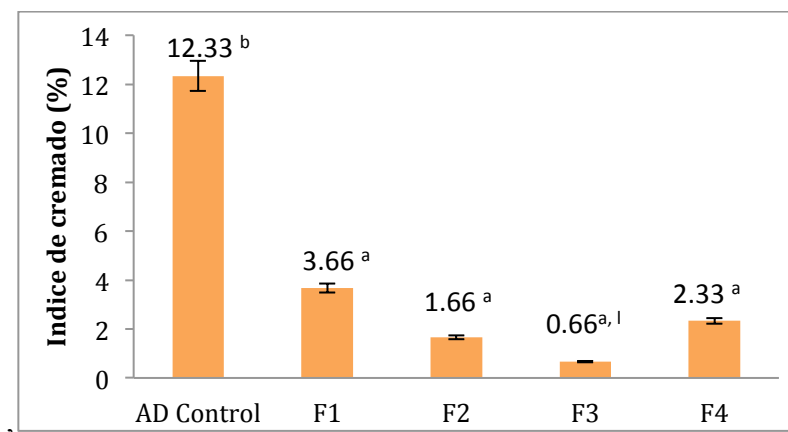


Figura 15. Gráfica del índice de cremado de las emulsiones con almidón de camote.

7.4.7 Cinética de coalescencia

Se analizaron las formulaciones desarrolladas, todas se encuentran en el rango de muy estable de (1×10^{-8} - 1×10^{-9}) Tabla 23 (Sherman 1969). Para las muestras F1 y F2 se puede observar un tamaño de partícula menor. Rahmatti (et al 2014) menciona que en muestras con alta concentración de hidrocoloides se presenta un tamaño de partícula menor, en éste caso el almidón de camote, el complejo GM₃% y la goma xantana, esto se debe a que el almidón al absorber agua forma una fase continua más viscosa, lo que limita los movimientos de las gotas de aceite. Por lo tanto las colisiones entre las gotas disminuirán resultando en un tamaño más pequeño para gotas dispersas.

Tabla 23. Tasa de coalescencia de las formulaciones desarrolladas.

Formulación	$K_c (s^{-1})$
AD Ctrl	2.87×10^{-8b}
F1	-2.33×10^{-8a}
F2	-3.67×10^{-8c}
F3	5×10^{-8d}
F4	7×10^{-8e}

7.4.8 Curvas de flujo

En la Figura 17 y Tabla 24, podemos observar que las formulaciones F1 y F2 tienen un comportamiento similar al AD comercial (Hellmann's light). Las formulaciones F1, F2 y F3 no presentaron diferencias significativas en el coeficiente de consistencia (K) y el índice de flujo (n). La alta viscosidad de las muestras que contienen el complejo GM_{3%}, goma xantana y almidón previene la floculación de las gotas (F1 y F2) (Rahmati et. al. 2014).

Tabla 24. Valores de coeficiente de consistencia "K" e índice de flujo "n" de las formulaciones desarrolladas.

Formulación	$K (Pa \cdot s^n)$	n
AD comercial	3.55 ± 0.11^c	0.2996 ± 0.02^a
F1	3.65 ± 0.16^c	0.2665 ± 0.03^a
F2	3.50 ± 0.02^c	0.2980 ± 0.02^a
F3	2.93 ± 0.11^b	0.3196 ± 0.01^a
F4	0.85 ± 0.31^a	0.5141 ± 0.03^b

En las formulaciones F3 y F4 no contienen goma xantana por lo tanto la viscosidad es menor al aderezo comercial, presentando valores mayores del índice de flujo, que los respectivos valores de F1 y F2, esto significa que su comportamiento se acerca un poco más al de un fluido newtoniano (n tiende a 1). La goma xantana incrementa la viscosidad de la fase continua aumentando el comportamiento pseudoplástico (n tiende a cero).

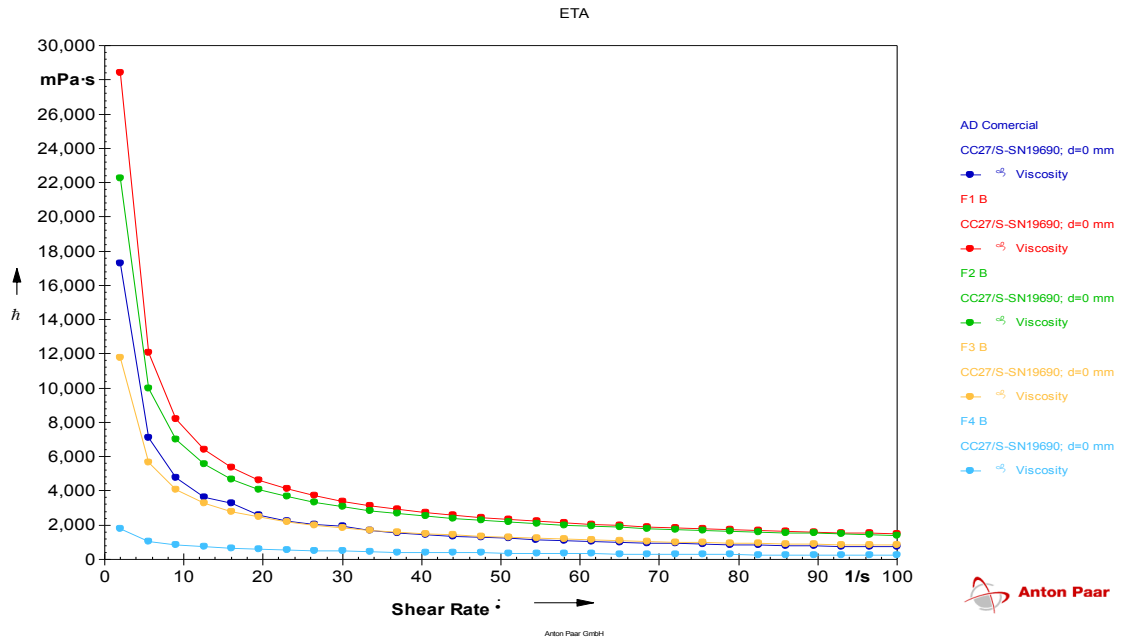


Figura 16. Curvas de flujo de formulaciones con almidón de camote comparándolos con fórmula comercial.

7.4.9 Prueba definitiva

Los resultados de la prueba hedónica se analizaron mediante ANOVA y como post-anova se empleó la prueba de Tukey, con un $\alpha= 0.05$. Los atributos evaluados fueron: aspecto, olor, sabor y textura (Tabla 25).

Tabla 25. “Calificaciones (media \pm DS) de los atributos aspecto, olor, sabor y textura de las evaluaciones sensoriales realizadas.

Atributo	609 (camote)	198 (quinoa)	427 (chícharo)	350 (amaranto)
Aspecto	4.82 \pm 3.33 ^b	7.29 \pm 2.79 ^a	6.85 \pm 2.76 ^a	7.34 \pm 2.36 ^a
Olor	5.85 \pm 3.01 ^b	6.46 \pm 2.61 ^b	5.65 \pm 2.91 ^c	6.80 \pm 2.33 ^a
Sabor	6.98 \pm 3.90 ^a	6.77 \pm 2.89 ^a	4.53 \pm 3.36 ^b	7.83 \pm 2.50 ^a
Textura	3.82 \pm 3.20 ^b	7.33 \pm 2.89 ^a	6.54 \pm 3.06 ^a	7.45 \pm 2.29 ^a
Apreciación Global	5.37 \pm 3.57 ^b	6.94 \pm 2.81 ^a	5.90 \pm 3.15 ^b	7.36 \pm 2.39 ^a

a,b y c= supraíndices distintos indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

Los aderezos de quinoa, chícharo y amaranto presentan un aspecto y textura alrededor de 7 muy superior al del aderezo de almidón de camote, debido a que éste último de acuerdo a las evaluaciones, los jueces mencionaron presentó una menor viscosidad a la deseada en un aderezo. Lo que se evidencia en los análisis de curvas de flujo siendo para la F2 de los aderezos con camote, la K 3.5 Pa·sⁿ y la n 0.2980 menor que para los aderezos de harinas vegetales, siendo para el AD Quinoa la K 10.75 Pa·sⁿ y la n 0.5193, para el AD Amaranto la K 13.94 Pa·sⁿ y la n 0.3309 y para el AD Chícharo la K 13.31 Pa·sⁿ y la n 0.3030. El aderezo de amaranto tuvo un comportamiento similar al comercial así como en la tasa de coalescencia, para determinar la estabilidad del aderezo.

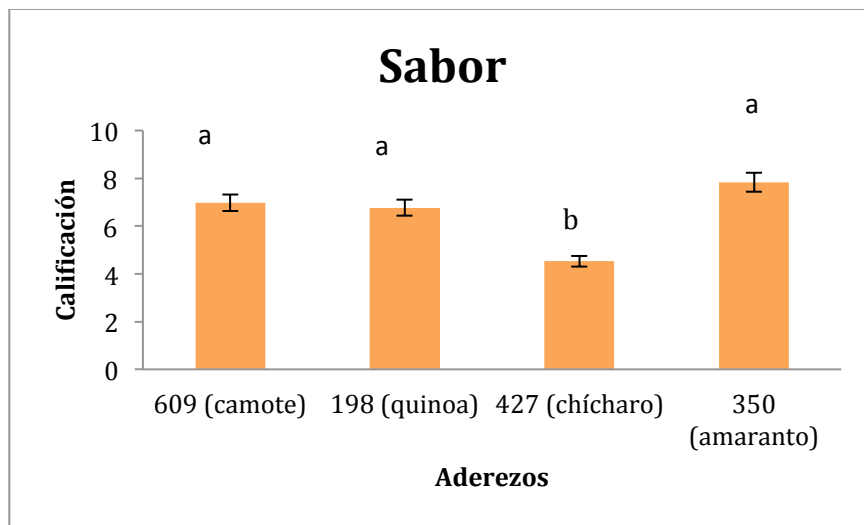


Figura 17. Evaluación de sabor de los aderezos.

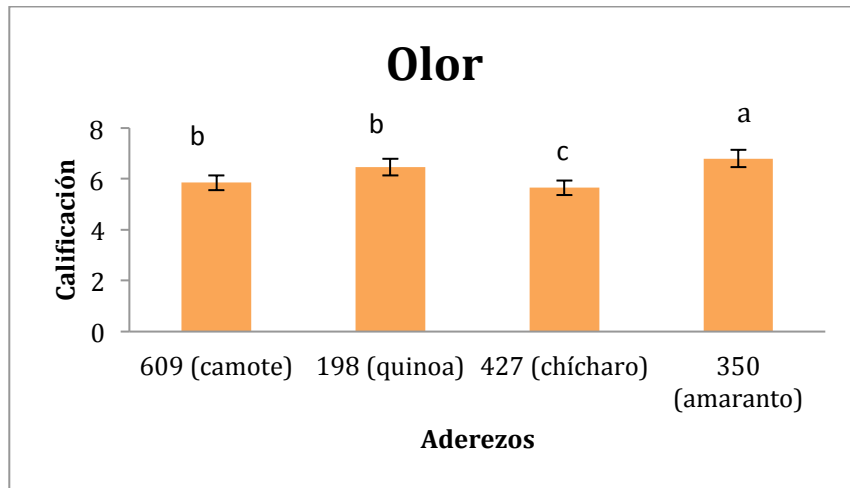


Figura 18. Evaluación de olor de los aderezos

En los resultados de los atributos de sabor (Figura 17) y olor (Figura 18) se puede apreciar que el aderezo preferido fue el de amaranto y el de menor preferencia fue el de chícharo. Los jueces argumentaron que tanto el sabor y aroma del aderezo de amaranto era muy agradable y para el de chícharo un sabor ácido.

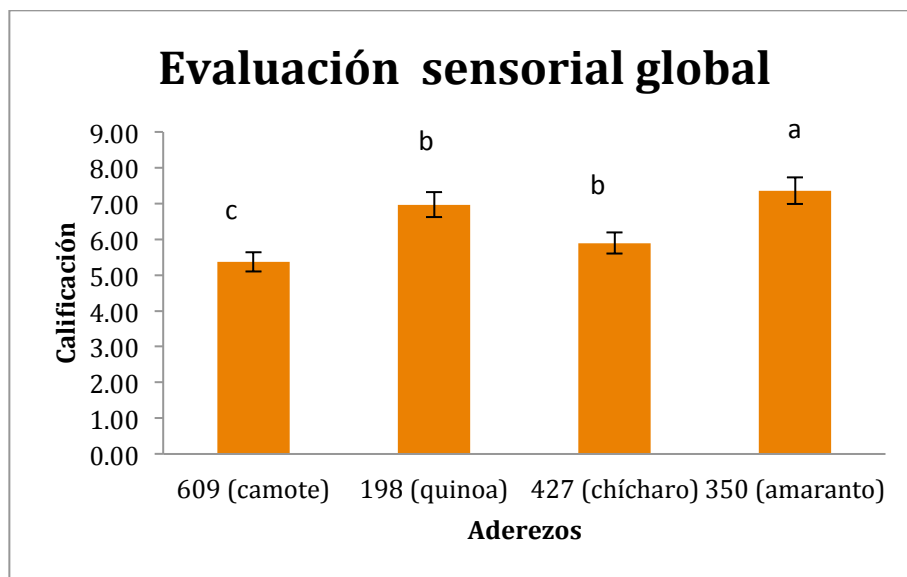


Figura 19. Resultados de evaluación sensorial (aspecto, olor, sabor y textura).

En una evaluación global de las características de aspecto, olor, sabor y textura, los preferidos fueron los aderezos de amaranto con una calificación de 7.36 y el de quinoa con una calificación de 6.94, seguido de los aderezos de chícharo y camote (sin diferencia significativa) de 5.90 y 5.37 respectivamente (Figura 19). En general los cuatro aderezos obtuvieron la calificación de "me gusta", y estos concuerdan con los resultados obtenidos en las pruebas preliminares.

8. CONCLUSIONES

- El método que permitió una mayor reducción de colesterol fue el que empleó goma de mezquite para la elaboración de complejos con la yema de huevo, logrando una extracción del 97% de colesterol, mientras que para la goma arábica fue de 93%. Esto es consecuencia de la composición química en el quelato (goma de mezquite o goma arábica) y la yema. El uso de la goma de mezquite muestra cambios estructurales en forma de esferas definidas con un tamaño bajo en comparación con la goma arábica observada mediante SEM.
- La alta remoción de colesterol en el complejo de yema de huevo con goma de mezquite o goma arábica redujo la capacidad emulsionante de la yema de huevo.
- El complejo obtenido se puede utilizar en el desarrollo de alimentos funcionales reducidos en colesterol.
- El uso de la goma de mezquite para eliminar el colesterol es un método alternativo que no requiere solventes orgánicos.
- La harina de amaranto obtuvo la mayor capacidad emulsionante con un 65.73%.
- El aderezo con harina equiparable en cuanto a comportamiento reológico, estabilidad física y aceptación sensorial con respecto a la marca McCormick fue el obtenido con harina de amaranto. En las curvas de flujo el aderezo con harina de amaranto obtuvo un coeficiente de consistencia de $13.94 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ y un índice de flujo de 0.3309, mientras que el aderezo comercial obtuvo un coeficiente de consistencia de $14.29 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ y un índice de flujo de 0.2395. En la tasa de coalescencia el aderezo de amaranto obtuvo un valor de $5.22 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ y la marca comercial $-2 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$.
- La capacidad emulsionante del almidón de camote fue de un 35.56%.
- El almidón de camote (*Ipomoea batata*), permitió el desarrollo de aderezos físicamente estables. Las formulaciones F1 con un coeficiente de consistencia de

3.65 Pa·sⁿ y un índice de flujo de 0.2665, y la F2 con un coeficiente de consistencia de 3.50 Pa·sⁿ y un índice de flujo de 0.2980 presentaron un comportamiento similar al AD comercial (Hellmann's light) con un coeficiente de consistencia de 3.55 Pa·sⁿ y un índice de flujo de 0.2996.

- El uso de harinas de origen vegetal y biopolímeros permitió el diseño de la membrana interfacial para sustituir total o parcialmente la yema de huevo en la elaboración de formulaciones con alta estabilidad.

9. PERSPECTIVAS

- El uso de harinas vegetales para la elaboración de aderezos resulta una práctica innovadora en éste campo por lo que existe aún áreas de oportunidad para el desarrollo científico y tecnológico para su empleo.
- Se propone el empleo el almidón de camote (*Ipomoea batata*), para la elaboración de emulsiones estables físicamente, entre otras cosas para promover el aprovechamiento un recurso nacional y tener una nueva alternativa como fuente de ingredientes naturales.
- Es importante medir la oxidación de los aderezos para poder determinar su vida de anaquel.

10. BIBLIOGRAFIA

Aberkane L, Roudaut G, Saurel R. 2014. Encapsulation and oxidative stability of PUFA-rich oil microencapsulated by spray drying using pea protein and pectin. *Food and Bioprocess Technology* 7(5):1505-1517.

Alben E, Ibanoglu E. 2010. Stability and rheological properties of egg yolk granule stabilized emulsions with pectin and guar gum. *International Journal of Food Properties* 13: 618-630.

Agromoderna, 2016. <https://www.agromoderna.com/2016/04/09/el-cultivo-de-camote-en-méxico/> Consultada el 26/02/18

Aluko RE, Mine R. 1998. Characterization of oil-in-water emulsions stabilized by hen's egg yolk granule. *Food hydrocolloids* 12:203-210.

Aluko RE, Mofolasayo OA, & Watts BM. 2009. Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (*Pisum sativum L.*) seed flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 9783-9800.

Amine C, Dreher J, Helgason T, Tadros T. 2014. Investigation of emulsifying properties and emulsion stability of plant and milk proteins using interfacial tension and interfacial elasticity. *Food Hydrocolloids* 39:180-186.

Anderson TA, Levitt DG, Banaszak LJ. 1998 The structural basis of lipid interactions in lipovitellin, a soluble lipoprotein. *Structure* 6:895-909

Anton, Marc & Gandemer, Gilles. 2006. Composition, Solubility and Emulsifying Properties of Granules and Plasma of Egg Yolk. *Journal of Food Science*. 62. 484 - 487.

Anton M, Denmat M.L., Gandemer G. 2000. Thermostability of hen egg yolk granules: contribution of native structure of granules. *Journal of Food Science: Food chemistry and toxicology* 65(4): 581-584.

Anton M, Martinet V, Tainturier D, Moussa M. 2001. Procédé de production d'une fraction purifiée de lipoprotéines de faible densité du jaune d'oeuf et milieu de conservation incorporant de telles lipoprotéines. French patent 0100292

Anton M, Martinet V, Dalgalarondo M, Beaumal V, David-Briand E, Rabesona H. 2003. Structural and chemical characterisation of low-density lipoproteins purified from hen egg yolk. *Food Chem* 83:175-183.

Anton M. 2007. Composition and structure of hen egg yolk. In: Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R (eds) *Bioactive Egg Compounds*. Berlin: Springer, pp. 1–6.

Anton, M.2013. Egg yolk: Structures, functionalities and processes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93(12):2871–2880.

Aro H, Jarvenpaa E, Konko K, Huopalahti R., Hietaniemi V. 2007. Characterisation of oat lipids produced by supercritical fluid technologies. *Journal of cereal science*.

Aro H, Järvenpää EP, Könkö K, Sihvonen M, Hietaniemi V, Huopalahti R. 2009. Isolation and purification of egg yolk phospholipids using liquid extraction and pilot-scale supercritical fluid techniques. *European Food Research and Technology*, 228(6), 857-863.

Avadi MR, Sadeghi AMM, Mohammadpour N, Abedin S, Atyabi F, Dinarvand R., Rafiee-Tehrani, M. 2010. Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6(1):58-63.

Badui S. 2013. *Química de los alimentos*. Quinta edición. Pearson educación: México, pp: 633

Badui S, Cejudo H.R.T. 2006. *Química de los alimentos*. Pearson educación.

Barac M, Cabrilo S, Stanojevic S, Pesic M, Pavlicevic M, Zlatkovic B. 2012. Functional properties of protein hydrolysates from pea (*Pisum sativum*, L) seeds. *International Journal of Food Science & Technology* 47(7):1457-1467.

Bello P. 2002. Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *Musa paradisiaca* L. (Var. Macho). *Agrociencia: México* 32 (2):169- 180.

Beristain CI, Azuara E, Garcia HS, Vernon EJ.1996. Kinetic model for water/oil absorption of mesquite gum (*Prosopis juliflora*) and gum arabic (*Acacia senegal*). *International journal of food science & technology*, 31(5):379-386.

Belhomme C, David-Briand E, Ropers MH, Guérin-Dubiard C, Anton M. 2007. Interfacial characteristics of spread films of hen egg yolk phosvitin at the air–water interface: Interrelation with its charge and aggregation state. *Food Hydrocolloids* 21:896-905.

Belhomme C, David-Briand E, Guérin-Dubiard C, Vié V, Anton M.2008.Phosvitin-calcium aggregation and organization at the air-water interface. *Colloids and Surfaces B: Bioint* 63:12-20.

Bello LA, Contreras SM, Romero R, Solorza J, Jiménez A.2002. Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *Musa paradisiaca* L. (Var. Macho). *Agrociencia* 36(2):169-180.

BeMiller JN.2016.Starch modification. Purdue University, West Lafayette, IN, USA. pp:1-5

BeMiller, J. N. 2017. Carbohydrate analysis. In Food analysis (pp. 333-360). Springer, Cham.

Bhargava A, Shukla A, Rajan S, Ohri D.2007.Genetic diversity formorphological and quality traits in quinoa (*Chenopodiumquinoa Willd.*) germplasm. Genetic Resources and Crop Evolution 54: 167–173.

Borges S, Martucci E, Müller C.1996. Optimization of the extraction of cholesterol from dehydrated egg yolk using acetone. LWT-Food Science. Technology 29:687–690.

Bortnowska G, Tokarczyk G. 2009. Comparison of the physical and sensory properties of model low-fat mayonnaises depending on emulsifier type and xanthan gum concentration. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. 12.

Bourgeois CM, Le Roux, P. 1986. Proteínas Animales. Ed. El Manual Moderno, México.

Bringe NA; Howard DB, Clark DR.1996. Journal of Food Science 61(1),19.

Burley RW, Cook WH.1961. Isolation and composition of avian egg yolk granules and their constituent α -and β -lipovitellins. Canadian journal of biochemistry and physiology 39(8):1295-1307.

Burley RW.1975. Recent advances in the chemistry of egg yolk. CSIRO Food Res Quarterly 35:1–5.

Burley RW, Vadehra DV.1989. The avian egg chemistry and biology. New York: Wiley.

Calderelli S, De Toledo Benassi M., Visentainer JV, Matioli G.2010.Quinoa and flaxseed: potential ingredients in the production of bread with functional quality. Brazilian Archives of Biology and Technology 53:981-986.

Cano C, Téllez DI, Viveros R, Cornejo M, Figueroa CY, García E, Alamilla L, García HS, Gutiérrez GF, Claesson PM, Blomberg E, Poptoshev E.2018 .Zeta Potential of Food Matrices. Food Engineering Reviews.

Chen YF, Kaur L, Singh J. 2018. Chemical Modification of Starch. In Starch in Food Woodhead Publishing, pp. 283-321.

Clark S, Jung S, Lamsal B. 2014. Food Processing: Principles and Applications, 2nd edition. pp:249–273.

Castellani O, Guérin C, David E, Anton M.2004.Influence of physico-chemical conditions and technological treatment on the iron binding capacity of hen egg phosvitin. Food Chemistry 85:569–577.

- Causeret D, Matringe E, Lorient D.1991. Ionic-strength and pH effects on composition and microstructure of yolk granules. *Journal of Food Science* 56:1532–1536.
- Chang SM; Yang C.C.; Sung, S.C. 1977. The cultivation and the nutritional value of *Lemnaceae*. *Bulletin of the Institute of Chemistry. Academia Sinica* 24:19-30.
- Charoen R, Jangchud A, Jangchud K, Harnsilawat T, Decker E, McClements D. 2012. Influence of interfacial composition on oxidative stability of oil-in-water emulsions stabilized by biopolymer emulsifiers. *Food Chemistry* 131:1340-1346.
- Chiu SH, Chung TW, Giridhar R, Wu WT.2004. Immobilization of β -cyclodextrin in chitosan beads for separation of cholesterol from egg yolk. *Food Research International* 37:217–223.
- Claesson Lillemor & Skelton, Alasdair & Graham, Colin & Dietl, Carlo & Mörth, Carl-Magnus & Torssander, Peter & Kockum, Ingrid. 2004. Hydrogeochemical changes before and after major Earthquake. *Geology*. 32. 10.1130/G20542.1.
- Condés MC, Scilingo AA, Añón MC. 2009. Characterization of amaranth proteins modified by trypsin proteolysis. Structural and functional changes. *LWT-Food Science and Technology* 42(5):963-970.
- Considine DM, Considine GD.1983. *Foods and food production encyclopedia*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Cook WH, Martin WG. 1969. Egg lipoproteins. Structural and functional aspects of lipoproteins in living systems. In: Tria E, Scanu AM (eds) Academic Press, London New York, pp. 579–615.
- Cornejo C.2007. Generalidades del amaranto (*Amaranthus spp*) usos y aplicaciones en la industria alimentaria. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" División de Ciencia Animal. Departamento de Nutrición y Alimentos. México, pp: 4-6.
- Cunnen JI, Smith F. 1948. The constitution of mesquite gum. Part I. Isolation of 6- and 4- glucuronosidogalactose. *Journal of Chemistry Society* 227:1141-1146.
- Czuchajowska Z, Klamczynski A, Paszczynska B, Baik B.K. 1998. Structure and functionality of barley starches 75(5):747-754.
- Daimer K, Kulozik U. 2009. Oil-in-water emulsion properties of egg yolk: effect of enzymatic modification by phospholipase A2. *Food Hydrocolloids* 23:1366–1373.
- Depree JA, Savage GP 2001. Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5-6), 157-163.
- De Kruif CG, Tuinier R.2001. Polysaccharide protein interactions. *Food hydrocolloids*, 15(4-6):555-563.
- Dickinson E, Stainsby G. 1982. *Colloids in food*. Applied Science Publishers.

- Diftis NG, Biliaderis CG, Kiosseoglou VD. 2005. Rheological properties and stability of model salad dressing emulsions prepared with a dry-heated soybean protein isolate–dextran mixture. *Food Hydrocolloids* 19(6):1025–1031.
- Drakos A, Kiosseoglou G. 2006. Stability of Acidic Egg White Protein Emulsions Containing Xanthan Gum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:1064- 10169.
- Duran S, Torres J, Sanhueza J.2015. Aceites vegetales de uso frecuente en Sudamérica: características y propiedades. *Nutrición Hospitalaria* 32(1): 11-19.
- Dyer JN, Nnanna IA. 1993. Cholesterol content and functionality of plasma and granules fractionated from egg yolk. *Journal of Food Science* 58:1277-1281
- Encuesta Nacional de Salud y Nutricion, 2012. <http://ensanut.insp.mx> (consultado 16/07/2018).
- Espinosa H, Sandoval O, Vázquez H, Vernon EJ, Lobato C. 2010. Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. *Carbohydrate Polymers* 79(3): 541-546.
- FAO Regional Office for Latin America and the Caribbean, & PROINPA. 2011. Quinoa: An ancient crop to contribute to world food security. FAO Regional Office for Latin American and the Caribbean, Santiago. Retrieved from http://www.fao.org./alc/file/media/pubs/2011/cultivo_quinoa_en.pdf
- Franco J, Raymundo A, Sousa I, Gallegos C. 1998. Influence of processing variables on the rheological and textural properties of lupin protein-stabilized emulsions. *Journal Agricultural Food Chemistry* 46:3109-3115.
- Franco J, Partal P, Ruiz M, Conde B, Gallegos C. 2000. Influence of pH and protein thermal treatment on the rheology of pea protein-stabilized oil in water emulsions. *Journal of the American oil chemists* 77(9):975-984.
- Fraser BO, Tatsuta, K. & Thiem, J. 2008. Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology. In: Robyt, J. F. (editor), *Starch: Structure, Properties, Chemistry, and Enzymology*. 2nd ed., Berlin: Springer, 1437-1472.
- Froning GW, Wehling RL, Cuppett SL, Pierce MM, Niemann L, Siekman DK. 1990. Extraction of cholesterol and other lipids from dried egg yolk using supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Science* 55(1): 95-98.
- Ganga ZN, Corke H. 1999. Physical properties of starch of Asian adapted potato varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79(12):1642-1646.
- García EE, Reis JS, Minim LA, Freitas J.2007. Cholesterol removal in liquid egg yolk using high methoxyl pectins. *Carbohydrate. Polymers* 69:72–78.
- Gharsallaoui A, Saurel R, Chambin O, Voilley A. 2012. Pea (*Pisum sativum*, L.) protein isolate stabilized emulsions: a novel system for microencapsulation of lipophilic ingredients by spray drying. *Food and Bioprocess Technology* 5(6):2211-2221.

- Ghoush MA, Samhoury M, Al-Holy M, Herald T. 2008. Formulation and fuzzy modeling of emulsion stability and viscosity of a gum-protein emulsifier in a model mayonnaise system. *Journal of Food Engineering* 84(2):348–357.
- Gil AH. 2011. *Tratado de nutrición: Tomo II Composición y calidad nutritiva de los alimentos*. Ediciones MedicaPanamericana: España.
- Gorinstein S, Pawelzik E, Delgado E, Haruenkit R, Weisz M, Trakhtenberg S. 2002. Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82:886-891.
- Gould AL, Davies GM, Alemao E, Yin DD, Cook JR. 2007. Cholesterol reduction yields clinical benefits: meta-analysis including recent trials. *Clinical therapeutics*, 29(5):778-794.
- Guilmineau F, Kulozik U. 2006. Impact of a thermal treatment on the emulsifying properties of egg yolk. Part 2: Effect of the environmental conditions. *Food hydrocolloids*, 20(8), 1114-1123.
- Guízar A, Montañéz JL, García I. 2008. Parcial caracterización de nuevos almidones obtenidos del tubérculo de camote del cerro (*Dioscorea spp*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 9(1):81-88.
- Hammond EG, Johnson LA, Su C, Wang T, White PJ. 2005. Soybean oil. *Bailey's industrial oil and fat products* 2: 577-653.
- Han J, Janz JAM, Gerlat M. 2010. Development of gluten-free cracker snacks using pulse flours and fractions. *Food Research International* 43(2/1):627-633.
- Hasenhuettl GL. 2008. Synthesis and commercial preparation of food emulsifiers. In *Food emulsifiers and their applications* Springer, New York, NY, pp. 11-37.
- Hemeda HM, Mohamed EF. 2012. Functional attribute of chickpea and defatted soybean flour blends on quality characteristics of shortening cake. *European Journal of Applied Science* 2(2):44-50.
- Hernández M, Torruco J, Chel L, Betancur D. 2008. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28(3):718-726.
- Hunter RJ. 1986. *Foundations of Colloid Science*. Vol. 1. Oxford University Press, Oxford: United Kingdom.
- Huntington JA, Stein PE. 2001. Structure and properties of ovalbumin. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 756:189–198.
- Hsieh RJ, Snyder DP, Ford EW. Method for Removing Cholesterol and Fat from Egg Yolk by Chelation and Reduced-Cholesterol Egg Product. U.S. Patent 5,302,405 A, 12 April 1994.
- Huopalahti R, López R, Anton M, Schade R. 2007. *Bioactive Egg compounds*. Springer. New York.p:11

- Islam AM, Phillips GO, Sljivo A, Snowden MJ, Williams PA. 1997. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. *Food Hydrocolloids* 11(4): 493-505.
- Jacobs, H. Delcour, J.1998. Hydrothermal modification of granular starch with retention of the granular structure: A Review *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2895-2905.
- Jeong H, Sun H, Chogsom C, Kwak H.2014. Cholesterol removal from whole egg by crosslinked α -cyclodextrin. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 27:537–542.
- Jolivet P, Boulard C, Beaumal V, Chardot T, Anton M.2006. Protein components of low-density lipoproteins purified from hen egg yolk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4424-4429.
- Kessler, H. G., & Beyer, H. J. (1991). Thermal denaturation of whey proteins and its effect in dairy technology. *International Journal of biological macromolecules* 13(3):165-173.
- Karaca A, Low N, Nickerson M. 2011. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International* 44:2742-2750.
- Kiosseoglou V. D.1989. Egg yolk. *Food emulsifiers: Chemistry, technology, functional properties and applications*, 63-85.
- Kiosseoglou V, Paraskevopoulou A. 2005. Molecular interactions in gels prepared with egg yolk and its fractions. *Food Hydrocolloids* 19(3): 527-532.
- Kojima E, Nakamura R.1985.Heat gelling properties of hen's egg yolk low density lipoprotein (LDL) in the presence of other protein. *Journal of Food Science* 50:63–66.
- Kris PM, Grieger JA, Etherton TD. 2009. Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 81(2-3): 99-104.
- Kwan L, Li Chan E, Helbig N, Nakai S. 1991. Fractionation of water-soluble and insoluble components from egg yolk with minimum use of organic solvents. *Journal of food science*, 56(6): 1537-1541.
- Lee SY, Hahm SK, Park JA, Choi SK, Yoon JY, Choi SH, Jeon KS. 2015. Measuring low density lipoprotein cholesterol: comparison of direct measurement by HiSens Reagents and Friedewald Estimation. *Korean journal of family medicine* 36(4):168-173.
- Laca A, Paredes B, Díaz M. 2010. A method of egg yolk fractionation. Characterization of fractions. *Food Hydrocolloids* 24(4): 434-443.
- Landon J.1995.Comparison of antibody production to human interleukin-6 (IL-6) by sheep and chickens. *Journal of Immunological Methods* 178:253–265

- Le Denmat M, Anton M, Beaumal V. 2000. Characterization of emulsion properties and of interface composition in o/w emulsions prepared with hen egg yolk, plasma and granules. *Food Hydrocolloids* 14(6):539–549.
- Li-Chan E, Kim HO. 2008. Structure and chemical composition of eggs. In: Mine Y (ed) *Egg Bioscience and Biotechnology*. New Jersey: John Wiley, pp.1–65.
- Liot M. 2002. Method of obtaining long shelf life liquid egg products. US Patent 6403141
- Liu S, Low N, Nickerson M. 2009. Effect of pH, salt and biopolymer ratio on the formation of pea protein-isolate gum Arabic complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (4):1521-1526.
- Lorenzo GN, Zaritzky A. 2008. Modeling rheological properties of low-in-fat o/w emulsions stabilized with xanthan/guar gums. *Food Research International* 41(5): 487-494.
- López YL, Goycoolea MF, Valdéz MA, Calderón AM 2006. Goma de Mezquite: Una Alternativa de uso industrial. *Interciencia* 31(3): 183-189.
- McBee L, Cotterill O. 1979. *Journal of Food Science* 44: 656.
- López I, Chicon R, Belloque J, Recio I, Alonso E, López-Fandiño R. 2008. Changes in the ovalbumin proteolysis profile by high pressure and its effect on IgG and IgE binding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 11809–11816.
- Marcet I, Paredes B, Díaz M. 2015. Egg yolk granules as low-cholesterol replacer of whole egg yolk in the preparation of gluten-free muffins. *Food Science and Technology* 62: 613-619.
- Martin J, López E. 2009. Modificación física del almidón de yuca y evaluación de la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática por una alfa amilasa. *Revista Colombiana de Química* 38(3): 395-408.
- Martin WG, Vandergaer JE, Cook WH. 1957. Fractionation of livetin and the molecular weights of the α - and β -components. *Canadian journal of biochemistry and physiology* 35(4): 241–250.
- Martin WG, Augustyniak J, Cook WH. 1964. Fractionation and characterization of the low-density lipoproteins of hen's egg yolk. *Biochimica and Biophysica Acta* 84:714–720.
- McClements DJ, Decker EA. 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science* 65:1270.
- McClements DJ. 2005. *Food emulsions: principles, practice, and techniques*. Second edition. CRC Press: Boca Raton, Florida. Chapter 4.
- McClements DJ. 2016. *Food emulsions: principles, practice, and techniques*. CRC Press: Boca Raton, Florida. Chapter 6.

- Medina JA, Salas JC. 2007. Caracterización morfológica del gránulo de almidón nativo: Apariencia, forma, tamaño y su distribución. *Revista de Ingeniería. Universidad de los Andes* 27: 56-62
- Mel'nikov SM. 2002. Effect of pH on the adsorption kinetics of egg yolk at the triacylglycerol–water interface and viscoelastic properties of interfacial egg yolk films: a dynamic drop tensiometry study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 27(2-3): 265-275.
- Mine Y.2002. Recent advances in egg protein functionality in the food system. *World's Poultry Science Journal* 58:31–39.
- Miranda JM, Anton X, Valbuena CR, Saavedra PR, Rodríguez JA, Lamas A, Franco CM, Cepeda A.2015. Egg and egg-derived foods: effects on human health and use as functional foods. *Nutrients* 7:706-729.
- Morgan AE., Mooney KM, Wilkinson SJ, Pickles NA, Mc Auley M.T. 2016. Cholesterol metabolism: A review of how ageing disrupts the biological mechanisms responsible for its regulation. *Ageing research reviews* 27: 108-124.
- Mudgil D, Barak S. 2014. Guar gum: processing, properties and food applications — A Review. *Journal of Food Science and Technology*, 409–418.
- Nalle CL, Ravindran V, Ravindran G.2010. Evaluation of faba beans, white lupins and peas as protein sources in broiler diets. *International Journal of Poultry Science* 9:567-573.
- Navidghasemizad S, Temelli F, Wu J.2015. Phase separation behavior of egg yolk suspensions after anionic polysaccharides addition. *Carbohydrate polymers*, 117: 297-303.
- Nascimento A.C, Mota C, Coelho I, Gueifão S, Santos M, Matos AS, Castanheira I. 2014. Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays L.*) consumed in the North of Argentina: proximates, minerals and trace elements. *Food chemistry* 148:420-426.
- Nikzade V, Tehrani MM, Saadatmand M. 2012. Optimization of low-cholesterol–low-fat mayonnaise formulation: Effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach. *Food Hydrocolloids* 28(2):344-352.
- Nowak V, Du J, Charrondiere R. 2016. Assesment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild). *Food Chemistry* 193:47-54.
- O'Brien S, Wang Y. 2008. Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by α -amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymers* 72:597-607.
- Osundahunsi FO, Fagbemi NT, Kesselman E, Shimoni E. 2003. Comparison of the physicochemical properties and pasting characteristics of flour and starch from red and white sweet potato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:2232–2236.

Olivos BL, Valdivia MÁ, Tecante A. 2010. Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Food Science and Technology International* 16(1): 89-96.

Onsaard E, Vittayanont M, Srigan S, McClements DJ. 2006. Comparison of properties of oil-in-water emulsions stabilized by coconut cream proteins with those stabilized by whey protein isolate. *Food Research International* 39(1): 78-86.

Panorama Agroalimentario. 2016. Dirección de investigación y evaluación.

Paraskevopoulou A, Kiosseoglou V. 1997. Texture profile analysis of heat-formed gels and cakes prepared with low cholesterol egg yolk concentrates. *Journal of Food Science* 62(1): 208-211.

Paraskevopoulou D, Boskou D, Paraskevopoulou A. 2007. Oxidative stability of olive oil/lemon juice salad dressings stabilized with polysaccharides. *Food Chemistry* 107:1197-1204.

Pasquel A. 2001. Gomas: una aproximación a la industria de alimentos. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria* 1(1):1-8.

Pérez J, Barrios E, Róman A, Pedroza R. 2011. Interacción goma de mezquite-quitosano en la interfase y su influencia en la estabilidad de emulsiones múltiples W1/O/W2. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10: 487-499

Pérez, J.P, Barrios E, Román A, Pedroza R. 2011. Interacción goma de mezquite-quitosano en la interfase y su influencia en la estabilidad de emulsiones múltiples w₁/o/w₂. *Revista de ingeniería química* 10 (3):487-499.

Polanco A. 2017. Extracción, modificación y caracterización de proteínas de amaranto. Universidad Veracruzana. Veracruz, México. pp: 51.

Pomeranz Y. 1978. Wheat, chemistry and technology. American Association. USA.

PROINPA. 2011. Quinoa, an ancient crop to contribute to world food security. FAO-RLC, Santiago du Chili. www.fao.org/alc/file/media/pubs/2011/cultivo_quinoa_en.pdf

Purkrtova Z, Jolivet P, Miquel M, Chardot T. 2008. Structure and function of seed lipid body-associated proteins. *Comptes rendus biologiques* 331(10):746-754.

Puppo MC, Sorgentini DA, Anon MC. 2000. Rheological study of dispersions prepared with modified soybean protein isolates. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77(1):63-71.

Rahmati N, Mazaheri M, Daneshvar K, Koocheki A. 2015. Influence of selected gums and pregelatinized corn starch on reduced fat mayonnaise: modeling of properties by central composite design. *Food Biophysics* 10:39-50.

- Raymundo A, Empis J, Sousa I, Gallegos C, Franco JM, Spain H. 2001. Influencia de la relación proteína de atramuz/tensioactivo en las propiedades de flujo y texturales de emulsiones aceite en agua. *Grasas y aceites* 52: 235-240
- Riscardo MA, Franco JM, Gallegos C. 2003. Influence of composition of emulsifier blends on the rheological properties of salad dressing-type emulsions. *Food Science and Technology International* 9(1): 53-63.
- Robinson DS, Monsey JB. 1971. Studies on the composition of egg-white ovomucin. *Biochemical Journal* 121:537-547.
- Rodríguez JM, Pilosof A. 2011. Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocolloids* 25:1925-1937.
- Rojas EEG, Dos Reis Coimbra, JS, Minim LA, Freitas JF. 2007. Cholesterol removal in liquid egg yolk using high methoxyl pectins. *Carbohydrate polymers* 69(1):72-78.
- Román A, Orozco J., Pérez J.P, Cruz F, Jiménez R., Vernon E.J. 2009. Application and evaluation of mesquite gum and its fractions as interfacial film formers and emulsifiers of orange peel-oil. *Food Hydrocolloids* 23(3):708-713.
- Romero M, Shamah T, Franco A, Villalpando S, Cuevas L, Gutiérrez JP, Rivera JÁ. 2013. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012: diseño y cobertura. *salud pública de México*, 55, S332-S340.
- Salcedo B, Osuna JA, Guevara F, Domínguez J, Paredes O. 2002. Optimization of the isoelectric precipitation method to obtain protein isolates from amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(22): 6515-6520.
- Saari A, Powrie WD, Fennema O. 1964. Isolation and characterization of low-density lipoproteins in native egg yolk plasma. *Journal of Food Science* 29:307-315.
- Samant S.K, Singhal RS, Kulkarni PR, Rege DV. 1993. Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations. *International journal of food science & technology*, 28(6): 547-562.
- Sarika PR, Pavithran A, Rachel James N. 2015. Cationized gelatin/gum arabic polyelectrolyte complex: Study of electrostatic interactions. *Food Hydrocolloids* 49:176-182.
- Schneider A, Lacampagne J. P. 2000. Peas: a European production of proteinrich materials for seed and food. *Industrial Proteins* 8:3- 6.
- Schoenlechner R, Wendner M, Siebenhandl-Ehn S, Berghofer E. 2010. Pseudocereals as alternative sources for high folate content in staple foods. *Journal of cereals Science* 52:475-479.
- Secretaría de Salud. (2001). Programa nacional de salud 2001-2006. *México DF: Secretaría de Salud*.
- Sherman P. 1969. General properties of emulsions and their constituents. En P. Sherman (Ed), *Emulsion science*. Academic Press:London, England pp. 217-351.

Sheumack DD, Burley RW. 1988. Separation of lipid-free egg yolk proteins by high-pressure liquid chromatography using solvents containing formic acid. *Analytical Biochemistry* 174(2): 548–551.

Siddiq M, Ravi R, Harte J.B., Dolan K.D.2010. Physical and functional characteristics of selected dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *LWT-Food Science Technology* 43:232-237.

Sirvente H, Beaumal V, Gaillard C, Bialek L, Hamm D, Anton M. 2007. Structuring and functionalization of dispersions containing egg yolk, plasma and granules induced by mechanical treatments. *Journal of agricultural and food chemistry* 55(23):9537-9544.

Smith JS, Hui YH. 2004. *Food processing: Principles and Applications*. Blackwell publishing, pp.329-340.

Soares A, Meyer C, Menegassi B, Gomes J. 2009. Effect of extrusion on the emulsifying properties of soybean proteins and pectin mixtures modeled by response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 90:504-510.

Spence JD, Jenkins DJA, Davignon J.2012. Egg yolk consumption and carotid plaque. *Atherosclerosis* 224:469–473.

Stauffer, C. E. 1996. *Fats and oils*. Eagan Press.

Sugino H, Nitoda T, Juneja LR. 1997. General chemical composition of hen eggs. In: Yamamoto T, Juneja LR, Hatta H, Kim M (eds) *Hen Eggs: Their Basic and Applied Science*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 13–23.

Stikic R, Glamoclija D, Demin M, Vucelic- Radovic B, Jovanovic Z, Milojkovic- Opsenica D, Sven-Erik J, Milovanovic M.2012. Agronomical and nutritional evaluation of Quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Wild.) as an ingredient in bread formulations. *Journal of cereals Science* 55(2):132-138.

Strixner T, Würth R, Kulozik U.2013. Combined effects of enzymatic treatments and spray drying on the functional properties of egg yolk main fractions granules and plasma. *Drying Technology: An international Journal* 31:13-14, 1485-1496.

Strixner T, Kulozik U. 2013. Continuous centrifugal fractionation of egg yolk granules and plasma constituents influenced by process conditions and product characteristics. *Journal of Food Engineering* 117:89-98.

Sun C, Gunasekaran S.2009. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids* 23(1):165-174.

Sun Y, Yang H, Zhong X, Zhang L, Wang W.2011. Ultrasonic-assisted enzymatic degradation of cholesterol in egg yolk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12:505-508.

Thapon JL, Bourgeois CM.1994 *L'oeuf et les ovoproduits*. Collection sciences et techniques agro-alimentaires, Lavoisier, Paris.

USFDA. 2012. U.S. Food and Drug Administration Code of Federal Regulations, Title 21, Part 169. Food Dressings and Flavorings. U.S. Government Printing Office, Washington, DC. Available at: http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&tpl=/ecfrbrowse/Title21/21cfr169_main_02.tpl.

Valenzuela A, Sanhueza J. 2009. Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos. *Revista chilena de nutrición* 36(3): 246-257.

Valverde D, Laca A, Estrada LN, Paredes B, Rendueles M, Díaz M. 2016. Egg yolk and egg yolk fractions as key ingredient for the development of a new type of gels. *International Journal of Gastronomy Food Science* 3: 30–37.

Vargas PA, Hernández VD. 2012. Harinas y almidones de yuca, ñame, camote y ñampi: propiedades funcionales y posibles aplicaciones en la industria alimentaria. *Tecnología en Marcha* 26:37-45.

Vernon EJ, González H, Jarquín C. 1986. Rheological properties of mesquite and arabic gum films at the oil-water interface. *Theoretical and Applied Developments in Rheology*, 51-62.

Virani SS, Woodard LD, Chitwood SS, Landrum CR, Urech TH, Wang D, Petersen LA. 2011. Frequency and correlates of treatment intensification for elevated cholesterol levels in patients with cardiovascular disease. *American heart journal* 162(4):725-732.

Wang S, Smith DE, Williams DL. 1983. Purification of avian vitellogenin III: comparison with vitellogenins I and II. *Biochemistry* 22:6206-6212.

Walker B. 1984. Gums and stabilisers in food formulations. In: Phillips G.O.; Wedlock D.J.; Williams P.A. (Eds.), *Gums and stabilisers for the food industry 2*, Elsevier Applied Science and Publishers, Barking, England

Wang B, Wang L, Li D, Adhikari B, Shi J. 2011. Effect of gum Arabic on stability of oil-in-water emulsions stabilized by flaxseed and soybean protein. *Carbohydrate Polymers* 86:343-351.

Wang Y, Li D, Wang L-J, Adhikari B. 2011. The effect of addition of flaxseed gum on the emulsion properties of soybean protein isolate (SPI). *Journal of Food Engineering* 104:56–62.

Wang S, Zhu F. 2016. Formulation and quality attributes of quinoa food products. *Food and bioprocess technology* 9(1):49-68.

Warren MW, Brown HG, Davis DR. 1988. Solvent extraction of lipid components from egg yolk solids. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 65(7): 1136-1139.

Whistler RL. 1973. Factors influencing gum costs and applications. In Whistler R.L.; BeMiller J.N. (Eds.), *Industrial gums*. Second edition, Academic Press: San Diego.

Whistler RL, Daniel JR. 1985. Carbohydrates. In Fennema O.R. (Ed.). *Food chemistry*. Second edition, Marcel Dekker: New York.

- White EV.1946. The constitution of mesquite gum.I. The methanolysis products of methylated mesquite gum. *Journal of American Chemistry Society*.68:272-275.
- White EV. 1947a. The constitution of mesquite gum. II. Partial hydrolysis of mesquite gum. *Journal of American Chemistry Society*.69:622-623.
- White EV. 1947b.The constitution of mesquite gum. III. Hexamethyl-3-glucuronosido-methyl-galactoside methyl ester. *Journal of American Chemistry Society*. 69: 2264-2266.
- White EV.1948. The constitution of mesquite gum. IV. 4-Methoxy-D-glucuronic acid. *Journal of American Chemistry Society*. 70: 367-369.
- Williams J.1962. Serum proteins and the livetins in hen's-egg yolk *Biochemistry Journal* 83:346–355.
- Williams J, Elleman TC, Kingston IB, Wilkins AG, Kuhn KA. 1982. The primary structure of hen ovotransferrin.*European Journal of Biochemistry* 122:297–303.
- Williams P, Phillips G. 2000. *Handbook of Hydrocolloids*. Woodhead Publishing. Cambridge University Press.
- Kawasaki M, Matsuda T, Nakamura Y, Ueno O, Taniguchi M, Nitta Y, Miyake H. 2002. Structural and immunocytochemical characterization of the synthesis and accumulation of starch in sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) tuberous root. *Plant production science*, 5(2): 152-159.
- Ye A., Hemar Y, Singh H. 2004. Influence of polysaccharides on the rate of coalescence in oil-in-water emulsions formed with highly hydrolyzed whey proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52,5491-5498.
- Zhen M, Boye J. 2012. Advances in the Design and Production of Reduced-Fat and Reduced-Cholesterol Salad Dressing and Mayonnaise: A Review. *Food and Bioprocess Technology* 6(3):648-670.

11. RESUMEN BIOGRÁFICO

Minerva Bautista Villarreal

Candidato para el Grado de

Doctor en Ciencias con acentuación en Alimentos

Tesis: DISEÑO DE MEMBRANA INTERFACIAL PARA ALIMENTOS
EMULSIONADOS COMO FUENTE DE ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS

Campo de Estudio: Alimentos

Datos personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León, el 20 de Febrero de 1990.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido
Licenciado en Ciencia de Alimentos en 2011.

**TESIS: “EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA GOMA DE CHÍA
(*Salvia hispanica L.*) Y SU APLICACIÓN EN LA ESTABILIDAD DE
EMULSIONES ACEITE EN AGUA”**

Experiencia Profesional:

INDUSTRIA

- Desarrollo de sabores y asesoría técnica para su aplicación en la industria alimentaria 2011-2012

DOCENCIA

- Docencia en la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL desde 2015.

Congresos y Constancias

- **XI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.** Monterrey N.L, México. 31 Agosto – 1° Septiembre de 2009.
 - **SIIA. 1er Simposio de Ingeniería en Industrias Alimentarias.** Escobedo, N.L, México. 2 y 3 de Septiembre de 2010.
 - **XXXII Encuentro Nacional y 1er. Congreso Internacional de la AMIDIQ.** Riviera Maya Quintana Roo, México. 3 al 6 Mayo de 2011.
 - **XIII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.** Zacatecas, Zacatecas México. 26 y 27 Mayo de 2011.
 - **XV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.** Colima, Colima México. 23 y 24 Mayo del 2013.
 - **Latin Food 2016.IAFP's 5th Latin American Symposium in Food Safety 7th Food Science, Biotechnology and Safety Meeting.** 9 al 11 de Noviembre de 2016.
 - **Congreso Internacional sobre Inocuidad Alimentaria. Congreso Nacional sobre Sostenibilidad ante el Desperdicio de Alimentos.** Universidad Autónoma de Chihuahua, 15 al 17 de Noviembre de 2017.
 - **Comité Organizador del XX Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos y V Congreso Internacional sobre Innovación y Tendencias en el Procesamiento de Alimentos** 23 al 25 de Mayo del 2018.
-








Cursos

- **I Curso-Taller “Sistema Integral de Inocuidad y Aplicación HACCP”** Monterrey, N. L. 15 al 17 de Noviembre de 2011.
 - **Taller de propiedad intelectual. Búsqueda tecnológicas y redacción de patentes”** Monterrey, N. L. 8 al 22 de Octubre de 2012.
 - **Taller Intensivo para el Desarrollo de Patentes Tecnológicas.** Monterrey, Nuevo León. 13 al 18 de Junio de 2016
 - **Reformas a la Ley de la Propiedad Industrial.** Centro de Incubación de Empresas y Transferencia de Tecnología-UANL, 10 de Julio de 2018.
-

•

Article

Comparative Reduction of Egg Yolk Cholesterol Using Anionic Chelating Agents

Minerva Bautista Villarreal ¹, Claudia T. Gallardo Rivera ¹, Eristeo García Márquez ², José Rodríguez Rodríguez ³, María Adriana Núñez González ¹, Abelardo Chávez Montes ⁴ and Juan G. Báez González ^{1,*}

¹ Departamento de Alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, C.P. 66455 San Nicolás de los Garza, Mexico; minerva.bautistavl@uanl.edu.mx (M.B.V.); claudia.gallardorv@uanl.edu.mx (C.T.G.R.); maria.nunezgn@uanl.edu.mx (M.A.N.G.)

² Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Unidad Noreste, Parque PIIT, vía de la innovación 404, C.P. 66600 Apodaca, Mexico; egarcia@ciatej.mx

³ Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM), Escuela de Ingeniería y Ciencias, Av. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Col. Tecnológico, C.P. 64849 Monterrey, Mexico; jrr@itesm.mx

⁴ Departamento de Química, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, C.P. 66455 San Nicolás de los Garza, Mexico; abelardo.chavezmn@uanl.edu.mx

* Correspondence: juan.baezgn@uanl.edu.mx; Tel.: +011-52-81-83-29-4000 (ext. 3654)

Academic Editors: Lillian Barros and Isabel C.F.R. Ferreira

Received: 1 November 2018; Accepted: 2 December 2018; Published: 5 December 2018



Abstract: Egg yolk is used as an emulsifying agent. Nevertheless, its high concentration of cholesterol is linked to chronic degenerative diseases that cause cardiovascular disease. In this study, three methods for reducing the level of cholesterol in egg yolks were studied. The first method consisted of physical separation of the granules contained in the yolk (Na_G). The second method applied was the use of anionic chelating biopolymers, such as arabic gum solution (AG) and mesquite gum solution (MG), and the third method was extraction with a solvent (S_A). For this purpose, the cholesterol present in egg yolks, the microstructure, particle size, zeta potential, and its emulsifying capacity were determined. The amount of cholesterol removed was 97.24% using 1% mesquite gum ($\text{MG}_{1\%}$), and 93.26% using 1% Arabic gum ($\text{AG}_{1\%}$). The zeta potential was determined, and the isoelectric point ($\zeta = 0$) of egg yolk was identified as pH 4.6. While, at this pH, the zeta potential of mesquite gum was -14.8 mV, the zeta potential for the arabic gum was -16 mV. The emulsifying capacity of $\text{MG}_{1\%}$ was 62.95%, while the emulsifying capacity of $\text{AG}_{1\%}$ was 63.57%. The complex obtained can be used in the development of functional foods reduced in cholesterol.

Keywords: egg yolk; cholesterol extraction; granules extraction; anionic chelating biopolymers

1. Introduction

Egg yolk is a good source of lutein, zeaxanthin, proteins, lipids, and vitamins in human nutrition and is made up of practically 50% solids. The major constituents of the solid matter are lipids (65–70% on dry basis) and proteins (30% on dry basis). The proteins present are livetins, lipoproteins [1], and some particles including high-density lipoproteins (HDLs), low-density lipoproteins (LDLs), and phosvitin [2,3].

Egg yolk is an efficient ingredient in many food products, and its functional properties include emulsifying, coagulating, foaming, and gelling properties [4]. Moreover, it contains proteins, vitamins, minerals, essential fatty acids, phospholipids, and other compounds. However, it has high cholesterol

content; one simple egg contains between 200 mg and 300 mg of cholesterol/100 g; therefore, it almost meets the dietary intake limit set by the American Heart Association of <300 mg/day [3,5]. Consuming products with a high amount of cholesterol can result in cardiovascular disease. Clinical studies demonstrate that dietary cholesterol may increase serum LDL in certain individuals (hyper-responders). This is generally accompanied by an increase in HDLs [6]. Sichittiano et al. [7] undertook a review of nutraceuticals and functional food ingredients that are beneficial to vascular health. Grape seeds can reduce blood lipid levels, since it includes proanthocyanidins (polyphenols), which seem to play the main role in this process. Proanthocyanidins reduce the levels of triacylglycerol in chylomicrons and in very-low-density lipoproteins (VLDLs) [8]. Other functional ingredients are anthocyanins, which act on LDLs and HDLs. The influence on the lipid profile of anthocyanin supplements obtained from berries was evaluated in dyslipidemic patients. A decrease in LDLs was observed in patients after 12 weeks of treatment [9]. Mesquite gum has some phenolic compounds that are trapped in the gum matrix, and these substances are involved in the defense of the plant; in addition, the polymerization of these compounds produces polyphenols, resulting in brown or yellow gum [10].

Several researchers worked on different ways of decreasing the amount of cholesterol present in egg yolks. Warren et al. [11] used solvents such as hexane. Hexane forms a blend with egg yolk solids, but it requires a process of filtering to remove the solvent and a prolonged drying period. The yield reported was 62.2% cholesterol. Borges et al. [12] used a ratio of 1:12 *w/w* (yolk/acetone), and the emulsifying properties were maintained.

Paraskevopoulou et al. [13] extracted cholesterol from egg yolk with ethanol/water 20:80 (*v/v*), and 1.5% (*w/v*) polysorbate 80; after that, the dispersion was then centrifuged, and the yolk precipitate had 7.1 ± 0.3 mg of cholesterol. Laca et al. [14] worked on the extraction of egg yolk granules. In this process, egg yolk was mixed with water (1:15 *v/v*), the pH was adjusted to 7, and it was kept overnight at 4 °C; the granules had a concentration of 291 mg of cholesterol/100 g of egg yolk, equivalent to a reduction of 77% cholesterol. Another method involved the reduction of cholesterol using β -cyclodextrin (β -CD) due to its affinity for non-polar molecules such as cholesterol [15]. Jeong et al. [16] reported that cholesterol removal was 92.76% when using 25% crosslinked β -CD at 40 °C. Chiu et al. [17] used the immobilization of β -cyclodextrin in chitosan beads (Ch-BCD) by cross-linking with 1,6 hexamethylene diisocyanate (HMDI) reagent for cholesterol absorption from egg yolk, removing 92% of the cholesterol. That cholesterol was removed using 1% *w/v* Ch-BCD for 2 h at a proportion 1:30 yolk to water, and a mixture of β -cyclodextrins with chitosan. Garcia et al. [18] used high-methoxyl pectin at a concentration of 3% *w/w*, ionic strength 0.39 M, and pH equal to 9.2, and subsequently obtained a reduction of 88.6% cholesterol. Hsieh et al. [19] developed a complex of egg yolk and acacia gum applying the following concentrations: 1%, 3%, 5%, and 10% (*w/w*) with cholesterol extraction rates of 70%, 86%, 79%, and 59%, respectively.

Meanwhile, anionic biopolymers, such as gum ghatti, gum tragacanth, gum karaya, xanthan gum, and especially, Arabic gum (AG), are chelating agents, forming complexes with lipoproteins in the yolk. Lipoprotein molecules are positively charged, and anionic polysaccharides are used as chelating agents, controlling pH and temperature [20].

The methods mentioned above for removing cholesterol are complicated because solvents are used, thus prolonging the extraction time. It was shown that the use of biopolymers, including commercial arabic gum, decreases the concentration of cholesterol present in the egg yolk. However, the shortage of arabic gum, due to drought in the regions where it is produced, stimulated the search for other botanical sources that offer greater security of supply and costs [21]. Therefore, the use of mesquite gum as an alternative to arabic gum is proposed in this study. Mesquite gum (MG) has an ability to stabilize colloidal particles (1–100 μ m), which it disperses or emulsifies. This property is manifested due to protein arabinogalactans, which allow adsorption in liquid–liquid interfaces [22,23]. The aim of this work was to reduce the amount of cholesterol present in egg yolk by preparing a complex of biopolymer mesquite gum–yolk and arabic gum–yolk, before comparing the results with cholesterol extraction using a solvent, and with physical separation of the granule using sodium chloride.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

Eggs were purchased from the local market (commercial brand name “El Dorado”; a box containing 30 white eggs, expiration date 9 April 2018, batch 043501). Salt, sugar, and vinegar were purchased at the supermarket. The separation of the yolk from albumen was undertaken manually. The vitelline membrane was then cut with a scalpel blade, and the content of the yolk was collected in a glass vessel. The yolk was then mixed gently with a glass rod. The solution was maintained at 4 °C in refrigeration (pH 7). The arabic gum and mesquite gum were purchased from Natural Products of Mexico (Yautepec, Morelos, México), and the gum was purified according to the method of Vernon et al. [23]. Sodium chloride, acetone, ethanol, and hexane reagent-grade chemicals were purchased from Desarrollo de Especialidades Químicas (Monterrey, Nuevo León, México); the cholesterol standard was obtained from Sigma-Aldrich Chemical (Toluca, México). Deionized water was used in all the experiments.

2.2. Cholesterol Reduction in Egg Yolk

The egg yolk was treated with physical separation, polysaccharides (arabic gum and mesquite gum), and a solvent for reducing the cholesterol content. The first process was the physical separation of the granules contained in the yolk (Na_G) using aqueous salt solution and separation through centrifugation. Another process was the separation of cholesterol using complexation with biopolymers, arabic gum (AG) and mesquite gum (MG). In the third method, acetone extraction (S_A) was used.

2.2.1. Egg Yolk Granule Extraction (Na_G)

The cholesterol was removed using the method of Laca et al. [14], with a few modifications; 8.5 g of egg yolk and 11.4 g of 0.15 M NaCl solution (1:1.34) was mixed with a vortex for 1 min at 25 °C. The content was centrifuged (Hermle Labnet Z326, Labnet International, Inc., Wehingen, Germany) at $10,000 \times g$ for 45 min at 25 °C. Finally, the compounds were separated carefully from the aqueous fraction through decantation. The product obtained was lyophilized, and was stored at -20 °C until analysis with GC.

2.2.2. Anionic Polysaccharide/Egg Yolk Complexes

Complex formation was obtained based on the methodology reported by Hsieh et al. [19]. Stock solutions of arabic gum were prepared at 1% ($\text{AG}_{1\%}$), 3% ($\text{AG}_{3\%}$), and 10% ($\text{AG}_{10\%}$), in addition to 1% ($\text{MG}_{1\%}$), 3% ($\text{MG}_{3\%}$), and 10% ($\text{MG}_{10\%}$) mesquite gum. All solutions were maintained in constant agitation all night long. All concentrations are given in ratios of weight/weight (w/w).

Firstly, 3 g of egg yolk was mixed with 1 g of gum solution (at the concentrations mentioned above) and 4 g of water. The solution was mixed for 1 min in a vortex (Mixer Labnet International, Edison, NJ, USA); it was then centrifuged (Hermle Labnet Z326, Labnet International, Inc., Wehingen, Germany) at $6000 \times g$ for 15 min at 25 °C. After that, the supernatant was decanted, and then aggregated with 0.5 g of solution (0.9 M NaCl); this was mixed for 1 min in the vortex. Then, 6 g of ethanol was poured and mixed in the vortex for 1 min at 25 °C, and centrifuged at $6000 \times g$ for 15 min. After that, the solution was decanted; 6 g of ethanol was added to the lipoprotein/anionic biopolymer complexes, and the solution was mixed, before being carefully decanted. The precipitate complex was quantified [19]. Samples were lyophilized and stored at -20 °C until analysis with GC.

2.2.3. Solvent Extraction

Extraction of cholesterol with a solvent (S_A) was performed using the method described by Borges et al. [12] using a ratio (w/w) of 1:12 (yolk/acetone), and mixing at 100 rpm for 2 min in the

stirrer (EURO-ST 60 D S001, IKA, Wilmington, NC, USA). This permitted the separation of the sample after 10 min, and the solvent of the precipitate was carefully decanted. Finally, the precipitate was washed with water. The samples were lyophilized and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis with GC.

2.3. Quantification of Cholesterol Using Gas Chromatography

Method 26.052 of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) [24] was used. For the acid hydrolysis, 0.2 g of the sample was mixed with 2 mL of methanol, and 7% H_2SO_4 (*v/v*). Next, the sample was heated for 90 min at $80\text{ }^{\circ}\text{C}$; after that, the sample was cooled at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Then, 3 mL of hexane was added and mixed for 1 min in the vortex (Mixer Labnet International, Inc., Edison, NJ, USA). The solution was kept for 15 min until the formation of two phases was completed; the process was performed twice. The supernatant recovered was mixed and diluted into a 10-mL flask with hexane. Subsequently, the solution was analyzed with GC (7890B, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), coupled to a mass spectrometer (5977A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), and equipped with an HP-5MS capillary column (length: 30 m; inner diameter (ID): 0.25 mm; film thickness: 0.25 μm). The injected sample was 1 μL on split mode. The chromatographic conditions were as follows: column temperature $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, kept for 1 min; increased to $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ at $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, maintained for 2 min; increased to $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ at $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, maintained for 7 min. The temperature of the injector was $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the temperatures of the ion source and quadruple were $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectively. The carrier gas helium flow rate was 1 mL/min. The ionization with electron impact was 70 eV and the scan acquisition mode had a range of 30 to 400 UMA. The calibration curve was done with a cholesterol standard of 20 to 120 ppm.

2.4. Particle Size Measurement

The particle size distribution of the samples ($\text{AG}_{1\%}$, $\text{AG}_{3\%}$, $\text{AG}_{10\%}$, $\text{MG}_{1\%}$, $\text{MG}_{3\%}$, $\text{MG}_{10\%}$, S_A , and Na_G), and the yolk were monitored using a Malvern Mastersizer 3000 (Malvern Instruments, Ltd, Worcestershire, UK) particle size analyzer with a unit of Hydro LV with water as a dispersant. The angular scattering intensity data were analyzed to calculate the size of the particles, creating a scattering pattern using the Mie theory of light scattering. The software calculated the particle size distribution ($D_{(3,2)}$). Optical properties of the sample were defined as a refractive index 1.460 and an absorption of 0.1.

2.5. Zeta Potential (ζ)

The zeta potential was determined using dynamic light scattering equipment Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Worcestershire, England, UK). The measurements were carried out using a universal dip cell (ZEN 1002, Malvern Instrument, Worcestershire, UK) at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, using the diluted solutions. The zeta potential is related to the velocity of the solutions in an electric field. The equipment software converts the electrophoretic mobility measurements into zeta potential values using the Smoluchowski model [25]. The zeta potential of egg yolk/polysaccharide solutions at different pH levels was measured with the method of Navidghasemizad et al. [26]. About 0.1 g of sample was diluted to a final volume of 20 mL using distilled water, and the pH was adjusted to values of 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, and 10.0 using 0.1 M HCl or 0.1 M NaOH solution while stirring the samples. Both complexes, yolk/AG and yolk/MG, were monitored for the zeta potential. The zeta potential was calculated from the average of three measurements of the diluted solutions.

2.6. Emulsifying Capacity

Samples were prepared individually, and 10 g of sample was mixed (Na_G , S_A , $\text{AG}_{1\%}$, and $\text{MG}_{1\%}$, samples with high yield) with salt (1.59%), sugar (1.06%), and water (11%), separately. Then, the vinegar (3.17%) was added and kept under constant stirring at 300 rpm in the stirrer (IKA Eurostar 60 digital) for 10 min. The test ended when it was not possible to integrate more oil contained in the burette (V_{oil}),

and a layer was observed on the surface of the emulsion ($V_{Emulsion}$) [27]. The values were estimated as percentage of emulsified oil (%EC) in total emulsion using Equation (1).

$$\%EC = \frac{V_{oil}}{V_{Emulsion}} \times 100 \quad (1)$$

2.7. Microstructure Analysis

The topology was analyzed employing scanning electron microscopy (SEM) obtained with the methodology reported by Valverde et al. [28]. Briefly, the samples were fixed overnight in 3% glutaraldehyde in 25 mM phosphate buffer (pH 3.25). After that, the samples were consecutively dehydrated with 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% ethanol. Then, the ethanol was consecutively removed with 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% acetone, and the samples were analyzed. Finally, they were dried at a pressure of 1×10^{-2} Torr (soft vacuum) in a vacuum desiccator. The dried sample was placed on aluminum SEM stubs and coated with gold/palladium. The microscope used was a JSM-6490LV (JEOL, Tokyo, Japan).

2.8. Color Analysis

The granules were measured for color in the lightness L^* , redness (a^*), and yellowness (b^*) system. Measurements were carried out using a ColorFlex EZ (Hunter Lab, Reston, VA, USA). A fixed amount of sample was poured into the measurement cell, and analyses were conducted in specular exclusion mode.

The color changes are expressed as ΔE with the color of the egg yolk as a reference sample [29]; hence, ΔE is the total color change due to the different contributions calculated using Equation (2).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (2)$$

2.9. Statistical Analysis

All measurements were performed in triplicate, and ANOVA was performed with a confidence level of 95% ($p < 0.05$) using SPSS 20 software (IBM, SPSS Inc, Chicago, IL, USA). To determine the statistically significant difference between values, a one-way variance analysis and a Tukey test were performed.

3. Results and Discussion

3.1. Cholesterol Removal in Egg Yolk

The process of extracting egg yolk granules, and chelating with arabic gum and mesquite gum was used as an alternative to preparing yolk with a high concentration of protein and low cholesterol as a functional ingredient in the food industry, especially due to its functional attributes, such as foaming capacity, high level of phosphatidylcholine and high-density lipoprotein, and emulsifying and binding properties [28,30]. Notwithstanding the process, other properties, such as the emulsifying of oil, are reduced. In order of importance, the removal of cholesterol from lower to highest was $Na_G < S_A < AG < MG$. The cholesterol removed from the egg yolk with Na_G (Table 1) was the least effective method (51.43%). It was previously reported that the Na_G method with ionic solvent removed cholesterol and increased the protein content. The method is relatively fast and inexpensive. The results obtained in the laboratory were compared with those obtained by Strixner and Kulozik [31]. Based on our data, the removal of cholesterol with solvent was the second best method for cholesterol removal (64.15%). However, Martucci and Borges [32] reported a six-stage extraction system of 92% cholesterol removal in a computer simulation study.

Table 1. Cholesterol removal, efficiency, and emulsifying capacity of the different methods.

Method	% Cholesterol Reduction (pH 7)	% Cholesterol Reduction (pH 3)	% Efficiency (pH 7)	% Efficiency (pH 3)	Emulsifying Capacity (% w/w)
Na _G	51.43 ± 1.86 ^e	—	15.48 ± 1.31 ^d	—	79.52 ± 2.01 ^b
AG _{1%}	93.26 ± 0.55 ^{ab}	74.74 ± 1.10 ^{ab}	29.72 ± 0.29 ^c	3.72 ± 0.67 ^d	63.57 ± 1.43 ^d
AG _{3%}	83.85 ± 3.80 ^c	56.34 ± 0.57 ^b	44.17 ± 3.35 ^{ab}	4.38 ± 0.44 ^d	—
AG _{10%}	89.93 ± 2.31 ^b	86.33 ± 1.45 ^a	37.37 ± 1.88 ^b	16.42 ± 0.84 ^{bc}	—
MG _{1%}	97.24 ± 1.81 ^a	87.75 ± 1.25 ^a	13.50 ± 0.5 ^{de}	12.14 ± 0.41 ^c	62.95 ± 0.84 ^d
MG _{3%}	96.68 ± 1.01 ^a	92.55 ± 1.20 ^a	14.85 ± 1.06 ^{de}	19 ± 2.14 ^b	—
MG _{10%}	96.60 ± 2.04 ^a	80.31 ± 2.30 ^a	11.17 ± 0.72 ^e	46.54 ± 3.38 ^a	—
S _A	64.15 ± 1.29 ^d	—	44.51 ± 0.7 ^a	—	72.33 ± 1.02 ^c
Egg yolk	—	—	—	—	85.06 ± 0.051 ^a

Note: Differing letters within a column are significantly different ($p < 0.05$) ± standard deviation ($n = 3$). Na_G—physical separation of granules; AG—arabic gum; MG—mesquite gum; S_A—solvent extraction.

The removal of cholesterol using acetone in the laboratory was lower than the 81%, as reported by Borges et al. [12]. The removal of cholesterol was lower due to the concentration of water in the fresh yolk, the extraction time, and the acetone ratio. It was reported that the use of non-polar organic solvents prevents protein denaturation, especially in emulsifying activity, which is related to the solubility of the protein. Meanwhile, polar organic solvents reduce the emulsifying activity because they break the hydrophobic interactions between lipids and proteins. Even so, the use of solvents is not completely accepted due to the residues that may remain in the product [33].

The use of arabic gum allowed cholesterol removal between 83.85% and 93.26% (Table 1). The concentrations AG_{3%} and AG_{10%} show significant differences ($p < 0.05$). The removal of cholesterol was greater when 1% arabic gum was used. Meanwhile, when 3% and 10% arabic gum was used, the cholesterol removal was almost 83.85% and 89.93%, respectively, despite the fact that pH values were similar to neutral. The structure of arabic gum is a branched heteropolysaccharide with anionic properties. The quantity of arabic gum–yolk depends on the polyanionic properties of the gum, especially of residues of D-glucuronic acid (~2%) and D-glucuronic acid (~21%) [2,34]. The arabic gum has properties of anionic polysaccharides, which may be used as chelating agents, forming insoluble electrostatic complexes (chelating agent/lipoprotein) [18]. Navidghsemizad et al. [35] used a ratio of 50 g of fresh yolk per gram of arabic gum to observe the separation of phases at different pH levels. They concluded that the nature of the polysaccharide and pH had important effects, resulting in the phase separation behavior.

Other anionic polysaccharides were used as chelating agents [19]; however, their low solubility and high viscosity reduce their practical applications. Mesquite gum is a polysaccharide which contains acidic residues of β-D-glucuronic and 4-O-methyl-β-D-glucuronic, bound to mono-sugars or oligosaccharide chains [36,37]. The removal of high cholesterol levels when the mesquite gum solution was used was 1% w/w ($p < 0.05$). From mesquite gum MG_{1%}, MG_{3%}, and MG_{10%}, extractions of cholesterol of 97.24%, 96.68%, and 96.60%, respectively, were obtained. No significant differences were observed in the different concentrations where mesquite gum was used.

In light of our results, it can be stated that sodium chloride or acetone have a lower capacity to remove cholesterol compared to both anionic polysaccharides. The greater efficiency in cholesterol removal was obtained with mesquite gum at 25 °C. Nonetheless, obtaining complexes from mesquite gum–yolk allowed a high removal of bound cholesterol. We think that the complex obtained can be used as functional supplement, necessary for reducing the unwanted effects of cholesterol. Scicchitano et al. [7] mentioned the importance of reducing lipid levels, especially for coronary artery disease.

3.2. Particle Size Measurement

In natural conditions, the yolk is a supramolecular assembly of lipids and proteins, and a highly organized system with approximate size between 0.8 μm and 10 μm [38]. The insoluble structure of yolk has a size range between 0.3 μm and 2 μm [14]. Molecular assembly can be disorganized

into individual structures depending on the affinity of the solvent or polysaccharide used to remove cholesterol. The morphology and topology of the particle size determined using the light scattering method can be seen in Figure 1. Figure 1a,b show the granules and the complexes formed with arabic gum and mesquite gum (1%, 3%, and 10%), respectively.

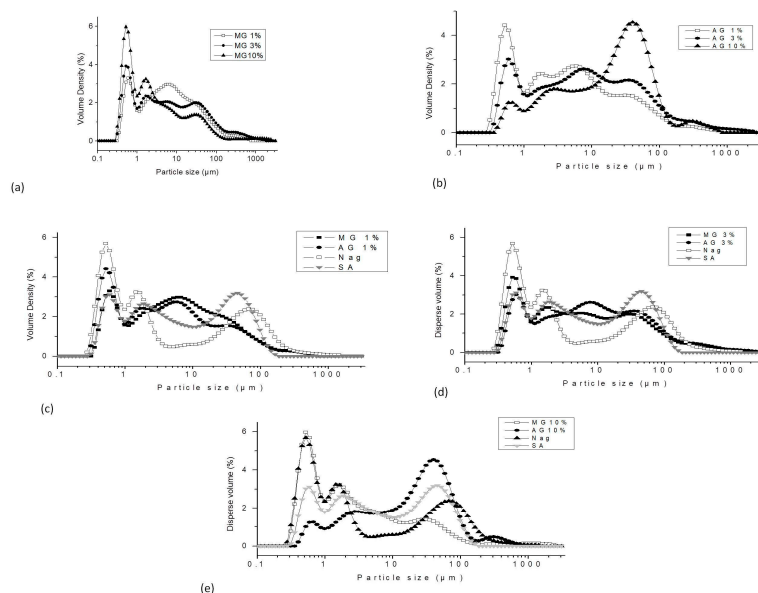


Figure 1. The average particle size: (a) \square —MG_{1%}, \bullet —MG_{3%}, and \blacktriangle —MG_{10%}; (b) \square —AG_{1%}, \bullet —AG_{3%}, and \blacktriangle —AG_{10%}; (c) \blacksquare —MG_{1%}, \bullet —AG_{1%}, \square —Na_G, and \blacktriangledown —S_A; (d) \blacksquare —MG_{3%}, \bullet —AG_{3%}, \square —Na_G, and \blacktriangledown —S_A and (e) \square —MG_{10%}, \bullet —AG_{10%}, \blacktriangle —Na_G, \blacktriangledown —S_A. MG—mesquite gum; AG—arabic gum; Na_G—physical separation of granules; S_A—solvent extraction.

Regarding the distribution of proteins, the structure of the supramolecular system contains many particles of different sizes, three of which are of special interest: the HDLs, which range from 7 to 20 nm; the micelles formed by LDLs in the egg yolk plasma, which range from 17 to 60 nm; and the LDL sources present in the yolk, which range from 80 to 350 nm [31,38]. Anton [39] and Hsieh et al. [19] mentioned that granules of yolk are composed of 70% HDLs, 16% phospholipids, and 12% LDLs. We believe that the granules obtained from solvents and polysaccharides follow the same distribution pattern. The granules and lipoprotein/anionic polysaccharide complexes had different particle size population profiles; these size profiles may be associated with the process of cholesterol removal, the anionic polysaccharides (arabic gum and mesquite gum), and concentration (Figure 1a,b; 1%, 3%, and 10%), and the ratio. The change in distribution of particle size may be due to the viscosity and the charge density of proteins diverse in egg yolk, between MG–yolk and AG–yolk complexes, including the concentration of reactive groups contained in both biopolymers, which form an electrostatic complex [40]. In macroscopic terms, the distribution of granules was separated into three different sizes, based on the chelate concentration. The concentration of chelating polysaccharides at 10% (arabic gum and mesquite gum) had a range of particle size distribution between 0.3 μ m and 600 μ m. Similarly, the same profile was obtained with low-molecular-weight chelates. The yolk–chelate ratio of 3% for both polysaccharides produced a range of granule size distribution from 0.3 μ m to 300 μ m (Figure 1d). Finally, when a high molecular weight at 1% concentration was used, the yolk–chelate reduced the size of granules to between 0.3 μ m and 250 μ m (Figure 1c). More specifically, the granules and lipoprotein complexes obtained had multimodal distributions, as described below. Figure 1e shows three different population distributions when Na_G, S_A, and AG and MG at 10% were used. The first range was from 0.3 μ m to 1 μ m, the second was from 1 μ m to 4 μ m, and the third range of distribution was from 10 μ m to 300 μ m, when using the Na_G method. The removal of cholesterol using acetone had three different populations of granule size; the range of least distribution was between 0.3 μ m and 0.9 μ m,

and the greatest range showed a variation 0.9 μm to 10 μm . Finally, particle size distribution could be observed in the range of 10 μm to 200 μm . A similar range of distribution was observed when using concentrations of 3% and 1% (both polysaccharides and solvents).

3.3. Zeta Potential (ζ)

The interaction between biopolymers may be segregative, due to steric repulsion or associative interactions such as hydrophobic interactions and hydrogen bonding [41]. Electrostatic interactions are the most common force for the complex formation [42]. The pH affected the charge of biopolymers and proteins of the egg yolk, which influenced the zeta potential (ζ) as a function of pH; AG_{3%} and MG_{3%} were studied in the pH range of 2–10.

The zeta potential of egg yolk was positive at pH values of 2 and 4 (+15.5 mV and +8.5 mV, respectively), while it was negative at pH values of 5 and 10 (Figure 2a); this was similar to the report by Navidghasemizad et al. [26], who obtained positive values in the range of pH 3–5, and, at pH 6, it was negative above the zeta potential. The isoelectric point ($\zeta = 0$) of egg yolk was found to be pH 4.6, determined from the zeta potential. While, at this pH, the zeta potential of mesquite gum was -14.8 mV, the zeta potential for the arabic gum was -16 mV. The formation of insoluble complexes appears to occur at pH 3. At this point, the density of the opposite charge between egg yolk and polysaccharides (arabic gum and mesquite gum) has practically the same magnitude. However, the percentage of cholesterol removal was lower than at pH 7. The values are shown in Table 1. The mesquite gum had values of -2.25 mV to -24.61 mV, in the acidic to basic (2 to 10) pH range. We believe that the free and exposed glucuronic acid and protein residues present in mesquite gum reacted in the different media [43] with acidic residues present in the polymer, similar to arabic gum [1]. In Figure 2b, the zeta potential profile of the yolk–3% polysaccharide complex essentially modified the isoelectric point to pH 4 for both biopolymers. For values lower than pH 4, the load profile was positive; however, for values higher than pH 4, the profile was negative.

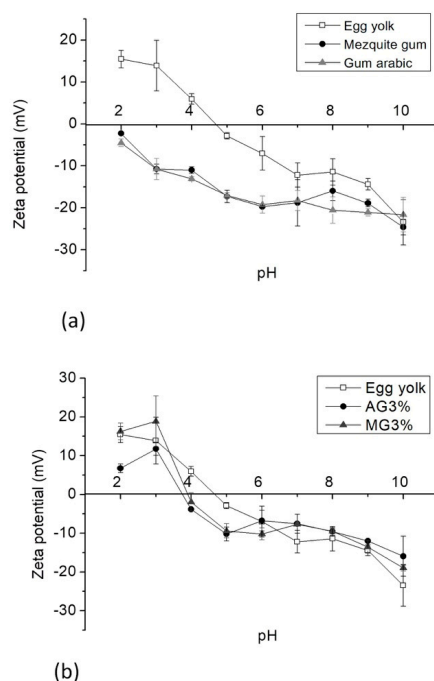


Figure 2. Average zeta potential (ζ) of (a) \square — egg yolk, \bullet — mesquite gum, and \blacktriangle — arabic gum, and (b) \square — egg yolk, \bullet — AG_{3%}, and \blacktriangle — MG_{3%}.

3.4. Emulsifying Capacity

The emulsifying properties only work in specific cases; these properties cannot be generalized. Therefore, we determined the emulsifying properties of the granules obtained, depending on the different treatments. As shown in Table 1, when comparing the emulsifying capacities of the methods discussed, the egg yolk method supports the highest percentage of oil, followed by Na_G, which is similar to the findings obtained by Laca et al [14]. In AG_{3%}, a lower emulsifying capacity than Na_G was obtained. It was reported that this is because using arabic gum to remove cholesterol allows the loss of 66% of proteins, including the yolk's emulsifying proteins, along with lipids [18].

For the egg yolk–mesquite gum complex, the emulsifying capacity of MG_{3%} was 62.95%. It is possible that the ethanol used in the washing of biopolymer–yolk complexes dissolves phospholipid cholesterol and diminishes the emulsifying capacity. A monolayer of water prevents the denaturation of the protein [44]; when using S_A, the result obtained was 72.33%. Both products of Na_G were proposed as additives with low cholesterol in products like muffins [4] and salad dressings [14]. The complex of egg yolk–mesquite gum with polyphenols can be used for the development of foods reduced in cholesterol, thereby helping avoid health problems like cardiovascular disease.

3.5. Microstructure Analysis

The microphotograph of Na_G (Figure 3g) shows irregular structures with small aggregates; it is probable these are HDL–phosvitin complexes linked by phosphocalcic bridges between the phosphate groups [45]. The microstructures of treatments with arabic gum (AG_{1%}, AG_{3%}, and AG_{10%}; Figure 3a,b,c) show small aggregates, which are probably due to the interaction of the biopolymer carboxyl groups and the lipoproteins of egg yolk. In the microphotographs of different treatments with mesquite gum (MG_{1%}, MG_{3%}, and MG_{10%}; Figure 3d,e,f), spherical structures within 2 to 5 μm of size were observed; it is probable that they correspond to the interaction between arabinogalactan proteins in mesquite gum and the lipoproteins of egg yolk [20].

The microphotograph of egg yolk shows an irregular structure because it is a complex system with several particles in suspension in a fluid that contains proteins. The microphotograph of egg yolk with acetone (S_A) shows irregular structures with small aggregates.

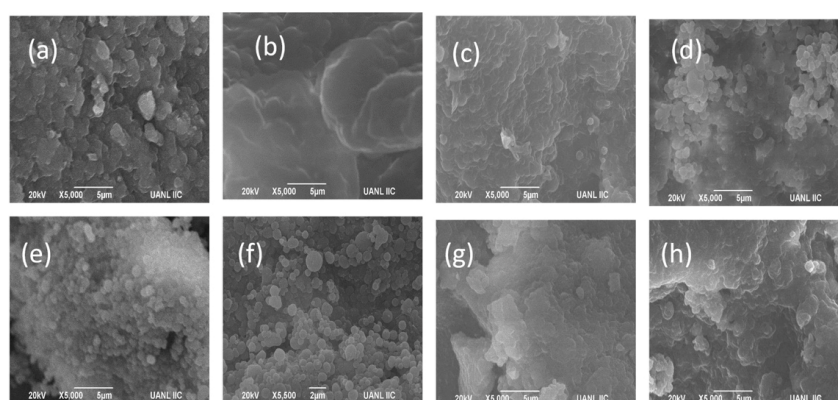


Figure 3. SEM photographs using different cholesterol extraction methods: (a) AG_{1%}, (b) AG_{3%}, (c) AG_{10%}, (d) MG_{1%}, (e) MG_{3%}, (f) MG_{10%}, (g) Na_G, and (h) S_A.

3.6. Color Analysis

The values regarding the lightness (L^*), redness (a^*), and yellowness (b^*) values are shown in Table 2. There are no significant differences for lightness L^* , while a^* and b^* values show significant differences ($p < 0.05$). The Na_G shows low (ΔE) total color change, which we can state to be similar to egg yolk; this method removes less pigment than S_A. The redness (a^*) and yellowness (b^*) values for Na_G were 1.7 and 22.73, respectively, greater than those reported for S_A (8.91 and

49.65, respectively). The color of egg yolk is attributed to carotenoids (xanthophylls, including lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, and β -carotene) [46]. We suggest that, if a large amount of cholesterol is removed, more carotenoids are also removed.

Table 2. Color measurements of different methods for cholesterol reduction.

Method	L^*	a^*	b^*	ΔE
Egg yolk	56.48 \pm 0.01 ^a	19.98 \pm 0.01 ^e	53.57 \pm 0.05 ^d	—
AG _{1%}	79.76 \pm 0.09 ^d	4.7 \pm 0.03 ^b	35.29 \pm 0.23 ^b	33.32 \pm 0.18 ^b
AG _{3%}	75.13 \pm 3.94 ^{bc}	6.73 \pm 1.74 ^c	41.29 \pm 5.04 ^c	26.03 \pm 6.13 ^a
AG _{10%}	73.41 \pm 0.01 ^b	1.95 \pm 0.00 ^a	21.58 \pm 0.05 ^a	40.44 \pm 0.08 ^c
MG _{1%}	75.12 \pm 0.01 ^{bc}	1.99 \pm 0.01 ^a	18.63 \pm 0.01 ^a	43.50 \pm 0.05 ^c
MG _{3%}	81.92 \pm 0.02 ^d	1.43 \pm 0.01 ^a	19.28 \pm 0.03 ^a	46.56 \pm 0.00 ^c
MG _{10%}	78.73 \pm 0.04 ^{cd}	4.64 \pm 0.02 ^b	33.21 \pm 0.08 ^b	33.84 \pm 0.03 ^b
S _A	82.47 \pm 0.01 ^d	1.70 \pm 0.01 ^a	22.73 \pm 0.02 ^a	42.99 \pm 2.20 ^c
Na _G	79.55 \pm 0.01 ^d	8.91 \pm 0.01 ^d	49.65 \pm 0.01 ^d	25.89 \pm 0.01 ^a

Note: Letters varying within a column are significantly different ($p < 0.05$) \pm standard deviation ($n = 3$). L^* —lightness; a^* —redness; b^* —yellowness; ΔE —total color change.

4. Conclusions

Separation efficiency of complex lipoproteins (HDLs)—mesquite gum shows a strong dependence on pH. The greatest cholesterol reduction was seen at pH 7.0. The amount of cholesterol removed was 97.24% using 1% mesquite gum (MG_{1%}), and 93.26% using 1% arabic gum (AG_{1%}). This is a consequence of the chemical composition in the chelate (mesquite gum or arabic gum) and yolk. The use of mesquite gum shows structural changes in the form of definite spheres with a low size in comparison with arabic gum, observed using SEM. The high removal of cholesterol contained in the egg yolk using mesquite gum or arabic gum reduced the primary emulsifying capacity of the egg yolk. The use of mesquite gum to remove cholesterol is an alternative method that does not require organic solvents. The use of 3% mesquite gum removed 12.83% more cholesterol than the same concentration of arabic gum. The complex obtained can be used in the development of functional foods reduced in cholesterol.

Author Contributions: M.B.V., J.G.B.G., and E.G.M. designed and led the research, and wrote the paper. M.A.N.G. collaborated in the experimental phase of research. J.R.R. collaborated in the experimental phase of research. A.C.M. collaborated in the experimental phase of research. C.T.G.R. collaborated in the experimental phase of research.

Funding: The authors would like to thank the “Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología” (CONACyT) of Mexico for partial financing of this project through grant #277814, as well as through the grant Problemas nacionales-2015-01-1470 and the grant CONACyT CB-157511.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Sarika, P.; Pavithran, A.; James, N.R. Cationized gelatin/gum arabic polyelectrolyte complex: Study of electrostatic interactions. *Food Hydrocolloids* **2015**, *49*, 176–182. [[CrossRef](#)]
2. Islam, A.; Phillips, G.; Slijivo, A.; Snowden, M.; Williams, P. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. *Food Hydrocolloids* **1997**, *11*, 493–505. [[CrossRef](#)]
3. Miranda, J.M.; Anton, X.; Valbuena, C.R.; Saavedra, P.R.; Rodríguez, J.A.; Lamas, A.; Franco, C.M.; Cepeda, A. Egg and egg-derived foods: Effects on human health and use as functional foods. *Nutrients* **2015**, *7*, 706–729. [[CrossRef](#)]
4. Marcet, I.; Collado, S.; Paredes, B.; Díaz, M. Rheological and textural properties in a bakery product as a function of the proportions of the egg yolk fractions: Discussion and modelling. *Food Hydrocolloids* **2015**, *54*, 119–129. [[CrossRef](#)]

5. Sun, Y.; Yang, H.; Zhong, X.; Zhang, L.; Wang, W. Ultrasonic-assisted enzymatic degradation of cholesterol in egg yolk. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* **2011**, *12*, 505–508. [[CrossRef](#)]
6. Lordan, R.; Tsoupras, A.; Mitra, B.; Zabetakis, I. Dairy fats and cardiovascular disease: Do we really need to be concerned? *Foods* **2018**, *7*, 29. [[CrossRef](#)]
7. Scicchitano, P.; Cameli, M.; Maiello, M.; Modesti, P.A.; Muiesan, M.L.; Novo, S.; Palmiero, P.; Saba, P.S.; Pedrinelli, R.; Ciccone, M.M. Nutraceuticals and dyslipidaemia: Beyond the common therapeutics. *J. Funct. Foods* **2014**, *6*, 11–32. [[CrossRef](#)]
8. Quesada, H.; Díaz, S.; Pajuelo, D.; Fernández, A.; Garcia, S.; Pujadas, G.; Salvadó, M.J.; Arola, L.; Bladé, C. The lipid-lowering effect of dietary proanthocyanidins in rats involves both chylomicron-rich and VLDL-rich fractions. *Br. J. Nutr.* **2012**, *108*, 208–217. [[CrossRef](#)]
9. Qin, Y.; Xia, M.; Ma, J.; Hao, Y.; Liu, J.; Mou, H.; Cao, L.; Ling, W. Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, *90*, 485–492. [[CrossRef](#)]
10. Trejo, J.L. Establecimiento de un cultivo de células en suspensión de *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M. C. Johnst. para la producción de goma de mezquite. Ph.D. Thesis; Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa: Cd. de México, México, December 2010.
11. Warren, M.; Brown, H.; Davis, D. Solvent extraction of lipid components from egg yolk solids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1988**, *65*, 1136–1139. [[CrossRef](#)]
12. Borges, S.; Martucci, E.; Müller, C. Optimization of the extraction of cholesterol from dehydrated egg yolk using acetone. *LWT-Food Sci. Technol.* **1996**, *29*, 687–690. [[CrossRef](#)]
13. Paraskevopoulou, A.; Kiosseoglou, V. Texture profile analysis of heat-formed gels and cakes prepared with low cholesterol egg yolk concentrates. *J. Food Sci.* **1997**, *62*, 208–211. [[CrossRef](#)]
14. Laca, A.; Sáenz, M.; Paredes, B.; Díaz, M. Rheological properties, stability and sensory evaluation of low-cholesterol mayonnaises prepared using egg yolk granules as emulsifying agent. *J. Food Eng.* **2010**, *97*, 243–252. [[CrossRef](#)]
15. Alonso, L.; Fox, P.; Calvo, M.V.; Fontecha, J. Effect of beta cyclodextrin on the reduction of cholesterol in ewe's milk manchego cheese. *Molecules* **2018**, *23*, 1789. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Jeong, H.; Sun, H.; Chogsom, C.; Kwak, H. Cholesterol removal from whole egg by crosslinked β -cyclodextrin. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* **2014**, *27*, 537–542. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Chiu, S.H.; Chung, T.W.; Giridhar, R.; Wu, W.T. Immobilization of β -cyclodextrin in chitosan beads for separation of cholesterol from egg yolk. *Food Res. Inter.* **2004**, *37*, 217–223. [[CrossRef](#)]
18. García, E.E.; Reis, J.S.; Minim, L.A.; Freitas, J. Cholesterol removal in liquid egg yolk using high methoxyl pectins. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *69*, 72–78. [[CrossRef](#)]
19. Hsieh, R.J.; Snyder, D.P.; Ford, E.W. Method for Removing Cholesterol and Fat from Egg Yolk by Chelation and Reduced-Cholesterol Egg Product. U.S. Patent 5,302,405, 12 April 1994.
20. López, Y.L.; Goycoolea, F.M.; Valdez, M.A.; Calderón, A.M. Goma de mezquite: Una alternativa de uso industrial. *Interciencia* **2006**, *3*, 183–189.
21. Pérez, J.; Barrios, E.; Róman, A.; Pedroza, R. Interacción goma de mezquite-quitosano en la interfase y su influencia en la estabilidad de emulsiones múltiples W1/O/W2. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* **2011**, *10*, 487–499.
22. Moreno, M.B.; Sánchez, M. Mesquite gum as a novel reducing and stabilizing agent for modified tollens synthesis of highly concentrated Ag nanoparticles. *Materials* **2016**, *9*, 817. [[CrossRef](#)]
23. Vernon, E.J.; Sherman, P. Rheological properties and applications of mesquite tree (*Prosopis Juliflora*) gum. 1. Rheological properties of aqueous mesquite gum solutions. *J. Texture stud.* **1980**, *11*, 339–349. [[CrossRef](#)]
24. Liu, K.S. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic analysis of lipids in biological materials. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, *71*, 1179–1187. [[CrossRef](#)]
25. García, E.; Higuera, I.; Espinosa, H. Design of fish oil-in-water nanoemulsion by microfluidization. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* **2017**, *40*, 87–91. [[CrossRef](#)]
26. Navidghasemizad, S.; Temelli, F.; Wu, J. Phase separation behavior of egg yolk suspensions after anionic polysaccharides addition. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *117*, 297–303. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. McClements, D.J. Characterization of emulsion properties. In *Food Emulsions: Principles, Practice, and Technique*, 3rd ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2016; pp. 624–625. ISBN 978-1-4987-2669-6.

28. Valverde, D.; Laca, A.; Estrada, L.N.; Paredes, B.; Rendueles, M.; Díaz, M. Egg yolk and egg yolk fractions as key ingredient for the development of a new type of gels. *Int. J. Gastronomy Food Sci.* **2016**, *3*, 30–37. [[CrossRef](#)]
29. Santipanichwong, R.; Supphantharika, M. Carotenoids as colorants in reduced-fat mayonnaise containing spent brewer's yeast β -glucan as a fat replacer. *Food Hydrocolloids* **2007**, *21*, 565–574. [[CrossRef](#)]
30. Laca, A.; Paredes, B.; Rendueles, M.; Díaz, M. Egg yolk granules: Separation, characteristics and applications in food industry. *LWT-Food Sci. Technol.* **2014**, *59*, 1–5. [[CrossRef](#)]
31. Strixner, T.; Kulozik, U. Continuous centrifugal fractionation of egg yolk granules and plasma constituents influenced by process conditions and product characteristics. *J. Food Eng.* **2013**, *117*, 89–98. [[CrossRef](#)]
32. Martucci, E.; Borges, S. Extraction of cholesterol from dehydrated egg yolk with acetone: Determination of the practical phase equilibrium and simulation of the extraction process. *J. Food Eng.* **1997**, *32*, 365–373. [[CrossRef](#)]
33. Puertas, G.; Vázquez, M. Advances in techniques for reducing cholesterol in egg yolk: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2018**, 1–11. [[CrossRef](#)]
34. Gils, P.S.; Ray, D.; Sahoo, P.K. Designing of silver nanoparticles in gum arabic based semi-IPN hydrogel. *Int. J. Biol. Macromol.* **2010**, *46*, 237–244. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Navidghasemizad, S.; Temelli, F.; Wu, J. Physicochemical properties of leftover egg yolk after livetins removal. *LWT-Food Sci. Technol.* **2014**, *55*, 170–175. [[CrossRef](#)]
36. Beristain, C.I.; Azuara, E.; Garcia, H.S.; Vernon, E.J. Kinetic model for water/oil absorption of mesquite gum (*Prosopis juliflora*) and gum arabic (*Acacia senegal*). *Int. J. Food Sci. Technol.* **1996**, *31*, 379–386. [[CrossRef](#)]
37. Zuidam, N.C.; Nedovic, V.A. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*; Springer: New York, NY, USA, 2010; pp. 31–100. ISBN 978-1-4419-1007-3.
38. Strixner, T.; Sterr, J.; Kulozik, U.; Gebhardt, R. Structural study on hen-egg yolk high density lipoprotein (HDL) granules. *Food Biophys.* **2014**, *9*, 314–321. [[CrossRef](#)]
39. Anton, M. Recent Advances Concerning the Functional Properties of Egg Yolk Low-Density Lipoproteins. In Proceedings of the EPC Proceedings of 12th European Poultry Conference, Verona, Italy, 10–14 September 2006.
40. Turgeon, S.L.; Schmitt, C.; Sanchez, C. Protein-polysaccharide complexes and coacervates. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2007**, *12*, 166–178. [[CrossRef](#)]
41. De Kruif, C.; Tuinier, R. Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloids* **2001**, *15*, 555–563. [[CrossRef](#)]
42. Samant, S.; Singhal, R.; Kulkarni, P.; Rege, D. Protein-polysaccharide interactions: A new approach in food formulations. *Int. J. Food Sci. Technol.* **1993**, *28*, 547–562. [[CrossRef](#)]
43. Orozco, J.; Cruz, F.; Ponce, E.; Vernon, E. Mesquite gum: Fractionation and characterization of the gum exuded from *Prosopis laevigata* obtained from plant tissue culture and from wild trees. *Carbohydr. Polym.* **2003**, *54*, 327–333. [[CrossRef](#)]
44. Beyer, J.D. The Development of a Cholesterol-Reduced Egg Yolk Using Solvent Extraction. Ph.D. Thesis, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, USA, 19 August 1991.
45. Huopalahti, R.; Anton, M.; López-Fandiño, R.; Schade, R. *Bioactive Egg Compounds*; Springer: New York, NY, USA, 2007; pp. 5–6. ISBN 978-3-540-37883-9.
46. Li-Chan, E.C.; Kim, H.O. *Structure and Chemical Composition of Eggs. Egg Bioscience and Biotechnology*; John Wiley and Sons Inc.: Vancouver, BC, Canada, 2007; pp. 1–96. ISBN 9780470181249.

Sample Availability: Not available.




© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



EL COLESTEROL EN ALIMENTOS ¿ES BUENO O MALO?

Bautista Villarreal, Minerva; Gallardo Rivera, Claudia T.;
Castillo Hernández, Loruhamá Sandra; Núñez González,
Ma. Adriana; Amaya Guerra, Carlos A.; **Báez González,
Juan Gabriel**

 **Palabras clave: Colesterol, LDL, HDL,
lípidos, triglicéridos, huevo.**
**Keywords: Cholesterol, LDL, HDL,
lipids, triglycerides, egg.**

RESUMEN

El colesterol es un componente de las membranas celulares y es parte de la síntesis de los esteroides como la vitamina D. Se encuentra presente en el organismo como “colesterol bueno” (HDL) y “colesterol malo” (LDL). Se recomienda un valor menor de 200 mg/dL de colesterol en sangre, para evitar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Los niveles recomendados de colesterol HDL y LDL son: 72 mg/dL y 130 mg/dL, respectivamente. En el 2016 en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) se evaluó la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños, adolescentes y adultos, y se pudo observar un aumento en zonas rurales. Dentro de los alimentos altos en colesterol que consumimos se encuentran: la carne como las costillas con 109 mg, la leche entera con 124 mg y el huevo con 274 mg de colesterol. Los huevos son un componente clave de la dieta en México, y de sus componentes la yema posee un valor de 272 mg de colesterol. Una dieta alta en colesterol y grasa como es la occidental puede aumentar el riesgo de padecer cáncer de mama. Es importante consumir: aceites vegetales, semillas, frutos secos y las legumbres, que son fuente de fitoesteroles para disminuir el colesterol LDL en sangre.

ABSTRACT

Cholesterol is a component of cell membranes and is part of the synthesis of steroids such as vitamin D. It is present in the body as “good cholesterol” (HDL) and “bad cholesterol” (LDL). A lower value of 200 mg / dL of blood cholesterol is recommended, to avoid the development of cardiovascular diseases. The recommended levels of HDL and LDL cholesterol are: 72 mg / dL and 130 mg / dL, respectively. In 2016 in the National Health and Nutrition Survey (ENSANUT) the prevalence of overweight and obesity in children, adolescents and adults was evaluated, and an increase was observed in rural areas. Among the foods high in cholesterol that we consume are: meat as ribs with 109 mg, whole milk with 124 mg and egg with 274 mg of cholesterol. Eggs are a key component of the diet in Mexico, and of its components the yolk has a value of 272 mg of cholesterol. A diet high in cholesterol and fat such as Western diet may increase the risk of breast cancer. It is important to consume: vegetable oils, seeds, nuts and legumes which are a source of phytoosterols to lower LDL cholesterol in the blood.

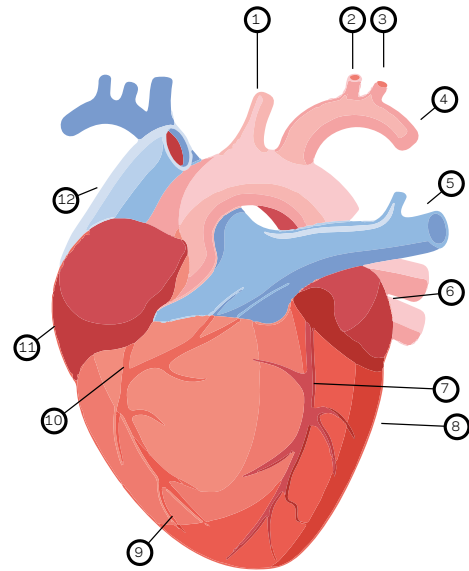
INTRODUCCIÓN

¿Qué es el colesterol ?

El colesterol es el precursor de las hormonas esteroideas y los ácidos biliares, además de formar parte de la estructura de las membranas celulares (Morgan et al. 2016). El “colesterol bueno” (HDL) proviene de la abreviatura en inglés de las palabras lipoproteínas de alta densidad (high density lipoproteins). Las HDL están compuestas por grasas (colesterol y fosfolípidos) y una porción alta de proteínas. Se le llama colesterol bueno porque evita que el colesterol se deposite en exceso en las arterias, ya que las proteínas que contiene son afines al colesterol y grasas que pueden encontrarse circulando en la sangre, de tal manera que puede “recolectarlas” y transportarlas al hígado para su posterior eliminación, a través del intestino y representa la única forma de eliminar el exceso de colesterol (Morgan et al. 2016; Ledford, 2016). El “colesterol malo” (LDL) transporta desde el hígado hasta los tejidos la mayor parte del colesterol, tanto el fabricado por el hígado como el obtenido por la propia alimentación. El “colesterol malo” contiene más grasa que proteínas. La grasa que contiene se adhiere a las arterias formando una capa, y su aumento tiene un impacto directo en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Ledford, 2016). En el 2005 el National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATPIII) recomendó una ingesta diaria menor de 300 mg/día de colesterol para adultos sanos y menos de 200 mg/día de colesterol para personas con colesterol elevado (Djoussé y Gaziano, 2009).

En México las enfermedades cardiovasculares constituyen un problema importante de salud pública, además de altos niveles de colesterol, triglicéridos o ambos (dislipidemias y obesidad) (Secretaría de Salud, 2001). En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en el 2016 se evaluó la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños, adolescentes y adultos, y se pudo observar que el sobrepeso y la obesidad en mujeres presentó un aumento respecto a cifras de 2012, en los tres grupos de edad, el cual es mayor en zonas rurales que urbanas. En la población masculina adulta el sobrepeso y obesidad aumentó en zonas rurales (de 61.1% en 2012 a 67.5% en 2016) mientras que se estabilizó en zonas urbanas, en las que se mantiene en un nivel elevado (69.9%) (ENSANUT, 2016).

En la Figura 1 podemos observar donde se aloja el colesterol en el corazón.



- | | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| 1. Tronco arterial braquiocefálico | 7. Arteria coronaria (colesterol) |
| 2. Carótida izquierda | 8. Ventrículo izquierdo |
| 3. Subclavia izquierda | 9. Ventrículo derecho |
| 4. Callado de la aorta | 10. Arteria coronaria (colesterol) |
| 5. Arteria pulmonar (colesterol) | 11. Aurícula derecha |
| 6. Auricular izquierda | 12. Vena cava superior |

Figura 1. El corazón y los sitios donde puede alojarse el colesterol.

Una dieta alta en colesterol y grasa como la occidental puede aumentar el riesgo de cáncer de mama (Changkun et al. 2016). Los alimentos que contienen colesterol generalmente son de origen animal, como se muestra una Tabla 1.

Tabla 1. Colesterol presente en alimentos de consumo diario.

Alimento	Peso (g)	Colesterol (mg)
Cheddar (1 taza)	113	119
Leche entera (1 taza)	246	34
Crema para café (1 taza)	240	159
Crema batida espesa	238	326
Leche condensada (1taza)	306	104
Helado (1/2 galón)	1,064	476
Yema de huevo (una yema)	17	272
Mantequilla (media taza)	113	247
Manteca (1 taza)	205	195
Cangrejo	135	135
Camarones	85	128
Hígado	85	410
Costilla	85	109
Sardinas	85	85
Pollo	245	221
Muffin	138	213
Natilla	265	278
Ensalada de papa con mayonesa	250	170
Huevo entero sin cáscara	50	274
Yema de huevo	17	272

EL COLESTEROL EN LA DIETA Y LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

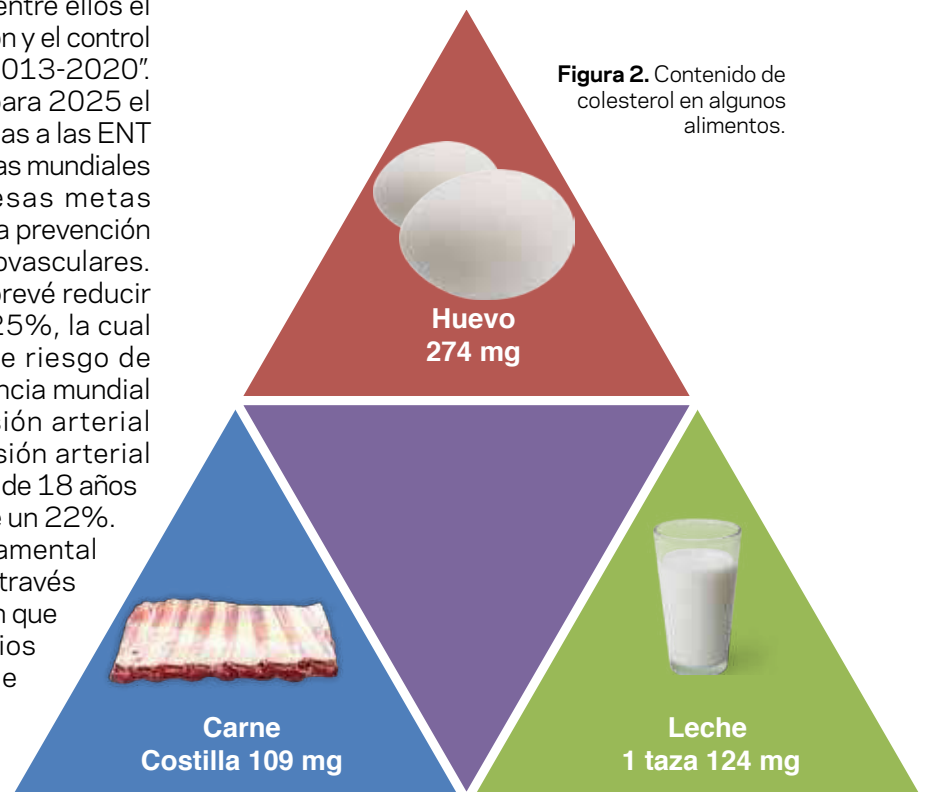
El colesterol elevado es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular. México encabeza las estadísticas de obesidad, en adultos y niños. De enero a noviembre del 2014 se diagnosticaron 323,110 casos nuevos de obesidad. La Secretaría de Salud informó que México, líder mundial también en obesidad infantil, de enero a noviembre del 2014 registró 35,157 nuevos casos de obesidad entre niños de 1 a 14 años y 15,626 nuevos casos entre jóvenes de 15 a 19 años (OMENT, 2015). También es importante destacar que los bebés también padecen obesidad, de enero a noviembre de 2014 se registraron 3,311 casos nuevos de obesidad en bebés de 0 a 12 meses de edad, cifras reportadas por la Secretaría de Salud. Dentro de las consecuencias a largo plazo está que los niños tengan triglicéridos y colesterol alto (OMENT, 2015).

En 2013 la OMS acordó una serie de mecanismos mundiales para reducir la carga evitable de enfermedades no transmisibles (ENT), entre ellos el "Plan de acción mundial para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles 2013-2020". El citado plan tiene por objeto reducir para 2025 el número de muertes prematuras asociadas a las ENT en un 25%, y ello a través de nueve metas mundiales de aplicación voluntaria. Dos de esas metas mundiales se centran directamente en la prevención y el control de las enfermedades cardiovasculares. La meta 6 del plan de acción mundial prevé reducir la prevalencia de hipertensión en un 25%, la cual es uno de los principales factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. La prevalencia mundial de hipertensión (definida como tensión arterial sistólica mayor a 140 mmHg y/o tensión arterial diastólica menor a 90 mmHg) en adultos de 18 años o más se situó en 2014 en alrededor de un 22%. Para alcanzar la citada meta, es fundamental reducir la incidencia de hipertensión, a través de acciones dirigidas a toda la población que hagan disminuir los hábitos alimenticios que pueden favorecer el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, en particular el consumo nocivo de alcohol, la inactividad física, el sobrepeso, la

obesidad y el consumo elevado de sal. Es necesario adoptar la detección temprana y el manejo costo eficaz de la hipertensión, un enfoque que tenga en cuenta todos los factores de riesgo, para así prevenir los ataques cardíacos, los accidentes cerebrovasculares y otras complicaciones (OMENT, 2015).

EL COLESTEROL ¿EN QUÉ ALIMENTOS SE ENCUENTRA?

Es un compuesto esencial de la estructura de las membranas celulares de los mamíferos, componente principal del cerebro y de las células nerviosas. Es un intermediario en la síntesis de ácidos biliares y hormonas (Kathleen y Escott-Stump, 2001). Dentro de los alimentos altos en colesterol que consumimos se encuentran: carne como las costillas con 109 mg (porción: 2 piezas), la leche entera con 124 mg (porción: 1 taza) y el huevo con 274 mg de colesterol (porción: 1 huevo), (Figura 2), a continuación se describe cada uno.



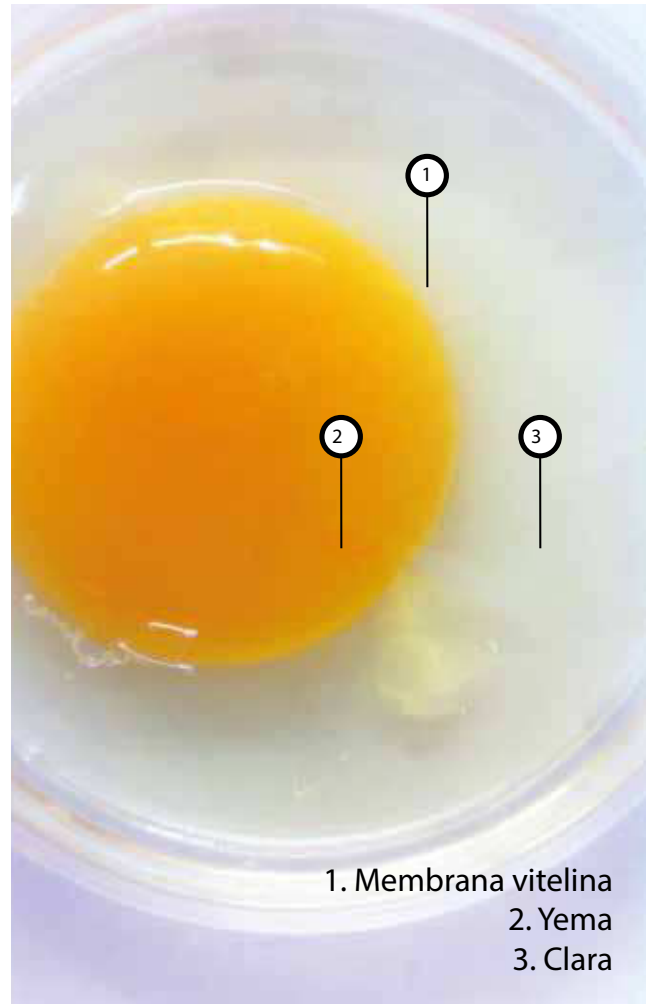
Carne

En la década de 1960 surgieron teorías que relacionan la grasa y el colesterol de los alimentos de origen animal con enfermedades crónicas. Para disminuir el riesgo cardiovascular es importante reducir el consumo de grasas, especialmente las saturadas. La carne magra contiene aproximadamente 0.5-1% de fosfolípidos y sus ácidos grasos son más insaturados. Hay mayor cantidad de ácidos grasos saturados en carne de vaca (40-71%), cerdo (39-49%) y cordero (46-64%), que en la de ave (28-33%) y bacalao (30%) (Fennema, 2000).

El pescado contiene proteína fuente de aminoácidos esenciales (alto valor biológico). Los pescados azules como el atún, el salmón y la sardina presentan un porcentaje de grasa de hasta el 30%, y los pescados blancos como el lenguado y bacalao contienen de 1 a 2%. La grasa marina es fuente de ácidos grasos omega 3 (ácidos grasos poliinsaturados), los cuales tienen las siguientes propiedades: disminuir el colesterol en sangre, impedir la formación de trombos y aumentar la fluidez de la sangre. Los pescados azules por tener mayor contenido de omega 3 se recomiendan para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Pérez y Zamora, 2002).

Leche

De acuerdo con la NOM-155-SCFI-2012 es el producto obtenido de la secreción de las glándulas mamarias de las vacas, el cual debe ser sometido a tratamientos térmicos u otros procesos que garanticen la inocuidad del producto. Además, puede someterse a otras operaciones tales como clarificación, homogeneización, estandarización u otras, siempre y cuando no contaminen al producto y cumpla con las especificaciones de su denominación. La composición nutrimental de la leche es 79% agua, 10% proteínas, 7% grasa, 3% lactosa y 1% cenizas (Badui, 2013; CANILEC, 2011). El contenido de grasa varía según la especie, raza del animal y estado de lactancia. Dentro de su composición los lípidos son los que le confieren las características únicas de sabor y contenido nutrimental. La grasa de la leche contiene vitaminas liposolubles A, D, E y K. La composición de colesterol es 13.77 mg de colesterol/100g de leche (Chiu et al. 2004).



1. Membrana vitelina
2. Yema
3. Clara

Figura 3. Estructura del huevo.

Huevo

Los huevos son un componente clave de la dieta en México, es un país caracterizado por un alto riesgo de enfermedades cardiovasculares (Aguilar et al., 2004). Se han realizado investigaciones al respecto. Nassif et al. (2011) realizaron un estudio en el cual no observaron cambios en el perfil lipídico con el consumo de tres huevos diarios durante tres meses.

La composición de un huevo es 75% agua, 12% proteínas y lípidos, y cerca de 1% de carbohidratos y minerales, aproximadamente (Li-Chan et al. 1995). Los lípidos están presentes exclusivamente en la yema de huevo. En la Figura 3, podemos observar la estructura del huevo.

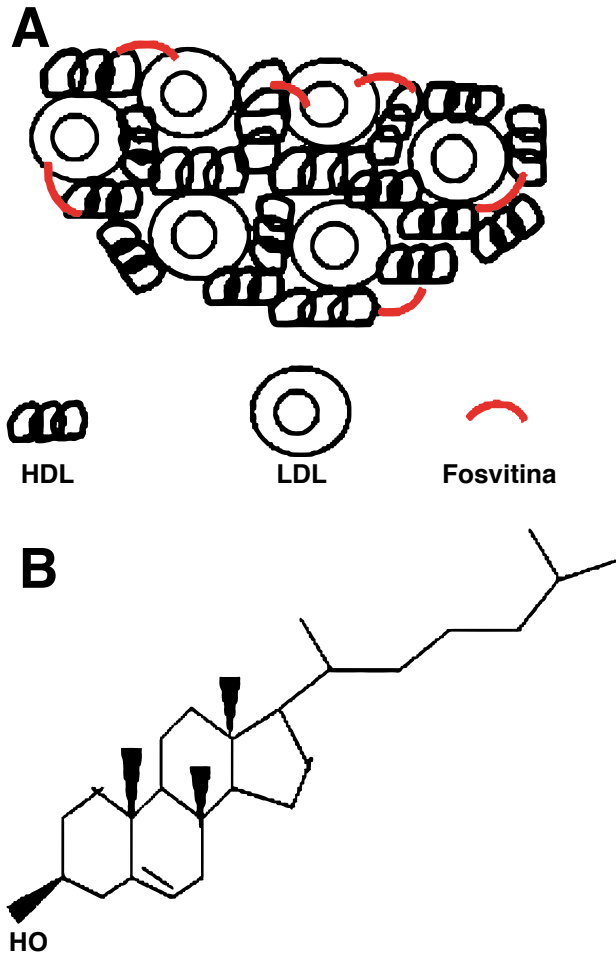


Figura 4. Estructura de los a) gránulos y b) colesterol (Imágenes a escala).

COMPONENTES PRINCIPALES DE LA YEMA DE HUEVO.

La yema de huevo corresponde al 36% del peso total del huevo de gallina (Li-Chan et al. 1995). Sus principales componentes son agua 51%, proteínas 16%, lípidos 32.6%, minerales 1.7% y carbohidratos 0.6% (Clark et al. 2014).

La yema de huevo está compuesta por agregados (gránulos) en suspensión en un líquido amarillo claro (plasma) que contiene lipoproteínas y proteínas. Los gránulos Figura 4 representan aproximadamente el 50% de las proteínas de la yema de huevo y un 7%

de lípidos de la yema (Dyer-Hurdon y Nnanna, 1993). Están constituidos principalmente por lipoproteínas de alta densidad (HDL) (70%) y fosvitina (16%) (Burley y Cook, 1961; Saari et al. 1964). Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (12%) se incluyen en la estructura granular (Causeret et al. 1991).

La grasa del huevo entero es de aproximadamente el 12%, presente principalmente en la yema que contiene un 32-36% de lípidos. Se componen de 66% de triglicéridos, 28% de fosfolípidos, y un 5% de colesterol (Fennema, 2000). Los carotenoides y xantófilas (luteína, criptoxantinas y zeaxantinas) representan menos del 1% de los lípidos de la yema, y le dan su color (Anton, 2013). El plasma comprende 78% de la materia seca de yema y se compone de 85% de LDL y 15% de livetinas (Burley y Cook, 1961). En él se encuentran aproximadamente el 90% de los lípidos de la yema (incluyendo casi todos los carotenoides) y 50% de las proteínas de la yema. Los lípidos del plasma se distribuyen en: 70% de triglicéridos, 25% de fosfolípidos y 5% de colesterol.

El colesterol presente en la yema de huevo puede contribuir al riesgo de enfermedades cardiovasculares (Clark et al. 2014).

REDUCCIÓN DE COLESTEROL EN ALIMENTOS

Se han estudiado diferentes métodos para disminuir el colesterol presente en la yema de huevo, Warren et al. (1988) empleó solventes como hexano, obteniendo un 66% de extracción de colesterol; Borges et al. (1996) usaron una relación 1:12 (p/p) (yema: acetona) obteniendo una extracción del 87% de colesterol. Laca et al. (2010) extrajeron los gránulos de la yema y los mezclaron en una relación 1:15 v/v con agua, obteniendo una reducción del 77% de colesterol; Chiu et al. (2004) emplearon betaciclodextrinas y quitosano para adsorber un 92% de colesterol presente en la yema de huevo; García et al. (2007) usaron pectinas de alto metoxilo para obtener una reducción del 83.4% de colesterol. Se han utilizado biopolímeros como la goma arábiga para reducir el colesterol presente en la yema.

ALIMENTOS QUE SE PUEDEN ELABORAR CON YEMA BAJO EN COLESTEROL

Con la yema de huevo baja en colesterol se han elaborado productos como muffins (Marcet et al. 2015) ellos formularon un muffin bajo en colesterol y libre de gluten, para ello reemplazaron la yema de huevo por los gránulos que están presentes en ella y son bajos en colesterol y obtuvieron un producto con mayor dureza y algunas diferencias de color en comparación con la receta de yema de huevo entera. Laca et al. (2010) probaron los gránulos como agente emulsificante en mayonesas, y concluyeron que la mayonesa baja en colesterol tiene un comportamiento similar a la comercial. Valverde et al. (2016) desarrollaron gelatinas empleando gránulos y plasma en combinación con carragenina siendo productos con un alto aporte nutricional.

ALIMENTOS RECOMENDADOS PARA DISMINUIR EL COLESTEROL EN SANGRE

Entre los alimentos que disminuyen el colesterol se encuentran: aceites vegetales, semillas, frutos secos y las legumbres. Estos alimentos son fuente de fitoesteroles, estos son componentes estructurales y funcionales de las membranas de las células vegetales, presentan una estructura química similar a la del colesterol, lo que hace que en el intestino delgado haya una cierta competencia entre ambos tipos de moléculas, lo que provoca una absorción intestinal de colesterol ineficiente y en consecuencia disminuye el nivel de LDL en sangre (Sanclemente et al. 2012).

En los aceites de oliva o de semillas (maíz, girasol, soya y colza), así como en los frutos secos y en el pescado, se encuentran las grasas insaturadas. Las principales fuentes alimentarias de estas grasas saludables son:

- Monoinsaturadas: aceites de oliva y colza, frutos secos (almendras y avellanas), aceitunas y aguacate.
- Poliinsaturadas: aceites de semillas (maíz, girasol, soya y cártamo) y frutos secos (nueces).

- Omega-3: pescado y marisco, particularmente el pescado azul (sardina, anchoa, arenque, salmón y trucha, entre otros), y algunos alimentos vegetales (nueces, semillas o aceites de lino, y aceites de soya y colza) (Pérez et al. 2006).

DISCUSIÓN

Estudios clínicos han demostrado que los cambios en el plasma debidos al colesterol ingerido son el resultado de una gran cantidad de genes, lo que produce una variación en la respuesta a cada individuo. Existe una teoría que sugiere que el 70% de los humanos tienen una hiper-respuesta a un exceso de consumo de colesterol (Morgan et al. 2016). Estos individuos, generalmente, tienen niveles elevados de colesterol bueno y colesterol malo, lo que provoca el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Herron et al. 2003).

Tabla 2. Niveles recomendados de colesterol en sangre.

	Rangos
HDL	Entre 29 mg/dL y 72 mg/dL
LDL	De 60mg/dL a 130 mg/dL VLDL Entre 0 y 40 mg/dL

Colesterol.org

Sumando los valores de: HDL, LDL y VLDL, podemos obtener el colesterol total, el cual debe estar siempre por debajo de 200. Mayor acumulación de placa de colesterol corresponde a niveles más altos de colesterol en la sangre (Colesterol.org, 2018).

La acumulación de placa en las arterias que alimentan el corazón puede causar un ataque cardíaco, mientras que las arterias que alimentan el cerebro pueden causar un accidente cerebrovascular. La dieta juega un papel crítico en el mantenimiento de los niveles normales de colesterol. De la dieta obtenemos 25% de colesterol, y nuestro cuerpo produce el 75% restante. En la Figura 5 se muestra el consumo per cápita de carne, huevo y leche en el 2016. Los mayores contribuyentes al colesterol alto son las grasas saturadas y los ácidos grasos trans. Es importante consumir en nuestra dieta grasas poliinsaturadas para reducir el colesterol total, y las monoinsaturadas para aumentar el colesterol HDL.

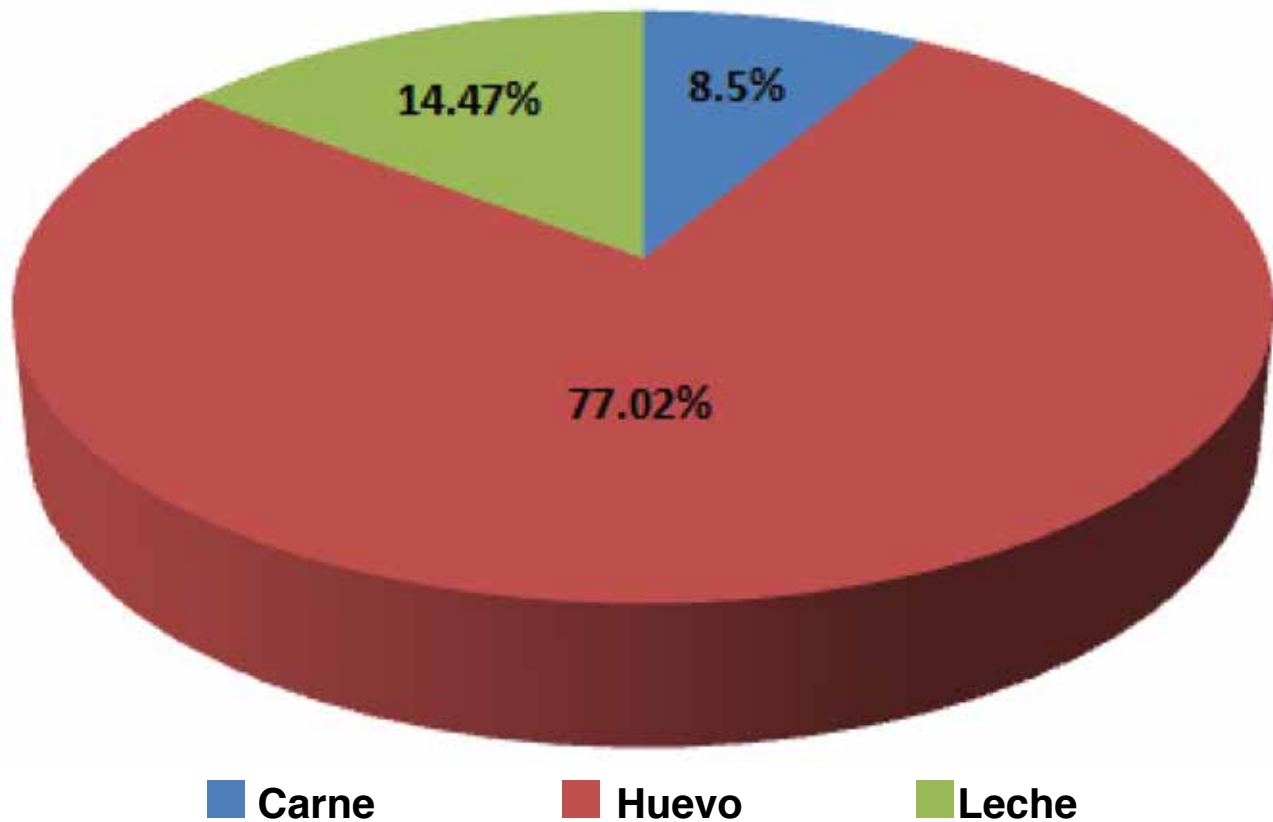


Figura 5. Consumo de carne, huevo y leche per cápita en el 2016.

CONCLUSIÓN

Es importante mantener niveles elevados de "colesterol bueno" (HDL) mediante una alimentación rica en verduras, frutas, cereales, legumbres, frutos secos y pescado. Además de cuidar nuestra dieta es importante realizar actividad física para evitar el desarrollo de éstos padecimientos.

También debemos conocer la cantidad de colesterol presente en los alimentos que consumimos, así como no ingerirlo en una elevada cantidad para evitar así el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente al Dr. Juan Gabriel Báez González por su apoyo, confianza y consejos durante la realización de ésta revisión. Así como a la Dra. Ma. Adriana Núñez González, al Dr. Carlos A. Amaya Guerra, la Dra. Claudia T. Gallardo Rivera y la Dra. Sandra Loruhamá Castillo Hernández, por sus observaciones y gran apoyo. Y también al CONACYT por la beca 277814, otorgada para el desarrollo de mi doctorado.



LITERATURA CITADA

- Anton, M. 2013. Egg yolk: Structures, functionalities and processes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(12): 2871-2880. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6247>
- Aguilar, C.A., R. Rojas, F.J. Gomez.2004.High prevalence of metabolic syndrome in Mexico. *Archives of Medical Research*, 35: 76-81. <http://doi.10.1016/j.arcmed.2003.06.006>
- Anderson, T.A., D.G. Levitt, L.J. Banaszak.1998.The structural basis of lipid interactions in lipovitellin, a soluble lipoprotein. *Structure* 6:895-909. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(98\)00091-4](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(98)00091-4)
- Badui, S. 2013. *Química de los alimentos*. Quinta edición. Pearson educación. México, pp: 63-67.
- Borges, S., E. Martucci, C. Müller. 1996. Optimization of the extraction of cholesterol from dehydrated egg yolk using acetone. *LWT-Food Science and Technology*, 29(8): 687-690. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.014>
- Burley R.W., W.H. Cook.1961. Isolation and composition of avian egg yolk granules and their constituent α - and β -lipovitellins. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 39(8): 1295-1307. <https://doi.org/10.1139/o61-136>
- Causeret D, E. Matringe, D. Lorient.1991. Ionic-strength and pH effects on composition and microstructure of yolk granules. *Journal of Food Science* 56, 1532-1536.
- Cámara Nacional de Industriales de la leche (CANILEC).2011. El libro blanco de la leche y los productos lácteos. México. pp:26-29. http://www.canilec.org.mx/descarga_archivos_publico/Libro_Blanco_mail.pdf (consultado 14/05/2018)
- Changkun, L., L. Yang, D. Zhang, W. Jiang.2016. Systematic review and meta-analysis suggest that dietary cholesterol intake increases risk of breast cancer. *Nutrition Research*, 36:627-635. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2016.04.009>
- Chiu, S.H., T.W. Chung, R. Giridhar, W.T. Wu. 2004. Immobilization of β -ciclodextrin in chitosan beads for separation of cholesterol from egg yolk. *Food Research International*, 37: 217-223. <http://doi:10.1016/j.foodres.2003.12.001>
- Clark, S. 2014. *Food Processing: Principles and Applications*, 249-273. <https://doi.org/10.1016/B978-044481500-2/50007-4>
- Colesterol.org <http://colesterol.org.es/nivel-normal> (consultado 13/06/2018)
- Dyer, J.N., I.A. Nnanna.1993. Cholesterol content and functionality of plasma and granules fractionated from egg yolk. *Journal of Food Science* 58, 1277-1281.
- Djousse, L., J. Michael Gaziano. 2009. Dietary cholesterol and coronary artery disease: A systematic review. *Current Atherosclerosis Reports*, 11(6), 418-422. <https://doi.org/10.1007/s11883-009-0063-1>
- Escobedo, J., R. De Jesus Perez, H. Schargrotsky. 2014. Prevalencia de dislipidemias en la ciudad de México y su asociación con otros factores de riesgo cardiovascular. Resultados del estudio CARMELA. *Gaceta Médica de México*, 150: 1-9. (consultado 4/06/2018) https://www.anmm.org.mx/GMM/2014/n2/GMM_150_2014_2_128-136.pdf
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, 2012. <http://ensanut.insp.mx> (consultado 16/07/2018).
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016.(ENSANUT MC 2016) Instituto Nacional de Salud Pública. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/209093/ENSANUT.pdf> (consultado 4/06/2018)
- Fennema O.2000. *Química de los alimentos*. Segunda edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España, 1004 pp.
- García, E.E., J.S. Reis, L.A. Minim, J. Freitas.2007. Cholesterol removal in liquid egg yolk using high methoxyl pectins. *Carbohydrate Polymers*, 69:72-78. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.09.004>
- Herron, K.L., S. Vega-Lopez, K. Conde, T. Ramjiganesh, N.S. Shachter, M.L. Fernandez. 2003. Menclassified as hypo- or hyperresponders to dietary cholesterol feeding exhibit differences in lipoprotein metabolism. *Journal of Nutrition*, 133: 1036-1042. <https://doi.org/10.1093/jn/133.4.1036>

- Kathleen, L., S. Escott-Stump, J. L. González-Hernández. 2001. Krause's Food, nutrition, & diet therapy. Nutrioterapia médica. 1020-1025,pp.
- Laca A, B. Paredes, M. Díaz. 2010. A method of egg yolk fractionation. Characterization of fractions. Food Hydrocolloids, 24(4): 434-443. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.11.010>
- Lamas, A., X. Anton, J. M. Miranda, P. Roca, A. Cardelle, I. S. Ibarra, A. Cepeda. 2016. Technological Strategies for the Development of Egg-Derived Products with Reduced Content of Cholesterol. Food and Bioprocess Technology, 9(1): 81-90. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1599-4>
- Ledford, H. 2016. Good cholesterol mutation linked to heart disease. Nature. En: <https://www.nature.com/news/good-cholesterol-mutation-linked-to-heart-disease-1.19543> (consultado el 10/09/2018).
- Li-Chan E, Kim HO. 2008. Structure and chemical composition of eggs. In: Mine Y (ed) Egg Bioscience and Biotechnology. New Jersey: John Wiley, 1-65 pp..
- Mahan, K; Escott Stump, S. 2005. Nutrición y dietoterapia de Krause. Décima edición.. McGraw-Hill Interamericana, 1048-1050 pp.
- Marcet, I., B. Paredes, M. Díaz. 2015. Egg yolk granules as low-cholesterol replacer of whole egg yolk in the preparation of gluten-free muffins. Food Science and Technology. 62: 613-619. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.031>
- Morgan, A. E., K. M. Mooney, S. J. Wilkinson, N. A. Pickles, M. T. McAuley. 2016. Cholesterol metabolism: A review of how ageing disrupts the biological mechanisms responsible for its regulation. Ageing Research Reviews, 27, 108-124. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.03.008>
- Nassif-Hadad, A., A. Herrera-González, D.M. Argüelles-Barreto, J.R. Martínez-Rodríguez, J. Soto-Matos, T.O. Tamargo-Barbeito, A.E. Pérez-Mederos. 2011. Efecto del consumo de tres huevos de gallina diarios sobre el perfil lipídico en pacientes dislipidémicos. Clínica e Investigación en Arteriosclerosis, 23(1): 1-7. <http://doi.org/10.1016/j.arteri.2011.01.004>
- National Heart, Lung and Blood Institute: Third Report of the National Cholesterol Education Program. Available at <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol/atp3xsum.pdf>. Accessed on June 2, 2009.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2012. Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- OMENT (Observatorio mexicano de enfermedades no transmisibles). 2015 En: <http://oment.uanl.mx/mexico-encabeza-estadisticas-en-obesidad-en-adultos-y-ninos/> (consultado el 20/08/2018).
- Pérez F, Ros E, Solá R, Godás G, Pérez A, Serra M, Mostaza J, Pintó X. 2006. Consejos para ayudar a controlar el colesterol con una alimentación saludable. Clínica e investigación en arteriosclerosis 18(3):104-110 [https://doi.org/10.1016/S0214-9168\(06\)73670-1](https://doi.org/10.1016/S0214-9168(06)73670-1)
- Sanclemente T, Marques I, Fajó M, Puzo J. 2012. Beneficios dietéticos asociados a la ingesta habitual de dosis moderadas de fitoesteroles presentes en forma natural en los alimentos. Clínica e investigación en arteriosclerosis 24(1): 21-29. <http://doi.org/10.1016/j.arteri.2011.11.005>
- Secretaría de Salud. 2001. Enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial. México. ISBN 970-721-002-8
- Valverde, D., A. Laca, L. N. Estrada, B. Paredes, M. Rendueles, M. Díaz. 2016. Egg yolk and egg yolk fractions as key ingredient for the development of a new type of gels. International Journal of Gastronomy and Food Science, 3: 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2016.02.001>
- Virani, S. S., L. D. Woodard, C. R. Landrum, K. Pietz, D. Wang, C. M. Ballantyne, L. A. Petersen. 2011. Institutional, provider, and patient correlates of low-density lipoprotein and non-high-density lipoprotein cholesterol goal attainment according to the Adult Treatment Panel III guidelines. American Heart Journal, 161(6): 1140-1146. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2011.03.023>
- Warren, M., H. Brown, D. Davis. 1988. Solvent extraction of lipid components from egg yolk solids. Journal of the American Oil Chemists' Society, 65(7): 1136-1139. <https://doi.org/10.1007/BF02660569>