

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“EFECTO DE LA CARRAGENINA Y SACAROSA EN LA
ACTIVIDAD DE AGUA, pH, SINÉRESIS Y
ACIDEZ DEL YOGURT”**

Presentada por:

CARLOS LUIS MORI NUÑEZ

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Lima - Perú

2017

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**“EFECTO DE LA CARRAGENINA Y SACAROSA EN LA
ACTIVIDAD DE AGUA, pH, SINÉRESIS Y ACIDEZ DEL
YOGURT”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:
CARLOS LUIS MORI NUÑEZ**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. David Campos Gutiérrez
PRESIDENTE

Dr. Carlos Núñez Saavedra
PATROCINADOR

M.Sc. Francisco Salas Valerio
MIEMBRO

Mg.Sc. Fanny Ludeña Urquiza
MIEMBRO

Este trabajo se lo dedico a Dios y
todas aquellas personas que
supieron alentarme para
poder terminar lo que
había empezado

A mi familia,
por su paciencia,
comprensión, cariño y
apoyo incondicional en todos
los momentos de mi vida.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi especial agradecimiento a todas las personas e instituciones que con su colaboración hicieron posible la realización del presente trabajo de investigación.

- Al Dr. Carlos Núñez Saavedra, por haberme permitido contar con su valioso patrocinio en el desarrollo de la investigación.
- A los miembros del Comité Consejero; Dr. David Campos Gutiérrez, Dr. Carlos Núñez Saavedra, M.Sc. Francisco Salas Valerio y Mg.Sc. Fanny Ludeña Urquiza por sus valiosas orientaciones.
- A la Universidad Católica de Santa María, Arequipa, por el apoyo en el desarrollo experimental de la presente investigación.
- A los docentes de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional Agraria La Molina, quienes con su dedicación, motivación y amistad han sido claves en mi vida profesional.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1.	ASPECTOS GENERALES DEL YOGURT.....	3
2.1.1.	HISTORIA DEL YOGURT.....	3
2.1.2.	DEFINICIÓN.....	4
2.1.3.	COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y BENEFICIOS A LA SALUD.....	5
2.1.4.	TIPOS DE YOGURT.....	6
2.1.5.	INGREDIENTES Y ADITIVOS EN EL YOGURT.....	8
2.2.	MATERIA PRIMA, CULTIVOS Y MECANISMOS BIOQUÍMICOS EN EL YOGURT.....	10
2.2.1.	LECHE COMO MATERIA PRIMA.....	10
2.2.2.	CULTIVOS PARA LA ELABORACIÓN DE YOGURT.....	11
2.2.3.	MECANISMOS BIOQUÍMICOS QUE OCURREN EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE YOGURT.....	14
2.3.	AGENTES HUMECTANTES.....	16
2.3.1.	PROPIEDADES Y CONDICIONES.....	17
2.3.2.	CARRAGENINA.....	19
2.3.3.	SACAROSA.....	21
2.4.	ESTABILIDAD DEL YOGURT.....	21
2.4.1.	ACTIVIDAD DE AGUA Y HUMEDAD.....	22
2.4.2.	pH Y ACIDEZ TOTAL.....	27
2.4.3.	DEGRADACIÓN PROTEICA.....	28
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	33
3.2.	MATERIA PRIMA E INSUMOS.....	33
3.3.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	33
3.3.1.	MATERIALES.....	33
3.3.2.	EQUIPOS.....	34
3.3.3.	REACTIVOS.....	35
3.4.	MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	36
3.4.1.	DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE.....	36
3.4.2.	DETERMINACIÓN DE pH.....	36
3.4.3.	DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA DE LECHE.....	36
3.4.4.	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA DE LA LECHE.....	37

3.4.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS DE LA LECHE.....	37
3.4.6. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE LACTOSA DE LA LECHE	38
3.4.7. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CENIZAS DE LA LECHE.....	38
3.4.8. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES DE LA LECHE.....	39
3.4.9. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA DEL YOGURT	39
3.4.10. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE AGUA DEL YOGURT.....	39
3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	40
3.5.1. RECEPCIÓN DE LA LECHE.....	40
3.5.2. REGULACIÓN DE GRASA Y SÓLIDOS TOTALES.....	40
3.5.3. HOMOGENIZACIÓN	40
3.5.4. PASTEURIZACIÓN.....	40
3.5.6. ADICIÓN DEL EDULCORANTE Y ESTABILIZANTE	42
3.5.7. ATEMPERADO	42
3.5.8. INOCULACIÓN.....	42
3.5.9. ENVASADO.....	42
3.5.10. INCUBACIÓN	42
3.5.11. REFRIGERACIÓN	42
3.5.12. CONTROLES DE CALIDAD.....	43
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	43
3.6.1. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	43
3.6.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	44
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
4.2. EFECTO DE LA SACAROSA Y CARRAGENINA DURANTE LA FERMENTACIÓN DE YOGURT	49
4.2.1. EVOLUCIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE	49
4.2.2. EVOLUCIÓN DEL pH	52
4.3. EFECTO DE LA SACAROSA Y CARRAGENINA EN EL ALMACENAMIENTO DEL YOGURT ..	57
4.3.1. EFECTO EN EL pH	57
4.3.2. EFECTO EN LA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA.....	62
4.3.3. EFECTO EN LA SINÉRESIS	68
4.3.4. EFECTO EN LA ACTIVIDAD DE AGUA DURANTE EL ALMACENAMIENTO	75
V. CONCLUSIONES.....	79
VII. RECOMENDACIONES.....	80
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
VIII. ANEXOS	92

ÍNDICE DE TABLAS

Cuadro 1:	Composición de la leche y el yogurt	5
Cuadro 2:	Composición química de la leche de diferentes especies de mamíferos	11
Cuadro 3:	Cultivos opcionales para la adición al yogurt.....	12
Cuadro 4:	Posibles causas y soluciones de la presencia de sinéresis en yogurt.....	32
Cuadro 5:	Esquema experimental en cada etapa de proceso	43
Cuadro 6:	Esquema de diseño factorial en bloques completamente al a azar	44
Cuadro 7:	Análisis físico-químico de leche fresca	46
Cuadro 8:	Variación del pH del yogurt durante el almacenamiento (día 1; 7 y 15 días) a 4 °C	58
Cuadro 9:	Análisis de varianza del diseño factorial (pH vs. Bloques; sacarosa; carragenina).....	60
Cuadro 10:	Prueba Tukey de los efectos simples al evaluar el pH en función de la concentración de sacarosa y la concentración de carragenina	61
Cuadro 11:	Variación de la capacidad de retención de agua del yogurt durante el almacenamiento (día 1; 7 y 15 días) a 4 °C	63
Cuadro 12:	Análisis de varianza del diseño factorial (CRA vs. Bloques; sacarosa; carragenina).....	65
Cuadro 13:	Prueba Tukey de los efectos principales al evaluar la capacidad de retención de agua del yogurt en función de la concentración de sacarosa y carragenina	67
Cuadro 14:	Variación de la sinéresis del yogurt durante el almacenamiento (día 1; 7 y 15 días) a 4 °C	70
Cuadro 15:	Análisis de varianza del diseño factorial (Sinéresis vs. Bloques; sacarosa; carragenina).....	72
Cuadro 16:	Prueba Tukey de los efectos simples al evaluar la sinéresis en función de la concentración de sacarosa y la concentración de carragenina	74
Cuadro 17:	Variación de la actividad de agua del yogurt durante el almacenamiento (día 1; 7 y 15 días) a 4 °C.....	75
Cuadro 18:	Análisis de varianza del diseño factorial (a_w vs. Bloque; sacarosa; carragenina).....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Segmentación del mercado de yogurt.	6
Figura 2: Principales componentes químicos de la leche de vaca.	12
Figura 3: Estructuras de kappa-, iota- y lambda-carragenina.	20
Figura 4: Diagrama actividad de agua – estabilidad del alimento.	23
Figura 5: Determinación de la a_w por la técnica de equilibración bitérmica.	25
Figura 6: Isotermas de adsorción y desorción de agua.	26
Figura 7: Higrómetro de punto de rocío (AquaLab, 3TE).	27
Figura 8: Diagrama de la metodología experimental para el procesamiento de yogurt.	41
Figura 9: Cambio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g) durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 0,0 por ciento.	49
Figura 10: Cambio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g) durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 5,0 por ciento.	50
Figura 11: Cambio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g) durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 10,0 por ciento.	51
Figura 12: Cambio del pH durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 0,0 por ciento.	53
Figura 13: Cambio del pH durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 5,0 por ciento.	54
Figura 14: Cambio del pH durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 10,0 por ciento.	55
Figura 15: Prueba de normalidad de los residuos (Anderson Darling).	57
Figura 16: Homogeneidad de varianza del pH versus la concentración (%) de sacarosa.	59

Figura 17: Homogeneidad de varianza del pH versus la concentración (%) de carragenina.....	59
Figura 18: Interacción entre los efectos simples de las fuentes de variación sacarosa * carragenina.....	60
Figura 19: Prueba de normalidad de los residuos (Anderson Darling).	64
Figura 20: Homogeneidad de varianza de la capacidad de retención de agua versus la concentración (%) de sacarosa.....	64
Figura 21: Homogeneidad de varianza de la capacidad de retención de agua versus la concentración (%) de carragenina.....	65
Figura 22: Efectos principales de las fuentes de variación: concentración de sacarosa (%) versus la concentración (%) de carragenina.....	66
Figura 23: Variación de la sinéresis del yogurt durante el almacenamiento a 4 °C. ..	68
Figura 24: Prueba de normalidad de los residuos (Anderson Darling).	69
Figura 25: Homogeneidad de varianza de la sinéresis versus la concentración (%) de sacarosa.....	71
Figura 26: Homogeneidad de varianza de la sinéresis versus la concentración (%) de Carragenina.....	71
Figura 27: Interacción entre los efectos simples de las fuentes de variación sacarosa * Carragenina.....	72
Figura 28: Prueba de normalidad de los residuos (Anderson Darling).	75
Figura 29: Homogeneidad de varianza de la actividad de agua versus la concentración (%) de sacarosa.....	76
Figura 30: Homogeneidad de varianza de la actividad de agua versus la concentración (%) de Carragenina.....	76
Figura 31: Variación de la actividad de agua en función del tiempo de almacenamiento en refrigeración (4 °C) para todas las combinaciones posibles de los dos factores (% sacarosa y % de carragenina).....	78

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1:	Equipo determinador de la capacidad de retención de agua.....	92
ANEXO 2:	Envasado y embalaje de muestras para determinación de actividad de agua	92
ANEXO 3:	Módulo didáctico productivo de lácteos – área de laboratorio.....	93
ANEXO 4:	Planta de lácteos UCSM – área de producción de yogurt, sección tratamiento previo de la leche.....	93
ANEXO 5:	Planta de lácteos UCSM – área de producción de yogurt, sección fermentación y envasado.....	94

RESUMEN

Se ha observado en el Perú un renovado interés por el consumo de lácteos como el yogurt, por lo cual es necesario prolongar la vida útil de este; manteniendo su estabilidad a lo largo del tiempo, para ello se planteó como objetivo principal de la siguiente investigación; elaborar un yogurt con actividad de agua (a_w) estabilizada por la adición de concentraciones adecuadas de azúcar blanca y carragenina, además, evaluar las otras propiedades fisicoquímicas del producto elaborado (como el pH, capacidad de retención de agua y sinéresis) durante el tiempo de almacenamiento. La actividad de agua (a_w) del yogurt permaneció constante en el periodo de almacenamiento (15 días) evidenciando que la carragenina actuó estabilizando la unión del agua a los constituyentes de la leche (proteínas). El valor del pH aumentó conforme se incrementó la concentración de sacarosa y carragenina obteniéndose valores máximos para concentraciones de 10,0 y 1,0 por ciento, respectivamente; sin embargo, el pH disminuyó a lo largo del tiempo de almacenamiento, debido a la producción de ácido láctico. La capacidad de retención de agua (CRA) aumentó conforme se incrementó la concentración de sacarosa y carragenina obteniendo valores máximos para concentraciones de 10,0 y 1,0 por ciento, respectivamente; además, la CRA aumentó durante el tiempo de almacenamiento, debido a la capacidad hidrofílica de la sacarosa y carragenina. Finalmente, la sinéresis del yogurt aumentó a una concentración de carragenina del 0,5 por ciento, sin embargo disminuyó a una concentración del 1,0 por ciento; además, la sinéresis se incrementó a lo largo del tiempo de almacenamiento (15 días).

PALABRAS CLAVE:

Yogurt, sacarosa, carragenina, actividad de agua, sinéresis, capacidad de retención de agua.

ABSTRACT

It has been observed in Peru a renewed interest in the consumption of dairy products such as yogurt, which is why it is necessary to prolong the shelf life of this product while maintaining its stability over time. For this purpose, the main objective of the following research was to elaborate a yogurt with water activity (a_w) stabilized by the addition of adequate concentrations of sugar and carrageenan; In addition, evaluate the other physicochemical properties of the finished product (pH, water retention capacity and syneresis) throughout the storage time. The water activity (a_w) of the yogurt remained constant throughout the storage time (15 days) showing that carrageenan acted stabilizing the union of the water to the constituents of the milk (proteins). The pH value increased as the concentration of sucrose and carrageenan increased, obtaining maximum values for concentrations of 10.0 and 1.0 percent, respectively; however, the pH decreased throughout the storage time, due to the production of lactic acid. The water retention capacity (CRA) increased as the concentration of sucrose and carrageenan increased, obtaining maximum values for concentrations of 10.0 and 1.0 percent, respectively; in addition, CRA increased throughout the storage time, due to the hydrophilic capacity of sucrose and carrageenan. Finally, the syneresis of the yogurt increased to a carrageenan concentration of 0.5 percent, however it decreased to a concentration of 1.0 percent; in addition, the syneresis increased throughout the storage time (15 days).

KEYWORDS:

Yogurt, sucrose, carrageenan, water activity, syneresis, water holding capacity.

I. INTRODUCCIÓN

El yogurt es probablemente el más antiguo de los productos fermentados de leche conocidos, y actualmente es considerado como un derivado lácteo con propiedades que lo clasifican como un producto saludable (Claverán, 1993), además es uno de los alimentos de moda del cual se ha hablado mucho últimamente, por los beneficios que tiene y por su forma de preparación (Drake et al., 2000). El yogurt tiene otros atributos tales como: ayudar a reducir los síntomas de la intolerancia a la lactosa, además tiene beneficios en el tracto intestinal al incrementar el contenido en su flora microbiana. El yogurt más que ser un alimento delicioso es un alimento nutritivo (Shah, 2001).

El yogurt es obtenido de la fermentación controlada de la leche, por una combinación de cultivos de bacterias ácido lácticas, las cuales provocan un sabor láctico y aroma típico. Además es una excelente fuente de calcio, contiene aproximadamente 120 mg de calcio por 100 g de producto (Pirkul et al., 1998).

En los últimos tres lustros se ha observado en el Perú un renovado interés por los alimentos conservados mediante la reducción de la fugacidad, mediante la adición de agentes antimicrobianos como los edulcorantes y/o estabilizantes, los mismos que en las dosis apropiada permiten mejorar la estabilidad de los alimentos fermentados, como es el caso del yogurt. Estos agentes permiten disminuir la actividad microbiana, especialmente de las bacterias, organismos que requieren una alta actividad de agua (a_w) para su multiplicación y así reducir el empleo excesivo de métodos tradicionales de conservación (esterilización, congelación, enlatado, deshidratación entre otros.), siendo una opción de conservación que permite mantener la calidad durante su vida útil en los ambientes de comercialización y en el hogar.

La presente investigación tiene como objetivo principal evaluar los cambios que ocurren en la actividad de agua, pH, sinéresis y acidez del yogurt por efecto de la adición de concentraciones adecuadas de sacarosa y carragenina, evaluando estos cambios durante el almacenamiento. Asimismo:

- Formular y evaluar el uso de sacarosa como edulcorante y estabilizado con carragenina en el yogurt
- Evaluar el efecto de la adición de diversos niveles de sacarosa y carragenina en la actividad de las bacterias lácticas del yogurt.
- Evaluar las propiedades fisicoquímicas de los productos elaborados.
- Determinar los cambios que ocurren en la actividad de agua, pH, sinéresis y acidez del yogurt durante el almacenamiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ASPECTOS GENERALES DEL YOGURT

2.1.1. HISTORIA DEL YOGURT

La fermentación es uno de los métodos más antiguos practicados por los seres humanos para la transformación de la leche en productos con una larga vida útil. El origen exacto de la fabricación de leches fermentadas es difícil de establecer, pero podría datarse de unos 10 000 a 15 000 años atrás, ya que la forma de vida de los seres humanos pasó de ser la recolección de alimentos a la producción de alimentos (Pederson 1979). Este cambio también incluyó la domesticación de animales (es decir, vaca, oveja, cabra, búfalo y camello), y es muy probable que la transición ocurriera en diferentes momentos en diferentes partes del mundo. La evidencia arqueológica muestra que algunas civilizaciones (por ejemplo, los Sumarios y los Babilonios en Mesopotamia, los Faraones en el noreste de África y los indios en Asia) estaban bien avanzados en métodos agrícolas y de ganadería y en la producción de leches fermentadas como el yogur (Tamime y Robinson 2007).

Aunque no hay registros disponibles sobre el origen del yogur, la creencia en su influencia beneficiosa sobre la salud humana y la nutrición ha existido en muchas civilizaciones durante un largo período de tiempo. De acuerdo con la tradición Persa, Abraham debió su fecundidad y longevidad al yogur y, en épocas más recientes, se decía que el emperador Francisco I de Francia había sido curado de una enfermedad debilitante al consumir yogur hecho de leche de cabra (Rosell, citado por Tamime y Robinson 2007). Tailliez (2001) ha sugerido que las bacterias lácticas (LAB) pueden haber surgido en la Tierra hace 3 000 millones de años, ya que se encontraron en sedimentos con una antigüedad de 2 750 millones de años y su mala adaptación al medio ambiente aeróbico puede sugerir que han surgido durante la transición de la atmósfera terrestre de condiciones anaeróbicas a aeróbicas.

Es probable, sin embargo, que el origen del yogur sea el Medio Oriente, y la evolución de este producto fermentado a través de las edades puede atribuirse a las habilidades culinarias de los pueblos nómadas que viven en esa parte del mundo. El yogur representa un producto lácteo muy significativo en todo el mundo en los últimos tiempos (Tamime y Robinson 2007, Chandan *et al.* 2006).

En general, los productos lácteos cultivados resultaron en la conservación de nutrientes valiosos y permitieron su consumo durante un período significativamente más largo que la leche. Además, la conversión de la leche en leche fermentada generó una consistencia distinta, una textura suave y un sabor inconfundible, junto con la inocuidad de los alimentos, la portabilidad y la novedad para los consumidores. Datos de investigación modernos han revelado que la fermentación modifica ciertos constituyentes de la leche para mejorar el estado nutricional del producto. Además, se establece que los productos lácteos fermentados pueden denominarse “alimentos funcionales” porque contienen cultivos vivos y activos en cantidades significativas en la leche cultivada que le confieren beneficios de salud distintos más allá de la nutrición convencional (Shah 2001).

2.1.2. DEFINICIÓN

El yogur es definido por la FDA-CFR (2011) como el alimento producido mediante el cultivo de una mezcla estandarizada de yogur (definida más adelante) con un cultivo bacteriano caracterizante que contiene las bacterias productoras de ácido láctico *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Según la NTP (2014) el yogur natural es definido como el producto obtenido por fermentación láctica, mediante la acción de *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, a partir de leche pasteurizada y/o productos obtenidos de la leche con o sin modificaciones en su composición, pasteurizados; pudiendo o no agregarse otros cultivos de bacterias adecuadas productoras de ácido láctico, además de los cultivos esenciales. Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto, hasta la fecha de duración mínima.

2.1.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y BENEFICIOS A LA SALUD

Desde el punto de vista nutricional y de salud, el yogur aporta nutrientes adicionales a los de productos frescos como las frutas; al ser un alimento derivado de la leche, es rico en vitaminas y minerales. Las proteínas producidas por las bacterias lácticas hacen del yogur un producto con mayor valor biológico, las grasas y la lactosa resultan más digeribles para el consumo de personas que presenten problemas de intolerancia a productos lácteos. Esto lo hace recomendable para el consumo de gente de todas las edades, ya que aporta nutrientes importantes que son fáciles de asimilar (García *et al.* 2004). La composición nutricional de la leche, leche descremada, yogur entero, yogur descremado y yogur de frutas; se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Composición de la leche y el yogur (unidades por 100 gramos)

COMPUESTOS	LECHE ENTERA	LECHE DESCREMADA	YOGURT ENTERO	YOGURT DESCREMADO	YOGURT DE FRUTAS
Calorías	77,50	36,00	72,00	64,00	98,00
Proteínas (g)	3,50	3,30	3,90	4,50	5,00
Grasas (g)	4,25	0,13	3,40	1,60	0,25
Carbohidratos (g)	4,75	5,10	4,90	6,50	18,60
Calcio (mg)	119,00	121,00	145,00	150,00	176,00
Fósforo (mg)	94,00	95,00	114,00	118,00	153,00
Sodio (mg)	50,00	52,00	47,00	51,00	-
Potasio (mg)	152,00	145,00	186,00	192,00	254,00

FUENTE: Tomado de MicroEmpresa 2005.

La popularidad del yogur ha sido impulsada por sus beneficios de salud percibidos. Los atributos que promueven la salud de consumir yogur que contiene cultivos vivos y activos están bien documentados (USProbiotics 2012). La tendencia actual del uso de prebióticos y cultivos probióticos en la fabricación de leches fermentadas y productos de yogur se apoya en ensayos clínicos (Sanders 2007). Los efectos beneficiosos documentados en numerosos estudios y revisiones incluyen la prevención del cáncer, la reducción de la diarrea asociada a los viajes, la terapia con antibióticos y el rotavirus, la mejora de la salud gastrointestinal,

el aumento de la inmunidad del huésped, la mejora de los síntomas de intolerancia a la lactosa y la protección contra las infecciones causadas por los microorganismos transmitidos por los alimentos (Chandan y Kilara 2008).

2.1.4. TIPOS DE YOGURT

El yogur está disponible en las variedades de grasa completa, bajo en grasa y sin grasa. Además, los formatos de empaque segmentan el mercado del yogur más lejos (Pannell y Schoenfuss 2007). En todo el mundo, el yogur se produce a partir de la leche de vaca, búfalo, cabra, oveja y otros mamíferos. En la producción industrial de yogur, la leche de vaca es el material de partida predominante. Para obtener una consistencia de natilla, la leche de vaca generalmente se enriquece con leche descremada en polvo, concentrado de proteínas de leche o leche condensada desnatada (Özgül *et al.* 2012).

En la actualidad, existe una amplia variedad de yogures que difieren en cuanto a la presentación, textura, sabor, cultivos, etc.; dicha segmentación del mercado se presenta en la Figura 1. Dependiendo del contenido de grasa, Özgül *et al.* (2012) divide al yogur en dos tipos:

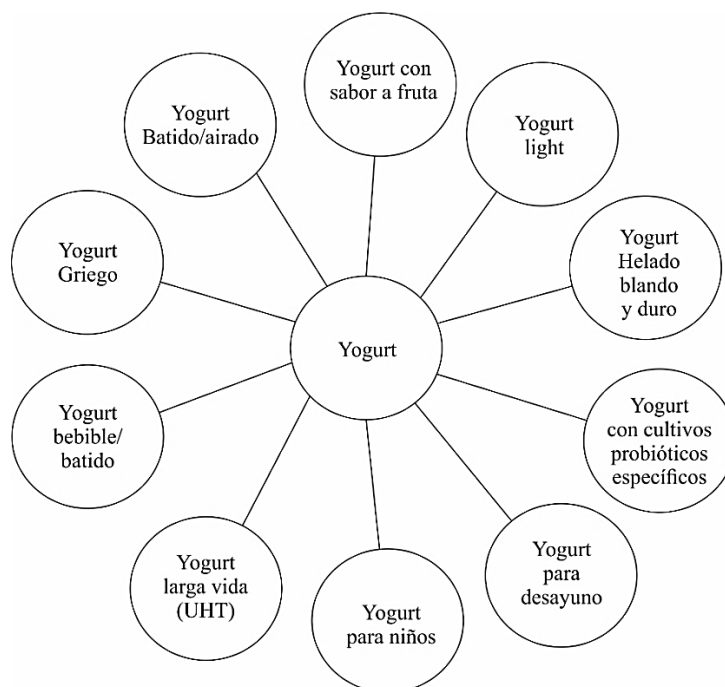


Figura 1: Segmentación del mercado de yogurt.

FUENTE: Adaptado de Chandan *et al.* 2006.

a. YOGURT BAJO EN GRASA

El yogurt bajo en grasa tiene una descripción similar a la anterior para el yogurt, excepto que la grasa de la leche del producto antes de la adición de sabores voluminosos no es inferior al 0,5 por ciento ni superior al 2,0 por ciento. El contenido mínimo de SNG es el mismo (8,25 %) que en el yogurt.

b. YOGURT SIN GRASA

El yogurt sin grasa es un producto en el que, según la descripción anterior del yogurt, el contenido de grasa de la leche antes de la adición de sabores es inferior al 0,5 por ciento. El contenido mínimo de SNG es el mismo (8,25 %) que en el yogurt. Por otro lado, el yogurt se comercializa en varios estilos (Chandan y O'Rell 2006). A continuación se indican las principales categorías:

- **Yogurt plano.** No contiene azúcar y se elabora en por la incubación en vaso o la cuba.
- **Yogurt con sabor a fruta.** Es el más popular en el mundo.
 - **Yogurt con sabor agrio o suizo.** En este tipo de producto, el yogurt completamente fermentado, llano y con pH 4,3-4,4; se enfría a ~ 20 ° C (68 ° F), se mezcla con la preparación de fruta y se llena en vasos. El producto paletizado se coloca en el refrigerador. La textura y las propiedades físicas del yogur dependen de la fruta, estabilizador y velocidad de enfriamiento.
 - **Estilo de fruta en la parte inferior.** En este tipo de yogurt, los vasos reciben preparación de frutas (15 – 20 % en peso), seguido por la mezcla inoculada a ~ 44 ° C (111 ° F). Los vasos se colocan en cajas, y las *palets* se mueven a la sala caliente mantenida a ~ 48 ° C (118 ° F). El pH del producto alcanza 4,7 a 4,85 en ~ 100 min, y luego, se traslada al túnel de enfriamiento. Al final del túnel, la temperatura del yogur es de 16 -18 ° C (61 - 64 ° F). Luego se traslada al refrigerador.

- **Yogurt ligero.** Se hace sin azúcar añadida. Los edulcorantes de alta intensidad se añaden en la preparación de fruta o directamente a la base de yogurt.
- **Yogurt a la crema.** Este yogurt con sabor a fruta contiene suficiente almidón para crear una consistencia de crema.
- **Yogurt batido / mousse.** Este yogurt esponjoso y de textura ligera se produce como espuma. Contiene más azúcar y estabilizantes. La gelatina es un ingrediente esencial. Se inyecta un gas para crear espuma.
- **Yogurt de estilo griego / tenso, concentrado.** Este estilo se obtiene forzando o centrifugando el yogurt natural. Tiene una textura lisa de queso cremoso y posee un contenido de proteínas mucho más alto.
- **Yogurt congelado (*Frozen*).** Típicamente, contiene 10 a 15 por ciento de yogurt natural mezclado con leche helada. Su sabor es más parecido al helado de crema y se presenta en variedades blandas o duras. Es un producto bajo o sin grasa.

2.1.5. INGREDIENTES Y ADITIVOS EN EL YOGURT

Los ingredientes lácteos permitidos en la mezcla de yogur son crema, leche, leche parcialmente desnatada o leche desnatada, usada sola o en combinación. Uno o más de los otros ingredientes opcionales también están autorizados para aumentar los sólidos no grasos del alimento, siempre que la proporción de proteína a sólidos no grasos, y la relación de eficiencia de la proteína a toda la proteína, presente en la mezcla, no se reduzca como consecuencia de la adición de tales ingredientes (Özgül *et al.* 2012).

Estos ingredientes opcionales incluyen leche desnatada concentrada, leche desnatada en polvo, suero de leche, lactosa, lactalbuminas, lactoglobulinas o suero modificado por la eliminación parcial o completa de lactosa o minerales para aumentar los sólidos no grasos de los alimentos. El yogur, antes de la adición de sabores, contiene no menos del 3,25 por ciento de grasa de leche y no menos del 8,25 por ciento de sólidos no grasos de leche (SNG) y tiene una acidez titulable no inferior al 0,9 por ciento expresada en ácido láctico. El

alimento puede ser homogeneizado y debe ser pasteurizado o ultrapasteurizado antes de la adición del cultivo bacteriano. Los ingredientes aromatizantes pueden añadirse después de la pasteurización o ultrapasteurización. Los ingredientes opcionales también se definen en la normativa (Özgül *et al.* 2012):

– **Vitaminas A y D.** Si se agrega, la vitamina A estará presente en una cantidad tal que cada 946 ml del alimento contenga no menos de 2 000 Unidades Internacionales (UI), dentro de los límites de las buenas prácticas de fabricación actuales. Si se añade, la vitamina D estará presente en una cantidad tal que cada 946 ml del alimento contenga 400 UI, dentro de los límites de las buenas prácticas de fabricación actuales.

– **Edulcorantes nutritivos de carbohidratos.** Azúcar (sacarosa), remolacha o caña; azúcar invertido (en forma de pasta o de jarabe); azúcar morena; jarabe; melazas jarabe de maíz con alta fructuosa; fructosa; jarabe de fructosa; maltosa; jarabe de maltosa, jarabe de maltosa seco; extracto de malta, extracto de malta seco; jarabe de malta, jarabe de malta seco; miel; y azúcar de arce, excepto el jarabe de mesa.

– **Aromatizantes.**

– **Colorantes.**

– **Estabilizadores.**

En Europa, el yogur está definido por la Norma 243-2003 del Codex Alimentarius (Codex Alimentarius Standard 243-2003 2003). Generalmente, la definición de yogur requiere que sea un producto lácteo fermentado por la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Diferentes países tienen diferentes regulaciones con respecto a aditivos aceptables, cantidad mínima requerida de organismos vivos y pH o acidez final. En los Estados Unidos el CFR no requiere un número específico de bacterias viables para satisfacer la identidad del yogur. Sin embargo, la Asociación Nacional del Yogur (NYA), una asociación comercial de los fabricantes del yogur, ofrece un sello vivo y activo del cultivo. Se encuentra comúnmente

en productos de yogurt refrigerados, la presencia de "sello activo y activo NYA" garantiza 10^8 unidades formadoras de colonias por gramo en el momento de la fabricación y actividad de los cultivos al final de la vida útil del producto (Hui *et al.* 2007).

En algunos países, la nomenclatura "yogur" se limita al producto elaborado exclusivamente a partir de los dos cultivos lácticos, mientras que en otros países es posible etiquetar un producto como "yogur" si se elabora con cultivos de yogur y cultivos probióticos adjuntos. Los cultivos adjuntos más comunes son *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus johnsonii* LA1 (Hui *et al.* 2007).

2.2. MATERIA PRIMA, CULTIVOS Y MECANISMOS BIOQUÍMICOS EN EL YOGURT

2.2.1. LECHE COMO MATERIA PRIMA

Según la NTP (2016) la leche cruda es definida como el producto íntegro de la secreción mamaria normal sin adición ni sustracción alguna y que ha sido obtenida mediante uno o más ordeños y que no ha sido sometido a procesamiento térmico alguno. Se han utilizado leches de diferentes especies de mamíferos para la producción de yogurt; en el **Cuadro 2** se ilustra las diferencias principales en la composición química de estas leches.

Como resultado, se producen variaciones en la calidad del yogurt, dependiendo del tipo de leche utilizada. Por ejemplo, la leche que contiene un alto porcentaje de grasa (ovejas, búfalos y renos) produce un yogurt rico y cremoso con una "sensación bucal" excelente en comparación con el yogurt fabricado a partir de leche que contiene un bajo contenido de grasa o leche desprovista de su contenido graso. La lactosa en la leche proporciona la fuente de energía para los organismos iniciadores de yogurt, pero la proteína juega un papel importante en la formación del gel y por lo tanto, la consistencia/viscosidad del producto es directamente proporcional al nivel de proteína presente.

Cuadro 2: Composición química de la leche de diferentes especies de mamíferos

ESPECIE	AGUA (g/100 g)	GRASA (g/100 g)	PROTEÍNA (g/100 g)	LACTOSA (g/100 g)	CENIZA (g/100 g)
Asno	89,0	2,5	2,0	6,0	0,5
Búfalo	82,1	8,0	4,2	4,9	0,8
Camello	87,1	4,2	3,7	4,1	0,9
Vaca	87,4	3,9	3,3	4,7	0,7
Cabra	87,0	4,5	3,3	4,6	0,6
Caballo	88,8	1,9	2,6	6,2	0,5
Reno	63,3	22,5	10,3	2,5	1,4
Oveja	81,6	7,5	5,6	4,4	0,9
Yak	82,7	6,5	5,3	4,6	0,9
Cebú	86,5	4,8	3,3	4,7	0,7

FUENTE: Adaptado de Lentner 1981, Jenness 1988 y Holland *et al.* 1991.

Aunque el sabor del yogurt es principalmente el resultado de reacciones bioquímicas complejas iniciadas por la actividad microbiana, el sabor de la base de la leche varía de una especie a otra, y esta característica se refleja en el producto final (Tamime y Robinson 2007).

Dado que la leche de vaca está ampliamente disponible en la mayoría de los países del mundo, se hará hincapié en el uso de este tipo de leche para la fabricación de yogurt, aunque incluso con la leche de vaca, existen grandes diferencias en la composición. Los componentes principales de la leche son: agua, grasa, proteína, lactosa y minerales (cenizas), y una descomposición detallada de estos componentes se muestra en la Figura 2.

2.2.2. CULTIVOS PARA LA ELABORACIÓN DE YOGURT

Para la fabricación de yogurt en los Estados Unidos, se debe agregar para la fermentación básica de la mezcla del yogur los cultivos: *S. thermophilus* y *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus*. Se pueden incorporar otros organismos opcionales, preferiblemente de origen intestinal humano, en el yogur ya sea a través del cultivo de arranque o mezclados después de la fermentación completa. Los organismos opcionales (**Cuadro 3**) pueden seleccionarse de una larga lista de alternativas.

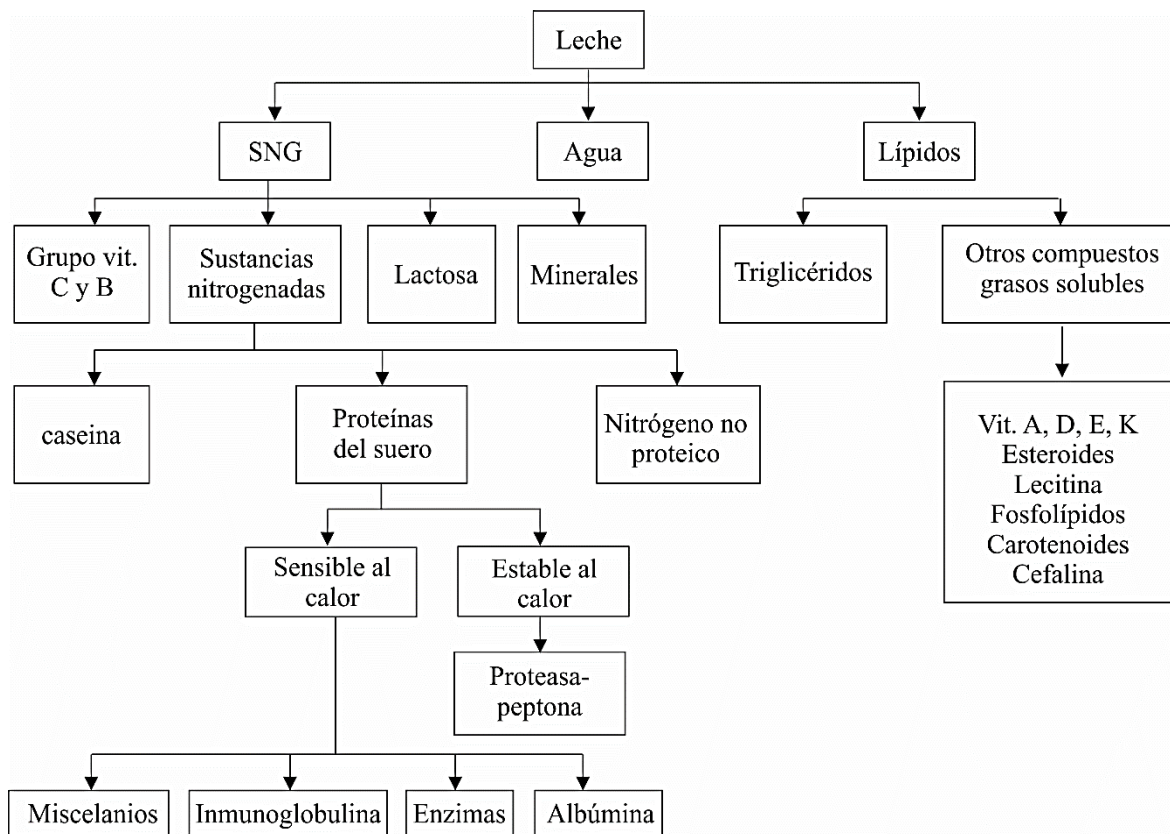


Figura 2: Principales componentes químicos de la leche de vaca.

FUENTE: Adaptado de Robinson y Wilbey 1998.

Cuadro 3: Cultivos opcionales para la adición al yogurt.

CULTIVOS	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium adolescentes</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>

FUENTE: Chandan *et al.* 2006, Tamime y Robinson 2007.

a. *S. THERMOPHILUS*

Este organismo es un anaeróbico Gram positivo, catalasa negativo, utilizado principalmente en la fabricación de variedades de queso duro, mozzarella y yogurt. No crece a 10 °C (50 °F) pero crece bien a 45 °C (113 °F). La mayoría de las cepas pueden sobrevivir a 60 °C (140 °F) durante 30 min (Rasic y Kurmann, citados por Özgül *et al.* 2012). Es muy sensible a los antibióticos. Crece bien en leche y fermenta lactosa y sacarosa. El cloruro de sodio (2 %) puede prevenir el crecimiento de muchas cepas. Estos estreptococos poseen un sistema proteolítico débil. A menudo se combina con los lactobacilos más proteolíticos en los cultivos iniciadores. La mayoría de las células de *S. thermophilus* crecen más fácilmente en la leche que los lactococos y producen ácido más rápido. Estas cepas de estreptococos poseen β -galactosidasa (β -gal) y utilizan sólo la glucosa de la lactosa y dejan la galactosa en el medio (Hutkins y Morris, citados por Özgül *et al.* 2012).

b. *LACTOBACILLUS DELBRUECKII SUBSP. BULGARICUS*

Estos organismos son Gram negativos, catalasa negativos, anaeróbicos/aerotolerantes homofermentativos y producen lactato d (-) (1,8 %) y peróxido de hidrógeno (Nauth, citado por Özgül *et al.* 2012). Estos cultivos tienen actividad β -galactosidasa; Sólo utilizan el resto de glucosa de la lactosa y se liberan galactosa en el medio. *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus* tiene un alto nivel de actividad proteasa en la leche que alcanza su máximo durante la fase logarítmica; alcanzando su máxima actividad de proteasa entre cuatro y ocho horas después de la incubación y luego disminuye rápidamente.

La actividad de la enzima proteinasa producida por *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus* NCDO es óptima de 45 a 50 ° C (113 a 122 ° F). Las propiedades físicas del coágulo generado por ácido de la leche se atribuyen a la agregación lenta e irreversible de las proteínas del suero (Argyle *et al.*, citados por Özgül *et al.* 2012). La agregación se potencia con caseína y no se altera por la presencia de grasa láctea o el tratamiento de pasteurización de la leche.

C. CRECIMIENTO ASOCIATIVO DE *S. THERMOPHILUS* Y *LB. DELBRUECKII* SUBSP. *BULGARICUS*

Existe una relación simbiótica entre *S. thermophilus* y *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus* en cultivos mixtos. Se ha establecido que los numerosos aminoácidos liberados de caseína por las proteasas de *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus* estimulan el crecimiento de *S. thermophilus* (Bautista *et al.* citados por Özgül *et al.* 2012). A su vez, *S. thermophilus* produce CO₂ y formiato, que estimulan el crecimiento de *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus* (Driessen *et al.* citados por Özgül *et al.* 2012).

Durante la primera parte de la incubación, *S. thermophilus* crece más rápido, elimina el exceso de oxígeno y produce los estimulantes mencionados anteriormente. Después de que el crecimiento de *S. thermophilus* ha disminuido debido a las concentraciones crecientes de ácido láctico, el *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus*, más tolerante al ácido, aumenta en número (Oberg y Broadbent, citados por Özgül *et al.* 2012).

2.2.3. MECANISMOS BIOQUÍMICOS QUE OCURREN EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE YOGURT

La conversión de leche en yogurt se acompaña de una intensa actividad metabólica de los organismos fermentadores ST y LB. El yogurt es un producto único que suministra al consumidor los nutrientes vitales de la leche, así como productos metabólicos de fermentación y abundantes cantidades de cultivos de yogurt vivo y activo. Como resultado del crecimiento del cultivo, se observa la transformación de atributos químicos, físicos, microbiológicos, sensoriales, nutricionales y fisiológicos en medio lácteo básico. Los cambios durante la fermentación son profundos y muchos son relevantes para los atributos de salud del yogurt (Chandan y Kilara 2013):

a. CARBOHIDRATOS

El contenido de lactosa de la mezcla de yogurt es generalmente alrededor del 6 por ciento. Durante la fermentación, la lactosa es la principal fuente de carbono, dando como resultado

una reducción de aproximadamente el 30 por ciento. Sin embargo, un nivel significativo de lactosa (4,2 %) sigue sin utilizarse. Un mol de lactosa da lugar a 1 mol de galactosa, 2 moles de ácido láctico y energía para el crecimiento bacteriano. Algunas cepas de ST exhiben tanto la actividad β - D - galactosidasa como la actividad fosfo β - D - galactosidasa. Por lo tanto, estas cepas también usan un sistema fosfoenolpiruvato-fosfotransferasa. La lactosa se convierte en fosfato de lactosa, que es hidrolizada por fosfo- β -D-galactosidasa a galactosa-6-fosfato y glucosa, que en glucolisis da ácido láctico. Aunque el contenido de lactosa está en exceso en el medio de fermentación, la acumulación de ácido láctico por encima del 1,5 por ciento actúa progresivamente como un inhibidor del crecimiento adicional de las bacterias del yogur. Normalmente, el período de fermentación se termina por una caída de temperatura de 4 °C (39,2 ° F). A esta temperatura, el cultivo está vivo, pero su actividad es drásticamente limitada, permitiendo un sabor bastante controlado en los canales de comercialización.

El ácido láctico producido por ST es el isómero L (+), que fisiológicamente es más digestible que el isómero D (-) producido por LB. El yogur contiene ambos isómeros. El isómero L (+) es normalmente 50 a 70 por ciento del ácido láctico total. Un nivel normal de consumo de yogur no representa un peligro para el ácido D (-) láctico, pero dosis relativamente grandes han sido implicadas en problemas de toxicidad en niños pequeños.

La producción de ácido láctico da lugar a la coagulación de la leche, comenzando entre pH 5,2 a 5,3, en el punto en que la caseína se desestabiliza y continúa hasta su terminación a pH 4,6. Durante la producción de ácido láctico se produce una eliminación gradual del fósforo y calcio unidos a la partícula de caseína estable como fosfato tricálcico. La textura, el cuerpo y el sabor ácido del yogur deben sus orígenes al ácido láctico producido durante la fermentación.

b. PROTEÍNAS

Se ha observado la agregación de proteínas de suero en el yogurt que contribuye a la consistencia del yogurt durante el almacenamiento. La hidrólisis de las proteínas de la leche se mide fácilmente mediante la liberación de grupos $-\text{NH}_2$ durante la fermentación. LB muestra una actividad proteolítica apreciable en la leche. La proteólisis continúa durante la

vida útil del yogur, duplicando el grupo amino libre de nuevo en 21 días de almacenamiento a 7 ° C. Los principales aminoácidos liberados son la prolina y la glicina. Los aminoácidos esenciales liberados aumentan de 3,8 a 3,9 veces durante el almacenamiento del yogur, lo que indica que varias enzimas proteolíticas y peptidasas permanecen activas durante toda la vida útil del yogurt. La actividad proteolítica de las dos bacterias del yogurt es moderada pero es bastante significativa en relación con el crecimiento simbiótico del cultivo y la producción de compuestos de sabor.

c. LÍPIDOS

Una actividad de lipasa débil da lugar a la liberación de cantidades menores de ácido graso libre, particularmente ácido esteárico y ácido oleico. Las esterasas individuales y las lipasas de las bacterias del yogur parecen ser más activas hacia los glicéridos de ácidos grasos de cadena corta que hacia los sustratos de cadena larga.

d. MASA CELULAR

Como consecuencia de la fermentación, los organismos de yogurt se multiplican hasta un recuento de 10^8 - 10^{10} UFC / g. Las bacterias de yogurt ocupan alrededor del 1 por ciento del volumen o masa de yogurt. Estas células contienen paredes celulares, enzimas, ácidos nucleicos, proteínas celulares, lípidos e hidratos de carbono. Se ha demostrado que la lactasa o β -galactosidasa contribuyen a una importante propiedad relacionada con la salud del yogurt. Los estudios clínicos han concluido que la cultura viva y activa que contiene yogurt puede ser consumida por varios millones de personas deficientes en lactosa en los EE.UU. sin desarrollo de angustia gastrointestinal o diarrea.

2.3. AGENTES HUMECTANTES

Los agentes humectantes o estabilizadores, se denominan a veces hidrocoloides y su modo de acción en el yogurt incluye dos funciones básicas: en primer lugar, la unión del agua y la segunda, la promoción de un aumento de la viscosidad (Yaseen *et al.* 2005). De este modo, las moléculas de un estabilizador son capaces de formar una red de enlaces entre los

constituyentes de la leche y ellos mismos, debido a la presencia de un grupo cargado negativamente, por ejemplo, hidrógeno o radical carboxilo, o a la presencia de una sal que posee la potencia para secuestrar iones de calcio. Estos grupos negativos se concentran en las áreas interfaciales y, según Olsen (2003), la fijación de agua en la leche se logra mediante el estabilizador a través de su unión como agua de hidratación, luego reaccionando con los constituyentes de la leche (principalmente las proteínas) para aumentar su nivel de hidratación y posteriormente estabilizando las moléculas de proteínas en forma de red que retarda el libre movimiento del agua

2.3.1. PROPIEDADES Y CONDICIONES

El empleo de estabilizantes depende de las distintas propiedades descritas por Tamime y Robinson (2007), a continuación:

a. PROPIEDADES FUNCIONALES

Estos incluyen el efecto y/o el modo de acción de los compuestos estabilizantes seleccionados y tienen que considerarse en relación con el tipo de yogurt producido. Sin embargo, en la mayoría de las aplicaciones la regla de oro es ensayo y error.

b. CONCENTRACIÓN ÓPTIMA

La concentración óptima de estabilizante a utilizar en el yogurt se rige a veces por la legislación y/o efectos secundarios, es decir, apariencia o sensación indeseable de la boca, que podría ser causada por la adición de una cantidad demasiado grande. Algunos niveles recomendados de estabilizante para la fabricación de yogurt son los siguientes:

- Everett y McLeod (2005) estudiaron el efecto de diferentes estabilizantes (pectina de bajo metoxilo (PBM), λ - carragenina, goma de guar, goma de algarroba y xatán) en el yogurt agitado con poca grasa y el mecanismo de estabilización fue influenciado por el nivel del estabilizador utilizado y tipo. A medida que aumentaba el nivel de PBM y λ - carragenina, el mecanismo de estabilización era consistente con el modelo de agregados de caseína que pasaba a través de una región de floculación puente, seguida de estabilización estérica parcial.

- La estructura y la apariencia del yogurt se vieron afectadas con el nivel de k-carragenina usada en la base de leche, pero se pueden usar con éxito concentraciones de 0,01 y 0,03 g de 100 g⁻¹ sin afectar estas propiedades del producto (Sagdic *et al.* 2004).

c. EFECTOS TÓXICOS O INHIBITORIOS

En el pasado, algunos estabilizadores, por ejemplo, carrageninas, goma de tragacanto y goma de algarroba (alfarería), estaban a la espera de autorización toxicológica para uso en productos alimenticios. Sin embargo, tras someter las dosis máximas propuestas a un método apropiado a fin de verificar la compatibilidad de la dosis máxima propuesta con la ingesta diaria admitida (IDA). se ha concedido la autorización toxicológica de estos estabilizadores y se han publicado recientemente sus tasas aprobadas de adición en productos lácteos.

d. ASPECTOS LEGALES

Pueden diferir con el país en cuestión y no se permiten todos los compuestos estabilizantes para la producción de yogurt; Por lo tanto, las regulaciones estatutarias deben ser controladas regularmente y establecerse el uso de aditivos alimentarios está permitido o deberá restringirse.

e. SOLUBILIDAD Y DISOLUCIÓN

La solubilidad y disolución de algunas preparaciones de almidón y Na-carragenina son óptimas a baja temperatura y por lo tanto pueden añadirse a la leche fría durante la preparación de la base de leche. Sin embargo, la mayoría de los compuestos estabilizantes son solubles sólo a temperaturas más altas, por ejemplo 50 a 85 °C (con la excepción del agar-agar a 90 - 95 °C), de modo que en la práctica estos estabilizadores se añaden a la leche caliente antes de la pasteurización, o alternativamente a la leche caliente después del tratamiento térmico. En vista de las diferentes propiedades de estos compuestos, es difícil recomendar un método para su incorporación en la base de leche, pero los siguientes puntos pueden ayudar a superar cualquier problema:

- Siga las instrucciones del fabricante o, a falta de información: a) mezcle el estabilizador con la leche en polvo y agregue al agua o a la leche con un agitador de alta velocidad a la

temperatura recomendada para la leche en polvo, o b) Mezclar el estabilizador con el azúcar y agregar a la base de leche bajo agitación a alta velocidad a la temperatura recomendada para el azúcar.

- Hidratar el estabilizador (por ejemplo, polvo de gelatina) en agua o leche y luego agregar a la mezcla básica con agitación a alta velocidad.

f. CONDICIONES DE PROCESAMIENTO

Las condiciones de procesamiento para diversos productos a base de yogurt han sido desarrolladas y el éxito de éstas depende de la adición de estabilizadores.

g. CARACTERÍSTICAS DE SOLIDIFICACIÓN

La mayoría de los estabilizadores utilizados en la producción de yogurt exhibirán características de solidificación a temperatura de refrigeración ordinaria, con la excepción de gelatina y agar-agar que se solidifican a 25 °C y 42 - 45 ° C, respectivamente.

h. NORMAS DE HIGIENE

Se recomienda que se apliquen las normas higiénicas adecuadas a los estabilizadores. Sin embargo, la temperatura utilizada durante el procesamiento de la leche de yogurt (85 °C durante 30 minutos o 90 a 95 ° C durante 5 a 10 minutos) es suficientemente alta para destruir la mayoría de los microorganismos presentes en el estabilizador. Los estabilizantes añadidos al coágulo después del período de incubación deben ser de excelente calidad microbiológica, de lo contrario se podría reducir la vida útil del producto.

2.3.2. CARRAGENINA

Se pueden extraer tres variedades de carragenina, kappa (κ), lambda (λ) y iota (ι) de las algas rojas. Se extraen principalmente de las especies *Gigartina* y *Chondrus crispus*, que producen los tipos kappa y lambda, y las especies *Eucheuma cottonii* y *spinosum*, que producen los tipos kappa y iota, respectivamente (Imeson, Hoefler, citados por Yanniotis *et al.* 2013).

La estructura general de la carragenina contiene unidades de galactosa repetidas y 3,6-anhidro galactosa, ambas con 15-40 por ciento (p/p) de contenido de sulfato de éster y una cadena lateral que consiste en alternar los enlaces glucosídicos α - (1 \rightarrow 3) y β - (1 \rightarrow 4). Los tres tipos de carragenano no existen solos, sino como una combinación de dos tipos y están disponibles con un tipo predominante o moléculas que contienen componentes estructurales de más de un tipo. Cada tipo de carragenano tiene un conjunto único de características, incluyendo la resistencia del gel, la viscosidad, la estabilidad a la temperatura, el sinergismo y la solubilidad. La solubilidad de cada tipo de carragenano depende del número de grupos sulfato, lo que aumenta la solubilidad en agua, en comparación con los puentes anhidro, que son hidrófobos. Con la menor solubilidad en agua, κ -carragenano tiene un grupo sulfato por cada dos unidades de galactosa y un puente anhidro, ι -carragenano tiene dos grupos sulfato por cada dos unidades de galactosa junto con un puente anhidro y, con tiene mayor solubilidad, λ -carragenano tiene tres grupos sulfato por cada dos unidades de galactosa y no hay puentes anhidro (Hoefer 2004) (Figura 3).

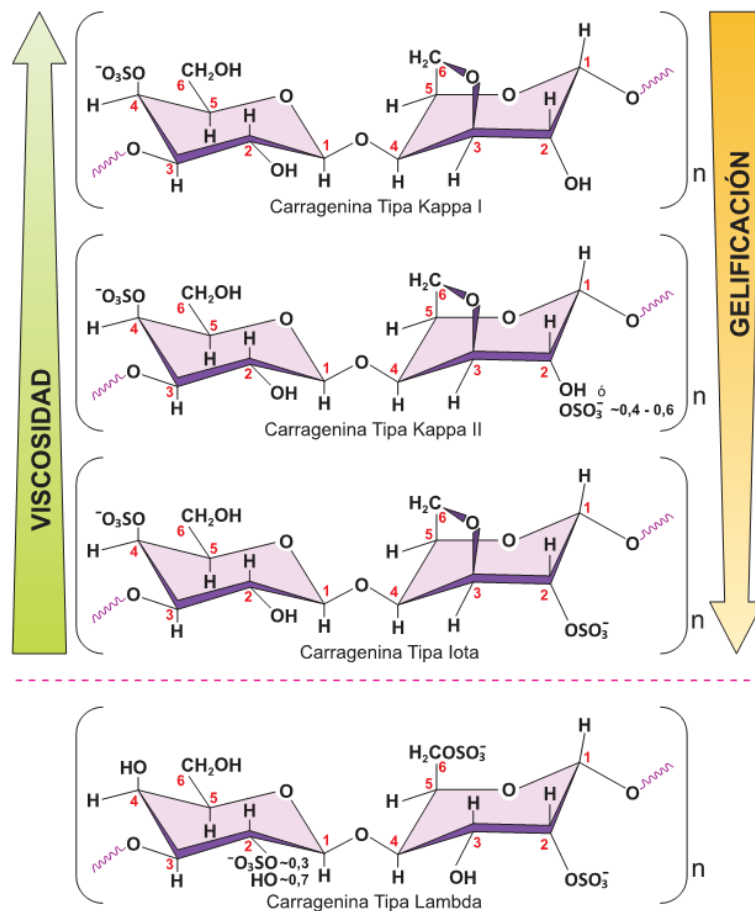


Figura 3: Estructuras de kappa-, iota- y lambda-carragenina.

FUENTE: Adaptado de Yanniotis *et al.* 2013.

Existen diferencias entre cada tipo de carragenano, pero todos los tipos son solubles a altas temperaturas y estables por encima de pH 4,5. Aunque el menos soluble, κ -carragenano, proporciona el gel más fuerte, aunque quebradizo, que permite una cierta sinéresis. El tipo ι -carragenano es más elástico y es estable al congelamiento-descongelamiento, sin sinéresis, y λ -carragenano espesa sin gelificación. Además, debido a la sinéresis, κ -carragenano tiene una estabilidad de congelación-descongelación deficiente; sin embargo, con la combinación correcta de κ - y ι -carragenano, se puede adquirir una estabilidad intermedia de congelación-descongelación junto con una gama de texturas de gel sin sinéresis (Imeson 2000).

Aunque el carragenano forma geles por sí mismo, las propiedades del gel están influenciadas en gran medida por la adición de iones y otras gomas debido a efectos de estabilización y efectos sinérgicos, respectivamente (Yanniotis *et al.* 2013).

2.3.3. SACAROSA

La sacarosa es abundante en el reino vegetal y normalmente se conoce como azúcar. La sacarosa tiene la fórmula empírica $C_{12}H_{22}O_{11}$ y el carbohidrato refinado se obtiene comercialmente de la caña de azúcar o de la remolacha azucarera. Es ampliamente utilizado en la industria alimenticia como un agente edulcorante y puede obtenerse en forma granulada o en forma de jarabe. El primer tipo requiere una fuerte agitación / agitación para disolución completa cuando se añade a la leche líquida y, en la práctica, se añade con el resto de los ingredientes secos a aproximadamente 40 °C. El tipo de jarabe, que contiene 65 a 67 g de azúcar 100 g⁻¹ (saturado a 20 °C), se mezcla fácilmente con la fase acuosa de la base láctea, pero ya que contiene 33 - 35 g 100 g⁻¹ de humedad, diluye el nivel de sólidos. En la leche de yogurt, y esta agua añadida debe ser contabilizada para el cálculo de una mezcla equilibrada (Tamime y Robinson 2007).

2.4. ESTABILIDAD DEL YOGURT

La estabilidad y la vida en anaquel de los alimentos, es decir, el periodo en el cual mantendrán un nivel de calidad aceptable de consumo, desde los puntos de vista de seguridad y organoléptico, depende de cuatro factores principales; estos son: la formulación, el procesamiento, el empaquetado y las condiciones de almacenamiento. Los cuatro factores son

críticos pero su importancia relativa depende sobre todo de la percibibilidad del alimento. La formulación involucra la selección de la materia prima más apropiada e ingredientes funcionales que aumenten la aceptación, aseguren la integridad y seguridad del alimento para incrementar su vida en anaquel. El procesamiento somete a las materias primas e ingredientes formulados a condiciones inhibitorias para las reacciones de deterioro indeseables y promueve cambios físicos y químicos dando así al producto alimenticio su forma y características finales (excepto en algunos casos cuando el post procesamiento es necesario, como en algunos quesos madurados y en vinos). Una vez que el alimento deja la etapa de procesamiento sigue manteniendo sus propiedades y el periodo en el cual se mantienen determinados atributos es una función del microambiente en el interior del empaque. Los parámetros más importantes son: la composición gaseosa, la humedad relativa, la presión o tensión mecánica, la luz y la temperatura. Estos parámetros son dependientes del empaque como de las condiciones de almacenamiento y de los otros dos factores (Kilcast y Subramaniam, 2000).

Por lo general, se considera que un alimento es perecible (almacenado apropiadamente), si tiene una vida en anaquel por debajo de los 14 días, limitada en la mayoría de los casos por deterioro bioquímico o microbiológico. Un alimento semiperecible tiene una vida en anaquel hasta de 6 meses, como los quesos madurados y los aderezos congelados, mientras que los alimentos más estables (no perecibles) en anaquel como la mayoría de alimentos enlatados alcanzan desde los 6 meses hasta los 3 años (o más) bajo condiciones apropiadas de almacenamiento (Kilcast y Subramaniam, 2000).

2.4.1. ACTIVIDAD DE AGUA Y HUMEDAD

El concepto de la actividad de agua (a_w) del alimento es definido como la relación de la presión de vapor del agua en el alimento (P) con respecto a la presión de vapor del agua pura (P_0) a la misma temperatura (Scott, 1957):

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \% \frac{HR}{100}$$

Donde:

HR = humedad relativa del alimento en equilibrio con la atmósfera.

La a_w es una propiedad del agua en el material y es una propiedad en equilibrio que depende de la temperatura, composición y microestructura del alimento. La estabilidad química y microbiológica de un alimento se ha representado cualitativamente por medio de un mapa de estabilidad (ver **Figura 4**) (Labuza *et al.* 1972).

El contenido de humedad y la actividad del agua (a_w) son los factores más importantes además de la temperatura que afectan el crecimiento microbiano, así como la tasa de reacciones químicas y físicas deteriorantes. La actividad del agua y el contenido de humedad se correlacionan mediante isothermas de sorción. La mayoría de los alimentos frescos pueden ser considerados como alimentos de alta humedad, con más del 50 por ciento p/p de agua y actividad de agua de 0.90 - 0.999. Estos alimentos incluyen bebidas, carne fresca y mariscos, productos lácteos y frutas y verduras (Subramanian 2016)

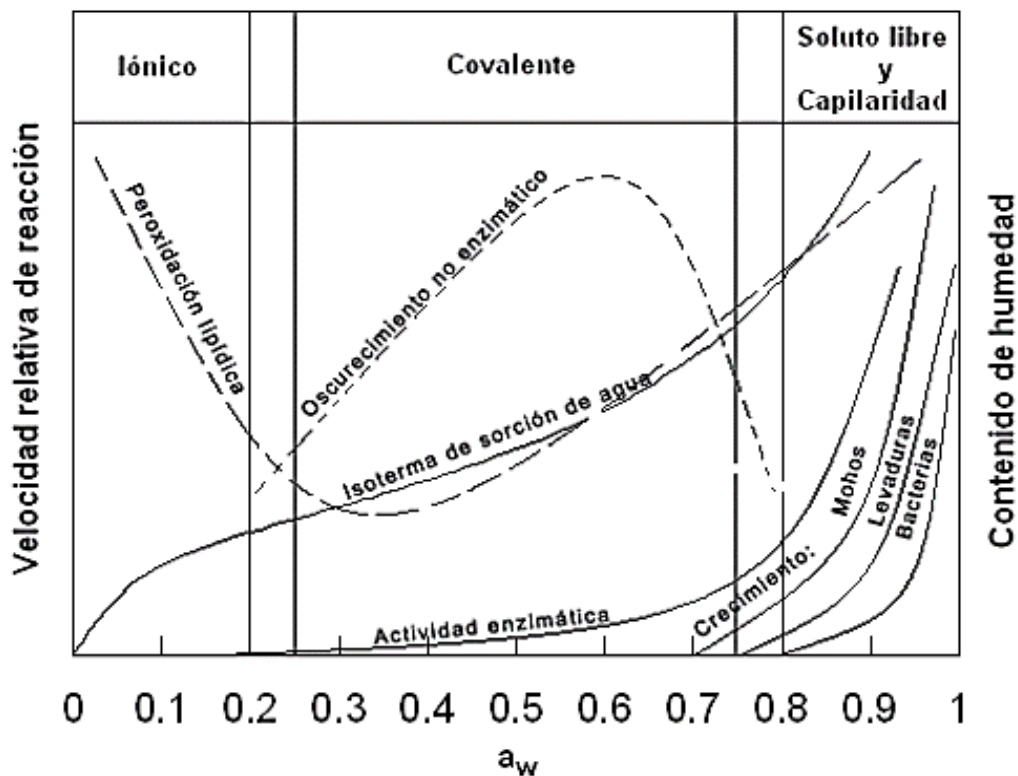


Figura 4: Diagrama actividad de agua – estabilidad del alimento.

FUENTE: Tomado de Labuza *et al.* 1972.

Como se ha descrito anteriormente, la diferencia entre la actividad del agua (a_w) del alimento y la humedad relativa (HR) del entorno inmediato determina si un alimento gana o pierde humedad durante el almacenamiento. De manera similar, en alimentos con múltiples

dominios de diferentes a_w , la migración ocurre entre los dominios hasta que se alcanza el equilibrio donde diferentes dominios tienen el mismo valor a_w . Como se mencionó anteriormente, la migración de humedad de los alimentos puede causar deterioro en la textura, promover reacciones de deterioro químico y cambiar la estabilidad molecular, limitando así la vida útil de los alimentos. El uso de materiales de embalaje mejorados minimiza la migración de humedad desde/hacia el medio ambiente. La migración de humedad dentro de los alimentos multidominio puede ser retardada a través del uso de películas comestibles y/o reformulación para equilibrar la a_w de los diferentes dominios (Ergun *et al.* 2010).

En los alimentos, el agua funciona como disolvente, medio de reacción y reactivo. El aumento de a_w generalmente mejora las reacciones deteriorantes. El deterioro de los alimentos debido al crecimiento microbiano no es probable que ocurra a $a_w < 0,6$. Sin embargo, las reacciones químicas y los cambios enzimáticos pueden ocurrir a valores de a_w considerablemente inferiores. La oxidación lipídica se produce por debajo de una a_w 0,25 a 0,30. La reacción de Maillard se acelera cuando el a_w aumenta por encima de 0,25 a 0,3. Las vitaminas como el ácido ascórbico son susceptibles a procesos oxidativos, pero son menos reactivos bajo condiciones muy bajas de a_w (Esse y Saari 2004).

Es importante para los fabricantes de alimentos tener el conocimiento de las características de almacenamiento del producto bajo un amplio rango de condiciones de almacenaje, y aun bajo condiciones fluctuantes o cíclicas que son comúnmente encontradas en la práctica en la cadena de distribución. Conocido el comportamiento del producto en el almacenamiento, es igualmente importante para el fabricante tener un completo conocimiento de los mecanismos de los procesos de deterioro, los cuales pueden ser complejos en muchos alimentos, especialmente aquellos con estructuras compuestas (Kilcast y Subramaniam, 1999).

a. MÉTODOS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD DE AGUA

La diversidad de métodos, técnicas y aparatos desarrollados para la medida de la actividad del agua hacen que se puedan clasificar según se basen en las medidas de las propiedades coligativas del agua tales como presión de vapor, presión osmótica, depresión del punto de congelación, elevación del punto de ebullición o basadas en psicrometría: psicrómetros

termoeléctricos, y de punto de rocío, o bien los que utilizan métodos isopiésticos tales como la interpolación gráfica, células de equilibrio por proximidad, etc. Igualmente se pueden usar métodos basados en la higrometría o tensiómetros (Gómez 1992). A continuación se presentan los métodos más usados:

– **EQUILIBRACIÓN BIOMÉTRICA.**

Este procedimiento fue descrito por Stokes en 1947. La presión de vapor de una solución es medida por referencia al equilibrio de la fase de vapor de una solución a 25 °C con agua pura a bajas temperaturas. El aparato consiste en una estructura tubular, moderadamente flexible unida a dos campanas, con base plana, cada una de ellas sumergida en un baño de agua (Figura 5) (Gómez 1992).

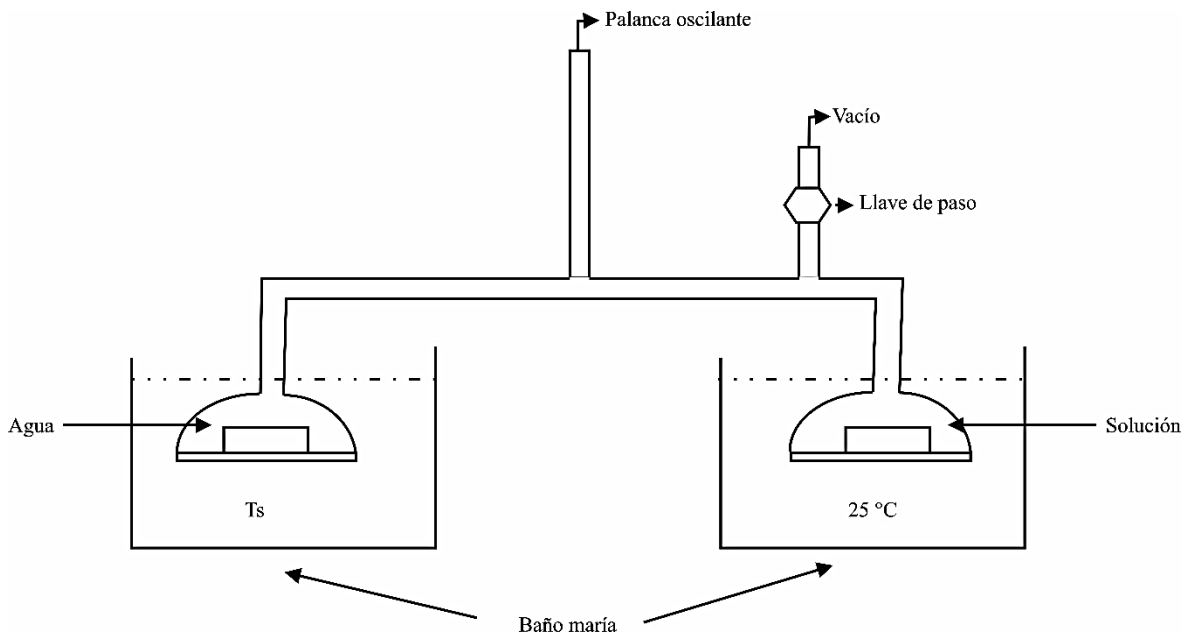


Figura 5: Determinación de la a_w por la técnica de equilibración bitérmica.

FUENTE: Tomado de Troller y Christian 1978; citados por Gómez 1992.

La campana sumergida en el baño de agua a 25 °C contiene en su interior la muestra y la otra, a más baja temperatura, contiene agua pura. La temperatura de cada baño se mide con precisión por medio de un termopar. La diferencia de temperatura de los dos baños se calcula después de alcanzar el equilibrio. Este método fue usado originalmente para determinar la a_w de varias soluciones salinas saturadas. Las tablas desarrolladas por Stokes en el año 1947, modificadas posteriormente por Greenspan en 1977 constituyen la principal referencia estándar para la mayoría de los procedimientos de determinación de la a_w (Gómez 1992).

– MÉTODO DE LAS ISOTERMAS DE SORCIÓN DE HUMEDAD O EQUILIBRIO ISOPIÉSTICO

Una isoterma de sorción es la curva que indica, en el equilibrio y para una temperatura determinada, la cantidad de agua retenida por un alimento en función de la humedad relativa de la atmósfera que le rodea; o si se quiere, e inversamente, la presión parcial de vapor ejercida por el agua del alimento, en función del contenido de agua en el mismo (Figura 6) (Gómez 1992).

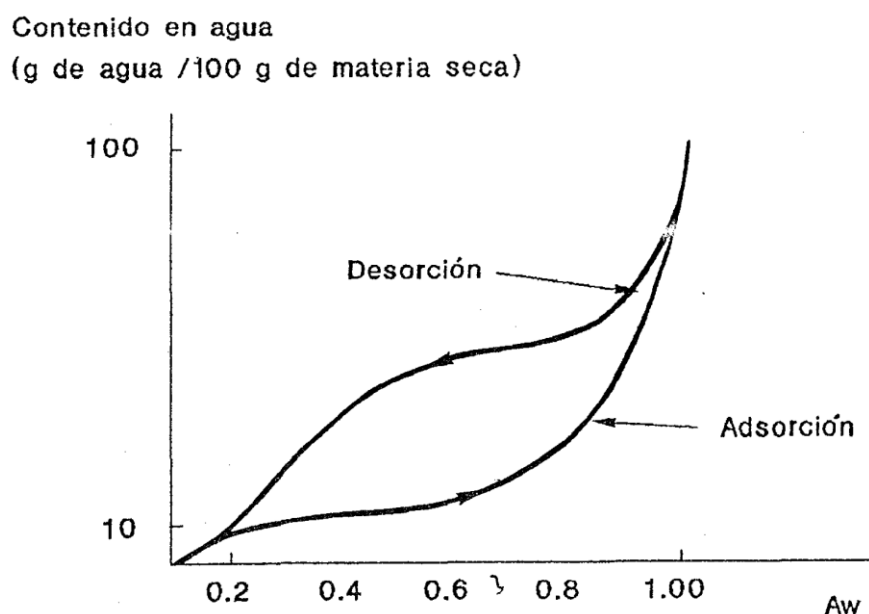


Figura 6: Isotermas de adsorción y desorción de agua.

FUENTE: Tomado de Gómez 1992.

Las isotermas de sorción de humedad se usan con frecuencia para el estudio de la humedad en los alimentos. En este método descrito por Robinson y Sinclair (1934), citados por Labuza *et al.* (1972), la a_w se determina a partir del contenido de humedad de la muestra en equilibrio (bajo condiciones de vacío) con soluciones salinas de a_w conocidas usadas como referencia.

– HIGRÓMETROS DE PUNTO DE ROCÍO

Con este sistema se determina la temperatura exacta de condensación del vapor de agua (punto de rocío) que se encuentra directamente relacionada con la a_w de la muestra. Esta se determina enfriando la atmósfera de la cámara en la que se encuentra situada la muestra

observando la formación de condensado sobre un espejo colocado en dicha cámara, momento en el que se lee la temperatura. La exactitud del método se cifra en 0,003 unidades a_w para valores comprendidos entre 0,72 a 1,00. Los aparatos desarrollados posteriormente utilizan lecturas fotoeléctricas de la condensación del vapor en el espejo, almacenando información por medio de microprocesadores. Las lecturas pueden realizarse en menos de 5 minutos en la mayoría de las muestras. El instrumento va dotado de un control remoto de temperatura por rayos infrarrojos y no necesita calibración inicial. La lectura de la a_w y temperatura de la muestra se realiza por medio de una pantalla de cristal líquido. Es este un método que se caracteriza por su rapidez y fácil manejo no necesitando personal entrenado para realizar las lecturas. El microprocesador con el que va dotado el CX—1 (Figura 7) puede almacenar hasta 1000 medidas (Gómez, 1992).



Figura 7: Higrómetro de punto de rocío (AquaLab, 3TE).

FUENTE: Tomado de emintech.com

El agua juega un rol importante con respecto a las propiedades de los sistemas alimenticios. El agua en los alimentos influye en las características físicas y de textura del producto así como en su estabilidad química. La comprensión de la relación físico-química existente entre el agua y los diversos componentes en alimentos permite el mejoramiento de los procesos y empaque de los alimentos con la finalidad de mantener la calidad textural deseada y la estabilidad química (Bell y Labuza 2000).

2.4.2. pH y ACIDEZ TOTAL

El pH de un alimento afecta fuertemente la solubilidad y funcionalidad de la proteína. La solubilidad máxima de la proteína está usualmente en un mínimo cerca del punto isoeléctrico, que tiene un efecto directo en su comportamiento y reacciones. El pH puede

afectar fuertemente la actividad enzimática. Cada enzima tiene una región de pH para una estabilidad óptima. Los valores extremadamente altos o bajos de pH pueden resultar en pérdida completa de actividad para la mayoría de las enzimas. Los cambios en el pH de los alimentos no sólo afectan a la función enzimática sino que también cambian la forma o las propiedades de carga de otras proteínas, afectando significativamente la estabilidad en el almacenamiento de alimentos. El pardeamiento no enzimático de las proteínas es una reacción catalizada por la acido-base, con una tasa mínima cercana al pH 3 a 4 (Singh y Anderson 2004).

El pH del yogurt es una de las propiedades principales, debido a que en su elaboración se busca disminuir el pH de la leche (6,5-6,7) y llegar al pH del yogurt lo cual contribuye al olor y sabor característico (Illescas 2001).

El aumento de la acidez del yogurt por la producción de ácido láctico ocasiona la coagulación de la caseína, además afecta la textura y el sabor en el producto (Fennema 1996). La acidez de un yogurt debe oscilar entre 0,8-1,8% de ácido láctico. El porcentaje de ácido láctico adecuado es extremadamente importante para obtener un yogurt de alta calidad con sabor propio, cuerpo y textura propia, esto es para que el producto tenga el mínimo porcentaje de sinéresis durante el almacenamiento (Ankenman 1996).

2.4.3. DEGRADACIÓN PROTEICA

Durante el almacenamiento, las proteínas se degradan de varias maneras. La actividad enzimática tal como la proteólisis por la proteasa es un factor contribuyente importante. Una proteasa puede causar la hidrólisis de los enlaces peptídicos que unen los aminoácidos entre sí en la cadena polipeptídica que forma la proteína, digiriendo así cadenas largas de proteínas en fragmentos cortos. En la leche, la plasmina es una proteasa que puede causar la degradación de las proteínas lácteas, dando lugar a la coagulación y la gelificación (Singh y Anderson, 2004).

La fermentación provoca así mismo una hidrólisis parcial de la fracción proteica. En esta proteólisis se distinguen dos fases: La primera fase al *L. bulgaricus*, hidroliza las proteínas de la leche, preferentemente la b-caseína y, en segundo el *S. thermophilus* junto al *L.*

bulgaricus utilizan los péptidos resultantes de esta hidrólisis para su crecimiento, gracias a peptidasas y aminopeptidasa que posee (Harper y Hall, 1981).

2.4.4. SINÉRESIS

El defecto más común que presentan los productos lácteos gelificados y que afecta directamente su calidad organoléptica, es la sinéresis o goteo por separación del lactosuero de la cuajada. (Acevedo *et al.* 2010).

La sinéresis se define como la capacidad de retención de agua por un alimento o bien, el suero que se desprende del producto y que se acumula en la superficie (Óztur y Öner 1999). La sinéresis es la expulsión o separación del lactosuero debido a la contracción del gel esto afecta la calidad de los productos lácteos, porque se observa líquido en la superficie causando el rechazo por el consumidor. Es debida al re-arreglo de la red molecular de caseína después de la formación del gel.

Los principales factores de procesos asociados con la sinéresis son: rápida acidificación, alta temperatura de incubación, excesivo tratamiento térmico, bajo contenido de sólidos, muy baja producción de ácidos y uso de renina (Lucey y Tamehana 1998). Además, Tamime y Robinson (1991) indican que la presencia de aditivos como pueden ser gomas; y la adición de minerales aumenta el porcentaje de sinéresis (Tamime y Robinson 1991).

La adición de solutos, como las proteínas del lactosuero y la leche en polvo, con el propósito de elevar los sólidos totales, han sido hasta ahora las técnicas más usadas, para reducir la sinéresis en el yogur (Granados *et al.* 2012). Otro mecanismo muy usado es la homogenización (Amatayakul *et al.* 2006).

Al evaluar las características fisicoquímicas del tiempo de almacenamiento (0, 24 y 48 horas) de la leche refrigerada a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ en las características fisicoquímicas del yogurt natural almacenado a $4 \pm 1^\circ\text{C}$, se evidenciaron estadísticamente que existe una relación directa entre el tiempo de almacenamiento y el aumento de sinéresis obteniéndose valores de $37,32 \pm 1,89\%$, $43,53 \pm 2,63\%$, $48,30 \pm 0,62\%$ respectivamente; sin embargo, este almacenamiento no influyo sobre la viscosidad de los yogures naturales obteniéndose valores de $2,03 \pm$

0,69mPa, $2,55 \pm 0,74$ mPa, $2,38 \pm 0,29$ mPa respectivamente. Los valores de pH desarrollados durante la investigación variaron entre 3,58 y 4,46 considerado por los autores de la investigación como óptimos para la calidad del yogurt (Leite et al, 2016).

Durante el estudio del efecto de la adición de edulcorantes (aspartame, sacarina, ciclamato, aspartame + acesulfame-K y sacarosa, esta última utilizada como referencia), en diferentes concentraciones, sobre las características fisicoquímicas de las leches fermentadas elaboradas con leche en polvo reconstituida. Para la experimentación se utilizaron dos tipos de bacterias lácticas, Cultivo láctico mixto Rich (conteniendo *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) y Cultivo láctico puro La-5 (conteniendo *L. acidophilus*). Los resultados obtenidos presentaron diferencias solamente en los porcentajes de sólidos totales, cenizas y valor calórico en referencia a los obtenidos con sacarosa, afectando la producción de lactato obteniéndose tiempos de fermentación mayores para el cultivo La-5 y valores superiores de contenido de ácido láctico para el cultivo Rich, este comportamiento también afecta los niveles de formación de sinéresis y capacidad de retención de agua de los productos durante el almacenamiento comparativamente con el de sacarosa al 5%, donde se obtuvieron incremento de los valores de sinéresis durante el almacenamiento entre 15,59 y 17,50 % para el cultivo Rich y 18,75 y 19,00 % para el cultivo La-5, de igual modo, se obtuvieron de los valores con diferencias estadísticamente no significativas en los controles de CRA durante el almacenamiento encontrándose entre 26,24 y 30,25 % para el cultivo Rich y 26,39 y 31,92 % para el cultivo La-5 (Neves, 2009).

Se investigó el efecto de la adición de fructanos tipo inulina con 5, 10 y 23 grados de polimerización, comparándolo con un patrón sin adición de estos componentes, con la finalidad de evaluar la estabilidad durante el almacenamiento a 4°C del yogurt probiótico desnatado, elaborado con leche en polvo reconstituido. La estabilidad fue evaluada mediante pruebas de pH, % de ácido láctico desarrollado y el grado de sinéresis expresado en ml por cada 100 g de producto. Con respecto al pH se pudo apreciar que al agregar fructanos con mayor grado de polimerización se lograba mantener los valores al inicio del almacenamiento en un promedio de 4,45, disminuyendo hasta 4,38 a medida que se adicionaba fructanos con menores grados de polimerización; sin embargo, durante el almacenamiento se obtuvieron valores de pH con diferencias estadísticamente no significativos entre 4,16 y 4,24. Con referencia la acidez titulable se mantuvo un comportamiento inverso al del pH; durante el

almacenamiento los valores obtenidos presentaban diferencias no significativas estadísticamente llegando a incrementarse los valores entre 1,17 y 1,25 % de ácido láctico. Los controles de sinéresis proporcionaban variabilidad respecto al grado de polimerización de los fructanos adicionados, encontrándose que a 10 grados de polimerización se obtuvieron valores iniciales de sinéresis de 26,07 % v/w, valor muy semejante al que no se le adicionó algún fructanos, dicho valor fue de 25,25 % v/w, por el contrario, cuando se adicionaba fructanos con 5 y 23 grados de polimerización se obtenían menores porcentajes de sinéresis encontrándose valores de 23,91 y 23,98 % v/w respectivamente; sin embargo, durante el almacenamiento, se podía encontrar valores con diferencias estadísticas no significativas entre 34,48 y 36,94 % v/w (Colombo et al, 2012)

Al estudiar la acidificación, firmeza y viabilidad de bacterias de yogurt, STL_B (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus*), bacterias probióticas, STL_A (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus acidophilus*) y STL_R (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus rhamnosus*) en muestras de leches fermentadas a diferentes % de sólidos totales (12 y 15%) y diferentes contenidos de sacarosa (0 y 8%), se logró evidenciar que la adición de sacarosa y la estandarización de sólidos totales en la leche afectan significativamente a los cultivos STL_B, STL_A y STL_R, mostrando tiempos para llegar a un pH 4,5 de 7,9 : 12,5 : 7,3 para los cultivos STL_B : STL_A : STL_R respectivamente para la formulación 12 % sólidos totales (%ST) y 0 % de adición de sacarosa (%A), valores de 6,6 : 8,2 : 5,5 para los cultivos STL_B : STL_A : STL_R respectivamente para la formulación 12 %ST y 8 %A, valores de 7,1 : 10,2 : 6,8 para los cultivos STL_B : STL_A : STL_R respectivamente para la formulación 15 %ST y 0 %A, valores de 6,8 : 8,7 : 6,6 para los cultivos STL_B : STL_A : STL_R respectivamente para la formulación 15 %ST y 8 %A, del mismo modo una post acidificación más acentuada después de los 7 días de almacenamiento a 4°C en el cultivo STL_A; así mismo, se observó un aumento de la firmeza con el incremento de los sólidos totales usándose cultivos STL_A y STL_R. De igual modo, se pudo notar que el número de bacterias probióticas fue superior a lo sugerido por la literatura, predominando el número de *Streptococcus thermophilus* sobre las demás bacterias en todas las condiciones estudiadas (Oliveira & Damin, 2003)

El porcentaje de sinéresis adecuado para tener una buena calidad del yogurt debe ser menor al 42% (Alatríste, 2002). Tamime y Robinson 1991, mencionan que cuando la sinéresis en

mayor a 42% es por que influye el desarrollo de alta acidez, así como la agitación a temperaturas relativamente altas, se dice que la formación de la estructura del gel no es muy buena debido a que se ve afectada por la presencia de minerales que aumenta el porcentaje de sinéresis. Iriberry (2014), indica algunas de las posibles causas de sinéresis que provocan defectos en el yogur con sus posibles soluciones; ello se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4: Posibles causas y soluciones de la presencia de sinéresis en yogur

POSIBLE CAUSA	POSIBLE SOLUCIÓN
Baja calidad de la leche	Selección y mejora de la calidad de la leche
Bajos sólidos no grasos (SNG), proteína y grasa	Ajustar la formulación de la base de leche
Insuficiente calentamiento y homogenización de la leche	Ajustar las condiciones de proceso
Ausencia de estabilizantes	Agregar estabilizantes si son permitidos
Alto contenido mineral en la leche	Mezclar con leches de bajo contenido de minerales
Temperatura de incubación muy alta	Reducir la temperatura a 42°C
Baja acidez (ejemplo, agitación o bombeo por arriba de pH 4,6)	Asegurar un pH por debajo de 4,6
Temperatura de envasado muy baja	Aumentar temperatura de envasado
Enzimas capaces de coagular la proteína	Eliminar la fuente
Acción mecánica alta del coagulo a baja temperaturas	Agitar y homogenizar el coagulo antes de enfriar
Disturbios del coagulo antes de enfriar	Mejorar el manejo mecánico y adecuar el enfriamiento
Inespecífico	Agregar estabilizantes si son permitidos y cambiar a un cultivo que dé más viscosidad

FUENTE: Iriberry (2014).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La presente investigación se desarrolló en la planta de procesamiento de leche, el laboratorio de investigación y producción de leche y derivados lácteos y laboratorios de investigación pertenecientes a la Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú; y en los laboratorios del Instituto Tecnológico de la Producción, ubicado en Lima, Perú.

3.2. MATERIA PRIMA E INSUMOS

- Leche fresca proveniente de los establos del Fundo Majes de la Universidad Católica de Santa María. Arequipa. Perú.
- Leche descremada en polvo (Dairy América[®], spray grade A low heat, EE. UU.).
- Cultivo para yogurt (Milk Fermented[®]. Lyofast SAB 442 A, Sacco, Cadorago, Italia).
- Carragenina FMC (Gelcarin[®] ME 7823, Trujillo, Perú).
- Sacarosa comercial.

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1. MATERIALES

- Probeta de 250 ml.
- Pipeta volumétrica de 10 ml.
- Pipeta Gerber de 11 cm³.
- Pipeta de 10 y 1 cm³.
- Tubos de ensayo.

- Jarras medidoras de ml.
- Agitadores manuales.
- Malla de organza.
- *Eppendorf*.
- *Erlenmeyers* de 100 ml.
- *Beakers* de ml.
- Balón de fondo plano.
- Microbureta de 10 ml.
- Butirómetro de Gerber.
- Acidómetro con dispensador.
- Lactodensímetro Quevenne.
- Termómetro.
- Gradillas.

3.3.2. EQUIPOS

- Pasteurizador por batch de 60 litros (fabricado en Arequipa, Perú).
- Descremadora manual de 250 Lt/h (Alfa Laval® 250, Lund, Suecia).
- Homogeneizador de 1000 Lt/h (Gaulin®, Boston, MA, EEUU).
- Caldero vertical (Calderos Arequipa, Pirotubular, vertical de 10 HP).
- Tanques de fermentación de 30 L. (fabricado en Arequipa, Perú).
- Banco de agua helada (Friosol®, fabricado en Arequipa, Perú).
- Estufa (Mettler®, DIN 40050 IP20, Schwabach, Alemania).
- Mufla Thermolyne FB1410M (thermo scientific®, Waltham, Massachusetts, EEUU).
- Balanza analítica de $120 \pm 0,0001$ g (Sargent Welch, VWR® Analytical Balances, Rochester, NY, EEUU).
- Balanza BH-150 de 150 ± 0.005 g (Excell Precision Co. Taipei Hsien, Taiwan).
- Balanza BL12 de 12000 ± 1 g (Sartorius BL precisión Balance, Gotinga, Alemania).
- Potenciómetro pH de -2 a 16 (Hanna Instruments®, pH211, Rodhe Island, EEUU).
- Refractómetro ABBE de 0 a 85 % ± 0.1 (Spectronic Instruments, Wisconsin, EEUU).
- Centrífuga Gerber 1350 rpm (Funke Gerber, Berlin Alemania).

- Centrifuga para la determinación de la Capacidad de retención de agua. Eppendorf 1000 a 8500 ± 100 rpm (IEC Centra®, CL2, Pasadena, TX, EEUU). Anexo 1.
- Equipo Kjeldahl macro tradicional (HNG, Fabricación nacional).
- Lactoscan Standart 1060 (Milkotronic®, Zagora, Bulgaria).
- Baño maría 5 a 95 °C (Mettler, Modelo WB/OB7-45, Schwabach, Alemania).
- Determinador de actividad de agua (AquaLab® Series 3TE, Decagon Devices, North East Nelson Court, EEUU).

3.3.3. REACTIVOS

- Ácido sulfúrico 95-98% (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Alcohol Isoamílico (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Hidróxido de sodio en lentejas (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Fenoltaleína (Riedel-de Haen, Sigma Aldrich, Darmstadt, Alemania).
- Tiosulfato de sodio (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Sulfato de potasio (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Sulfato de mercurio (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Ácido bórico (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Rojo de metilo (Riedel-de Haen, Sigma Aldrich, Darmstadt, Alemania).
- Azul de metilol (Riedel-de Haen, Sigma Aldrich, Darmstadt, Alemania).
- Ácido clorhídrico (J.T. Baker, Loughborough, Reino Unido).
- Ferrocianuro de potasio (J.T. Baker, Loughborough, Reino Unido).
- Acetato de zinc (J.T. Baker, Loughborough, Reino Unido).
- Permanganato de potasio (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Sulfato de cobre (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Sulfato de amonio (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Sulfato de cobre anhidro (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).
- Tartrato de sodio potasio tetrahidratado (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE

Se determinó mediante el método volumétrico establecido por la NTP 202.116 (INACAL, 2012) se vertió 10 ml de leche en un matraz *Erlenmeyer* de 100 ml. Luego, se añadió 1 ml de solución de fenolftaleína. Posteriormente se tituló con la solución 0,1 N de Hidróxido de Sodio (NaOH) lentamente y con agitación, hasta conseguir una coloración rosácea persistente.

3.4.2. DETERMINACIÓN DE pH

Para realizar esta medición se usó el potenciómetro HANNA Instruments®, el cual fue calibrado previamente con buffer a pH = 4 y pH = 7. El valor se obtuvo introduciendo directamente el electrodo dentro de la muestra.

3.4.3. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA DE LECHE

Se determinó mediante la NTP 202.008 (INACAL 1998) y NTP 202.008/ ENM 1 (INACAL 2013a) se vertió la leche entre 10 a 20 °C en la probeta de 250 ml, lentamente e inclinándola para evitar la formación de espuma. Se introdujo inmediatamente a la probeta el lactodensímetro, cuidando que no se adhiriera la pared de la probeta ni que se sumerja más de 1 cm, sobre el punto de aforo. Se esperó que el lactodensímetro quedara en equilibrio (inmóvil) y se leyó el valor indicado en la escala justamente en el borde superior del menisco adherente al vástago del aparato.

En el caso de que la leche tenga la temperatura exacta de 15 °C el menisco superior indicará la densidad relativa de la misma. Si la medición se dio a una temperatura distinta a los 15 °C, pero comprendida entre 10 a 20 °C se corrigió la densidad relativa leída de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$\text{Densidad}_{15\text{ °C}} = \text{Densidad}_{T_x} + 0,0002 (T - 20)$$

Donde:

Densidad $_{15\text{ }^{\circ}\text{C}}$ = densidad (g/ml) a $15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Densidad $_{T_x}$ = densidad (g/ml) medida entre 10 y $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

T = temperatura de medición ($^{\circ}\text{C}$).

3.4.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA DE LA LECHE

Se determinó mediante el método de Gerber establecido por la NTP 202.028 (INACAL 2013b) se vertió 10 ml de ácido sulfúrico en el butirómetro, luego se añadió 11 cm³ de leche por las paredes del butirómetro. Después, se vertió 1 ml de alcohol iso-amílico. Se tapó el butirómetro y se agitó sin invertirlo, durante 30 segundos o hasta disolución de los coágulos formados. Posteriormente, se invirtió el butirómetro seis veces y se llevó a la centrífuga a 1150 ± 70 RPM por cinco minutos. Luego, se llevó a baño maría para termostatar a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ por cinco minutos. Se procedió a la lectura del volumen de grasa en el vástago graduado del butirómetro. En caso fue necesario se introdujo o sacó más el tapón a fin de enrasar a cero la parte inferior de la altura de la grasa. La altura de la misma representa el tanto por ciento de la grasa que contiene la leche.

3.4.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS DE LA LECHE

Para la etapa de digestión se pesó 0,2 g de muestra y 0,8 g de mezcla digestora en un matraz Kjeldahl, luego se adicionó lentamente y dentro de una campana de extracción, 4 ml de ácido sulfúrico concentrado, haciéndolo resbalar por el cuello del matraz. Enseguida se encendió el extractor Kjeldahl y se colocó el matraz sobre una de las parrillas, de manera que la boca del matraz quedó dentro de uno de los orificios del extractor de vapores. Se mantuvo el calentamiento hasta que la solución contenida en el matraz se aclaró; transcurrido este tiempo se apagó y se dejó que se enfríe el matraz (INACAL 2014a). En la etapa de neutralización, tan pronto como el matraz se enfrió, se adicionó lentamente gota por gota 12 ml de NaOH al 50 por ciento y 10 ml de agua destilada.

En la etapa de destilación, se encendió el aparato de destilación micro Kjeldahl hasta que alcance los $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego, se enjuagó con agua destilada y enseguida se agregó la muestra; posteriormente en la alargadera final que tiene el refrigerante se introdujo un matraz de 50

ml que contenía cinco ml de ácido bórico al cuatro por ciento y tres gotas de indicador rojo de metilo. Se abrió la llave de agua de entrada al refrigerante y se verificó que esté circulando adecuadamente, la destilación se realizó hasta que el matraz contenga 40 ml de la mezcla ya destilada. En la etapa de titulación, se valoró el destilado obtenido con solución de HCl 0,1 N y se procedió a determinar el contenido de proteína en la muestra, mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{6,38 (\text{Factor de N}) \times 0,014 \times 0,1 (\text{N del ácido}) \times \text{ml HCl gastados}}{\text{g muestra}}$$

3.4.6. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE LACTOSA DE LA LECHE

Se tomó 10 ml de leche y se transfirió a un matraz de 100 ml. Luego se añadió 25 ml de agua, 40 ml de reactivo túngstico y se mezcló suavemente. Se completó con agua a 100 ml, se mezcló y se dejó que el precipitado se asiente. Después se filtró con papel filtro plegado y seco y se recolectó en un matraz seco. Posteriormente, con la ayuda de una pipeta, se transfirió 10 ml del filtrado a un matraz cónico de 150 ml con un tapón de vidrio esmerilado. Luego, se añadió 5 ml de solución de yoduro de potasio y, con exactitud, 20 ml de la solución de cloramina T y se mezcló. Después, se tapó su tapón previamente humedecido con un poco de solución de yoduro de potasio y se dejó en las oscuridad durante una hora y media, entre 18 a 20 °C. Luego se quitó el tapón, se enjuagó en el matraz con un poco de agua y se añadió 5 ml de la solución de ácido hidrociorhídrico. Posteriormente, se añadió 10 ml de tiosulfato de sodio. Por último, se tituló con una precisión de 0,02 ml utilizando la solución de tiosulfato. Hacia el término de la titulación se añadió dos a tres gotas de la solución de almidón. Se consideró que 1 ml de la solución de tiosulfato 0,04 N corresponde a 0,00720 g de lactosa monohidratada. Los resultados se expresaron en porcentaje de lactosa monohidratada (INACAL 2015)

3.4.7 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CENIZAS DE LA LECHE

Se limpió la cápsula de porcelana con alcohol y algodón para desinfectar y eliminar cualquier impureza. Se introdujo el crisol en una mufla para resecarlo a 105 °C, durante una hora hasta peso constante. Se Depositó el crisol seco con ayuda de una pinza dentro del desecador para

bajar su temperatura durante 30 minutos. Luego, se colocó el crisol en la balanza analítica y se anotó su peso. Después, se depositó 5,0 g de leche en el crisol y se colocó dentro de la mufla durante tres horas a 550 °C. Luego, se colocó dentro del desecador durante 30 minutos. Después se pesó el crisol con la muestra y se anotó el peso (INACAL 2013c).

3.4.8. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES DE LA LECHE

Se limpió la cápsula de porcelana con alcohol y algodón para desinfectar y eliminar cualquier impureza. Se introdujo el crisol en una mufla para resecarlo a 105 °C, durante 30 minutos. Se depositó el crisol seco con ayuda de una pinza dentro del desecador para bajar su temperatura durante 30 minutos. Luego, se colocó el crisol en la balanza analítica y se anotó su peso. Después, se depositó 5,0 g de leche en el crisol y se colocó dentro de la mufla durante tres horas a 105 °C. Luego, se colocó dentro del desecador durante 30 minutos. Después se pesó el crisol con la muestra y se anotó el peso (INACAL 2013c).

3.4.9. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA DEL YOGURT

La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó sobre la base de una adaptación de la técnica de Guinee *et al.* (1995). Se pesaron 2 g de yogurt a 5 °C en un tubo de centrífuga eppendorf y se centrifugó a 4000 r.p.m. por gramo durante 20 minutos. El peso del sobrenadante obtenido se empleó para calcular el porcentaje de sinéresis mediante la expresión siguiente:

$$\text{CRA} = \frac{\text{Peso del sobrenadante} \times 100 \%}{\text{Peso de la muestra}}$$

El equipo se muestra en el Anexo 1.

3.4.10. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE AGUA DEL YOGURT

La actividad de agua (a_w) de las muestras de yogurt se midieron usando un medidor de actividad de agua disponible comercialmente (Modelo AQUALAB 3TE, Washington).

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En la Figura 8 se muestra la metodología experimental de la presente investigación. La elaboración de yogurt fue basada en la metodología reportada por Chadán y Kilara (2013).

A continuación se describen los procedimientos:

3.5.1. RECEPCIÓN DE LA LECHE

La leche fue recepcionada en el Fundo Majes, unidad perteneciente a la Universidad Católica de Santa María; la materia prima correspondió al primer ordeño, procedente de vacas sanas y bien alimentadas. En esta etapa se realizaron los controles fisicoquímicos y bioquímicos respectivos a la leche.

3.5.2. REGULACIÓN DE GRASA Y SÓLIDOS TOTALES.

El contenido de grasa en la leche se estandarizó al tres por ciento y 12 por ciento de sólidos totales mediante la adición de leche en polvo descremada, calculada mediante un balance de materia según los resultados analíticos de la materia prima.

3.5.3. HOMOGENIZACIÓN

Se precalentó la leche hasta 37 °C procediéndose al proceso de homogenización a una presión de 2 500 psi.

3.5.4. PASTEURIZACIÓN

Se realizó el tratamiento térmico correspondiente, considerando una temperatura de 85 °C durante un tiempo de cinco minutos. En esta etapa se procedió a adicionar la sacarosa y la carragenina (previamente hidratadas en agua hervida fría) según las variables de estudio.

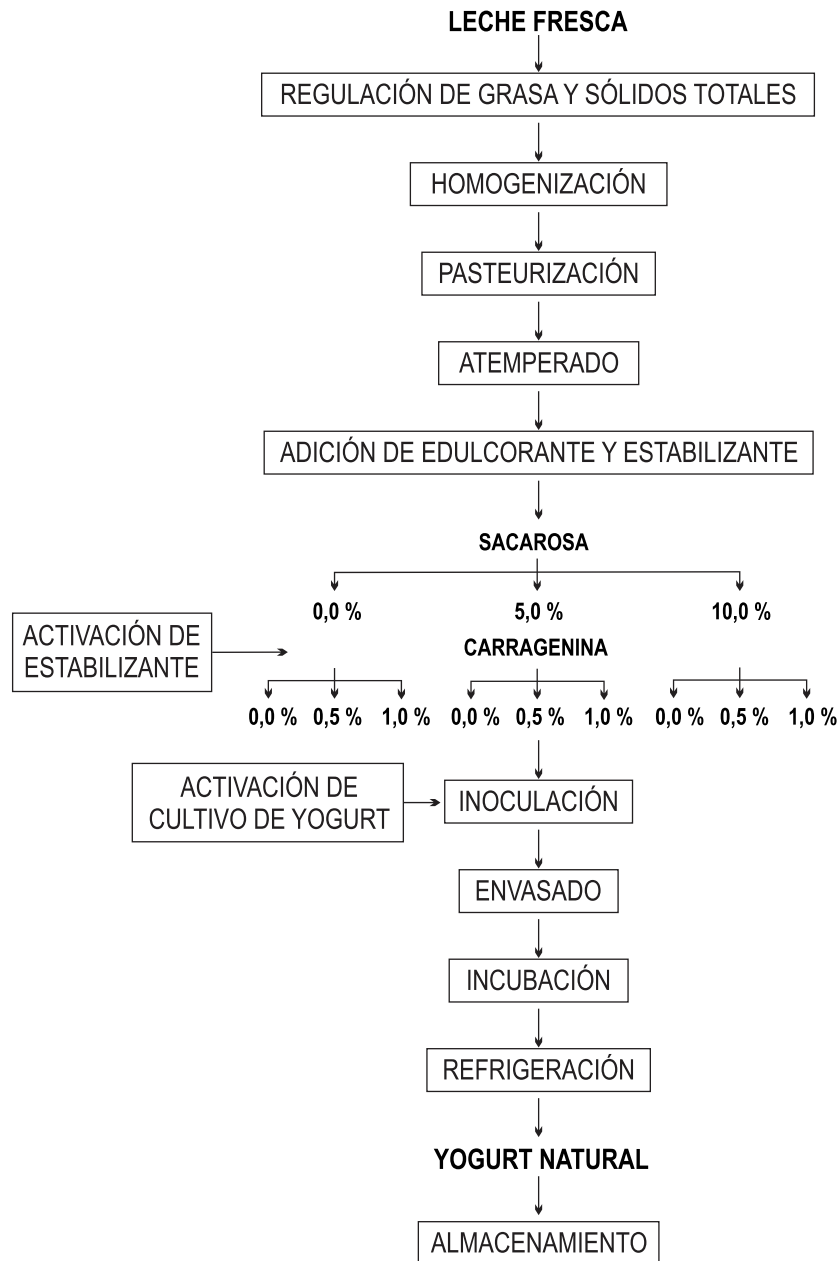


Figura 8: Diagrama de la metodología experimental para el procesamiento de yogurt.

Fuente: Elaboración propia

3.5.5. ACTIVACIÓN DEL ESTABILIZANTE

La carragenina se activó disolviéndola en agua destilada a 85 ° C durante quince minutos, agitándola vigorosamente empleando una licuadora de alta velocidad; para dar las concentraciones finales de 0,0; 0,5 y 1,0 por ciento de carragenina con respecto al yogurt.

3.5.6. ADICIÓN DEL EDULCORANTE Y ESTABILIZANTE

Estos aditivos son parte de las variables de estudio, en esta etapa se separó la leche en nueve fracciones y se procedió a adicionar el edulcorante (sacarosa) y el estabilizante (carragenina previamente activada) según las variables de estudio.

3.5.7. ATEMPERADO

La leche pasteurizada fue enfriada a 44 °C y mantenida a esta temperatura durante las siguientes etapas del proceso.

3.5.8. INOCULACIÓN

Se procedió a adicionar el cultivo liofilizado SACCO (LYOFAST SAB 442-A) conformado por una mezcla de las siguientes cepas: *Streptococcus thermophilus* productor de expopolisacaridos. *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium animalis ssp*

3.5.9. ENVASADO

Se procedió a porcionar en frascos de vidrio de 240 ml para su posterior proceso de fermentación y según lo establecido en el control analítico de la presente investigación.

3.5.10. INCUBACIÓN

Esta etapa requiere de temperatura constante, por lo que las muestras se mantuvieron entre 42 a 44 °C, en frascos de vidrio, durante cinco horas o hasta que el yogurt alcanzara una acidez promedio entre 0,60 a 0,63 por ciento de ácido láctico, el cual es el momento en el que se haya producido la gelificación del producto.

3.5.11. REFRIGERACIÓN

El yogurt fue enfriado a 4 °C durante 12 horas hasta alcanzar una acidez entre 0,63 a 0.68 por ciento de ácido láctico.

Este yogurt fue la base para aplicar los diversos controles durante el almacenamiento (ANEXO 2).

3.5.12. CONTROLES DE CALIDAD.

Se procedió a realizar los controles de acidez titulable, pH, capacidad de retención de agua y actividad de agua de las muestras de yogurt elaboradas.

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.6.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

En el Cuadro 5 se muestra el esquema experimental de la toma de datos en cada etapa del proceso.

Cuadro 5: Esquema experimental en cada etapa de proceso

MATERIA PRIMA	PROCESAMIENTO	PRODUCTO FINAL	ALMACENAMIENTO
Leche cruda	Fermentación	Yogurt	Yogurt
Acidez titulable pH Densidad Grasa Proteína Lactosa Cenizas Sólidos totales	Acidez titulable pH	pH CRA Sinéresis a_w	pH CRA Sinéresis a_w
	Cada 30 minutos	Día 1	Días 1; 7 y 15

El diseño experimental constó de dos factores: factor A: sacarosa, con tres niveles (0,0; 5,0 y 10,0 %) y factor B: carragenina, con tres niveles (0,0; 0,5 y 1,0 %).

Se empleó el diseño factorial en bloques completamente al azar considerando tres concentraciones de sacarosa y tres concentraciones de carragenina, evaluada por tres repeticiones proporcionando 81 datos. En el Cuadro 6 se muestra el esquema del diseño

estadístico empleado donde se trabajó con los promedios de cada tratamiento para cada bloque.

Cuadro 6: Esquema de diseño factorial en bloques completamente al a azar

TIEMPO (BLOQUE)	SACAROSA 0,0 %			SACAROSA 5,0 %			SACAROSA 10,0 %		
	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %
Día 1									
Día 7									
Día 15									

Carr: carragenina

3.6.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los análisis estadísticos utilizados en la investigación fueron:

A. NORMALIDAD DE LOS RESIDUOS

Se evaluó la normalidad de los residuos mediante la prueba estadística de normalidad de Anderson-Darling. Para ello, se plantearon las siguientes hipótesis:

H₀: Los residuos se distribuyen normalmente.

H₁: Los residuos no se distribuyen normalmente.

Se trabajó con un nivel de significancia (α) de 0,05. La regla de decisión fue si el p-valor > α , no se rechaza la H₀.

B. PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

Se evaluó la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba estadística de Bartlett. Para ello, se plantearon las siguientes hipótesis:

H₀: Las varianzas son homogéneas.

H₁: Al menos un σ_i^2 es diferente.

Se trabajó con un nivel de significancia (α) de 0,05. La regla de decisión fue si el p-valor $> \alpha$, no se rechaza la H_0 .

C. ANÁLISIS DE VARIANZA

Se realizó el análisis de varianza del diseño factorial en bloques completamente al azar. Para ello se consideró como fuentes de variación a: los bloques (días), Factor A (concentración de sacarosa), Factor B (concentración de carragenina) y la interacción entre A y B (concentración de sacarosa con concentración de carragenina). Planteándose las siguientes hipótesis:

Para el bloque (día)

$$H_0 : \mu_{B1} = \mu_{B2} = \mu_{B3} = \mu_{B4}$$

$$H_1 : \mu_i \neq \mu \text{ para al menos algún } i$$

Para el efecto principal A (concentración de sacarosa)

$$H_0 : \alpha_i = 0; i = 1, 2$$

$$H_1 : \alpha_i \neq 0, \text{ para al menos algún } i$$

Para el efecto principal B (concentración de carragenina)

$$H_0 : \beta_j = 0; j = 1, 2$$

$$H_1 : \beta_j \neq 0, \text{ para al menos algún } j$$

Para la interacción AB (concentración de sacarosa con concentración de carragenina)

$$H_0 : (\alpha\beta)_{ij} = 0; i = 1, 2; j = 1, 2, 3$$

$$H_1 : (\alpha\beta)_{ij} \neq 0, \text{ para al menos un } ij; i = 1, 2; j = 1, 2, 3$$

Se trabajó con un nivel de significancia (α) de 0,05. La regla de decisión fue si el p-valor $> \alpha$, no se rechaza la H_0 .

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el *software* Minitab® versión 17.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA

Se realizó el análisis físico – químico de la leche fresca empleada para la elaboración del yogurt, los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 7.

Cuadro 7: Análisis físico-químico de leche fresca

ANÁLISIS	UNIDAD	REPETICIONES			PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
		1	2	3		
Materia Grasa	g/100g	3,52	3,45	3,68	3,55	0,12
Proteína	g/100g	3,16	3,14	3,24	3,18	0,05
Cenizas	g/100g	0,64	0,65	0,67	0,65	0,02
Sólidos Totales	g/100g	11,74	11,51	12,03	11,76	0,26
Acidez Titulable (% ác. Láctico)	g/100g	0,17	0,165	0,17	0,17	0,00
pH	-----	6,68	6,72	6,65	6,68	0,04
Lactosa	g/100g	4,31	4,18	4,32	4,27	0,08
Densidad	g/ml	1,0262	1,0274	1,0256	1,0264	0,00

Fuente: Elaboración propia

Los valores medios obtenidos del análisis de composición de la leche (Cuadro 7), se asemejan a los obtenidos por Buchanan (2011) y, Singh y Bennett (2002); citados por Chandan y Kilara (2013), en la leche obtenida de la variedad de ganado: Holstein-Friesian (grasa 3,5 g/100 g, proteína 3,3 g/100 g, cenizas 0,72 g/100 g, lactosa 4,7 g/100 g); además se encuentran dentro de los límites mínimos que establece la Norma Técnica Peruana NTP 202.001 (INACAL 2016) cuyos valores mínimos son: para grasa 3,2 g/100 g y sólidos totales 11,4 g/100 g; además el valor de ceniza obtenido se encuentra por debajo del límite máximo estipulado por la norma, el cual es 0,7 g/100g.

Los lípidos representan aproximadamente el 3,5 - 5,2 g/100 g de la composición total de la leche, el valor promedio obtenido de grasa en la leche se encuentra dentro de este rango, 3,55 g/100 g, como se observa en el Cuadro 7. Los lípidos de la leche se componen predominantemente de triacilgliceroles (triglicéridos), que representan más del 98% del total. El resto de los lípidos de la leche (aproximadamente 2%) se subdividen en varias clases más pequeñas, específicamente los diacilgliceroles (diglicéridos), monoacilgliceroles (monoglicéridos), ácidos grasos libres, fosfolípidos y colesterol. Las grasas lácteas también comprenden muchos constituyentes menores, tales como carotenoides, vitaminas liposolubles (A, D, E, K) y varios compuestos volátiles de sabor (Chandan y Kilara 2013).

Las proteínas representan aproximadamente el 3,5 g/100 g de la composición total de la leche; sin embargo el valor de proteína obtenido del análisis fue de 3,18 g/100 g, siendo más bajo al valor promedio. Las proteínas encontradas en la leche se clasifican en dos grupos principales: las caseínas y las proteínas del suero. Aproximadamente el 80 por ciento de las proteínas de la leche precipitan por acidificación a pH 4,6 a una temperatura de 20 ° C; estas proteínas son las caseínas. El 20 por ciento restante de proteínas solubles son las proteínas de suero de leche. Tanto las caseínas como las proteínas de suero son grupos heterogéneos de proteínas. Las proteínas de la leche tienen un buen valor nutricional y son ricas en aminoácidos esenciales (Chandan y Kilara 2013).

La lactosa es un disacárido compuesto de galactosa y glucosa unidas por un enlace β -1,4-glicosídico. Este carbohidrato se encuentra a niveles de concentración relativamente constante de aproximadamente 4,8 g/100 g en la leche de vaca, siendo dicha concentración más alta a la obtenida, 4,27 g/100 g, en el presente trabajo de investigación (Chandan y Kilara 2013). Esto puede deberse a que la concentración de lactosa disminuye progresiva y significativamente durante la lactancia; contrastando con las tendencias de los lípidos y las proteínas, que, después de disminuir durante la lactancia temprana, aumentan fuertemente durante la segunda mitad de la lactancia (Fox *et al.* 2015). La concentración de lactosa en la leche está inversamente relacionada con las concentraciones de lípidos y proteínas, esta relación inversa refleja el hecho de que la síntesis de lactosa atrae agua a las vesículas de Golgi, diluyendo así las concentraciones de proteínas y lípidos (Jenness y Holt 1987, citados por Fox *et al.* 2015).

Varios factores influyen en la composición de la leche. Entre ellos se encuentran factores genéticos, ambientales y fisiológicos. Los factores genéticos, como la diversidad genética entre las razas de ganado lechero y la individualidad de los animales, tienen una influencia importante en la composición de la leche. Varios factores ambientales y fisiológicos también influyen en el nivel de los constituyentes de la leche. Variaciones considerables ocurren a lo largo del ciclo de lactancia. Las variaciones estacionales influyen en la composición de la leche y están relacionadas con los cambios en la etapa de lactancia y en los efectos nutricionales y fisiológicos (O'Brien y Guinee 2011).

La acidez titulable de la leche fresca a granel está en el intervalo de 0,14 - 0,16 por ciento, aunque la acidez inicial de las leches de vacas individuales varía dentro del intervalo de 0,08 - 0,25 por ciento de ácido láctico (Chandan y Kilara 2013); por otro lado, la Norma Técnica Peruana NTP 202.001 (INACAL 2016) establece un rango de acidez titulable que va de 0,13 a 0,17 g ácido láctico/ 100g; en ambos casos el valor de acidez determinado en el presente trabajo de investigación se encuentra dentro de los parámetros dados (0,17 g ácido láctico/100 g). El desarrollo de la acidez debido a la fermentación de la lactosa en el ácido láctico por las bacterias también influye en la acidez natural de la leche y se refiere a menudo como la acidez "desarrollada" o "real". La composición de la leche tiene un impacto significativo en la acidez inicial de la leche, ya que la acidez aumenta con las concentraciones de proteínas y otros constituyentes tamponantes nativos (Chandan y Kilara 2013).

La acidez titulable se utiliza para evaluar la frescura de la leche y los productos lácteos y para controlar la fabricación de productos lácteos fermentados. La acidez titulable (meq/100 ml, expresada también (en forma arbitraria) como porcentaje de ácido láctico) es una medida de la capacidad tampón de la leche entre pH 6,6 y 8,3, atribuible principalmente a fosfatos, proteínas, citrato y CO₂ (Van Der Have *et al.* 1979); sin embargo el pH de la leche fresca de bovinos a 25°C varía entre 6,5 y 6,7 (Chandan y Kilara 2013), encontrándose, la leche fresca analizada, dentro de dicho rango, debido a que presentó un valor de pH de 6,68 (Cuadro 7). La densidad de la leche entera es de unos 1,030 g/ml, con valores que varían de 1,027 a 1,033 g/ml dependiendo principalmente del contenido de grasa (Walstra y Jenness, 1984), la densidad de la leche determinada en la presente investigación presenta un valor de 1,0264 g/ml, ligeramente por debajo del rango

presentado, lo cual podría deberse al alto contenido de grasa en la leche analizada. La medición de la densidad de la leche entera se utiliza para evaluar la adulteración de la leche con agua y proporciona un medio rápido de medir indirectamente el contenido total de sólidos (% TS) (Jeness y Patton, 1959, citados por Chandan y Kilara 2013).

4.2. EFECTO DE LA SACAROSA Y CARRAGENINA DURANTE LA FERMENTACIÓN DE YOGURT

4.2.1. EVOLUCIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE

Además se determinó el comportamiento de la acidez titulable con respecto al tiempo de fermentación para tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %) a tres concentraciones de sacarosa (0,0; 5,0 y 10,0 %), dicho comportamiento se muestra en las Figuras 9; 10 y 11.

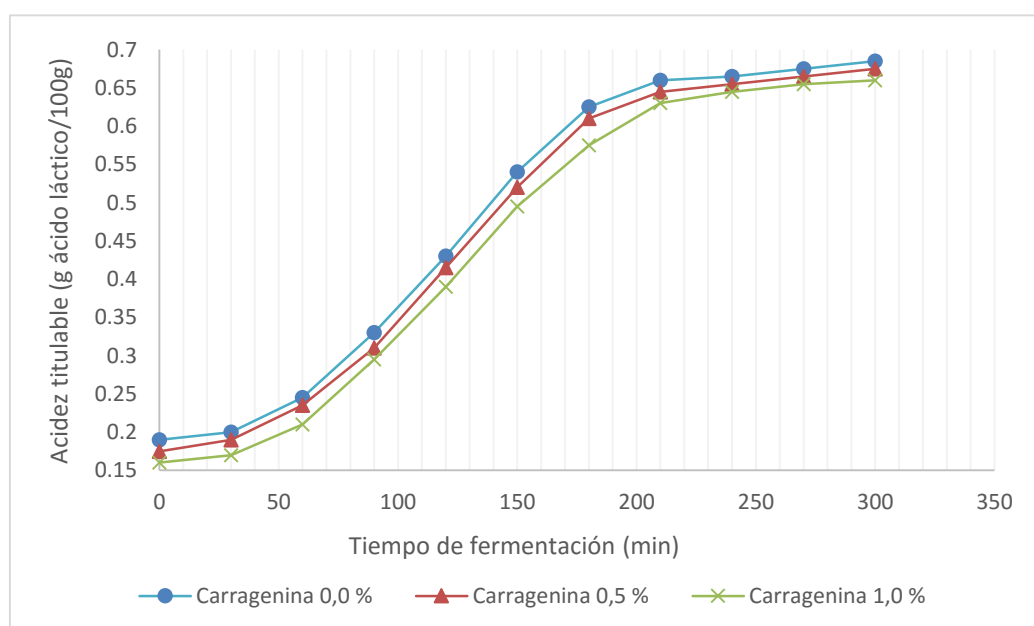


Figura 9: Cambio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g) durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 0,0 por ciento.

En la Figura 9 se observa que el valor de acidez titulable, obtenido por las muestras de yogurt elaborado con sacarosa al 0,0 por ciento con tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %) a lo largo del tiempo, no presenta diferencias considerables; por lo cual

se puede afirmar, que la concentración de carragenina empleada no interfiere sobre la acidez titulable del yogurt. De igual manera sucede en las **Figuras 10 y 11** con las mismas concentraciones de carragenina en yogurt con sacarosa al 5,0 y 10,0 por ciento.

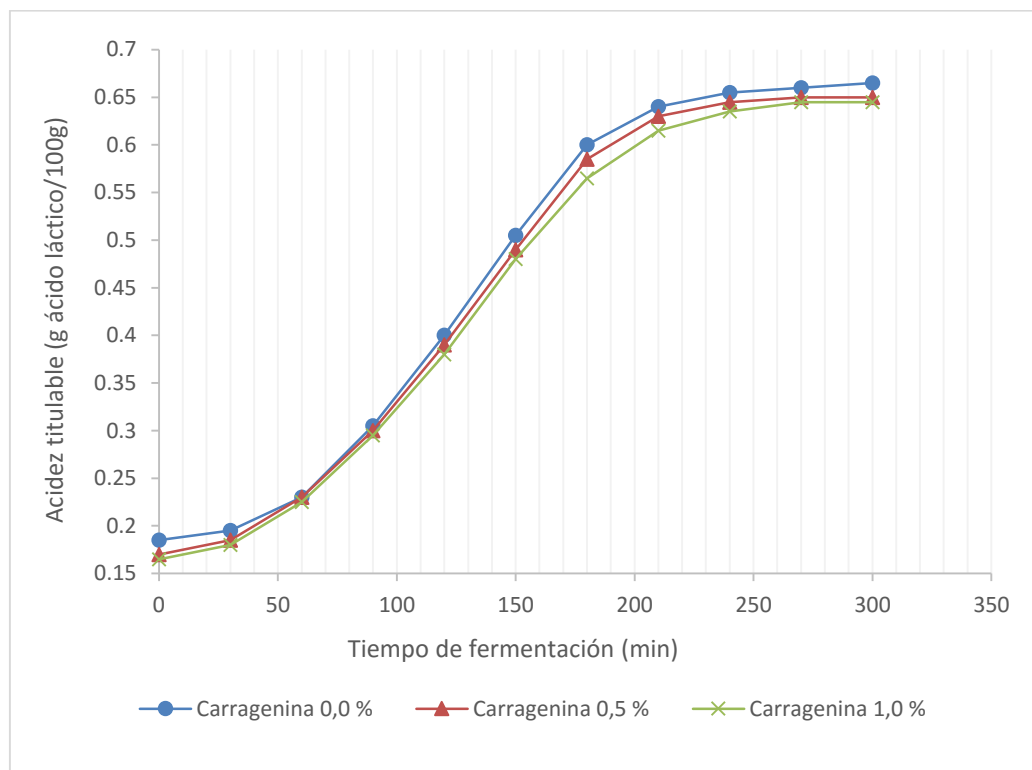


Figura 10: Cambio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g) durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 5,0 por ciento.

Además, el valor de acidez titulable llega a presentar un máximo de acidez de 0,6 g ácido láctico/100 g para las tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %) con las tres concentraciones de sacarosa (0,0; 5,0 y 10,0 %) (Figuras 1; 2 y 3). Dicho valor máximo de acidez se encuentra dentro del rango establecido por la Norma Técnica Peruana (INACAL, 2016), que indica como requisito para el yogurt un valor de 0,6 – 1,5 g ácido láctico/100 g. Tamime y Robinson (2007) indican que el punto final para la producción de ácido variará no sólo de un país a otro, sino también con el tipo de yogurt. El IDF (1991, 1992) ha sugerido un mínimo de 0,7 g de ácido láctico /100 g de producto al por menor y por lo tanto la medición de la acidez es una característica importante de la producción.

Según Baglio (2014), la velocidad de acidificación es crucial para la estructura del coágulo: los valores rápidos o muy rápidos conducen a un coágulo no estructurado y floculante, mientras que la acidificación lenta parece determinar una masa bien estructurada, lo cual indica que la velocidad de acidificación en el yogurt tiene influencia sobre la textura final de este.

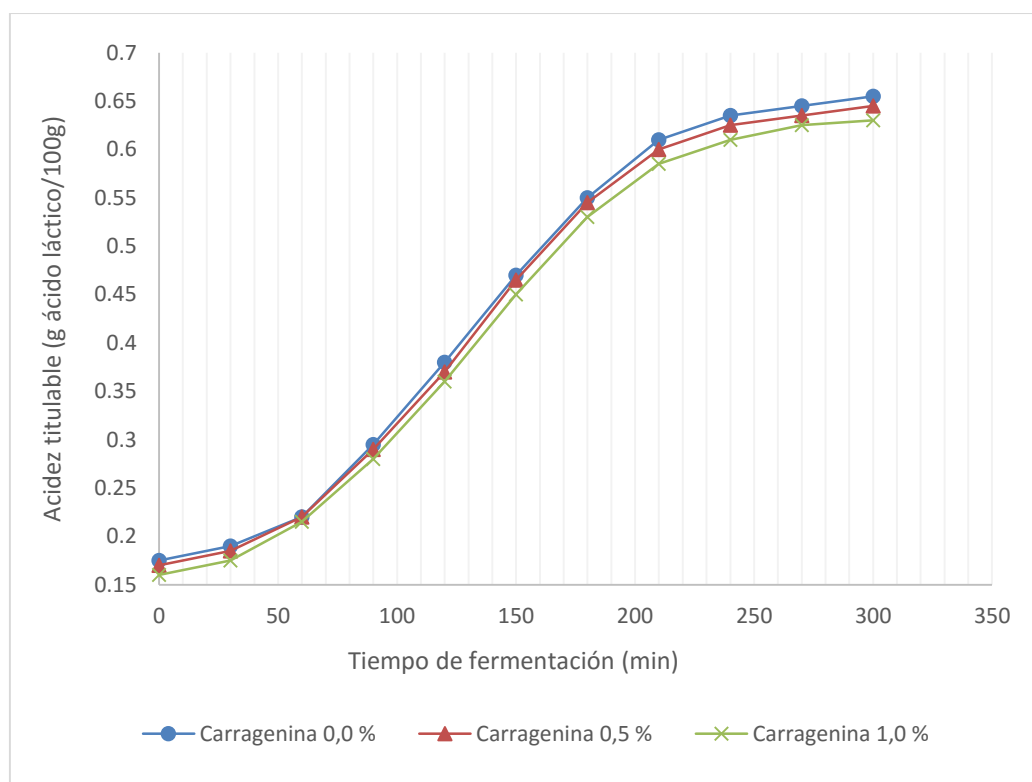


Figura 11: Cambio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g) durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 10,0 por ciento.

Anema (2008), en su estudio sobre el efecto de la temperatura y velocidad de acidificación en las propiedades reológicas del yogurt bajo en grasa, determinó que el tiempo de acidificación afecta las propiedades reológicas de los geles formados durante la fermentación en el yogurt; dicho autor determinó que la disminución del tiempo de acidificación a tres horas disminuyó la rigidez final del gel, con un comportamiento relativamente similar a distintas temperaturas de incubación. Además, Lee y Lucey (2004) cambiaron los tiempos de acidificación alterando el nivel de inoculación y encontraron que la rigidez final del gel aumentó ligeramente a medida que el tiempo de acidificación disminuyó de 6,5 a 5,35 horas, aproximadamente, sin cambios adicionales

cuando el tiempo de acidificación se redujo aún más ~ 4,33 horas; dichos tiempos se asemejan a los tiempo de incubación empleados en la presente investigación, ya que el tiempo total de acidificación fue de seis horas, por lo cual; este parámetro no presentará influencia sobre las propiedades reológicas del gel formado en las distintas muestras de yogurt.

En términos generales se puede considerar que las condiciones de acidificación deseables son aquellas que promueven valores mínimos de velocidad de acidificación. Las tasas de acidificación más negativas generan menores tiempos de proceso, mayor capacidad de producción por turnos y menores costos indirectos como mano de obra, entre otros, si las propiedades y atributos de calidad del producto son las deseadas y no se modifican. Una velocidad de acidificación menos acelerada puede ser contemplada en aras de obtener una estructura de coagulo más homogénea y una mejor viscosidad del producto final (Kristo *et al.* 2003).

El cambio de la acidez titulable (expresado en g ácido láctico/100 g) del yogurt en función del tiempo (min) durante la fermentación muestran un comportamiento que se ajustaron a una ecuación de cuarto orden, como:

$$acidez = 3 * 10^{-10}(\theta)^4 - 2 * 10^{-7}(\theta)^3 + 6 * 10^{-5}(\theta)^2 - 0,0018(\theta) + 0,1829$$

El modelo multilíneal que representa el efecto de la sacarosa, carragenina y tiempo de fermentación en la producción de ácido láctico se puede representar como:

$$\frac{g \text{ác. lác.}}{100 g} = 0,18477 - 0,00312(\%sacarosa) - 0,02348(\%carragenina) + 0,0196(\text{minutos})$$

4.2.2. EVOLUCIÓN DEL pH

Se determinó el comportamiento del pH respecto al tiempo de fermentación para tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %) a tres concentraciones de sacarosa (0,0; 5,0 y 10,0 %), dicho comportamiento se muestra en las Figuras 12; 13 y 14.

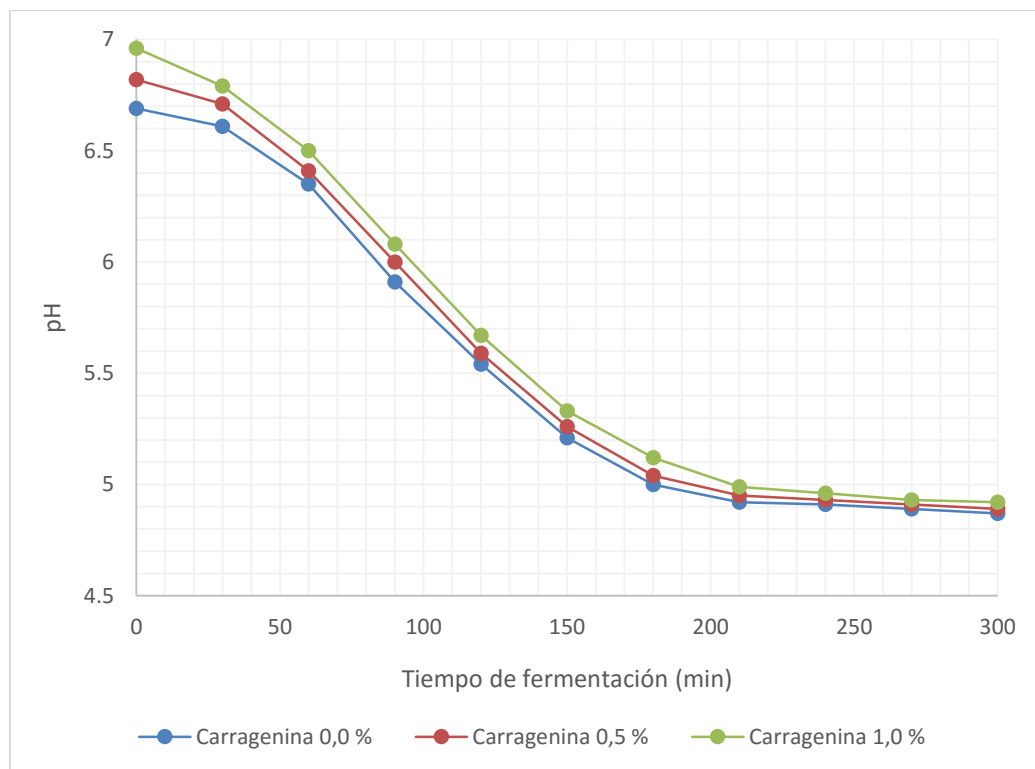


Figura 12: Cambio del pH durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 0,0 por ciento.

En las Figuras 12; 13 y 14, se observa que no existe diferencia en los valores de pH durante la fermentación de yogurt con tres concentraciones de sacarosa (0,0; 5,0 y 10,0 %) con diferentes concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %); estos valores de pH presentan la misma cinética, donde se observa que se parte desde valores de pH de 6,8 aproximadamente, hasta llegar a valores de pH de 4,9. Estos resultados concuerdan con lo estudiado por Rodríguez-Bernal *et al.* (2014), quienes evaluaron el efecto de la concentración de azúcar y de cultivos iniciadores comerciales sobre la cinética de fermentación del yogurt, ellos postulan que el porcentaje de azúcar no afecta el tiempo en el que se alcanza la tasa máxima de acidificación, la cual permanece constante a los diferentes niveles de azúcar; lo que indica que la adición de azúcar no es necesaria para el proceso de fermentación.

El rol principal del *S. thermophilus* y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* en la elaboración de yogurt es la acidificación de la leche mediante la producción de una gran cantidad de ácido láctico a partir de la lactosa. El ácido láctico reduce el pH de la leche y conduce a

una solubilización progresiva del fosfato de calcio micelar. Esto causa la desmineralización de las micelas de la caseína y su desestabilización, lo que genera la completa precipitación de la caseína en un rango de pH entre 4,6 a 4,7 (Fox, 1989; Zourari *et al.*, 1992).

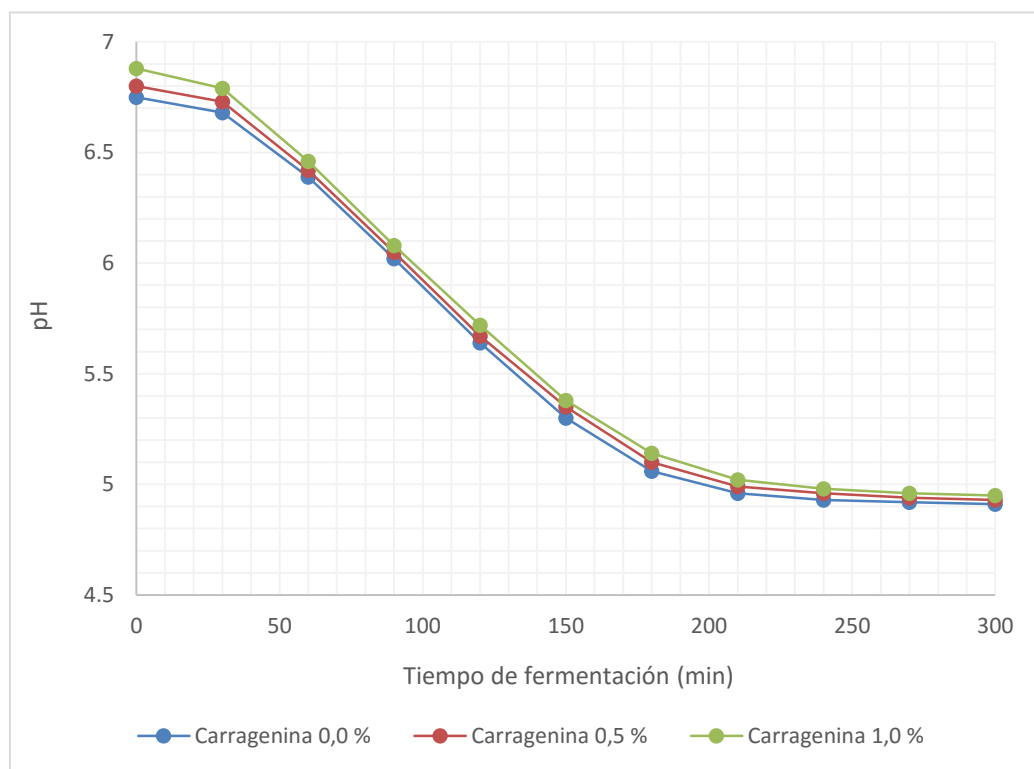


Figura 13: Cambio del pH durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 5,0 por ciento.

Durante el proceso de elaboración de yogurt, los microorganismos tienen como fuente principal de sustrato la lactosa para lograr la acidificación de la leche mediante la producción de gran cantidad de ácido láctico, donde cada microorganismo difiere en su metabolismo (Poolman *et al.*, 1989). Durante el crecimiento de *S. thermophilus* en sacarosa, la glucosa y la fructosa se usan simultáneamente. La fructosa se acumula en el medio, aunque puede ser utilizada por el microorganismo (Thomas y Crow, 1983). La mayor tasa de utilización de sacarosa en comparación con la glucosa y la fructosa puede estar relacionada con una tasa de absorción diferente; a diferencia, el *Lactobacillus* utiliza solo la fracción de glucosa de la lactosa y libera la galactosa en el medio de crecimiento. Algunas cepas pueden utilizar galactosa en un medio de crecimiento que contiene la

limitación de la concentración de lactosa (Zourari *et al.*, 1992). Estos azúcares que se liberan al medio se pueden atribuir a características específicas del yogurt.

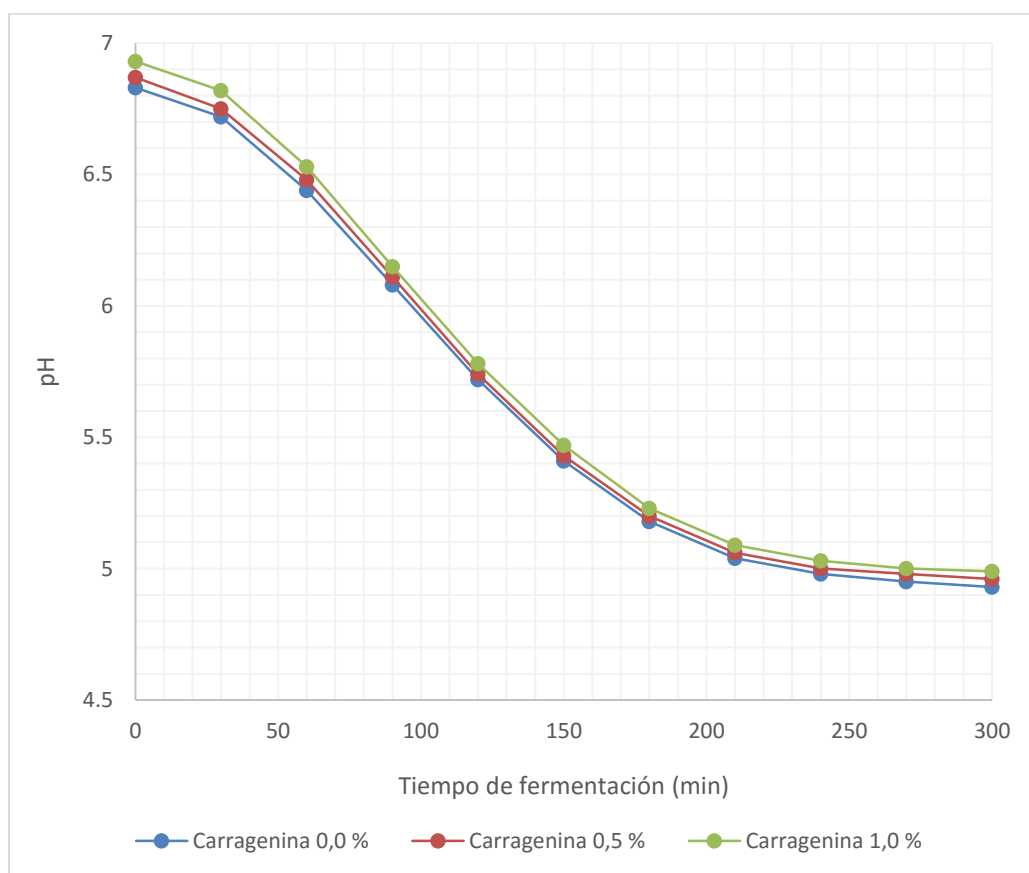


Figura 14: Cambio del pH durante el tiempo (min) de fermentación a tres concentraciones de carragenina (0,0; 0,5 y 1,0 %), para una concentración de sacarosa del 10,0 por ciento.

Algunos autores han reportado que el mecanismo de transporte de la lactosa en *S. thermophilus* difiere del de los lactococos, sin embargo se logra la hidrolización de la glucosa metabolizándola en ácido láctico (Zourari *et al.*, 1992).

A partir de esto, se puede determinar que el efecto de la concentración de azúcar sobre el crecimiento de los microorganismos es relevante como agente osmótico pero puede llegar a ser negativo sobre el tiempo requerido para alcanzar la velocidad máxima de acidificación. Cabe resaltar que cada cultivo iniciador utiliza diferentes cantidades de azúcar, de forma individual; el *S. thermophilus* fermenta únicamente pocos carbohidratos, como la lactosa, sacarosa, glucosa y en algunos casos galactosa (Hardie 1986), mientras

que el *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* fermenta menor cantidad de carbohidratos como la glucosa, lactosa, fructosa, y en algunos casos galactosa y manosa (Zourari *et al.*, 1992). Un efecto inhibitor de alto contenido de sacarosa en la leche (12 %), sobre el crecimiento de las bacterias de yogurt a menudo se ha informado. Esto se debe tanto a un efecto adverso osmótico de los solutos presentes en la leche y una baja actividad de agua (Tamime y Robinson 1991).

Con los resultados obtenidos en su estudio, Rodriguez-Bernal *et al.* (2014), determinaron tiempos de fermentación a distintas concentraciones de sacarosa los cuales fueron de 4,4 a 4,2 horas para alcanzar un valor de pH de 4,6 partiendo de un valor de 6,5 de pH; estos tiempos son similares a los mostrados en las Figuras 12; 13 y 14.

Es importante resaltar que para cualquier condición de proceso siempre habrá una acidificación específica en respuesta a dichas condiciones de proceso. Las bacterias ácido lácticas utilizan preferentemente la lactosa vía glicólisis como fuente de energía (Martinussen *et al.*, 2013). De acuerdo a las características metabólicas de las bacterias acidificantes estas pueden utilizar el azúcar en mayor a menor grado ya que por disminución del pH este se hidroliza generando glucosa y fructosa. La utilización de dichos monosacáridos dependerá de KS. Por lo tanto, el efecto que la adición de azúcar (sacarosa) puede tener sobre el proceso de fermentación de una bacteria dependerá del perfil de carbohidratos utilizados como fuente de energía y de su afinidad por ellos (Zare *et al.*, 2012).

El cambio del pH del yogurt en función del tiempo (min) durante la fermentación muestran un comportamiento que se ajustaron a una ecuación de cuarto orden, como:

$$pH = -1 * 10^{-9}(\theta)^4 + 9 * 10^{-7}(\theta)^3 - 0,0002(\theta)^2 - 0,0002(\theta) + 6,9543$$

El modelo multilíneal que representa el efecto de la sacarosa, carragenina y tiempo de fermentación en el descenso del pH se puede representar como:

$$pH = 6,62965 + 0,00976(\%sacarosa) + 0,08758(\%carragenina) - 0,00721(minutos)$$

4.3. EFECTO DE LA SACAROSA Y CARRAGENINA EN EL ALMACENAMIENTO DEL YOGURT

4.3.1 EFECTO EN EL pH

En el Cuadro 6 se muestra la variación del pH del yogurt durante el almacenamiento a 4 °C por 1; 7 y 15 días para las concentraciones de sacarosa de 0,0; 5,0 y 10,0 por ciento con concentraciones de 0,0; 0,5 y 1,0 por ciento de carragenina; se observa los valores de pH disminuyen a medida que se incrementan los días de almacenamiento del yogurt. La disminución en el pH se debe a que las bacterias ácido lácticas continúan su actividad metabólica, a pesar de que la temperatura de almacenamiento es baja (< 5 °C), produciendo ácido láctico, lo que provoca que el medio se acidifique y baje el pH.

Existen mucho reportes donde el porcentaje de acidez se incrementa al final del período de almacenamiento, como el que menciona Salji e Ismail (1983), que evaluaron el efecto de la acidez inicial de yogurt natural y los cambios de dicha acidez durante el almacenamiento, ellos encontraron que los máximos cambios en acidez ocurren durante la primera semana de almacenamiento y de ahí en adelante los cambios son mínimos, evidenciando que las muestras con baja acidez inicial tienen un valor alto de pH.

En la Figura 15 se muestra la prueba de normalidad de los residuos, para lo cual la hipótesis planteada fue: Los residuos se distribuyen normalmente; y la hipótesis alterna fue: Los residuos no se distribuyen normalmente.

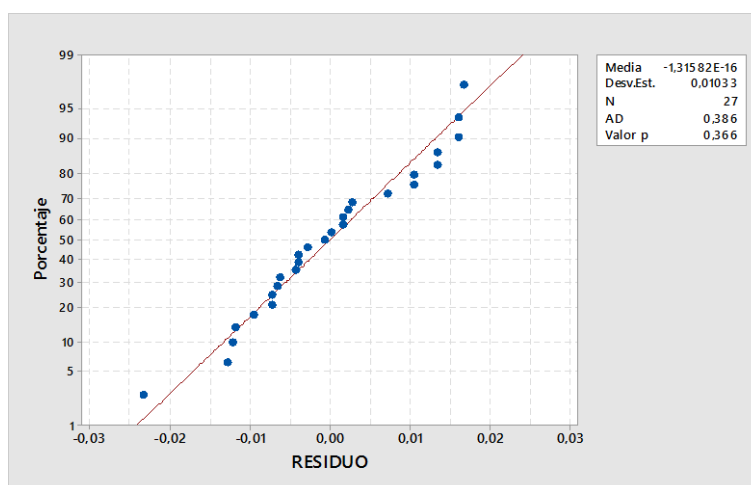


Figura 15: Prueba de normalidad de los residuos (Anderson Darling).

Cuadro 8: Variación del pH del yogurt durante el almacenamiento (1, 7 y 15 días) a 4 °C

TIEMPO		SACAROSA 0,0 %			SACAROSA 5,0 %			SACAROSA 10,0 %		
		Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %
Día 1	Rep 1	4,77	4,89	4,91	4,85	5,01	4,98	4,97	4,95	5,09
	Rep 2	4,82	4,84	4,97	4,95	4,97	4,97	4,87	4,99	4,99
	Rep 3	4,85	4,96	4,95	4,91	4,93	5,01	4,93	5,03	5,05
Día 7	Rep 1	4,69	4,72	4,85	4,75	4,89	4,88	4,84	4,89	4,99
	Rep 2	4,65	4,75	4,77	4,78	4,81	4,85	4,81	4,85	4,95
	Rep 3	4,71	4,8	4,8	4,81	4,86	4,89	4,78	4,95	4,96
Día 15	Rep 1	4,59	4,65	4,74	4,71	4,71	4,79	4,68	4,79	4,88
	Rep 2	4,55	4,68	4,71	4,68	4,75	4,73	4,72	4,76	4,82
	Rep 3	4,56	4,62	4,66	4,72	4,77	4,77	4,76	4,8	4,86
Promedio		SACAROSA 0,0 %			SACAROSA 5,0 %			SACAROSA 10,0 %		
		Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %
Tiempo	Día 1	4,81	4,90	4,94	4,90	4,97	4,99	4,92	4,99	5,04
	Día 7	4,68	4,76	4,81	4,78	4,85	4,87	4,81	4,90	4,97
	Día 15	4,57	4,65	4,70	4,70	4,74	4,76	4,72	4,78	4,85

Carr: Carragenina

Como el p-valor = 0,366 > $\alpha = 0,05$, entonces no se rechaza H_0 . Por lo tanto se concluye que a un nivel de significación de 0,05, se tiene suficiente evidencia estadística para afirmar que los errores se distribuyen normalmente.

En las Figuras 16 y 17 se muestran las pruebas de homogeneidad de varianzas (Bartlett) donde se consideró como respuesta al pH y como factores a la concentración de sacarosa y carragenina. Para tal caso, la hipótesis planteada fue: las varianzas son homogéneas, y la hipótesis alterna fue: al menos un σ_i^2 es diferente.

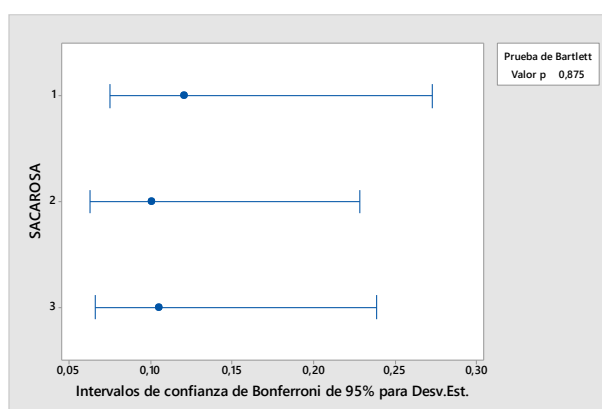


Figura 16: Homogeneidad de varianza del pH versus la concentración (%) de sacarosa.

Como el p-valor (0,875) es mayor al valor de α (0,05) se concluye que a un nivel de significancia de 0,05, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las variancias de los tratamientos son homogéneas.

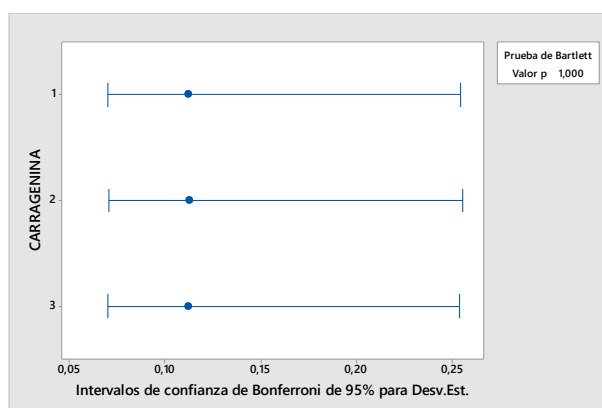


Figura 17: Homogeneidad de varianza del pH versus la concentración (%) de carragenina.

Como el p-valor (1,00) es mayor al valor de α (0,05) se concluye que a un nivel de significancia de 0,05, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las variancias de los tratamientos son homogéneas.

Cuadro 9: Análisis de varianza del diseño factorial (pH vs. Bloques; sacarosa; carragenina)

FUENTE	GL	SC	CM	F	p-valor
Bloques (día)	2	0,218732	0,109366	631,26	0,000
Sacarosa	2	0,077843	0,038921	224,65	0,000
Carragenina	2	0,060742	0,030371	175,3	0,000
Sacarosa*carragenina	4	0,003286	0,000821	4,74	0,010
Error	16	0,002772	0,000173		
Total	26	0,363374			

Como el p-valor del bloque (día) $< \alpha = 0,05$, se rechaza H_0 y se concluye que a un nivel de significancia de 0,05 existe suficiente evidencia estadística para afirmar que existe diferencias entre los días al evaluar el pH; por lo que se justifica el bloqueo en días.

Además, como el p-valor de la fuente de variación sacarosa (0,000), Carragenina (0,000) y la interacción sacarosa*carragenina (0,010) es menor a α (0,05), se concluye que al menos uno de los efectos de la concentración de sacarosa es diferente, al menos uno de los efectos de la concentración de carragenina es diferente y, existe interacción entre los efectos simples de sacarosa*carragenina.

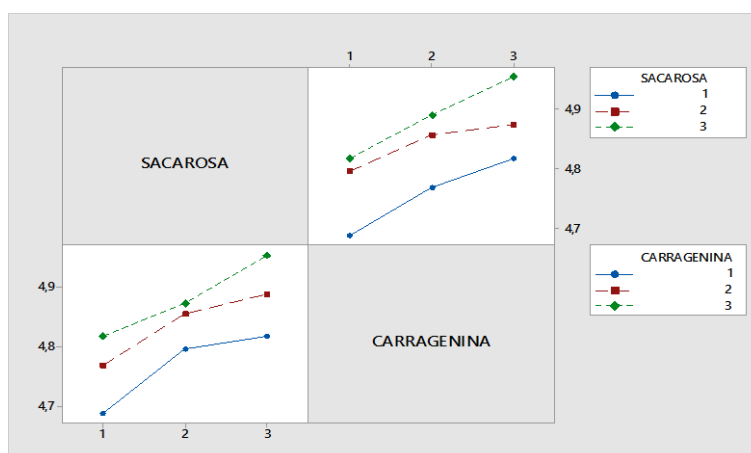


Figura 18: Interacción entre los efectos simples de las fuentes de variación sacarosa * carragenina.

En la Figura 18 se observa la gráfica de interacción de los efectos simples de las concentraciones de sacarosa con las concentraciones de carragenina al evaluar el pH. Se observa el pH aumenta conforme se incrementa la concentración de sacarosa (A) y carragenina (B), obteniendo valores máximos de pH con concentraciones del 10 y 1,0 por ciento, respectivamente.

Cuadro 10: Prueba Tukey de los efectos simples al evaluar el pH en función de la concentración de sacarosa y la concentración de carragenina

Niveles de A1 en bj	Yi1.-Yj1.	ALS (T)	NS
1 y 2	0.25	0.028	*
1 y 3	0.14	0.028	*
2 y 3	0.14	0.028	*
Niveles de A2 en bj	Yi2.-Yj2.	ALS (T)	NS
1 y 2	0.18	0.028	*
1 y 3	0.24	0.028	*
2 y 3	0.06	0.028	*
Niveles de A3 en bj	Yi3.-Yj3.	ALS (T)	NS
1 y 2	0.22	0.028	*
1 y 3	0.41	0.028	*
2 y 3	0.19	0.028	*
Niveles de B1 en ai	Y1i.-Y1j.	ALS (T)	NS
1 y 2	0.32	0.028	*
1 y 3	0.39	0.028	*
2 y 3	0.07	0.028	*
Niveles de B2 en ai	Y2i.-Y2j.	ALS (T)	NS
1 y 2	0.25	0.028	*
1 y 3	0.36	0.028	*
2 y 3	0.11	0.028	*
Niveles de B3 en ai	Y3i.-Y3j.	ALS (T)	NS
1 y 2	0.17	0.028	*
1 y 3	0.41	0.028	*
2 y 3	0.24	0.028	*

En el Cuadro 10 se muestra la prueba de comparación de Tukey de medias de efectos simples del factor A (sacarosa) con tres niveles (concentraciones 0,0; 5,0 y 10,0 %); en B (carragenina) con tres niveles (concentraciones 0,0; 0,5 y 1,0 %) y el recíproco; observándose que todos los niveles de A en b, y B en a, presentan diferencias significativas al evaluar el pH durante los períodos de almacenamiento (1; 7 y 15 días).

De acuerdo con los resultados obtenidos, Hematyar *et al.* (2012), en su investigación sobre el efecto de gomas en las características del yogurt observaron que el pH disminuyó durante todo el período de almacenamiento; además observaron que no hubo diferencias significativas entre las muestras que contenían estabilizadores y la muestra de control (sin estabilizadores), encontraron que el pH de las muestras de yogurt que contenían carragenina tuvieron una disminución normal durante el almacenamiento, así como también la muestra de control, para lo cual la disminución del pH se debió a la formación de ácido láctico por ciertas bacterias de yogurt. Estos resultados son consistentes con los hallazgos de EI-Salam *et al.* (1996), quienes informaron que el tipo de estabilizante, o agente humectante, no tuvo ningún efecto sobre el desarrollo de la acidez durante el almacenamiento del yogurt. Los efectos del pH en el comportamiento de mezcla de las soluciones de proteína-polisacárido difieren dependiendo de la naturaleza del polisacárido, es decir, neutro, carboxilado o sulfatado (Syrbe *et al.* 1998). Las carrageninas son polisacáridos sulfatados y pueden formar complejos con la caseína, incluso a pH neutro. La incompatibilidad entre las proteínas y el polisacárido aumenta a medida que el pH se aproxima al punto isoeléctrico de la proteína, donde la tendencia a la autoasociación de las proteínas es alta y disminuye a medida que el pH es diferente al Punto Isoeléctrico de la proteína (Ould-Eleya y Turgeon 2000).

4.3.2. EFECTO EN LA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA

En el Cuadro 11 se muestra la variación de la capacidad de retención de agua (CRA) del yogurt en almacenamiento a 4 °C durante 1; 7 y 15 días para las concentraciones de sacarosa de 0,0; 5,0 y 10,0 por ciento con concentraciones de 0,0; 0,5 y 1,0 por ciento de carragenina; se observa que los valores de la CRA aumentan a medida que se incrementan los días de almacenamiento del yogurt y las concentraciones de sacarosa y carragenina.

Cuadro 11: Variación de la capacidad de retención de agua del yogurt durante el almacenamiento (día 1; 7 y 15 días) a 4 °C

TIEMPO		SACAROSA 0,0 %			SACAROSA 5,0 %			SACAROSA 10,0 %		
		Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %
Día 1	Rep 1	55,6371	62,2911	68,1769	56,5177	63,9820	69,4759	58,8976	66,0007	73,5598
	Rep 2	55,6197	62,2698	68,1405	56,5511	63,9628	69,4933	58,8820	65,9661	73,5781
	Rep 3	55,6023	62,3124	68,1587	56,5344	63,9436	69,4585	58,9132	65,9834	73,5964
Día 7	Rep 1	57,2237	63,4886	70,8419	58,9521	65,8959	72,6466	64,1541	69,5454	74,1426
	Rep 2	57,2471	63,4685	70,8255	58,9147	65,9297	72,6677	64,1366	69,5012	74,1272
	Rep 3	57,2003	63,4484	70,8091	58,9334	65,9128	72,6255	64,1716	69,5233	74,1118
Día 15	Rep 1	59,2503	66,3663	71,8726	61,2191	74,7633	77,5139	65,6352	77,4319	80,4719
	Rep 2	59,2131	66,3836	71,8930	61,2579	74,7406	77,5352	65,5994	77,4125	80,4537
	Rep 3	59,2317	66,4009	71,8522	61,2385	74,7179	77,4926	65,6173	77,3931	80,4901
Promedio		SACAROSA 0,0 %			SACAROSA 5,0 %			SACAROSA 10,0 %		
		Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %
Tiempo	Dia 1	55,6197	62,2911	68,1587	56,5344	63,9628	69,4759	58,8976	65,9834	73,5781
	Dia 7	57,2237	63,4685	70,8255	58,9334	65,9128	72,6466	64,1541	69,5233	74,1272
	Dia 15	59,2317	66,3836	71,8726	61,2385	74,7406	77,5139	65,6173	77,4125	80,4719

Carr: Carragenina

En la Figura 19 se muestra la prueba de normalidad de los residuos, para lo cual la hipótesis planteada fue: Los residuos se distribuyen normalmente; y la hipótesis alterna fue: Los residuos no se distribuyen normalmente.

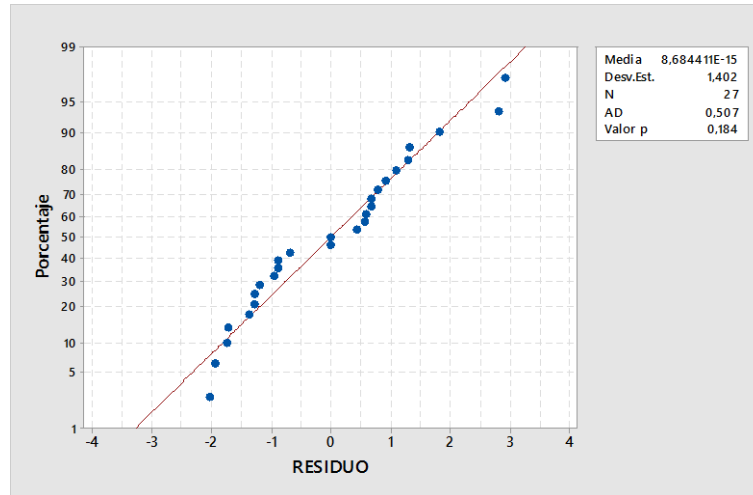


Figura 19: Prueba de normalidad de los residuos (Anderson Darling).

Como el p-valor = 0,184 > $\alpha = 0,05$, entonces no se rechaza H_0 . Por lo tanto se concluye que a un nivel de significación del 0,05, se tiene suficiente evidencia estadística para afirmar que los errores se distribuyen normalmente.

En las Figuras 20 y 21 se muestran las pruebas de homogeneidad de varianzas (Bartlett) donde se consideró como respuesta a la capacidad de retención de agua y como factores a la concentración de sacarosa y carragenina. Para este caso, la hipótesis planteada fue: las varianzas son homogéneas, y la hipótesis alterna fue: al menos un σ_1^2 es diferente.

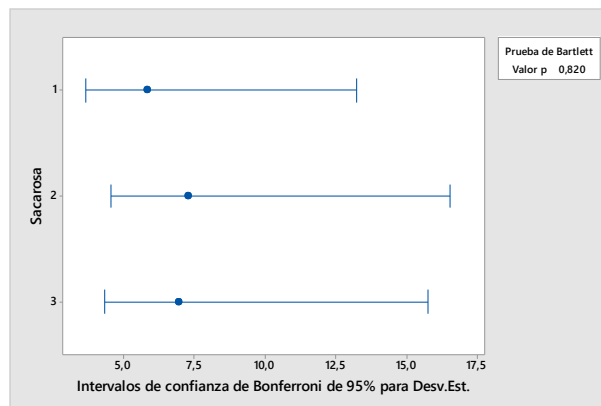


Figura 20: Homogeneidad de varianza de la capacidad de retención de agua versus la concentración (%) de sacarosa.

Como el p-valor (0,820) es mayor al valor de α (0,05) se concluye que a un nivel de significancia de 0,05, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las variancias de los tratamientos son homogéneas.

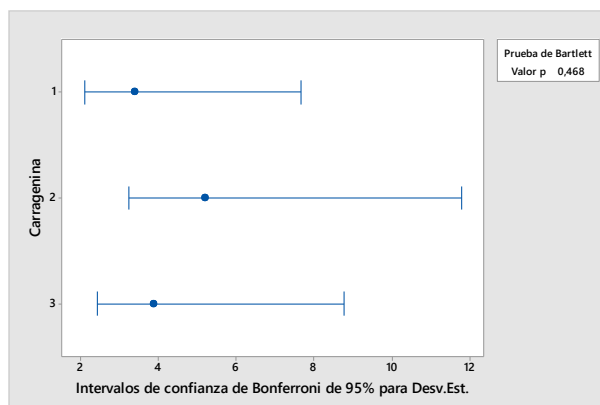


Figura 21: Homogeneidad de varianza de la capacidad de retención de agua versus la concentración (%) de carragenina.

Como el p-valor (0,468) es mayor al valor de α (0,05) se concluye que a un nivel de significancia de 0,05, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las variancias de los tratamientos son homogéneas.

En el Cuadro 12 se presenta el análisis de varianza del diseño factorial.

Cuadro 12: Análisis de varianza del diseño factorial (CRA vs. Bloques; sacarosa; carragenina)

FUENTE	GL	SC	CM	F	p-valor
Bloques (día)	2	204,24	102,119	31,95	0,000
Sacarosa	2	166,33	83,163	26,02	0,000
Carragenina	2	826,35	413,174	129,27	0,000
Sacarosa*carragenina	4	5,46	1,365	0,43	0,787
Error	16	51,14	3,196		
Total	26	1253,51			

Como el p-valor del bloque (día) = 0,000 < α = 0,05, se rechaza H_0 y se concluye que a un nivel de significancia de 0,05 existe suficiente evidencia estadística para afirmar que

existe diferencias entre los días al evaluar la CRA; por lo que se justifica el bloqueo en días.

Además, como el p-valor de la fuente de variación sacarosa (0,000) y carragenina (0,000) es menor a α (0,05), se concluye que al menos uno de los efectos de la concentración de sacarosa es diferente y al menos uno de los efectos de la concentración de carragenina es diferente. Por otro lado, como el p-valor de la interacción sacarosa*carragenina (0,787) es mayor a α (0,05) no existe interacción entre los efectos simples, por lo que se procedió a analizar los efectos principales (Figura 22).

En La Figura 19 se observa que el valor medio de la CRA aumenta conforme aumenta la concentración de sacarosa. La misma tendencia se observa con el incremento de la concentración de carragenina.

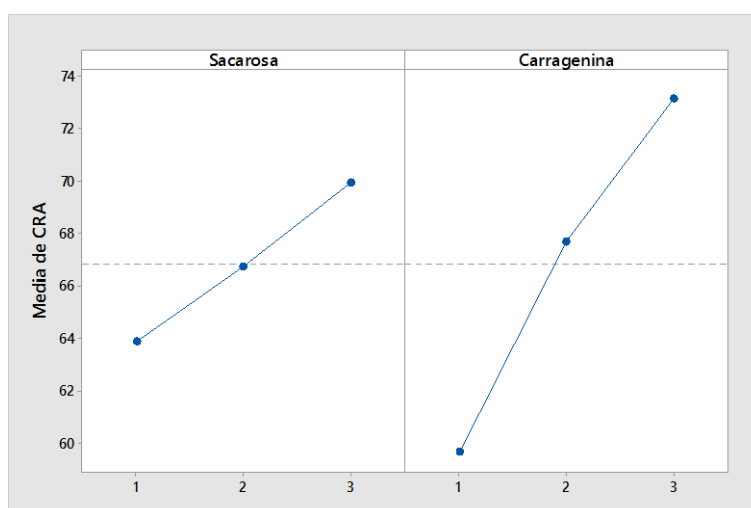


Figura 22: Efectos principales de las fuentes de variación: concentración de sacarosa (%) versus la concentración (%) de carragenina.

En el Cuadro 13 se muestra la prueba de comparación de Tukey de medias de efectos principales del factor A (sacarosa) con tres niveles (concentraciones 0,0; 5,0 y 10,0 %); y el factor B (carragenina) con tres niveles (concentraciones 0,0; 0,5 y 1,0 %); observándose que todos los niveles de A y B, presentan diferencias significativas la CRA durante los períodos de almacenamiento del yogurt a 4 °C (1; 7 y 15 días).

Cuadro 13: Prueba Tukey de los efectos principales al evaluar la capacidad de retención de agua del yogurt en función de la concentración de sacarosa y carragenina

NIVELES DE A	Yi1.-Yj1.	ALS (T)	NS
1 y 2	2,88	2,18	*
1 y 3	6,08	2,18	*
2 y 3	3,20	2,18	*
NIVELES DE B	Yi2.-Yj2.	ALS (T)	NS
1 y 2	8,03	2,18	*
1 y 3	13,47	2,18	*
2 y 3	5,44	2,18	*

El incremento de la capacidad de retención de agua se debe a que las carrageninas y la sacarosa presentan un comportamiento hidrofílico, por lo que son solubles en agua y solventes orgánicos. La solubilidad de las carrageninas depende de su estructura química, especialmente de la distribución de los grupos 3,6 anhidro-D-galactosa (hidrofóbico) y grupos sulfatos (hidrofílico) (Gliksman, 1969).

Las carrageninas forman geles termorreversibles al ser sometidos a ciclos de calentamiento-enfriamiento. Durante el proceso de calentamiento la solución presentará un aumento en su viscosidad debido al desenrollamiento de las moléculas de carragenina con la subsecuente ligadura del hidrógeno a las moléculas de agua en el medio, incrementando la viscosidad en el yogurt. Continuando con un calentamiento posterior, se lleva a cabo la ruptura de los enlaces de hidrógeno liberando las moléculas de agua con lo cual se asegura la completa solubilización de las carrageninas; finalmente, a través de un proceso de enfriamiento las carrageninas alinean dos cadenas helicoidales similares, enfocando el grupo 4-sulfato hacia el interior de las mismas. La fuerte electronegatividad produce el rechazo de ambas hélices siendo neutralizado por iones potasio en el caso de las kappa carrageninas y por iones calcio cuando se trata de las iota carragenina (Stanley *et al.* 1992). Dichos procesos de calentamiento, re-calentamiento y enfriamiento, se dan durante la producción de yogurt, motivo por el cual la capacidad de retención de agua incrementa conforme incrementa la concentración de carragenina.

4.3.3. EFECTO EN LA SINÉRESIS

En la Figura 23 se muestra la variación de la sinéresis del yogurt durante el almacenamiento a 4 °C, donde se observa que la sinéresis disminuyó cuando solamente se aumentó la concentración de sacarosa (carragenina al 0,0 %). Además, se observa que al evaluar cada concentración de sacarosa, la sinéresis aumenta cuando se adiciona 0,5 por ciento de carragenina y luego disminuye al agregar 1,0 por ciento de carragenina, evidenciándose la interacción que existe entre ambos factores, los datos empleados son los que se muestran en el Cuadro 14.

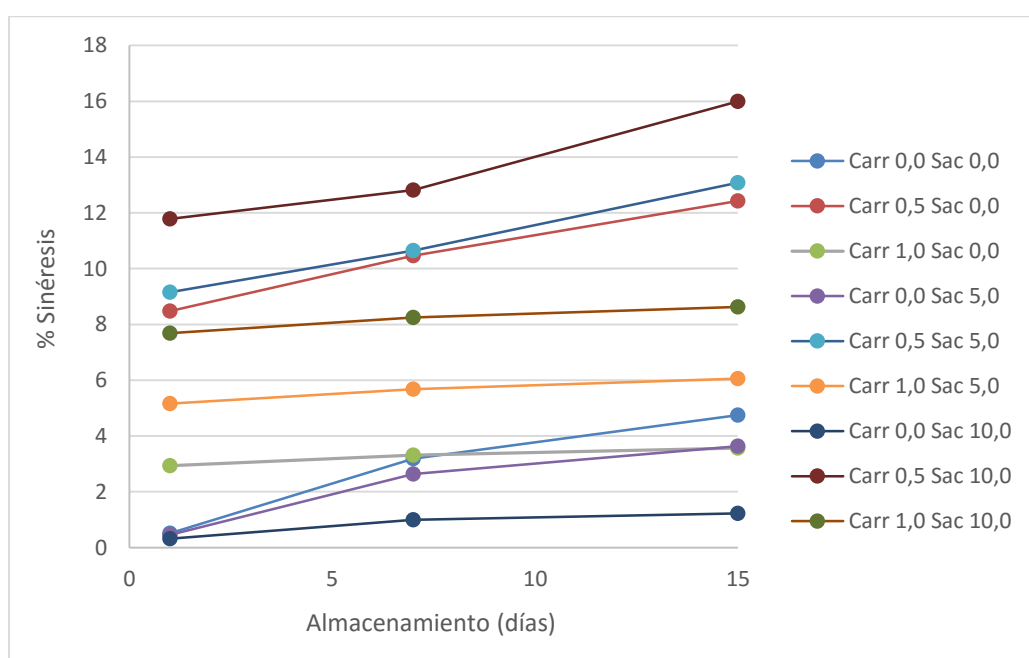


Figura 23: Variación de la sinéresis del yogurt durante el almacenamiento a 4 °C.

Por otro lado, la sinéresis aumenta conforme transcurre el tiempo de almacenamiento del yogurt a 4 °C, llegando a valores máximos de aproximadamente 16 por ciento al evaluar las concentraciones de 10 y 0,5 por ciento de sacarosa y carragenina, respectivamente. Ospina *et al.* (2012) reportaron que los porcentajes de sinéresis del yogurt con goma xantan, guar y carragenina en almacenamiento a 4 °C, fueron 8,7 y 9,5 por ciento para la primera y segunda semana respectivamente. Este aumento de la sinéresis en función del tiempo se debe principalmente al rompimiento del gel que ocasionó una menor retención de agua en la estructura del yogurt, provocando el incremento de la sinéresis. Por otro

lado el almacenamiento pudo haber tenido un efecto sobre el encogimiento de la matriz de micelas de caseína causando liberación del suero (Clark *et al.* 2009). Las carrageninas forman geles firmes y quebradizos en agua y leche, presenta alta sinéresis y presentan buena capacidad de retención de agua. Además, la adición de carragenina fortalece la red de proteínas interconectadas; sin embargo, conduce a una mayor sinéresis debido a la floculación de agotamiento). Se forma una red de partículas de caseína altamente porosa que conduce al encogimiento de la red de caseína y suero (Bienvenue 2003; Hemar *et al.* 2001).

La k-caseína es la única proteína de la leche que interacciona con el carragenano y es ampliamente utilizada en la industria de derivados lácteos. La concentración utilizada habitualmente oscila entre 0,1 y 0,5 por ciento. Sin embargo, en productos lácteos como el queso, el yogur y el kumis es generalmente inadecuado utilizar carragenina, porque un pH bajo incrementa las interacciones electrostáticas, produciendo floculación o separación. En este sentido, una adecuada selección entre galactomananos y carragenina puede prevenir y controlar esta agregación. La correcta mezcla entre hidrocoloides podría prevenir la separación y conferir cremosidad al producto (Gaviria *et al.* 2009).

En la Figura 24 se muestra la prueba de normalidad de los residuos, para lo cual la hipótesis planteada fue: Los residuos se distribuyen normalmente; y la hipótesis alterna fue: Los residuos no se distribuyen normalmente.

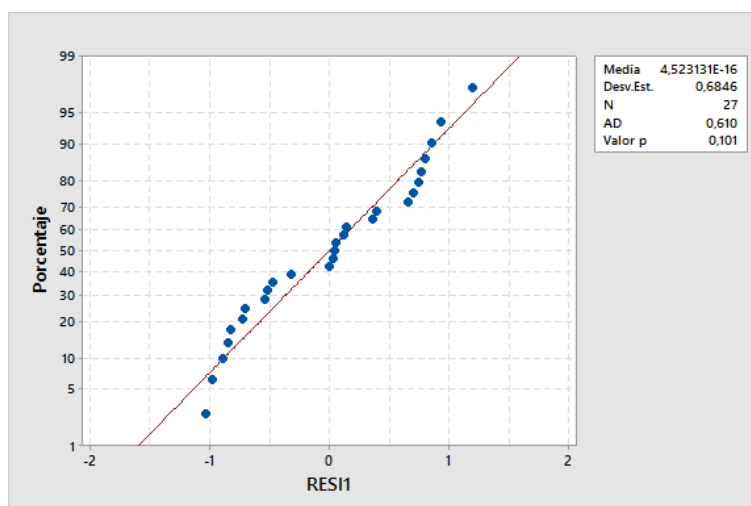


Figura 24: Prueba de normalidad de los residuos (Anderson Darling).

Cuadro 14: Variación de la sinéresis del yogurt durante el almacenamiento (día 1; 7 y 15 días) a 4 °C

TIEMPO		SACAROSA 0,0 %			SACAROSA 5,0 %			SACAROSA 10,0 %		
		Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %
Día 1	Rep 1	0,5423	8,4494	2,9394	0,4728	9,1827	5,1367	0,3221	11,7588	7,6617
	Rep 2	0,5162	8,5128	2,9583	0,4296	9,1543	5,1839	0,3413	11,8118	7,6891
	Rep 3	0,4898	8,4811	2,9205	0,4512	9,1259	5,1603	0,3029	11,7853	7,7165
Día 7	Rep 1	3,1853	10,4425	3,3393	2,6556	10,6448	5,6516	1,0120	12,8381	8,2461
	Rep 2	3,2049	10,4674	3,2931	2,6351	10,6712	5,6958	0,9936	12,7966	8,2226
	Rep 3	3,1657	10,4923	3,3162	2,6226	10,6184	5,6737	0,9752	12,8173	8,2696
Día 15	Rep 1	4,7692	12,4002	3,5667	3,6314	13,1024	6,0737	1,2421	16,0261	8,6253
	Rep 2	4,7236	12,4243	3,5860	3,6565	13,0775	6,0345	1,2243	15,9675	8,6012
	Rep 3	4,7464	12,4484	3,5474	3,6063	13,0526	6,0541	1,2065	15,9968	8,6494
Promedio		SACAROSA 0,0 %			SACAROSA 5,0 %			SACAROSA 10,0 %		
		Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %
Tiempo	Día 1	0,5161	8,4811	2,9394	0,4512	9,1543	5,1603	0,3221	11,7853	7,6891
	Día 7	3,1853	10,4674	3,3162	2,6378	10,6448	5,6737	0,9936	12,8173	8,2461
	Día 15	4,7464	12,4243	3,5667	3,6314	13,0775	6,0541	1,2243	15,9968	8,6253

Carr: Carragenina

Como el p-valor = 0,101 > $\alpha = 0,05$, entonces no se rechaza H_0 . Por lo tanto se concluye que a un nivel de significación del 0,05, se tiene suficiente evidencia estadística para afirmar que los errores se distribuyen normalmente.

En las Figuras 25 y 26 se muestran las pruebas de homogeneidad de varianzas (Bartlett) donde se consideró como respuesta a la sinéresis y como factores a la concentración de sacarosa y carragenina. Para este caso, la hipótesis planteada fue: las varianzas son homogéneas, y la hipótesis alterna fue: al menos un σ_i^2 es diferente.

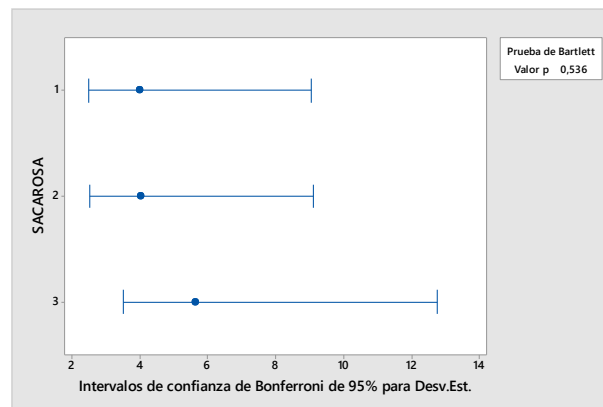


Figura 25: Homogeneidad de varianza de la sinéresis versus la concentración (%) de sacarosa.

Como el p-valor (0,5360) es mayor al valor de α (0,05) se concluye que a un nivel de significancia de 0,05, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las variancias de los tratamientos son homogéneas.

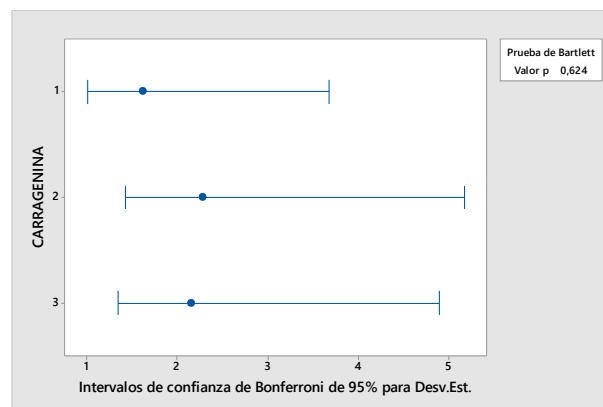


Figura 26: Homogeneidad de varianza de la sinéresis versus la concentración (%) de Carragenina.

Como el p-valor (0,624) es mayor al valor de α (0,05) se concluye que a un nivel de significancia de 0,05, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las variancias de los tratamientos son homogéneas.

Cuadro 15: Análisis de varianza del diseño factorial (Sinéresis vs. Bloques; sacarosa; carragenina)

FUENTE	GL	SC	CM	F	p-valor
Bloques	2	29	14,501	19,04	0,000
Sacarosa	2	18,47	9,234	12,13	0,001
Carragenina	2	429,28	214,64	281,85	0,000
Sacarosa*carragenina	4	40,24	10,061	13,21	0,000
Error	16	12,18	0,762		
Total	26	529,18			

Como el p-valor del bloque (día) = $0,000 < \alpha = 0,05$, se rechaza H_0 y se concluye que a un nivel de significancia de 0,05 existe suficiente evidencia estadística para afirmar que existe diferencias entre los días al evaluar la sinéresis; por lo que se justifica el bloqueo en días. Además, como el p-valor de la fuente de variación sacarosa (0,000), carragenina (0,000) y la interacción sacarosa*carragenina (0,000) es menor a α (0,05), se concluye que al menos uno de los efectos de la concentración de sacarosa es diferente, al menos uno de los efectos de la concentración de carragenina es diferente y existe interacción entre los efectos simples (Figura 27).

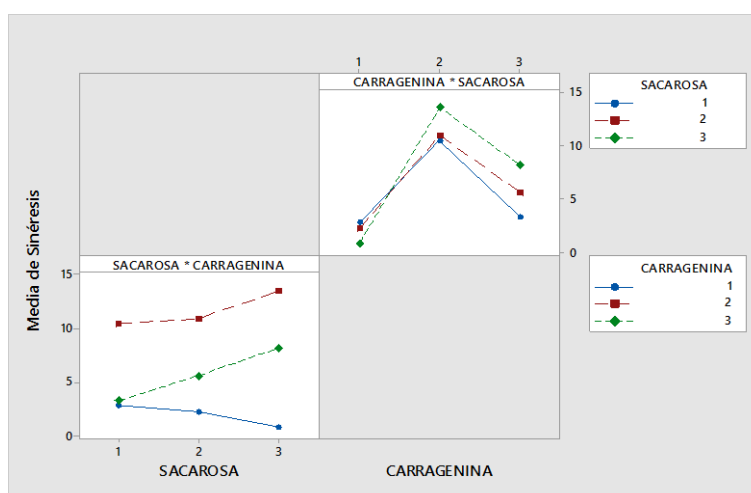


Figura 27: Interacción entre los efectos simples de las fuentes de variación sacarosa * Carragenina.

En la Figura 27 se observa la gráfica de interacción de los efectos simples de las concentraciones de sacarosa con las concentraciones de carragenina al evaluar la sinéresis del yogurt. Se observa que el valor mínimo de sinéresis se obtiene con 10,0 y 0,0 por ciento de sacarosa y carragenina, respectivamente; y el valor máximo con 10,0 y 0,5 por ciento de sacarosa y carragenina, respectivamente.

En los estudios realizados por Phuong *et al.* (2017) donde evaluaron diferentes concentraciones de hidrocoloides en yogurt descremado al 0,1 por ciento de grasa, obtuvieron que la gelatina genera casi cero por ciento de sinéresis a diferencia de la carragenina que presentó un efecto inverso, duplicando la sinéresis del yogur cuando se trabajó con concentraciones bajas (0,1 %). Además, reportaron que a medida que aumentó la concentración de carragenina (0,01; 0,04 y 0,08) se incrementó la sinéresis del yogurt (23,03; 33,62 y 42,88 respectivamente). Esta diferencia entre los datos reportados por Phuong *et al.* (2017) y los datos experimentales se deben principalmente a que en la presente investigación se trabajó con la sacarosa como edulcorante y con un contenido de grasa del tres por ciento. El contenido de grasa afecta la sinéresis principalmente porque en presencia de más glóbulos de grasa, la proteína se adsorbe en la superficie de los glóbulos de grasa y los glóbulos de grasa de la leche actúan como partículas de proteína y aumenta su capacidad de inmovilizar el agua (Lee y Lucey 2010). En este sistema, las concentraciones más altas de glóbulos de grasa en la red de gel mejoran su capacidad para retener el agua y hacerlo menos propenso a la sinéresis (Keogh y O'Kennedy, 1998).

Según Alatraste (2002), el porcentaje de sinéresis adecuado para tener una buena calidad de yogurt asentado con uno por ciento de grasa y con un contenido menor al 38 por ciento de linaza canadiense debe ser menor al 42 por ciento. Además, Tamime y Robinson (1991) mencionan que si el porcentaje de sinéresis es mayor a 42 por ciento, se dice que la formación de la estructura del gel no es muy buena, lo cual se puede deber a ciertos factores como la reducción de grasa o la adición de minerales.

En el Cuadro 16 se muestra la prueba de comparación de Tukey de medias de efectos simples del factor A (sacarosa) con tres niveles (concentraciones 0,0; 5,0 y 10,0 %); en B (carragenina) con tres niveles (concentraciones 0,0; 0,5 y 1,0 %) y el recíproco; observándose que no existen diferencias significativas al evaluar el nivel B1 (carragenina al 0,0 %) en a1 y a2 (sacarosa al 0,0 y 5,0 %, respectivamente), y el nivel B2 (carragenina al

0,5 %) en a1 y a2 (sacarosa al 0,0 y 5,0 %, respectivamente); al evaluar la sinéresis durante los períodos de almacenamiento (1; 7 y 15 días) del yogurt a 4 °C.

Cuadro 16: Prueba Tukey de los efectos simples al evaluar la sinéresis en función de la concentración de sacarosa y la concentración de carragenina

Niveles de A1 en bj	Yi1.-Yj1.	ALS (T)	NS
1 y 2	22,93	1,84	*
1 y 3	21,55	1,84	*
2 y 3	21,55	1,84	*
Niveles de A2 en bj	Yi2.-Yj2.	ALS (T)	NS
1 y 2	26,16	1,84	*
1 y 3	10,17	1,84	*
2 y 3	15,99	1,84	*
Niveles de A3 en bj	Yi3.-Yj3.	ALS (T)	NS
1 y 2	38,06	1,84	*
1 y 3	22,02	1,84	*
2 y 3	16,04	1,84	*
Niveles de B1 en ai	Y1i.-Y1j.	ALS (T)	NS
1 y 2	1,73	1,84	n.s
1 y 3	5,91	1,84	*
2 y 3	4,18	1,84	*
Niveles de B2 en ai	Y2i.-Y2j.	ALS (T)	NS
1 y 2	1,50	1,84	n.s
1 y 3	9,23	1,84	*
2 y 3	7,72	1,84	*
Niveles de B3 en ai	Y3i.-Y3j.	ALS (T)	NS
1 y 2	7,07	1,84	*
1 y 3	14,74	1,84	*
2 y 3	7,67	1,84	*

4.3.4. EFECTO EN LA ACTIVIDAD DE AGUA DURANTE EL ALMACENAMIENTO

En el Cuadro 17 se muestra la variación de la actividad de agua del yogurt durante el almacenamiento a 4 °C.

Cuadro 17: Variación de la actividad de agua del yogurt durante el almacenamiento (día 1; 7 y 15 días) a 4 °C.

PROMEDIO		SACAROSA 0,0 %			SACAROSA 5,0 %			SACAROSA 10,0 %		
		Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %	Carr 0,0 %	Carr 0,5 %	Carr 1,0 %
Tiempo	Día 1	0,995	0,994	0,991	0,994	0,991	0,989	0,991	0,986	0,986
	Día 7	0,994	0,993	0,992	0,994	0,99	0,989	0,992	0,989	0,985
	Día 15	0,994	0,993	0,992	0,994	0,992	0,989	0,993	0,99	0,986

Carr: Carragenina

En la Figura 28 se muestra la prueba de normalidad de los residuos, para lo cual la hipótesis planteada fue: Los residuos se distribuyen normalmente; y la hipótesis alterna fue: Los residuos no se distribuyen normalmente.

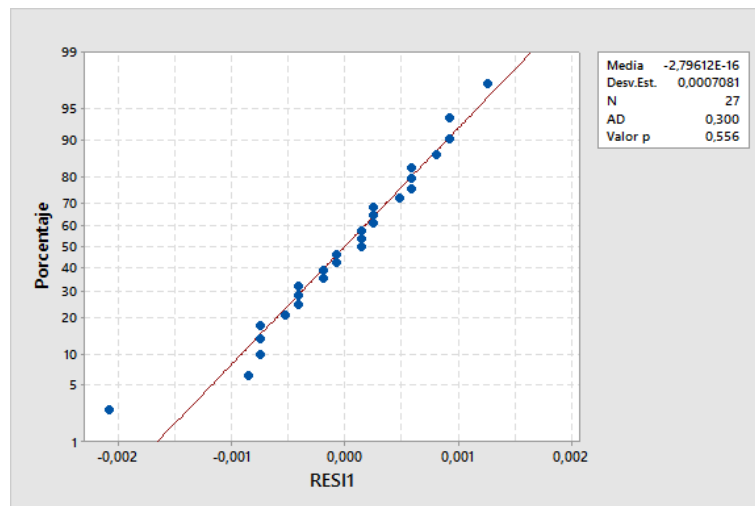


Figura 28: Prueba de normalidad de los residuos (Anderson Darling).

Como el $p\text{-valor} = 0,556 > \alpha = 0,05$, entonces no se rechaza H_0 . Por lo tanto se concluye que a un nivel de significación del 0,05, se tiene suficiente evidencia estadística para afirmar que los errores se distribuyen normalmente.

En las Figuras 29 y 30 se muestran las pruebas de homogeneidad de varianzas (Bartlett) donde se consideró como respuesta a la actividad de agua y como factores a la concentración de sacarosa y carragenina. Para tal caso, la hipótesis planteada fue: las varianzas son homogéneas, y la hipótesis alterna fue: al menos un σ_i^2 es diferente.

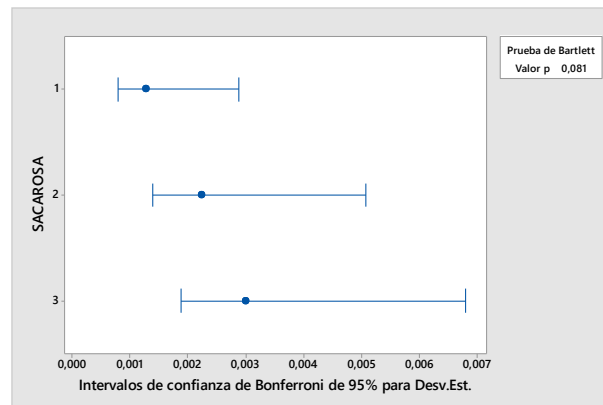


Figura 29: Homogeneidad de varianza de la actividad de agua versus la concentración (%) de sacarosa.

Como el p-valor (0,081) es mayor al valor de α (0,05) se concluye que a un nivel de significancia de 0,05, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las variancias de los tratamientos son homogéneas.

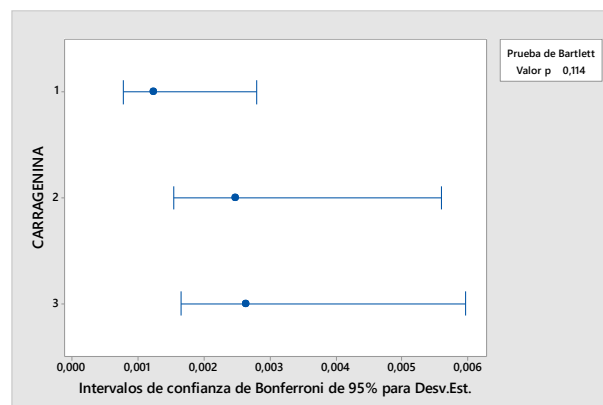


Figura 30: Homogeneidad de varianza de la actividad de agua versus la concentración (%) de Carragenina.

Como el p-valor (0,114) es mayor al valor de α (0,05) se concluye que a un nivel de significancia de 0,05, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las variancias de los tratamientos son homogéneas.

Cuadro 18: Análisis de varianza del diseño factorial (a_w vs. Bloque; sacarosa; carragenina)

FUENTE	GL	SC	CM	F	p-valor
Bloque (día)	2	0,000002	0,000001	1,41	0,273
Sacarosa	2	0,00009	0,000045	55,27	0,000
Carragenina	2	0,000098	0,000049	60,32	0,000
Sacarosa*carragenina	4	0,000011	0,000003	3,45	0,032
Error	16	0,000013	0,000001		
Total	26	0,000215			

Como el p-valor del bloque (día) = 0,273 > $\alpha = 0,05$, a un nivel de significancia de 0,05 existe suficiente evidencia estadística para afirmar que no existe diferencias entre los días al evaluar la actividad de agua; por lo que no se justifica el bloqueo en días y se recomienda en estudios posteriores realizar el diseño experimental de la actividad de agua como un Diseño Completamente al Azar.

Además, como el p-valor de los tratamientos (sacarosa, carragenina y la interacción sacarosa*carragenina) < $\alpha = 0,05$, a un nivel de significancia de 0,05; se determina que existe suficiente evidencia estadística para afirmar que existen diferencias en al menos uno de dichos tratamientos al evaluar la actividad de agua en el yogurt.

En la Figura 31 se muestra la variación del pH en el transcurso del tiempo de almacenamiento de yogurt a 4 °C. Se observa que la actividad de agua fue constante a lo largo del período de almacenamiento estudiado, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Díaz-Jiménez *et al.* (2004), quienes determinaron que el contenido de agua libre en muestras de yogurt con fibra, no variaron durante el tiempo en almacenamiento de las muestras.

Por otro lado, se observa que las muestras con mayor contenido de carragenina y sacarosa: S10C1 (Sacarosa al 10% y carragenina al 1,0%); S5C1 (Sacarosa al 5% y carragenina al 1,0%) y S10C0,5 (Sacarosa al 10% y carragenina al 0,5%), presentan un menor valor de actividad de agua a diferencia de las otras muestras (a_w entre 0,990-0,985) esto puede deberse a que la carragenina es un aditivo empleado como estabilizante, ella tiene la propiedad de formar redes de gel y su adición permite la producción de yogurt con textura

firme y alta resistencia para la separación del agua (Maha *et al.* 2011); por lo cual el contenido de agua libre es menor.

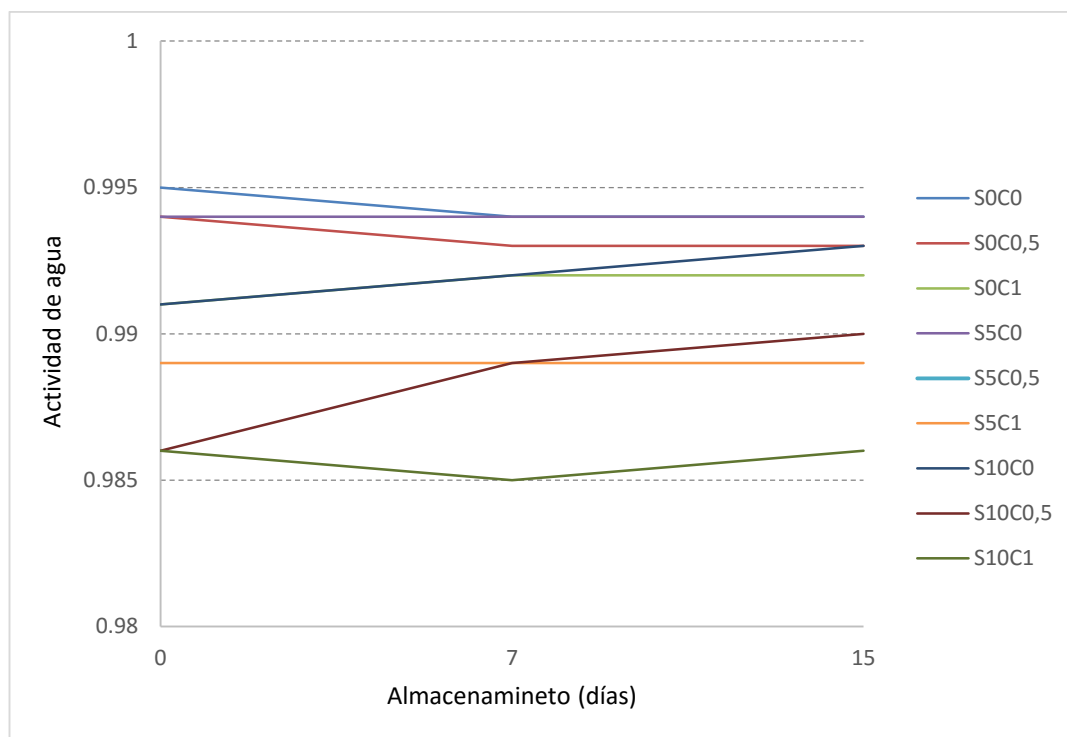


Figura 311: Variación de la actividad de agua en función del tiempo de almacenamiento en refrigeración (4 °C) para todas las combinaciones posibles de los dos factores (% sacarosa y % de carragenina).

Los estabilizadores tienen la capacidad de formar una red de enlaces entre ellos y los constituyentes de la leche debido a los radicales de hidrógeno o carboxilo presentes en su estructura (Tamime y Robinson, 1999). El nivel de hidratación es mejorado por la unión de agua a los constituyentes de la leche (proteínas), formando una red que reduce el libre movimiento de agua (Ingenpass, 1980).

La carragenina es clasificada como polisacárido adsorbente, es un hidrocoloide aniónico que interactúa con las cargas positivas en la superficie de las micelas de caseína para formar la red de caseína y disminuir la sinéresis (Hansen, 1993). Se pueden obtener mayores valores de resistencia en gel al aumentar la cantidad de carragenina, que es responsable de la acumulación de una red continua (Trckova *et al.*, 2004) reduciendo finalmente la aparición de sinéresis (Verbeken *et al.*, 2006).

V. CONCLUSIONES

Los análisis físico-químicos de la leche fresca de vaca proveniente de los establos del Fundo Majes de la Universidad Católica de Santa María, Arequipa; se encuentran dentro de los límites que establece la Norma Técnica Peruana (NTP 202.001:2016) para la elaboración de yogurt, por tanto se concluye que la materia prima utilizada en la presente investigación fue de buena calidad.

La adición de carragenina no interfiere en el comportamiento de la evolución de la acidez titulable y del pH durante la fermentación del yogurt, sin embargo, conforme se aumenta la concentración de sacarosa se incrementa el tiempo en la producción de ácido láctico.

El valor del pH aumentó conforme se incrementó la concentración de sacarosa y carragenina obteniendo valores máximos para concentraciones de 10,0 y 1,0 por ciento, respectivamente; sin embargo, el pH disminuyó a lo largo del tiempo de almacenamiento, debido a la producción de ácido láctico.

La capacidad de retención de agua (CRA) aumentó conforme se incrementó la concentración de sacarosa y carragenina obteniendo valores máximos para concentraciones de 10,0 y 1,0 por ciento, respectivamente; además, la CRA aumentó a lo largo del tiempo de almacenamiento, debido a la capacidad hidrofílica de la sacarosa y carragenina que actúan atrapando moléculas de agua en su estructura.

La sinéresis presentó del yogurt aumentó a una concentración de carragenina del 0,5 por ciento, sin embargo disminuyó a una concentración del 1,0 por ciento. Además, la sinéresis incrementó a lo largo del tiempo de almacenamiento (15 días).

La actividad de agua (a_w) del yogurt permaneció constante a lo largo del tiempo de almacenamiento (15 días) evidenciando que la carragenina actuó estabilizando la unión del agua con los constituyentes de la leche (proteínas), formando una red que reduce el movimiento libre del agua.

VII. RECOMENDACIONES

- Investigar la vida útil sensorial y la estabilidad del yogurt con los porcentajes de azúcar blanca y carragenina por métodos rápidos de evaluación sensorial como el Perfil *Flash*.
- Determinar la textura instrumental del yogurt de la presente investigación y establecer una correlación con la medida sensorial.
- Evaluar el efecto de otros estabilizantes naturales como la goma guar y el exudado de tragacanto adicionados al yogurt de la presente investigación y estudiar su efecto en la a_w y su estabilidad.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, D.; Rodríguez, A.; Fernández, A. 2010. Efecto de las variables de proceso sobre la cinética de acidificación, la viabilidad y la sinéresis del suero costeño colombiano. *Inf. Tecn. (Chile)*. 21(2):29-36.
- Alatraste, K. 2002. Efecto de la adición de fibra y calcio en un yogurt con sabor. Tesis de Licenciatura. Universidad de las Américas-Puebla.
- Amatayakul, T.; Sherkat, F.; Shah, N. 2006. Physical characteristics of set yoghurt made with altered with altered casein to whey protein ratios and EPS producing starter cultures at 9 and 14% total solids. *Food Hydrocoll. (United States)*. 20(2-3):314-324.
- Anema, S. 2008. Effect of temperature and rate of acidification on the rheological properties of acid skim milk gels. *Journal of Food Processing and Preservation* 32 (2008) 1016–1033.
- Ankenman, L. y Morr, C., V. 1996. Improved acid, flavor and volatile compound production in a high protein and fiber soymilk yogurt-like product. *J. Food Science*. 61 (2):331-336.
- Badui, S. 2006. *Química de los Alimentos*. 4 ed. México. Pearson Educación.
- Baglio, E. 2014. *Chemistry and Technology of Yoghurt Fermentation*. Ed. Springer. Palermo, Italy
- Bell LN, Labuza TP. 2000. Determination of moisture sorption isotherms. pp. 33–56. In: *Moisture Sorption: Practical Aspects of Isotherm Measurement and Use*. The American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN, USA.

- Bienvenue, A. Jimenez-Flores, R. Singh, H. Rheological properties of concentrated skim milk: importance of soluble minerals in the changes in viscosity during storage, *Journal Dairy Science.*, 86 (12), p. 3813-321, 2003.
- Chandan, R. C. 2006. Chapter 1: History and consumption trends. In: *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, edited by R. C. Chandan (Editor), C. H. White, A. Kilara, and Y. H. Hui (Associate Editors), pp. 3–15. Ames, IA: Blackwell Publishing.
- Chandan, R. C; Kilara, A. 2008. Chapter 18: Role of milk and dairy foods in nutrition and health. In: *Dairy Processing and Quality Assurance*, edited by R. C. Chandan, A. Kilara, and N. P. Shah, pp. 411–428. Ames, IA: Wiley-Blackwell Publishers.
- Chandan, R.; Kilara, A. 2013. *Manufacturing yogurt and fermented milks*. 2nd edition. John Wiley & Sons, Inc. West Sussex, UK.
- Chandan, R. C; O'Rell, K. R. 2006. Chapter 11: Ingredients for yogurt manufacture. In: *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, edited by R. C. Chandan (Editor), C. H. White, A. Kilara, and Y. H. Hui (Associate Editors), pp. 179–193. Ames, IA: Blackwell Publishing.
- Clark, S.; Costello, M.; Drake, M.; Bodyfelt, F. 2009. *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. Springer 576 p.
- Colombo Pimentel Tatiana, Garcia Sandra, Prudencio Sandra Helena. (2012). Iogurte probiótico com frutanos tipo inulina de diferentes graus de polimerização: características físico-químicas e microbiológicas e estabilidades ao armazenamento. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, Brasil, v. 33, n. 3, p. 1059-1070, maio/jun.
- Díaz-Jiménez, B.; Sosa-Morales, M. y Vélez-Ruiz, J. 2004. Efecto de la adición de fibra y la disminución de grasa en las propiedades fisicoquímicas del yogur. *Revista mexicana de ingeniería química* Vol. 3 (2004) 287-305

- EI-Salam, M.H., M.H. EI-Etriby and P. Both, 1975. Electrostatic interaction between N.M. Shahein, 1996. *Egypt Journal of Dairy Science*, kappa-carrageenan and kappa-casein. 24: 25
- Emintech. 2017. Test Decagon AquaLab 3TE, guía de uso (En línea).Lund, Malmo, Suecia. Consultado 20 oct. 2017 Disponible en: <http://www.emintech.com/1257aq1b.htm>.
- Ergun, R., Lietha, R., Hartel, R.W., 2010. Moisture and shelf life in sugar confections. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50 (2), 162e192.
- Esse, R., Saari, A., 2004. Shelf life and moisture management. In: Steele, R. (Ed.), *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food*. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- Everett, D.W; Mcleod, R.E. 2005. *International Dairy Journal*, 15, 1175.
- Fennema, O. R. 1996. *Química de los alimentos*. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza, España. Pp 38-47, 56-78.
- Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations (CFR), 21 CFR, Parts 131, p. 31–39. GMP Publications, Washington, D.C. Revised as of April 1, 2011.
- Fox, P.F. 1989. En: *The milk protein system. Developments in Dairy Chemistry. Functional Milk Proteins*. Applied Science 4, 1-53.
- Fox, P.; Uniacke- Lowe, P.; McSweeney, P.; O'Mahony, J. 2015.
- García, M; Quintero, R; López, A. 2004. *Biotecnología Alimentaria*. México D.F: Editorial Limusa S.A.
- Gaviria, P.; Restrepo, D.; Suárez. H. 2009. Utilización de hidrocoloides en bebida láctea tipo kumis. *Revista de la facultad de química farmacéutica*. Volumen 17 número 1, pp. 29-36

- Gliksman, M. 1969. Gum technology in the food industry. Editorial Board. 590 p
- Gómez, R. 1992. Actividad de Agua de los alimentos: métodos de determinación. Revista de Tecnología e higiene de los alimentos, ISSN 0300-5755, N° 229, págs. 77-82.
- Guinee, P. T., Mullins, G. C., Reville, J. W. y Cotter, P. M. 1995. Physical properties of stirred – curd unsweetened yogurts stabilized with different dairy ingredients. *Milchwissensch.* 50(4): 196-200.
- Hansen, P. M. T. (1993). Food hydrocolloids in the dairy industry. In: *Food Hydrocolloids: Structures, Properties and Functions*, pp. 211–224. Nishinari, K. and Doi, E., Eds., Plenum Press, New York
- Hardie, J. M. (1986). Genus *Streptococcus*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol 2, Williams & Wilkins, Baltimore, 1043- 070.
- Harper, W. J. y Hall, C. W. 1981. *Dairy technology and Engineering*. 2a. Edición. AVI Publishers. E. U. A. Pp. 89-93.
- Hematyar, N.; Mohagheghi, A.; Hashem; Poorazarang, H and Elhamirad, A. 2012. Effect of Gums on Yogurt Characteristics. *World Applied Sciences Journal* 20 (5): 661-665, 2012
- Hemar, Y., M. Tamehana, P.A. Munro and H. Singh, 2001. Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 15(4-6): 565-574.
- Hoefler, A. C. 2004. *Hydrocolloids*. Eagan Press, St. Paul, pp 7–25.
- Hui, H., Chandan, R., Clak, S. , Cross, N., Dobbs, J. , Hurst, W., Nollet, L., Shimoni, E., Sinha, N., Smith, E., Suripat, S., Tilchenal, A. and Toldra. F. 2007. *Handbook of Food Products Manufacturing*, Vol. 2 . Pp 647–676. New York: Wiley-Interscience Publishers.

IDF. 1991. IDF Recommendations for the Hygienic Manufacture of Spray-Dried Milk Powders, Doc. No. 267, International Dairy Federation, Brussels.

IDF. 1992. Hygienic Management in Dairy Plants, Doc. No. 276, International Dairy Federation, Brussels.

Illescas, C. E. 2001. Curso teórico práctico sobre lactología. Pp 13-17, 67-73.

Imeson A. P. 2000. In: Phillips GO, Williams PA (eds) Handbook of hydrocolloids. CRC Press LLC, Boca Raton, pp 87–102.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 1998. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Ensayo de determinación de la densidad relativa. Método usual. 2ed. NTP 202.008. Lima, Perú. 30 dic.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2012. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Determinación de acidez de la leche. Método volumétrico. NTP 202.116. Lima, Perú. 31 oct.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2013a. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Ensayo de determinación de la densidad relativa. Método usual. NTP 202.008/ENM 1. Lima, Perú. 06 oct.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2013b. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Ensayo de materia grasa. Técnica de Gerber. NTP 202.028. Lima, Perú. 06 oct.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2013c. Leche y Productos Lácteos. Leche. Ensayo de determinación de ceniza total. NTP 202.012. Lima, Perú. 24 nov.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2014a. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Determinación de nitrógeno (total) en leche. Método Kjeldahl. NTP 202.119. Lima, Perú. 16 abr.

- INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2014b. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Determinación de sólidos totales. Método Kjeldahl. NTP 202.118. Lima, Perú. 16 abr.
- INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2015. Leche y Productos Lácteos. Determinación del contenido de lactosa en leche. Método volumétrico. NTP 202.187. Lima, Perú. 26 feb.
- INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2016. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Requisitos. NTP 202.001. 6ta edición. Lima, Perú. 31 dic. 9p.
- Ingenpass, P. (1980). Food, flavouring, packaging and processing. *J. Food Sci.* 16:345–400.
- Iriberry, A. 2014. Los defectos más comunes en los Yogures y sus posibles soluciones (diapositivas). 18 diapositiva, color. (Tecnolácteos, Ch. Hansen LATAM).
- Keogh, M.K. y O’Kennedy, B.T. (1999). Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein, and hydrocolloids. *Journal of Food Science.* 63 (1), 108-112.
- Kilcast, D., Subramaniam, P., 2000. Introduction. In: Kilcast, D., Subramaniam, P. (Eds.), *The Stability and Shelf-life of Food*. Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 1-19.
- Kristo, E., Biliaderis, C. y Tzanetakis, N. (2003). Modelling of the acidification process and rheological properties of milk fermented with a yogurt starter culture using response surface methodology. *Food Chemistry* 83, 437-446.
- Labuza, T. P., McNally, L., Gallagher, D., Hawkes, J. and Hurtado, F. 1972. Stability of intermediate moisture foods. 1. Lipid oxidation. *Journal of Food Science.* 37: 154-159.
- Lee, W.J. and Lucey, J.A. 2004. Rheological properties, whey separation, and microstructure in set-style yogurt: Effects of heating temperature and incubation temperature. *J. Texture Studies* 34, 515–536.
- Leite Peixoto Aline, Pereira da Silva Marco Antônio, Campos de Moura Lígia, Gonçalves Souza Diene, Rocha Plácido Geovana, Caliari Márcio. (2016). Influência do tempo de

estocagem do leite nas características físico-químicas do iogurte natural. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.18, n.4, p.395-403

Lee, W. J. and Lucey, J. A. (2010). Formation and physical properties of yogurt. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 9:1127–1136.

Lentner, C. 1981. In Geigy Scientific Tables, Vol. 1, 8th Edition, Ciba-Geigy, Basel.de
LEON, J.C.M., CASSIS NOSTHAS, M.L. and CORTES PENDO, E. (2000) Dairy Science Abstracts, 62, 854.

Lucey, J. y M. Tamehana. 1998. A comparison of the formation, rheological properties and microstructure of acid skim milk gels made with a bacterial culture or gluconodelta lactone. Food Research international: 31, 147-155

Maha, E. A., Elgasim, A. E., Zaghloul, A. H. and Mahfouz, M. B. (2011). Application of inulin and mucilage as stabilizer in yoghurt. Am. J. Food Technol. 6:31–39

Martinussen, J., Solem, C., Holm, A. K. y Jensen, P. R. (2013). Engineering strategies aimed at control of acidification rate of lactic acid bacteria. Current Opinion in Biotechnology 24, 124-129.

Microempresa. 2005. *Elaboración casera de yogurt*. Lima: Macro EIRL

Neves Casarotti Sabrina. (2009). Efeito de edulcorantes sobre a qualidade de leites fermentados. Universidad estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Área de Microbiologia Industrial, Ambiental e de Alimentos. São José do Rio Preto. Brasil.

O'Brien, B. and Guinee, T.P. 2011. Milk: seasonal effects on processing properties of cows' milk. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H., editors. Encyclopedia of Dairy Sciences, 2nd edition. Academic Press, San Diego, CA.

- Oliveira Marice N. & Damim M. Regina. (2003). Efeito do tenor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. *Ciência e Tecnologia Alimentaria*, Campinas, 23(supl): 172-176, Dezembro
- Olsen, S. 2003. In *Fermented Milk*, Special Issue No. 0301, International Dairy Federation, Brussels, pp. 302-312.
- Ospina, M.; Sepúlveda, J; Restrepo, D; Cabrera, K. y Suárez, H. 2012. Influencia de goma xantana y goma guar sobre las propiedades reológicas de leche saborizada con cocoa. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* Vol 10 No. 1, 51:59
- Ould-Eleya, M.M. and Turgeon, S.L. 2000. The effects of pH on the rheology of fl-lactoglobulin/K-cageenan mixed gels. *Food Hydrocolloids*
- Özgül, E; Chandan, R; Cocolin, L; Drosinos, E; Goddik, L; Rodríguez, A; Toldrá, F. 2012. *Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology*, Second edition. Taylor & Francis Group.
- Öztur, B. A. y Öner, M. D. 1999. Production and evaluation of yogurt with concentrated grape juice. *J. Food Science*. 64:530-532.
- Pannell, L; Schoenfuss, T. C. 2007. Chapter 76: Yogurt. In: *Handbook of Food Products Manufacturing*, Vol. 2, edited by Y. H. Hui (Editor), R. C. Chandan, S. Clak, N. Cross, J. Dobbs, W. J. Hurst, L. M. L. Nollet, E. Shimoni, N. Sinha, E. B. Smith, S. Suripat, A. Tilchenal, and F. Toldra (Associate Editors), pp. 647–676. New York: Wiley-Interscience Publishers.
- Pederson, C. S. 1979. In *Microbiology of Food Fermentation*, 2nd Edition, AVI, Connecticut, pp 1-29.
- Poolman, B.; Royer, T.J., Mainzer, S.E. y Schmidt, B.F. (1989). Lactose transport system of *Streptococcus thermophilus*: a hybrid protein with homology to the melibiose carrier and

enzyme III of phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase systems. *Journal of Bacteriology* 171, 244 - 253.

Phuong T.; Olena, K.; Bhesh, B.; Sangeeta, P. 2017. Effect of different hydrocolloids on texture, rheology, tribology and sensory perception of texture and mouthfeel of low-fat pot-set yogurt. *Food Hydrocolloids* 72: 90-104.

Robinson, R.K; Wilbey, R.A. 1998. In *Cheesemaking Practice* B R. Scott, 3rd Edition, Aspen Publishers Inc., Gaithersburg.

Rodríguez-Bernal, J; Serna-Jiménez, J.; Uribe-Bohórquez, Klotz, M. y Quintanilla-Carvajal, M. 2014. Aplicación de la metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto de la concentración de azúcar y de cultivos iniciadores comerciales sobre la cinética de fermentación del yogurt. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 13, No. 1 (2014) 213-225.

Salji, P. J. e Ismail, A. A. 1983. Effect of initial acidity of plain yogurt on acidity changes during refrigerated storage. *J. Food Science*. 48:258-259.

Sanders, M. E. 2007. Probiotics: Strains matter. *Functional Foods & Nutraceuticals*. June, (pages 34–41). Sagdic, O; Simsek, B; Orhan, H; Dogan, M. 2004. *Milchwissenschaft*, 59, 45.

Scott, W. J. 1957. Water relations of food spoilage microorganisms. *Advances in Food Research*. 7:83 - 127.

Shah, N. P. 2001. Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technol*. 55:46–53.

Singh, R.P., Anderson, B.A., 2004. The major types of food spoilage: an overview. In: Steele, R. (Ed.), *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food*. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.

Stanley, D., Goff, H., Davidson, V y Maguer, L. 1992. Hydrocolloid /milk gel formation and properties. J. Food Sc. Vol 57, n°17 p.

Subramanian, P. 2016 The Stability and Shelf Life of Food. Second Edition. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.

Syrbe, A., W.J. Bauer and H. Klostermeyer, 1998. Polymer science concepts in dairy systems an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. International Dairy Journal, 8(3): 179-193.

Tamime, A.Y. y Robinson, R.K. 1991. *Yogurt Ciencia y Tecnología* (1ª ed.), Ed. Acribia, Zaragoza, España.

Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 1999. *Yoghurt: Science and Technology*, 2ª Ed., Woodhead Publishing, England.

Tamime, A; Robinsons, R. 2007. *Tamime and Robinson's Yoghurt Science and Technology*, Third Edition. Taylor & Francis.

Tailliez, P. 2001. Lait, 81, 1.

Thomas, T.D. y Crow, V.L. (1983). Lactose and sucrose utilization by *Streptococcus thermophilus*. FEMS Microbiology Letters 17, 13 - 17.

Trckova, J., Stetina, J. and Kansky, J. (2004). Influence of protein concentration on rheological properties of carrageenan gels in milk. Int. Dairy J. 14:337–343.

U.S. Probiotics.org. 2010. Available at: <http://www.usprobiotics.org/basics.asp> (accessed on August 27, 2017).

- Van Der Have, A.J., Deen, J.R. and Mulder, H. 1979. Composition of cow's milk. 4. The calculation of the titratable acidity studied with separate milkings of individual cows. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 33: 164 – 171.
- Verbeke, D., Bael, K., Thas, O. and Dewettinck, K. (2006). Interactions between k-carrageenan, milk proteins and modified starch in sterilized dairy desserts. *Int. Dairy J.* 16:482–488.
- Walstra, P. and Jenness, R. 1984. *Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley & Sons, Inc., New York, NY.
- Yanniotis, S; Taoukis, P; Stoforos, N; Karathanos, V. 2013. *Advances in Food Process Engineering Research and Applications*. Springer Science+Business Media New York.
- Yaseen, E.I; Herald, T.J; Aramouni, F.M; Alavi, S. 2005. *Food Research International*, 38, 111.
- Zare, F., Champagne, C. P., Simpson, B. K., Orsat, V. y Boye, J. I. (2012). Effect of the addition of pulse ingredients to milk on acid production by probiotic and yoghurt starter cultures. *LWT - Food Science and Technology* 45, 155 - 160.
- Zourari, A., Accolas, J.P. y Desmazeaud, M. J. (1992). Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. *Lait* 72, 1 - 34.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Equipo determinador de la capacidad de retención de agua.



ANEXO 2: Envasado y embalaje de muestras para determinación de actividad de agua.



ANEXO 3: Módulo didáctico productivo de lácteos – área de laboratorio



ANEXO 4: Planta de lácteos UCSM – área de producción de yogurt, sección tratamiento previo de la leche



**ANEXO 5: Planta de lácteos UCSM – área de producción de yogurt,
sección fermentación y envasado**

