

Influencia de la aplicación de ultra alta presión de homogeneización (UAPH) y de la $[Ca^{++}]$ en la estabilidad de la leche de arroz

Study of the influence of the application of ultra-high pressure homogenization (UAPH) and $[Ca^{++}]$ on the stability of rice milk

Jorcín, Santiago ⁽¹⁾, Guamis, Buenaventura ⁽²⁾, López, Tomás ^(1,2)

⁽¹⁾ Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay

⁽²⁾ Centre Especial de Recerca, Planta de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, España.

Contacto: tlopezp@gmail.com

Recibido: 26/7/2011 - Aprobado: 25/10/2012

Resumen

Se analizaron bebidas de arroz sometidas a diferentes tratamientos térmicos y a UAPH. Se midió su tamaño de partícula y se correlacionó con medidas de estabilidad; se observó que las muestras procesadas por UAPH tienen una estabilidad significativamente mayor. Se estudió la interacción entre micronutrientes (Ca^{++}) y las proteínas de la bebida y se halló que al aumentar la concentración de Ca^{++} la estabilidad de la bebida disminuye hasta alcanzar 80 ppm de Ca^{++} , a partir de la cual se mantiene constante. Los recuentos de mesófilos aerobios totales, esporas, *Bacillus Cereus* y *Enterobacteriaceae* para muestras tratadas por UAPH (temperatura de entrada 85 °C, 300 MPa temperatura en válvula 135 °C) y UAT (142 °C 6 seg) muestran una supervivencia menor a 1 UFC/mL en ambos tratamientos para todos los recuentos. Se incubaron las muestras UAPH y UAT a 30 °C durante dos semanas sin desarrollo microbiano o alteración alguna. El proceso de ultra alta presión de homogeneización (UAPH) demostró ser una tecnología válida para estabilizar y preservar la leche de arroz al reducir el tamaño de las partículas por debajo del micrómetro, favoreciendo la estabilidad fisicoquímica de la bebida y generando, concomitantemente, una reducción de la flora alterante.

Palabras clave: Bebida vegetal, UAPH, arroz, estabilidad.

Abstract

Designed rice milk formulations were submitted to different thermal treatments and UHPH treatments. Particle size profiles were measured and related to physicochemical stability. The samples processed by UHPH showed higher stability than milk processed thermally only. From the study of the interaction between micronutrients (Ca^{++}) and rice proteins it was found that increasing Ca^{++} concentration up to 80 ppm decreases the stability of the beverage to a minimum. For UHPH treated samples (inlet temperature 85 °C, 300 MPa valve temperature 135 °C) and UHT (142 °C 6 s), total counts, spores, *Bacillus Cereus* and *Enterobacteriaceae* remained all below the detection limit of 1 UFC/mL. UHPH and UHT samples were incubated at 30 °C for two weeks without microbial growth or alteration. UHPH proved to be a valid technology to stabilize and preserve rice milk by reducing particle size below 1 μ m and reducing spoiling bacteria.

Keywords: Vegetable drink, UHPH, rice, stability.

Introducción

El arroz (*Oriza sativa* L.) es uno de los cultivos más extendidos en el mundo y el principal alimento de más de la mitad de la población mundial (Álvarez et al., 2008). Uruguay se muestra como país netamente exportador de arroz y productos derivados y ha realizado estudios que permitieron obtener granos de gran calidad, mayormente enfocados hacia la mejora de los cultivos, las variedades y los rendimientos de producción. En el arroz blanco, la glutelina es la fracción proteica predominante y contiene un alto contenido de lisina, a diferencia del resto de los cereales (exceptuando la avena), que presentan a la prolamina como mayoritaria. Los valores de fibra cruda y de lípidos son bajos; P y K son los minerales mayoritarios y

niacina, inositol y colina las vitaminas predominantes. El arroz blanco se compone básicamente del endosperma con un alto contenido de almidón (aproximadamente 78 % en base húmeda o 90 % en base seca).

El salvado de arroz es una muy buena fuente energética (12-15 % grasa), cuenta con un alto contenido de fibras (20 %) y un 13 % de proteína de buena calidad biológica, la mayor parte albúmina y globulina, consideradas como hipoalergénicas (Helm y Burks, 1996). La fracción lipídica contiene un perfil de ácidos grasos balanceado y rico en antioxidantes como vitaminas (por ejemplo, complejo B y alfa-tocoferol; Carroll, 1990). La fracción serosa del salvado contiene policosanol, eficiente para disminuir los niveles de LDL-colesterol (lipoproteínas de baja densidad transportadoras de colesterol) e incrementar los de HDL-colesterol (lipoproteínas de alta densidad

transportadoras de colesterol; Zardoya et al., 1996).

Existe un porcentaje de arroz partido que es vendido a bajo precio o destinado a la alimentación de animales. Por otra parte, el salvado de arroz desgrasado se infravalora cuando es destinado para ración animal o como combustible y fuente de sílice. Debido a su bajo costo y composición, resulta pertinente considerar estas fracciones para su utilización como ingredientes principales de formulaciones de leche de arroz y bebidas funcionales de arroz. En consecuencia, las bebidas a base de arroz están compuestas por almidón de arroz, proteínas del grano y lípidos agregados (aceite de girasol con alto contenido de oleico). Comparada con la leche bovina, contienen menor tenor en proteínas y mayor en carbohidratos y pueden considerarse como una alternativa hipoalérgica. Presentan, además, deficiencias en su contenido de minerales como el calcio y vitaminas.

El proceso de ultra alta presión de homogeneización (u homogeneización a altas presiones) acapara actualmente la atención por su capacidad para reducir el tamaño de las partículas por debajo del micrómetro, generar nanoemulsiones y la posibilidad que ofrece de encapsular compuestos bioactivos con el fin de introducirlos posteriormente en matrices alimentarias (Gracia et al., 2008).

Los homogeneizadores utilizados tradicionalmente operan en el rango de 20 a 60 MPa (200-600 bar). Se utilizan para disminuir el tamaño de partículas, gotas de emulsiones o glóbulos grasos de la leche con el propósito de mejorar su estabilidad y evitar los fenómenos de coalescencia y cremado durante su preparación y almacenamiento (Walstra, 2003). La UAPH consiste en forzar el pasaje de un fluido llevado a 200-400 MPa (2000-4000 bar) a través de un orificio de escasos μm (Floury et al., 2002; Thiebaud et al., 2003; Floury et al., 2004; Diels et al., 2005; Gracia-Julia et al., 2008). La brusca bajada de presión en la válvula se acompaña de la generación de fuerzas mecánicas importantes (fuerzas de cizalla elongacionales, turbulencias, cavitación, impactos). Todas estas fuerzas, así como la rapidez elevada del fluido, contribuyen al fraccionamiento de las partículas presentes en el líquido tratado. Este fraccionamiento permite aumentar considerablemente el área interfasial de las partículas en suspensión en el líquido tratado. De esta manera se pueden obtener emulsiones muy finas y estables, con una textura particular. El calentamiento del fluido que acompaña su pasaje por la válvula HP puede ser moderado y controlado gracias a un sistema de refrigeración eficaz colocado a la salida de la válvula (Picart et al., 2006; Gracia-Julia et al., 2008). Resulta particularmente interesante remarcar que la reducción del tamaño de partícula se acompaña de una higienización del fluido tratado (Briñez et al., 2006). El proceso de UAPH permite también inactivar las enzimas o microorganismos presentes en los fluidos alimentarios (Moroni et al., 2002; Vachon et al., 2002; Thiebaud et al., 2003; Vannini et al., 2004; Datta et al., 2005; Diels et al., 2005; Hayes et al., 2005; Picart et al., 2006; Briñez et al., 2006).

Los efectos de la UAPH (200-300 MPa) fueron estudiados sobre una formulación base tradicional de leche de soja y comparados con un tratamiento de ultra alta temperatura (UAT) por Cruz et al. (2007), quienes muestran resultados prometedores en relación a la aplicación de UAPH para estabilizar bebidas vegetales. El análisis de perfil de tamaño de partícula evidenció una intensa reducción de las partículas, aunque también se observaron fenómenos de agregación. Las muestras procesadas por UAPH resultaron más estables respecto a la sedimentación, estabilidad que se mantuvo por 60 días. Los análisis de calorimetría diferencial de barrido indicaron que las proteínas de soja se encontraban parcialmente desnaturalizadas a 200 MPa, mientras que los tratamientos de 300 MPa mostraron el mismo grado de desnaturalización que el tratamiento UAT.

El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de la aplicación de UAPH en leche de arroz en comparación con tratamientos térmicos tradicionales e investigar la influencia de la $[\text{Ca}^{++}]$ en la estabilidad de la leche de arroz.

Materiales y Métodos

Estudio de diferentes procesos de preparación de la bebida

La bebida de arroz se preparó a partir de arroz integral (arroz El Paso 144, Saman, Uruguay), aceite de girasol con alto contenido de oleico y agua destilada. Para cada producción se obtuvieron cuatro tipos de bebidas en función del procesamiento recibido: cruda (sin procesamiento posterior a la elaboración), pasteurizada, UAT y tratada a UAPH.

Estudio de la interacción entre el Ca^{++} y las proteínas de la bebida de arroz

Se preparó bebida de arroz como se describió anteriormente, utilizando agua destilada, y se tomaron cinco pares de alícuotas. A una de las alícuotas se le agregó CaCl_2 y se le midió el pH, a la otra alícuota solo se le corrigió el pH con HCl 0,05 M para que fuera igual al de la alícuota que contenía el CaCl_2 (esto se realizó para las concentraciones de Ca^{++} de 0, 31, 63, 105 y 144 ppm).

Luego se centrifugaron las muestras a 10000 g a 4 °C durante 20 min y se midió la concentración de proteínas en el sobrenadante por el método de Lowry (Lowry et al., 1951). En todos los casos fue utilizada como blanco la bebida de arroz adicionada de ácido tricloroacético 20%.

Tratamientos

Leche cruda: se calentó la mezcla de agua, aceite de girasol con alto contenido de oleico y arroz hasta 80 °C bajo agitación, se mantuvo la temperatura durante 10 min y luego se deja enfriar.

Las fracciones de leche de arroz cruda fueron procesadas por triplicado según:

Pasteurización (76 °C 90 segundos, pasteurizador ATI Granollers España tipo intercambiador tubos concéntricos) previo homogeneizado 180 bar (en homogeneizador de simple etapa Rannie mod lab 22.51, Dinamarca); ultra alta temperatura (142 °C 6 segundos, equipo de UAT intercambiador tubular indirecto multitubo GEA Finnan mod 6500, Alemania) previa homogeneización primera etapa 180 bar y segunda etapa 40 bar (homogeneizador doble etapa NIRO SOAVI mod X68IE Italia); ultra alta presión de homogeneización, presión de homogeneización de 300 MPa, temperatura de entrada 85 °C, que alcanza una temperatura de 135 °C durante 0,6 segundos y temperatura de salida de 15 °C (Benchtop Homogenizer FPG 12500 Stansted Fluid Power LTD., UK) sistema patentado (Guamis, 2010).

Medición del tamaño de partícula

Para todas las preparaciones se determinó el perfil de tamaño de partícula (Mastersizer 2000 Malvern instruments LTD, United Kingdom). El tamaño de partícula se caracterizó analizando los diámetros de partícula equivalentes $D_{3,2}$ (diámetro medio de las esferas de área superficial equivalente) y $D_{4,3}$ (diámetro medio de las esferas de masa equivalente), utilizando el valor del índice de refracción 1,330.

Estabilidad

Se centrifugaron las muestras a 1046 g durante 20 min a 4 °C, se midió el peso del precipitado (ppto) y se expresaron los resultados en relación al ppto más estable del tratamiento UAPH.

Microbiología

Se realizó para todas las preparaciones: recuento microbiológico de mesófilos aerobios totales (Plate Count Agar, PCA), esporas (PCA), *Bacillus cereus* (Bacillus brillante) y coliformes totales (Violet Red Bile Agar, VRBG). Inmediatamente después de su tratamiento, las muestras recogidas de forma aséptica de los procesos UAT y UAPH fueron incubadas a 30 °C durante dos semanas.

Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de datos se realizó en todos los casos con el programa XLSTAT 2009, con el que se hizo un análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones por pares de Tukey (HSD) con nivel de significancia de 0,05.

Resultados y Discusión

Interacción del Ca⁺⁺ con las proteínas de arroz

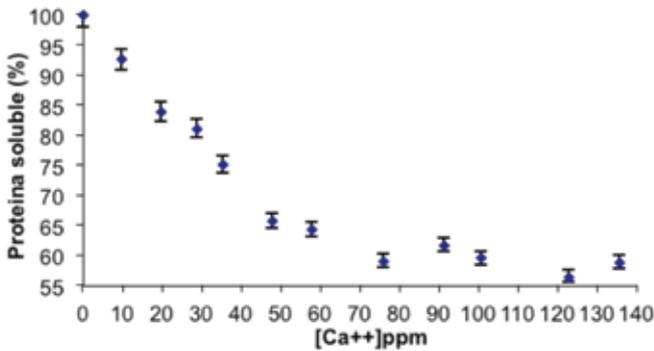


Figura 1. Valores medios de porcentaje de proteína soluble en función de la concentración de Ca⁺⁺ (ppm) (expresados en relación de porcentaje respecto a la concentración de proteína soluble de la bebida sin calcio adicionado). Las bandas horizontales indican intervalo de confianza con un nivel de significación de 0,05.

El efecto ejercido por el incremento del Ca⁺⁺ sobre las proteínas del arroz se traduce en una desestabilización de la bebida (precipitación de las proteínas), que aumenta con la concentración de Ca⁺⁺ hasta que alcanza 80 ppm, a partir de la cual se mantiene constante (Figura 1). Este efecto se atribuye a que la concentración de proteína presente en la leche de arroz es capaz de interactuar con una concentración de hasta 80 ppm de Ca⁺⁺, y llega al máximo de desestabilización ante la presencia de calcio en esas condiciones. Como explicación del efecto se propone la teoría de que el Ca⁺⁺ interactúa con las proteínas de manera tal que modifica su conformación exponiendo grupos carbonilos, lo que promueve una leve disminución de pH y, concomitantemente, la precipitación de las proteínas. En las Figuras 2 y 3 es posible discriminar el efecto provocado sobre las proteínas por el cambio de pH del efecto netamente provocado por el Ca⁺⁺.

Otros autores reportan para la leche de soja interacciones similares que provocan desestabilización en mayor o menor medida según el tipo de sal de calcio agregada y la concentración. Según Pattavara et al. (2010), la adición de 25mM de cloruro de calcio a la leche de soja reduce el pH, aumenta la fuerza iónica y provoca coagulación de las proteínas.

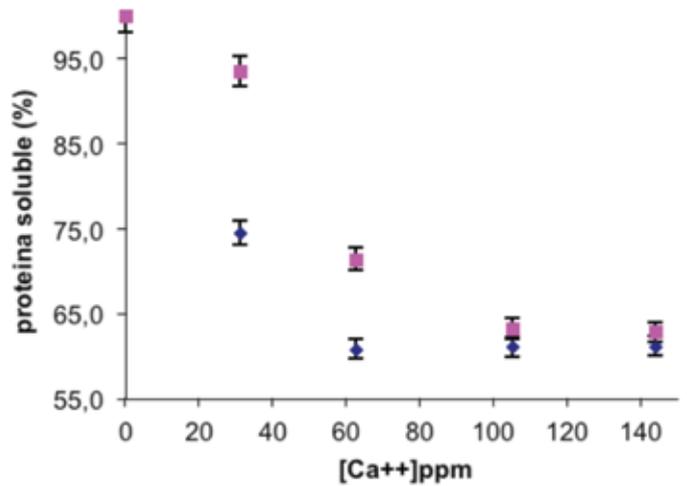


Figura 2. Valores medios de porcentaje de proteína soluble en función de la concentración de Ca⁺⁺ (ppm, ◆) y porcentaje de proteína soluble en función del pH generado luego de la adición de Ca⁺⁺ (ajustado para cada concentración de calcio, ■). Se tomó en ambos casos como 100 % la concentración de proteína soluble en la leche de arroz sin la adición de Ca⁺⁺. Las bandas horizontales indican intervalo de confianza con un nivel de significación de 0,05.

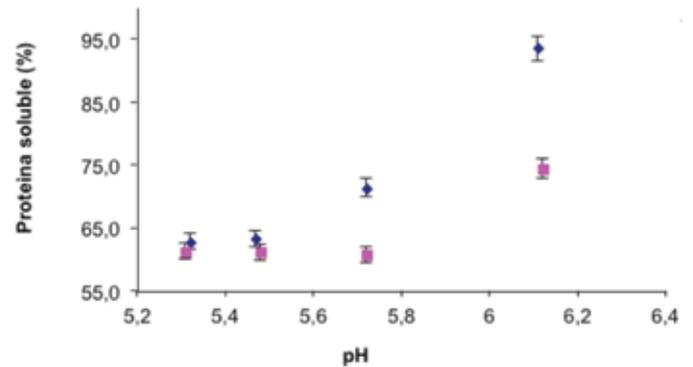


Figura 3. Valores medios de porcentaje de proteína soluble en función del pH para la bebida sin Ca⁺⁺ (◆) y porcentaje de proteína soluble en función del pH para la bebida con Ca⁺⁺ (■). Se tomó en ambos casos como 100 % la concentración de proteína soluble en la leche de arroz sin la adición de Ca⁺⁺. Las bandas horizontales indican intervalo de confianza con un nivel de significación de 0,05.

Estabilidad frente a la centrifugación

La influencia de la disminución en el tamaño de partícula puede observarse en los estudios de estabilidad forzados mediante centrifugación a 1046 g (Tabla 1). Esto explica la menor separación de fases y estabilidad observada en las leches de arroz procesadas mediante UAPH.

Leche de arroz	Relación de ppto en base a la UAPH
Cruda	5.38 ± 0.16
Pasteurizada	2.49 ± 0.11
UAT	1.54 ± 0.11
UAPH	1.00 ± 0.05

Tabla 1. Relación de ppto en base a la bebida tratada por UAPH.

La distribución del tamaño de partícula de los tratamientos se muestra en la Figura 4 y los diámetros medios ponderados de superficie y volumen de las esferas equivalentes se presentan en la Tabla 2.

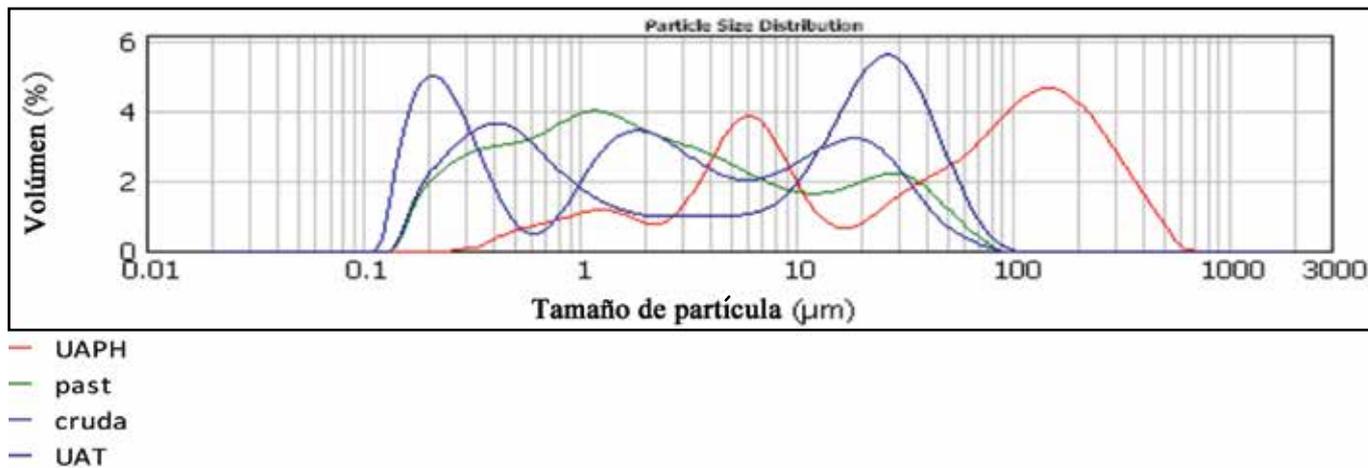


Figura 4a. Distribución de tamaño de partícula en relación al porcentaje de volumen para los diferentes tratamientos.

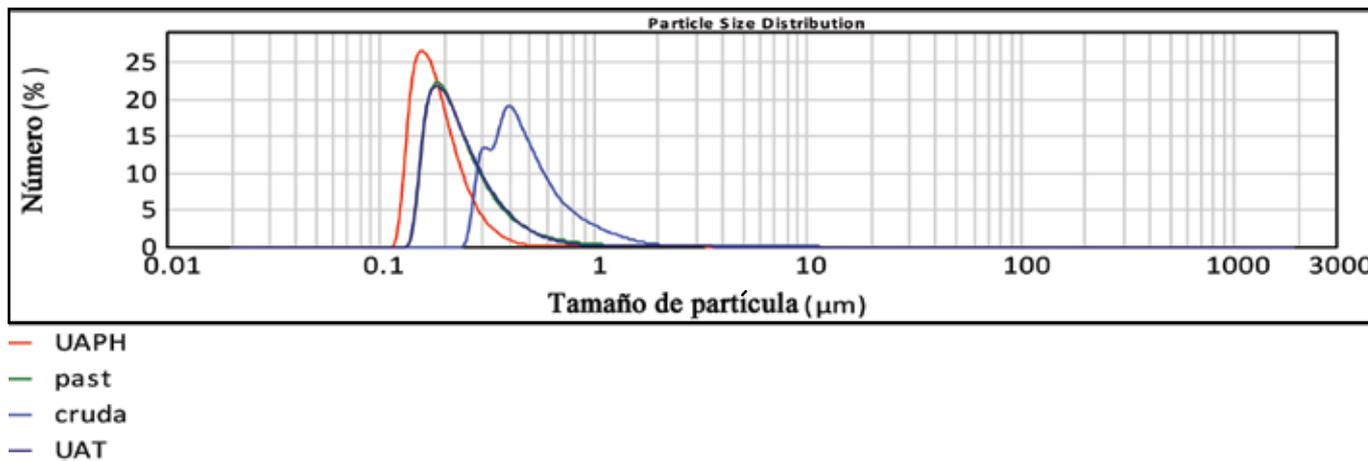


Figura 4b. Distribución de tamaño de partícula en relación al porcentaje de partículas totales para los diferentes tratamientos.

Leche de arroz	D[3,2] µm	D[4,3] µm
Cruda	5.829	95.541
Pasteurizada	0.934	7.754
UAT	0.997	15.098
UAPH	0.0651	7.889

Tabla 2. Diámetros medios de partículas en las distintas muestras de leche de arroz expresado como diámetro de esfera de superficie y volumen equivalente D[3,2] y D[4,3], respectivamente.

Leche de arroz	PCA recuento total UFC/ml	PCA esporas UFC/ml	Bacillus brillante <i>Bacillus cereus</i> UFC/ml	VRBG coliformes UFC/ml
Cruda	(2.62 ± 0.6) E+05	(8.67 ± 1.6) E+01	(1.17 ± 0.7) E+03	(2.50 ± 0.4) E+03
Pasteurizada	(1.00 ± 0.3) E+02	(6.02 ± 1.2) E+01	(5.17 ± 0.3) E+01	≤1
UAT	≤1	≤1	≤1	≤1
UAPH	≤1	≤1	≤1	≤1

Tabla 3. Recuento microbiológico de las cuatro preparaciones, realizados inmediatamente después de cada tratamiento.

Si bien para todos los tratamientos el tamaño de partícula máximo (Figura 4a) se reduce a 100 μm , para el proceso UAPH la reducción del tamaño medio de partícula es significativo con respecto a la leche cruda y a los tratamientos térmicos. El D_{4,3} también expresa que la formación/presencia de partículas/agregados de tamaño superior a la media es menor (Tabla 2). El 90 % de las partículas de la bebida procesada por UAPH tiene un diámetro de partícula menor a 0,262 μm ; esto condice con lo reportado por Polisel-Scopel (2011) para bebidas de soya donde el 80-95% del volumen total de partículas está en el rango de 0 - 0,6 μm .

Microbiología

Recuentos microbiológicos de los distintos tratamientos

Luego de una y dos semanas de incubación, los recuentos para todos los microorganismos de las leches UAT y UAPH fueron inferiores a 1 UFC/mL, por debajo del límite de detección de la técnica. Los resultados microbiológicos indican que es posible comparar el proceso UAPH con la aplicación de tratamientos térmicos tradicionales; resultados similares se reportan para bebidas de soya tratadas por UAT (142 °C, 6 segundos) y UAPH (300 MPa, temperatura de entrada 75 °C) en la que una incubación por 20 días a 30 °C no mostró desarrollo microbiano (Polisel-Scopel et al., 2011).

Conclusiones

La interacción del Ca⁺⁺ con las proteínas de arroz provoca posos en las bebidas de arroz. Para la formulación estudiada la desestabilización de la bebida aumenta con la concentración de Ca⁺⁺ hasta que alcanza 80 ppm, concentración a partir de la cual se mantiene constante.

Los resultados microbiológicos indican que es posible comparar el proceso UAPH con la aplicación de tratamientos térmicos tradicionales, con el beneficio agregado de un aumento en la estabilidad de la bebida frente a la formación de sedimento y el cremado. Así, resulta evidente el gran potencial que presenta la UAPH para ser aplicada en leche de arroz, cuya materia prima es una de las de mayor producción en Uruguay.

Referencias

- ÁLVAREZ, ROSA. M.; PÉREZ, MÓNICA.; REYES EDICTA.; MORENO ORLANDO. J.; DELGADO NELLY.; TORREALBA, GELIS. T.; ACEVEDO MARCO. A.; CASTRILLO WILLIAM .A.; NAVAS MARÍA. I.; SALAZAR MARBELYS.; TORRES ORLANDO. J.; TORRES EDGAR. A.; GARCÍA PEDRO. J.; PÉREZ ALBERTO. Evaluación comparativa de híbridos y variedades de arroz en los llanos centroccidentales de Venezuela. En: *Agronomía Trop.* 2008, 58(2):101-110.
- BRIÑEZ, W.J.; ROIG-SAGUÉS, A.X.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M.M.; GUAMIS-LÓPEZ, B. Inactivation of *Listeria innocua* in milk and orange juice by ultrahigh-pressure homogenization. En: *Journal of Food Protection.* 2006, 69(1):86-92.
- CARROLL, L.E. Functional properties and applications of stabilized rice bran in bakery product. En: *Food Technology.* 1990, 44(4):74-76.
- CRUZ, N.M.; CAPELLAS, M.; HERNÁNDEZ, A.J.; TRUJILLO, B.; GUAMIS, V.; FERRAGUT. Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. En: *Food Research International.* 2007, 40:725-732.
- DATA, N.; HAYES, M. G.; DEETH, H. C.; KELLY, A. L. Significance of frictional heating for effects of high pressure homogenisation on milk. En: *J. Dairy Res.* 2005, 72:1-7.
- DIELS, A. M. J.; CALLEWAERT, L.; WUYTACK, E.Y.; MASSCHALCK, B.; MICHIELS, C.W. Inactivation of *Escherichia coli* by high-pressure homogenisation is influenced by fluid viscosity

but not by water activity and product composition. En: *International Journal of Food Microbiology.* 2005, 101:81-291

- FLOURY, J.; DESRUMAUX, A.; AXELOS, M. A. V.; LEGRAND, J. Degradation of methylcellulose during ultra-high pressure homogenisation. En: *Food Hydrocolloids.* 2002, 16:47-53.
- FLOURY, J.; BELLETTRE, J.; LEGRAND, J.; DESRUMAUX, A. Analysis of a new type of high pressure homogeniser. A. Study of the flow pattern. En: *Chemical Engineering Science.* 2004, 59:843-853.
- GRACIA-JULIA, A.; RENE, M.; CORTES-MUÑOZ, M.; PICART, L.; LOPEZ-PEDEMONTE, T.; CHEVALIER, D.; DUMAY, E. Effect of dynamic high pressure on whey protein aggregation: a comparison with the effect of continuous short-time thermal treatments. En: *Food Hydrocolloids.* 2008, 22:1014-1032.
- GUAMIS, B.; TRUJILLO, A.; FERRAGUT, V.; QEVEDO, J.M.; LOPEZ, T.; BUFFA, M. *Sistema continuo y procedimiento de esterilización y estabilización física de fluidos bombeables mediante UAPH.* Patente Europea 10380094.2. 2010-07-21.
- HAYES, M. G.; FOX, P. F.; KELLY, A. L. 2005. Potential applications of high pressure homogenisation in processing of milk. En: *J. Dairy Res.* 2005, 71:1-9.
- HELM; BURKS. Hypoallergenicity of rice bran protein. En: *Cereal Foods World.* 1996, 41:839-843.
- LOWRY, O.; ROSEBROUGH, N.; FARR, A.; RANDALL, R. Protein measurement with the folin-phenol reagent. En: *Journal of Biological Chemistry.* 1951, 193:265-275.
- MORONI, O.; JEAN, J.; AUTRET, J.; FLISS, I. Inactivation of lactococcal bacteriophages in liquid media using dynamic high pressure. En: *Int. Dairy J.* 2002, 12:907-913.
- PATAVARA PATHOMRUNGSIYOUNGGUL, MICHAEL J. LEWIS, ALISTAIR S. GRANDISON. Effects of calcium-chelating agents and pasteurisation on certain properties of calcium-fortified soy milk. En: *Food Chemistry.* 2010, 118:808-814.
- PICART, L.; THIEBAUD, M.; RENÉ, M.; GUIRAUD, J. P.; CHEFTEL, J. C.; DUMAY, E. Effects of high pressure homogenization of raw bovine milk on alkaline phosphatase and microbial inactivation. A comparison with continuous short-time thermal treatments. En: *J. Dairy Res.* 2006, 73:1-10.
- POLISELI-SCOPEL FÁBIO H.; HERNANDEZ-HERRERO MANUELA; GUAMIS, BUENAVENTURA; FERRAGUT, VICTORIA. Comparison of ultra high pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical and chemical quality of soymilk. En: *Food Science and Technology.* 2011, 46:42-48.
- THIEBAUD, M.; DUMAY, E.; PICART, L.; GUIRAUD, J. P.; CHEFTEL, J.C. High-pressure homogenization of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. En: *Int. Dairy J.* 2003, 13:427-439.
- VACHON, J. F.; KHEADR, E. E.; GIASSON, J.; PAQUIN, P.; FLISS, I. Inactivation of foodborne pathogens in milk using dynamic high pressure. En: *J. Food Prot.* 2002, 65(2):345-352.
- VANNINI, L.; LANCIOTTI, R.; BALDI, D.; GUERZONI, M.E. Interactions between high pressure homogenization and antimicrobial activity of lysozyme and lactoperoxidase. En: *Int. J. of Food Microbiol.* 2004, 94:123-135
- WALSTRA, P. Formation of emulsions and foams. En: WALSTRA, P. *Physical chemistry of foods.* New York: Marcel Dekker, 2003. pp. 397-436.
- ZARDOYA, R.; TULA, L.; CASTAÑO, G.; MÁS, R.; ILLNAIT, J.; FERNÁNDEZ, J. C.; DÍAZ, E.; FERNÁNDEZ, L. Effects of serum biochemistry on hypercholesterolemic patients with abnormal serum biochemical indicators of hepatic function. En: *Curr. Ther. Res.* 1996, 57:568-577.