

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.

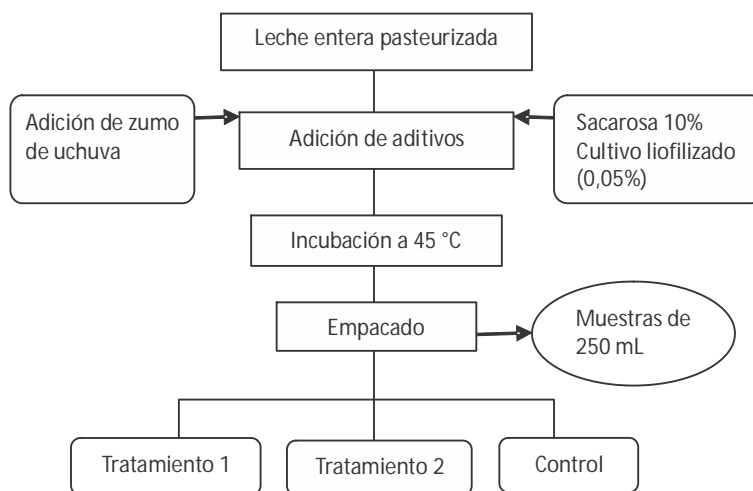


Figura 4. Elaboración de yogur

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.

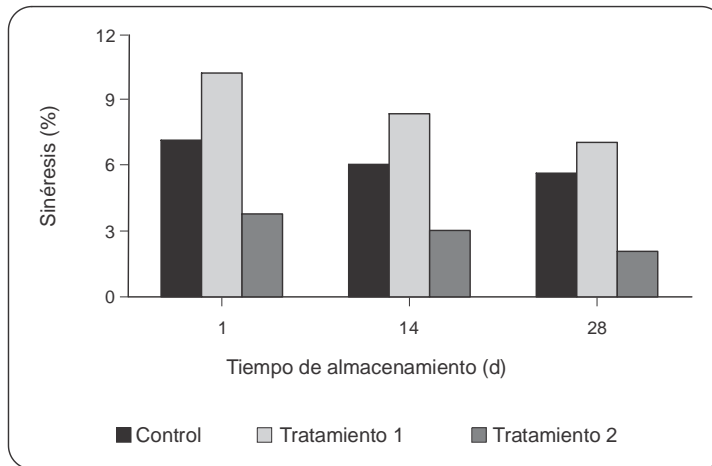
Análisis estadístico

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

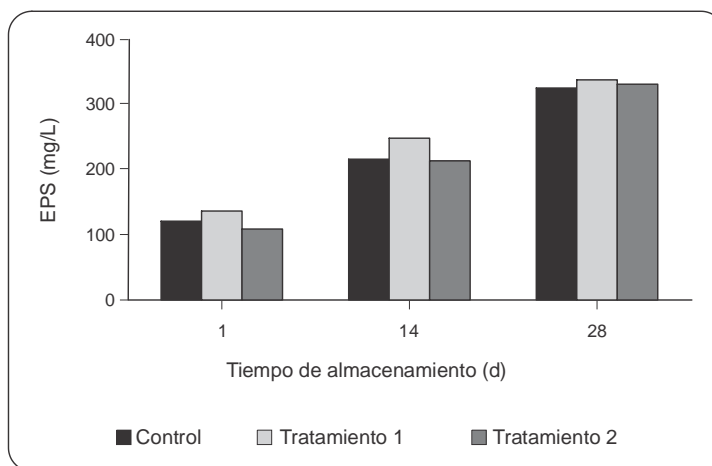
Se observa en la gráfica 1 que el tratamiento 2 redujo considerablemente el porcentaje de sinéresis desde el primer día hasta el final del almacenamiento; lo anterior en comparación con el tratamiento 1 y el control; estos resultados son similares a los obtenidos por Castillo *et al.* (2004), quienes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



Gráfica 1. Comportamiento de la sinéresis durante el almacenamiento

Exopolisacáridos

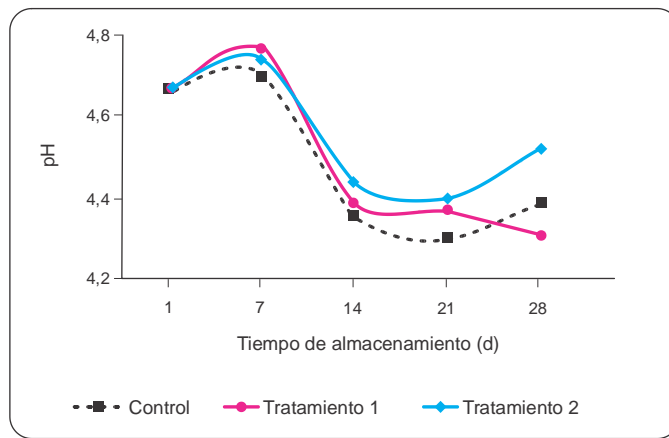
En la gráfica 2 se observa la concentración de exopolisacáridos respecto al tiempo; se detalla que hubo una producción similar entre los tratamientos y el control; sin embargo, al final del experimento el tratamiento 1 presentó un ligero incremento en la concentración respecto al control y al tratamiento 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.

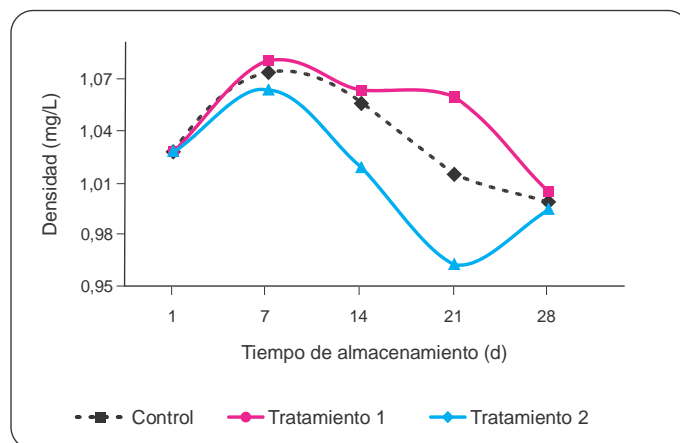


Gráfica 3. Desarrollo del pH durante el almacenamiento

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.

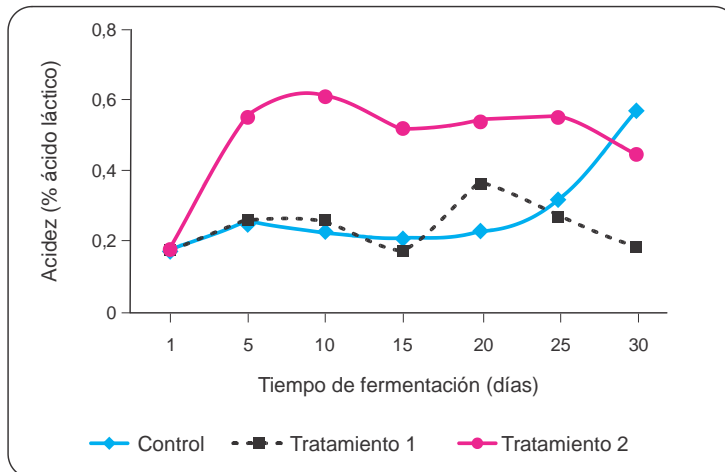
Análisis estadístico

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

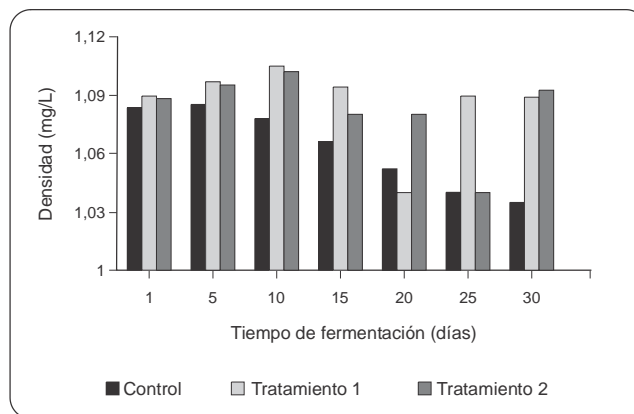
La acidez titulable se muestra en la gráfica 5; el tratamiento 2 mostró tener la mayor acidez, y el tratamiento 1, valores más bajos durante el experimento. Es importante destacar que en el tratamiento 2 la producción de ácido láctico fue siempre mayor; incluso se observa que la velocidad de producción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

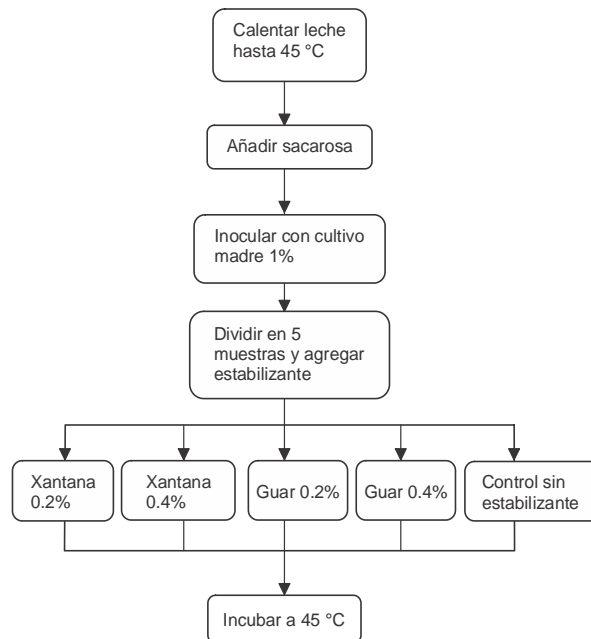


Figura 5. Elaboración de yogur

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.

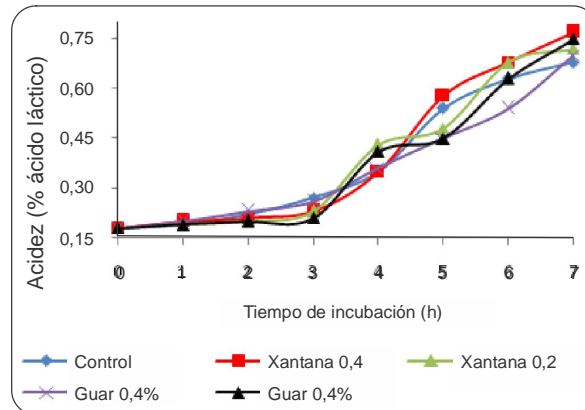
Análisis estadístico

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

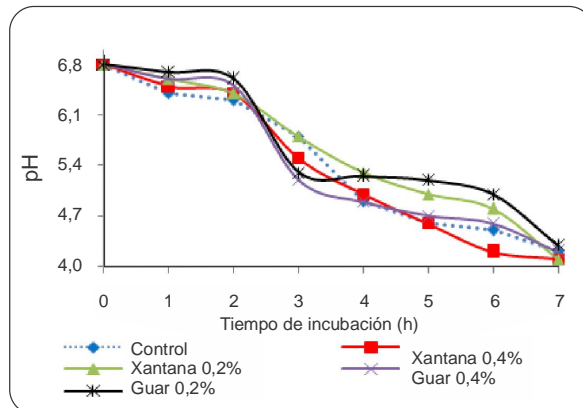


Gráfica 7. Comportamiento de la acidez con diferentes concentraciones de estabilizantes durante el tiempo de incubación de yogur

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

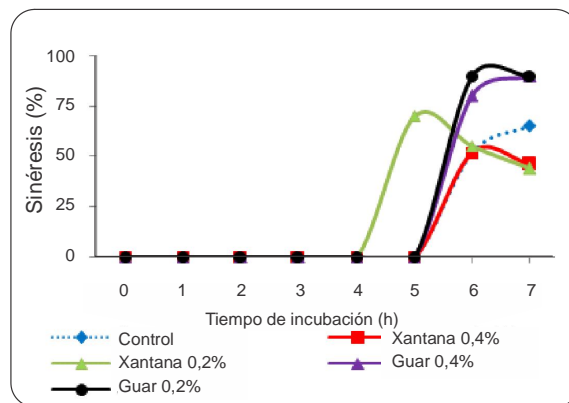
El comportamiento del pH se observa en la gráfica 8; se detalla que a partir de la hora 2 los valores varían considerablemente conforme transcurre el tiempo de incubación; sin embargo, al llegar a la hora 7 el pH fue muy similar entre los estabilizantes. La goma guar en una concentración de 0,2% presentó 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 (Soukoulis *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.

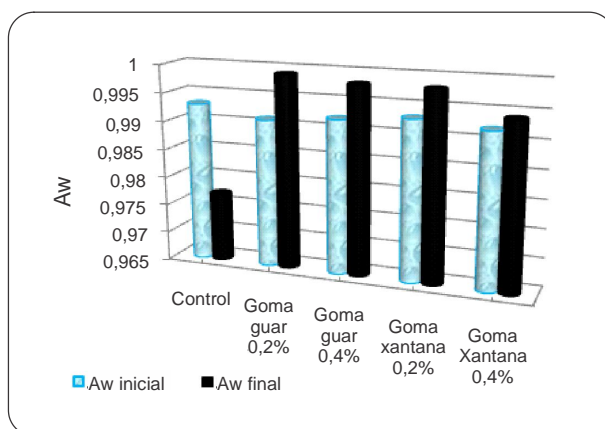


Gráfica 9. Comportamiento de la sinéresis a diferentes concentraciones de estabilizantes durante el tiempo de incubación de yogur

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.

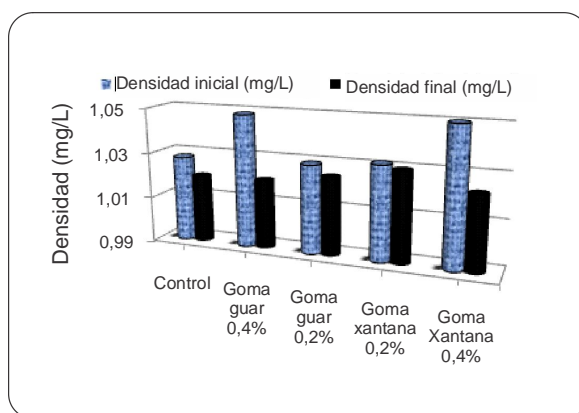
Tabla 5. Evaluación de la viscosidad de estabilizantes a diferentes concentraciones al inicio y al final del tiempo de incubación de yogur

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

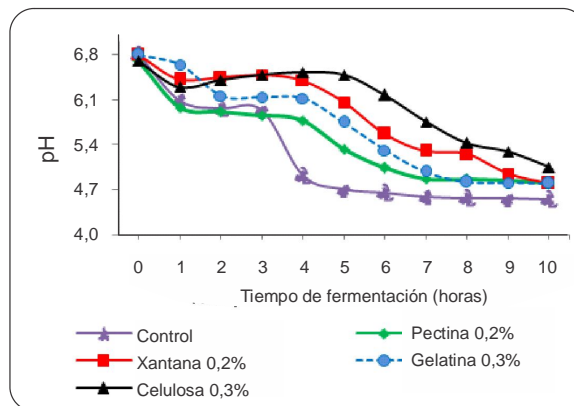
Comportamiento de pH

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.

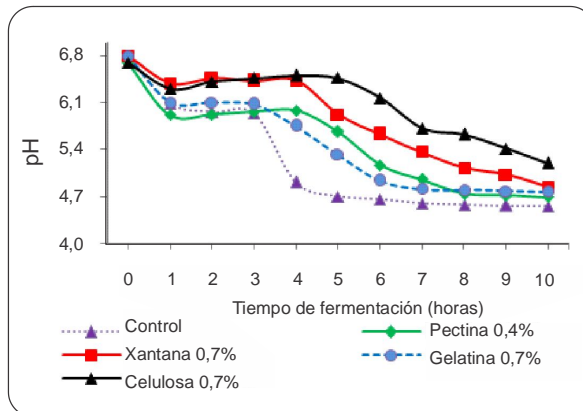
Los cuatro estabilizantes utilizados a concentraciones bajas no tuvieron un valor de pH superior al del yogur control durante todo el periodo de incubación. De los cuatro estabilizantes, la celulosa mostró tener la menor velocidad de descenso de pH; el caso contrario ocurrió con la pectina, que mostró 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.

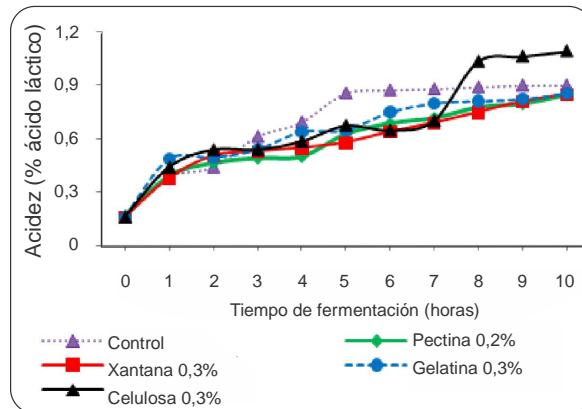
Las muestras de yogur que contenían celulosa registraron un comportamiento diferente al presentado con otros estabilizantes; la acidez mostrada fue la mayor, con 1,092%, expresada en ácido láctico; para las demás muestras el valor de acidez estuvo en promedio en un 0,85% de ácido láctico.

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.

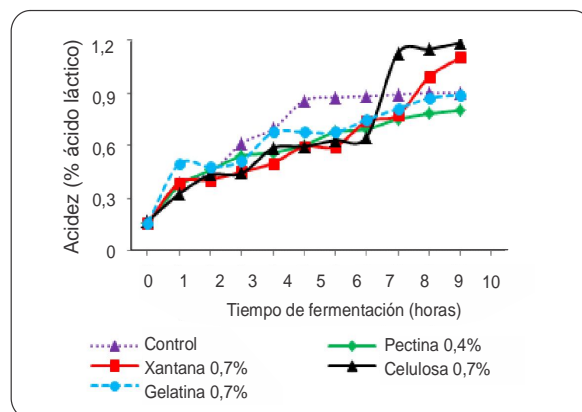
A partir de la hora 5 del tiempo de fermentación, el porcentaje de acidez para el yogur control fue constante (0,85%), hasta el final del experimento; las demás muestras necesitaron más horas de fermentación por parte del cultivo iniciador para llegar al valor óptimo de acidez del yogur. Estos cambios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



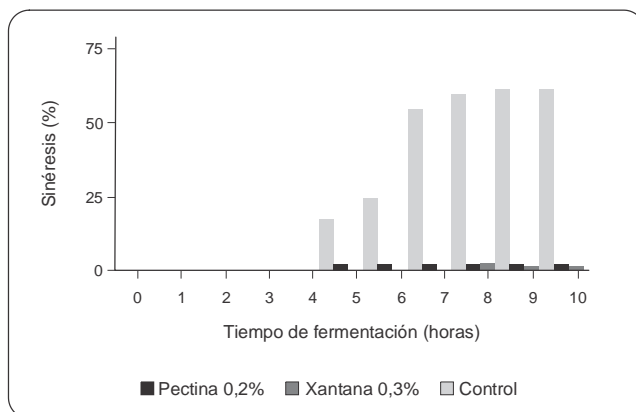
Gráfica 15. Comportamiento de la acidez con diferentes estabilizantes a concentraciones altas

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.

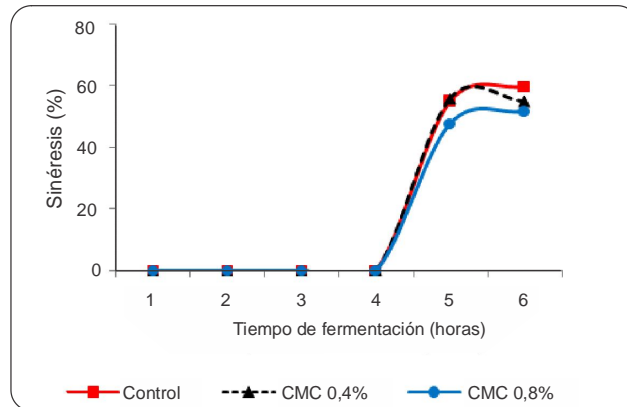
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de sinéresis

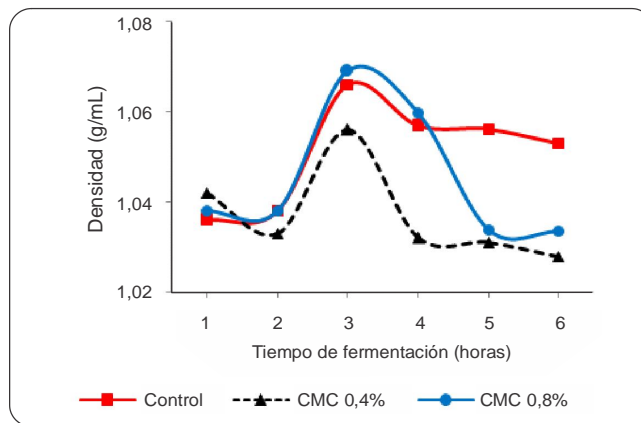
En la gráfica 17 se detalla que la carboximetilcelulosa (CMC) y el control tuvieron un comportamiento similar; sin embargo, el control presentó un ligero incremento en el porcentaje, además, es importante destacar que ninguna de las dos concentraciones de CMC usadas afectó los valores de sinéresis. Lo 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



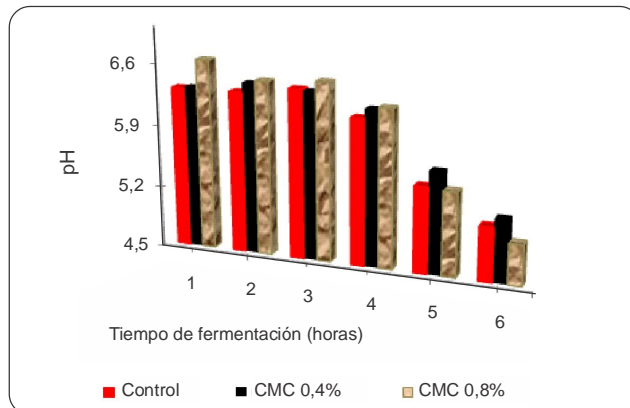
Gráfica 18. Comportamiento de la densidad durante el periodo de incubación

Comportamiento de pH

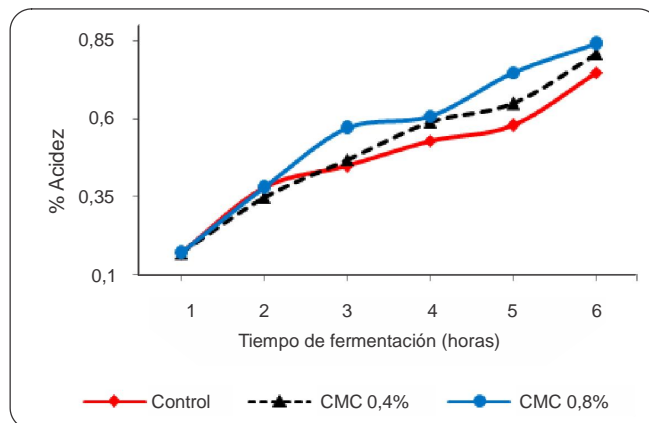
Al observar el comportamiento del pH (gráfica19) se puede afirmar que durante las semanas del estudio no hubo variaciones significativas en los valores de los tratamientos con diferentes concentraciones de CMC ni en el de control. Los anteriores resultados fueron similares a los obtenidos por Soukoulis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

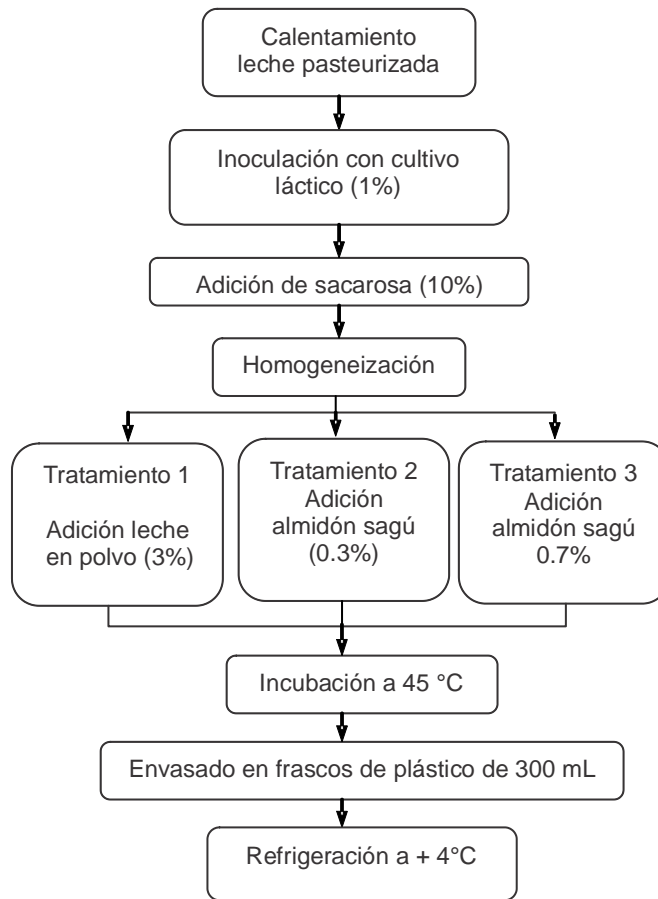


Figura 6. Elaboración de yogur

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

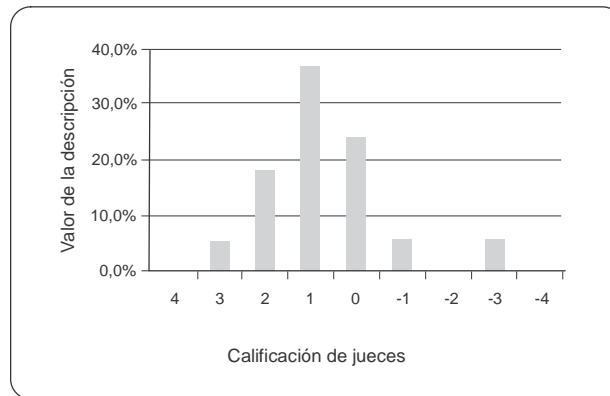
Análisis estadístico

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.

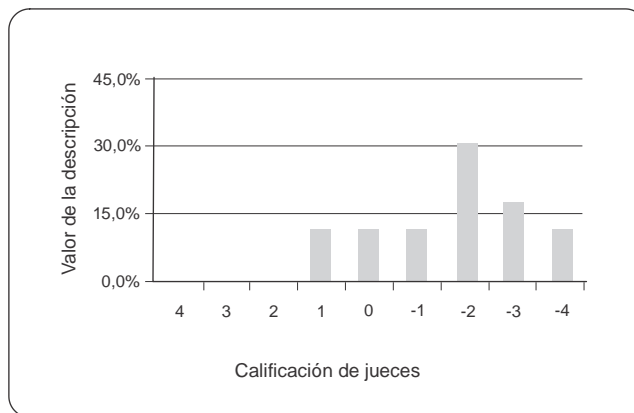
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis sensorial

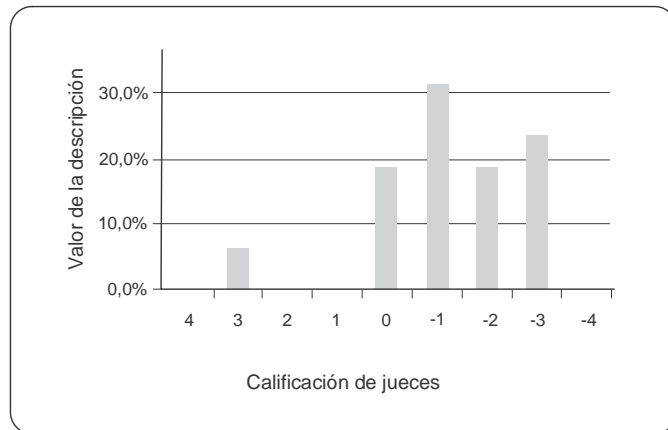
Las gráficas 21, 22 y 23 muestran las preferencias de los panelistas. Según los resultados obtenidos y plasmados en las gráficas para las muestras de yogur, se encontró que el yogur de gulupa que contenía almidón de sagú a una concentración de 0,3% tuvo mayor aceptabilidad, mientras que el yogur con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



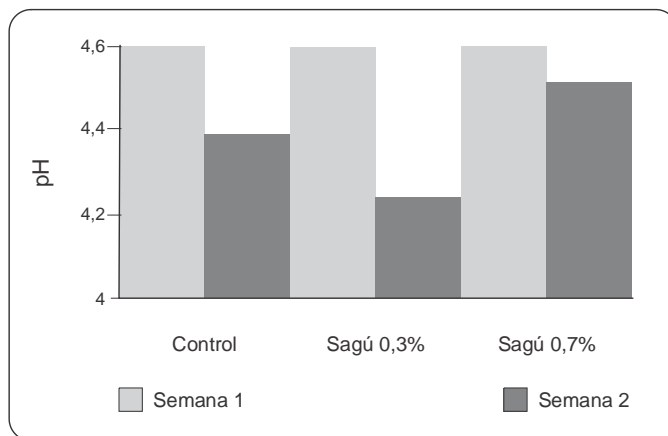
Gráfica 22. Evaluación sensorial de yogur de gulupa con almidón de sagú al 0.7%



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.

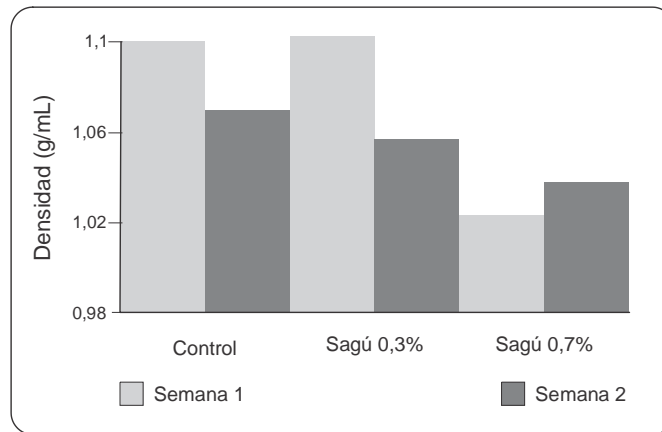
Comportamiento de pH



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

Densidad

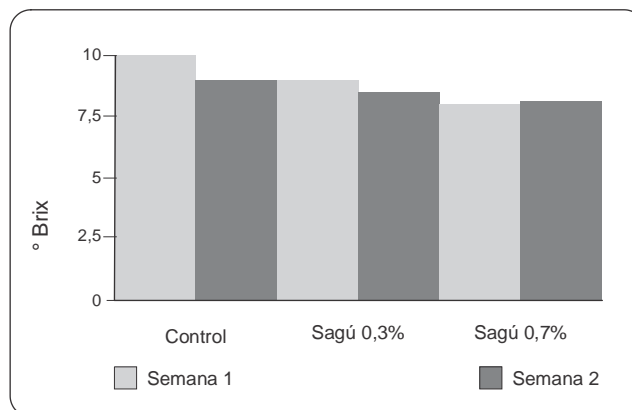
En la gráfica 25 se observa que las muestras de yogur control y almidón de sagú al 0,3% presentaron una disminución en las densidades durante el almacenamiento; estas disminuciones son similares a las obtenidas por Mendoza *et al.* (2007) en un estudio en el que utilizaron almidón de ñame en la elaboración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

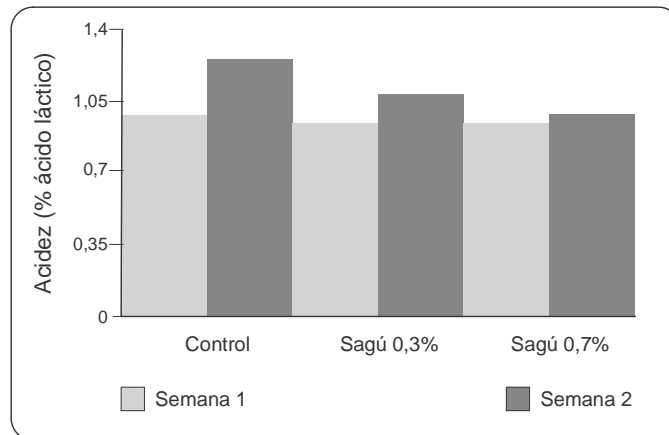
Acidez

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.

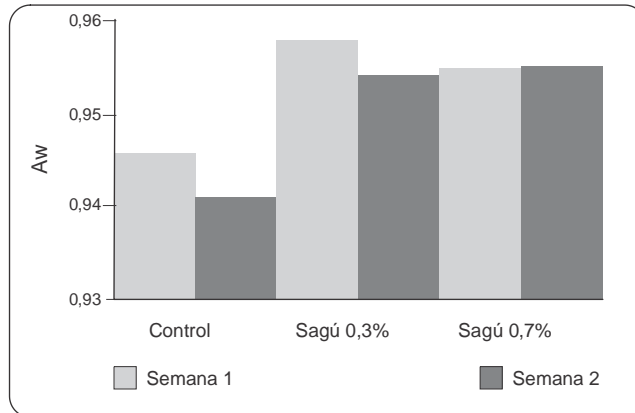
Aw

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.

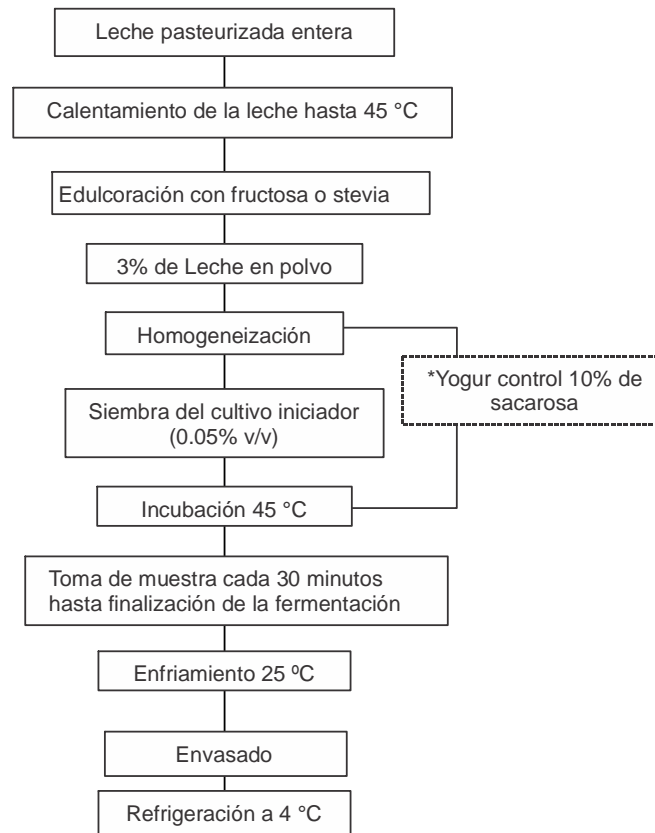


Figura 7. Elaboración de yogur

* 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).

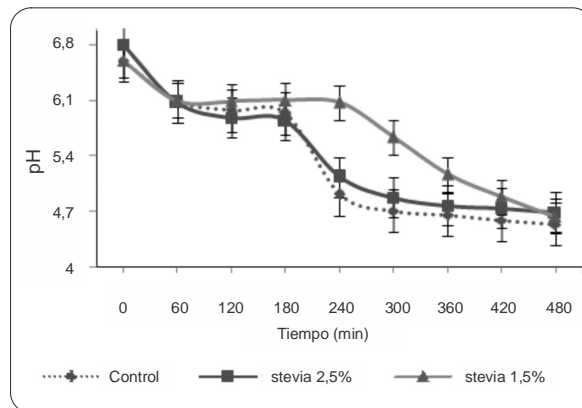
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de pH

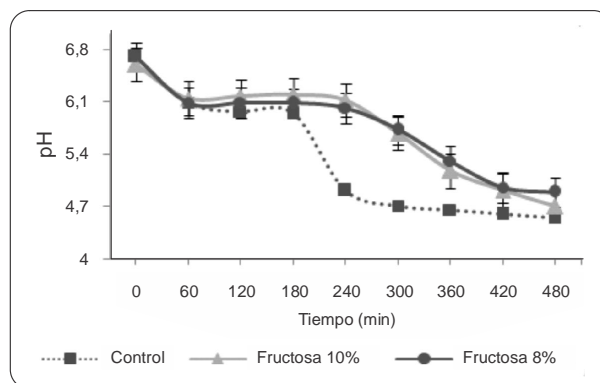
Los datos de pH para las concentraciones de stevia se pueden apreciar en la gráfica 29; se observó que hasta el minuto 180 no hubo cambio significativo de pH en las tres muestras; sin embargo, a partir de este minuto hubo cambios en los valores. El comportamiento del yogur con una concentración de stevia 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

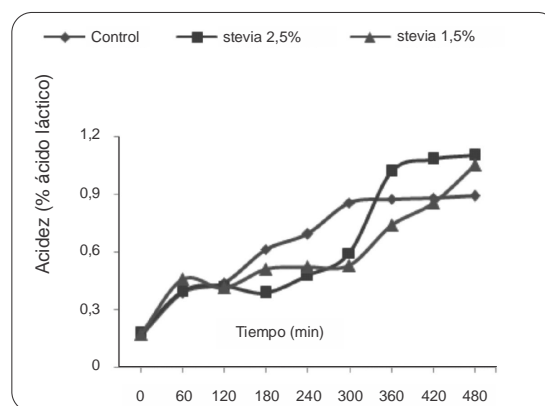
Al final del experimento los valores del pH de las dos concentraciones de stevia y fructosa fueron muy similares; esto puede ser atribuido a que las BAL pueden utilizar cualquier concentración de fructosa o stevia como fuente de carbohidratos y energía respectivamente, hasta producir ácido láctico en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

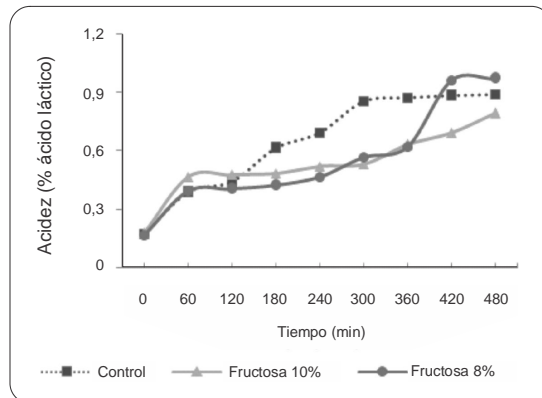
Acidez titulable

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



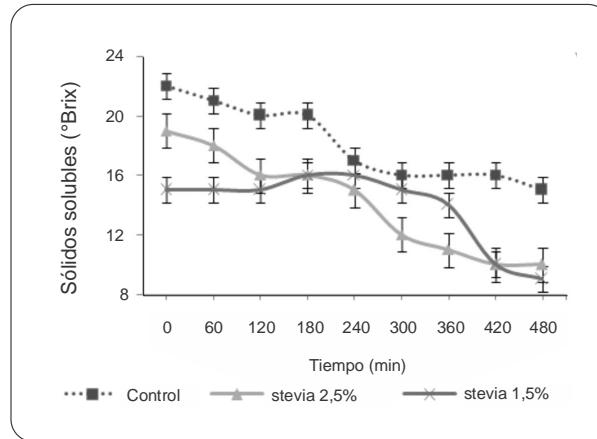
Gráfica 32. Acidez con diferentes concentraciones de fructosa

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.

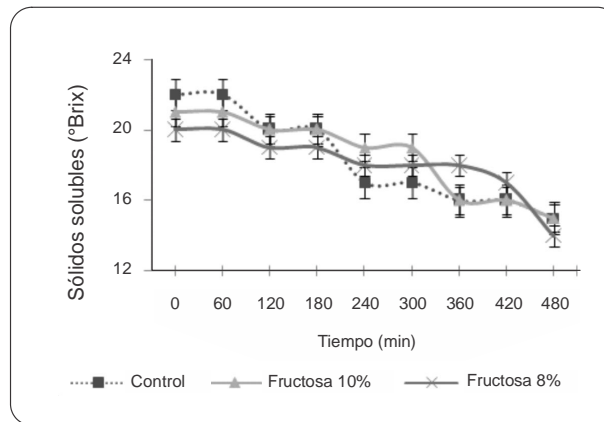
Otras investigaciones mencionan que los valores expresados en porcentaje de ácido láctico en un yogur al final de la fermentación oscilan entre 0,9 y 1,2% de acidez (Briceño *et al.*, 2001).

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

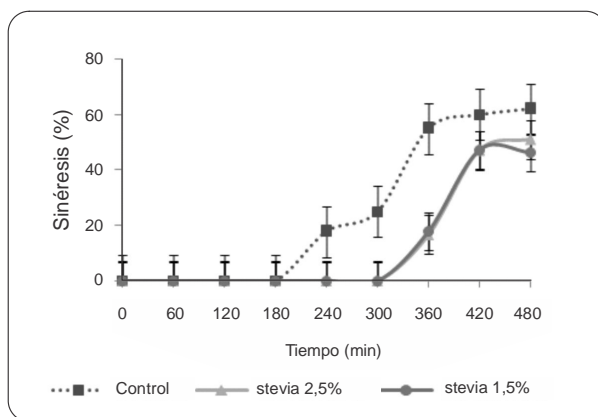
comportamiento, se observó además que la sinéresis de las muestras con stevia fue menor que la presentada en el yogur control, y que la sinéresis apareció 120 minutos más tarde en el yogur con stevia, comparado con el yogur control. Al final del experimento el porcentaje de sinéresis para el control 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%.

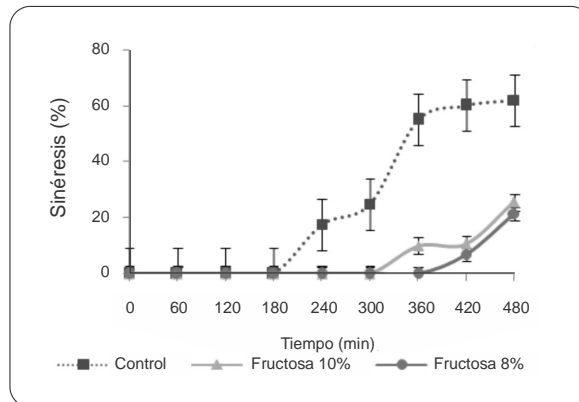
Al comparar el efecto de la stevia y la fructuosa sobre la sinéresis en el proceso de elaboración de yogur, se aprecia que la fructuosa tiene una acción más evidente en cuanto a la retención de agua respecto a la stevia; es decir, la fructuosa tiene mayor capacidad de retención de lactosuero, por lo 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

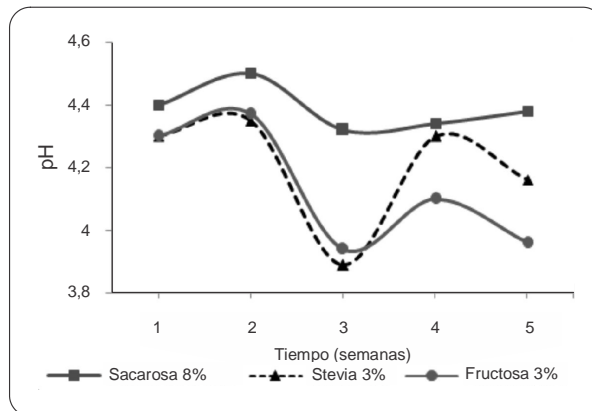
El tratamiento estadístico aplicado a las características fisicoquímicas de cada uno de los tratamientos fue el análisis de varianza ANOVA; se utilizaron los promedios de

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%.

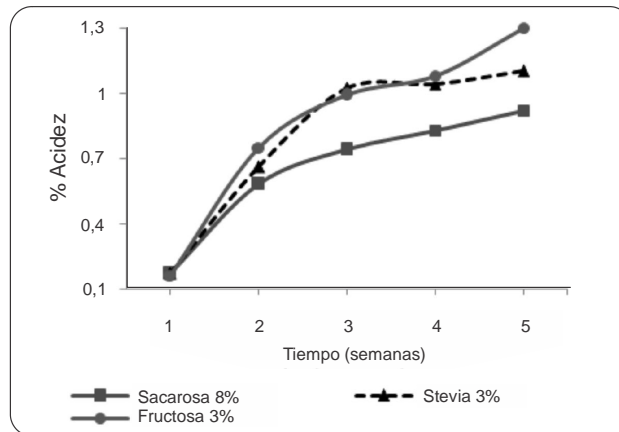
Densidad

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

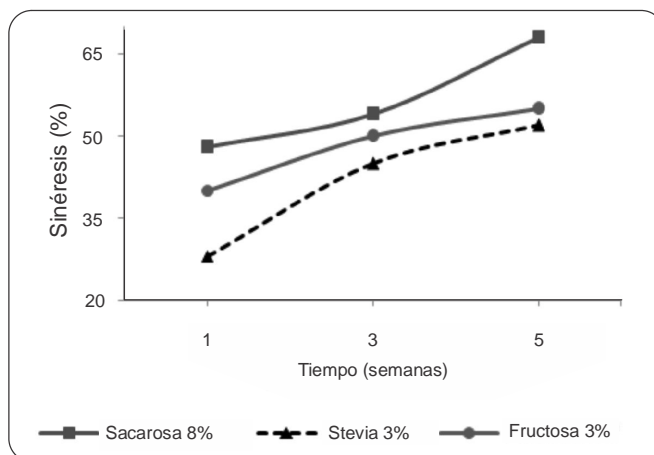
Estadísticamente, los parámetros fisicoquímicos en los tratamientos tienen un efecto significativo en la sinéresis; igualmente, existe interacción entre los diferentes tratamientos durante el almacenamiento de yogur.

CONCLUSIONES

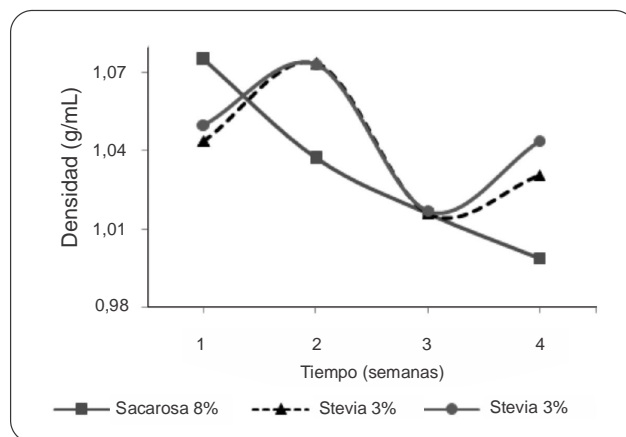
En la semana 3 de almacenamiento el valor de pH permaneció constante para la muestra que contenía sacarosa; para las muestras de yogur que contenían stevia y fructosa el comportamiento fue variable. Con respecto a la acidez, tanto el yogur que contenía stevia como el que tenía fructosa alcanzaron mayor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

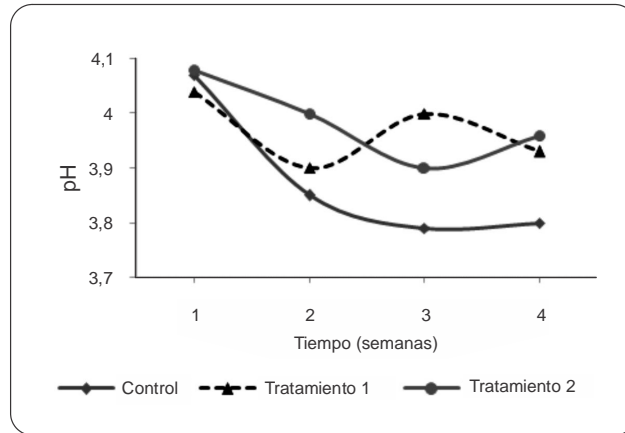
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de pH

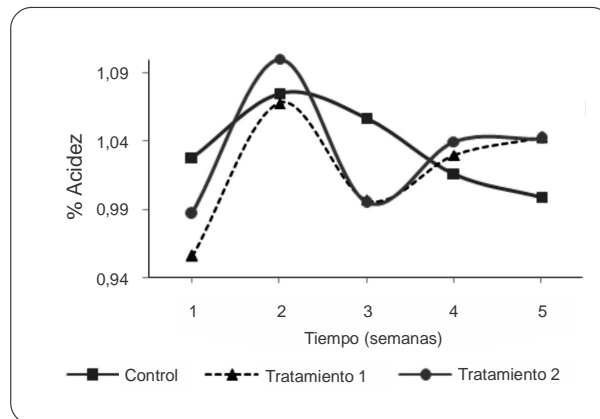
En la gráfica 41 se observa que el yogur control tuvo un descenso notorio de pH; al final de la semana 4 de almacenamiento, el pH fue similar para los tratamientos 1 y 2. La muestra de yogur control arrojó resultados similares a los reportados por Kailasapathy (2006); en este estudio, al inicio de la 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

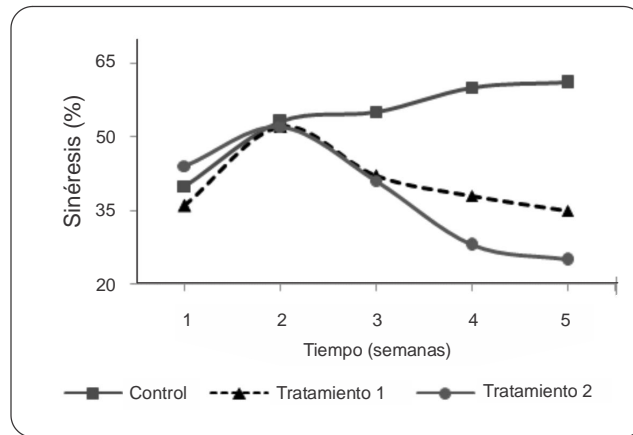


Gráfica 42. Resultados del comportamiento de la acidez de las muestras de yogur durante el almacenamiento

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

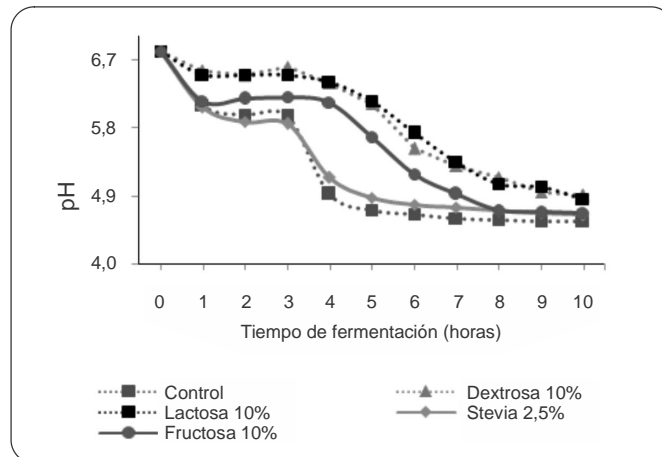
Para evaluar si existían diferencias significativas en cuanto a las características fisicoquímicas derivadas de la utilización de edulcorantes durante el periodo de incubación, los resultados se sometieron a un análisis estadístico ANOVA.

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.

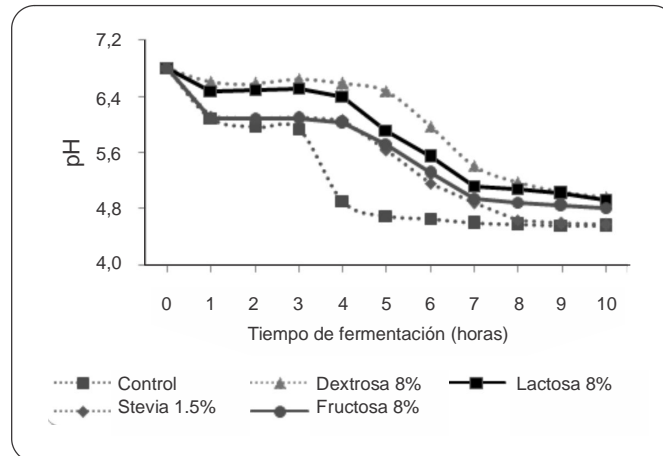
Al transcurrir el tiempo de fermentación se observó que el descenso del pH fue más lento para los tratamientos con endulzantes lactosa, dextrosa y fructosa, si se compara con el comportamiento del yogur control; en las muestras que contenían stevia y en el yogur control, este descenso se observó a la 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.

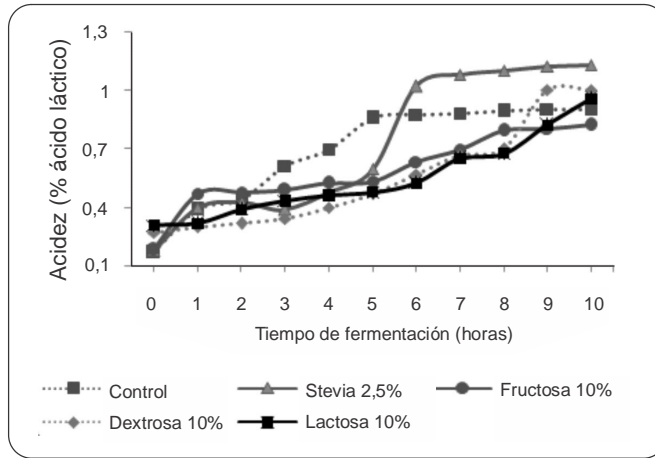


Gráfica 45. Comportamiento de pH durante el tiempo de fermentación utilizando concentraciones bajas de diferentes endulzantes

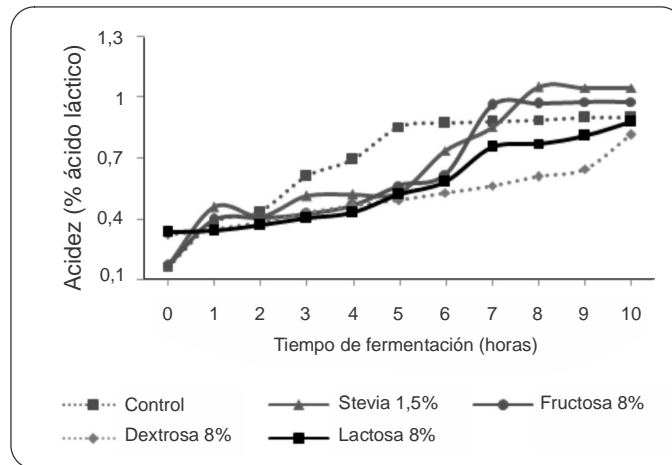
Acidez titulable

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

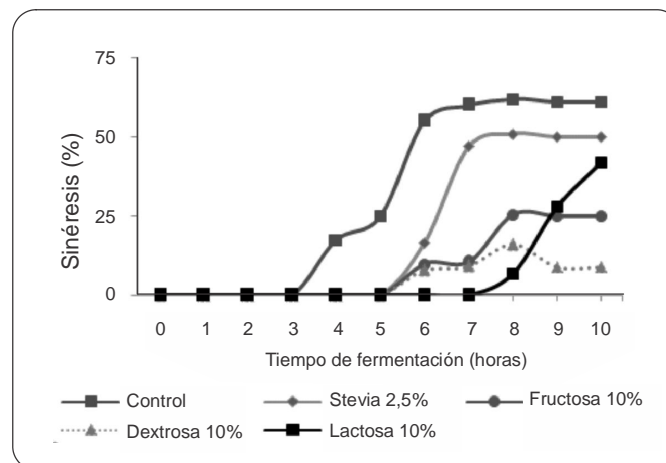
producir ácido láctico vía glucólisis. Respecto a la stevia, el comportamiento de la acidez se debió probablemente a que los componentes de esta estimularon el metabolismo de las bacterias ácido-lácticas en la producción de ácido láctico.

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.

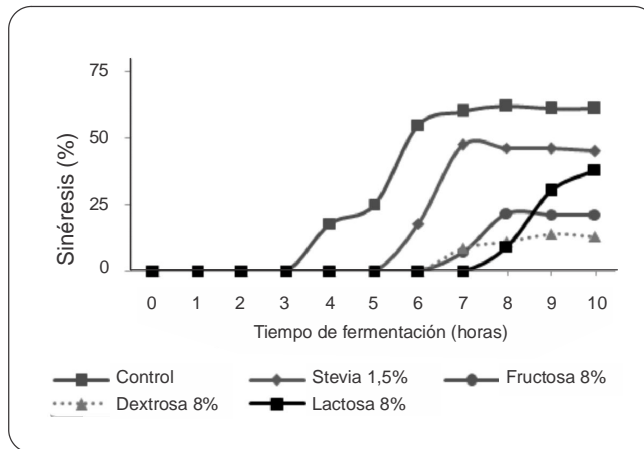
Sinéresis

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.