

Importancia terapéutica y estabilizantes-edulcorantes en la tecnología del yogur

Importancia terapéutica y estabilizantes-edulcorantes en la tecnología del yogur

RICARDO ADOLFO PARRA HUERTAS



Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia
Tunja
2012

Importancia terapéutica y estabilizantes-edulcorantes en la tecnología de yogur / Ricardo Adolfo Parra Huertas. – Tunja: Editorial Uptc, 2012.
114 p.—(Colección investigación Uptc; no.51)
ISBN 978-958-660-195-5
1. Yogur. —I. Parra Huertas, Ricardo Adolfo. — II. Tit. — III. Ser.
CDD 637.1476 /P258

Primera edición, 2012
300 ejemplares

Importancia terapéutica y estabilizantes-edulcorantes en la tecnología del yogur

ISBN 978-958-660-195-5

Colección investigación Uptc; No. 51

© Ricardo Adolfo Parra Huertas
© Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia

Resultado de los proyectos de investigación: Evaluación de bebidas lácteas fermentadas a partir de tubérculos autóctonos del departamento de Boyacá, SGI 682 y Efecto del medio de suplementación en la producción de exopolisacáridos durante el proceso elaboración y almacenamiento del yogur de uchuva, SGI 435, del Grupo de Investigación de Química y Tecnología de los Alimentos de la Uptc.

Gustavo Orlando Álvarez Álvarez, Rector

Comité Editorial

Orlando Vergel Portillo, MSc.
Nelson Vera Villamizar, PhD.
Liliana Fernández Samacá, PhD.
Luz Eliana Márquez, MSc.
Hugo Alfonso Rojas Sarmiento, PhD.
Fanor Casierra Posada, PhD.
Rigaud Sanabria Marín, PhD.

Coordinadora editorial: Yolanda Romero A.
Corrección de estilo: Enrique Clavijo Morales

Libro financiado por la Dirección de Investigaciones de la Uptc.

Se permite la reproducción parcial o total, con la autorización expresa de los titulares del derecho de autor.

Este libro es registrado en Depósito Legal, según lo establecido en la Ley 44 de 1993, el Decreto 460 del 16 de marzo de 1995, el Decreto 2150 de 1995 y el Decreto 358 de 2000.

Impresión:
Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia
Grupo Imprenta y Publicaciones
Avenida Central del Norte
Tels.: (0*8) 740 5626 - Exts. 2366 - 2367 - Fax 2408
imprenta.publicaciones@uptc.edu.co
Tunja - Boyacá - Colombia

Editorial Uptc
Edificio Administrativo – Piso 4
Avenida Central del Norte
Tunja - Boyacá - Colombia
comite.editorial@uptc.edu.co
www.uptc.edu.co
(+57) 8 7425268

Agradecimientos

A la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (Uptc) y Dirección de Investigaciones (DIN) de la Uptc, entidades que brindaron el apoyo económico y logístico para la publicación de este libro. Igualmente al señor rector Gustavo Orlando Álvarez Álvarez, rector Uptc; grupo de trabajo de la DIN, especialmente Nelson Vera Villamizar, director de la Dirección de Investigaciones, Uptc; Luis Enrique Clavijo, corrección de estilo; Yolanda Romero, Coordinadora editorial; grupo Imprenta y Publicaciones Uptc; Oscar Julio Medina Vargas, director Grupo de Investigación en Química y Tecnología de los Alimentos y auxiliares de laboratorio de la Escuela de Ciencias Químicas del programa de Química de alimentos.

Contenido

INTRODUCCIÓN	9
1. EL YOGUR	11
1.1 CLASIFICACIÓN	12
1.2 VALOR NUTRITIVO	12
Vitaminas	13
Minerales	13
1.3 PROCESAMIENTO Y ELABORACIÓN DE YOGUR	14
Homogeneización	15
Tratamiento térmico	15
Inoculación e incubación	16
Enfriamiento	17
Ingredientes añadidos al yogur	17
2. BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS	18
2.1 CLASIFICACIÓN	19
Homofermentativas	19
Heterofermentativas	21
Misófilas	23
Termófilas	23
3. PROPIEDADES TERAPÉUTICAS Y PROFILÁCTICAS DEL YOGUR	24
Microflora intestinal	24
Colesterol	25
Cáncer	26
Diarrea	26
<i>Helicobacter pylori</i>	27
Alergias	28
4. ESTABILIZANTES	29
4.1 GOMAS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS	29
4.2 PECTINAS	37
4.3 ALMIDÓN DE SAGÚ	38
4.4 EXOPOLISACÁRIDOS	38

5.	EDULCORANTES	42
5.1	AZÚCARES NATURALES O EDULCORANTES NUTRITIVOS	42
5.2	PODER EDULCORANTE	43
5.3	STEVIA	43
5.4	FRUCTOSA	44
5.5	SACAROSA	45
5.6	LACTOSA	45
6.	EXPERIMENTOS	46
6.1	EXOPOLISACÁRIDOS	46
6.1.1	Optimización de un medio de cultivo para la producción de exopolisacáridos durante el almacenamiento de yogur de uchuva	46
6.1.2	Efecto del medio de cultivo basado en leche para la producción de exopolisacáridos durante la elaboración y almacenamiento de yogur	52
6.2	ESTABILIZANTES	54
6.2.1	Propiedades físicas y químicas del yogur: efecto de la adición de goma xantana y goma guar durante el periodo de incubación	54
6.2.2	Evaluación de goma xantana, celulosa, pectina y gelatina en las propiedades fisicoquímicas durante el tiempo de incubación en la elaboración de yogur	61
6.2.3	Efecto de la carbometilcelulosa en algunas propiedades fisicoquímicas del yogur durante el periodo de incubación	68
6.2.4	Evaluación fisicoquímica, microbiológica y sensorial de un yogur a partir de gulupa (<i>passifloraedulis</i>) y almidón de sagú (<i>cannaedulis</i>) durante el almacenamiento	72
6.3	EDULCORANTES	81
6.3.1	Evaluación del comportamiento fisicoquímico de stevia y fructosa con diferentes concentraciones durante el periodo de incubación del yogur	81
6.3.2	Comportamiento de la sinéresis durante el almacenamiento en la elaboración de yogur con stevia, fructosa y sacarosa	91
6.3.3	Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de yogur tipo entero utilizando diferentes edulcorantes durante el almacenamiento	95
6.3.4	Evaluación física, química y sensorial de stevia, fructosa, dextrosa y lactosa con diferentes concentraciones durante el tiempo de fermentación en la elaboración de yogur entero	97
	BIBLIOGRAFÍA	107

Introducción

El yogur ha sido definido como una leche coagulada resultante de la fermentación ácido-láctica de leche entera o descremada; tiene apariencia viscosa, textura suave y un sabor ligeramente ácido. Este producto, aparte de tener características sensoriales favorables, tiene efectos terapéuticos en la salud humana, tales como: disminución del colesterol, propiedades anticarcinogénicas, tratamiento y prevención de la diarrea, e inhibición de crecimiento de *Helicobacter pylori*, entre otros.

El fundamento del método de elaboración del yogur ha cambiado poco a lo largo de los años, y los pasos de su proceso de producción continúan siendo los mismos, aunque han sido objeto de algunas mejoras; sin embargo, existen problemas tecnológicos inherentes o propios del yogur que pueden ser solucionados a través de la utilización de estabilizantes, dentro de estos problemas se encuentran parámetros físicos o químicos que afectan la percepción sensorial, como sinéresis, separación de fases e inestabilidad del producto. Un aspecto por tener en cuenta, desde el punto de vista sensorial, en la elaboración de yogur es el relacionado con la percepción del sabor; para que esta sea agradable se utilizan edulcorantes, que además de mejorar sensorialmente el producto pueden ser fuente de energía para las bacterias ácido-lácticas durante el periodo de fermentación y de almacenamiento del yogur.

Actualmente, la utilización de edulcorantes y estabilizantes es una alternativa en la elaboración del yogur para mejorar la calidad del producto final, innovar en el mercado y ofrecer al consumidor una mayor variedad de productos. Por eso, tales alternativas deben estudiarse desde el punto de vista tecnológico y, al mismo tiempo, valorar su impacto sobre las características propias del yogur durante la incubación y el almacenamiento.

Teniendo en cuenta lo anterior, este libro estudia diversos aspectos relacionados con el yogur, describe las etapas tecnológicas para

su elaboración, la importancia de las bacterias ácido-lácticas y los efectos positivos en la salud humana del consumo de estas bacterias a través del yogur. Además, analiza algunos estabilizantes y edulcorantes propios en la elaboración de yogur, tales como goma xantana, goma guar, celulosa, pectina, gelatina (en diferentes concentraciones), almidón de sagú, exopolisacáridos, stevia, fructosa, sucralosa, dextrosa, lactosa y sacarosa.

1. El yogur

No existen registros históricos confiables disponibles sobre el origen del yogur (Shah, 2003; Hussain *et al.*, 2009), pero se cree que la fermentación fue la primera técnica empleada por los humanos para preservar alimentos (Shah, 2003). Los primeros registros ubican el origen del yogur en el Cercano Oriente, en zonas de Bulgaria habitadas por los tracios, y en Turquía. Diversas referencias históricas y literarias sobre el yogur consideran que su origen remite a la costumbre de los pastores de llevar la leche, durante sus largas jornadas de trabajo, en odres hechos con piel de animales; dentro de ellos, por la acción de ciertos fermentos y del calor, la leche sufría transformaciones que la convertían naturalmente en yogur.

Fueron los turcos los primeros en producir yogur, y gracias a ellos fue difundido, tanto en el Oriente como en el Occidente. El término *yogur* se deriva de la palabra turca «Jugurt» (Shah, 2003; Hussain *et al.*, 2009). A comienzos del siglo xx, el científico ruso premio Nobel, Elie Metchnikoff, realizó estudios sobre esta bebida y sus efectos en la salud, que le permitieron establecer una relación directa entre salud, longevidad y la ingestión de bacterias presentes en alimentos fermentados como el yogur; esta observación proporcionó un importante impulso a la elaboración y consumo de yogur y de otros productos lácteos fermentados (Shah, 2003). El Dr. Stamen Grigoroff, búlgaro, presentó en 1903 ante el Instituto Luis Pasteur sus investigaciones sobre la composición y beneficios de este tipo de alimentos, que confirmaban las conclusiones de Metchnikoff y las enriquecían con nuevos aportes que estimularon la fabricación y consumo de estos productos.

El yogur es una leche fermentada de alto consumo en todo el mundo, y uno de los más populares y distribuidos productos lácteos (Hussain *et al.*, 2009; Fadela *et al.*, 2009; Saint-Eve *et al.*, 2008; Sodini *et al.*, 2005). El *Codex Alimentarius* lo define como leche coagulada que resulta de la fermentación ácido láctica de leche entera o descremada (Blanco *et al.*, 2006; Adolfsson *et al.*, 2004); además de ser un producto fermentado semisólido (Hussain *et al.*, 2009; Hui, 1993; Elli *et al.*, 2006; Noni *et al.*, 2004; Mahmood *et al.*, 2008) de apariencia viscosa, textura suave y un sabor placentero suavemente ácido (Hussain *et al.*, 2009; Kumar y Mishra, 2004; Ruiz y Ramírez, 2009; Salvatierra *et al.*, 2004) viene mezclado con una combinación simbiótica de *Streptococcus thermophilus* (ST) y *Lactobacillus delbruekii* sub. *bulgaricus* (LB) (Hussain *et al.*, 2009; Hui, 1993; Elli *et al.*, 2006; Noni *et al.*, 2004; Mahmood *et al.*, 2008; Campo *et al.*, 2005) o suplementado con bacterias opcionales no patógenas (Hui, 1993).

1.1 Clasificación

Los yogures pueden variar de acuerdo con su composición química, el método de producción, el sabor utilizado y la naturaleza del proceso de posincubación (Shah, 2003; Ramasubramanian *et al.*, 2008). Existen diferentes clasificaciones del yogur; por ejemplo, Shah (2003) menciona una basada en el contenido de grasa, que lo clasifica en yogur entero, yogur con reducción de grasa y yogur bajo en grasa. Comercialmente los yogures son clasificados bajo la denominación de firme o batido, de acuerdo con el método de producción utilizado y la estructura física del coágulo; el yogur batido es elaborado mediante la fermentación de la leche y la agitación; en el yogur firme no se rompe la estructura rígida del gel (Ramasubramanian *et al.*, 2008).

Se encuentra otra clasificación, que parte del sabor y del olor del producto; así, se llama yogur natural el producto tradicional, que tiene una acidez típica, al que no le han sido adicionados otros componentes; en cambio, el yogur de frutas es elaborado con la adición de estas, usualmente bajo la forma de frutas conservadas en puré o mermelada; los yogures saborizados son preparados a partir de yogur natural, al cual se le agregan azúcar y otros agentes endulzantes, saborizantes y colorantes (Shah, 2003).

1.2 Valor nutritivo

El yogur contiene mayor biodisponibilidad de nutrientes que la leche (Hui, 1993); es importante destacar el incremento de la digestibilidad de la proteína y de la grasa, debido a ciertas reacciones de predigestión durante la fermentación (Kumar y Mishra, 2004). Comparado con la leche, es más nutritivo en términos de contenido de vitaminas, digestibilidad y como fuente de calcio y fósforo (Zahoor *et al.*, 2003); su composición depende del tipo de leche de la cual proviene y de una gama de factores estacionales, como: leche entera o leche descremada, estación del año, periodo de lactación y modo de alimentación del bovino (Hussain *et al.*, 2009; Adolfsson *et al.*, 2004).

La composición nutricional de la leche se ve afectada por varios factores genéticos, como diferencias individuales de los mamíferos, alimentación, estado de lactación, edad (Adolfsson *et al.*, 2004), presencia de otros ingredientes como leche en polvo o leche condensada (Hussain *et al.*, 2009); también inciden en la composición nutricional las características del procesamiento de la leche y los elementos usados para realizarlo, algunos de los cuales influyen en la temperatura, duración de exposición térmica, exposición a la luz y condiciones de almacenamiento. Además, los cambios en los constituyentes de la leche que ocurren durante la fermentación ácido-láctica influyen en el valor físico y nutricional del yogur. La composición del yogur también se ve afectada por las especies de bacterias utilizadas en la fermentación, la fuente y tipo de sólidos lácteos que pueden ser añadidos antes de la fermentación y la temperatura y duración de los procesos fermentativos (Adolfsson *et al.*, 2004).

Vitaminas

Las bacterias ácido-lácticas afectan, durante y después de la fermentación, un grupo de vitaminas del yogur. Los parámetros de procesamiento y subsecuentes condiciones de almacenamiento inciden en el contenido de vitamina y en el tiempo recomendado para el consumo de los productos. Temperatura y tiempo de incubación ejercen un significativo balance entre síntesis de vitaminas y utilización por el cultivo. En general, existe un descenso de vitamina B-12, biotina, ácido pantoténico y un incremento de ácido fólico durante la producción de yogur; aun así, el yogur es una excelente fuente de vitaminas inherentes a la leche (Hui, 1993).

Vitamina B. Generalmente, los derivados lácteos han sido considerados excelentes fuentes de alta calidad proteica, calcio, potasio, fósforo, magnesio, zinc y vitaminas B-2 o riboflavina, B-3 o niacina, vitamina B-6 o piridoxina y vitamina B-12 o cianocobalamina. Una gran pérdida de vitaminas, más que de minerales, puede ocurrir durante el procesamiento de yogur, debido a que las vitaminas son más sensibles a cambios en presencia de ciertos factores ambientales. Algunos de los factores que son importantes durante el procesamiento de leche y que han tenido efectos adversos sobre el contenido de vitamina de productos lácteos, son: el tratamiento térmico, ultrafiltración, agitación, condiciones oxidativas y bacterias utilizadas en los procesos fermentativos (Hui, 1993).

Algunas especies de bacterias ácido-lácticas (BAL) requieren vitaminas del grupo B para su crecimiento, pero varios cultivos son capaces de sintetizarlas. El folato es el mejor ejemplo de vitamina B que algunas especies de BAL sintetizan; según las cepas bacterianas utilizadas, el contenido de folato en el yogur puede variar ampliamente entre 4 y 19 µg/100 g. En recientes estudios, aislados bacterianos de varias especies utilizadas para la producción de leches fermentadas y de yogur fueron examinados por su habilidad para sintetizar o utilizar folato (Adolfsson *et al.*, 2004).

En muchos países las leches y fórmulas infantiles son fortificadas con vitamina D, y de este modo sirven como buenas fuentes dietarias, y además desempeñan el principal papel regulador en la absorción de calcio; sin embargo, otros productos lácteos como el yogur no vienen fortificados con vitamina D (Hui, 1993).

Minerales

El yogur es una fuente excelente de minerales en la dieta; aporta calcio, fósforo, magnesio y zinc para la nutrición humana; sin embargo, algunas investigaciones han mostrado que la biodisponibilidad de minerales a partir del yogur es esencialmente igual a la que aporta la leche (Hui, 1993).

Debido al bajo pH de las leches fermentadas, algunos minerales son más solubles que en la leche normal, y por ello muchas veces se asume que los minerales se absorben mejor; no obstante, la absorción de algunos elementos, especialmente del

magnesio y del zinc, está favorecida por la presencia de lactosa, y como el contenido de lactosa disminuye durante la fermentación, la absorción neta a partir de la leche acidificada es menor; estos efectos se han comprobado en ensayos realizados con animales alimentados con yogur (Walstra *et al.*, 2001). El pH ácido del yogur ioniza calcio y facilita así la respuesta intestinal de este mineral; por esto también puede reducir el efecto inhibitor de ácido fólico dietario sobre la biodisponibilidad del calcio.

1.3 Procesamiento y elaboración de yogur

La tecnología de la elaboración de yogur es estándar e incluye las siguientes etapas de procesamiento: estandarización del contenido graso y fortificación del nivel de sólidos no grasos, homogeneización seguido por tratamiento térmico, enfriamiento parcial, inoculación de la leche por un cultivo iniciador termofílico, enfriado y, finalmente, almacenamiento a 5°C (Mahmood *et al.*, 2008; Olson y Aryana, 2008).

Es importante fortificar la leche, utilizando, por ejemplo, materiales como leche en polvo, caseinatos y concentrados de lactosuero, entre otros (Soukoulis *et al.*, 2007); estos últimos pueden mejorar alternativas costo-efectivo de la leche en polvo, y además de ofrecer propiedades funcionales diferentes a las proteínas de la leche en polvo, se pueden obtener por ultrafiltración del lactosuero al enriquecer la fracción proteica por eliminación de lactosa, minerales y otros componentes de peso molecular bajo (Sodini *et al.*, 2005). Otra manera para fortificar la leche puede ser a través de ósmosis reversa y ultrafiltración, que producen un contenido más alto de sólidos, además de mejorar la viscosidad del producto. Con esta técnica de ultrafiltración la leche contendrá un 18 o 20% de sólidos totales, logrando un yogur de buena calidad (Shah, 2003).

Una vez la leche fortificada es homogeneizada y calentada, se enfría hasta temperatura de fermentación (42°C); posteriormente se incuba con cultivos iniciadores, a pH deseado (4,5), y luego se enfría a 4°C , para detener la fermentación. En el caso de yogur batido, la leche inoculada es vertida dentro de un tanque donde ocurre la fermentación, previamente establecida la opción de que el gel del yogur se pueda romper. Después de la fermentación se rompe el gel; así el yogur es bombeado a través de una fina malla, enfriado y finalmente empacado en envases (Sodini *et al.*, 2005).

La sacarosa puede ser añadida en forma de polvo, granulada, cristalina o líquida. Actualmente, la sacarosa, en una proporción de un 6 o 7% (Hui, 1993), es el principal endulzante utilizado en la producción de yogur; no obstante, el nivel de sacarosa en la mezcla de yogur parece afectar la producción de ácido láctico y el sabor del yogur, por su influencia en el cultivo de este. Una disminución en las características de producción de componentes de sabor (acetaldehído) ha sido reportada en presencia de concentraciones de 8% o 10%, siendo esta última la más utilizada. De acuerdo con varias investigaciones, una mezcla con un 4% o más de sacarosa podría reducir la producción de ácido láctico y disminuir el conteo de células de especies microbianas, cuando se incorporan en la mezcla previa a la fermentación (Shah, 2003).

Homogeneización

Es un proceso industrial utilizado en la estabilización de la fase lipídica contra la separación por gravedad; al respecto, la gravedad específica de la grasa láctea es 0,9 g/ml, mientras que la de la leche descremada es 1,036 g/ml; por lo anterior, la grasa, por ser más ligera, tiende a separarse del suero de la leche descremada si se deja reposar (Shah, 2003). Esta fase lipídica está formada por una membrana del glóbulo graso que lo protege de la lipasa; sin embargo, durante la homogeneización esta membrana es destruida, y el glóbulo graso es vulnerable al ataque por la lipasa, que está naturalmente presente en la leche; por lo anterior, la leche es pasteurizada para inactivar la lipasa antes de la homogeneización (Shah, 2003). La homogeneización reduce el promedio de diámetro de los glóbulos grasos a 1 o 2 μm , teniendo en cuenta que el rango del promedio normal en la leche va de 1 a 15 μm ; como resultado, el glóbulo graso no forma crema durante la incubación de yogur (Shah, 2003; Hui, 1993).

Tratamiento térmico

El tratamiento térmico de la leche es considerado un factor crítico para la formación de textura y la aceleración de agregación de la proteína (Laurent y Boulenguer, 2003); tiene varios objetivos: destruir bacterias patogénicas; inactivar las enzimas que pueden estar presentes en la leche, como la lipasa; destruir la mayoría de las bacterias productoras de esporas, y desnaturalizar proteínas de lactosuero β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina (Hui, 1993; Tamine, 2003). Las relaciones tiempo-temperatura que son utilizadas para lograr este objetivo son dependientes del nivel de acidez, del método de calentamiento, del embalaje y de las condiciones de almacenamiento. La aplicación de un tiempo-temperatura de 80 a 85° C por 30 minutos o de 90 a 95° C por 5 minutos es considerada adecuada para la producción de yogur de alta calidad; sin embargo, si se incrementa la intensidad del tratamiento térmico se induce una desnaturalización excesiva de proteínas del lactosuero (Soukoulis *et al.*, 2007).

El tratamiento térmico desnaturaliza más del 90% de la β -lactoglobulina, comparada con 60% de la α -lactoalbúmina. Un complejo es formado entre κ -caseína y β -lactoglobulina desnaturalizada, el cual incrementa las propiedades hidrofílicas de la caseína y reduce la tendencia del gel a la sinéresis, facilitando la formación de un coágulo estable y suave cuando el pH disminuye durante la fermentación a 4,6 (Shah, 2003). Otro efecto del calor está relacionado con la hidratación de la proteína, que es máxima cuando la leche es calentada a 85° C, pero disminuye cuando la temperatura es incrementada arriba de 85° C. Un alto tratamiento térmico disminuye las propiedades hidrofílicas del complejo β -lactoglobulina- κ -caseína; como resultado, la sinéresis ocurre y la estructura del gel yogur se convierte en débil y frágil (Shah, 2003).

El calentamiento posfermentación del yogur causa la separación de la fase acuosa de las partículas de caseína suspendidas; esto se debe, principalmente, al fenómeno de agregación/deshidratación de las caseínas causadas al calentar cerca del punto isoelectrico (pH 4,6). Ciertamente, los hidrocoloides (por ejemplo, pectinas, alginato,

o carbometilcelulosa) son cargados negativamente, y cuando se añaden al yogur, antes de la etapa del tratamiento térmico, interactúan con las cargas positivas de la caseína por debajo de este punto isoeléctrico, y se evita la separación de las dos fases en el producto (Tamime, 2003).

Inoculación e incubación

Después del tratamiento térmico, la mezcla es enfriada a 45 °C e inoculada con un cultivo iniciador a un nivel que varía desde 0,5 a 5%; sin embargo, la máxima cantidad recomendada es 5%. El nivel óptimo de inoculación con cultivo iniciador es de 2% y 1% de *Lactobacillus delbrueckii* y *Streptococcus thermophilus*, respectivamente; una vez añadido el cultivo, estas células son distribuidas en la mezcla inoculada al agitarse por 10-15 minutos después de la adición del cultivo iniciador. Luego, se procede a la dispersión de la mezcla dentro de los contenedores y se incuba a 42 °C durante cerca de 4 horas, hasta que el pH disminuya a 4,5 (Shah, 2003); debido a lo anterior la leche coagula, y un gel firme se forma en 3,5-4 horas, y disminuye a 4,4-4,5 horas.

La determinación del tiempo de incubación es un parámetro técnico esencial en la producción industrial de yogur. Debido a la complejidad de los procesos de fermentación y al gran número de factores involucrados en la coagulación de yogur, la predicción del paso de incubación es difícil, al igual que la adopción de una práctica común para controlar esto empíricamente. Además, la definición del tiempo óptimo de incubación es importante no solamente para reducir los costos de elaboración, sino también para evitar el deterioro de las características de calidad del producto final. La temperatura de incubación de 42° C es óptima para el crecimiento de BAL en términos generales; para ST la temperatura ideal es de 37 °C, y para LB es de 45 °C. La temperatura de incubación por encima de 42 °C promueve el crecimiento de *lactobacillus*, mientras que una temperatura de incubación menor de 42 °C favorecería el crecimiento de *Streptococcus thermophilus* (Shah, 2003).

Una desviación en cualquiera de las dos direcciones provocaría disturbios en la proporción de *Lactobacillus* a *Streptococcus*, por eso la proporción de *Lactobacillus* y *Streptococcus* en yogur natural para el sabor óptimo podría ser 1:1 (Shane *et al.*, 2006); sin embargo, otros parámetros que afectan el olor y el sabor son: cultivo iniciador, incubación, temperatura, condiciones de procesamiento (por ejemplo, tratamiento térmico, homogeneización) y propiedades composicionales de la leche (Soukoulis *et al.*, 2007).

Cuando se utilizan cultivos concentrados congelados, son requeridos para el desarrollo de la acidez periodos de incubación de 5 horas a 45 °C, 11 horas a 32 °C, o 14 a 16 horas a 29 o 30 °C. Utilizando iniciadores a 4% de nivel de inóculo, el periodo de incubación es de 2,5 a 3 h a 45 °C, 8 a 10 h a 32 °C, o 14 a 16 h a 20 o 30 °C (Hui, 1993). Una vez ocurre el periodo de incubación, el punto final de este proceso es definido por el valor del pH y por una acidez final, que puede variar entre 0,8-0,9% de ácido láctico.

Enfriamiento

Una vez se ha alcanzado la acidez deseable, el producto es enfriado a $<10\text{ }^{\circ}\text{C}$ lo más rápidamente posible, esto permite un almacenamiento en frío (Hui, 1993). El conocimiento del comportamiento del yogur a lo largo del almacenamiento es importante, porque su vida útil se puede ver afectada por cualquier cambio en las características sensoriales, químicas o físicas, que son inaceptables para el consumidor. Estudios de cambios en estas características de calidad durante el almacenamiento podrían permitir calcular con mayor precisión la vida útil del producto (Salvador y Fiszman, 2004).

Ingredientes añadidos al yogur

Leche descremada, leche en polvo sin grasa, mantequilla, lactosuero, lactosa, lactoalbúmina, lactoglobulina, lactosuero modificado por eliminación completa o parcial de lactosa o minerales, endulzantes (sacarosa, azúcar invertido, jarabe refinado, melaza, fructosa, maltosa, jarabe de malta, miel, azúcar de maple...), saborizantes, aditivos y estabilizantes (Hui, 1993).

2. Bacterias ácido-lácticas

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) se encuentran ampliamente distribuidas en diferentes ecosistemas; además, se desarrollan a gran escala en los procesos para la producción comercial de alimentos fermentados, bebidas alcohólicas, levaduras para la cerveza y vinos; y son utilizadas en fermentaciones cárnicas (Almanza y Barrera, 1991), en la producción de queso, mantequilla, yogur, salchichas, olivos, uvas y cereales, como pan, preservando y proporcionando propiedades sensoriales y nutricionales a los productos alimenticios (Arribas y Polo, 2008; Hugenholtz, 2008; Savadogo *et al.*, 2006).

Las BAL desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; son muy utilizadas en la industria alimentaria, no solamente por su habilidad para acidificar y, por lo tanto, preservar alimentos de las esporas, sino también por su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados (Axelsson, 1993). El conocimiento de cultivos lácticos se originó en el siglo XVIII, cuando agricultores de África, Asia y Europa observaron el comportamiento de la leche cruda en los meses cálidos; la leche coagulaba, y bajo esta condición presentaba un sabor diferente, en ocasiones agradable; entonces los campesinos fueron seleccionando las de mejor sabor para inocular la leche al día siguiente (Bedolla *et al.*, 2004). Las BAL vivas pueden estar contenidas en un grupo de microorganismos llamados cultivos lácticos o iniciadores (Bertrand *et al.*, 2003; Bouzar *et al.*, 1997), se emplean en la industria láctea para la elaboración de leches fermentadas, quesos, mantequilla (Blanco *et al.*, 2006) y otros productos que para su obtención requieren ser fermentados (Bertrand *et al.*, 2003). Se distinguen tres clases de cultivos: el cultivo inicial, el cultivo madre y el cultivo usual. Los cultivos *estarter* son puros; a partir de estos se prepara el cultivo madre, y luego del cultivo madre se desarrolla el cultivo usual para ser empleado directamente en procesos fermentativos (Castro y Rovetto, 2006).

Las BAL son un grupo de bacterias relacionadas que producen ácido láctico como el principal metabolito (Devlieghere *et al.*, 2004) o único producto de fermentación (Duboc y Mollet, 2001); son microorganismos nutricionalmente exigentes, capaces de hidrolizar péptidos de la leche (Early, 2000; Pescuma *et al.*, 2008). La concentración de aminoácidos libres en la leche es muy limitada, así el crecimiento sostenido de BAL depende de la producción de proteinasas peptidasas y sistema de transporte de aminoácidos y péptidos específicos (Pescuma *et al.*, 2008).

Además de producir el ácido láctico, las bacterias acidificantes, llamadas también bacterias iniciadoras, contribuyen al sabor, aroma, textura y al valor nutricional de alimentos fermentados a través de la producción de exopolisacáridos (EPS) (Arribas y Polo, 2008), lo anterior debido a su actividad metabólica sobre proteínas, azúcares y lípidos, lo que contribuye a la digestibilidad de los alimentos y a la preservación del producto final (Pescuma *et al.*, 2008).

2.1 Clasificación

Las BAL pertenecen al *phylum Firmicutes*, que comprende alrededor de 20 géneros; *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weisella* son los principales miembros de las BAL; el *Lactobacillus* es el más grande de estos géneros (Bouzar *et al.*, 1997; Devlieghere *et al.*, 2004, Gálvez *et al.*, 2007; Jagnow y Wolfgang, 1991).

El tipo y la característica de los organismos iniciadores que son utilizados en la producción de leches fermentadas son los dos más importantes factores que determinan la calidad del producto final. El criterio esencial para la selección de iniciadores incluye acidificación, aroma, sabor, estabilidad y textura (Laws *et al.*, 2001); estos se pueden clasificar de varias maneras, según su forma, temperatura de crecimiento, funciones, fermentación de la lactosa y otros (Neira y López, 2001).

Según la fermentación de la lactosa, las BAL se clasifican en homofermentativas (producen solo ácido láctico) y heterofermentativas (producen ácido láctico y otras sustancias), y según la temperatura de crecimiento, en mesófilas y termófilas (Bertrand *et al.*, 2003).

Homofermentativas

El grupo homofermentativo, compuesto por *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, utiliza la ruta Embden-Meyerhoff-Parnas al convertir 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico (Almanza y Barrera, 1991), además de que produce más del 85% de ácido láctico a partir de glucosa. En contraste, las bacterias heterofermentativas producen cantidades equimolares de lactato, CO₂ y etanol a partir de glucosa usando la hexosa monofosfato o la vía de las pentosas, y así solamente generan la mitad de la energía del grupo homofermentativo (Almanza y Barrera, 1991).

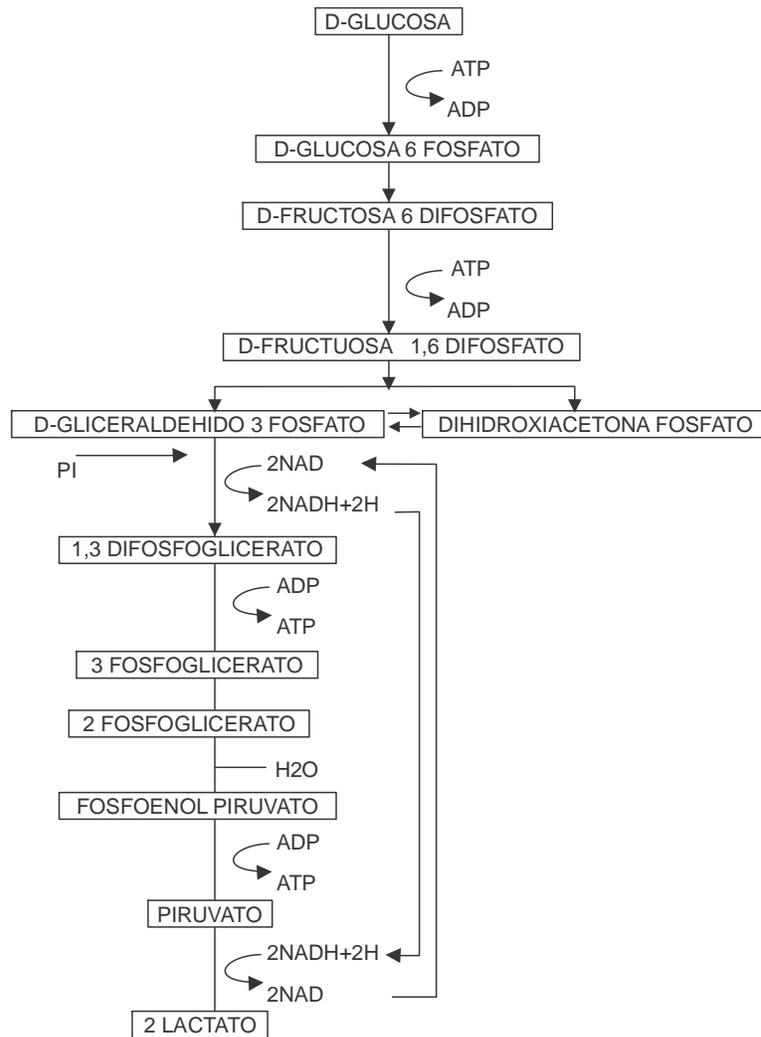


Figura 1. Fermentación homoláctica

En la figura 1 se observa que el ácido láctico es el principal producto de esta fermentación. Las bacterias pertenecientes a este grupo tienen las enzimas aldolasa y hexosa isomerasa, pero carecen de la fosfoetolasa. Dentro de este grupo se encuentran: *Lactobacilos* de bastones largos aislados o en cadenas cortas, termófilos, acidificantes muy energéticos y de actividad caseolítica notable; *Streptococcus* de formas esféricas en cadenas, con acidificación rápida y poca actividad caseolítica (Hernández *et al.*, 2007).

Heterofermentativas

Las heterofermentativas producen solamente 50% de ácido láctico; fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO₂. 1 mol de ATP es generado por mol de glucosa (Devlieghere *et al.*, 2004; Ly *et al.*, 2008). Este grupo está compuesto por un número de géneros que incluyen: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*. Este grupo de bacterias contiene la enzima fosfoacetolasa, pero carece de la aldolasa y de la hexosa isomerasa; así, en lugar de seguir la vía (EMP), utiliza las vías de la hexosa monofosfato o la de la pentosa (Almanza y Barrera, 1991).

Las especies heterolácticas obligadas utilizan solamente la ruta dependiente fosfoacetolasa para metabolizar azúcares, y, además de ácido láctico, producen cantidades significantes de ácido acético o etanol, con la generación de dióxido de carbono; la D-galactosa puede ser metabolizada a través de la ruta tagatosa 6-fosfato o ruta Leloir (véase figura 2) (Almanza y Barrera, 1991). Estas especies fermentativas metabolizan hexosas a través de la ruta glicolítica Embden-Meyerhoff, pero las pentosas y algunas otras sustancias son metabolizadas vía fosfoacetolasa para producir ácido láctico y otros productos (típicamente ácido acético y etanol) (véase figura 3). Miembros de las BAL pueden ser subdivididos en dos grupos, basados en su metabolismo de carbohidratos (Almanza y Barrera, 1991).

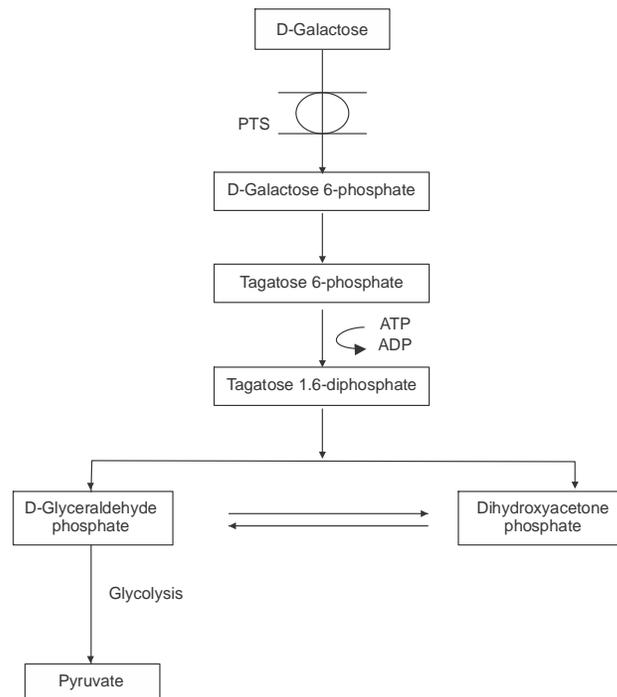


Figura 2. Ruta tagatosa 6-fosfato o ruta Leloir

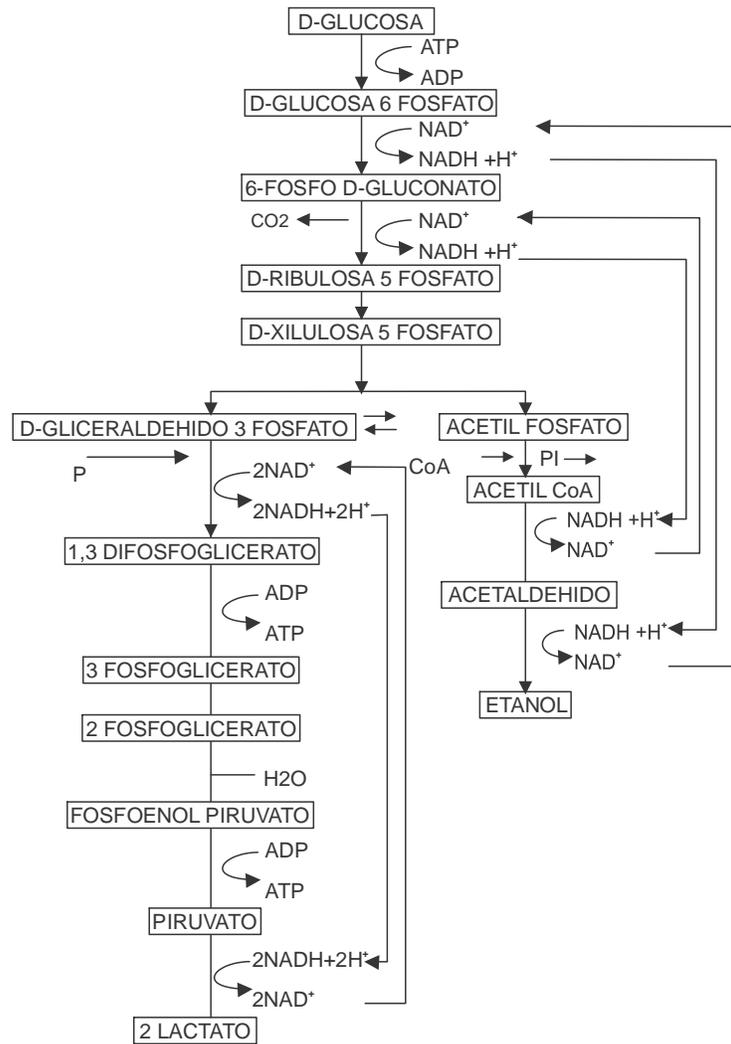


Figura 3. Ruta Embden-Meyerhoff

En la fermentación heteroláctica, los *Lactobacillus* están conformados por: *plantarum*, *ramnosus*, *coryneformis*, *curvatus*, *casei*, *paracasei*, *brevis*, *buchneri*, *fermentun*, *kéfir*, *reuteri*, *leuconostc*; en la fermentación homoláctica, *Lactobacillus acidophilus*, *helveticus*, *delbrueckii subsp delbrueckii*, *debrueckii subsp lactis*, *delbrueckii subsp bulgaricus*, *lactis*, *thermophilus* (Blanco et al., 2006).

Como las bacterias lácticas homofermentativas no tienen piruvato-descarboxilasa, transfieren el hidrógeno formado por acción de la fosfotriosa-*deshidrogenasa* al ácido

pirúvico, con ayuda de la nicotinamida-adenina-dinucleotido (NAD), y lo transforman en ácido láctico. Las especies heterofermentativas metabolizan hexosas a través de la ruta glicolítica de Embden–Meyerhoff. Estas especies usan solamente la fosfoctolasa dependiendo de la vía para el metabolismo del azúcar, y además de ácido láctico, producen cantidades significativas de ácido acético o etanol, con la generación de dióxido de carbono (Gálvez *et al.*, 2007).

Las BAL iniciadoras producen enzimas intracelulares (peptidasas, lipasas y enzimas de catabolismo de aminoácidos), las cuales desempeñan un papel importante en el desarrollo del sabor de los quesos durante la maduración. Después del rompimiento inicial de caseínas por la renina, proteasas endógenas de la leche y proteasas bacteriales de la pared celular, las peptidasas son capaces de degradar los péptidos resultantes en aminoácidos libres. Estos pueden ser subsecuentemente catabolizados en componentes de aroma volátiles por varias rutas enzimáticas. También esterasas y lipasas catalizan hidrólisis de triglicéridos de la grasa de leche en ácidos grasos libres, que son convertidos en componentes aromáticos. Ellas también pueden sintetizar ésteres a partir de alcoholes y glicéridos (Mathur y Singh, 2005).

Las BAL también se clasifican según la temperatura ideal de crecimiento en: mesófilas y termófilas.

Mesófilas

Temperatura óptima de incubación, 20-25 °C; volumen de cultivo líquido, 1-2%; tiempo de incubación, 18-20 horas; acidez final, 0,8% de ácido láctico. Especies: *Lactococcus lactis* subs *lactis*, *Lactococcus lactis* subs *cremoris*, *Lactococcus lactis*, biovariedad *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subs *cremoris*. Utilización: kumis, quesos semimadurados (Blanco *et al.*, 2006).

Termófilas

Temperatura óptima de incubación, 40-45 °C; volumen de cultivo líquido, 2-3%; tiempo de incubación, 2-4 horas; acidez final, 0,9% de ácido láctico. Especies: *Lactobacillus delbruekii* subsp *bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* (Blanco *et al.*, 2006).

3. Propiedades terapéuticas y profilácticas del yogur

Históricamente, y con diversas raíces culturales, se encuentran leyendas, anécdotas y estudios científicos que han caracterizado los atributos saludables de yogur, tales como digestibilidad, uso curativo para diarrea pediátrica, protección y mantenimiento de la ecología saludable del intestino y longevidad (Hui, 1993); también se ha realizado su capacidad para fortalecer el sistema inmune, la reducción de intolerancia a la lactosa, y la disminución de colesterol de LDL (también llamado colesterol malo) (Hussain *et al.*, 2009); su validez para prevenir enfermedades inflamatorias de intestino, síndrome del intestino irritable, colitis, diarrea del viajero (Hoolihan, 2001), y su actividad anticarcinogénica y antimutagenogénica; son estos algunos de los beneficios del consumo de yogur (Bakalinsky *et al.*, 1996).

Microflora intestinal

El tracto intestinal humano es un ecosistema complejo que alberga una comunidad microbiana compuesta principalmente por anaerobias estrictas (García *et al.*, 2008; Calderón *et al.*, 2007; Uyeno *et al.*, 2008; Reiff y Kelly, 2010); contiene más de 400 especies bacterianas; sin embargo, el 99% de la microbiota total contiene solamente de 30 a 40 géneros bacterianos diferentes (Uyeno *et al.*, 2008). La mayoría de especies bacterianas del tracto intestinal adulto incluyen: *Bacteroides*, *Eubacterias*, *Bifidobacterias*, *Enterobacterias*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium* y *Staphylococcus*.

Debido a que algunas de estas bacterias son beneficiosas para la salud, mientras que otras son peligrosas, la colonización microbiana del intestino ha tenido implicaciones importantes en la salud humana, que van desde efectos sobre la susceptibilidad frente a las infecciones, hasta efectos tóxicos y carcinogénicos (Hoolihan, 2001). Algunos factores que modifican esta microbiota intestinal normal en el humano son: cambios de dieta, sexo, edad, requerimientos nutricionales e inmunológicos (García *et al.*, 2008), utilización de antibióticos, estrés, consumo de alcohol, pH, tiempo de tránsito del material del intestino, la cantidad y el tipo de material fermentable (por ejemplo, sustrato de crecimiento) (García *et al.*, 2008).

Una de las causas de disturbios gastrointestinales es la alteración en la microbiota intestinal, seguida por invasión o infección por patógenos transmitidos por los alimentos.

Las BAL pueden obstaculizar la colonización y, subsecuentemente, la proliferación de los patógenos, previniendo los síntomas de la enfermedad; lo anterior se debe a que las BAL tienen un determinado potencial para producir toxinas en sistemas alimenticios y en el tracto gastrointestinal, por la producción de sustancias antimicrobianas (Walstra *et al.*, 2001; Calderón *et al.*, 2007).

Cuando se consumen leches fermentadas se ingieren BAL vivas y se produce la implantación de estas bacterias en el intestino grueso, lo que ayuda a reducir el desarrollo de patógenos. Es probable que esto ocurra en el caso de los microorganismos que, además de resistir los jugos gástricos, son capaces de colonizar el intestino; por ejemplo, las bacterias intestinales *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius* y *Bifidobacterium bifidum*. Cuando se consume yogur frecuentemente, las BAL normales pueden sobrevivir al paso por el tracto intestinal, pero no lo colonizan; hasta el momento, las investigaciones realizadas no permiten concluir que tengan efectos positivos para los humanos (Walstra *et al.*, 2001).

Colesterol

Desde hace varios años se ha presentado un incremento en la conciencia de la gente sobre la correlación que existe entre la salud y el colesterol. La preocupación se ha centrado en el papel del colesterol como un factor de riesgo en la aparición de cáncer de colon, en los problemas de hipercolesteremia y de diferentes enfermedades cardiovasculares; respecto a esta última enfermedad se menciona que altos niveles de colesterol han sido vinculados con el incremento en el número de muertes por enfermedades como la aterosclerosis. Resultados publicados recientemente indican que la reducción de niveles altos de colesterol en la sangre disminuye los riesgos de estas enfermedades (Abdelkader, 2006).

La preocupación mencionada ha llevado a modificar las dietas y costumbres alimenticias, con el fin de reducir el colesterol; entre otras cosas, se han adoptado altos consumos diarios de leches fermentadas de bovino (8 L/d) para disminuir el nivel de colesterol (Reiff y Kelly, 2010); al respecto, Ziarno *et al.* (2008) mencionan que consumir grandes cantidades de yogur contribuye a disminuir los niveles de colesterol en humanos. Lo anterior se ha postulado gracias al efecto de un factor producido por la acción de cultivos iniciadores o BAL durante la fermentación de yogur; esto ha sugerido que el hidroximetil glutarato, aparentemente, inhibe la síntesis de colesterol en el cuerpo, produciendo una reducción de este (Kumar y Mishra, 2004; Kayanush *et al.*, 2007). De otro lado, la habilidad del nivel de reducción de colesterol *in vitro* en un modelo de medio de cultivo ha sido demostrada por numerosas cepas de BAL, tales como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus amylovorus*, *Bifidobacterium* (*B. Bifidum*, *B. longum*), así como *Lactococcus* (*Lactococcus lactis* subsp *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp *lactis* var. *diacetyllactis*) y *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides* (Ziano *et al.*, 2008).

Cáncer

Propiedades anticarcinogénicas. Estudios epidemiológicos sugieren que las leches fermentadas suprimen el comienzo de carcinogénesis, y que la alteración en microbiota intestinal es aparentemente responsable para el atributo anticarcinogénico. Modelos de animales utilizados para delinear el papel anticarcinogénico de los elementos anteriores ofrecen información que puede ser, en general, dividida en dos campos: prevención de iniciación de cáncer y supresión de tumores iniciales (Hui, 1993). Bakalinsky *et al.* (1996) mencionan al respecto que el consumo de estas leches, o bacterias utilizadas para su producción, ha inhibido el crecimiento de ciertos tipos de tumores en ratones y ratas, y en humanos, suplementos orales de *Lactobacillus acidophilus* han mostrado una reducción de cierta actividad enzimática de bacterias fecales involucradas en la activación procarcinogénica.

Prevención de iniciación de cáncer. Datos de estudios en animales y pruebas al azar de cáncer recurrente de vejiga han sugerido que el consumo de productos lácteos que contienen BAL puede desempeñar un papel en la reducción de carcinogénesis. Kayanush *et al.* (2007) y Larsson *et al.* (2008) mencionan al respecto que existen varias evidencias primarias de estudios de animales *in vitro* que muestran cómo bacterias probióticas pueden reducir el riesgo de cáncer al contrarrestar efectos mutagénicos y genotóxicos. Un reciente estudio encontró que incorporar suplementos en la dieta con cepas de *Lactobacillus acidophilus* suprime significativamente el número total de células de cáncer de colon en ratas; otro estudio mostró que la acción de *Lactobacillus* redujo la incidencia y número de tumores en animales inducidos artificialmente con cáncer de colon (Adolfsson *et al.*, 2004). De acuerdo con el Instituto Nacional de Cáncer, el cáncer de colon es el segundo entre mujeres y hombres en Estados Unidos; en Colombia ocupa el cuarto lugar, después del cáncer de estómago, pulmón y próstata (Sanabria *et al.*, 2009), y es también la segunda causa más común de muerte. Elementos de riesgo para cáncer de colon rectal incluyen factores genéticos, ambientales e interacciones entre factores presentes en la dieta (Adolfsson *et al.*, 2004).

Bifidobacterium longum también ha mostrado posibilidades de inhibir en ratas la incidencia de tumores mamarios, de intestino delgado y de hígado. Una de las pruebas clínicas humanas mostró que el consumo de *Lactobacillus casei* (10^{10} unidades formadoras de colonia, tres veces por día durante un año) incrementaba la recurrencia de periodos libres entre sujetos sin cáncer de vejiga. Aunque estas investigaciones sobre la prevención del cáncer es prometedora, sus resultados son también preliminares para desarrollar recomendaciones específicas en el consumo de probióticos para humanos (Adolfsson *et al.*, 2004).

Diarrea

Hace más de dos décadas, la Organización Mundial de la Salud estimó la presencia anual de 800 millones de episodios de diarrea y de 4,6 millones de muertes relacionadas

con diarrea entre niños y jóvenes en países desarrollados; la diarrea es un problema común entre los niños en todo el mundo, y contribuye sustancialmente al elevado número de consultas pediátricas y hospitalizaciones. Desde principios del siglo XX, los cultivos bacterianos vivos, como aquellos provenientes de la fermentación de productos lácteos, tales como el yogur, pueden ofrecer beneficios en la prevención y tratamiento de la diarrea, si van asociados con antibióticos, tanto en niños como en adultos, y en enfermedades causadas por rotavirus (Adolfsson *et al.*, 2004; Mahmood *et al.*, 2008; Myers, 2007). Estudios recientes han encontrado que la utilización de cepas como el *Lactobacillus* ofrece seguridad, y es una medida efectiva en el tratamiento de infecciones y diarrea en niños (Hoolihan, 2001). Esta terapia beneficiosa con *Lactobacillus* fue observada en enfermedades diarreicas causadas por varios patógenos. El efecto de la suplementación con *Bifidobacterium bifidum* y *Streptococcus thermophilus* en la prevención de diarrea aguda viral en infantes ha sido examinado en diversos momentos. Otras evidencias científicas sugieren que existen *Lactobacillus* viables contenidos en leches fermentadas, los cuales pueden ser más eficaces para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales que la administración de antibióticos (Adolfsson *et al.*, 2004).

Algunas de las especies probióticas que muestran resultados prometedores en tratamientos de enfermedades diarreicas en niños incluyen: *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces boulardii*, *Bifidobacterium bifidum* y *Streptococcus thermophilus* (Wungrath *et al.*, 2009).

Helicobacter pylori

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una bacteria gram negativa en forma de espiral que puede colonizar células epiteliales, revistiendo el estómago, y sobrevivir en el entorno ácido (Wang *et al.*, 2004), esta bacteria se encuentra en la capa de la mucosa gástrica o adherida al revestimiento epitelial del estómago (Adolfsson *et al.*, 2004). La infección con *H. pylori* es actualmente conocida por desempeñar un papel en la enfermedad de la úlcera péptica, úlcera duodenal y gastritis crónica (Adolfsson *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2004); esta infección por *H. pylori* está reportada en más del 90% de pacientes con úlcera duodenal, en los que el tratamiento involucra el empleo de antibióticos (Adolfsson *et al.*, 2004); sin embargo, la utilización de estas sustancias para tratar la infección por *H. pylori* ha sido asociada con efectos adversos, y frecuentemente ha provocado resistencia a la terapia con antibióticos (Adolfsson *et al.*, 2004). A pesar de las terapias basadas en antibióticos, ha sido preocupante su posible inducción de resistencia a drogas antibacteriales; es más, los efectos secundarios de esta clase de terapias son una causa común de interrupción de tratamientos (Wungrath *et al.*, 2009).

Algunos estudios *in vitro* y con animales han mostrado viabilidad reducida de *H. pylori*, y menor adhesión de la bacteria a las células de la mucosa intestinal humana después del tratamiento con varias cepas de *Lactobacillus* (Adolfsson *et al.*, 2004); por ejemplo, se vio que el *Lactobacillus salivarius* inhibía la colonización de *H. pylori* en estudios *in vitro*, así como en ratones. Una inhibición de la infección *H. pylori* fue también mostrada

en humanos que consumieron *Lactobacillus johnsonii* (Hoolihan, 2001), *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium* en el yogur. Además, el yogur puede también tener propiedades terapéuticas y mejorar la velocidad de erradicación del *H. pylori* en pacientes clínicos infectados (Sheu *et al.*, 2006). Otras evidencias preliminares mencionan que bacterias probióticas pueden inhibir la colonización gástrica y la actividad de *H. pylori*, que está asociada con gastritis, úlcera péptica y cáncer gástrico (Hoolihan, 2001).

Lactobacillus y bifidobacterias son añadidas a varios productos lácteos fermentados, y son conocidas por tener un efecto de crecimiento inhibitorio en un amplio rango de patógenos intestinales en humanos y animales. Se ha demostrado que la inhibición del crecimiento de *H. pylori* ocurre como resultado de la producción de ácidos orgánicos por cepas de *Lactobacillus acidophilus in vitro*. También se ha evidenciado *in vitro* que la acción de *Lactobacillus acidophilus* disminuyó el *H. pylori* en su viabilidad y mermó la actividad de la ureasa y el grado histopatológico de lesiones gástricas en ratones infectados con *Helicobacter felis*. Se ha descubierto que la suplementación con el yogur que contiene *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* podría mejorar la intención al tratar la velocidad de erradicación de *H. pylori* y restaurar la disminución de *Bifidobacterium* en las heces después de la terapia (Wang *et al.*, 2004).

Alergias

La prevalencia de enfermedades alérgicas se ha incrementado durante los últimos 35-40 años, particularmente en sociedades occidentales. Se ha sugerido que una manera de reducir la habilidad de proteínas lácteas para causar reacciones alérgicas es el tratamiento térmico, por ejemplo, la leche podría convertirse en una fuente más disponible de proteína para personas con una sensibilización inmunológica a proteínas lácteas bovinas. Algunos resultados han sugerido que en personas con alergia a la leche de bovinos, la presencia de BAL viables puede proporcionar mayores beneficios que los posibles efectos perjudiciales provenientes de proteínas lácteas sin desnaturalizar (Adolfsson *et al.*, 2004). Los efectos de yogur y BAL sobre las reacciones alérgicas en el tracto gastrointestinal han despertado creciente interés. Se ha reportado un retraso en el desarrollo de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en la microflora gastrointestinal, en general, en niños que presentan reacciones alérgicas y que han incorporado el consumo de yogur y BAL.

Lactobacillus añadidos a la dieta de infantes mediante fórmulas de hidrolizados de lactosuero disminuyen los síntomas de dermatitis e inflamación intestinal, y producen alivio de alergias alimenticias, como aquellas asociadas con proteínas de la leche (posiblemente al degradar estas proteínas a pequeños péptidos y aminoácidos) (Hoolihan, 2001).

4. Estabilizantes

El proceso de elaboración de yogur, como se anotó, es un arte muy antiguo, que data de hace miles de años, pero solo en el siglo XIX se conocieron los fundamentos de las distintas etapas de producción, en las que se presentaban algunos inconvenientes debido a la tecnología empleada. Un ejemplo de ello son las bajas temperaturas a las que se incubaba la leche para que la fermentación tuviera lugar, es decir, se realizaba a temperatura ambiente, lo que determinaba una lenta acidificación y, por ende, el proceso se prolongaba por más de dieciocho horas, dando a lugar a efectos secundarios no deseables, por ejemplo, una exudación de suero denominada sinéresis, que influye negativamente sobre las propiedades físicas del yogur, como la viscosidad, lo que afecta, al mismo tiempo, su calidad (Tamine y Robinson, 1991).

Sin embargo, existen otros factores que pueden ocasionar la sinéresis en el yogur; entre los más importantes están el rompimiento del gel/coágulo –para el caso del yogur entero tipo batido–, las formas de almacenamiento y el transporte; para evitarlos, en la elaboración de yogur entero tipo batido es necesario utilizar estabilizantes con los cuales se logre mantener o mejorar sus características físicas y químicas. Para ello se han realizado numerosas investigaciones, entre las que se encuentra la efectuada por Tamine y Robinson (1991), quienes mostraron que la calidad del yogur puede verse seriamente afectada por diversos factores, en particular por el estabilizante empleado en su elaboración. Existe una gran variedad de compuestos estabilizantes que pueden ser adicionados a la leche con el fin de lograr las características adecuadas del yogur; entre ellos se encuentran las gomas naturales (como la arábica, tragacanto, guar), algunas gomas modificadas (como la carboximetilcelulosa, metilcelulosa, celulosa microcristalina), algunos extractos (pectinas), así como almidones modificados y nativos como el sagú. Otros productos que cumplen funciones de emulsificantes, gelificantes y estabilizantes (previenen la sinéresis y mejoran la viscosidad del yogur) son los exopolisacáridos (Hong Marshall, 2001; Prabhakar *et al.* 2009; Broadbent *et al.* 2003; Ozkaya *et al.* 2007; Amatayakulet *et al.*, 2006). A continuación se mencionan los principales estabilizantes o sustancias que cumplen esta función:

4.1 Gomas en la industria de alimentos

Las gomas pueden ser definidas en términos prácticos como moléculas de alto peso molecular con características hidrofílicas o hidrofóbicas que, usualmente, tienen propiedades coloidales, con capacidad de producir gel al combinarse con el solvente

apropiado. De este modo, el término goma se aplica a una gran variedad de sustancias con características gomosas. Sin embargo, es más común la utilización del término goma para referirse a polisacáridos o sus derivados, obtenidos de algunas plantas o mediante procesamiento microbiológico, que al dispersarse en el agua fría o caliente producen soluciones o mezclas viscosas. En muchos libros de texto o artículos sobre gomas, estabilizantes, hidrocoloides y especies de similar función o estructura, el término goma está basado en las características físicas y en el origen de los materiales en cuestión (Pasquel, 2001).

Inicialmente, las gomas pueden ser descritas como exudados vegetales solubles en agua con presencia de polisacáridos microbianos; igualmente, encontramos gomas vegetales químicamente modificadas. Esta definición excluye proteínas y polímeros sintéticos que pueden ser utilizados como gomas en aplicaciones prácticas. Consecuentemente, las gomas pueden ser entendidas como polisacáridos de cadena larga que pueden ser o no ramificadas (Pasquel, 2001).

Una goma puede ser definida, en sentido amplio, como cualquier polisacárido soluble en agua que puede ser extraído a partir de vegetales terrestres o marinos, o de microorganismos que poseen la capacidad, en solución, de incrementar la viscosidad o de formar geles. Gomas vegetales de uso generalizado son las galactomananas de las semillas de guar y locuste (*Ceratonia siliqua*), los exudados como la goma arábica y el tragacanto, y los de las algas como las carragenanas y los alginatos; todos ellos son muy utilizados en el procesamiento de numerosos alimentos. Las gomas tienen al menos tres funciones en el procesamiento de los alimentos: emulsificantes, estabilizantes y espesantes; además, algunas también son agentes gelificantes, formadoras de cuerpo, agentes de suspensión y aumentan la capacidad de dispersión de gases en sólidos o líquidos. La industria de procesamiento de alimentos, así como otras aplicaciones industriales de las gomas, aprovecha ampliamente sus propiedades físicas, especialmente su viscosidad y su estructura coloidal (Pasquel, 2001).

En las mismas concentraciones, las gomas con moléculas relativamente lineales, como la goma tragacanto, forman soluciones más viscosas que las de forma esférica como la goma arábica, por ejemplo; generalmente son utilizadas en concentraciones que fluctúan entre 0,25 y 0,50% y que muestran su gran habilidad para producir viscosidad y formar geles. Puesto que las gomas tienen funciones estabilizantes en muchos alimentos es importante hacer notar que, en el sentido más amplio del término, un estabilizante alimenticio es cualquier material que al ser adicionado a un alimento aumenta su tiempo de almacenamiento. Aunque existe una acepción menos amplia que define un estabilizante como un material que reduce la tasa en la cual suceden algunos cambios dentro de un producto alimenticio durante su almacenamiento, transporte y manipulación; los estabilizantes retardan o evitan cualquiera de los siguientes procesos (Pasquel, 2001):

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

Algunas gomas importantes en la industria de alimentos

Las gomas alimenticias son obtenidas a partir de una variedad de fuentes: exudados y semillas de plantas terrestres, algas, productos de la biosíntesis de microorganismos y de la modificación química de polisacáridos naturales. A continuación se detallan:

Gomas extraídas de plantas marinas. Los alginatos, la goma agar y la goma carragenana son extractos de algas rojas y marrones que, en conjunto, son conocidas como algas marinas.

∅ **Alginatos.** Son descritos como compuestos que incluyen una variedad de productos constituidos por los ácidos D-manurónico y L-gulurónico; son extraídos de algas marrones conocidas como *Phaeophyceae*; las más importantes para la producción comercial de los alginatos son: *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata* y *Ascophyllum nodosum*, variedades que se encuentran en todo el mundo. No todos los alginatos gelifican, pero son bien conocidos por su capacidad para producir geles irreversibles en agua fría y en presencia de iones calcio. Esta propiedad de gelificar en el agua fría diferencia los alginatos de las gomas derivadas de las algas rojas. Muchos son usados como espesantes, estabilizantes de emulsiones, gelificantes, inhibidores de sinéresis y mejoradores de sabor (Dziezak, 1991).

∅ **Goma agar.** Se obtiene a partir de algas rojas de la clase *Rhodophyceae*, de las cuales las más importantes son la *Gelidium cartilagineum*, *Gracilaria confervoides*

y *Pteroclaia capillacea*; es considerada uno de los agentes gelificantes más importantes; está constituida de galactosa y anhidrogalactosa parcialmente esterificada con ácido sulfúrico, y produce una gelificación perceptible en concentraciones bajas, como un 0,04%. No es soluble en agua fría, pero se disuelve completamente en agua caliente. La gelificación se inicia en el rango de 35 a 40 °C; el resultado es un gel fuerte, claro y termorreversible que solo se transforma en líquido si la temperatura llega a 85 °C. Sus propiedades gelificantes, la resistencia térmica de sus geles y la marcada diferencia entre sus temperaturas de gelificación y de fusión son las razones fundamentales a la hora de escogerla, aunque su uso en la industria americana de alimentos, por ejemplo, no es muy importante en términos cuantitativos. Su uso en niveles del orden de 0,12% mejora la suavidad de los helados, y en la fabricación del queso mejora la textura y calidad de los cortes (Dziezak, 1991).

Ø **Goma carragenana.** Es un polímero sulfatado constituido por unidades de galactosa y anhidrogalactosa extraída de algas rojas, entre las cuales se destaca la *Chondrus crispus*, también conocida como «musgo irlandés» (citado por Dziezak, 1991); fue utilizado hace casi 600 años en la elaboración de alimentos, remedios y fertilizantes, en el municipio de Carragheen (costa sur de Irlanda), lo que dio origen al nombre de esta goma. Otras importantes fuentes de carragenana son la *Eucheuma* spp. y *Gigartina* spp., que se encuentran en África Oriental, Filipinas y Japón. Existen tres grupos principales de goma carragenana, que se diferencian por su contenido y distribución de los grupos de ésteres sulfatados: iota, kappa y lambda. La carragenana es usada como gelificante, espesante, estabilizante y emulsionante; por su capacidad de reacción con ciertas proteínas es usada en pequeñas concentraciones (del orden de 0,01 a 0,03%) en la industria de los lácteos.

Gomas extraídas de semillas de plantas terrestres. Un segundo grupo importante de gomas son las galactomananas, obtenidas de las semillas de ciertas plantas: goma locuste y goma guar.

Ø **Goma locuste.** Es un polisacárido neutro constituido de manosa y galactosa en la proporción de 4:1. Esta goma es extraída de las semillas de la *Ceratonia siliqua*, árbol nativo de los países de la cuenca del Mediterráneo. Es insoluble en agua fría y soluble en agua caliente, y su viscosidad máxima se alcanza cuando es calentada a 95 °C y después enfriada. Gelifica solo cuando se mezcla con la goma xantana, y sus principales usos son como espesante, estabilizante de emulsiones e inhibidor de la sinéresis en diversos productos: alimentos enlatados, salsas, sobremesas, gaseosas, quesos, helados y carnes procesadas. En el caso del queso, la goma locuste acelera la coagulación.

Ø **Goma guar.** Es obtenida del endospermo de la semilla de la planta guar *cyamopsis tetragonolobus*, oriunda de la India y Pakistán. Se disuelve completamente en agua

fría produciendo alta viscosidad; sin embargo, no gelifica y su principal uso es como formadora de cuerpo, estabilizante y ligadora de agua (Dziezak, 1991).

Gomas obtenidas como exudados de plantas terrestres. Un tercer grupo importante de gomas usadas en la industria de los alimentos es el grupo de las gomas exudadas por árboles: goma arábica, goma ghatti, goma karaya y goma tragacanto.

Ø **Goma arábica.** Es una goma natural conocida también como goma de acacia, ya que se extrae de dos especies de acacias; es considerada la más vieja y la más conocida de las gomas; es la savia exudada de varias especies de árboles de acacia para prevenir el resecamiento de sus tejidos cuando son heridos. Químicamente, esta goma es una sal neutra o levemente ácida de un polisacárido complejo que contiene iones de calcio, magnesio y potasio en su molécula; está formada por seis carbohidratos: galactosa, ramnosa, arabinopiranososa, arabinofuranosa, ácido glucourónico y ácido 4-o-metilglucourónico; esta goma es un material heterogéneo que generalmente consta de dos fracciones: una, que representa cerca del 70% de la goma y está compuesta por cadenas de polisacáridos con poco o ningún material nitrogenado, y una segunda fracción que contiene moléculas de elevado peso molecular y proteínas como parte de su estructura integral.

La goma arábica se disuelve rápidamente en agua fría o en agua caliente, y es la menos viscosa y más soluble de los hidrocoloides; es posible comparar sus soluciones con una concentración del orden de los 55% con otros hidrocoloides comunes de alta viscosidad y una concentración del orden del 5% (Dziezak, 1991). Dziezak (1991) observa que más de la mitad de la goma arábica producida en el mundo es utilizada en la preparación de dulces y confites, con la finalidad de retardar la cristalización del azúcar y promover la emulsificación. La industria alimentaria utiliza la goma arábica como fijador y encapsulante para evitar la oxidación y volatilización de los componentes del *flavor*, mientras que en la elaboración de la cerveza promueve la estabilización de la espuma. Debido a su componente proteico, esta goma es usada como emulsionante y estabilizante en bebidas no alcohólicas, porción del mercado que consume el 30% del total de la goma arábica en el mundo.

Ø **Goma ghatti.** Denominada también goma hindú, es un exudado amorfo y translúcido del árbol del *Anogeissus latifolia* de la familia *Combretaceae*, oriunda de la India; es un polisacárido complejo, soluble en agua, formado por arabinosa, galactosa, mannososa, xilosa y ácido glucourónico. Está constituida de una fracción soluble y de una insoluble, pero gelificable. La goma en su conjunto, aun cuando no gelifique, se dispersa en agua fría o caliente formando un sol coloidal, debido a la fracción soluble, y su viscosidad máxima se manifiesta en un pH entre 5 y 7; de todas las gomas comerciales, la goma ghatti es la que tiene la viscosidad y propiedades emulsionantes más próximas a la goma arábica. Las principales

razones para escogerla son su habilidad para emulsionar, estabilizar, producir viscosidad y ligar agua (Dziezak, 1991).

Ø **Goma karaya.** Es un exudado seco del árbol *Sterculia*, se produce en el norte y centro de la India; es un polisacárido complejo parcialmente acetilado, constituido de una cadena principal de unidades de ácido D-galactourónico, L-ramnosa y D-galactosa, de cadenas laterales de ácido D-glucourónico. Lo que caracteriza esta goma es su baja solubilidad en el agua y su fuerte adherencia cuando es usada en elevadas concentraciones. Es una de las menos solubles entre las gomas exudadas; no disuelve, pero absorbe agua y produce un sol coloidal viscoso. Las dispersiones de la goma karaya tienen una viscosidad mayor cuando son preparadas con agua fría, aun cuando la ebullición aumenta la solubilidad de la goma y reduce su viscosidad de forma permanente. Similarmente, la viscosidad es reducida por la adición de algunos electrolitos fuertes o de pH extremos. Valores alcalinos del pH transforman el sol karaya en una pasta pegajosa. Debido a su propiedad de ligar agua, la goma karaya es usada en concentraciones bajas, típicamente del orden de 0.2 a 0.4%, en la preparación de helados, con la finalidad de prevenir la formación de grandes cristales de hielo y la pérdida de agua libre (Dziezak, 1991).

Ø **Goma tragacanto.** Es un exudado producido por algunas especies de un arbusto del género *Astragalus*, una leguminosa perenne oriunda del Asia menor y de las regiones montañosas y semidesérticas de Irán, Siria y Turquía; está formada de una mezcla de polisacáridos: el ácido tragacántico, insoluble en agua y responsable de la propiedad absorbente de agua de la goma, y la arabinogalactana, que es un polímero soluble en agua y responde por la solubilidad de la goma. La goma tragacanto produce la más alta viscosidad de todos los hidrocoloides extraídos de plantas, y produce soles coloidales viscosos con textura similar a geles blandos. Es soluble en agua fría, estable al calor y al ácido (debajo de pH 2) y muy emulsionante (Dziezak, 1991).

Gomas obtenidas a partir de procesos microbiológicos. Son importantes las gomas producidas por algunas especies de *Xantomonas* y *Pseudomonas*, ya que presentan propiedades poco comunes en lo que respecta a textura.

Ø **Goma xantana.** Es producida por la fermentación de carbohidratos con la bacteria *Xantomonas campestris*; está constituida por una estructura básica celulósica con ramificaciones de trisacáridos, y aun cuando no sea un agente gelificante, en combinación con la goma locuste puede formar geles elásticos y termoreversibles. Es completamente soluble en agua fría o caliente y produce elevadas viscosidades en bajas concentraciones, además de poseer una excelente estabilidad frente al calor y al pH, pues la viscosidad de sus soluciones no cambia entre 0 y 100° C ni entre 1 y 13 de pH; es utilizada en muchos productos como espesante, estabilizante y agente para mantener suspensiones (Pasquel, 2001).

Ø **Goma gelana.** Se trata de un agente gelificante relativamente nuevo; es un polisacárido extracelular producido por la fermentación de carbohidratos utilizando *sphingomonas elodea*; es un hidrocoloide multifuncional con potencial para ser usado en una gran variedad de alimentos como gelificante, texturizante, estabilizante, formador de películas y agente estructurante y de suspensión; posee una estructura principal lineal formada por cuatro unidades de hidratos de carbono: glucosa, ácido glucurónico y ramnosa; forma geles muy fuertes en concentraciones tan bajas como 0,05% (Dziezak, 1991).

Gomas obtenidas por modificación química de productos vegetales. Se destacan en este grupo las modificaciones químicas de la celulosa y de la pectina, conducentes a la obtención de hidrocoloides con propiedades gelificantes.

Ø **Gomas celulósicas.** Son las más usadas de este grupo; forman una familia de productos obtenidos por modificación química de la celulosa; como ejemplos más importantes se pueden mencionar compuestos como carboximetilcelulosa, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. La carboximetilcelulosa sódica, comúnmente conocida como goma celulósica o CMC, es utilizada generalmente como espesante, estabilizante, gelificante y modificadora de las características de flujo de soluciones acuosas o suspensiones. La metilcelulosa (MC) y la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) son las únicas gomas que gelifican con el calor, y después, al enfriarse, retornan a su viscosidad original líquida, lo que las hace muy importantes para ser utilizadas con alimentos fritos (Dziezak, 1991).

La tabla 1 presenta las características principales de las gomas más utilizadas en la industria de alimentos.

Tabla 1. Características de diversas gomas, Pasquel (2001)

Nombre	Principales constituyentes	Fuente	Usos	Propiedades características
Goma guar	Cadena principal de unidades de D-manopiranososa y D-galactopiranososa, en proporción 2:1, unidos por enlaces glicosídicos	Semillas de <i>Cyamopsis tetragonolobus</i>	Espesante y estabilizante para helados, salsas y lácteos	Se dispersa en agua fría o caliente para formar un sol. No gelifica. Posee alta viscosidad en bajas concentraciones.
Goma locuste	Cadena principal de unidades D-manopiranososa ligada a residuos de D-galactopiranososa	Obtenido de la <i>Ceratonia siliqua</i>	Estabilizante de emulsiones, espesante de helados y lácteos Encapsulante	Se dispersa en agua fría o agua caliente formando un sol. Sinergismo con carragenanas. No gelifica.
Goma arábica	D-galactopiranososa, L-ramnosa, L-arabinofuranosa y ácido D-glucourónico	Exudado de <i>acacia Senegal</i>	Estabilizante de emulsiones y encapsulante	Bastante soluble en agua. Debido a su bajo peso molecular y estructura ramificada, forma soluciones poco viscosas.
Goma tragacanto: tragantina, basorin	Fración soluble en agua: residuos de ácido D-galactourónico y D-xilopiranososa	Exudado de <i>astragalus gummifer</i>	Estabilizante de emulsiones y espesante	En agua forma soluciones altamente viscosas aun a bajas concentraciones. Resiste la acción de ácidos y es una de las pocas gomas exudadas de color casi blanco.
Agar	Agarosa: D-galactopiranososa 3,6-anhidro-L-galactopiranososa. Agaropectina: D-galactopiranososa, 3,6-anhidro-L-galactopiranososa, ácido D-glucourónico, ácido pirúvico, sulfato	Algas marinas del género <i>Gelidium</i>	Gelificante para dulces, masas y carnes	Insoluble en agua fría, soluble en agua en ebullición. Forma geles bastante firmes a temperatura ambiente. Sus geles son termorreversibles.
Carragenina	D-galactopiranososa y 3,6-anhidro-D-galactosa, esterificados con H ₂ SO ₄	Algas rojas de la familia <i>Rhodophyceae</i> : <i>Chondrus crispus</i> y <i>Gigartina mamillosa</i>	Gelificante para helados. Espesante y estabilizante en salsas y sopas	Soluble en agua a cerca de 80 °C. Gelifica en presencia de potasio, formando geles termorreversibles.
Alginato	Cadenas de ácido-manourónico y ácido L-gulurónico	Algas marrón como <i>Laminaria digitata</i> y <i>Macrocystitis pyrifera</i>	Gelificante en lácteos, estabilizante y espesante	Insoluble en agua fría. Soluble en soluciones alcalinas. Forma geles con Ca ⁺² y Al ⁺³ .
Goma karaya	Cadenas de ácido D-manourónico y ácido L-gulurónico	Exudado de planta <i>Sterculia urens</i>	Espesante de lácteos. Estabilizante de emulsiones	Poco soluble en agua. Absorbe grandes cantidades de agua. Está sustituyendo a la goma tragacanto.
Goma xantana	D-glucopiranososa, D-manopiranososa y ácido D-glucorónico en proporción de 2,8:3,0:2,0. Además contiene grupos acetilicos y residuo de ácido pirúvico	Producto de la fermentación de un substrato conteniendo D-glucosa con <i>xanthomonas campestris</i>	Estabilizante y espesante. Muy utilizada en salsas para ensaladas	Soluble en agua fría o agua caliente. Solución viscosa poco afectada por pH y por la temperatura. No gelifica. Comportamiento pseudoplástico.

4.2 Pectinas

Las pectinas son un grupo de sustancias que se encuentran en los tejidos vegetales jóvenes, especialmente en frutos, y tienen gran importancia en tecnología de alimentos; se encuentran en cantidades tan abundantes que a menudo forman canales anchos, apartando las células (Ramírez, 2006). Las pectinas forman coloides hidrofílicos, por esto tienen la capacidad de absorber grandes cantidades de agua; esta capacidad permite que las sustancias pécticas jueguen, aparentemente, un papel en las primeras etapas del desarrollo de los tejidos; las sustancias pécticas absorben agua rápidamente y la transfieren a las células con mayor facilidad de la que podría lograrse por ósmosis en las células mismas. Como constituyente natural de los tejidos vegetales, las sustancias pécticas son responsables en buena medida de la firmeza y textura de los frutos y de las hortalizas, el ablandamiento del tejido del fruto durante la madurez, la rotura de la estabilidad coloidal en los jugos de fruta, y los cambios de consistencia en los purés y los concentrados de fruta; estos cambios pueden atribuirse a menudo a modificaciones en las sustancias pécticas. Como aditivos intencionales, las pectinas son valiosos agentes espesantes y de formación de geles (Ramírez, 2006).

La pectina es, entonces, un coloide hidrofílico reversible; la pectina cruda comercial contiene gran cantidad de impurezas, tales como hemicelulosa, pentosanos, galactosanos y otros compuestos, pero puede purificarse mediante sucesivas precipitaciones (Ramírez, 2006). Químicamente, está formada por cadenas largas y no ramificadas de ácido poligalactúronico, con los grupos carboxilo parcialmente esterificados con alcohol metílico, las uniones entre las unidades de ácido galacturónico son (α -D-(1,4).

Las pectinas se pueden dividir en:

- Sustancias pécticas
Dentro de esta clase se encuentran polisacáridos conformados por unidades de ácidos anhidro galacturónico, con algunos de los grupos carboxilo esterificados por grupos metilo y parcialmente neutralizados por bases.
- Protopectinas
Son polisacáridos insolubles en agua, y por hidrólisis ácida controlada producen pectina o ácidos pectínicos.
- Ácidos pectínicos
Carbohidratos insolubles en agua formados por ácidos galacturónicos, donde la mayoría de los grupos carboxilo no están esterificados.

Según la cantidad de grupos esterificados podemos tener pectinas de alto metoxilo, con alrededor del 80% de los grupos carboxilo de la molécula esterificados, y pectinas de bajo metoxilo, con menos del 40% de grupos. Del grupo de sustancias pécticas, las más utilizadas en la industria de alimentos son las pectinas; generalmente se

extraen de los residuos obtenidos de la preparación de jugos cítricos, en especial de sus cáscaras (Ramírez, 2006). La pectina es un polisacárido aniónico muy utilizado como gel y como estabilizante de productos lácteos (Arloft, 2008); funciona como agente gelificante y espesante en una gran variedad de productos. La selección de una pectina depende de los requerimientos de una aplicación en particular. Las composiciones y propiedades de las pectinas varían con la materia prima, los procesos usados durante la extracción y los subsecuentes tratamientos realizados (Dziezak, 1991).

Bebidas como el yogur, leche de soya, lactosuero, kéfir y otras pueden ser descritas como un sistema líquido proteico acidificado con estabilidad y viscosidad similar a la leche natural; tales bebidas son usualmente compuestas de una fase láctea ácida, que puede ser saborizada (Arloft, 2008).

4.3 Almidón de sagú

El sagú (achira, arawac, imocoma, chisgua, maraca o capacho) es una planta originaria de los Andes, y forma parte de las 25 raíces y tubérculos andinos de consumo regional y mundial; es una herencia de nuestros aborígenes, y ha servido de alimento a muchas familias durante siglos; actualmente es una especie olvidada, pero de importancia estratégica en la economía campesina, por sus ventajas comparativas de biodiversidad, criterios de sostenibilidad y cultivo en áreas agrícolas marginales, asociado a la producción lechera. El sagú (*Canna edulis*), perteneciente a la familia botánica de las *Cannáceas*, es una planta herbácea perenne que alcanza hasta 3 metros de altura, con hojas anchas, verdes, de pecíolos cortos, elípticas, que llegan a medir 20 cm de largo y 15 cm de ancho; la inflorescencia tiene forma de racimo; los frutos son capsulares con gran cantidad de semillas negras; los cormos o rizomas son esféricos o atropados y pueden alcanzar 20 cm de largo y entre 3 y 15 cm de ancho; la superficie está cruzada por surcos transversales, de la parte inferior salen raicillas y del ápice brotan hojas y tallos (Moreno, 2006).

El sagú se utiliza en la alimentación humana y animal, principalmente para la producción de almidón industrial y preparación de fideos. Las raíces se pueden consumir asadas o cocidas (Moreno, 2006). El almidón de sagú tiene una viscosidad muy alta a temperaturas como las usadas en la elaboración de pastas, lo cual permite manipular con mayor facilidad los geles calientes en comparación con otros almidones. Es una fuente de nutrientes, como fibra, 0,1%; almidón, 65%, y cenizas, 0,5% (según el *Codex Alimentarius*), indispensables para niños, ancianos y personas que sufren problemas digestivos. La panificación demanda el 80% de la producción de almidón de sagú; los usos domésticos, el 15%; las industrias, el 1%, y el resto, en otras aplicaciones.

4.4 Exopolisacáridos

El término exopolisacárido (EPS) es generalmente utilizado para describir todas las formas de polisacáridos bacterianos encontrados fuera de la pared celular (Vuyst *et al.*, 2003; Zisu y Shah., 2003; Briczinski y Roberts, 2002; Hill *et al.*, 2002; Parra, 2009).

Son polisacáridos extracelulares de cadenas alargadas, y polímeros de masa molecular alta (contienen cadenas ramificadas) (Zisu y Shah, 2003; Martensson *et al.*, 2003; Early, 2000) envueltos en células de adhesión y protección; a menudo están covalentemente unidas a la superficie celular en forma de cápsulas, o secretadas dentro del entorno celular en la forma de mucílago (Mata *et al.*, 2006; Petersen *et al.*, 2000); consisten en unidades repetitivas de azúcares o sus derivados como glucosa, galactosa, ramnosa, manosa, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina (Péant *et al.*, 2005; Welman y Maddox, 2003), fructosa, ribosa, ácido glucónico, aminoacetilados y otros residuos como compuestos carbonados, fosfatos, lactosa, acetato, glicerol y N-acetilaminoazúcares (Girard y Schaffer, 2008).

Los EPS se presentan en dos formas, según su localización: como cápsulas (polisacáridos capsulares), donde el polímero está asociado con la superficie celular, y como polisacáridos que son vagamente asociados con la superficie celular (Yuksekdag y Aslim, 2008; Amatayakul *et al.*, 2006; Welman y Maddox, 2003; Wilches, 2004). Estos polímeros pueden ser liberados dentro de un medio de crecimiento (Broadbent *et al.*, 2003; Robitaille *et al.*, 2006); pueden ser «mucoides» o «viscosos», dependiendo de si se encuentran sujetos a las células bacterianas como cápsulas o si están sueltos como material alrededor del medio (Doleyres *et al.*, 2005).

Un número de bacterias lácteas, cultivos estériles y bacterias gram-positivas o gram-negativas son capaces de sintetizar EPS (Amatayakul *et al.*, 2006; Savadogo *et al.*, 2006; Briczinski y Roberts, 2002; Broadbent *et al.*, 2003; Zambou *et al.*, 2004; Marshall *et al.*, 2001; Pescumma *et al.*, 2008). Las propiedades fisicoquímicas y los efectos potenciales en la salud de estas bacterias benéficas han sido muy estudiadas (Ai *et al.*, 2008; Prabhakar *et al.*, 2009).

Ejemplos de algunas bacterias que producen polisacáridos extracelulares son *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactococcus Lactis* y *Streptococcus thermophilus*; pueden actuar como estabilizadores de alimentos, previniendo la sinéresis y mejorando la viscosidad (Hong y Marshall, 2001; Prabhakar *et al.*, 2009; Broadbent *et al.*, 2003). Los EPS producidos por *Lactobacillus* son típicamente heteropolisacáridos neutros (no cargados) que pueden prestar importantes propiedades funcionales a sistemas alimenticios (Briczinski y Roberts, 2002; Abbasi *et al.*, 2007). Un ejemplo es *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris*, que puede producir EPS como ramnosa, glucosa, galactosa y fosfatos, mientras otras producen solamente glucosa y galactosa (Hernández *et al.*, 2008). Homopolisacáridos, incluyendo dextranos y glucanos, son producidos por *Leuconostoc mesenteroides* y *Streptococcus mutans*, respectivamente (Broadbent *et al.*, 2003).

Las características funcionales de los EPS están determinadas por su estructura; estos pueden ser de masa molecular diferente, y tener diversos tipos de enlace de los monosacáridos y diferente nivel de composición química (Simitaru y Segal., 2007; Hui, 1993).

Aplicaciones de exopolisacáridos. Los EPS en la industria alimenticia son utilizados como espesantes por su estabilización y por sus propiedades emulsificantes y gelificantes (Yuksekdag y Aslim, 2008); también han ganado atención durante las pasadas décadas por su contribución a la reología, textura, sensación en la boca, percepción de sabor y estabilidad de productos finales (Ozkaya *et al.*, 2007; Amatayakul *et al.*, 2006; Grattepanche *et al.*, 2007a; Savadogo *et al.*, 2006).

En sistemas alimenticios fermentados, como el yogur, los EPS parecen interactuar con la superficie de las células bacterianas, asociándose con la matriz proteica; lo anterior afecta de manera positiva la viscosidad, la estabilidad del gel de la leche (Briczinski y Roberts, 2002; Walstra *et al.*, 2001), la textura y la percepción de sabor (Welman y Maddox, 2003). El yogur batido elaborado con cultivos estárter productores de EPS viscosos tiene mayor viscosidad que los elaborados con cultivos estárter no productor de EPS. La utilización de cultivos estárter productores de EPS en la elaboración de yogur ha tenido un efecto potencial de reemplazar o reducir la utilización de estabilizantes (Amatayakul *et al.*, 2006).

Dos principales defectos en el yogur son la reducción de la firmeza y el alto nivel de sinéresis o separación de lactosuero sobre la superficie (Yuksekdag y Aslim, 2008; Grattepanche *et al.*, 2007b; Hernández *et al.*, 2008; Prabhakar *et al.*, 2009). Se ha incrementado la tendencia a utilizar para yogur cultivos estárter capaces de producir EPS, debido a su habilidad para atrapar agua y mejorar la textura en la elaboración de yogur (Abbasi *et al.*, 2007; Amatayakul *et al.*, 2006). Por lo anterior, algunos fabricantes de yogur están interesados en producir *in situ* heteropolisacáridos por *Streptococcus thermophilus* (por su alta productividad), para evitar emplear agentes estabilizantes y texturizantes como almidones modificados, carragenina y gelatina (Robitaille *et al.*, 2006; Izawa *et al.*, 2009). Ciertamente, EPS más *Streptococcus thermophilus* pueden reducir sinéresis y realzar la textura y viscosidad del producto, estabilizando el alimento (Robitaille *et al.*, 2006; Hong y Marshall, 2001).

Los EPS desempeñan un papel industrial importante en la producción de derivados lácteos fermentados, en particular, en la producción de yogur, queso, crema fermentada y postres basados en leche; ellos mejoran las propiedades de los productos lácteos fermentados debido a sus propiedades espesantes y por la viscosidad y las propiedades gelificantes (Rodríguez *et al.*, 2008; Simitaru y Segal, 2007; Grattepanche *et al.*, 2007a) y reológicas que les confieren (Hernández *et al.*, 2008; Kailasapathy, 2006; Devlieghere *et al.*, 2004). También ha sido propuesta la utilización de polisacáridos capsulares + cepa de *Streptococcus thermophilus* para elaborar queso, favoreciendo la retención de humedad e incrementando su rendimiento (Grattepanche *et al.*, 2007b; Robitaille *et al.*, 2006) sin afectar la viscosidad del lactosuero (Robitaille *et al.*, 2006; Zambou *et al.*, 2004).

Algunas veces las BAL productoras de exopolisacáridos son responsables de una viscosidad indeseable en productos alimenticios como el vino y la cerveza, pero en varios casos los polisacáridos liberados extracelularmente por BAL pueden ofrecer

ventajas en una variedad de productos alimenticios fermentados (Smitinont *et al.*, 1999). Basados en estas características, las BAL productoras de EPS podrían ser utilizadas como aditivos naturales en productos alimenticios, constituyéndose en alternativa a los aditivos químicos de plantas o animales como una fuente de estabilizantes, espesamiento, gelificante o agentes retenedores de agua (Macedo *et al.*, 2002).

Los EPS aislados a partir de las BAL ofrecen una alternativa de polisacáridos microbianos de amplia utilización en formulaciones alimenticias. Además de su utilización en producción de alimentos, existe un número de reportes de posibles beneficios de los EPS para la salud, especialmente, en el sentido de las propiedades inmunoestimuladoras de los EPS bacterianos (Laws *et al.*, 2001). Los EPS tienen efectos antitumorales, antimutagénicos, inmunoestimuladores, antiúlceras y de disminución de niveles de colesterol en la sangre. Algunos beneficios fisiológicos incluyen aumento en la colonización gastrointestinal de bacterias probióticas, a través del incremento en la residencia de los EPS en el tracto gastrointestinal. (Ozkaya *et al.*, 2007; Péant *et al.*, 2005). *Lactobacillus bulgaricus* tiene actividad antitumoral, además, se ha reportado que los fosfopolisacáridos producidos por *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* muestran efecto antitumoral y actividad inmunoestimuladora (Ai *et al.*, 2008).

La cepa *Lactobacillus pentosus* (LPS26), aislada de la fermentación natural de olivas verdes, produce un polímero capsular constituido de alta y baja masa molecular (Rodríguez *et al.*, 2008); además, los EPS producidos por *Bifidobacterium longum* tienen funciones específicas, como adhesión en el interior de superficies del intestino, promoción de colonización y efectos antimutagénicos fuertes (Kohno *et al.*, 2009).

Las propiedades organolépticas de estos productos se deben en gran parte a la cantidad de EPS producidos durante los procesos de fermentación. El rendimiento y constituyentes de los azúcares de EPS están influenciados por algunos factores y varían de cepa en cepa. *Streptococcus thermophilus* no producen naturalmente grandes cantidades de EPS, lo cual explica por qué esfuerzos considerables se realizan directamente hacia los mecanismos celulares de biosíntesis de EPS. El rendimiento de EPS está asociado con los esfuerzos para incrementar la producción de biomasa; esta tarea requiere, claramente, una revisión de la maquinaria celular; la secuencia total del genoma es un paso obligatorio para lograr este objetivo (Vadeboncoeur y Moineau, 2004).

5. Edulcorantes

Los edulcorantes son sustancias químicas de intenso sabor dulce que se utilizan para reemplazar el azúcar en diversos productos alimenticios; entre los más importantes encontramos: xylitol, sorbitol, aspartame, sacarina sódica y sucralosa, entre otros (Pérez y Carrasco, 2006). Químicamente, el término azúcar se refiere a un grupo de componentes que comprenden átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno, clasificados como monosacáridos o disacáridos. Los principales monosacáridos en la dieta humana son glucosa, fructosa y galactosa (Sigman y Morita, 2003); los disacáridos son dos monosacáridos unidos. Los principales disacáridos en la dieta humana son sacarosa, lactosa y maltosa (Sigman y Morita, 2003).

Los edulcorantes se emplean en los alimentos por varias razones: para dar sabor dulce, para dar cuerpo al alimento, para proporcionar un importante aporte calórico y para actuar como conservante. Antiguamente, los exudados de ciertos árboles como maná, fueron utilizados en el Mediterráneo como edulcorantes en las preparaciones de repostería, porque eran ricos en manitol; la utilización del maná fue sustituida por el azúcar, edulcorante natural por excelencia, con el cual satisfacía el ser humano su ansia por el sabor dulce; posteriormente, el dulzor proveniente del azúcar de la caña y de la remolacha fue suplido, entre otros, por el de la miel de abejas, por el del sorgo y el del maíz, que contiene carbohidratos naturales como el almidón, la glucosa y la fructosa; esta última, a pesar de ser más dulce, ha sido desplazada por la sacarosa, debido a su alto costo comercial. Hasta finales del siglo XIX solo se disponía de edulcorantes naturales como azúcar, miel, glucosa, derivados del almidón y lactosa. En el mundo occidental el consumo de sacarosa ha aumentado considerablemente en el último siglo, a expensas de los polisacáridos, debido principalmente a los avances en la agricultura y a la promoción de los azúcares naturales (Benjumea y Correa, 2011).

5.1 Azúcares naturales o endulzantes nutritivos

Sacarosa, jarabe de glucosa, lactosa, glucosa/dextrosa, levulosa/fructosa, todos ellos se han llamado también «azúcares simples o concentrados», y constituyen un conjunto heterogéneo de compuestos químicos; cumplen diversas funciones: nutricionales, organolépticas y de conservación e incluyen los monosacáridos (glucosa y fructosa) y los disacáridos (sacarosa: azúcar de caña o remolacha, la lactosa: azúcar de la leche y la maltosa: azúcar de malta) que son los más abundantes en la naturaleza. Los

monosacáridos y los disacáridos tienen características comunes, entre las que se destacan: absorción rápida y fácil, sabor dulce, solubilidad en agua y facilidad para formar jarabes, capacidad de cristalización y de caramelización (Benjumea y Correa, 2011).

5.2 Poder edulcorante

Una de las características principales de los azúcares de bajo peso molecular (monosacáridos y disacáridos) es su poder edulcorante, que depende de diversos factores:

1. Cuando se encuentran en soluciones acuosas sufren cambios de reordenamiento aldosa-cetónico, conocidos como tautomería, produciendo mezcla de epímeros al igual que formación de isómeros α y β con la propiedad de mutarrotación; estos cambios favorecen la aparición de isómeros de posición de los grupos hidróxilo (-OH) de la molécula del azúcar, por lo que la interacción de los grupos OH de carbohidratos con los quimiorreceptores de las papilas gustativas no será siempre igual.

2. El dulzor de los azúcares varía con la temperatura a la cual se hace el análisis; así, se observa que cuando se compara el sabor de soluciones de D-fructosa y de sacarosa con la misma concentración, la D-fructosa es más o menos 1,4 veces más dulce que la sacarosa cuando las soluciones están a 5° C, mientras que si están a 40° C son igualmente dulces, y a 60° C la D-fructosa es solo 0,8 veces tan dulce como la solución de sacarosa. Esta propiedad de la D-fructuosa se aprovecha en la elaboración de bebidas refrescantes que se consumen normalmente.

3. El poder edulcorante está influenciado, además, por la presencia de otros componentes en el medio; así, tenemos que el etanol aumenta el poder dulce de la sacarosa, mientras que la carboximetil-celulosa, que es un aditivo utilizado ampliamente, lo enmascara. Las sustancias amargas, los ácidos y las sales interfieren con el sabor dulce. La presencia de maltol y de étil-maltol aumenta el poder edulcorante de la sacarosa; el primero reduce el 50% del umbral mínimo de percepción de los disacáridos (Ramírez 2006).

5.3 Stevia

En su forma natural, la hoja de la stevia es entre 10 y 15 veces más dulce que el azúcar común. Los esteviósidos tienen un poder edulcorante de 200 a 300 veces mayor que el azúcar, constituyendo un sustituto no calórico y seguro para los diabéticos (Soto y Val, 2002); durante cientos de años, los indígenas de Brasil y Paraguay han empleado estas hojas como endulzantes, contra la obesidad y la hipertensión, para disminuir el ácido úrico y como tónico del corazón. Además de ser un endulzante no calórico, la stevia ha sido reportada como hipoglicemiante e hipotensora (Sehar *et al.*, 2008). Actualmente, la stevia es usada en casi en todo el mundo para endulzar cientos de productos para diabéticos, particularmente bebidas no alcohólicas, alimentos y

medicinas. Los principales componentes endulzantes de la stevia son: steviol, steviolbiosido, steviosido, rebaudiosido A, rebaudiosido y dulcosida (Geuns, 2003; Abou-Arab *et al.*, 2010).

El aumento del consumo de azúcar (sacarosa) ha dado lugar a varios problemas nutricionales y médicos, como la obesidad; por lo tanto, los edulcorantes de bajas calorías han sido investigados para sustituirla. La stevia ha sido utilizada por los indios y los mestizos de Suramérica desde hace siglos como endulzantes de consumo corriente. Hoy en día, la stevia se utiliza como endulzante en América del Sur, Asia, Japón, China y en algunos países de Europa. Estudios toxicológicos han demostrado que este endulzante no tiene efectos mutagénicos, teratogénicos o cancerígenos, y que no produce reacciones alérgicas. Por lo tanto, la stevia se ha aplicado como sustituto de la sacarosa para el tratamiento de la diabetes mellitus, la obesidad, la hipertensión y la prevención de caries (Abou-Arab *et al.*, 2010).

5.4 Fructosa

La fructosa es un azúcar simple, con fórmula química $C_6H_{12}O_6$, similar a la de la glucosa; ambas se reducen fácilmente a sorbitol tanto *in vitro* como *in vivo*; la fructosa difiere por la presencia de un grupo ceto unido al carbono 2 de la molécula, en tanto la glucosa presenta un grupo aldehído en el carbono 1 (Pérez *et al.*, 2007).

Al igual que la sacarosa, se encuentra en el grupo de edulcorantes nutritivos reconocidos por la FDA (Food and Drug Administration). Estos edulcorantes tienen propiedades funcionales de acuerdo con sus características físicas (cristalización, viscosidad), microbianas (preservación, fermentación) y químicas (caramelización, antioxidante). Ambos azúcares proveen 4 kcal/g; sin embargo, una de las características principales es su poder edulcorante de 173, en tanto para la glucosa es de 74, y de 100 para la sacarosa, además de que presenta sinergia con otros edulcorantes. Entre sus principales fuentes naturales se encuentran las frutas y la miel, que incluso puede contener hasta 50% de este azúcar, y entre los alimentos industrializados se encuentran las bebidas carbonatadas, cereales, hamburguesas, salsa de tomate, mole, mermeladas, jugos y frutas en almíbar (Pérez *et al.*, 2007).

El aumento de la prevalencia en los países desarrollados y en algunos en vías de desarrollo de numerosas enfermedades de algún modo relacionadas con el consumo excesivo de calorías, tales como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y, especialmente, la obesidad, ha estimulado a la industria a desarrollar y producir diversos edulcorantes de bajo aporte calórico, que no alteren el dulzor que los consumidores exigen de los productos. La fructosa, con un poder edulcorante dos veces mayor que la sacarosa, es reconocida como segura y alternativa frente a otros azúcares, siendo recomendado su consumo por pacientes que sufren de diabetes mellitus tipo I y II (Hernández *et al.*, 2008).

5.5 Sacarosa

El azúcar de mesa o común es, prácticamente, 100% sacarosa; se hidroliza en glucosa y fructosa; se ha utilizado desde el año 400 a. de C. como conservante y edulcorante; actualmente es el azúcar más utilizada en la alimentación humana (Benjumea y Correa, 2011); es reconocida en la dieta humana como *table sugar* o azúcar añadido; está compuesta por los monosacáridos: glucosa y fructosa (Harvey, 1995).

5.6 Lactosa

Es el azúcar de la leche; está presente en proporción elevada en alimentos a los que se les añade leche en polvo; se obtiene tras coagulación, a partir del suero de la leche, como subproducto de la elaboración del queso (Benjumea y Correa, 2011). La lactosa en el yogur se digiere mejor que la lactosa en la leche (Martini *et al.*, 1991). A continuación se presentan algunos trabajos de investigación sobre el yogur, con estabilizantes y endulzantes.

6. Experimentos

6.1 Exopolisacáridos

6.1.1 OPTIMIZACIÓN DE UN MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE YOGUR DE UCHUVA

INTRODUCCIÓN

La uchuva es una frutade los Andes suramericanos; pertenece a la familia de las solanáceas y al género *Physalis*; cuenta con más de ochenta variedades, que se encuentran en estado silvestre y se caracteriza por tener un fruto azucarado y con buenos contenidos de vitaminas A y C (ácido ascórbico 20 mg/100 g de fruta), además de hierro y fósforo; su jugo presenta valores de pH entre 3,6 y 4,1 (Gutiérrez *et al.*, 2007). El objetivo del presente estudio es evaluar el efecto del medio de composición en la producción de exopolisacáridos durante el almacenamiento en la elaboración de yogur de uchuva.

METODOLOGÍA

Elaboración de yogur

La elaboración del yogur se basó en la metodología de Amatayakul *et al.* (2006). La figura 4 muestra el diagrama de elaboración; se utilizó un volumen de trabajo de 4L de leche entera pasteurizada, disponible en el mercado; se añadió 10% de azúcar concentrado de uchuva, y se inoculó con 0,05% de cultivo iniciador liofilizado, con presencia de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Se homogeneizó y se dividió el volumen de leche en 3 partes iguales (dos tratamientos y un control). El tratamiento 1 contenía extracto de levadura (5 g/L), citrato de amonio (2 g/L) y sulfato de magnesio (0,2 g/L); el tratamiento 2 contenía Tween 80 (1 g/L) y un control. Al finalizar el periodo de incubación, cada tratamiento se dividió en 5 partes iguales en envases de plástico de 250 mL, con tapa y debidamente etiquetados y refrigerados. Cada 6 días, durante un mes, se tomó una muestra de cada tratamiento y del control para determinar sinéresis, pH, exopolisacáridos y densidad.

Elaboración de concentrado de uchuva

Se obtuvo la uchuva en el mercado local; se lavó para eliminar suciedades y contaminantes, y se llevó a calentamiento de 95-98 °C durante 15 minutos para inactivar las enzimas pécticas. A continuación se añadió ácido cítrico de grado alimenticio, para precipitar la pectina, se agitó y, 20 minutos más tarde, se filtró con un lienzo para separar la semilla y la pectina del jugo de uchuva. El jugo ya filtrado se dejó concentrar con sacarosa y se envasó en recipientes de vidrio.

Medida de pH

El pH se determinó con un pH-metro marca Hanna, introduciendo el electrodo de vidrio y tomando la lectura cada hora.

Sinéresis

Para esta determinación se empleó el método de Charoenrein *et al.* (2008), y se utilizó una centrífuga marca Rotina. Se pesaron 50 gramos de cada uno de los tratamientos, y junto con el control se sometieron a centrifugación durante 20 minutos a una velocidad de 4000 rpm. Se obtuvo el peso del sobrenadante y se calculó el porcentaje de sinéresis relacionando el peso del líquido separado del yogur con el peso total del gel antes de centrifugar.

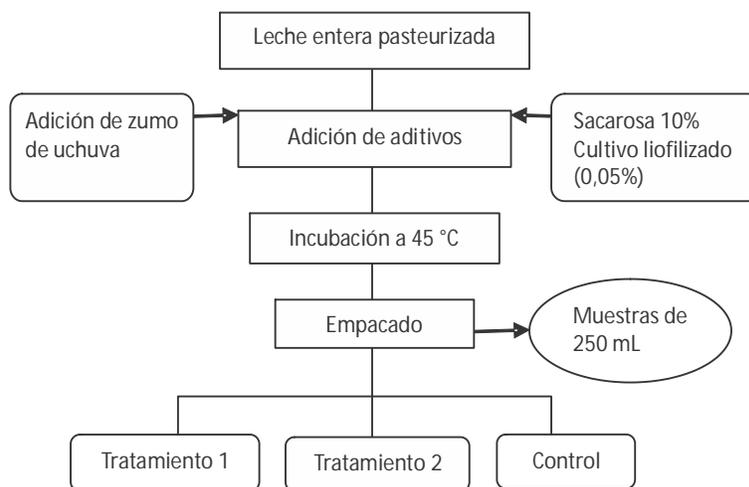


Figura 4. Elaboración de yogur

Densidad

La densidad se determinó a 15°C, por un método gravimétrico; se utilizó un picnómetro de capacidad volumétrica de 25 ml. Este método consistió en pesar inicialmente el picnómetro vacío y seco; posteriormente, se pesó el picnómetro con cada una de las muestras de yogur. El valor de la densidad se calculó mediante la relación entre la masa de la muestra dividido entre el volumen manejado.

Aislamiento y cuantificación de exopolisacáridos

Se desarrolló la metodología basada en gravimetría, utilizada por Schutten *et al.* (1999); para ello se tomaron 50 g de yogur, se agregaron 5 mL de ácido tricloroacético 80% y se centrifugó por 20 minutos a 4000 rpm; se separó el lactosuero de la caseína, se añadió igual volumen de etanol que de lactosuero, se centrifugó de nuevo por 15 minutos a 4000 rpm. El volumen obtenido se dejó reposar 24 horas para precipitar los EPS. Se secó el volumen obtenido en una estufa a 100°C hasta peso constante, y la cantidad de EPS fue determinada al medir el peso seco final.

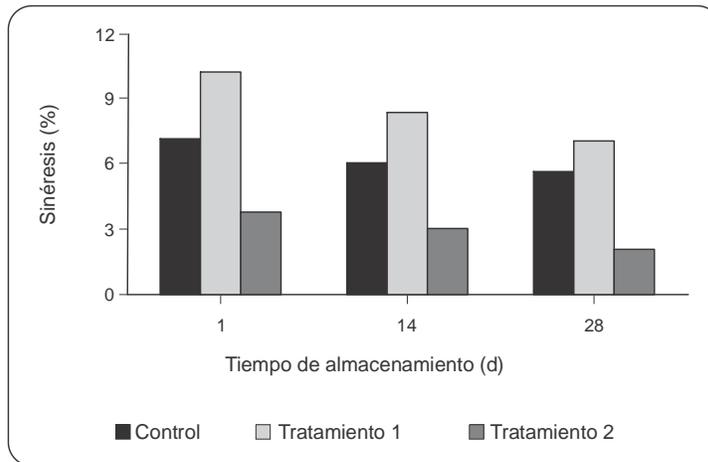
Análisis estadístico

El análisis estadístico aplicado a las características de pH, densidad, EPS y sinéresis de cada uno de los tratamientos fue el de varianza ANOVA; se utilizaron los promedios de cada característica entre los dos tratamientos, y se realizó la comparación con los datos obtenidos del control, para determinar la existencia de diferencias significativas o no significativas entre ellos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sinéresis

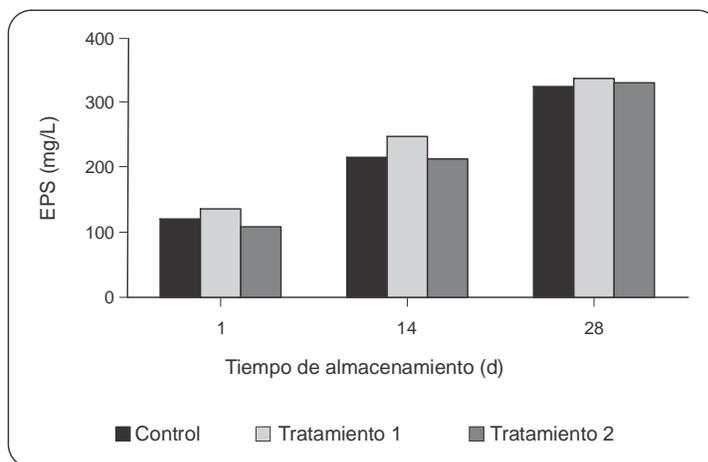
Se observa en la gráfica 1 que el tratamiento 2 redujo considerablemente el porcentaje de sinéresis desde el primer día hasta el final del almacenamiento; lo anterior en comparación con el tratamiento 1 y el control; estos resultados son similares a los obtenidos por Castillo *et al.* (2004), quienes al final del experimento en la elaboración de yogur encontraron 16% de sinéresis.



Gráfica 1. Comportamiento de la sinéresis durante el almacenamiento

Exopolisacáridos

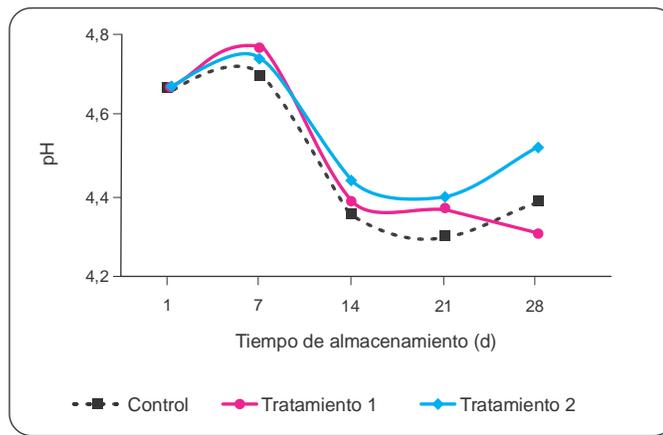
En la gráfica 2 se observa la concentración de exopolisacáridos respecto al tiempo; se detalla que hubo una producción similar entre los tratamientos y el control; sin embargo, al final del experimento el tratamiento 1 presentó un ligero incremento en la concentración respecto al control y al tratamiento 2; el extracto de levadura, citrato de amonio y sulfato de magnesio tuvieron un efecto estimulador en el cultivo iniciador sobre la producción de EPS; esta concentración es similar a la reportada en otros trabajos por Péant *et al.* (2005); en este estudio se inoculó *Lactobacillus* con medios de suplementación como triptófano 2 g/L, glucosa 40g/L y sales de amonio, encontrando valores de EPS de 498 mg/L.



Gráfica 2. Efecto del almacenamiento y tratamiento en la producción de exopolisacáridos

Comportamiento de pH

Los valores de pH se observan en la gráfica 3; se detalla que el tratamiento 2 presentó, a partir del día 14 de almacenamiento, los mayores valores hasta el final del experimento, y el tratamiento 1 al final del experimento tuvo el pH menor. Desde el inicio del almacenamiento hasta el día 14 los pH tuvieron un comportamiento similar entre sí. Estos resultados son equivalentes a los reportados por Sahana *et al.* (2008) en su investigación; allí reportaron un pH de 4,4 al final de la elaboración de un yogur comercial.

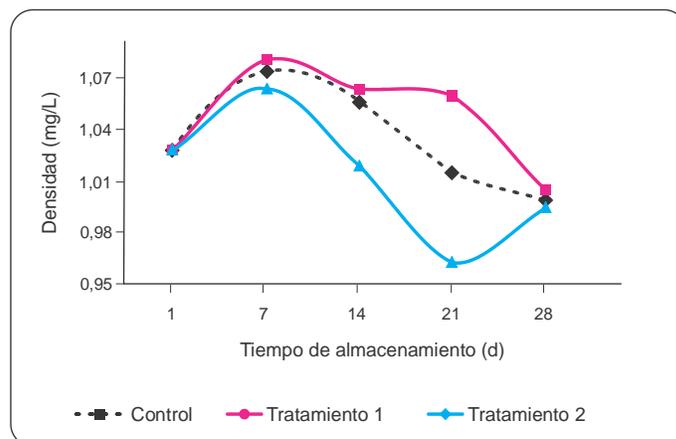


Gráfica 3. Desarrollo del pH durante el almacenamiento

Densidad

El tratamiento 2 presentó una menor densidad durante el experimento, mientras que en el tratamiento 1 la densidad fue mayor; sin embargo, al final del experimento las densidades fueron similares tanto en los tratamientos como en el control; estos resultados son equiparables a los obtenidos por Mendoza *et al.* (2007), que reportaron densidades de 1.033 g/ml el día 30, cuando se elaboró el yogur, como se observa en la gráfica 4. Este comportamiento permite analizar que a medida que las bacterias ácido-lácticas producen sustancias como resultado del metabolismo en el yogur, la densidad aumenta; caso contrario podría ocurrir cuando en vez de producir degradan mayor cantidad de compuestos de los que se producirían durante el metabolismo bacteriano.

En la tabla 2 se observa que no existe diferencia significativa en la interacción de los dos tratamientos y el control durante el tiempo de almacenamiento del yogur; existe un efecto significativo en los tratamientos utilizados en el almacenamiento de yogur.



Gráfica 4. Comportamiento de la densidad durante el periodo de almacenamiento

Tabla 2. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	11	111105,97	10100,54		
Tratamientos	2	112,7	56,35	1,88	5,14
Interacción	3	110777,44	36925,81	1232,09	4,76
Error	6	179,83	29,97		

G.L= Grados de libertad

S.C= Suma cuadrada

C.M= Cuadrados medios

CONCLUSIONES

- El tratamiento 2, que contenía extracto de levadura, citrato de amonio y sulfato de magnesio, presentó la menor sinéresis, así como el mayor pH al final del periodo de almacenamiento, y la menor densidad al terminar el tiempo de almacenamiento.
- Al final del periodo de almacenamiento la producción de exopolisacáridos se incrementó ligeramente en los tratamientos 1 y 2 respecto al yogur control.
- Bases nitrogenadas, sales de sulfato y amonio tween 80 tuvieron un efecto estimulador en las bacterias ácido-lácticas para la producción de exopolisacáridos.

6.1.2 EFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO BASADO EN LECHE PARA LA PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS DURANTE LA ELABORACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE YOGUR

INTRODUCCIÓN

Los polímeros microbianos tienen gran potencial para la comercialización en la industria láctea, gracias a su diversidad en estructura y a sus propiedades únicas, que les confieren un amplio rango de aplicaciones alimentarias (Tayeb y Khodair, 2006). El objetivo de este estudio es evaluar la producción de exopolisacáridos y el comportamiento de las propiedades fisicoquímicas al formular un medio basado en leche y nutrientes.

METODOLOGÍA

Se utilizaron 4L de leche ultrapasteurizada disponible en el mercado; se añadió 3% de leche en polvo y 10% de sacarosa, y se inoculó con 0,05% de cultivo iniciador liofilizado que contenía *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Se homogeneizó y se dividió en el volumen de leche en 3 partes iguales (tratamientos). El tratamiento 1 contenía *Tween* 80 (1g/L), citrato de amonio (2g/L) y glucosa (5 g/L); al tratamiento 2 se le añadió glucosa (5 g/L), y se hizo un tratamiento de control. Cada tratamiento se dividió en 7 partes iguales en frascos de plástico de 250 mL etiquetados y refrigerados. Cada 5 días, durante un mes, se tomó una muestra para determinar pH, acidez titulable y densidad.

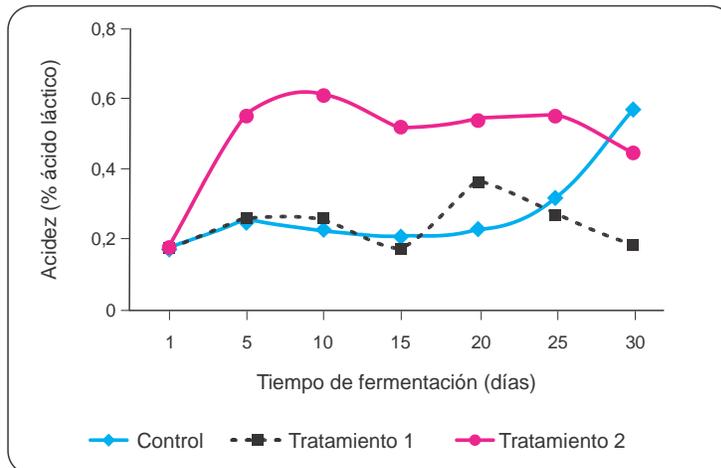
Análisis estadístico

El análisis estadístico aplicado a las características de pH, densidad y EPS de cada uno de los tratamientos se realizó con el método de varianza ANOVA; se utilizaron los promedios de cada característica entre los dos tratamientos y se realizó la comparación con los datos obtenidos del control, para determinar la existencia de diferencias significativas o no entre ellos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de acidez titulable

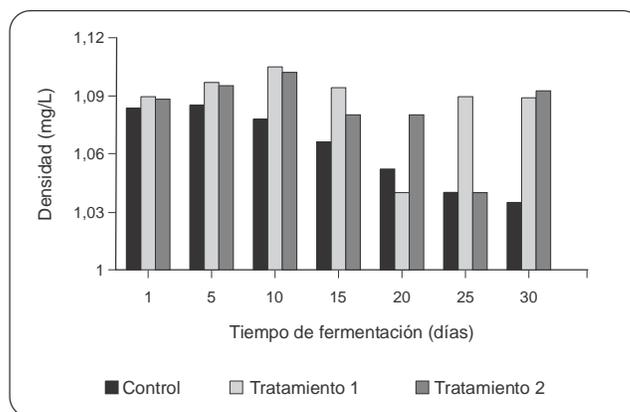
La acidez titulable se muestra en la gráfica 5; el tratamiento 2 mostró tener la mayor acidez, y el tratamiento 1, valores más bajos durante el experimento. Es importante destacar que en el tratamiento 2 la producción de ácido láctico fue siempre mayor; incluso se observa que la velocidad de producción de este ácido fue alta al principio del almacenamiento.



Gráfica 5. Acidez producida durante el almacenamiento de leche inoculada

Densidad

La densidad del control disminuía conforme transcurría el tiempo; para los tratamientos 1 y 2 las densidades fueron irregulares durante el experimento; sin embargo, la densidad final de los tratamientos fue similar (gráfica 6).



Gráfica 6. Comportamiento de la densidad durante el almacenamiento

En la tabla 3 se detalla que en el tratamiento 2 la producción de EPS fue superior en comparación con el tratamiento 1 y el control; sin embargo, se observa que en el día 15 de almacenamiento, el control tuvo mayor concentración de EPS que los dos tratamientos restantes, lo anterior podría ser atribuido al metabolismo de las bacterias ácido-lácticas y a los componentes propios de cada tratamiento.

Tabla 3. Concentración expresada en mg/L de exopolisacáridos producidos durante el tiempo de almacenamiento

Días	Tto. 1	Tto. 2	Control
1	58	109	75
15	70	62	90
30	120	177	143

Tabla 4. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	8	20458,19	2557,27		
Tratamientos	2	190,35	95,175	1,021	6,94
Interacción	2	19894,97	9947,48	106,92	6,94
Error	4	372,87	93,21		

G.L= Grados de libertad
S.C= Suma cuadrada
C.M= Cuadrados medios

En la tabla 4 se observa que existe un efecto significativo en los parámetros de acidez, densidad y EPS durante el almacenamiento de yogur al utilizar los dos tratamientos; no existe diferencia significativa en la interacción de los tratamientos durante el almacenamiento.

CONCLUSIONES

El tratamiento 2, que contenía glucosa, estimuló las bacterias ácido-lácticas para producir en mayor concentración exopolisacáridos al final del periodo de almacenamiento, respecto al tratamiento 1 y al control. Las propiedades físicas y químicas tuvieron un comportamiento similar entre sí durante los tratamientos.

6.2 Estabilizantes

6.2.1 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL YOGUR: EFECTO DE LA ADICIÓN DE GOMA XANTANA Y GOMA GUAR DURANTE EL PERIODO DE INCUBACIÓN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de añadir goma guar y goma xantana, en diferentes concentraciones, al yogur, y observar su comportamiento en el periodo de incubación.

METODOLOGÍA

Elaboración de yogur

La leche ultrapasteurizada destinada para la elaboración de yogur fue obtenida de una marca reconocida disponible en el mercado. Los estabilizantes utilizados fueron adquiridos de una marca nacional. La mezcla de cultivo iniciador liofilizado con contenido de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, de marca conocida, se adquirió en el mercado local; el diagrama de elaboración se detalla en la figura 5.

Medida de pH

Los valores de pH fueron medidos utilizando un pH-metro digital (Hanna); la medida se tomó cada hora a cada una de las muestras, hasta alcanzar un valor de 4,4.

Acidez titulable

La determinación de la acidez se efectuó a la temperatura de 4 °C. La titulación se realizó con hidróxido de sodio 0,1N, se tomó una muestra de 5 ml y se empleó como indicador solución alcohólica de fenolftaleína a una concentración de 1%.

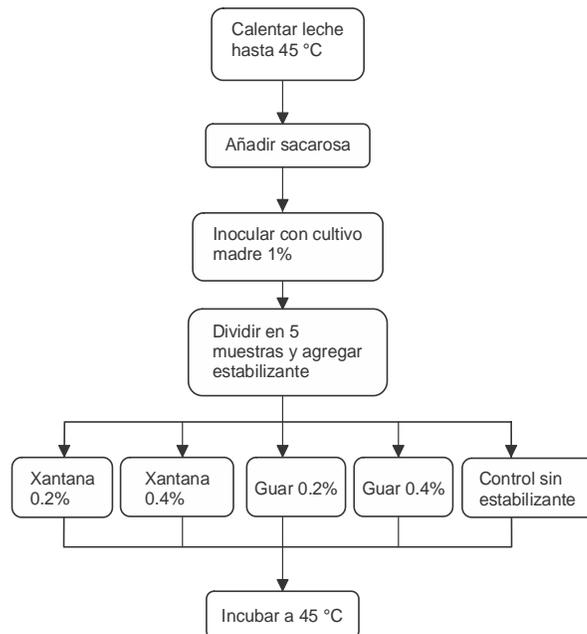


Figura 5. Elaboración de yogur

Densidad

La densidad se determinó a 15 °C con un método gravimétrico, utilizando un picnómetro de capacidad 25 ml (Mendoza *et al.*, 2007).

Sinéresis

Para esta determinación se utilizó una centrífuga marca Rotina. Se pesaron 50 gramos de cada una de las muestras de yogur con estabilizante, y del tratamiento control, y se sometieron a centrifugación durante 15 minutos a una velocidad de 4000 rpm. Se obtuvo el peso del sobrenadante y se calculó el porcentaje de sinéresis (Charoenrein *et al.*, 2008).

$$\% \text{ Sinéresis} = \frac{\text{Peso del líquido separado del yogur}}{\text{Peso total del gel antes de centrifugar}} \times 100$$

Viscosidad

Para esta evaluación se utilizaron volúmenes de 250 mL y un viscosímetro Brookfield. La lectura se tomó al inicio y al final del periodo de incubación.

Actividad de agua

La actividad de agua se realizó con un higrómetro (Aw testo AG 650). En una cápsula específica de plástico se introdujeron 5 gramos de la muestra; se tapó la cápsula y se dejó a temperatura de 20 °C en una cámara termostaticada, hasta que alcanzara una temperatura próxima a la del higrómetro; enseguida se introdujo en la cámara de medida para la determinación. La lectura digital de la Aw y de la temperatura en la pantalla de cristal líquido tuvo lugar generalmente en unos 10 minutos, momento en el que el aparato emitía una señal acústica.

Evaluación del periodo de fermentación

Se monitoreó el periodo de fermentación durante la elaboración de yogur, manteniendo la temperatura constante a 45 °C, en una incubadora marca Binder; el control se efectuó cada hora, hasta que el yogur alcanzó un pH de 4,6 o una acidez titulable en un rango de 0,75-0,85%, expresada en ácido láctico; se tomaron muestras por duplicado para realizar cada análisis.

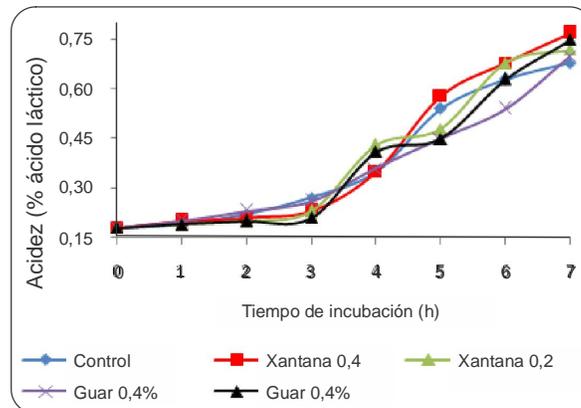
Análisis estadístico

El análisis estadístico aplicado a las características de pH, acidez titulable, densidad, sinéresis, viscosidad y actividad de agua de cada uno de los tratamientos fue el de

varianza ANOVA; se utilizaron los promedios de cada característica entre los 4 tratamientos y se realizó la comparación con los datos obtenidos del control para determinar la existencia de diferencias significativas o no significativas entre ellos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Acidez titulable

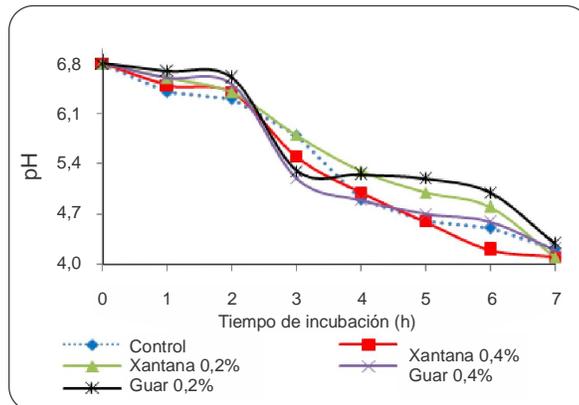


Gráfica 7. Comportamiento de la acidez con diferentes concentraciones de estabilizantes durante el tiempo de incubación de yogur

En la gráfica 7 se observa que los estabilizantes tuvieron un comportamiento similar hasta la tercera hora; a partir de ella el comportamiento varió: la goma xantana y la goma guar a distintas concentraciones tuvieron porcentajes de acidez diferentes; al final, la xantana 0,4% tuvo la acidez más alta, 0,77% de ácido láctico, y la acidez más baja correspondió al yogur control. Estos resultados son similares a los obtenidos por algunos investigadores (Soukoulis *et al.*, 2007) que estudiaron el efecto del periodo de incubación en el yogur utilizando diferentes estabilizantes, entre ellos xantana y goma guar; en el estudio de Soukoulis *et al.*, al final de la incubación, es decir, en la hora 5, el yogur con goma xantana tuvo una acidez de 0,90%, expresada en ácido láctico; con la goma guar la acidez final fue 0,95% de ácido láctico.

Comportamiento de pH

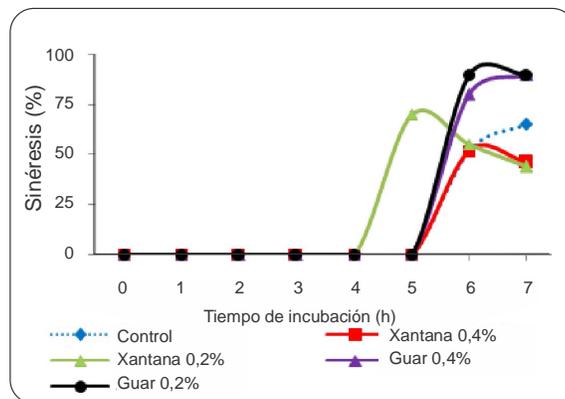
El comportamiento del pH se observa en la gráfica 8; se detalla que a partir de la hora 2 los valores varían considerablemente conforme transcurre el tiempo de incubación; sin embargo, al llegar a la hora 7 el pH fue muy similar entre los estabilizantes. La goma guar en una concentración de 0,2% presentó el pH más alto al final del experimento; el valor más bajo al final del experimento lo presentó el yogur que contenía goma xantana en ambas concentraciones. Al final de la incubación, el pH de las gomas utilizadas como estabilizantes fue de 4,3; este resultado fue similar al obtenido por otros investigadores (Soukolulis *et al.*, 2007), quienes reportaron al final del periodo de incubación un pH de 4,2.



Gráfica 8. Comportamiento de pH con diferentes concentraciones de estabilizantes durante el tiempo de incubación de yogur

Sinéresis

En la gráfica 9 se observa que la sinéresis durante la elaboración de yogur aparece en el tiempo de incubación que va de la hora 4 a la 5. La primera muestra que presentó la sinéresis fue la que contenía xantana al 0,2%, en la hora 4 de incubación; sin embargo, esta fue la muestra que al final del experimento mostró tener menor sinéresis (44%), el caso contrario se presentó con las gomas guar en ambas concentraciones.

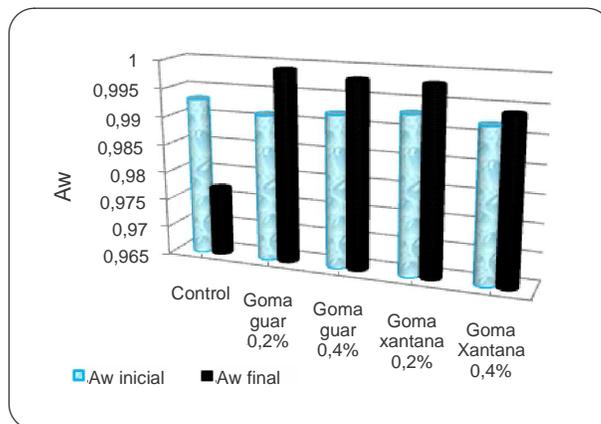


Gráfica 9. Comportamiento de la sinéresis a diferentes concentraciones de estabilizantes durante el tiempo de incubación de yogur

En el estudio realizado por Farooq y Haque (1992), el porcentaje de sinéresis para un yogur control fue de 53%, resultado relativamente similar al encontrado en nuestra investigación, el cual fue del 65%. Esta diferencia de porcentaje puede ser atribuida al hecho de no haber utilizado leche en polvo, con lo cual la sinéresis disminuiría hasta los valores reportados por otros investigadores.

Actividad de agua

En la gráfica 10 se detalla el comportamiento de la actividad acuosa (a_w) al inicio y al final del periodo de incubación; la actividad acuosa aumentó al final del periodo de incubación para las muestras que contenían estabilizante; para la muestra control ocurrió lo contrario, la A_w disminuyó al final del experimento.



Gráfica 10. Evaluación de la actividad acuosa de estabilizantes con diferentes concentraciones al inicio y al final del tiempo de incubación de yogur

Viscosidad

En la tabla 5 se encuentra el comportamiento de la viscosidad de las muestras con estabilizantes y de la muestra control al inicio del periodo de incubación y al final. Se observó que al final del experimento las muestras de yogur que contenían goma xantana presentaron las mayores viscosidades, mientras la muestra con goma guar a una concentración de 0,2% tuvo la viscosidad más baja. Estos resultados son comparables con los reportados por Soukolulis *et al.*, 2007, quienes en su trabajo inocularon leche descremada y entera sin estabilizantes, utilizaron las cepas *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, y estudiaron el tiempo de incubación; los valores encontrados al inicio fueron aproximadamente de 7 centipoises, datos similares a los encontrados en esta investigación; los valores reportados al final del experimento por los mismos investigadores (Soukolulis *et al.*, 2007) fueron de 200 centipoises a la 4 hora. Estos valores son más bajos que los encontrados en este trabajo debido a que se utilizaron gomas como agentes estabilizantes, factor que hizo incrementar las viscosidades.

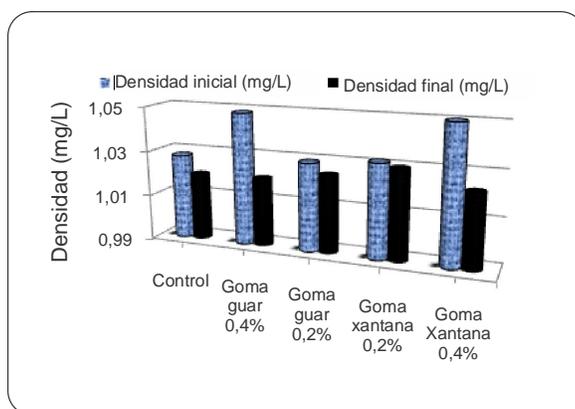
Tabla 5. Evaluación de la viscosidad de estabilizantes a diferentes concentraciones al inicio y al final del tiempo de incubación de yogur

Muestra	Viscosidad inicial (cPs)	Viscosidad final (cPs)
Control	5,76	260
Goma guar 0,2%	5,78	93,3
Goma guar 0,4%	5,74	480
Goma xantana 0,2%	5,76	1740
Goma xantana 0,4%	5,72	2529

Densidad

En la gráfica 11 se observa que las densidades finales de cada una de las muestras disminuyeron respecto a la densidad inicial; estos resultados son similares a los reportados por Mendoza *et al.*, 2007, quienes en sus investigaciones evaluaron el uso de estabilizantes en un yogur, y concluyeron que las densidades disminuían al transcurrir el tiempo. En el presente trabajo se observa, además, que las densidades de cada una de las muestras disminuyeron, tanto en la muestra control como en las que se aplicaron goma guar 0,4% y goma xantana 0,4%, que tuvieron comportamiento similar.

Estadísticamente, cada parámetro, como pH, acidez, densidad, Aw, viscosidad y sinéresis, presenta efectos significativos en el tiempo de incubación durante la elaboración de yogur utilizando goma guar y xantana en diferentes concentraciones; sin embargo, la interacción en la utilización de goma xantana y goma guar en diversas concentraciones demuestra que no existen diferencias significativas en el almacenamiento de yogur.



Gráfica 11. Evaluación de la densidad de estabilizantes a diferentes concentraciones al inicio y al final del tiempo de incubación de yogur

Tabla 6. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	29	2206732,36	76094,21		
Tratamientos	4	186840,19	46710,04	0,98	2,87
Interacción	5	1075818,69	215163,73	4,55	2,71
Error	20	944073,48	47203,67		

G.L= Grados de libertad

S.C= Suma cuadrada

C.M= Cuadrados medios

CONCLUSIONES

La goma xantana mostró su acción para disminuir la sinéresis durante la incubación, respecto a la goma guar y al control.

Las gomas xantana y guar en concentraciones de 0,4% presentaron las densidades más altas al inicio.

La goma xantana presentó, en sus dos concentraciones, las viscosidades más altas durante el experimento.

La actividad acuosa al final del experimento fue más alta para las gomas que para el control.

Las gomas empleadas a diferentes concentraciones lograron alcanzar los valores de pH y acidez deseables para la formación de gel de yogur.

6.2.2 EVALUACIÓN DE GOMA XANTANA, CELULOSA, PECTINA Y GELATINA EN LAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE YOGUR

INTRODUCCIÓN

Esta investigación se realizó en los laboratorios de alimentos de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, en Tunja. El principal objetivo fue evaluar la goma xantana, la celulosa, la pectina y la gelatina como estabilizantes en la elaboración del yogur tipo entero durante el periodo de incubación.

METODOLOGÍA

Se elaboró un yogur entero tipo batido no homogeneizado, siguiendo el proceso descrito por Amaya *et al.* (2008); para el presente estudio se utilizó leche ultrapasteurizada de marca reconocida adquirida en el mercado local, y se llevó a una temperatura de 45 °C. Para la inoculación de la leche se utilizó un cultivo iniciador liofilizado a una concentración de 0,05% que contenía *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*; se añadió sacarosa al 10% y leche en polvo al 3%. El volumen de leche se dividió en 9 partes: 8 muestras y un control; se tomaron 4 partes para la adición de estabilizantes a bajas concentraciones; en cada muestra se añadió un estabilizante: goma xantana 0,3%, celulosa 0,3%, pectina 0,2% y gelatina a una concentración de 3%; a las otras 4 partes se les añadieron estabilizantes en mayor concentración: goma xantana 0,7%, celulosa 0,7%, pectina 0,4% y gelatina 0,7%. El yogur control fue preparado siguiendo la misma metodología, pero sin la adición de estabilizantes. Todas las muestras se llevaron a 45 °C en una incubadora marca Binder y se detuvo el periodo de fermentación cuando las muestras tuvieron un pH de 4,5 o acidez titulable de 0,80-0,90%, expresada como ácido láctico. Cada hora se realizaron diferentes evaluaciones a cada tratamiento desde el momento de la incubación y hasta que la muestra alcanzó una acidez máxima de 0,90%.

Análisis de laboratorio

El valor de pH de las muestras de yogur fue medido a intervalos de una hora desde el inicio de la incubación hasta tener una acidez final de 0,80-0,90% de ácido láctico; el pH fue registrado usando un pH-metro marca Hanna (AOAC.1990); la acidez se efectuó por titulación con hidróxido de sodio de normalidad 0,1N, tomando un volumen de trabajo de 10 ml; como indicador se utilizó fenolftaleína al 1% (AOAC, 1990). Para la determinación de sinéresis se utilizó una centrifuga marca Rotina. Se pesaron 50 g de cada una de las muestras de yogur y se sometieron a centrifugación durante 15 minutos a una velocidad de 4000 rpm; se obtuvo el peso del sobrenadante y se calculó el porcentaje de sinéresis mediante la relación entre el peso de sobrenadante y el peso de la muestra (Charoenrein *et al.*, 2008). Los sólidos solubles expresados como grados Brix se determinaron cada hora, con un refractómetro marca Brixco (AOAC.1990).

Análisis estadístico

Para establecer si existen diferencias significativas entre las muestras de yogur durante el periodo de fermentación en cuanto a las características fisicoquímicas de las diferentes concentraciones de estabilizantes, los resultados se sometieron a un análisis estadístico ANOVA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

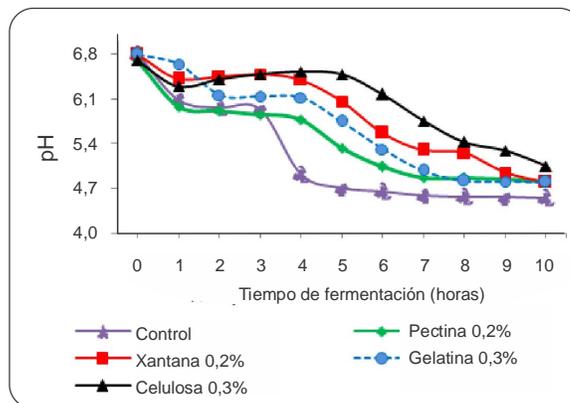
Comportamiento de pH

El pH es considerado una medida de control del tiempo de fermentación. Los resultados del comportamiento del pH de cada una de las muestras con bajas concentraciones de estabilizantes, durante el periodo de incubación de un yogur tipo entero, se muestran en la gráfica 12.

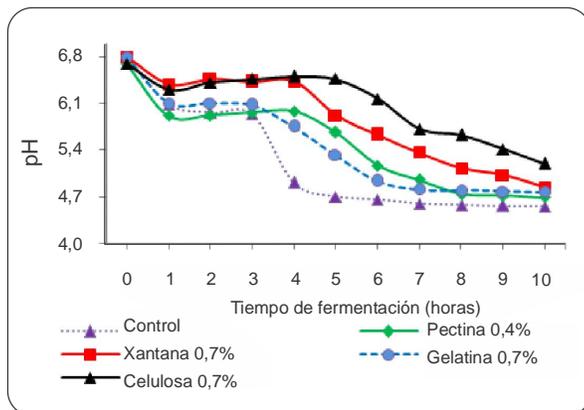
Los cuatro estabilizantes utilizados a concentraciones bajas no tuvieron un valor de pH superior al del yogur control durante todo el periodo de incubación. De los cuatro estabilizantes, la celulosa mostró tener la menor velocidad de descenso de pH; el caso contrario ocurrió con la pectina, que mostró tener una velocidad mayor de descenso de pH. Desde la hora 5 de fermentación y hasta el final, la muestra de yogur control tuvo pH constante de 4,7; las demás muestras que contenían estabilizantes tardaron más horas en llegar al valor óptimo del yogur, 4,7-4,9, en comparación con el control.

El comportamiento de los estabilizantes a concentraciones altas se observa en la gráfica 13; este comportamiento fue muy similar al que podemos ver en la gráfica 12. La gelatina mostró tener una velocidad de descenso más rápida, similar a la registrada en el yogur control; la celulosa, igual que en la gráfica 12, tuvo una velocidad de descenso lenta.

Olson y Aryana (2008), en su investigación con *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*, reportaron el valor de pH de 4,61 al final del periodo de incubación durante la elaboración de yogur; este valor fue similar al pH de los 4 estabilizantes utilizados en altas y bajas concentraciones, al final del periodo de incubación. De igual manera, Sahana *et al.* (2008) reportaron un pH de 4,4 al final de la elaboración de un yogur comercial.



Gráfica 12. Comportamiento del pH con diferentes estabilizantes a concentraciones bajas



Gráfica 13. Comportamiento del pH con diferentes estabilizantes a concentraciones altas

Acidez titulable

En la gráfica 14 se observan los resultados de la acidez titulable utilizando estabilizantes a concentraciones bajas durante el periodo de fermentación. En la gráfica 15 se puede ver que las muestras que contenían estabilizantes como la celulosa y la xantana a altas concentraciones tuvieron los valores de acidez más altos, mientras la pectina, al final de la fermentación, tuvo la acidez más baja.

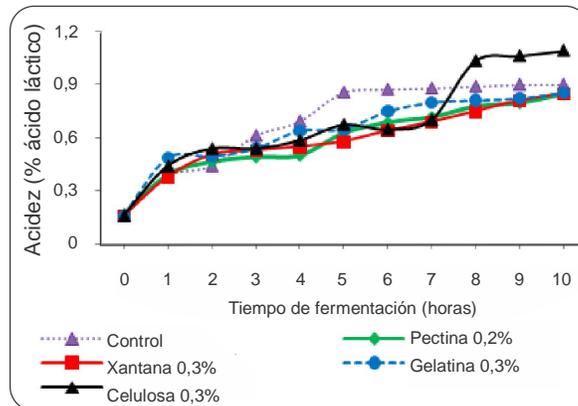
Las muestras de yogur que contenían celulosa registraron un comportamiento diferente al presentado con otros estabilizantes; la acidez mostrada fue la mayor, con 1,092%, expresada en ácido láctico; para las demás muestras el valor de acidez estuvo en promedio en un 0,85% de ácido láctico.

Las muestras que contenían xantana, gelatina y pectina tuvieron el mismo comportamiento durante el tiempo de fermentación; además, tuvieron valores de acidez un poco más bajos que el tratamiento control al final del tiempo de fermentación.

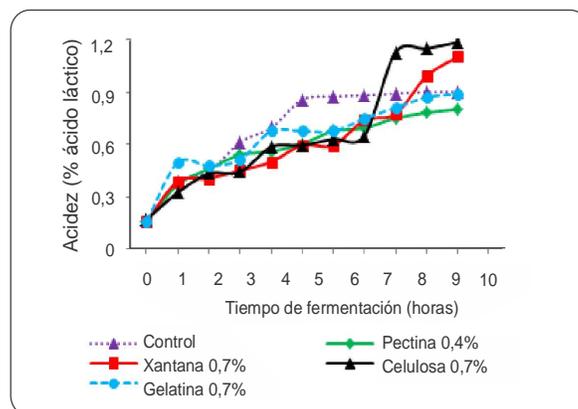
A partir de la hora 5 del tiempo de fermentación, el porcentaje de acidez para el yogur control fue constante (0,85%), hasta el final del experimento; las demás muestras necesitaron más horas de fermentación por parte del cultivo iniciador para llegar al valor óptimo de acidez del yogur. Estos cambios de acidez son, básicamente, el resultado de las transformaciones bioquímicas presentes en el yogur (Díaz *et al.*, 2004).

Al aumentar la concentración de gelatina aumentó la acidez final. Resultados similares fueron reportados por Supavitipatana *et al.* (2008), quienes en su investigación registraron un valor final de acidez titulable de 0.9%, expresada en porcentaje de

ácido láctico; ellos utilizaron diferentes niveles de concentración y concluyeron que al aumentar la concentración aumentaba la acidez final. Briceño *et al.* (2001) mencionan que los valores en porcentaje de ácido láctico en yogur al final de la preparación oscilan entre 0,9 y 1,2%. Sahana *et al.* (2008) reportaron un valor final de acidez de 0,11% de ácido láctico utilizando hidrocoloides. Los valores de acidez de estos estudios son similares a los encontrados en el presente estudio bajo la aplicación de estabilizantes como gelatina, xantana, celulosa y pectina.



Gráfica 14. Comportamiento de la acidez con diferentes estabilizantes a concentraciones bajas



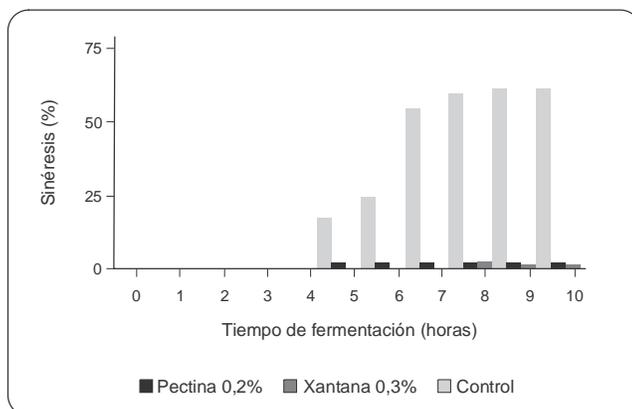
Gráfica 15. Comportamiento de la acidez con diferentes estabilizantes a concentraciones altas

Sinéresis

Las muestras de yogur que contenían celulosa 0,3%, gelatina 3%, goma xantana 0,7%, celulosa 0,7%, pectina 0,4% y gelatina 0,7% no presentaron sinéresis durante el tiempo de fermentación. Caso contrario ocurrió con las concentraciones bajas de pectina y goma xantana, que fueron las únicas muestras que presentaron sinéresis, pero en muy bajo porcentaje.

El porcentaje de sinéresis del yogur control fue de 61%, mientras que con el uso de pectina y goma xantana en bajas concentraciones fue de 2,5% y 2%, respectivamente. Los porcentajes de la sinéresis indican claramente que la adición de pectina, goma xantana, gelatina y celulosa disminuyen la sinéresis, debido a la elevada capacidad de retención de agua de estos hidrocoloides. Castillo *et al.* (2004) mostraron en su investigación que al utilizar pectina en la elaboración de yogur a una concentración de 0,2% se presentaba un 7,8% de sinéresis, y al utilizar 0,4% de pectina, la sinéresis era de de 8%. Estos resultados pueden considerarse similares a los mostrados en la gráfica 16, debido a que se utilizó leche en polvo en todos los tratamientos; esto hizo que se haya dado una disminución aún mayor en el grado de sinéresis.

En el estudio realizado por Farooq y Haque (1992), el porcentaje de sinéresis para un yogur control fue del 53%, resultado similar al encontrado en nuestra investigación, con un 62%. Supavititpatana *et al.* (2008) reportaron en su estudio que al incrementar los niveles de gelatina en un yogur hecho con leche de maíz se reducía la sinéresis, lo que podría ser atribuido a la capacidad de retención de agua de este hidrocoloide y a la inmovilización efectiva de la fase acuosa por la gelatina en la red de yogur, que también reduce significativamente la sinéresis. Esta disminución de sinéresis puede ser atribuida, además, al excesivo reordenamiento de las partículas que constituyen la red del gel. En la gráfica 16 se observa que la utilización de estabilizantes redujo casi en su totalidad la sinéresis en las muestras de yogur.



Gráfica 16. Comportamiento de la sinéresis con diferentes estabilizantes a concentraciones bajas

Sólidos solubles

Se puede observar en las tablas 7 y 8 el comportamiento de los sólidos solubles. A medida que transcurre el tiempo de fermentación, los sólidos solubles van disminuyendo. El yogur control mostró, durante el tiempo de fermentación, la tendencia a ser la muestra que mantenía los valores más bajos durante el periodo de incubación. Es de destacar que, independientemente del uso de concentraciones altas o bajas de estabilizantes, al final de la fermentación los sólidos solubles tuvieron el mismo comportamiento.

Tabla 7. Comportamiento de los sólidos solubles durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones altas de estabilizantes

Tiempo de fermentación	Control	Celulosa 0,7%	Xantana 0,7%	Pectina 0,4%	Gelatina 0,7%
0	22	21	21	20	22
1	21	21	22	22	23
2	20	21	21	23	22
3	20	19	21	22	21
4	17	20	23	22	23
5	16	22	22	17	20
6	16	20	20	17	18
7	16	17	17	17	17
8	15	17	16	17	16

Tabla 8. Comportamiento de los sólidos solubles durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones bajas de estabilizantes

Tiempo de fermentación	Control	Celulosa 0,3%	Xantana 0,3%	Pectina 0,2%	Gelatina 0,3%
0	22	21	21	21	21
1	21	21	21	21	22
2	20	21	21	23	22
3	20	19	20	23	21
4	17	20	23	22	21
5	16	22	22	22	18
6	16	20	22	17	16
7	16	17	17	17	17
8	15	17	16	17	17

Tabla 9. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	35	2793,02	79,80		
Tratamientos	8	207,62	25,95	0,96	2,36
Interacción	3	1942,86	647,62	9,07	3,01
Error	24	642,54	26,77		

G.L= Grados de libertad

S.C= Suma cuadrada

C.M= Cuadrados medios

Estadísticamente, el pH, la acidez, la sinéresis y los sólidos solubles tienen efectos significativos sobre la pectina, la goma xantana y el control durante el tiempo de fermentación en la elaboración de yogur; sin embargo, la interacción entre la pectina y la xantana y el control demuestra que no existen diferencias significativas en el tiempo de fermentación.

CONCLUSIÓN

Al utilizar diferentes concentraciones del mismo estabilizante no se encontraron diferencias en los análisis fisicoquímicos; además, los diferentes estabilizantes mostraron tener un comportamiento fisicoquímico diferente. Con excepción de la pectina y la xantana a concentraciones bajas, los demás estabilizantes a bajas y altas concentraciones no presentaron sinéresis durante el periodo de fermentación.

6.2.3 EFECTOS DE LA CARBOMETILCELULOSA EN ALGUNAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL YOGUR DURANTE EL PERIODO DE INCUBACIÓN

INTRODUCCIÓN

Los estabilizantes en productos alimenticios han sido empleados desde hace más de medio siglo; pero un buen rango ellos han sido incorporados recientemente en la elaboración de alimentos (Shane *et al.*, 2006). El objetivo del presente estudio fue evaluar la carboximetilcelulosa (CMC) en diferentes concentraciones como agente estabilizante en la elaboración de yogur.

METODOLOGÍA

Para la elaboración del yogur se utilizó leche entera ultrapasteurizada; se añadió 10% de sacarosa como agente endulzante, 0,05% de cultivo liofilizado de marca comercial que contenía las cepas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y

Streptococcus thermophilus; el volumen de leche se dividió en 3 partes: tratamiento 1, que contenía carboximetilcelulosa (CMC) en polvo con una concentración de 0,4%; tratamiento 2, con una concentración de 0,8% de CMC en polvo, y un control, que no contenía el estabilizante. Cada tratamiento, al igual que el control, se dividió en 6 partes, que fueron empacadas en recipientes de plástico de 250 mL; todas las muestras se llevaron a 45 °C en una incubadora marca Binder; cada hora se tomó una muestra de los dos tratamientos y del control; se midió pH, acidez, densidad y sinéresis; el experimento finalizó cuando las muestras tuvieron una acidez máxima de 0,90% de ácido láctico o pH de 4,7.

Análisis estadístico

El método estadístico aplicado a las características fisicoquímicas de cada uno de los tratamientos fue el análisis de varianza ANOVA; se utilizaron los promedios de cada característica entre los dos tratamientos y se realizó la comparación con los datos obtenidos del control para determinar la existencia de diferencias significativas o no entre ellos.

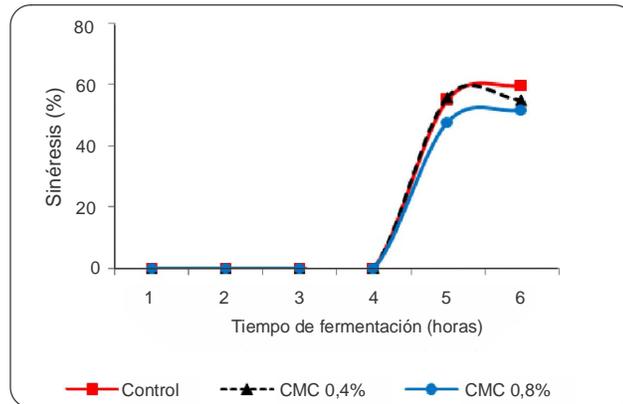
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de sinéresis

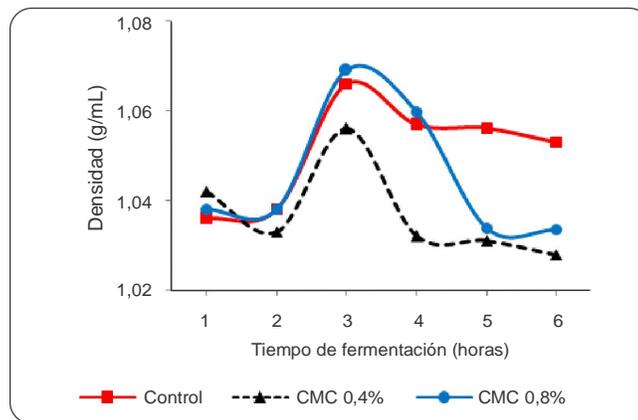
En la gráfica 17 se detalla que la carboximetilcelulosa (CMC) y el control tuvieron un comportamiento similar; sin embargo, el control presentó un ligero incremento en el porcentaje, además, es importante destacar que ninguna de las dos concentraciones de CMC usadas afectó los valores de sinéresis. Lo anterior es explicado por Achanta *et al.* (2007), quienes mencionan que estos cambios se deben a la contracción de la micela de caseína que causa eliminación de lactosuero, y que al transcurrir el tiempo el porcentaje de sinéresis va en aumento.

Densidad

El comportamiento de la densidad se observa en la gráfica 18; la CMC a diferentes concentraciones tuvo un comportamiento similar al final del experimento; para el control la densidad fue mayor.



Gráfica 17. Resultados de la sinéresis durante el periodo de fermentación



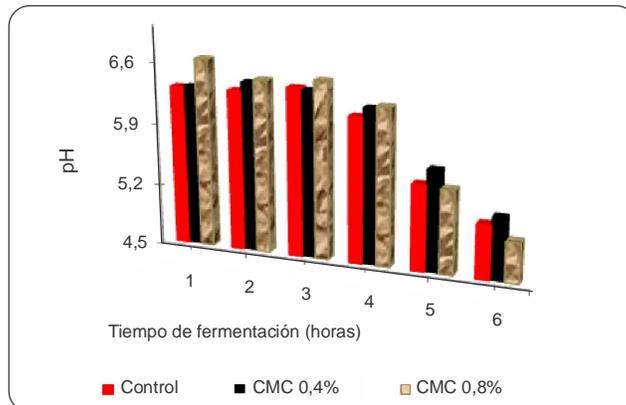
Gráfica 18. Comportamiento de la densidad durante el periodo de incubación

Comportamiento de pH

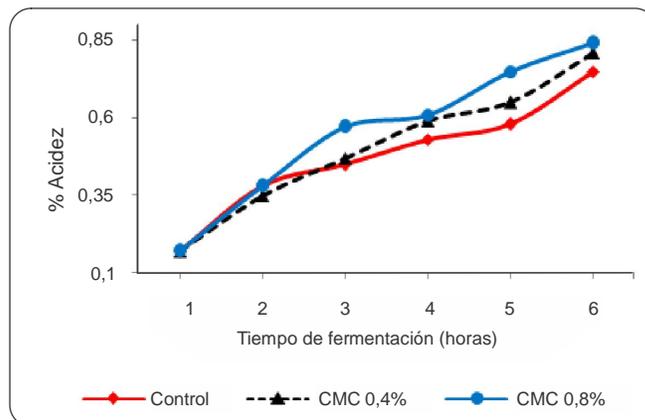
Al observar el comportamiento del pH (gráfica19) se puede afirmar que durante las semanas del estudio no hubo variaciones significativas en los valores de los tratamientos con diferentes concentraciones de CMC ni en el de control. Los anteriores resultados fueron similares a los obtenidos por Soukoulis *et al.* (2007) con el uso de gomas durante la elaboración de yogur en el tiempo de incubación.

Acidez titulable

En la gráfica 20 se observa que la CMC 0.8% presentó mayor acidez durante la incubación respecto a la CMC 0,4% y el control; al final del experimento la acidez de las 3 muestras alcanzó valores similares. Los valores de la gráfica 20 son equivalentes a los que mencionan Briceño *et al.* (2001), quienes establecen el valor límite de la acidez expresada en ácido láctico en un 0,9%.



Gráfica 19. Comportamiento de pH a diferentes concentraciones de CMC durante el tiempo de fermentación de yogur



Gráfica 20. Resultados de la acidez durante el período de incubación

Tabla 10. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	11	4250,7	386,42		
Tratamientos	2	193,19	96,59	1,00	5,14
Interacción	3	3483,55	1161,18	12,13	4,76
Error	6	573,96	95,66		

G.L= Grados de libertad

S.C= Suma cuadrada

C.M= Cuadrados medios

Estadísticamente, cada parámetro fisicoquímico en los tratamientos tiene un efecto significativo durante el tiempo de fermentación, y en el almacenamiento de yogur; sin embargo, no existen diferencias significativas entre ellos.

CONCLUSIONES

Las diferentes concentraciones de CMC utilizadas en el yogur tienen el mismo comportamiento que el yogur control para la sinéresis.

A partir de la hora 5 de fermentación la sinéresis se mantuvo constante hasta la terminación del experimento.

El pH de las dos concentraciones con CMC y del yogur control tuvo un comportamiento similar en los grupos durante el tiempo de fermentación.

La acidez titulable presentada por las diferentes concentraciones con CMC y por el yogur control arrojó resultados muy similares durante el tiempo de fermentación.

Las dos concentraciones de CMC presentaron densidades similares al final del experimento.

La utilización de diferentes concentraciones de CMC produjo comportamientos fisicoquímicos similares, lo cual indica que su empleo en cantidades pequeñas tiene el mismo efecto que en cantidades mayores.

La CMC es un estabilizante viable en la elaboración de yogur.

6.2.4 EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DE UN YOGUR A PARTIR DE GULUPA (*PASSIFLORA EDULIS*) Y ALMIDÓN DE SAGÚ (*CANNA EDULIS*) DURANTE EL ALMACENAMIENTO

INTRODUCCIÓN

La fruta de pasión púrpura o gulupa (*Passiflora edulis Sims.*) es originaria del sur de Brasil, y fue ampliamente distribuida durante el siglo XIX a otros países de América del Sur, el Caribe, Asia, África, India y Australia. Esta fruta es valorada no solo por su sabor y aroma, sino por su contenido nutricional, pues es fuente de provitamina A, niacina, riboflavina y ácido ascórbico (Pinzón *et al.*, 2007).

El propósito de este trabajo fue elaborar y caracterizar una bebida láctea fermentada a partir de gulupa, utilizando diferentes concentraciones de almidón de sagú antes del periodo de incubación.

METODOLOGÍA

La gulupa fue adquirida en el mercado de la ciudad de Tunja, y el sagú, en la población de San Mateo (Boyacá). Se realizó el experimento en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, en Tunja.

Extracción de almidón

El sagú fue cuidadosamente seleccionado y lavado con agua potable; cortado en piezas de tamaño entre 5 y 10 mm, y secado hasta lograr un peso constante. Posteriormente las piezas se dejaron durante 24 horas en solución de hidróxido de sodio 0,2% (p/v). Después, los tubérculos fueron molidos y se filtró todo con papel filtro. La capa de líquido fue descartada, y la impureza superficial del almidón, erradicada. Subsecuentemente, la fracción de almidón fue lavada varias veces con agua destilada, hasta alcanzar un pH neutral. La suspensión de almidón obtenida fue secada en un horno a 50°C hasta lograr un peso constante, obteniéndose así un polvo muy fino de color blanco (Yuan *et al.*, 2007).

Elaboración del yogur

Para elaborar el yogur de gulupa se empleó el método utilizado por Amatayakul *et al.* (2006), descrito en la figura 6; con el fin de evaluar el almidón de sagú como base para la elaboración de yogur, la leche se dividió en 3 partes: 2 partes se tomaron para la adición de almidón de sagú, y la tercera, con leche en polvo descremada, se utilizó como grupo control. Todos los grupos fueron monitoreados durante 2 semanas.

Análisis fisicoquímicos

Densidad

La densidad se determinó a 15 °C mediante un método gravimétrico, utilizando un picnómetro con capacidad de 25 mL (López-Malo, 2000).

Sinéresis

Para esta determinación se utilizó el método propuesto por Charoenrein *et al.* (2008), con una centrífuga marca Rottina; se pesaron 20 gramos de cada una de las muestras de yogur.

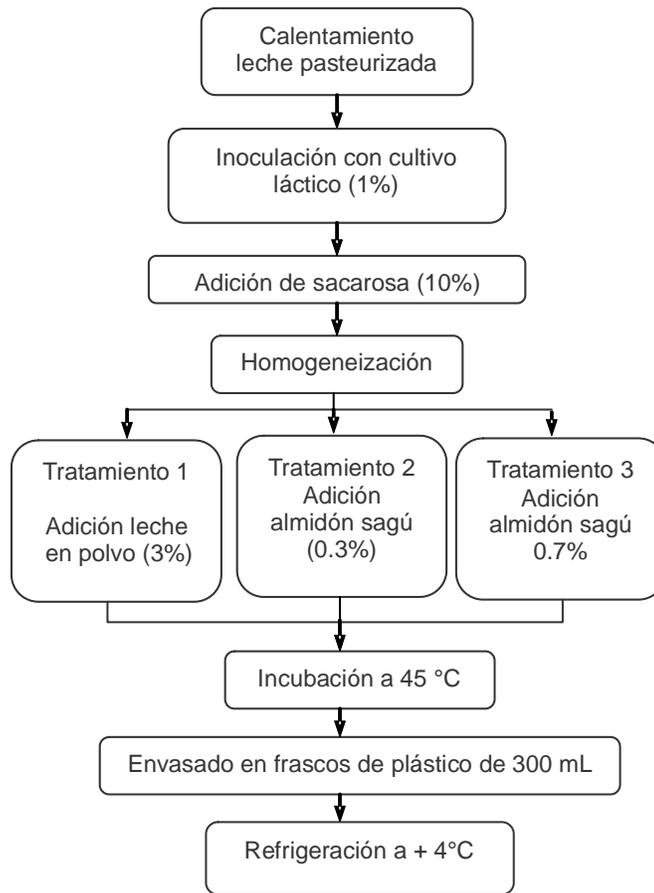


Figura 6. Elaboración de yogur

Actividad del agua

La actividad del agua se estudió con un equipo medidor de Aw testo AG 650. En una cápsula de plástico específica se introdujeron 5 gramos de la muestra, se tapó y se dejó a una temperatura de 20°C en una cámara termostatzada hasta que alcanzara una temperatura próxima a la del higrómetro. Se introdujo en la cámara de medida para la determinación. La lectura digital de la Aw y de la temperatura en la pantalla de cristal líquido tuvo lugar generalmente en unos cinco minutos, momento en el que el aparato emitía una señal acústica.

pH

El pH fue medido utilizando un pH-metro digital Hanna con electrodo de vidrio estandarizado a 45 °C en un rango de 6,8 a 4,0. La medida de pH se tomó en cada una de las muestras hasta alcanzar un valor de 4,4.

Acidez

La determinación de acidez se efectuó a temperatura de 4 °C, siguiendo la metodología de López-Malo (2000).

Grados Brix

Esta medida se realizó con un refractómetro marca Brixco modelo 3090, rango 0-90%.

Análisis microbiológicos

El método estándar de vertido en placa fue utilizado para determinar el conteo de microorganismos iniciadores. Agar MRS fue utilizado para el conteo de *Lactobacillus bulgaricus*; las cajas de Petri fueron incubadas a 37°C durante 48 horas bajo condiciones anaeróbicas. Alternamente se realizaron análisis microbiológicos en agar Plate Count para microorganismos mesófilos; en ambos casos se siguió la metodología utilizada por Supavitpatana *et al.* (2008).

Evaluación sensorial

Para la evaluación sensorial del yogur con almidón de sagú y gulupa fueron seleccionados al azar veinte panelistas no entrenados. Una lista predeterminada de atributos fue utilizada para describir las características sensoriales del yogur (Hui, 1993; Tamime, 2003). Las muestras fueron codificadas utilizando 3 números al azar, y se sirvieron en copas plásticas de 125 mL. Las muestras fueron evaluadas a través de una prueba de escala hedónica de nueve puntos (Anzaldúa-Morales, 2005) que se describe a continuación:

Descripción del valor

Me gusta muchísimo	+4
Me gusta mucho	+3
Me gusta bastante	+2
Me gusta ligeramente	+1
Ni me gusta ni me disgusta	0
Me disgusta ligeramente	-1
Me disgusta bastante	-2
Me disgusta mucho	-3
Me disgusta muchísimo	-4

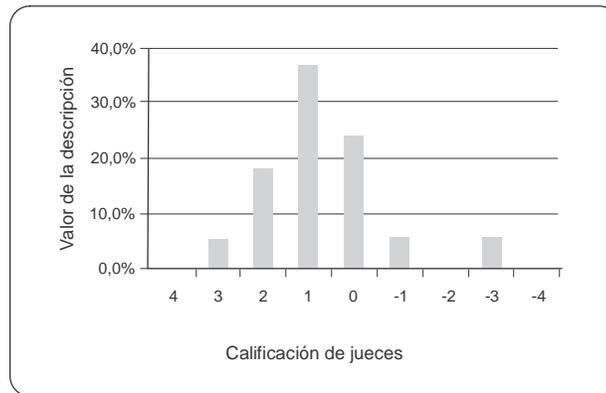
Análisis estadístico

Con el fin de establecer si existían diferencias significativas entre las muestras de yogur de gulupa que contenían almidón de sagú durante el almacenamiento, en cuanto a las características físicas y químicas, los resultados obtenidos con las pruebas sensoriales se sometieron a un análisis ANOVA.

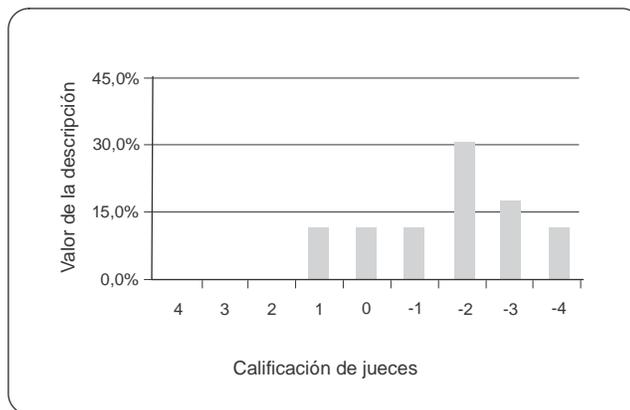
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis sensorial

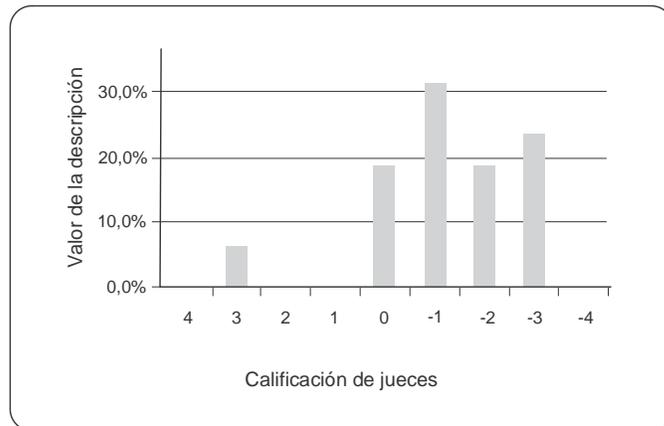
Las gráficas 21, 22 y 23 muestran las preferencias de los panelistas. Según los resultados obtenidos y plasmados en las gráficas para las muestras de yogur, se encontró que el yogur de gulupa que contenía almidón de sagú a una concentración de 0,3% tuvo mayor aceptabilidad, mientras que el yogur con almidón de sagú al 0,7% presentó menor aceptabilidad entre los panelistas.



Gráfica 21. Evaluación sensorial de yogur de gulupa con almidón de sagú al 0.3%



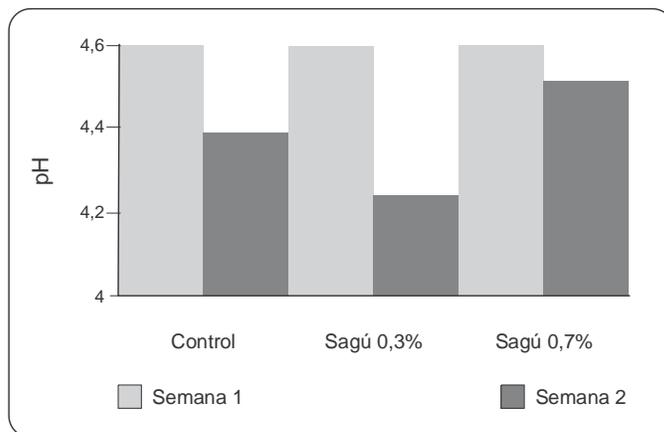
Gráfica 22. Evaluación sensorial de yogur de gulupa con almidón de sagú al 0.7%



Gráfica 23. Evaluación sensorial de yogur de gulupa con leche en polvo al 3.0%

En la gráfica 24 se observa que el valor del pH disminuyó durante el almacenamiento en los 3 tratamientos, esto se debe a la producción de ácido láctico (Briceño *et al.*, 2001; Olson y Aryana, 2008). Briceño *et al.* (2001), en sus trabajos con yogur, encontraron que al final del periodo de almacenamiento el pH disminuía de 4,3 a 4,1. El yogur que contenía almidón de sagú al 0,3% con gulupa presentó al final del almacenamiento un menor pH, en comparación con los dos tratamientos restantes; esta importante disminución de pH se debe, posiblemente, a que el almidón de sagú en una concentración de 0,3% tuvo un efecto estimulador metabólico en las bacterias ácido-lácticas.

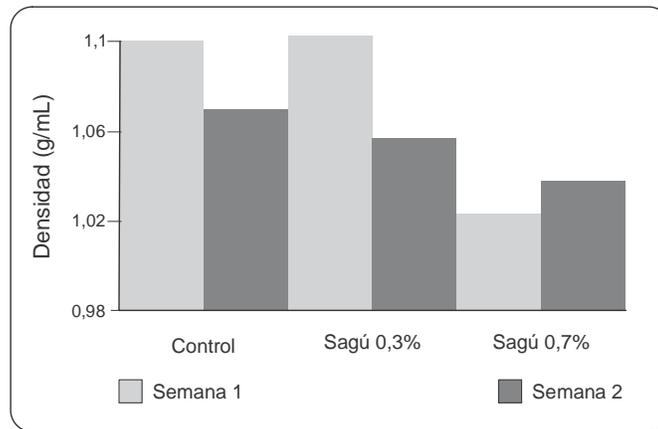
Comportamiento de pH



Gráfica 24. Comportamiento de pH en el almacenamiento de yogur de gulupa y almidón de sagú

Densidad

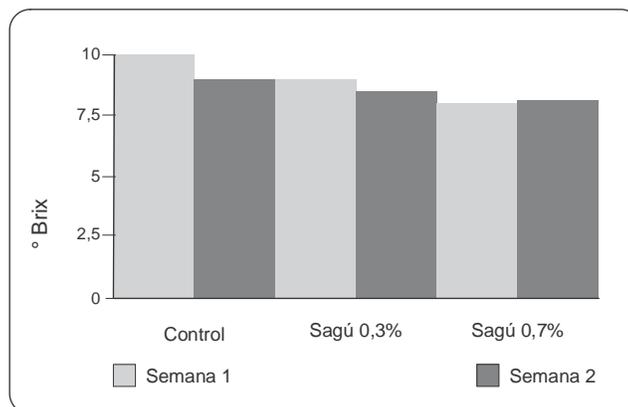
En la gráfica 25 se observa que las muestras de yogur control y almidón de sagú al 0,3% presentaron una disminución en las densidades durante el almacenamiento; estas disminuciones son similares a las obtenidas por Mendoza *et al.* (2007) en un estudio en el que utilizaron almidón de ñame en la elaboración de yogur, y, al final de las cuatro semanas de almacenamiento encontraron una importante disminución en las densidades.



Gráfica 25. Comportamiento de la densidad en el almacenamiento de yogur de gulupa con almidón de sagú

°Brix

El comportamiento del °Brix se observa en la gráfica 26, donde se detalla que las dos muestras de yogur que contenían almidón de sagú tuvieron menos °Brix que el yogur control, durante el almacenamiento.



Gráfica 26. °Brix en el almacenamiento de yogur de gulupa y almidón de sagú

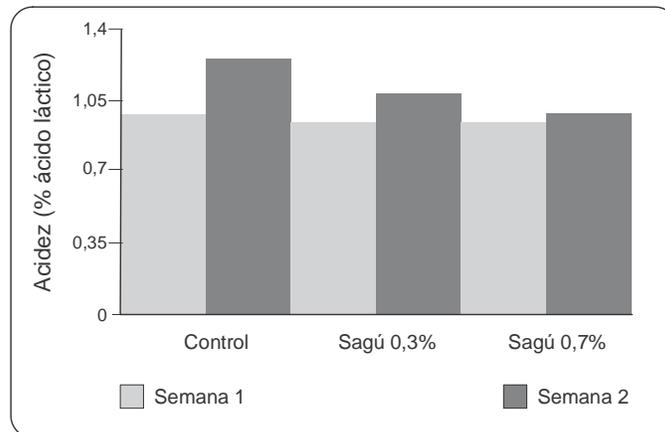
Acidez

En la gráfica 27 se observa que para los 3 tratamientos la acidez aumentó durante el almacenamiento, es de notar que la acidez en las muestras que contenían almidón de sagú no aumentó tan notoriamente en comparación con la muestra control. Al respecto, Díaz *et al.* (2004) mencionan que la acidez en el yogur aumenta ligeramente durante el almacenamiento debido a las transformaciones bioquímicas presentes en él durante la vida en anaquel. En trabajos realizados por Mendoza *et al.* (2007) la acidez de las diferentes muestras de yogur que contenían almidón de ñame, incluyendo el control, aumentaron el porcentaje de acidez al transcurrir las semanas de almacenamiento; igualmente, en el trabajo realizado por Briceño *et al.* (2001) se reportaron valores de acidez de yogur al inicio y al final del almacenamiento, que van del 0,84 al 1,00% de ácido láctico.

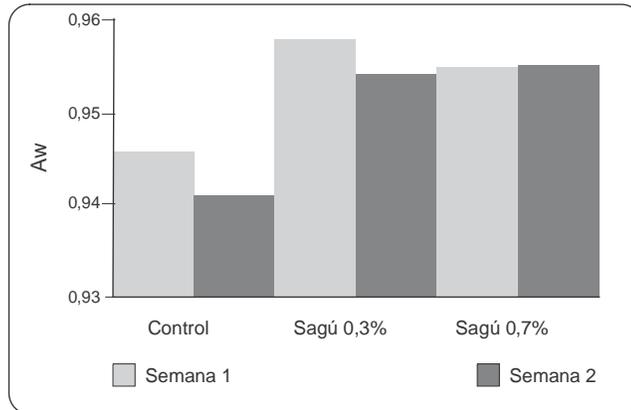
Aw

La actividad de agua (A_w) de las muestras de yogur de gulupa, sin que incida la concentración de almidón de sagú, siempre tuvo un valor superior al control; esto se debe al contenido de agua disponible en la gulupa.

Puede observarse también en la gráfica 28 que en la semana 2 los valores de A_w disminuían, debido, posiblemente, a que la red proteica de caseína del yogur ya establecida retiene agua.



Gráfica 27. Comportamiento de acidez en el almacenamiento de yogur de gulupa y almidón de sagú



Gráfica 28. Comportamiento de Aw en el almacenamiento de yogur de gulupa y almidón de sagú

Sinéresis

Los tres tratamientos mostraron tener un mismo valor de sinéresis: 75%, similar al obtenido por Supavitpatana *et al.* (2008), en cuyos estudios relacionados con el yogur y con diversos estabilizantes encontraron que el yogur control tuvo 76% de sinéresis; esto indica que el almidón de sagú no tiene efectos positivos en la sinéresis.

Análisis microbiológico

En la tabla 11 se observa que el almidón de sagú tuvo un efecto en la sobrevivencia y proliferación de bacterias ácido-lácticas al final del experimento. La adición de almidón de sagú antes de la fermentación influyó en el crecimiento y sobrevivencia de bacterias ácido-lácticas durante la producción y subsecuente almacenamiento en refrigeración de yogur. La microflora del yogur estuvo presente en alta proporción al finalizar el experimento.

Tabla 11. Recuento microbiológico en agar MRS y agar Plate Count

Agar	Control		Yogur sagú 0.3%		Yogur sagú 0.7%	
	INICIO	FINAL	INICIO	FINAL	INICIO	FINAL
MRS	1,0x10 ⁴ UFC/mL	Incontable	1,0x10 ⁴ UFC/mL	Incontable	1,0x10 ⁴ UFC/mL	Incontable
Plate Count	2,56x10 ³ UFC/mL	Incontable	2,56x10 ³ UFC/mL	Incontable	2,56x10 ³ UFC/mL	3,5x10 ³ UFC/mL

Análisis estadístico

En el tabla 12 se detalla el análisis estadístico; en ella puede verse que existe un efecto significativo entre la interacción de la concentración de almidón utilizado y las respuestas de las variables estudiadas; en cambio, no existe diferencia significativa al utilizar almidón de sagú en la elaboración de yogur de gulupa; con respecto a los dos tratamientos con diferentes concentraciones de almidón de sagú se puede decir que los resultados en este campo no se ven afectados.

Tabla 12. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	14	141,54	10,11		
Tratamientos	2	0,26	0,13	1,18	4,46
Interacción	4	140,37	35,09	319	3,84
Error	8	0,91	0,11		

G.L= Grados de libertad

S.C= Suma cuadrada

C.M= Cuadrados medios

CONCLUSIONES

La utilización de almidón de sagú y gulupa no influyó en la fermentación del yogur ni en la sobrevivencia de microorganismos en yogur durante un periodo de almacenamiento de 2 semanas, con una temperatura de 4°C; tampoco tuvo efectos en la actividad de agua y °Brix.

La gulupa y el almidón de sagú son aditivos o ingredientes óptimos para elaborar yogur, y ofrecen una alternativa nueva en el mercado de bebidas lácteas fermentadas en Colombia, aunque el nivel de aceptación aún no sea muy alto.

6.3 EDULCORANTES

6.3.1 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO FÍSICOQUÍMICO DE STEVIA Y FRUCTOSA A DIFERENTES CONCENTRACIONES DURANTE EL PERIODO DE INCUBACIÓN DE YOGUR

INTRODUCCIÓN

La tecnología de alimentos tiene en la actualidad un mayor número de edulcorantes para seleccionar y reemplazar la sacarosa. En la elaboración de alimentos y bebidas se está trabajando continuamente para proporcionar calidad sensorial a estos productos y responder a las expectativas de los consumidores (Porto y Andre, 2007).

En el ser humano la presencia de salud o enfermedad depende de la relación entre factores genéticos y medio ambiente. Aunque son muchos los factores que integran el medio ambiente y que se encuentran en continuo cambio, uno de los más importantes es la dieta, que nos proporciona gran cantidad de nutrimentos que tienen repercusiones tanto en la estructura como en el metabolismo celular. En los últimos años se ha observado un incremento en la prevalencia de enfermedades como la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2, que se han convertido en problemas de salud pública mundial; sin embargo, a pesar de los avances en las investigaciones médicas al respecto, en la prevención y el tratamiento de tales enfermedades los aspectos relacionados con la nutrición continúan llenos de incógnitas.

En general, un alto consumo calórico en forma de hidratos de carbono refinados se correlaciona positivamente con un incremento en el riesgo de resistencia a la insulina. Estudios recientes sugieren que la dieta específicamente alta en fructosa ha contribuido a la presencia de alteraciones metabólicas que se reflejan en ganancia de peso, diabetes mellitus tipo 2, hiperlipidemia e hiperuricemia (Pérez *et al.*, 2007).

El objetivo de este estudio fue determinar el comportamiento de la stevia y la fructosa aplicadas con diferentes concentraciones durante el periodo de incubación de yogur.

METODOLOGÍA

Preparación del yogur

El diagrama de elaboración de yogur que se muestra en la figura 7 corresponde a la metodología propuesta por Blanco *et al.* (2006). Se utilizó leche entera pasteurizada; para la inoculación se empleó un cultivo liofilizado que contenía cepas de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruekii* y *Bifidobacterium lactis*. Con el fin de observar el efecto de la adición de los edulcorantes se elaboraron muestras de yogur con 8% y 10% de fructosa, y concentraciones de 2,5% y 1,5% de stevia sin sacarosa. Estas concentraciones se seleccionaron previamente al realizar un análisis sensorial para constatar cuál era el nivel aceptable de dulzor en las muestras de yogur. Para observar el efecto se preparó un yogur control con 10% de sacarosa, y todos los demás aditivos en igual proporción, excepto la stevia y la fructosa; estos tres endulzantes fueron adquiridos en un supermercado local y de marcas reconocidas.

Evaluación del periodo de fermentación

Se monitoreó el periodo de fermentación durante la elaboración de yogur, manteniendo la temperatura constante a 45 °C en una incubadora Binder; los controles se efectuaron cada 60 minutos, y hasta que el yogur llegara a un pH de 4,6 o una acidez titulable de 0,90% expresada en ácido láctico.

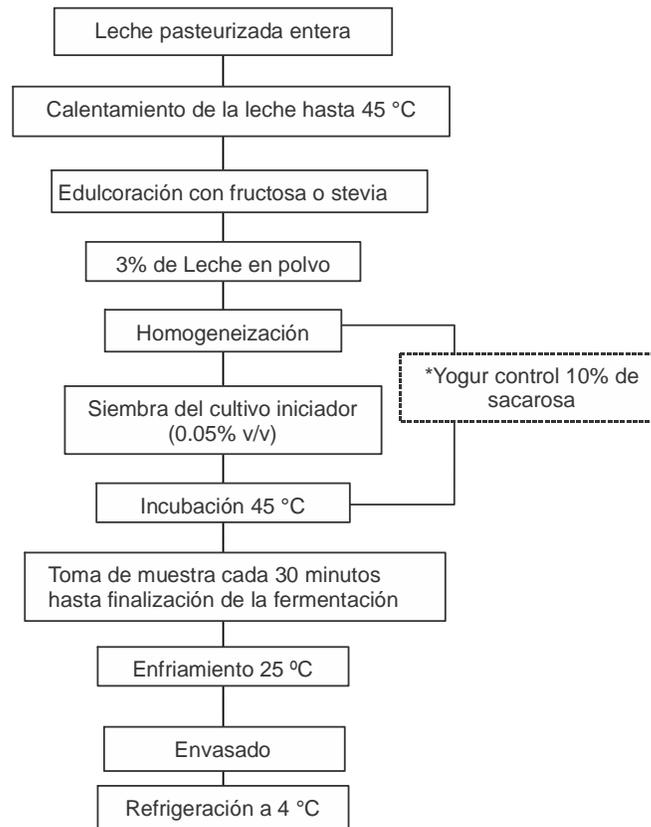


Figura 7. Elaboración de yogur

* El yogur control fue la única muestra endulzada con sacarosa al 10%; en las demás muestras se utilizó stevia o fructosa como endulzante.

Análisis fisicoquímicos

Acidez titulable

La determinación de acidez se efectuó por titulación con hidróxido de sodio 0,1 N estandarizado; se tomó una muestra de 10 ml de yogur y se empleó como indicador una solución de fenolftaleína en etanol al 95%; las muestras se tomaron cada 30 minutos en cada una de las concentraciones con endulzante.

pH

El pH se determinó con un pH-metro marca Hanna; la medida se tomó cada 30 minutos, introduciendo el electrodo de vidrio, previamente calibrado el instrumento.

Sólidos solubles

Expresados como °Brix, se determinaron con un refractómetro marca Brixco cada 30 minutos.

Sinéresis

Para esta determinación se utilizó una centrífuga marca Rotina. Se pesaron 50 gramos de cada una de las muestras de yogur entero y se sometieron a centrifugación durante 15 minutos a una velocidad de 4000 rpm. Se obtuvo el peso del sobrenadante y se calculó el porcentaje de sinéresis mediante la fórmula expuesta por Charoenrein *et al.* (2008).

$$\% \text{ Sinéresis} = \frac{\text{Peso del líquido separado del yogur}}{\text{Peso total del gel antes de centrifugar}} \times 100$$

Evaluación sensorial

Para observar el efecto de la utilización de la stevia y la fructosa se realizó un panel sensorial. El análisis sensorial se llevó a cabo con 15 panelistas no entrenados; se aplicó una escala hedónica establecida con cuatro características para evaluar: dulzor, consistencia, aroma y textura; se evaluó sobre la base de una escala de 1 a 5, siendo 5 la máxima calificación.

Análisis estadístico

Con el fin de establecer si existían diferencias significativas entre las muestras de yogur con diferentes endulzantes en cuanto a las características fisicoquímicas, los resultados obtenidos con la evaluación sensorial se sometieron a un proceso estadístico utilizando un análisis de varianza (ANOVA).

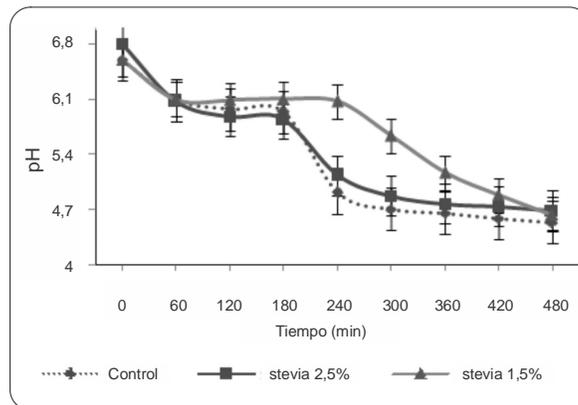
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de pH

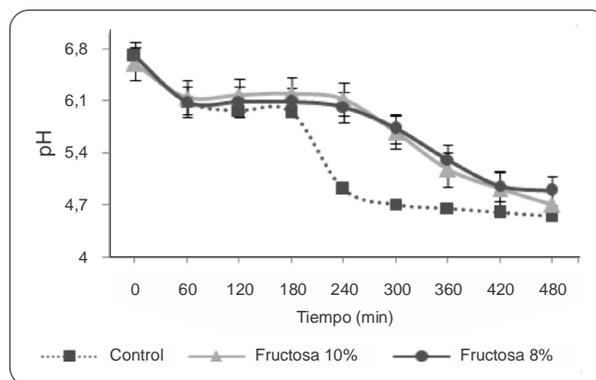
Los datos de pH para las concentraciones de stevia se pueden apreciar en la gráfica 29; se observó que hasta el minuto 180 no hubo cambio significativo de pH en las tres muestras; sin embargo, a partir de este minuto hubo cambios en los valores. El comportamiento del yogur con una concentración de stevia de 2,5% fue muy similar al del yogur control; el yogur preparado con stevia al 1,5% tuvo un pH superior a la muestra control; el cambio más notorio sucedió al minuto 240; en la muestra con stevia al 2,5%, y en el preparado control, el valor de pH fue de 4,9, mientras que en el tratamiento con stevia al 1,5% el valor de pH fue de 6,07.

En la gráfica 30 se puede ver el comportamiento del pH durante la elaboración de yogur con diferentes concentraciones de fructosa; se observó que las 2 concentraciones presentaron valores de pH igual al del yogur control hasta el minuto 180 de tiempo de fermentación; sin embargo, a partir de ese momento y hasta el minuto 240, el pH de las concentraciones de fructosa varió en comparación con el del yogur control; para ambas concentraciones con fructosa el pH fue muy similar, con un promedio de 6,1, y para el yogur control fue de 4,9. Se observó además que el pH de las dos concentraciones de fructosa fue superior al registrado por el yogur control durante toda la fermentación. El comportamiento del pH fue igual en ambas concentraciones de fructosa desde el inicio hasta el final de la fermentación.

Los anteriores resultados pueden atribuirse a que la fructosa, sin importar la concentración, es fácilmente degradada por el cultivo iniciador para realizar la ruta metabólica de la glucólisis hasta la producción en igual cantidad de ácido láctico y, por lo tanto, estimula la disminución de pH.



Gráfica 29. Comportamiento de pH en yogur con stevia y en yogur control



Gráfica 30. Comportamiento del pH con diferentes concentraciones de fructosa

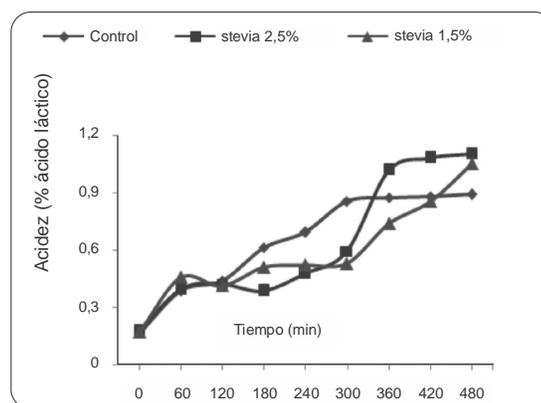
Al final del experimento los valores del pH de las dos concentraciones de stevia y fructosa fueron muy similares; esto puede ser atribuido a que las BAL pueden utilizar cualquier concentración de fructosa o stevia como fuente de carbohidratos y energía respectivamente, hasta producir ácido láctico en proporción suficiente para disminuir el pH.

En algunas investigaciones que han utilizado *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* se ha reportado un valor de pH de 4,61 al final del periodo de incubación durante la elaboración de yogur; este valor es similar al pH obtenido con los edulcorantes utilizados por nosotros en altas y bajas concentraciones al final del periodo de incubación (Olson y Aryana, 2008). De igual manera, otras investigaciones reportaron un pH de 4,4 al final de la elaboración de un yogur comercial (Shana *et al.*, 2008).

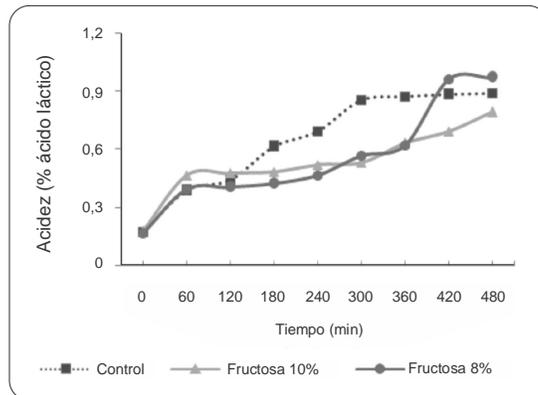
Acidez titulable

Los valores de acidez para la stevia están reportados en la gráfica 31; en ella se puede observar que a partir de los 300 minutos los valores de acidez variaron para las muestras que contenían stevia; se presentó mayor acidez en la muestra que contenía 2,5% de stevia respecto a la muestra con 1,5% y al yogur control. Al final de la fermentación, la acidez fue más alta en las muestras que contenían stevia, con un de promedio de 1,0%, mientras en el yogur control se alcanzó un 0,89%.

En la gráfica 32 se muestran los valores de acidez de las concentraciones con fructosa. Desde el inicio de la fermentación se mantuvo un valor ascendente, expresado en porcentajes de ácido láctico, muy similar en las dos muestras con concentraciones de fructosa hasta el minuto 360; a partir de ese momento el porcentaje de acidez de la muestra que contenía fructosa al 8% fue más alto conforme el tiempo transcurría, en contraste con la muestra que contenía fructosa al 10%. Al final de la fermentación, el control y la muestra que contenía 8% de fructosa arrojaron valores de acidez del 0,89 y 0,97%, respectivamente; sin embargo, la muestra con fructosa al 10% tuvo una acidez final baja respecto a los otros tratamientos, alcanzando un 0,79%.



Gráfica 31. Acidez con diferentes concentraciones de stevia



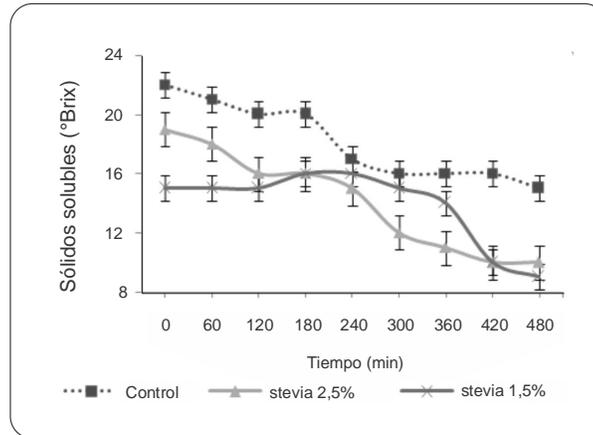
Gráfica 32. Acidez con diferentes concentraciones de fructosa

El comportamiento de los dos edulcorantes, analizado en las cuatro concentraciones preparadas, permite observar que la stevia con concentración al 2,5% tuvo la mayor acidez al final, con 1,1%. La menor acidez se registró con la fructosa al 10%, con un valor de acidez de 0,79%; se puede ver, además, que excepto la concentración de fructosa al 10% todas las demás concentraciones al final del experimento estuvieron por encima de los valores de acidez, en comparación con el yogur control.

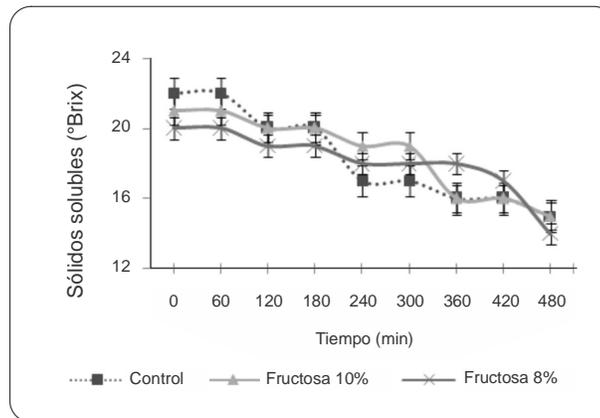
Otras investigaciones mencionan que los valores expresados en porcentaje de ácido láctico en un yogur al final de la fermentación oscilan entre 0,9 y 1,2% de acidez (Briceño *et al.*, 2001).

Sólidos solubles

Los sólidos solubles (SS) tuvieron un comportamiento irregular, como se observa en la gráfica 33. Al inicio de la fermentación los valores de sólidos solubles eran diferentes para las dos concentraciones de stevia y el yogurt control; sin embargo, a los 300 minutos de fermentación se presentó un valor similar en las tres muestras, pero conforme transcurría el tiempo se volvieron a presentar valores diferentes. Al final de la fermentación se registraron valores iguales para las dos muestras con stevia; este valor fue inferior al obtenido con el yogurt control, que fue de 15 °Brix.



Gráfica 33.Sólidos solubles con diferentes concentraciones de stevia y fructosa



Gráfica 34.Sólidos solubles con diferentes concentraciones de fructosa

En la gráfica 34 se muestran los valores de los sólidos solubles de la fructosa; se observó que existe un comportamiento similar entre las dos muestras y el yogur control. Al final del tiempo de fermentación los valores de sólidos solubles arrojaron resultados muy similares entre sí: 15 °Brix.

Comparando las dos gráficas se observa que existe un descenso más notorio y rápido en las muestras que contienen stevia, en comparación con la fructosa.

Sinéresis

Los resultados de sinéresis de yogur se muestran en la gráfica 35; en ella se detalla que la adición de stevia, sin importar la concentración, en el yogur mostró el mismo

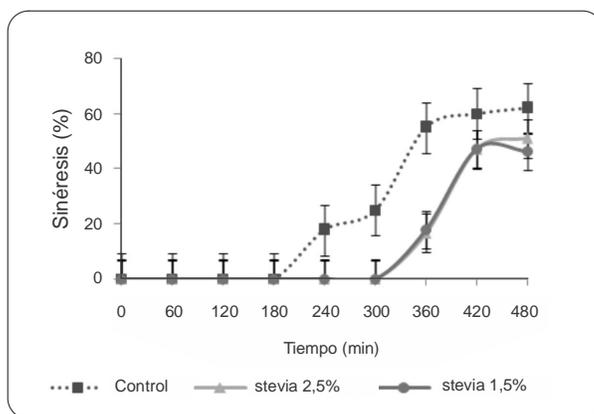
comportamiento, se observó además que la sinéresis de las muestras con stevia fue menor que la presentada en el yogur control, y que la sinéresis apareció 120 minutos más tarde en el yogur con stevia, comparado con el yogur control. Al final del experimento el porcentaje de sinéresis para el control fue 62%, y para las concentraciones con stevia 42%. Lo anterior podría ser atribuido a la capacidad de la stevia para retener agua.

La gráfica 36 indica que existe una importante diferencia de porcentaje de sinéresis cuando se utiliza la fructosa, sin importar la concentración, respecto al yogur control; se observa en la gráfica que cuando se utilizó la concentración de fructosa de 8% la aparición de sinéresis fue más tardía (minuto 420), mientras que con la concentración de 10% de fructosa la sinéresis apareció a los 360 minutos; en el yogur control la sinéresis se dio a las tres horas de tiempo de fermentación. El porcentaje de sinéresis al final del periodo de incubación para las muestras que contenían fructosa en una concentración del 8 y del 10% fue de 21,5%, y la del control, de 62%.

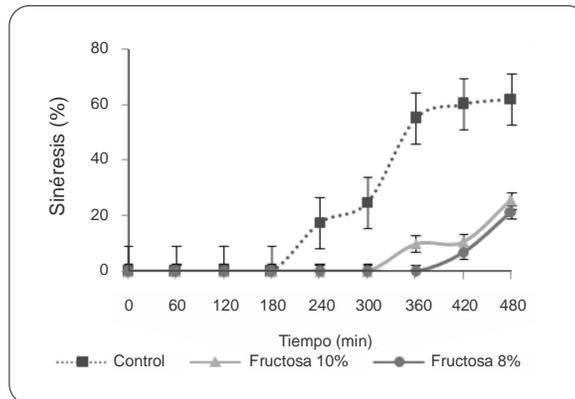
Al comparar el efecto de la stevia y la fructuosa sobre la sinéresis en el proceso de elaboración de yogur, se aprecia que la fructuosa tiene una acción más evidente en cuanto a la retención de agua respecto a la stevia; es decir, la fructuosa tiene mayor capacidad de retención de lactosuero, por lo tanto, reduce su liberación durante la elaboración de yogur. En otros estudios el porcentaje de sinéresis en un yogur control fue del 53%, resultado similar al encontrado en nuestra investigación, que fue del 62% (Farooq y Haque *et al.*, 1992).

Análisis sensorial

La tabla 13 muestra que la fructosa con una concentración de 8% resultó ser el mejor endulzante según el análisis sensorial, porque presentó las mejores características: dulzor, consistencia y aroma; sin embargo, la stevia en una concentración del 1,5% también tuvo aceptabilidad de los panelistas. A nivel general, los yogures a los cuales se les añadieron concentraciones con fructosa y stevia fueron calificados como aceptables.



Gráfica 35. Sinéresis con diferentes concentraciones de stevia y fructosa



Gráfica 36. Sinéresis con diferentes concentraciones de fructosa

Tabla 13. Evaluación sensorial de yogur con stevia y fructosa en diferentes concentraciones

YOGUR	DULZOR	CONSISTENCIA	AROMA	TEXTURA
Yogur blanco o sacarosa	4,1	2,3	3,9	2,7
Yogur stevia 2.5%	4,1	3,9	3,6	4,1
Yogur stevia 1.5%	4,1	4,2	3,8	4,0
Yogur fructosa 10%	4,4	4,0	3,8	3,3
Yogur fructosa 8%	4,4	4,2	4,6	4,3

Análisis estadístico

Estadísticamente, el pH, la acidez, los sólidos solubles y la sinéresis son factores que tienen efectos significativos en el tiempo de fermentación; sin embargo, la interacción entre estos tratamientos, utilizando stevia y fructosa en diferentes concentraciones, y el yogur control demuestra que no existen diferencias significativas en el tiempo de fermentación del yogur.

Tabla 14. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	19	1031,90	54,31		
Tratamientos	4	69,11	17,27	0,89	3,26
Interacción	3	730,06	243,35	12,55	3,49
Error	12	232,73	19,39		

G.L= Grados de libertad; **S.C=** Suma cuadrada; **C.M=** Cuadrados medios

CONCLUSIONES

La sinéresis, que es considerada un problema fisicoquímico y sensorial en algunos derivados lácteos como el yogur, presentó un porcentaje de disminución bastante favorable al utilizar fructosa en una concentración de 8% en la elaboración de yogur. Los dos edulcorantes utilizados mostraron un comportamiento fisicoquímico diferente a la sacarosa utilizada como endulzante en el yogur control.

La stevia y la fructosa son agentes edulcorantes que tienen la propiedad de disminuir la sinéresis durante la elaboración de yogur sin importar la concentración utilizada.

El análisis sensorial mostró que el yogur formulado con fructosa en una concentración de 8% presentaba los mejores calificativos sensoriales; sin embargo, hubo aceptabilidad general con ambos endulzantes.

6.3.2 COMPORTAMIENTO DE LA SINÉRESIS DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN LA ELABORACIÓN DE YOGUR CON STEVIA, FRUCTOSA Y SACAROSA

INTRODUCCIÓN

La leche y sus derivados, como queso y yogur, han sido consumidos desde tiempos remotos. Los procesos tradicionales aunados a los avances de la ciencia y la tecnología han logrado hacer del arte de elaboración de dichos productos una ciencia que beneficia tanto a los niveles artesanales como a los industriales. Es un hecho conocido que el yogur tiene propiedades nutricionales y terapéuticas especiales (Castillo *et al.*, 2004). El objetivo del presente estudio fue evaluar la stevia y la fructosa como agentes edulcorantes en la elaboración de yogur, y sus efectos en la sinéresis.

METODOLOGÍA

Para elaborar el yogur se utilizó leche ultrapasteurizada; se añadió 0.05% de cultivo liofilizado que contenía las cepas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*; el volumen de leche se dividió en 3 partes: tratamiento 1, que contenía stevia al 3%; tratamiento 2, con fructosa al 3%, y un control (sacarosa 8%). Cada tratamiento y el control se dividieron en 5 partes y se llevaron a una incubadora a 45°C; al final de la incubación las muestras se envasaron en recipientes de plástico de 250 mL bajo condiciones de refrigeración. Cada 6 días y durante un mes se determinó pH, acidez, densidad y sinéresis.

Análisis estadístico

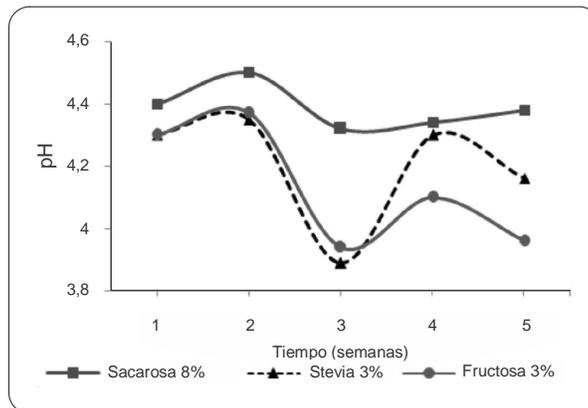
El tratamiento estadístico aplicado a las características fisicoquímicas de cada uno de los tratamientos fue el análisis de varianza ANOVA; se utilizaron los promedios de

cada característica entre los tres tratamientos para determinar la existencia de diferencias significativas o no entre ellos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de pH

Se observa en la gráfica 37 que con el uso de la stevia y la fructosa se obtuvieron valores más bajos en comparación con el control durante el almacenamiento; estos resultados son similares a los reportados por Olson y Aryana (2008), quienes en su investigación, utilizando *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*, registraron un valor de pH de 4,61 al final del periodo de incubación durante la elaboración de yogur; este valor fue similar al pH obtenido con la adición de los edulcorantes en estudio, utilizando altas y bajas concentraciones.



Gráfica 37. Comportamiento del pH en la elaboración de yogur con stevia y fructosa

Acidez

En la gráfica 38 se observa que la muestra de yogur que contenía fructosa tuvo mayor concentración de ácido láctico durante el almacenamiento. En investigaciones similares se menciona que los valores en porcentaje de ácido láctico en un yogur, al final de la fermentación, oscilan entre 0,9 y 1,2% de ácido láctico (Briceño *et al.*, 2001).

Sinéresis

En la gráfica 39 se observa que la stevia y la fructosa redujeron la sinéresis. En otros estudios el porcentaje de sinéresis para un yogur control fue de 53% (Farooq

y Haque, 1992); este resultado es similar al encontrado en nuestra investigación, que fue de un 62%.

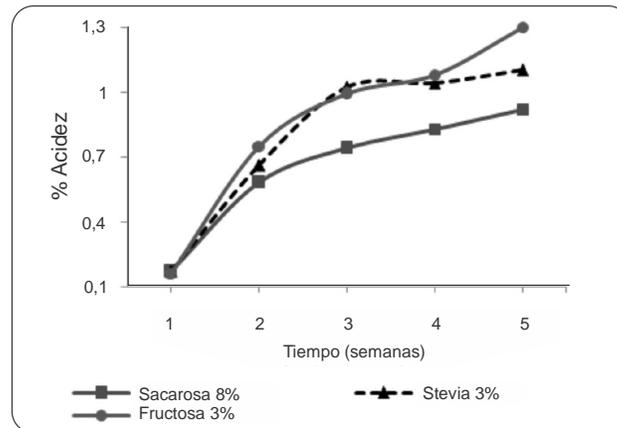
Densidad

La densidad reportada en la gráfica 40 muestra que la stevia y la fructosa tuvieron mayores densidades al final del almacenamiento.

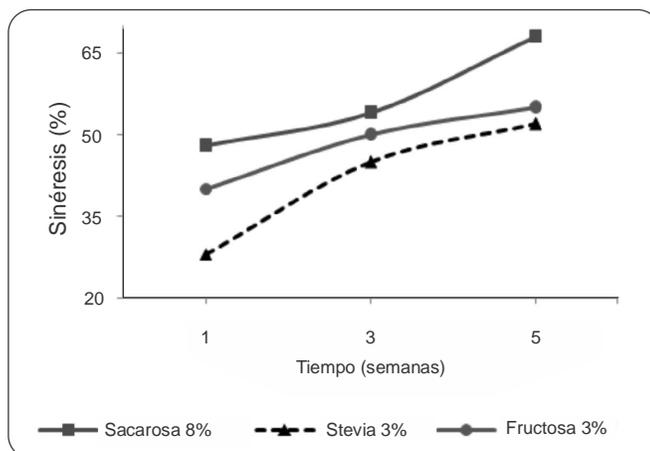
Estadísticamente, los parámetros fisicoquímicos en los tratamientos tienen un efecto significativo en la sinéresis; igualmente, existe interacción entre los diferentes tratamientos durante el almacenamiento de yogur.

CONCLUSIONES

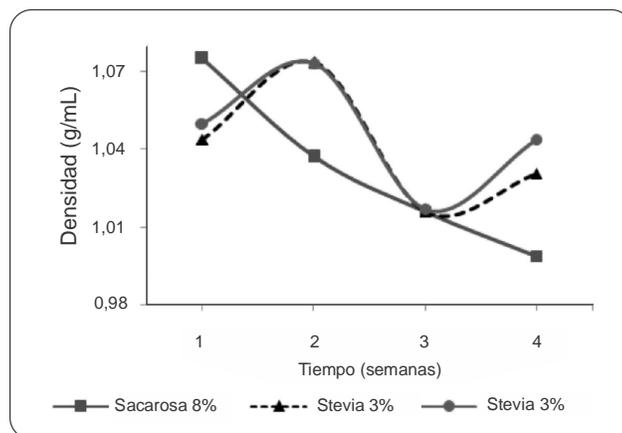
En la semana 3 de almacenamiento el valor de pH permaneció constante para la muestra que contenía sacarosa; para las muestras de yogur que contenían stevia y fructosa el comportamiento fue variable. Con respecto a la acidez, tanto el yogur que contenía stevia como el que tenía fructosa alcanzaron mayor acidez durante el almacenamiento; la stevia y la fructosa presentaron capacidad de retener agua en la red de caseína de yogur.



Gráfica 38. Resultados de la acidez de las muestras con stevia y fructosa en la elaboración de yogur



Gráfica 39. Sinéresis de yogur elaborado con stevia y fructosa



Gráfica 40. Comportamiento de la densidad en la elaboración de yogur con stevia y fructosa

Tabla 15. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	11	969,14	88,1		
Tratamientos	2	28,31	14,55	0,02	5,14
Interacción	3	4965,68	1655,22	2,53	4,76
Error	6	3918	653		

G.L= Grados de libertad
S.C= Suma cuadrada
C.M= Cuadrados medios

6.3.3 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL YOGUR TIPO ENTERO CON DIFERENTES ENDULZANTES DURANTE EL ALMACENAMIENTO

Este estudio se propuso evaluar las propiedades fisicoquímicas durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración de un yogur con diferentes edulcorantes.

METODOLOGÍA

Se tomó un volumen de 4 litros de leche ultrapasteurizada; se le añadió 0,05% de cultivo liofilizado con cepas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii*, y se homogeneizó y dividió en 3 partes (tratamientos). El tratamiento 1 contenía sucralosa 1,5%; el tratamiento 2, una mezcla de sucralosa 0,5%, stevia 0,5% y fructosa 0,5%, y un control al que se le añadió 10% de sacarosa. Se almacenó todo bajo condiciones de refrigeración en recipientes de plástico con tapa de 250 mL. Cada tratamiento se dividió en 5 partes iguales, y cada 5 días, durante un mes, se tomaron muestras para determinar los valores de pH, acidez titulable y sinéresis.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico aplicado a las características fisicoquímicas de cada uno de los tratamientos fue el de varianza ANOVA; se utilizaron los promedios de cada característica en los dos tratamientos y se realizó la comparación con los datos obtenidos del yogur control para determinar la existencia o ausencia de diferencias significativas.

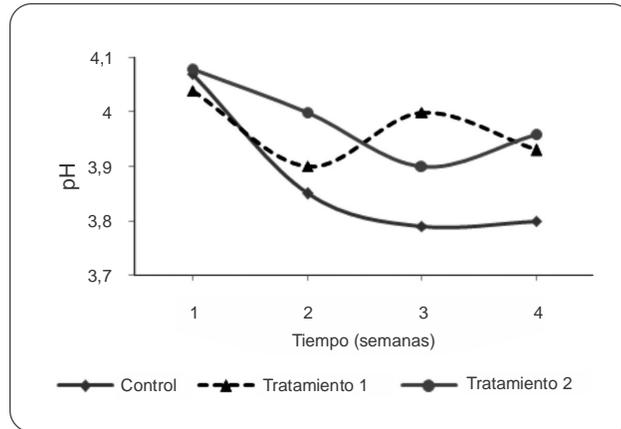
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de pH

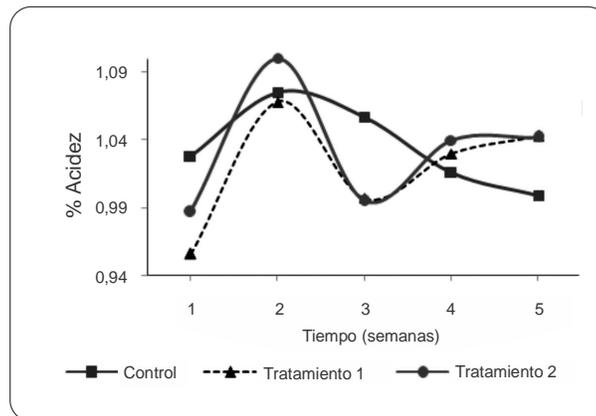
En la gráfica 41 se observa que el yogur control tuvo un descenso notorio de pH; al final de la semana 4 de almacenamiento, el pH fue similar para los tratamientos 1 y 2. La muestra de yogur control arrojó resultados similares a los reportados por Kailasapathy (2006); en este estudio, al inicio de la semana 1 el pH fue de 4,49, y al finalizar la semana 6 fue de 3,95. Para las muestras con los tratamientos estudiados el pH fue de 3,96 al final del experimento, lo que confirma la similitud entre las dos investigaciones.

Acidez

El comportamiento de la acidez se muestra en la gráfica 42; en ella se observa que durante el estudio los dos tratamientos tuvieron valores de acidez similares, mientras el yogur control presentó una acidez más baja. Estos resultados son equivalentes a los reportados por Briceño *et al.* (2001), quienes al inicio del almacenamiento del yogur registran una acidez, expresada en ácido láctico, de 0,83%, y al final del almacenamiento, a los 20 días, la acidez alcanzó un 1,1%.



Gráfica 41. Comportamiento del pH durante el periodo de almacenamiento

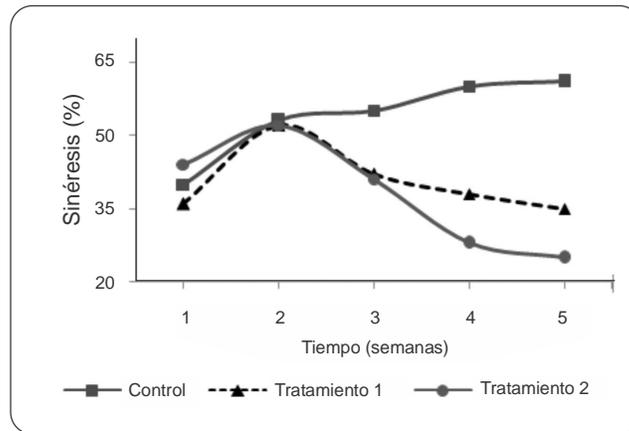


Gráfica 42. Resultados del comportamiento de la acidez de las muestras de yogur durante el almacenamiento

Sinéresis

A partir de la semana 3, los tratamientos 1 y 2 disminuyeron la sinéresis de manera apreciable respecto al control; sin embargo, el tratamiento 2 presentó la menor sinéresis. Se observa, además, que el yogur que contenía mezcla de stevia, fructosa y sucralosa mostró la característica de retener agua en la red de caseína. Los resultados se aprecian en la gráfica 43.

Estadísticamente se encontraron diferencias significativas en las características fisicoquímicas tanto en los dos tratamientos como en la interacción entre ellos, surgidas del uso de los diversos edulcorantes en yogur, como sucralosa, stevia, fructosa y sacarosa, durante el almacenamiento.



Gráfica 43. Comportamiento del porcentaje de sinéresis

Tabla 16. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	8	6036,45	754,55		
Tratamientos	2	47,27	23,63	0,03	6,94
Interacción	2	3483,08	1741,54	2,77	6,94
Error	4	2506,1	626,52		

G.L= Grados de libertad

S.C= Suma cuadrada

C.M= Cuadrados medios

CONCLUSIONES

Los valores de pH y acidez para los tratamientos 1 y 2 tuvieron un comportamiento superior al registrado en el yogur control. Los edulcorantes utilizados estimularon en las bacterias ácido-lácticas la producción de ácido láctico. La utilización de los edulcorantes permitió disminuir la sinéresis, evidenciándose que el tratamiento 2, que contenía sucralosa, stevia y fructosa, tuvo una gran reducción de la sinéresis al final del almacenamiento de yogur.

6.3.4 EVALUACIÓN FÍSICA, QUÍMICA Y SENSORIAL DE STEVIA, FRUCTOSA, DEXTROSA Y LACTOSA A DIFERENTES CONCENTRACIONES DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE YOGUR ENTERO

INTRODUCCIÓN

La tecnología de alimentos dispone actualmente de una mayor oferta de edulcorantes para escoger y, además, para reemplazar la sacarosa. En la elaboración de alimentos

y bebidas se está trabajando continuamente para proporcionar calidad sensorial a estos productos y para responder a las expectativas de los consumidores (Porto y Andre, 2007).

En la actualidad se buscan nuevas alternativas en la utilización de aditivos que permitan obtener mejores características fisicoquímicas, sensoriales y nutricionales en los productos lácteos; entre ellos se destaca el yogur, que es un alimento con alto valor nutricional y con una amplia difusión en el consumo a nivel mundial. Debido a esto, en los últimos años se han buscado alternativas para mejorar las características de este producto.

El principal edulcorante utilizado en la elaboración de yogur es la sacarosa, pero el nivel de esta afecta la producción de ácido láctico y de *flavor* en el yogur; es por esto que se están implementando nuevas alternativas edulcorantes.

El objetivo del presente estudio es determinar el efecto de la utilización de la stevia, fructosa, lactosa y dextrosa como edulcorantes durante el período de incubación en la elaboración de un yogur entero.

METODOLOGÍA

Elaboración de yogur entero

Se elaboró un yogur entero tipo batido no homogeneizado, siguiendo el proceso descrito por Amaya *et al.* (2008); se empleó leche ultrapasteurizada de marca reconocida, y adquirida en el mercado local; se llevó a una temperatura de 45 °C. Para la inoculación de la leche se utilizó un cultivo iniciador liofilizado a una concentración de 0,05% formado por *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*; finalmente, se añadió azúcar al 10% y leche en polvo al 3%.

El volumen de leche se dividió en 9 partes iguales (8 muestras y 1 control), cada una para un endulzante diferente. Se tomaron 4 partes para la adición de sendos edulcorantes a bajas concentraciones: stevia 1,5%, lactosa 8%, dextrosa 8% y fructosa a una concentración de 8%; a las otras 4 partes se les añadieron sendos edulcorantes en altas concentraciones: stevia 2,5%, lactosa 10%, dextrosa 10% y fructosa a una concentración de 10%. El yogur control fue preparado siguiendo la misma metodología, pero empleando sacarosa como endulzante. Todas las muestras se llevaron a 45 °C en una incubadora marca Binder, y se detuvo el periodo de fermentación hasta un pH de 4,5 o acidez titulable de 0,80-0,90%, expresada en ácido láctico. Cada hora se realizaron diferentes evaluaciones a cada muestra con endulzante desde el momento de la incubación hasta el final de la fermentación.

Análisis fisicoquímicos

pH

El pH se determinó utilizando un pH-metro digital marca Hanna, introduciendo el electrodo hasta tener una lectura constante; el electrodo fue calibrado con soluciones buffer de 7 y 4 (AOAC, 1990).

Acidez

Se utilizó hidróxido de sodio 0,1N como agente titulante; se tomó una muestra de 10 ml, y se utilizó como indicador fenolftaleína a una concentración de 1% (AOAC, 1990).

Sinéresis

Para esta determinación se utilizó una centrífuga marca Rotina. Se pesaron 50 gramos de cada una de las muestras y se sometieron a centrifugación durante 15 minutos a una velocidad de 4000 rpm. Se obtuvo el peso del sobrenadante y se calculó el porcentaje de sinéresis mediante la fórmula de Charoenrein *et al.* (2008).

$$\% \text{ Sinéresis} = \frac{\text{Peso del líquido separado del yogur}}{\text{Peso total del gel antes de centrifugar}} \times 100$$

Sólidos solubles

Expresados como grados Brix, los sólidos solubles se determinaron con un refractómetro cada hora (AOAC, 1990).

Evaluación sensorial

Para ver el efecto de la utilización de diversos agentes edulcorantes y con diferentes concentraciones en la elaboración de yogur, se realizó un panel sensorial con 15 panelistas no entrenados, y se aplicó una escala hedónica establecida con cuatro características por evaluar: dulzor, consistencia, aroma y textura; se evaluó teniendo en cuenta la siguiente escala de calificación de 1 a 5; 5 para el valor de mejores características sensoriales, y 1 para características débiles.

Análisis estadístico

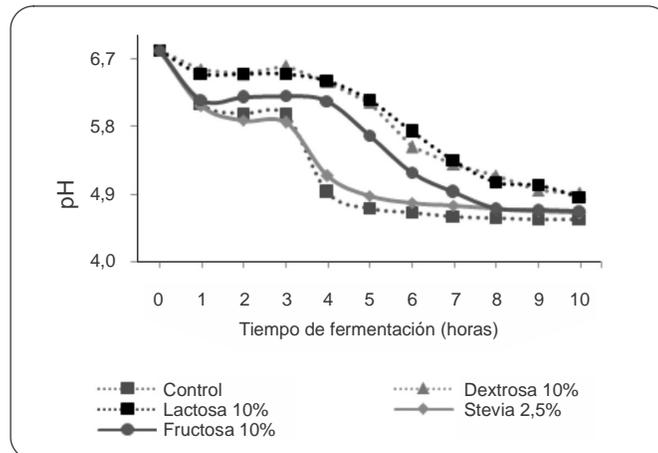
Para evaluar si existían diferencias significativas en cuanto a las características fisicoquímicas derivadas de la utilización de edulcorantes durante el periodo de incubación, los resultados se sometieron a un análisis estadístico ANOVA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de pH

En la gráfica 44 se observa que el comportamiento del pH con todos los endulzantes en altas concentraciones fue superior a la muestra control durante el tiempo de fermentación. En las muestras que contenían lactosa y dextrosa se encontraron los valores de pH más altos, mientras la stevia tuvo un comportamiento similar al del yogur control.

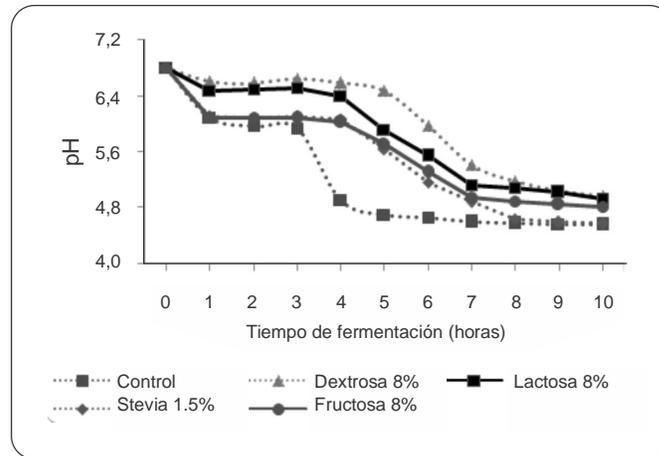
Al transcurrir el tiempo de fermentación se observó que el descenso del pH fue más lento para los tratamientos con endulzantes lactosa, dextrosa y fructosa, si se compara con el comportamiento del yogur control; en las muestras que contenían stevia y en el yogur control, este descenso se observó a la hora 3 de fermentación, sin embargo, al final del periodo de fermentación las 4 muestras y el control tuvieron similares pH, ubicados entre 4,6 y 4,9.



Gráfica 44. Comportamiento de pH durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones altas de diferentes edulcorantes

En la gráfica 45 se puede observar que no hubo un endulzante que originara en los tratamientos un comportamiento similar al del yogur control. La dextrosa tuvo el pH superior a los demás endulzantes hasta el final de la fermentación, por lo tanto su descenso fue muy lento. A partir de la tercera hora del tiempo de fermentación la variación de pH en los 4 endulzantes en estudio fue notoria; igual sucedió con el pH del yogur control, sin embargo, a la hora 7 los valores de pH fueron muy cercanos entre sí. Al comparar las gráficas 44 y 45 se observa que no hay diferencia al utilizar las distintas concentraciones del mismo endulzante, excepto para la stevia a 2,5% de concentración, cuyo comportamiento fue similar al del yogur control, endulzado con

sacarosa. Olson y Aryana (2008), en su investigación, con el uso de *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* reportaron un valor de pH de 4,61 al final del periodo de incubación durante la elaboración de yogur; este valor fue similar al pH de los 8 endulzantes con altas y bajas concentraciones, al final del periodo de incubación. De igual manera, Shana *et al.* (2008) reportaron un pH de 4,4 al final de la elaboración de un yogur comercial.

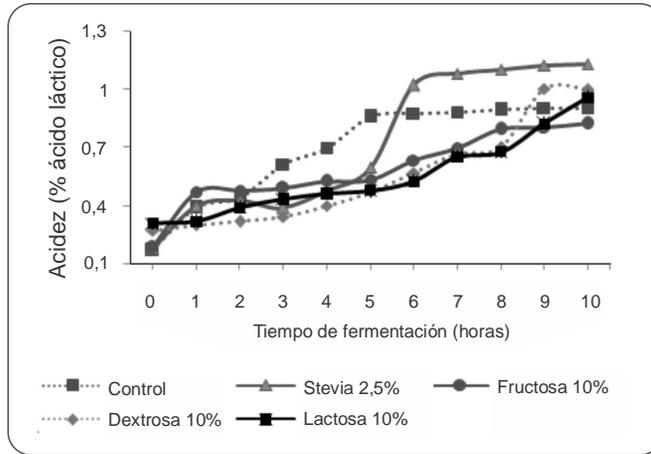


Gráfica 45. Comportamiento de pH durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones bajas de diferentes endulzantes

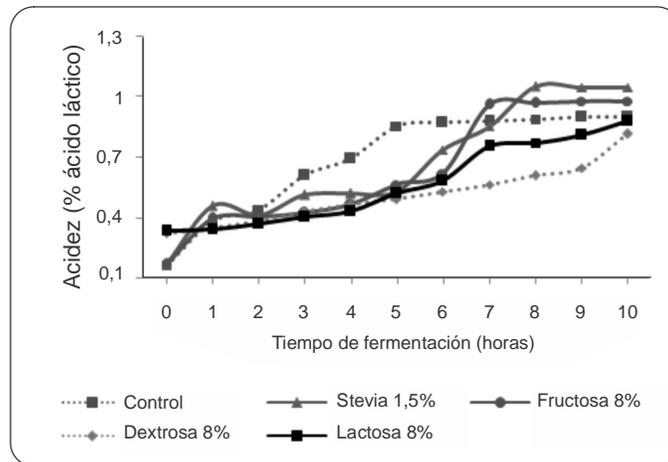
Acidez titulable

En la gráfica 46 se observó que el yogur control fue la primera muestra que alcanzó un valor óptimo de acidez titulable de 0,85%, manteniéndose constante desde la hora 5. Las muestras que contenían stevia presentaron la concentración de ácido láctico más alta, alcanzando el 1,13% al final del tiempo de fermentación. Por otro lado, el endulzante que alcanzó el valor de acidez más bajo fue la fructosa: 0,82% de ácido láctico. Las muestras que contenían lactosa, dextrosa y fructosa mantuvieron valores porcentuales de ácido láctico similares durante todo el experimento.

Se observa en la gráfica 47 que la stevia fue el edulcorante que alcanzó el valor de acidez más alto al final del periodo de fermentación, con un 1,05% de ácido láctico. Lo contrario ocurrió con la dextrosa, que tuvo el porcentaje de ácido láctico más bajo al final del periodo de fermentación, con un 0,81%. Se pudo ver, además, que a partir de la hora 2 de fermentación los valores de acidez variaron en todas las muestras. Los valores promedios finales de acidez estuvieron en un rango de 0,81 a 1,05% de acidez titulable.



Gráfica 46. Comportamiento de la acidez durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones altas de diferentes endulzantes



Gráfica 47. Comportamiento de la acidez durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones bajas de diferentes endulzantes

Al comparar las dos gráficas de acidez se puede ver que las dos concentraciones de stevia tuvieron los porcentajes de acidez más altos al final del periodo de fermentación, y la fructosa y la dextrosa presentaron los valores más bajos. Se observó además que en la muestra control el ascenso fue más rápido, debido a la producción de ácido láctico en mayor concentración y en menor tiempo respecto a los demás endulzantes utilizados. Lo anterior se debió a que el cultivo iniciador necesitó más tiempo para desdoblar las cadenas de dextrosa, lactosa y fructosa hasta obtener glucosa y luego

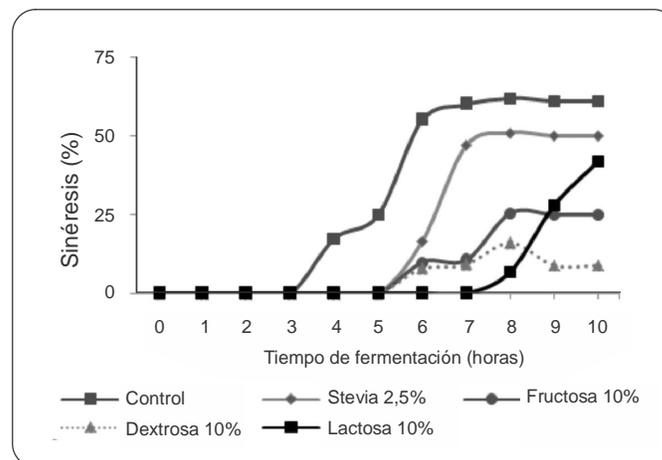
producir ácido láctico vía glucólisis. Respecto a la stevia, el comportamiento de la acidez se debió probablemente a que los componentes de esta estimularon el metabolismo de las bacterias ácido-lácticas en la producción de ácido láctico.

Briceño *et al.* (2001) mencionan en su investigación que los valores en porcentaje de ácido láctico en yogur al final de la fermentación oscilaron entre 0,9 y 1,2% de ácido láctico. Shana *et al.* (2008) reportaron un valor final de acidez de 1,1% de ácido láctico utilizando hidrocoloides. Los valores de acidez de estos estudios son similares a los encontrados utilizando como endulzantes stevia, lactosa, fructosa y dextrosa.

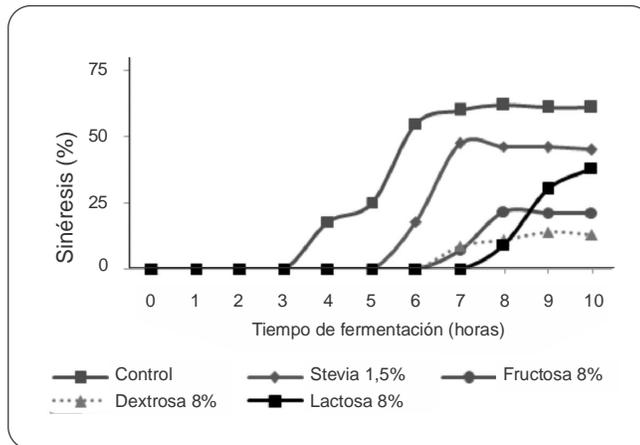
Sinéresis

En la gráfica 48 se observan las variaciones en la sinéresis presentadas por las muestras; el yogur control presentó el valor más alto, con un 61% al final del periodo de fermentación, y la muestra de dextrosa presentó la sinéresis más baja, con un 9%; es de anotar, además, que el yogur control fue la primera muestra que presentó el fenómeno de sinéresis.

En la gráfica 49 se observa que la muestra que contenía el yogur control presentó la sinéresis más alta, mientras que en la muestra con dextrosa el porcentaje de sinéresis fue el más bajo con un 13%. Al comparar las dos gráficas de sinéresis se puede deducir que las diferentes concentraciones de edulcorantes utilizadas no afectan el porcentaje de sinéresis, y, por tanto, presentan en ambas gráficas el mismo comportamiento.



Gráfica 48. Comportamiento de sinéresis durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones altas de diferentes edulcorantes



Gráfica 49. Comportamiento de sinéresis durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones bajas de diferentes edulcorantes

En el estudio realizado por Farooq y Haque (1992), el porcentaje de sinéresis para un yogur control fue de 53%, resultado similar al encontrado en nuestra investigación, el cual fue de 62%.

Sólidos solubles

En las tablas 17 y 18 se puede observar que conforme transcurre el periodo de fermentación los sólidos solubles van disminuyendo gradualmente; es de destacar que sin importar si se trata de concentraciones altas o bajas de endulzantes, al final de la fermentación los sólidos solubles tienen el mismo comportamiento.

Tabla 17. Comportamiento de los sólidos solubles durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones altas de endulzantes

Tiempo de fermentación (horas)	Control	Fructosa 10%	Stevia 2.5%	Dextrosa 10%	Lactosa 10%
0	21	19	19	19	20
1	22	20	18	19	20
2	20	20	16	18	20
3	20	20	16	17	20
4	16	19	15	17	19
5	17	19	12	17	17
6	16	17	11	16	15
7	16	16	10	16	14
8	15	15	10	15	14
9	15	15	10	14	14
10	15	14	10	14	13

Tabla 18. Comportamiento de los sólidos solubles durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones bajas de endulzantes

Tiempo de fermentación (horas)	Control	Fructosa 8%	Stevia 1.5%	Dextrosa 8%	Lactosa 8%
0	21	19	15	18	17
1	22	20	15	17	19
2	20	19	15	16	19
3	20	18	16	16	19
4	16	19	16	18	18
5	17	18	17	17	18
6	16	18	14	16	15
7	16	16	10	16	15
8	15	14	9	12	15
9	15	14	9	11	15
10	15	13	9	11	14

Evaluación sensorial

En el análisis sensorial realizado, la fructosa obtuvo la calificación más alta de dulzor, y la lactosa, la más baja. La stevia y la fructosa tuvieron la mejor consistencia, mientras que la muestra que contenía lactosa no mostró tener buena consistencia. En cuanto al aroma, excepto el yogur que contenía lactosa, las demás muestras tuvieron un aroma aceptable. En textura, la fructosa y la stevia tuvieron las mejores calificaciones, y la dextrosa y la lactosa, las menores. A nivel general, la utilización de diferentes concentraciones del mismo endulzante no influyó en las características sensoriales finales del yogur elaborado (Tabla 19).

Tabla 19. Evaluación sensorial de edulcorantes a diferentes concentraciones en la elaboración de yogur a través de una escala hedónica de 1 a 5

Yogur	Dulzor	Consistencia	Aroma	Textura
Dextrosa 10%	3,9	3,8	3,5	3,3
Dextrosa 8%	3,7	3,8	3,4	3,3
Lactosa 10%	2,1	3,4	3,6	3,6
Lactosa 8%	2,0	3,2	2,8	3,2
Stevia 2,5%	4,1	3,9	3,6	4,1
Stevia 1,5%	4,1	4,2	3,8	4,0
Fructosa 10%	4,4	4,0	3,8	3,3
Fructosa 8%	4,4	4,2	4,6	4,3
Sacarosa 10%	4,1	2,3	3,9	2,7

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos con el método ANOVA indican que existen diferencias significativas entre las diversas concentraciones de los endulzantes aplicados a las muestras, mientras se observa que no existe una interacción significativa entre los endulzantes y los análisis fisicoquímicos realizados durante el tiempo de fermentación.

Tabla 20. Análisis estadístico

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F calculado	F tabulado
Total	35	1938,26	55,37		
Tratamientos	8	152,72	19,09	0,85	2,36
Interacción	3	1247,42	415,80	18,54	3,01
Error	24	538,12	22,42		

G.L= Grados de libertad

S.C= Suma cuadrada

C.M= Cuadrados medios

CONCLUSIONES

El comportamiento de las diferentes concentraciones de edulcorantes fue muy similar; sin embargo, la comparación de los efectos derivados del uso de stevia, fructosa, dextrosa y lactosa muestra resultados diferentes. Los endulzantes utilizados mostraron tener una tendencia a reducir la sinéresis; la dextrosa mostró tener el comportamiento mejor al reducir en gran porcentaje este fenómeno indeseable en el yogur. La stevia y la fructosa mostraron tener las mejores características organolépticas durante la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, H.; Ehsani, M.; Mohamad, S.; Mousavi, E.; Dhomed, Z.; Vaziri, M. (2007). Influence of exopolysaccharide producing starter cultures and incubation temperatures on the physical and rheological properties of low fat set type yogurt. *Book of Abstracts European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6)*, p.1-4, Copenhagen, 16-20 September.
- Abdelkader, D. (2006). Assimilation (*in vitro*) of cholesterol by yogurt bacteria. *Ann Agric Environ Med*, 13: 49-53.
- Abou-Arab, E.; Abou, A.; Abu, F. (2010). Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana* bertonii plant. *African Journal of Food Science*, 4:269- 281.
- Achanta, K.; Kayanush, J.; Aryana, J.; Boeneke, C. (2007). Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. *LWT* 40: 424-429.
- Adolfsson, O.; Meydani, S.; Russell, R. (2004). Yogurt and gut function. *American Journal Clinical Nutrition*, 80: 245-256.
- Ai, L.; Zhang, H.; Guo, B.; Chen, W.; Wua, Z.; Wub, Y. (2008). Preparation partial characterization and bioactivity of exopolysaccharides from *Lactobacillus casei*. *LC2W Carbohydrate Polymers* 74: 353-357.
- Almanza, F.; Barrera, E. (1991). *Tecnología de leche y derivados*. Bogotá: Unisur: 61-66.
- Amatayakul, T.; Halmos, A.; Sherkat, F.; Shah, N. (2006). Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *Internal Dairy J*, 16: 40-51.
- Amaya, S.; Martínez, A.; Zazueta, J.; Martínez, F. (2008). Acid thinned jicama and maize starches as fat substitute in stirred yogurt. *LWT*, 41:274-1281.
- Anzaldúa, A. (2005). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. Editorial Acribia.
- AOAC (1990). *The official and recommended practices of the American Chesmest's Society*.
- Arltoft, D.; Madsen, F.; Ipsen, R. (2008). Relating the microstructure of pectin and carrageenan in dairy desserts to rheological and sensory characteristics. *Food Hydrocolloids*, 22: 660-673.

- Arribas, M.; Polo, C. (2008). Occurrence of lactic acid bacteria and biogenic amines in biologically aged wines. *Food Microbiology*, 25:875-881.
- Axelsson, L. (1993). Lactic acid bacteria classification and physiology. Salminen, S. y von Wright, A. Ed. Nueva York: Marcel Dekker.
- Bakalinsky, A.; Nadathur, R.; Carney, J.; Gould, S. (1996). Antimutagenicity of yogurt. *Mutation Research*, 350: 100-199.
- Bedolla, S.; Dueñas, C.; Esquivel, I.; Favela, T.; Guerrero, R.; Mendoza, E.; Navarrete, L.; Olguín, J.; Ortiz, O.; Pacheco, P.; Quiroz, M.; Ramírez, A.; Trujillo, M. (2004). *Introducción a la Tecnología de los Alimentos*. México: Limusa.
- Benjumea, M. y Correa, I. (2011). *Edulcorantes*. Disponible en http://promocionsalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%206_6.pdf. Consultado el 15 de noviembre de 2011.
- Bernal, I. (1994). *Análisis de alimentos*. Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Bertrand, C.; Ivanova, I.; Dalgarrondo, M.; Haertle, T. (2003). Evolution of α -lactoglobulin and α -lactoalbumin content during yogurt fermentation. *International Dairy Journal*, 13:39-45.
- Blanco, S.; Pacheco, E.; Fragenas, N. (2006). Evaluación física y nutricional de un yogurt con frutas tropicales bajo en calorías. *Revista Facultad Agronomía* (Maracay, Venezuela), 32:131-144.
- Bouzar, F.; Cerning, J.; Desmazeaud, M. (1997). Exopolysaccharide production and texture-promoting abilities of mixed-strain starter cultures in yogurt production. *Journal Dairy Science*, 80: 2310-2317.
- Briceño, A.; Martínez, R.; García, K. (2001). Viabilidad y actividad de la flora láctica (*Streptococcus salivarius ssp thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*) del yogurt en Venezuela. *Acta Científica Venezolana*, 52: 46-54.
- Briczinski, E. y Roberts, R. (2002). Production of an exopolysaccharide-containing whey protein concentrates by fermentation of whey. *J. Dairy Sc.*, 85:3189-3197.
- Broadbent, J.; McMahon, D.; Welker, D.; Oberg, C.; Moineau, S. (2003). Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review. *J. Dairy Sc.*, 86:407-423.
- Calderón, O.; Padilla, C.; Chaves, C.; Villalobos, L.; Arias, M. (2007). Evaluación del efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus rhamnosus* adicionado a yogurt natural

y con probióticos comerciales sobre poblaciones de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57: 51-55.

Campo, R.; Bravo, D.; Cantón, R.; Ruiz, P.; García, R.; Montesi, A.; Yuste, F.; Abraira, V.; Baquero, F. (2005). Scarce Evidence of Yogurt Lactic Acid Bacteria in Human Feces after Daily Yogurt Consumption by Healthy Volunteers. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 547-549.

Castillo, M.; Borregales, C.; Sánchez, M. (2004). Influencia de la pectina sobre las propiedades reológicas del yogur. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 46:33-37.

Castro, L. y Rovetto, C. (2006). Probióticos: utilidad clínica. *Colombia Médica*, 37:15-22.

Charoenrein, S.; Tatirat, O.; Muadklay, J. (2008). Use of centrifugation-filtration for determination of syneresis in freeze-thaw starch gels. *Carbohydrate Polymers*, 73: 143-147.

Devlieghere, F.; Vermeiren, L.; Debevere, J. (2004). New preservation technologies: Possibilities and limitations. *Review International Dairy Journal*, 14: 273-285.

Díaz, B.; Sosa, M.; Vélez, J. (2004). Efecto de la adición de fibra y la disminución de grasa en las propiedades fisicoquímicas de yogur. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 3: 287-305.

Doleyres, Y.; Schaub, L.; Lacroix, C. (2005). Comparison of the functionality of Exopolisaccharides produced in situ or added as bioingredients on yogurt properties. *J. Dairy Sc.*, 88:4146-4156.

Duboc, P.; Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11: 759-768.

Dziezak, J. (1991). A focus on gums. *Food Technology*, 45: 116-132.

Early, R. (2000). *Tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza: Acribia.

Elli, M.; Callegari, M.; Ferrari, S.; Bessi, E.; Cattivelli, D.; Soldi, S.; Morelli, L.; Goupil, N. (2006). Antoine J. Survival of Yogurt Bacteria in the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 72: 5113-5117.

Fadela, C.; Abderrahim, F.; Ahmed, B. (2009). Physico-Chemical and rheological properties of yogurt manufactured with ewe's milk and skim milk. *African Journal of Biotechnology*, 8:1938-1942.

Farooq, K.; Haque, Z. (1992). Effect of sugar esters on the textural properties of nonfat low calorie yogurt. *Journal Dairy Science*, 75: 2676-2680.

- Gálvez, H.; Abriouel, R.; López, N.; Omar, N. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120:51-70.
- García, R.; Pozuelo, M.; Angulo, S.; Morosini, M.; Bravo, D.; Baquero, F.; Campo, R. (2008). Molecular analysis of yogurt containing *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *streptococcus thermophilus* in human intestinal microbiota. *American Journal Clinical Nutrition*, 87: 91-96.
- Geuns, J. (2003). Molecules of Interest: Stevioside. *Phytochemistry*, 64: 913-921.
- Girard, M.; Schaffer, C. (2007). Gelation and resistance to shearing of fermented milk: Role of exopolysaccharides. *Internal Dairy J.*, 17:666-673.
- Girard, M.; Schaffer, C. (2008). Attractive interactions between selected anionic exopolysaccharides and milk proteins. *Food Hydrocolloids*, 22:1425-1434.
- Grattepanche, F.; Audet, P.; Lacroix, C. (2007a). Enhancement of functional characteristics of mixed lactic culture producing nisin Z and exopolysaccharides during continuous fermentation of milk with immobilized cells. *J. Dairy Sc.*, 90:5361-5373.
- Grattepanche, F.; Audet, P.; Lacroix, C. (2007b). Milk fermentation by functional mixed culture producing nisin Z and exopolysaccharides in a fresh cheese model. *Internal Dairy J.*, 17:123-132.
- Gutiérrez, T.; Hoyos, O.; Páez, M. (2007). Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*physalis peruviana l.*), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). *Revista Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 5:70-79.
- Harvey, G. (1995). Sugars, sweetness, and food intake. *American Journal Clinical Nutrition*, 62: 195-202.
- Hernández, A.; Hassan, A.; Goff, H.; Mira, R.; Corredig, M. (2008). Production, isolation and characterization of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* JFR1 and their interaction with milk proteins: Effect of pH and media composition. *Internal Dairy J.*, 18:1109-1118.
- Hernández, A.; Robles, V.; Angulo, J.; Cruz, J.; García, H. (2007). Preparation of a whey-based probiotic product with *Lactobacillus reuteri* and *Bifidobacterium bifidum*. *Journal Food Technology Biotechnological*, 45: 27-31.
- Hernández, J.; Rodríguez, S.; Bello, L. (2008). Obtención de jarabe fructosado a partir de almidón de plátano (*Musa paradisiaca L.*). Caracterización parcial. *Revista Interciencia*, 33: 372-376.

- Hill, C.; Okeeffe, T.; Ross, P. (2002). Antimicrobial factors produced by lactic acid bacteria. *Encyclopedia of Food Sciences and nutrition*, 14:273-285.
- Hong, S.; Marshall, R. (2001). Natural exopolysaccharides enhance survival of lactic acid bacteria in frozen dairy desserts. *J. Dairy Sc.*, 84:1367-1374.
- Hoolihan, L. (2001). Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: A review. *Journal of the American Dietetic Association*, 101: 229-241.
- Hui, Y. (1993). *Dairy Science and Technology Handbook*. Vol. 2: Product manufacturing. VCH publishers, 1-53.
- Hugenholtz, J. (2008). Review the lactic acid bacterium as a cell factory for food ingredient production. *International Dairy Journal*, 18: 466-475.
- Hussain, I.; Rahman, A.; Atkinson, N. (2009). Quality comparison of probiotic and natural yogurt. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8: 9-12.
- Izawa, N.; Hanamizu, T.; Iizuka, R.; Sone, T.; Mizukoshi, H.; Kimura, K.; Chiba, K. (2009). *Streptococcus thermophilus* produces exopolysaccharides including hyaluronic acid. *J. Biosc. Bioeng.*, 2:119-123.
- Jagnow, G.; Wolfgang, D. (1991). *Introducción con experimentos modelo*. Zaragoza: Acribia.
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 39:1221-1227.
- Kayanush, J.; Aryana, B.; McGrew, P. (2007). Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT*, 40:1808-1814.
- Kohno, M.; Suzuki, S.; Tanaya, K.; Yoshino, T.; Matsuura, Y.; Asada, M.; Kitamura, S. (2009). Structural characterization of the extracellular polysaccharide produced by *Bifidobacterium longum* JBL05. *Carbohydrate polymers*, 13: 1-36.
- Kumar, P.; Mishra, N. (2004). Yoghurt powder -a review of process technology, storage and utilization. *Food and Bioproducts Processing*, 82:133-142.
- Larsson, SC.; Andersson, SO.; Johansson, JE.; Wolk, A. (2008). Cultured milk, yogurt, and dairy intake in relation to bladder cancer risk in a prospective study of Swedish women and men. *American Journal Clinical Nutrition*, 8:1083-1087.
- Laurent, M.; Boulenguer, P. (2003). Stabilization mechanism of acid dairy drinks (ADD) induced by pectin. *Food Hydrocolloids*, 17: 445-454.

- Laws, Y.; Gu, Y.; Marshall V. (2001). Biosynthesis, characterization, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Biotechnology Advances*, 19: 597-625.
- López-Malo, A. (2000). *Manual de prácticas de análisis de los alimentos*. Puebla, México: Universidad de las Américas.
- Ly, M.; Covarrubias, M.; Dur, C. ; Bordet, S. ; Voilley, A. ; Le, T. ; Berlin, M. ; Wache, Y. (2008). Retention of aroma compounds by acid lactic bacteria in models food media. *Food Hydrocolloids*, 22: 211-217.
- Macedo, M.; Lacroix, C. ; Gardner, N. ; Champagne, C. (2002). Effect of medium supplementation on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* RW-959M in whey permeate. *Internal Dairy J.*, 12: 419-426.
- Mahmood, A.; Abbas, N.; Gilani, A. (2008). Quality of stirred buffalo milk yogurt blended with apple and banana fruits. *Pakistan Journal Agricultural Science*, 45: 275-279.
- Martensson, O. ; Dueñas, M. ; Irastorza, A. ; Oste, R. ; Holst, O. (2003). Comparison of growth characteristics and exopolysaccharide formation of two lactic acid bacteria strains, *Pediococcus damnosus* 2.6 and *Lactobacillus brevis* G-77, in an oat-based, nondairy medium. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 36:353-357.
- Martini, M.; Kukielka, D.; Savaiano, D. (1991). Lactose digestion from yogurt: influence of a meal and additional lactose. *American Journal Clinical Nutrition*, 53: 1253-1258.
- Marshall, V.; Laws, A.; Gu, Y.; Levander, F.; Radstrom, P.; Vuyst, L.; Degeest, B.; Vaningelgem, F.; Dunn, H.; Elvin, M. (2001). Exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria cluster into groups according to their EPS structure. *Letters in Appl. Microbiol*, 32:433-437.
- Mata, J.; Béjar, V.; Llamas, I.; Arias, S.; Bressollier, P.; Tallon, R.; Urdaci, M.; Quesada, E. (2006). Exopolysaccharides produced by the recently described halophilic bacteria *Halomonas ventosae* and *Halomonas anticariensis*. *Res. Microbiology*, 157:827-835.
- Mathur, S.; Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review—. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 281-295.
- Mendoza, N.; Trujillo, N.; Osorio, D. (2007). Evaluación del almidón de ñame espino (*dioscorea rotundata*) como estabilizante en la elaboración de yogurt entero tipo batido. *Revista Bistua*, 5:97-105.

- Moreno, T. (2006). Proyecto de producción del cultivo de sagú (*canna edulis*, familia *cannáceas*) en el municipio Jáuregui, estado Táchira. Disponible en internet: http://www.funtha.gov.ve/doc_pub/doc_247.pdf.
- Myers, D. (2007). Therapeutic Review Probiotics. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 16: 195-197.
- Neira, E. y López, J. (2001). *Guíatécnica para la elaboración de productos lácteos*. Bogotá: Litografía Enzas.
- Noni, I.; Pellegrino, L.; Masotti, F. (2004). Survey of selected chemical and microbiological characteristics of (plain or sweetened) natural yoghurts from the Italian market. *Lait*, 84: 421-433.
- Olson, D.; Aryana, K. (2008). An excessively high *Lactobacillus acidophilus* inoculation level in yogurt lowers product quality during storage. *LWT*, 41: 911-918.
- Ozkaya, F.; Aslim, B.; Ozkaya, M. (2007). Effect of exopolysaccharides (EPS) produced by *Lactobacillus delbrueckii* susp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. *LWT*, 40: 564-568.
- Parra, R. (2009). Lactosuero: Importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional Agronomía*, Medellín, 62(1): 4967-4982.
- Pasquel, A. (2001). Gomas: una aproximación a la industria de alimentos. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 1: 1-8.
- Péant, B.; Lapointe, G.; Gilber, C.; Atlan, D.; Ward, P.; Roy, D. (2005). Comparative analysis of the exopolysaccharide biosynthesis gene clusters from four strains of *Lactobacillus rhamnosus*. *Microbiol.*, 151:1839-1851.
- Pérez, E.; Serralde, E.; Meléndez, M. (2007). Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 15: 67-74.
- Pérez, R.; Carrasco, M. (2006). Crecimiento in vitro de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* en medios que contengan edulcorantes artificiales. *Kiru*, 3:2-6.
- Pescumma, M.; Herbet, E.; Mozzi, F.; Font, G. (2008). Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*, 25: 442-451.
- Petersen, B.; Dave, R.; McMahon, D.; Oberg C.; Broadbent, J. (2000). Influence of capsular and rOPY exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* on mozzarella cheese and cheese whey. *J. Dairy Sc.*, 83:1952-1956.

- Pinzón, I.; Fischer, G.; Corredor, G. (2007). Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis*). *Agronomía Colombiana*, 25: 83-95.
- Porto, J.; Andre, H. (2007). Different sweeteners in peach nectar: Ideal and equivalent sweetness. *Food Research International*, 40: 1249-1253.
- Prabhakar, V.; Das, S.; Sen, R. (2009). An exopolysaccharide from a probiotic: biosynthesis dynamics, composition and emulsifying activity. *Food Res. International*, 7: 1-23.
- Ramasubramanian, L.; Restuccia, C.; Deeth, H. (2008). Effect of calcium on the physical properties of stirred probiotic yogurt. *Journal Dairy Science*, 91: 4164-4175.
- Ramírez, R. (2006). *Química de alimentos*. Bogotá: UNAD.
- Reiff, C.; Kelly, D. (2010). Inflammatory bowel disease, gut bacteria and probiotic therapy. *International Journal of Medical Microbiology*, 300: 25-33.
- Robitaille, G.; Moineau, S.; Gelais, D.; Vadeboncoeur, C.; Britten, M. (2006). Detection and quantification of capsular exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* using lectin probes. *J. Dairy Sc.*, 89:4156-4162.
- Rodríguez, M.; Sánchez, J.; Campelo, A.; Martínez, B.; Rodríguez, A.; Gil, A. (2008). Structure of the high-molecular weight exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Carbohydrate Res.*, 343:3066-3070.
- Ruiz, J.; Ramírez, A. (2009). Elaboración de yogurt con probióticos (*Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina. *Revista Facultad Agronomía (LUZ)*, 26: 223-242.
- Sahan, N.; Yasarb, K.; Hayaloglu, A. (2008). Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloids*, 22: 1291-1297.
- Saint-Eve, A.; Lévy, C.; Moigne, M.; Ducruet, V.; Souchon, I. (2008). Quality changes in yogurt during storage in different packaging materials. *Food Chemistry*, 110: 285-293.
- Salvador, A.; Fiszman, S. (2004). Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. *Journal Dairy Science*, 87: 4033-4041.
- Salvatierra, M.; Molina, A.; Gamboa, M.; Arias, M. (2004). Evaluación del efecto de cultivos probióticos presentes en yogurt sobre *Staphylococcus aureus* y la producción de termoneucleasa. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54: 298-302.

- Sanabria, A.; Martínez, J.; Díaz, J. (2009). Cáncer de colon: análisis del costo de enfermedad para los estadios III y IV en cancercoop IPS. *Revista Colombiana de Ciencias Químicas Farmacéuticas*, 38: 193-214.
- Savadogo, A.; Ouattara, C.; Bassole, T.; Traore, A. (2006). Review Bacteriocins and lactic acid bacteria –a mini review–. *African Journal Biotechnological*, 5:678-683.
- Schutten, G.; Faber, E.; Smit, E.; Bonting, S.; Smith, M.; Brink, T.; Kamerling, J.; Vliegthart, G.; Dijkhuize, L. (1999). Biochemical and Structural Characterization of the Glucan and Fructan Exopolysaccharides Synthesized by the *Lactobacillus reuteri* Wild-Type Strain and by Mutant Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 65:3008-3014.
- Sehar, I.; Kaul, A.; Bani, S.; Chandra, H.; Saxena, A. (2008). Immune up regulatory response of a non-caloric natural sweetener, stevioside. *Chemico-Biological Interactions* 1-7.
- Shah, N. (2003). Yogurt: the product and its manufacture. *Encyclopedia of Foods Science and Nutrition*. Elsevier.
- Shana, N.; Yasarb, K.; Hayaloglu, A. (2008). Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloids*, 22: 1291-1297.
- Sigman, M.; Morita, J. (2003). Defining and interpreting intakes of sugars. *American Journal Clinical Nutrition*, 78: 815-826.
- Simitaru, I.; Segal, R. (2007). Researches concerning the biosynthesis of exopolysaccharides in the fermented dairy products with the yogurt culture yf-l 811. *Bull. USAMV-CN*, 63:540-545.
- Sodini, I.; Montella, J.; Tong, P. (2005). Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey protein concentrates. *Journal Science Food Agriculture*, 85: 853-859.
- Soto, A.; Val, S. (2002). Extracción de los principios edulcorantes de la *Stevia rebaudiana*. *Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos*, 20:5-9.
- Soukoulis, C.; Panagiotidis, P.; Koureli, R.; Tzia, C. (2007). Industrial Yogurt Manufacture: Monitoring of Fermentation Process and Improvement of Final Product Quality. *Journal Dairy Science*, 90: 2641-2654.
- Supavitpatana, P.; Wirjantoro, T.; Apichartsrangkoon, A.; Raviyan, P. (2008). Addition of gelatin enhanced gelation of corn–milk yogurt. *Food Chemistry*, 106: 211-216.
- Shane, N.; Oconnor, J.; Eyres, L. (2006). Application of emulsifiers/ stabilizers in dairy

products of high rheology. *Advances in Colloid and Interface Science*, 123: 433-437.

Sheu, B.; Cheng, H.; Kao, A.; Wang, S.; Yang, Y.; Yang, H.; Jong, J. (2006). Pretreatment with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*-containing yogurt can improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual *Helicobacter pylori* infection after failed triple therapy 1-3. *American Journal Clinical Nutrition*, 83: 864-869.

Smitinont, T.; Tansakul, S.; Tanasupawat, S.; Keeratipibul, L.; Bosco, M.; Cescutti, P. (1999). Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria strains from traditional Thai fermented foods: isolation, identification and exopolysaccharide characterization. *Internal J. Food Microbiology*, 51:105-111.

Tamine, A.; Robinson, R. (1991). *Yogur ciencia y tecnología*. Zaragoza, España: Acribia.

Tamime, A. (2003). Yogurt-based products. *Enciclopedia of Foods Science and Nutrition*. Elsevier.

Tayeb, T.; Khodair, T. (2006). Enhance production of some microbial exopolysaccharides by various stimulating agents in batch culture. *Res. J. Agric. Biolog. Sc.*, 2:483-492.

Uyeno, Y.; Sekiguchi, Y.; Kamagata, Y. (2008). Impact of consumption of probiotic lactobacilli-containing yogurt on microbial composition in human feces. *International Journal of Food Microbiology*, 122:16-22.

Vadeboncoeur, C.; Moineau, S. (2004). The relevance of genetic analysis to dairy bacteria: building upon our heritage. *Microbial Cell Factories*, 3-15.

Vuyst, L.; Zamfir, M.; Mozzi, F.; Adriany, T.; Marshall, V.; Degeest, B.; Vanningelgem, F. (2003). Exopolysaccharide producing *Streptococcus thermophilus* strains as functional starter cultures in the production of fermented milks. *Internal Dairy J.*, 13:707-717.

Walstra, P.; Geurts, T.; Noomen, A.; Jellema, A.; Boekel, J. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza, España.

Wang, K.; Li, S.; Liu, C.; Peng, D.; Su, Y.; Wu, D.; Jan, C.; Lai, C.; Wang, T.; Wang, W. (2004). Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. *American Journal Clinical Nutrition*, 80: 737-741.

Welman, D.; Madoox, S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Rev. Trends Biotechn.*, 38:67-79.

Wilches, A. (2004). Caracterización preliminar de enzimas relacionadas con la síntesis

de exopolisacáridos producidos por *Raoultella terrigena* y *Pseudomonas fluorescens*. *Rev. Acad. Col. Ciencias*, 28:577-583.

Wungrath, J.; Pianmongkhol, A.; Wirjantoro, T. (2009). Effect of probiotic added goat and cow milk yogurt consumption on immunoglobulin a (IgA) induction in healthy adolescents. *Journal Health Resources*, 23: 5-9.

Yuan, Y.; Zhang, L.; Dai, Y.; Yu, J. (2007). Physicochemical properties of starch obtained from *Dioscorea nipponica* Makino comparison with other tuber starches. *Journal of Food Engineering*, 82:436–442.

Yuksekdag, Z.;Aslim, B. (2008). Influence of different carbon sources on exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (B3, G12) and *Streptococcus thermophilus* (W22). *Brazilian Archives Biol. Technol.*, 51:581-585.

Zahoor, T.; Rahman, S.; Farooq, U.(2003). Viability of *Lactobacillus bulgaricus* as Yoghurt Culture Under Different Preservation Methods. *International Journal of Agriculture and Biology*, 5: 46-48.

Zambou, N.; Nour, A.; Mbiapo, T.; Morsi, S. (2004).Effect of ropy and capsular exopolysaccharides producing strain of *Lactobacillus plantarum* 162 rm on characteristics and functionality of fermented milk and soft kareish type cheese. *African J. Biotech.*, 3:512-518.

Zare, F.; Boye, J.; Orsat, V. (2011). Microbial, physical and sensory properties of yogurt supplemented with lentil flour. *Food Research International*, 44:2482-2488.

Ziarno, M.; Sekul, E.; Lafraya, A. (2008). Cholesterol Assimilation by Commercial Yoghurt Starter Cultures. *Acta Sci. Pol Technol. Aliment*, 6: 83-94.

Zisu, B.; Shah, P. (2003). Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. *J. Dairy Sc.*, 86: 3405-3415.

Este libro se terminó de imprimir en el mes de octubre de 2012, en la Imprenta de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, con un tiraje de 300 ejemplares.

Tunja - Boyacá - Colombia