

**CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE UN YOGURT
ELABORADO A BASE DE SUERO LÁCTEO ÁCIDO.**

Por
Iris Marie Torres Mass

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS
En
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
Recinto Universitario de Mayagüez
Facultad de Ciencias Agrícolas
2017

Aprobada por

Leyda Ponce de León, Ph.D
Miembro del comité graduado

Fecha

Rosa N. Chávez Jáuregui, Ph.D
Miembro del comité graduado

Fecha

María de L. Plaza, Ph.D
Presidente del comité graduado

Fecha

María Amador Dumas, Ph.D
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Fernando Pérez, Ph.D
Coordinador del Programa CITA

Fecha

Derechos de Autor Reservados ©

Iris Marie Torres Mass

2017

ABSTRACT

Evaluation of physicochemical properties of a whey-based yogurt, were conducted. Three formulations were elaborated, one with milk (control) and two with neutralized whey, with variation in the source of the added solids: milk powder (MP) and dry whey (DW). Nutriloid® was used to add fiber to each of the formulations, and Dairyblend was used as a stabilizer. The formulations with neutralized whey required longer time during the fermentation process. In terms of composition, the more whey used, the lower the protein and fat content and higher the initial concentration of lactose. The shelf life of both treatments was evaluated during refrigerated storage with microbiological analysis for the detection of yeast and molds, coliforms, and lactic acid bacteria. Microbial growth of yeast and molds were <15/g UFC, and growth of coliforms was not detected. The lactic acid bacteria counts, were higher on day 0 than day 28. Chemical and physical properties were measured: pH, viscosity, water-holding capacity (WHC) and titratable acidity. Results showed a decrease in pH value during storage, while acidity slightly increased over time. Acid whey formulations showed significant difference compared with the control treatment. In terms of viscosity, the three formulations showed a constant behavior, DW caused a higher viscosity than with MP. For WHC, it was observed that the formulation with MP had a higher WHC, but the formulation with DW show similar values than control. The formulation with MP had higher syneresis than the DW treatment and the control. These results suggest that a yogurt elaborated with neutralized whey had comparable characteristics than a commercial or regular yogurt.

RESUMEN

Se realizó una evaluación de las propiedades físico-químicas de un yogurt a base de suero. Tres formulaciones fueron elaboradas, una con base de leche (control), y dos con suero ácido neutralizado, en donde la diferencia fue el tipo de sólidos añadidos: leche en polvo (LP) y suero en polvo (SP). A todas las formulaciones se le agregó Nutriloid como fuente de fibra y se utilizó “Dairyblend” como un agente estabilizante. Las formulaciones con ácido neutralizado requirieron mayor tiempo para completar el proceso de fermentación. En términos de composición, a mayor cantidad de suero utilizado, menor el contenido de proteína y grasa en el yogurt, y mayor el contenido inicial de lactosa. El largo de vida útil se evaluó por medio de un análisis microbiológico para la detección de hongos y levaduras, coliformes y bacterias ácido lácticas. El crecimiento de hongos y levaduras fue <15 UFC/g; y no se detectó crecimiento de coliformes. El recuento de bacterias ácido lácticas fue mayor en el día 0 que en el día 28. Las propiedades físico-químicas evaluadas fueron: pH, viscosidad, capacidad de retención de agua (WHC) y acidez titulable. Los resultados mostraron una disminución en pH durante el almacenamiento, mientras que la acidez aumentó levemente. Las formulaciones con suero mostraron diferencias significativas al ser comparadas con el control. Para la característica de viscosidad, las tres formulaciones tuvieron un comportamiento constante. El tratamiento con SP tuvo medidas mayores de viscosidad que las LP. Para la WHC, se observó que la formulación con LP tuvo mayor WHC que la SP y el control. La formulación con LP tuvo mayor porcentaje de sinéresis que el tratamiento con SP y el control. Estos resultados sugieren que un yogurt elaborado con suero tiene características comparables a un yogurt regular

DEDICATORIA

A Dios,

Por darme la fortaleza y la voluntad de continuar el camino sin rendirme. Por las bendiciones que me has dado. “*porque no buscaste a sabios ni a ricos, sólo quisiste que te siguiera, dejando mi barca y buscando otro mar*”

A Mami y Papi,

Por ser mi ejemplo de vida, porque sin ustedes no estaría donde estoy hoy.

A Siris,

Por ser mi bendición y tesoro, por que tu amor me llenó cuando más sola me sentí.

A Ana y Alonso,

por ser parte esencial de mí.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, porque cada oportunidad y bendición que me diste, me permitiste cosecharlos.

A mis Padres, por apoyarme y ayudarme incondicionalmente, a pesar de la distancia. Por siempre enseñarme el camino correcto. Este logro es fruto de su esfuerzo.

A Siris y Alonso, por llenar mi vida de inocencia, alegría y ocurrencias, porque sin ustedes mi vida no sería igual.

A Ana, porque eres un ejemplo de ser una profesional y trabajar duro por lo que nos apasiona.

A la Dra. María Plaza, por ser mi mentora y consejera, por tenderme la mano y ayudarme a completar esta meta. Por sus palabras cuando más lo necesite, gracias.

A la Dra. Leyda Ponce, por ser mi segunda mentora, ayudarme con su conocimiento en el área de lácteos, orientarme, enseñarme y permitirme hacer uso del laboratorio y equipo de productos lácteos.

A la Dra. Rosa Chávez, por ayudarme cuando lo necesite, conversar conmigo, aconsejarme y siempre brindarme su ayuda.

Al Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos, por aceptarme y brindarme una segunda familia fuera de mi casa. Por el uso de sus facilidades durante todo el proyecto. Jaime Reyes por nunca decir que no cuando hacía falta algo.

A la Dra. Lynette Orellana, por permitirme utilizar su laboratorio para poder realizar gran parte de este trabajo.

A la Prof. Aixa Rivera, por facilitarme el uso de equipos de su laboratorio y la ayuda brindada.

A Susie-ling, porque desde el primer día me brindaste tu atesorada amistad. Porque durante estos años y a pesar de la distancia continúas brindándome apoyo y motivándome a no dejarme caer.

A mis amigos de CITA, Diana A. Villamil, Elsa Collazo, Eduardo Díaz, Ariana Méndez, Luisenrique Molina, Pamela Cadavid, porque durante mis primeros años aprendí junto a ustedes lo que significa ser un equipo.

A mis Tatas; Zamara, Michelle, Fabiola A, Fabiola C, Denisse y Lani, porque ustedes han sido ese espacio donde no siento tristeza y me brindan su amistad sin importar lo que suceda.

Al proyecto H446, por brindar los fondos para realizar esta investigación.

Al departamento de Química, y sus profesoras, Dra. Ivelisse Padilla y Verónica Sánchez, por ser supervisoras y amigas. Por brindarme su ayuda en momentos tan difíciles, y por su apoyo y

amistad durante este tiempo. A Bessie, por siempre tener una sonrisa cuando te molestaba y te pedía ayuda.

A P. Angel Tosado, por darme el regalo más grande que tengo; a la familia Tosado, por ayudarme en estos últimos años y aceptarme dentro de su familia.

Y a todas las demás personas que de una manera u otra contribuyeron a que este sueño sea hoy posible.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. JUSTIFICACIÓN	1
1.2. OBJETIVOS	2
1.2.1. Objetivos específicos	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. LECHE	3
2.1.1. Composición de la leche	3
2.1.2. Productos derivados	3
2.2. SUERO ÁCIDO	4
2.2.1. Composición química	4
2.2.2. Proteínas de suero	5
2.2.3. Aplicaciones en la industria de alimentos	5
2.2.4. Beneficios de su consumo	6
2.3. YOGURT	6
2.3.1. Bacterias en Yogurt	6
2.3.2. Lactosa y ácido láctico	7
2.3.3. Elaboración	9
2.3.4. Composición nutricional y cambios en la formulación	10
2.3.5. Propiedades físico-químicas	12
2.3.6. pH	12
2.3.7. Viscosidad y Sinéresis	13
2.3.8. Fibra y su efecto en propiedades físico-química	14
2.4. LARGO DE VIDA ÚTIL Y CALIDAD	15
2.4.1. Deterioro del yogurt	15
2.5. ACEPTABILIDAD	16
2.5.1. Análisis Sensorial	16
2.5.2. Atributos Sensoriales	16
2.5.3. Pruebas de aceptación	17
2.5.4. Efecto de suero en la Aceptabilidad de yogurt	18

3. METODOLOGÍA	20
<hr/>	
3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	20
3.2. MATERIA PRIMA	20
3.2.1. Obtención y Manejo de Materia Prima	20
3.2.2. Preparación de base de suero	21
3.3. FASE PRELIMINAR	21
3.3.1. Caracterización De La Materia Prima	22
3.3.1.1. Determinación de humedad	22
3.3.1.2. Determinación de sólidos totales	23
3.3.1.3. Determinación de cenizas	23
3.3.1.4. Determinación de proteínas bruta	23
3.3.1.5. Determinación de grasa cruda	24
3.3.1.6. Determinación de carbohidratos	25
3.3.1.7. Determinación de fibra cruda	26
3.3.2. Desarrollo De Formulaciones	27
3.3.3. Análisis Sensorial 1	29
3.3.3.1. Preparación de la muestra para el análisis Sensorial	29
3.3.3.2. Procedimiento de la Prueba de Ordenamiento y Preferencia	29
3.3.4. Selección De Formulación De Yogurt	29
3.3.5. Elaboración De Yogurt	31
3.3.6. Procesamiento de producto y condiciones de almacenaje	31
3.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	31
3.4.1. Recuento de Coliformes totales	32
3.4.2. Recuento de Hongos y Levaduras	32
3.4.3. Recuento de Bacterias Ácido Lácticas Totales	33
3.5. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO	33
3.5.1. Medidas de pH	33
3.5.2. Medidas de acidez titulable	33
3.5.3. Medidas de viscosidad	34
3.5.4. Determinación de Capacidad de retención de agua	34
3.5.5. Determinación de Lactosa y Galactosa	35
3.6. CARACTERIZACIÓN DEL YOGURT	37
3.6.1. Análisis Proximal	37
3.6.2. Determinación de fibra dietaria	37

3.7. PRUEBA DE ACEPTABILIDAD	37
3.7.1. Preparación de la muestra	37
3.7.2. Análisis Sensorial 2	37
3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
<hr/>	
4.1. CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA	39
4.2. DESARROLLO Y SELECCIÓN DE FORMULACIONES PRELIMINARES	41
4.2.1. Análisis Sensorial: Prueba de Ordenamiento y Prueba de Preferencia	43
4.2.2. Prueba de Ordenamiento	43
4.2.3. Prueba de Preferencia	44
4.2.4. Selección de Formulaciones	45
4.3. COMPOSICIÓN DE FORMULACIONES DE YOGURT	46
4.3.1. Determinación de Lactosa	48
4.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	50
4.4.1. Recuento de Coliformes totales	51
4.4.2. Recuento de Hongos y Levaduras	51
4.4.3. Recuento de Bacterias Ácido lácticas	52
4.5. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO	54
4.5.1. pH	54
4.5.2. Acidez Titulable	56
4.5.3. Viscosidad	58
4.5.4. Capacidad de Retención de agua y Sinéresis	59
4.6. ANÁLISIS SENSORIAL DE PRODUCTO FINAL	62
4.6.1. Prueba de Aceptabilidad del producto final	62
5. CONCLUSIONES	64
<hr/>	
6. RECOMENDACIONES	66
<hr/>	
8. BIBLIOGRAFÍA	67
<hr/>	

9. ANEJOS	71
<hr/>	
9.1. Análisis estadístico	71
9.1.1. Caracterización de Producto Final	71
9.1.2. Humedad	71
9.1.3. Sólidos totales	73
9.1.4. Cenizas	74
9.1.5. Proteínas	76
9.1.6. Grasa	78
9.1.7. Carbohidratos	79
9.1.8. Lactosa	81
9.1.9. Análisis Físico-químico	83
9.1.10. pH	83
9.1.11. Acidez titulable	85
9.1.12. Viscosidad	87
9.1.13. Capacidad de Retención de Agua	89
9.1.14. Sinéresis	91
9.1.15. Análisis microbiológico: Bacterias ácido lácticas	93
9.2. Análisis Sensorial	95
9.2.1. Fase Preliminar	95
9.2.2. Formulario de hoja de panelista para Prueba de Ordenamiento	95
9.2.3. Formulario de hoja de panelista para Prueba de Preferencia	96
9.2.4. Carta de aprobación de Comité Protección de Seres humanos en la Investigación	97
9.2.5. Prueba de Aceptabilidad	98
9.2.6. Formularios de hoja de panelista	98
9.2.8. Carta de aprobación de Comité Protección de Seres humanos en la Investigación	99
9.3. Figuras de los procedimientos realizados en la investigación	100

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores nutricionales de distintas formulaciones de yogurt _____	11
Tabla 2. Representación de factores y sus niveles _____	20
Tabla 3. Método de Cuadrado de Pearson para determinar formulación de yogurt. _____	27
Tabla 4. Formulaciones preliminares de yogurt a base de suero ácido _____	28
Tabla 5. Combinación de ingredientes para cada tratamiento de yogurt _____	30
Tabla 6. Composición de suero y leche (1.5% de grasa) _____	39
Tabla 7. Composición nutricional de ingredientes sólidos según “gramos de nutriente por tamaño de servicio”. _____	40
Tabla 8. Valores en porcentajes obtenidos a partir de Análisis Proximal _____	40
Tabla 9. Composición de formulaciones de yogurt reportados en porciento (%) _____	47
Tabla 10. Medias de gramos de lactosa/100g de yogurt según el tiempo de almacenamiento por tratamiento _____	49
Tabla 11. Medias de bacterias ácido lácticas en agar MRS _____	52
Tabla 12. Medidas de pH según el tiempo de almacenamiento por tratamiento _____	54
Tabla 13. Medidas de acidez titulable reportados en base a porciento de ácido láctico según el tiempo de almacenamiento. _____	56
Tabla 14 . Medidas de viscosidad en centipoise (cP) según el tiempo de almacenamiento por tratamiento _____	58
Tabla 15. Medidas de porcentaje de capacidad de retención de agua según el tiempo de almacenamiento por tratamiento _____	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Componentes de suero ácido de queso _____	4
Figura 2. Curva de crecimiento de bacilos y cocos en yogurt inoculado, incubado a 45°C. _____	7
Figura 3. Disponibilidad total de Yogurt durante los últimos 20 años _____	8
Figura 4. Relación entre pH y tiempo de incubación durante la producción de yogurt. _____	9
Figura 5. Factores que influyen en la firmeza del yogurt “set”. _____	13
Figura 6. Diagrama de proceso de preparación de suero ácido _____	21
Figura 7. Diagrama de procedimientos seguidos en la Fase Preliminar _____	21
Figura 8. Método de Balance de Masas, ejemplo de modelo utilizado _____	28
Figura 9. Diagrama de proceso de preparación de yogurt _____	32
Figura 10. Combinación de ingredientes para formulaciones. _____	42
Figura 11. Análisis de Prueba de Ordenamiento en términos de olor. _____	44
Figura 12. Análisis de Prueba de Ordenamiento en términos de sabor. _____	44
Figura 13. Resultados de Prueba de Preferencia expresados en porcentos de preferencia. _____	45
Figura 14. Muestra de cada yogurt elaborado. _____	46
Figura 15. Cambios en concentración de lactosa durante el periodo de almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt almacenados a 4°C (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento). _____	50
Figura 16. Crecimiento de bacterias ácido lácticas durante el periodo de almacenamiento. Valores de recuento expresado en Log de UFC/g de yogurt. (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento). _____	53
Figura 17. Comportamiento de pH en almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt almacenados a 4°C (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento). _____	55
Figura 18. Producción de ácido láctico (%) durante el periodo de almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt a una temperatura de 4°C. (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento). _____	57
Figura 19. Comportamiento de la viscosidad (cP). en almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt almacenados a 4°C. (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento). _____	59
Figura 20. Comportamiento de capacidad de retención de agua (WHC) en almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt almacenados a 4°C. (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento). _____	61

Figura 21. Aceptabilidad de formulaciones desarrolladas de yogurt a base de suero lácteo en término de los atributos: sabor y textura. _____	62
Figura 22. Recibimiento de suero ácido _____	100
Figura 23. Proceso de neutralización de suero _____	100
Figura 24. Filtración de suero neutralizado _____	101
Figura 25. Incubadora utilizada para proceso de fermentación. _____	101
Figura 26. Procedimiento de Incubación _____	102
Figura 27. Muestra congelada a -80 grados Celsius. _____	102
Figura 28. Equipo CEM. (utilizado para medir humedad y sólidos totales como método rápido durante la elaboración del producto). _____	103
Figura 29. Análisis de pH: Potenciómetro digital _____	103
Figura 30. Análisis de Acidez Titulable _____	104
Figura 31. Centrífuga utilizado para análisis de Capacidad de retención de agua _____	104
Figura 32. Espectrofotómetro utilizado para análisis enzimático de lactosa. _____	105
Figura 33. Kit de Megazyme utilizado para Análisis Enzimático de determinación de lactosa/galactosa. _____	105
Figura 34. Frasco de Mojonnier para análisis de grasa _____	106
Figura 35. Análisis de grasa _____	106
Figura 36. Análisis de Viscosidad _____	107
Figura 37. Análisis de Proteína: Bloque de digestión _____	107
Figura 38. Análisis de proteína: Destilación por arraste de vapor. _____	108
Figura 39. Análisis de proteína: proceso de titulación _____	108
Figura 40. Análisis de humedad, Horno convencional _____	109
Figura 41. Análisis de cenizas, mufla _____	109
Figura 42. Proceso de pre-secado para Análisis de cenizas _____	110
Figura 43. Plato de Violet Red bile Agar para determinación de coliformes totales _____	110
Figura 44. Plato de MRS (Man, Ragosa y Sharpe) para determinación de bacterias ácido lácticas. _____	111
Figura 45. Plato de Potato Dextrose Agar para determinación de hongos y levaduras. _____	111

LISTA DE ABREVIATURAS

AOAC	Association of Official Chemist
BH	Base húmeda
cP	centiPoise, unidad de medida de viscosidad
DB	Dairyblend YG FB 3, agente estabilizador
ERS	Economic Research Service
FAO	Food and Agriculture Organization
L	leche
LP	leche descremada en polvo
M-LP	tratamiento control, leche con leche en polvo
Nu	Nutriloid 7000 fiber
S	suero ácido lácteo
S-DB	tratamiento con suero y Dairyblend
S-LP	tratamiento con suero y leche en polvo
S-SP	tratamiento con suero y suero en polvo
SNG	Sólidos no grasos
SP	Suero en polvo
ST	Sólidos totales
TDF	Fibra total dietaria
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, por su siglas en ingles.
UFC	Unidades formadoras de colonias
WHC	Capacidad de retención de agua, por sus siglas en ingles “water-holding capacity”
Y	Yogurt

1. INTRODUCCIÓN

1.1. JUSTIFICACIÓN

La industria lechera está dividida en varios sectores, que se asocian con la producción de aguas contaminadas debido a la disposición de efluentes en cuerpos de agua. Estos efluentes son resultado de la producción de queso, mantequilla, yogurt y mantecados, entre otros, y contienen unos parámetros altos con respecto a la demanda biológica de oxígeno (BOD) y la demanda química de oxígeno. El contenido de materia orgánica se debe a la presencia de carbohidratos y proteínas, como lo son la lactosa y la caseína. Además, el contenido de grasa, sólidos suspendidos y nutrientes como nitrógeno y fósforo, contribuyen al aumento de los niveles de contaminación (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012).

En la producción de queso, se genera el suero lácteo como sub-producto de este proceso, el cual contiene los niveles más altos de contaminación por su alto contenido de proteínas y lactosa. Cuando el suero de leche alcanza un cuerpo de agua, este consume excesivamente el oxígeno disponible (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012).

El suero lácteo es un líquido de color amarillento rico en nutrientes, producto de la precipitación y remoción de caseína en la leche principalmente durante la producción de queso. Contiene alrededor de un 93-94% de agua y los siguientes nutrientes provenientes de la leche: lactosa, ácido láctico, proteínas solubles, minerales y grasa (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012). Debido a su carácter nutritivo, este líquido ha adquirido un valor nutricional y ha sido utilizado en la industria de alimentos como ingrediente en el procesamiento de otros productos (Ramos, et al., 2012).

De la leche no solo se deriva el queso y el suero, sino que también se produce una variedad de yogures, por ejemplo yogurt con probióticos para mejorar el sistema digestivo. El yogurt es un producto fermentado por bacteria ácido lácticas y altamente concentrado con proteínas, vitaminas y minerales como vitamina B12, calcio y magnesio (Wang, et al, 2013).

Es por ello que esta investigación propuso desarrollar un yogurt, substituyendo leche por suero lácteo ácido. A este yogurt se le varió en su formulación la fuente de sólidos no grasos para comparar su comportamiento y determinar si este obtenía una consistencia comparable a la de un yogurt regular. Este producto se elaboró con el fin de darle un valor agregado al suero de leche y desarrollar un producto que fuese una opción saludable y nutritiva.

1.2. OBJETIVOS

El objetivo general de esta investigación es desarrollar una formulación de yogurt a base de suero lácteo ácido con fibra añadida, y evaluar las propiedades físico-químicas del producto a lo largo del tiempo de almacenamiento.

1.2.1. Objetivos específicos

- Caracterizar la materia prima.
- Desarrollar formulación de yogurt con suero ácido, y seleccionar las formulaciones de mayor preferencia.
- Determinar el largo de vida útil del yogurt por medio de un análisis microbiológico de hongos y levaduras, coliformes totales y bacterias ácido lácticas.
- Determinar la composición química del yogurt por medio de un análisis proximal.
- Evaluar el efecto del suero en las propiedades físico-químicas: pH, viscosidad, capacidad de retención de agua y acidez titulable durante el tiempo de almacenamiento.
- Determinar el grado de aceptabilidad del producto final por medio de un análisis sensorial

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. LECHE

2.1.1. Composición de la leche

La leche es un fluido biológico muy variable, secretado por las hembras de las especies mamíferas. Su principal función es satisfacer los requisitos nutricionales del neonato, además de cumplir con necesidades fisiológicas del mismo. Muchas de las funciones no nutricionales de la leche son atendidas por proteínas y péptidos, enzimas y agentes antibacteriales presentes en ella. La calidad de la leche varía según la especie de la cual es obtenida, la salud del animal, nutrición, etapa de lactancia, edad e intervalos de ordeño, entre otros (Fox & McSweeney, 1998).

La leche en promedio 12.7% de sólidos totales, 3.7% de grasa, 3.4% de proteína, 4.8% de lactosa, 0.7% de cenizas. En adicción, contiene otros constituyentes como vitaminas, iones metálicos y compuestos de sabor (Fox & McSweeney, 1998). Las proteínas en la leche se componen de dos grupos: las caseínas (agregados coloidales mayores), que constituyen un 80% del contenido total de proteínas, y las proteínas de suero (a nivel molecular), que constituyen el 20% restante de proteínas (Haque, Richardson, & Morris, 2001).

La leche está destinada a ser consumida directamente de las glándulas mamarias y ser extraída a intervalos frecuentes. Sin embargo, en la industria lechera es almacenada durante varios periodos, desde horas hasta días, hasta ser enfriada y muchas veces calentada. Estos tratamientos pueden causar cambios físicos y microbiológicos que alteran las propiedades de la leche procesada (Fox & McSweeney, 1998).

2.1.2. Productos derivados

La leche es uno de los alimentos más adaptable y flexible de todos los materiales alimenticios, ya que de esta se derivan una gran cantidad de productos lácteos, como por ejemplo crema, leche descremada, queso, suero, mantequilla, mantecados, fórmulas infantiles, yogurt, etc. La mayoría de los procesos a los que es sometida la leche para la elaboración de nuevos

productos causan cambios en su composición, estado físico, estabilidad y atributos nutricionales y sensoriales (Fox & McSweeney, 1998).

2.2. SUERO ÁCIDO

Anualmente se producen millones de toneladas de suero lácteo como sub-producto, durante la producción de queso. A pesar de su potencial como contaminante ambiental debido a su alta demanda biológica de oxígeno (DBO), el suero lácteo se reconoce como un alimento funcional (Liang, et al, 2006; Ramos, et al., 2012). Es por esta razón que las industrias han buscado una manera de reducir la contaminación ambiental, utilizándolo en la fabricación de alimentos.

2.2.1. Composición química

La obtención de suero ácido o dulce va a depender del tipo de coagulación (ácida o enzimática) que sea utilizada durante la elaboración del queso (Gonzalez-Martinez, et al., 2002). Disminuciones en el pH de la leche causa que las proteínas se desnaturalicen y se precipiten, y la porción líquida sobrante es lo que se conoce como suero ácido. Este se caracteriza por ser transparente y tener un color amarillo verdoso; además tiene un sabor ligeramente ácido. Este sub-producto es una fuente importante de nutrientes como lactosa, calcio, vitaminas solubles y proteínas (Gonzalez-Martinez, et al., 2002). En la figura 1, se muestran los componentes del suero de queso, pero la composición del suero depende de la composición de la leche de la cual provenga (porcentajes de grasa, proteínas, y carbohidratos).

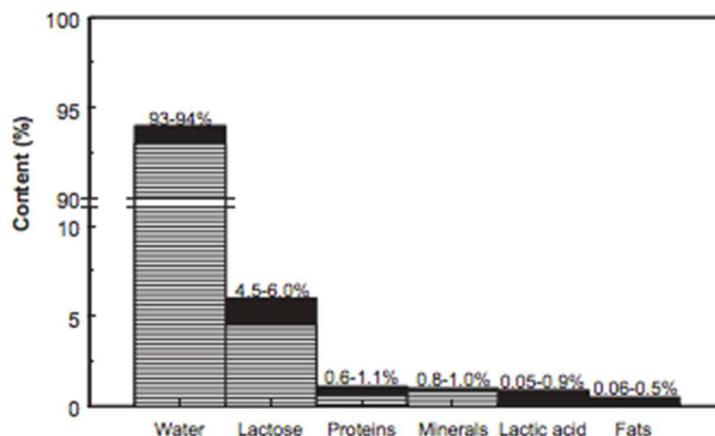


Figura 1. Componentes de suero ácido de queso (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012)

2.2.2. Proteínas de suero

Las proteínas del suero constituyen el 20% del total de proteínas en la leche (Liang, et al, 2006; Ramos, et al, 2012). Están compuestas de β -lactoglobulina (β -lg), la α -lactoalbumina (α -la), inmunoglobulinas, seroalbúminas y una cantidad de proteínas menores y enzimas (Panaras, et al, 2011). Estas proteínas constituyen un 50, 20, 20 y 10% respectivamente, de las proteínas totales de suero (Haque, Richardson, & Morris, 2001).

Las proteínas del suero tienen una estructura globular sostenida por enlaces hidrofóbicos, covalentes y puentes de hidrógeno (Euston, Finnigan, & Hirst , 2002). Cuando están presentes en solución en su estado nativo presentan una baja viscosidad. Además, son sensibles a las condiciones ambientales tales como pH, fortaleza iónica, y temperatura, lo que limita sus aplicaciones (Panaras, et al., 2011). Estas proteínas pueden sufrir desnaturalización y formar agregados o geles si son calentadas a temperaturas más altas a su temperatura de desnaturalización, lo que resulta un problema al utilizarse durante la producción de alimentos lácteos fluidos que estén sujetos a tratamientos térmicos durante su procesamiento (Euston, Finnigan, & Hirst , 2002).

2.2.3. Aplicaciones en la industria de alimentos

Estas proteínas han sido extensamente utilizadas como ingredientes, por ejemplo en bebidas, carnes procesadas, alimento de infantes, productos de repostería y mantecados. Estas proporcionan mayor valor nutricional, y mejoran textura del producto final por sus propiedades funcionales tales como emulsificadoras, gelificantes y espumante (Ramos, et al., 2012). Sus propiedades pueden ser afectadas por la fuente y las condiciones de procesamiento del suero y la técnica utilizada para su aislamiento (Ramos, et al., 2012; Sodini, Mattas, & Tong, 2006). La cantidad de suero en polvo recomendada a utilizarse en la elaboración de distintos productos lácteos es de 1-2% ya que altos niveles pueden impartir sabor a suero el cual puede ser indeseado (Gonzalez-Martinez, et al., 2002).

Desde la década del 1970 se han realizado estudios enfocados en el uso de suero de leche en la producción de yogurt. Las proteínas de suero en polvo son utilizadas para fortificar la mezcla del yogurt a niveles entre 0.6 a 4%. Los resultados han demostrado que su uso hace que

se produzca más acetaldehído, a la vez que la viscosidad aumenta y la sinéresis se reduce, por lo que los atributos sensoriales aumentan (Gonzalez-Martinez, et al., 2002).

Tradicionalmente se utiliza leche descremada en polvo para la fortificación de la leche, sin embargo la disponibilidad y los bajos costos han hecho que los concentrados de suero de leche sean más utilizados para reemplazar la leche descremada en las formulaciones de yogurt. Los concentrados de proteína de suero contienen 34-88% de proteína (Sodini, Mattas, & Tong, 2006).

2.2.4. Beneficios de su consumo

El suero y sus derivados han sido estudiados por sus beneficios y bienestar a la salud. Las proteínas del suero, han sido comparadas con las caseínas, y la diferencia que se ha encontrado es que las proteínas del suero son absorbidas con mayor rapidez, lo que las cataloga como proteínas de calidad (Ha & Zemel, 2003). La disponibilidad y el bajo costo de los concentrados de proteínas de suero (WPC) han sido utilizado en la formulación de yogurt como sustitutos de la leche en polvo (Sodini, Mattas, & Tong, 2006). Las proteínas de suero se consideran como suplementos de proteínas de alta calidad, y ayudan al aumento de la masa corporal (Ha & Zemel, 2003).

2.3. YOGURT

2.3.1. Bacterias en Yogurt

El yogurt es un producto elaborado a base de leche por el efecto sinérgico de bacterias fermentativas, entre ellas se utilizan *Lactobacillus debrueckii* spp bulgaricus y *Streptococcus thermophilus* (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999). En la Figura 2 se muestra como los cocos crecen más rápido que los bacilos, y son principalmente responsables por la producción inicial de ácido (Jay, Loessner, & Golden, 2005). Las bacterias ácido lácticas, son bacterias Gram-positivas, que comparten la propiedad de producir ácido láctico a partir de hexosas. Tanto *Lactobacillus debrueckii* spp bulgaricus y *Streptococcus thermophilus* se clasifican como homofermentativas, porque producen solamente ácido láctico a partir de la fermentación de glucosa. Las bacterias homolácticas alteran la concentración de glucosa y el pH (Jay, Loessner, & Golden, 2005). Ambos tipos de bacterias, contribuyen a las propiedades características del

yogurt, y deben estar presentes en grandes cantidades en el producto, por consiguiente en el inóculo (Walstra, Wouters & Geurts, 2005). El yogurt fresco típicamente contiene alrededor de 10^9 organismos/g, durante el proceso de fermentación este número se reduce a 10^6 /g, especialmente si se mantiene almacenado a 5°C por 60 días (Jay, Loessner, & Golden, 2005).

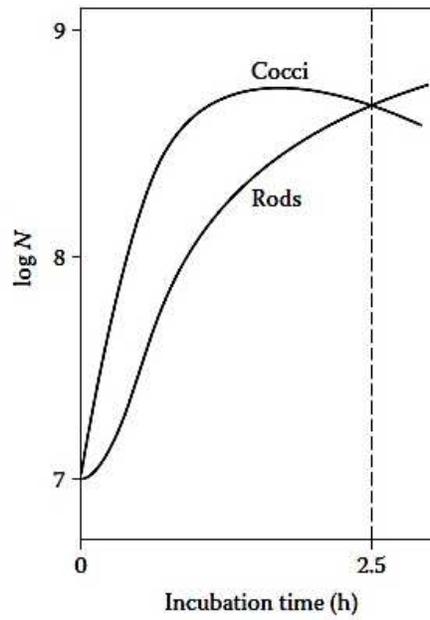


Figura 2. Curva de crecimiento de bacilos y cocos en yogurt inoculado, incubado a 45°C . (Walstra, et al, 2005)

2.3.2. Lactosa y ácido láctico

La lactosa es un disacárido encontrado en la leche a unas concentraciones de 4.5 a 5.0 g/100 ml. Esta es absorbida por transporte activo después de su conversión a los monosacáridos glucosa y galactosa por medio de la enzima lactasa, ubicada en el borde superior de las microvellosidades del intestino delgado (Messia, Candigliota, & Marconi, 2007; Rodriguez, Cravero, & Alonso, 2008). El contenido de lactosa en la leche es de aproximadamente 5.0%, ya que este disacárido es el único carbohidrato presente en la leche (Walstra, et al, 2005).

En la producción de yogurt, parte de la lactosa se hidroliza a glucosa y galactosa durante el proceso de fermentación. El ácido láctico se produce a partir de la glucosa por medio de una ruta homofermentativa, a su vez la lactosa se descompone y se convierte en galactosa. Inicialmente, la concentración de galactosa es muy baja en la leche, pero aumenta a medida que la

concentración de lactosa disminuye. La producción de ácido láctico depende del tiempo de duración de la fermentación, a mayor tiempo, mayor producción de ácido. Debido a una estimulación durante el crecimiento combinado de las bacterias presentes en la leche, el ácido láctico se produce con mayor rapidez en comparación a su producción en condiciones de crecimiento individual de las bacterias (Jay, Loessner, & Golden, 2005).

Un gran porcentaje de la población no puede ingerir gran cantidad de productos lácteos, que son una rica fuente de calcio y proteínas de alta calidad, por ser intolerantes a la lactosa. Cuando la actividad de la lactasa es muy baja en relación a la cantidad de lactosa ingerida, esta no puede ser totalmente hidrolizada y una cantidad considerable de la misma llega al colon. Esto produce síntomas clínicos persistentes tales como: diarrea, distensión abdominal, dolor y flatulencias; síndrome comúnmente referido como intolerancia a la lactosa (Rodríguez, Cravero, & Alonso, 2008).

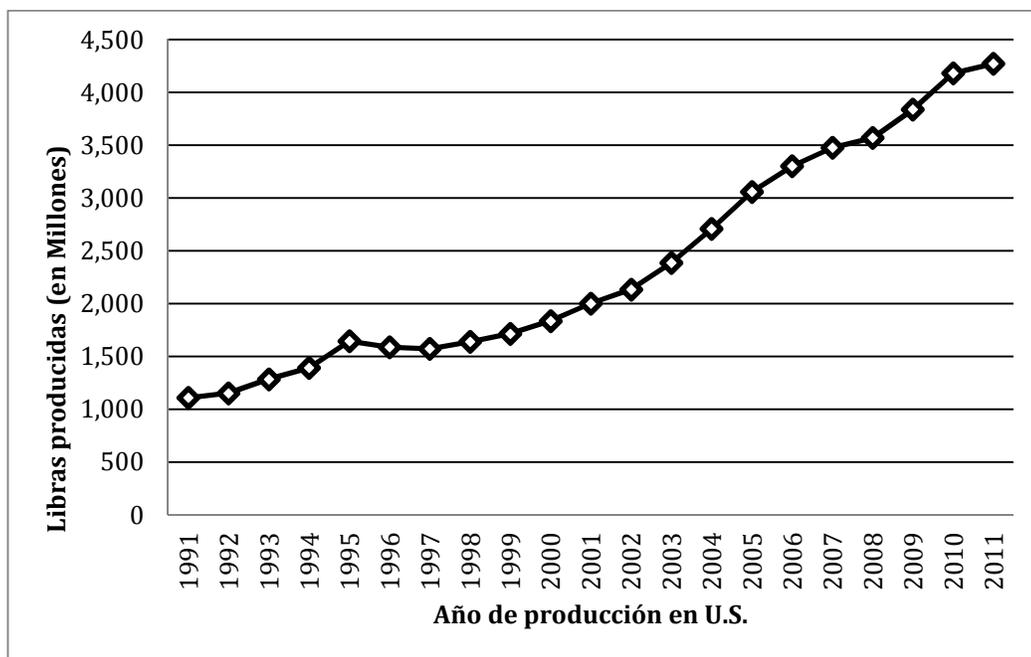


Figura 3. Disponibilidad total de Yogurt durante los últimos 20 años (ERS/USDA, 2013)

Se ha observado que consumiendo productos lácteos fermentados, los síntomas de la intolerancia disminuyen. Uno de sus efectos probióticos es disminuir los síntomas de la mala digestión de este disacárido (Rodríguez, Cravero, & Alonso, 2008). La industria de alimentos

está respondiendo a esta demanda, produciendo productos lácteos libre de lactosa por medio de hidrólisis, en donde el azúcar se remueve físicamente y el restante es hidrolizado para obtener la misma dulzura que la leche regular (Messia, Candigliota, & Marconi, 2007). Durante el 1991 al 2011, según resultados del último estudio de ERS, se observa que la disponibilidad del yogurt ha incrementado un 74% (Figura 3). Por lo que el yogurt, se ha convertido en un producto fermentado popular (Sodini, et al, 2004) .

2.3.3. Elaboración

La elaboración del yogurt depende de un tratamiento térmico sobre 70° C, en el cual se desnaturalizan las proteínas de suero, si los valores de pH son menores de 6.5, las proteínas desnaturalizadas se asocian a las micelas de caseínas (Remeuf, et al, 2003; Ozcan, Horne, & Lucey, 2015). Entre las técnicas utilizadas para preparar el producto se encuentran las siguientes: (1) disminuir el contenido de agua utilizando horno al vacío, o (2) añadir 5% de sólidos de leche seguido por una reducción para disminuir el contenido de agua (Jay, Loessner, & Golden, 2005).

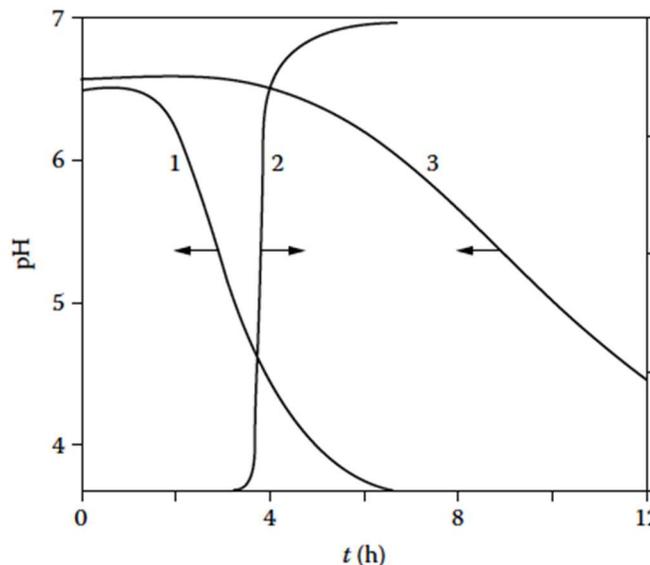


Figura 4. Relación entre pH y tiempo de incubación durante la producción de yogurt. (Walstra , Wouters, & Geurts, 2006).

Durante este proceso, el pH se reduce como consecuencia de la fermentación de la leche, en donde la lactosa (Haque, Richardson, & Morris, 2001) es convertida principalmente en ácido láctico. Además se producen otros sub-productos que contribuyen al aroma y sabor específico

del yogurt (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999). Todos estos compuestos ocasionan la desestabilización del sistema micelar y produce la gelificación de las proteínas (Remeuf, et al, 2003). La acidificación es un mecanismo clave en la fermentación del yogurt y responsable del proceso de coagulación (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999), que va a depender del tiempo de incubación (Walstra , et al, 2006) (figura 4).

En la producción comercial de yogurt normalmente se calienta la leche por un término de 10-20 min a 90 °C. Esto provoca que la β -lactoglobulina se desnaturalice y se asocie a la superficie de las micelas de caseína, impidiendo la aglomeración. El calentamiento de la leche promueve la formación de agregados, produciendo geles más fuertes (Haque, Richardson, & Morris, 2001). Los yogurts comerciales son producidos de dos maneras:

- “set – style” , donde la leche es fermentada en los cartones de venta, brindando estructura de geles continuas al producto final;
- “stirred”, donde la fermentación se lleva a cabo en grandes tanques y el gel ácido es deshecho por agitación y tamizado para obtener un producto más fluido.

Es por esto que los yogures comerciales difieren según las características de la gel, si esta ha sufrido ruptura o no. La formación de la gel es una de las propiedades principales en las fábricas de yogurt (Marafon, *et al.*, 2011). Las propiedades reológicas del gel son afectadas por la composición de la leche, tratamiento térmico seleccionado, inóculo iniciador, temperatura de fermentación, ruptura de la gel y condiciones de almacenaje hasta el fin de la vida útil del producto. El incremento en el contenido de sólidos totales provoca que la textura del yogurt mejore (Marafon, *et al.*, 2011).

2.3.4. Composición nutricional y cambios en la formulación

La formulación ya establecida para la elaboración del yogurt ha sido modificada para substituir la parte de leche por suero lácteo (Jay, Loessner, & Golden, 2005). Pero es necesario la adición de otros componentes como estabilizantes, para que el suero de leche sea comparable a la leche en términos de sólidos no grasos (SNG). La leche contiene de un 13% a un 15% de sólidos no grasos (SNG) y 1% de grasa.

**Tabla 1 . Valores nutricionales de distintas formulaciones de yogurt
(Gebhardt & Thomas, 2002)**

Descripción del alimento	Con Sólidos de leche añadidos				Sin Sólidos de leche añadidos	
	Con leche baja en grasa		Con leche sin grasa		Con leche entera	Con leche baja en grasa
	Con frutas	Plain	Con frutas	Plain	Plain	Endulzante artificial (sabor limón o vainilla)
Tamaño de porción	8 oz	8 oz	8 oz	8 oz	8 oz	8 oz
Peso (g)	227	227	227	227	227	227
Porcentaje de Agua (%)	74	85	75	85	88	87
Calorías (kcal)	231	144	213	127	139	98
Proteína (g)	10	12	10	13	8	9
Grasa total (g)	2	4	Tr	Tr	7	Tr
Ácidos grasos						
Saturados (g)	1.6	2.3	0.3	0.3	4.8	0.3
Monosaturados (g)	0.7	1	0.1	0.1	2	0.1
Polisaturados (g)	0.1	0.1	Tr	Tr	0.2	Tr
Colesterol (mg)	10	14	5	4	29	5
Carbohidratos (g)	43	16	43	17	11	17
Fibra dietaria total (g)	0	0	0	0	0	0
Calcio (mg)	345	415	345	452	274	325
Hierro (mg)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.3
Potasio (mg)	442	531	440	579	351	402
Sodio (mg)	133	159	132	174	105	134
Vitamina A						
(IU)	104	150	16	16	279	0
(RE)	25	36	5	5	68	0
Tiamina (mg)	0.08	0.1	0.09	0.11	0.07	0.08
Riboflavina (mg)	0.4	0.49	0.41	0.53	0.32	0.37
Niacina (mg)	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2
Ácido ascórbico (mg)	1	2	2	2	1	2

Un cambio en la formulación puede causar cambios considerables en la composición del yogurt en términos de contenido de carbohidratos, proteínas y grasas (Tabla 1), por lo que las cualidades de calidad pueden ser alteradas, su acidez puede aumentar e influir algunas propiedades del sabor (Gonzalez-Martinez, et al, 2002). Sin embargo, la presencia de sueros expuestos a tratamientos térmicos a temperaturas bajas, incrementa la capacidad de retención del agua del yogurt. De acuerdo al estudio de Sodini, Mattas & Tong (2006) los yogures enriquecidos con concentrados de proteína de suero a un pH de 6.4 mostraron mayores porcentajes de capacidad de retención de agua que aquellos enriquecidos a un pH de 5.8. Lo que favorece las propiedades físicas del suero y mejora la calidad del producto final.

El añadir suero en polvo (SP) a formulaciones de yogurt afecta el desarrollo de acidez y pH durante el periodo de almacenamiento. El uso de sólidos de suero provoca que el pH disminuya más lentamente durante los primeros días a diferencia de formulaciones sin SP. Luego de 15 días de almacenamiento, no hay cambios significativos. Este cambio en pH durante el proceso de fermentación se debe a que el producto tiene mayor fuerza iónica en la fase líquida (Gonzalez-Martinez, et al, 2002).

2.3.5. Propiedades físico-químicas

Existen estándares de calidad establecidos por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (*USDA*, por sus siglas en inglés). Estos especifican desde la composición del producto hasta las condiciones de procesos de producción. Como requerimientos de calidad del yogurt, este debe tener un sabor ácido agradable y una textura homogénea, firme y suave. Su apariencia debe ser sedosa y limpia, con un color natural entre un blanco brillante a un blanco opaco. No debe exhibir exceso de suero separado, hongo o descoloración. (*USDA*, 2001).

2.3.6. pH

Las medidas de pH sirven como control de procesos industriales, es por esto que los valores de pH se mencionan como referencia en estudios que se enfocan en la microestructura, perfil de gelificación y comportamiento reológico del yogurt durante la fermentación. Se puede observar un patrón de ligera disminución de pH acorde con la reacción de acidificación que guía el proceso de fermentación. En el estudio de Brabandere & De Baerdemaeker (1999) se observó que la fortificación con materia seca, durante el proceso de fermentación, no afecta la acidificación (disminución en pH) del yogurt y esta es favorecida por la esterilización de la base láctea. Si el proceso de incubación se extiende, el pH disminuye y puede producir hasta 2.0 % de ácido láctico (Jay, Loessner, & Golden, 2005). La acidez en el sabor del producto también va a depender del porcentaje de grasa que tenga en su composición (Walstra , Wouters, & Geurts, 2006).

2.3.7. Viscosidad y Sinéresis

El calentamiento de la leche durante el procesamiento de algunos productos, es un paso esencial, ya que de esto dependen las propiedades del producto final, como por ejemplo la viscosidad. La gelificación ocurre por el proceso de acidificación, que depende del pH del medio, ya que con cambios en pH las proteínas presentes alcanzan su punto isoeléctrico y comienzan a agregarse (Remeuf, et al, 2003). La firmeza de los geles es favorecida por calentamientos previos a su utilización, ya que las proteínas de suero desnaturadas aumentan el tamaño de los agregados (Haque, Richardson, & Morris, 2001). La formación de geles por desnaturación de proteínas es afectada por la composición del yogurt, ya que las proteínas presentes; caseínas y proteínas de suero, no gelifican al mismo tiempo (Walstra , Wouters, & Geurts, 2006). La firmeza del gel para un yogurt “set” estará influenciada por los factores de temperatura de pasteurización, acidez temperatura de incubación y porcentaje de sólidos añadidos (Figura 5).

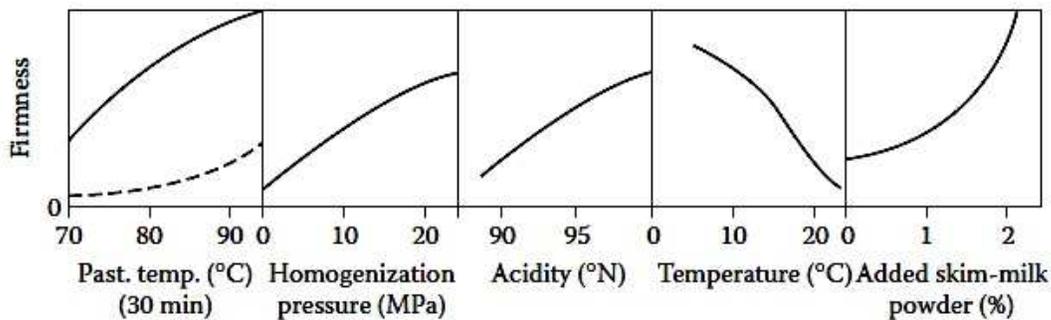


Figura 5. Factores que influyen en la firmeza del yogurt “set”.
(Walstra , Wouters, & Geurts, 2006)

La temperatura de incubación tiene efectos sobre la sinéresis, a medida que se aumenta la temperatura, se proveen condiciones más óptimas para el crecimiento y desarrollo del inóculo. Esto causa, que se forme una gel firme, pero que exhiba mayor exudación de suero. Condensación en el interior del envase del yogurt, es otro factor, que induce la sinéresis ó separación de suero (Walstra , et al, 2006).

Según estudiado por Keogh y O’Kennedy (1998), encontraron que la consistencia y sinéresis del yogurt está más influenciada por la composición. El añadir proteína mejora la consistencia más efectivamente que la grasa y la gelatina, y la grasa de la leche disminuye la

sinéresis. La sinéresis se asocia directamente con la calidad del producto, ya que a menor sinéresis mayor firmeza de la gel formada (Walstra, et al, 2006).

2.3.8. Fibra y su efecto en propiedades físico-química

La definición tradicional de fibra dietaria es la porción de alimentos vegetales resistentes a la digestión por medio de la enzima de digestión humana, he incluía polisacáridos y lignina. Actualmente se ha incluido a esta definición los oligosacáridos como inulina y almidones (Anderson, et al., 2009). Se recomienda un alto consumo de fibra en la dieta, debido a que este ayuda a proteger el organismo de enfermedades cardiovasculares tales como hipercoagulabilidad (Cueva, & Aryana, 2006), además de obesidad, diabetes y ciertos desordenes gastrointestinales (Anderson, et al., 2009). Se recomienda un consumo de 14g / 1000kcal, utilizando como guía de una dieta de 2000kcal/día para mujeres y 2600kcal/día para hombres (Anderson, et al., 2009).

Los productos lácteos no son buenas fuentes de fibra, por lo tanto hay que incorporarle este ingrediente en la formulación de los mismo (Cueva, & Aryana, 2006). Hay que controlar que no sean cantidades excesivas, ya que estas pueden afectar negativamente la calidad del producto. El yogurt es un producto consumido como postre o merienda, y ha ganado popularidad entre mujeres, adolescentes y niños ya que forma parte de su dieta diaria. Cueva y Aryana (2006) encontraron en estudios preliminares que 5 g de fibra por cada 228 g de yogurt resultaron en un yogurt con calidad aceptable.

La adición de fibra en la formulación de un yogurt afectará ciertas propiedades del producto como lo es la capacidad de retención de agua, textura o estructura. Existe una diferencia entre los tipos de fibra que pueden ser añadidas al producto, la fibra insoluble puede ser dispersa fácilmente en el agua, mientras que la fibra dietaria es resistente para la digestión. El mayor beneficio de la ingesta de fibra es que sirve como regulador intestinal (Hoppert, et al, 2013).

Entre los tipos de fibra utilizados, se encuentra la inulina por sus propiedades nutricionales. Esta es un carbohidrato que se encuentra en el ajo, espárragos, entre otros. La interacción de las proteínas de suero con inulina, ocurre en geles que se forman por calentamiento. La inulina,

actúa con la β -lactoglobulina (β -lg) pero no con la α -lactoalbumina (α -la). A medida que se aumenta la concentración de la inulina, la viscosidad aumenta (Glibowski, 2009).

2.4. LARGO DE VIDA ÚTIL Y CALIDAD

El largo de vida útil se define como el tiempo en el que un producto se conserva seguro y cumpliendo con la declaración en la etiqueta nutricional. Además, es el tiempo en el que se conservan las características sensoriales, químicas, físicas y microbiológicas cuando se almacena bajo las condiciones recomendadas (Giménez, Ares, & Ares, 2010). Este parámetro es una función de tiempo, factores ambientales y susceptibilidad del producto a cambios en la calidad. Los cambios físicos y biológicos que ocurren en el alimento llevan a un deterioro que puede afectar las propiedades de calidad.

Una predicción precisa del largo de vida útil, es esencial tanto para los consumidores como los fabricantes. Las preocupaciones de los consumidores de comer saludable y tomar decisiones de alimentos saludables demanda entre otros, alimentos de calidad que sean frescos, seguros y convenientes (Giménez, Ares, & Ares, 2010).

Según Giménez, Ares & Ares (2010) para muchos consumidores la fecha de expiración es considerada una medida de frescura, y confianza hacia la información que provee el fabricante, al momento de decidir comprar un producto. La aceptación de un producto está altamente influenciada por la información presente en la etiqueta nutricional de un producto, lo que sugiere que la fecha de expiración afecta la percepción y expectativas del consumidor. El impacto económico de una decisión empresarial en una fecha de expiración inapropiada puede ser significativo, ya que puede conducir a la pérdida de confianza del consumidor a la fecha establecida en el producto, a la tienda que lo vende y a la compañía que la produce (Harcar & Karakaya, 2005).

2.4.1. Deterioro del yogurt

La confianza del consumidor es afectada directamente por incidentes de deterioro de productos. La contaminación de un producto por microorganismo representa un aumento en desperdicios, y afecta a la industria de alimentos, ya que un incidente por contaminación o

deterioro tiene como respuesta el recogido del producto (Snyder, Churey, & Worobo, 2016). En la manufactura de yogurts, un problema relacionado al deterioro del producto es el crecimiento de hongos, ya que el consumidor estaría comprando un producto que perecerá en un tiempo menor al largo de vida ya establecido (Snyder, Churey, & Worobo, 2016).

El hongo que crece comúnmente en yogurt es *Mucor circinelloides*, un patógeno oportunista, además también se conoce en el área de frutas y vegetales, por lo cual representa un problema. Su apariencia consiste en una hifa blanca o gris. Este hongo ha sido frecuentemente encontrado en frutas como manzanas y peras, así como en productos fermentados (Snyder, Churey, & Worobo, 2016). Lo que significa que el crecimiento de hongos, afecta directamente la calidad y largo de vida útil del yogurt, así como la calidad y aceptabilidad del consumidor.

2.5. ACEPTABILIDAD

2.5.1. Análisis Sensorial

La evaluación sensorial se define por su uso del método científico, al tener en su proceso la medida o recolección de datos, análisis e interpretación de aquellas respuestas a productos según la percepción de los sentidos como lo es el olfato, gusto, vista, tacto y oído. Este comprende una serie de técnicas para medir las respuestas de las personas sobre los alimentos y reduce los efectos de parcialidad con respecto a la identidad de una marca específica, como la influencia de otra información en la percepción del consumidor. Su propósito es aislar las propiedades sensoriales del producto mismo y proveer información útil al investigador (Lawless & Heymann, 1998). La selección de la prueba correcta es el requisito más importante, por esto es necesario definir las necesidades y el objetivo de la investigación.

2.5.2. Atributos Sensoriales

En el proceso de percibir, muchos atributos se sobreponen, lo cuál puede afectar la percepción del sujeto participante, por el cual se debe utilizar la técnica adecuada para evaluar cada uno de estos atributos :

- la apariencia es comúnmente el único atributo que afecta la decisión de un sujeto de consumir un producto, es por esto que el analista debe tener en consideración los

factores que afectan este atributo y muchas veces enmascararlo con el uso de luces de colores. Algunas características aplicables al yogurt son el color, el tamaño y la textura de la superficie.

- el sabor (salado, agro, ácido, dulce) es percibido por medio de sustancias solubles en la boca.
- el aroma es el olor de un producto alimenticio, y es percibido por medio del sistema olfativo cuando el alimento o producto está en la boca.
- La consistencia o textura, este atributo se percibe mayormente por medio del gusto, en términos de viscosidad, para líquidos newtonianos.

En las pruebas de atributos la comparación entre muestras va a depender de un diseño y un tratamiento estadístico. Se utiliza una escala hedónica, en donde comúnmente se utilizan nueve puntos, con los cuales se mide la respuesta al gusto o disgusto del participante, ya que intenta dirigir a sus sentimientos y no al producto en sí. La escala utilizada o descriptores permiten interpretar el valor promedio de las respuestas en términos de agrado o desagrado. El uso de esta escala facilita tanto al participante como al investigador, ya que no requiere un entrenamiento extenso (Lim, 2011).

La práctica en el laboratorio utilizando esta escala permite tener una visión de lo que ocurrirá en el mercado. Al utilizar grupos grandes de participantes, la distribución en las respuesta muestra una tendencia que puede ayudar a predecir la aceptación por medio de un valor o clasificación promedio. Se debe evitar la participación de personas que tengan una opinión parcializada del objeto o producto que se está evaluando, para así obtener resultados de mayor validez. (Peryam, 1950). La técnica de escalada (“scaling”) se utiliza para poder obtener data que pueda ser tratada estadísticamente, es más informativa y útil para registrar la percepción. Un atributo de interés se puede medir por medio de la asignación de un valor (o clasificación) dentro de una escala numérica (Lawless & Heymann, 2010).

2.5.3. Pruebas de aceptación

Las pruebas de aceptación se llevan a cabo en la industria para proyectar cuanto un producto gusta o disgusta. La preferencia de un producto se puede medir de dos maneras: (1) directamente

por medio de una comparación con uno o más productos, e (2) indirectamente, determinando que producto obtuvo un valor significativamente alto con respecto a otro producto. Existe una relación directa entre las medidas de agrado, preferencia y aceptación. El uso de escalas mide directamente el grado de agrado o aceptación por medio de la data obtenida. Existen dos métodos para medir preferencia: prueba de comparación pareada y la escala hedónica de nueve puntos. Esta última, desde su desarrollo (Peryam, 1950), ha sido utilizada extensamente, ya que es una escala fácil de entender por consumidores con poca instrucción o entrenamiento, y provee confiabilidad y validez en los resultados (Stone, Bleibaum, & Thomas, 2012).

Las pruebas de aceptación realizadas en laboratorios debe tener entre 25 – 50 respuestas, con un máximo de 75. Con grupos menores, se pueden establecer tendencias, y obtener información del producto, pero a medida que aumenta el número de participantes incrementa la significancia estadística, y la credibilidad de los resultados. Las ventajas de realizar estudios en laboratorio es: (1) control de condiciones, (2) bajo costo, y (3) respuesta rápida del producto. (Stone, Bleibaum, & Thomas, 2012).

En este tipo de análisis las muestras son preparadas bajo condiciones controladas las cuales permiten establecer una relación entre las cualidades del alimento y la percepción humana. Para todo tipo de panel sensorial es importante que la preparación de la muestra se lleve a cabo bajo condiciones que no permitan la parcialización de la opinión del panelista (Meilgaard, et al, 2006).

2.5.4. Efecto de suero en la Aceptabilidad de yogurt

La influencia en la calidad del yogurt al substituir leche descremada en polvo por suero de leche en polvo debe ser evaluada para los siguientes atributos: cantidad de sinéresis, amarillez, presencia de grumos al agitar 15 veces el yogurt con una cuchara y su consistencia en la boca, sabor salado y acidez (Gonzalez-Martinez, et al, 2002).

El atributo que más se afecta con el uso de suero en polvo es el color del yogurt, ya que este imparte amarillez al yogurt a diferencia del uso de leche en polvo (Gonzalez-Martinez, et al, 2002). El uso entre el 25 a 33 % de suero de leche en polvo, tiene un efecto positivo en la

preferencia de esta formulación de yogurt. El suero en polvo proporciona productos aceptables, fluidos más homogéneos y texturas más suaves de gel. Además mostraron el efecto de sinéresis en mayor equilibrio (Gonzalez-Martinez, et al, 2002).

3. METODOLOGÍA

3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

La investigación se llevó a cabo utilizando un diseño factorial completo (3^2) con dos factores y cada uno a tres niveles. Los valores para cada nivel se definen en la Tabla 2. Esto resulta en un total de nueve tratamientos. A todos los tratamientos se le adicionó una cantidad constante de fibra, y aquellos tratamientos con leche se consideraran como tratamiento control. Los tratamientos (lotes) se dividieron en tres bloques, donde cada grupo de tres tratamientos se definió como un bloque. En cada bloque, los tratamientos se prepararon de forma aleatoria. Los análisis de cada lote se realizaron en triplicado.

Tabla 2. Representación de factores y sus niveles

FACTORES	NIVELES	REPRESENTACIÓN	VALORES
Formulación	3	F ₀ , F ₁ , F ₂	Control, S-LP, S-SP
Almacenamiento	3	A ₁ , A ₂ , A ₃	0, 15, 28 días

(S-LP= yogurt a base de suero con leche en polvo, y S=SP= yogurt a base de suero con suero en polvo)

3.2. MATERIA PRIMA

3.2.1. Obtención y Manejo de Materia Prima

El suero ácido de leche utilizado en este proyecto, se obtuvo de la producción de queso de la industria Quesos la Esperanza, Inc. (San Sebastián, PR). El suero se elaboró por medio de la adición de ácido acético glaciar a leche entera 100% fresca. La leche descremada marca “Mi Vaquita” fue obtenida de Supermercados Pueblo. La goma Dairyblend YG FB 3 y la fibra Nutriloid 7000 se obtuvieron a través de Tic Gums. El suero en polvo se obtuvo de la compañía Bob’s Red Mills (Milwaukie, Oregon). Toda la materia prima y materiales se transportaron al Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos. La elaboración del producto y los experimentos se realizaron en los laboratorios de Productos lácteos, Cocina Experimental, Química de Alimentos, Microbiología y Sensorial del Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Agrícolas del Recinto Universitario de Mayagüez.

3.2.2. Preparación de base de suero

Una vez obtenido el suero ácido, se llevó a cabo el proceso de neutralización. Este proceso incluyó los siguientes pasos: (1) neutralización con una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 30%, grado alimenticio, hasta un pH aproximado de 6.7, (pH de la leche pasteurizada) (Walstra , Wouters, & Geurts, 2006), (2) filtración para eliminar el residuo de potasio presente en el suero (3) y almacenaje bajo condiciones de congelación (-20°C) en envases de 1 galón. La figura 6 presenta un diagrama de flujo del procedimiento utilizado para el manejo del suero.

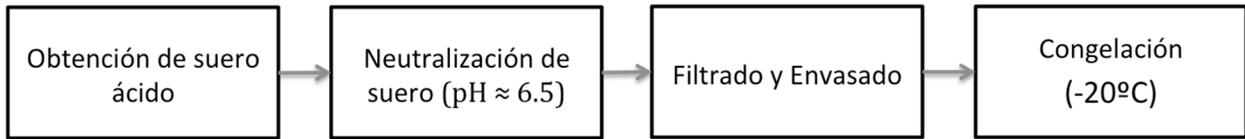


Figura 6. Diagrama de proceso de preparación de suero ácido

3.3. FASE PRELIMINAR

La fase preliminar consistió en desarrollo y selección de las formulaciones. Este procedimiento se muestra en la Figura 7.

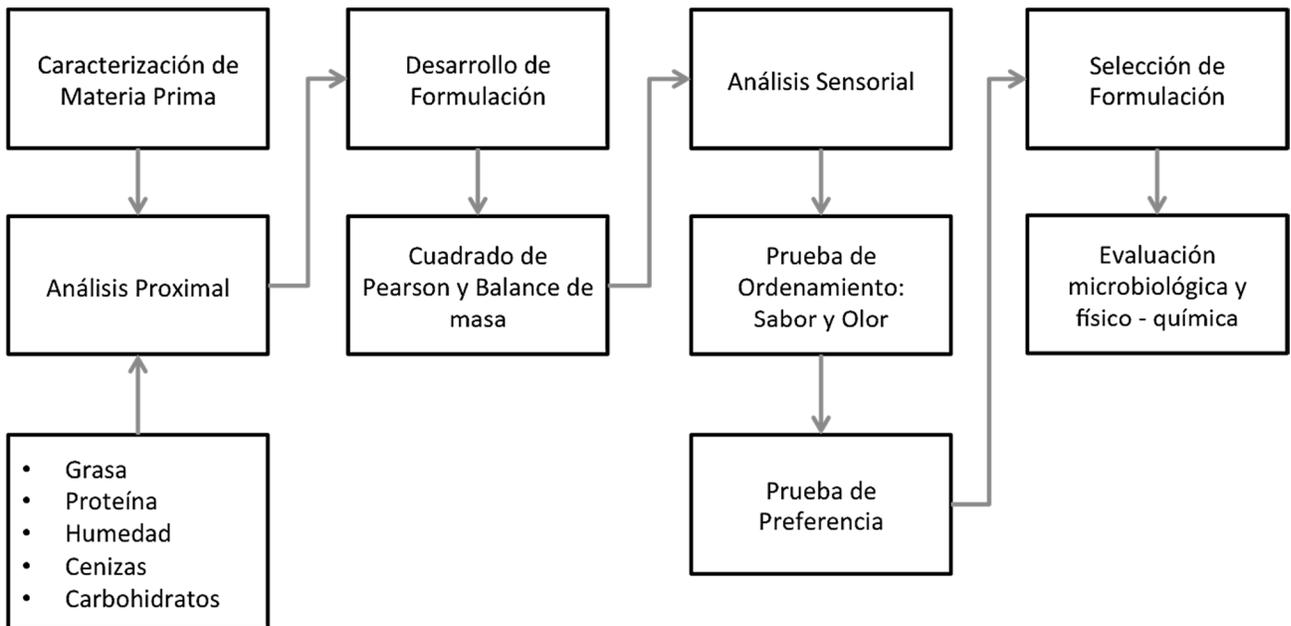


Figura 7. Diagrama de procedimientos seguidos en la Fase Preliminar

Para ello fue necesario realizar la caracterización de la materia prima, con el cual se determinó la composición de los ingredientes, y cuyos valores fueron necesarios para calcular las cantidades a utilizar de cada ingredientes en cada formulación propuesta. Estas formulaciones fueron evaluadas por medio de un análisis sensorial para hacer la selección de aquellas con mejores cualidades.

3.3.1. Caracterización De La Materia Prima

La caracterización de la materia prima (suero de leche, la leche descremada, leche descremada en polvo, suero en polvo y agente gelificante) se realizó por Análisis Proximal. Se determinaron los porcentajes de humedad, cenizas, proteína bruta, y grasa cruda por los métodos establecidos para productos lácteos por Wehr & Frank (2004). El contenido de carbohidratos fue determinado por diferencia.

3.3.1.1. Determinación de humedad

El contenido de humedad se determinó siguiendo el método de la AOAC 990.20 de secado en horno convencional y horno al vacío. Para las muestras sólidas (leche descremada en polvo, suero dulce en polvo y agente gelificante, *Dairyblend YG FB 3*) se hizo la determinación por secado en horno convencional. Para este método se utilizaron crisoles, previamente lavados y secados en el horno (Napco, model 630) a 100°C por 24 horas. Se pesó 3.00 ± 0.01 g de muestra en el crisol a peso constante. Las muestras se dejaron secar medio tapadas en el horno convencional a 100°C por 24 horas. Al pasar ese periodo de tiempo, se dejaron enfriar en un desecador, se pesaron y se anotó el peso.

Para muestras líquidas (leche descremada y suero ácido neutralizado) se utilizó un horno al vacío (National, model 5851). Los crisoles se secaron siguiendo el procedimiento de las muestras sólidas. Se pesó 3.00 ± 0.01 g de muestra en el crisol a peso constante. Las muestras en los crisoles fueron pre-secadas en una plancha de calentamiento (Corning). Luego, se colocaron los crisoles en el horno al vacío a 70°C y 50 in Hg (15 kPa) por 24 horas. Al pasar este periodo de tiempo, se transfirieron a un horno convencional (Napco, model 630) durante dos horas. Luego se colocaron en un desecador donde se dejaron enfriar, se pesaron y se anotó el peso. Ambos

procedimientos se llevaron a cabo con seis (6) repeticiones para cada muestra. El porcentaje de humedad se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%Humedad = \frac{\text{peso(g) de la muestra seca} - \text{peso(g) del blanco}}{\text{peso(g) de la muestra húmeda}} \times 100 \quad [1]$$

3.3.1.2. Determinación de sólidos totales

El contenido de sólidos totales presente en el suero neutralizado y en la leche descremada se determinó por diferencia, utilizando el porcentaje de humedad determinado. El porcentaje de sólidos totales se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%sólidos = 100\% - \%Humedad \quad [2]$$

3.3.1.3. Determinación de cenizas

El contenido de cenizas se determinó por el método de AOAC 923.03. Se pesaron los crisoles con sus tapas, limpios y previamente secados. Se le añadió 5.00 ± 0.01 g de muestra. Las muestras líquidas (suero neutralizado y leche descremada) fueron colocadas en una plancha de calentamiento (Corning) para remover la mayor parte de humedad. Luego se realizó un pre secado a todas las muestras en un horno convencional a 100°C por un periodo de 24 horas, para luego ser transferidos a una mufla (Muffle Furnance, Isotemp, Fisher Scientific, USA). La temperatura se aumentó a intervalos, para llevar a cabo una incineración controlada, hasta alcanzar 600°C . Al alcanzar esta temperatura, se mantuvo la incineración por un término de 12 horas. Al finalizar la incineración, los crisoles con la muestra se removieron de la mufla y se dejaron enfriar en un desecador. Luego fueron pesados y se anotó su peso. Este procedimiento se realizó con seis (6) repeticiones para cada muestra. El contenido de cenizas se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%Cenizas = \frac{\text{peso del residuo de ceniza (g)}}{\text{peso(g) de la muestra}} \times 100 \quad [3]$$

3.3.1.4. Determinación de proteínas bruta

El contenido de proteína bruta en la muestra de suero se determinó por medio del método Micro-Kjeldahl, AOAC 960.52 (AOAC, 1994). Para muestras líquidas se utilizó un volumen de 5.00 mL, mientras que para las muestras sólidas se pesaron cantidades entre 0.120 y 0.150 g. La

muestra fue transferida a un tubo de digestión de 100 mL, donde se le agregaron aproximadamente 7.005 g de la mezcla catalizadora de sulfato de potasio (K₂SO₄) y selenio en polvo. Además se adicionaron 12.00 mL de ácido sulfúrico concentrado y 5.00 mL de peróxido de hidrógeno (H₂O₂). El proceso de digestión de la muestra se llevó a cabo a 420°C por un periodo de 30 minutos. La muestra digerida se dejó enfriar.

Para el proceso de destilación, se adicionó a cada tubo con muestra, 50 mL de agua destilada y 40 mL de una solución hidróxido de sodio (NaOH) al 40%. La muestra fue destilada por la técnica de arrastre de vapor durante 3.0 minutos, y el destilado fue recogido en un matraz volumétrico de 125 mL, que contenía 25 mL de una solución de ácido bórico al 4%. Luego se procedió a titular la muestra con una solución estandarizada de ácido clorhídrico (HCl) 0.2N. Este procedimiento se realizó a seis (6) repeticiones de cada muestra. El porcentaje de proteína se determinó con el producto del porcentaje de nitrógeno (%N) calculado y el factor de conversión para productos lácteos de 6.38. Se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\%N = N_{\text{HCl}} \times \frac{\text{Volumen HCl utilizado en la titulación (L)}}{\text{peso (g) de la muestra}} \times \frac{14 \text{ g N}}{\text{mol}} \times 100 \quad [4]$$

$$\%PRO = \% \text{ de N} * \text{Factor de conversión} \quad [5]$$

3.3.1.5. Determinación de grasa cruda

El contenido de grasa cruda en esta fase se determinó utilizando dos métodos dependiendo del ingrediente a analizar. Para el suero y la leche descremada se utilizó el método de Mojonnier (AOAC 989.05). Mientras que para la determinación de grasa en leche descremada en polvo, suero en polvo y el agente gelificador se utilizó el método de extracción de grasa por solvente en el equipo Ankom (XT10, Extraction System).

Para la determinación de grasa por el método de Mojonnier, se siguió el siguiente procedimiento. Los frascos de Mojonnier (Kontes) y los platos de vidrio (Pyrex, 80 x 40, No.3140) fueron previamente limpiados y secados en horno convencional, luego se enfriaron y pesaron. En cada frasco de Mojonnier se pesaron 10.0000 ± 0.001 g de muestra, se adicionaron 1.5 mL de NH₄OH y se agitó vigorosamente. Luego se le adicionó 10 mL de etanol al 95% y 25

mL de éter etílico y se agitó por 60 segundos. Luego se agregaron 25 mL de éter de petróleo y se agitó por 60 segundos. La muestra se dejó asentar por unos 30 minutos y se decantó la fase etílica a un plato de vidrio previamente pesado. Se hicieron dos (2) extracciones adicionales a la fase acuosa restante en el frasco, con volúmenes de 5 mL de etanol, y 10 mL de éter etílico y éter de petróleo. En la tercera extracción no se agregó etanol a la muestra. Luego de las extracciones, el plato de vidrio con la solución etílica se colocó en una plancha de calentamiento (Corning) a $\leq 100^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para evaporar el éter y luego se secó en el horno por 15 mins. Se dejó enfriar en un desecador y se pesó. El porcentaje de grasa cruda se calculó con la siguiente ecuación (en base húmeda):

$$\%Grasa\ cruda = \frac{\{(plato\ de\ pesada+grasa)-plato\ de\ pesada\}-residuo\ de\ blanco_{prom}}{peso\ de\ la\ muestra} \times 100 \quad [6]$$

Para determinar el porcentaje de grasa cruda por el método de extracción por solvente de Ankom se pesó 1-2 g de muestra en una bolsa de extracción XT4 (W_1). Se realizó un pre secado de la bolsa sellada con la muestra durante tres horas, al terminar el tiempo de secado, se dejaron enfriar y se pesaron cada bolsa nuevamente (W_2). Se colocaron todas las muestras ya pesadas en el sostenedor de bolsas, dentro de la taza de extracción. El equipo se ajustó a unas condiciones de extracción de 90°C por 40 minutos. Cuando el proceso de extracción finalizó, se colocaron las muestras en el horno convencional por 30 min, se dejaron enfriar y pesaron las muestras (W_3). El porcentaje de grasa cruda se calculó con la siguiente ecuación (en base húmeda):

$$\%Grasa\ cruda = \frac{(W_2-W_3)}{W_2} \times 100 \quad [7]$$

3.3.1.6. Determinación de carbohidratos

El contenido de carbohidratos se determinó por diferencia de porcentajes. Se restó la suma de los valores de los porcentajes proteína, grasa, humedad y ceniza (en base húmeda) a 100% para obtener el porcentaje de carbohidratos. Para la leche y el suero, la cantidad de lactosa es la misma cantidad de porcentaje de carbohidratos. Esto se asumió ya que la lactosa es el único carbohidrato presente en la leche y en el suero.

3.3.1.7. Determinación de fibra cruda

El contenido de fibra cruda se determinó por el método Ba 6a-05 de Ankom Technologies. Se pesó una bolsa de filtro (W_1) Ankom F57, a la cual se le añadieron 1.0 g (+/- 0.05 g) de muestra seca bien triturada (W_2). Se pesó un blanco y se incluyó en la digestión (C_1). La extracción de la grasa se realizó con 250 a 350 mL de éter de petróleo, las muestras se sumergieron por 5 minutos, y se secaron al aire.

El proceso de digestión se llevó a cabo con 1800 – 2000 mL de ácido sulfúrico (0.255N) a temperatura ambiente, se calentó la solución a 95°C por 30 minutos hasta que la temperatura alcanzó 100°C. Se hicieron tres lavados con 1800 – 2000 ml de agua caliente (90 – 100 °C). Y se añadieron 1800 – 2000 ml de la NaOH (0.313N) a temperatura ambiente. Se repitieron los pasos de la adición del ácido y los lavados con agua caliente.

Se eliminó el exceso de agua con un lavado en alcohol, y las bolsas fueron secadas en el horno a 105°C por dos horas. Se enfriaron en un desecador y se pesaron (W_3). Se incineraron las muestras en crisoles (previamente pesado) durante dos horas a 550°C. Se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron para calcular la materia orgánica (W_4). Este procedimiento se realizó con seis (6) repeticiones. El porcentaje de fibra cruda se determinó con las siguientes ecuaciones:

$$\%Fibra\ cruda = \frac{[W_3 - (W_1 \times C_1)]}{W_2} \times 100 \quad [8]$$

$$\%Fibra\ cruda = \frac{[W_4 - (W_1 \times C_2)]}{W_2 \times DM} \times 100 \quad [9]$$

Donde:

W_1 = Peso de la bolsa sola

W_2 = Peso de la muestra

W_3 = Peso luego del proceso de extracción

W_4 = Peso materia orgánica (pérdida de peso durante la ignición de la bolsa y la muestra)

C_1 = Corrección de la muestra (peso original de la bolsa blanco)

C_2 = Corrección de cenizas

3.3.2. Desarrollo De Formulaciones

El desarrollo de las formulaciones de yogurt en base a leche y a suero se definió como una etapa preliminar para determinar que formulaciones eran más aceptadas. La selección de las formulaciones para el proyecto se hizo a base de cualidades físicas que caracterizan el yogurt. Estas cualidades son viscosidad, sinéresis, color, acidez y sabor.

Para establecer las formulaciones con proporciones adecuadas fue necesario establecer la cantidad que se desea producir y el porcentaje de sólidos no grasos al que se desea llevar el producto a elaborar. En términos de producción de yogurt, es importante conocer los porcentos de sólidos no grasos (SNG) de la leche, ya que el mismo debe alcanzar valores entre 13- 14%. Es por esto que se utilizaron dos métodos para calcular cuánto de sólidos había que agregar para alcanzar este valor.

El primer método fue el cuadrado de Pearson (ver Tabla 3), con este se determinaron los porcentajes de leche y materia seca necesarios para preparar la formulación.

Tabla 3. Método de Cuadrado de Pearson para determinar formulación de yogurt.

Ingrediente	% Componente	Porcentaje deseado en Yogurt	Resta cruzada	Porcentaje de ingrediente en formulación
Leche entera (L)	% SNG	14% SNG	$%L = 14\% - SNG_L$	$\frac{%L}{\Sigma(%L + %LP)}$
Leche en polvo (LP)	% SNG		$%LP = 14\% - SNG_{LP}$	$\frac{%LP}{\Sigma(%L + %LP)}$
			$\Sigma(%L + %LP)$	

El segundo método es el de balance de masas (ver Figura 8). En este se utilizó una ecuación que representó lo siguiente: todo lo recibido será igual a lo que se produce. Con este se estableció cuanta leche ó suero se añadieron junto a cuanta leche ó suero en polvo eran requeridos para producir el yogurt.

Por medio de estas dos fórmulas se obtuvieron los siguientes valores: (a) cantidad de suero/leche y (b) cantidad de sólidos no grasos (SNG) necesarios para llegar a 14%. Con esto establecido, se calculó cuanto porcentaje de fibra era necesario para que correspondiera a 5.0 g para 142.0 g (5oz) de tamaño por servicio, este es el tamaño estándar de los envases de yogurt.

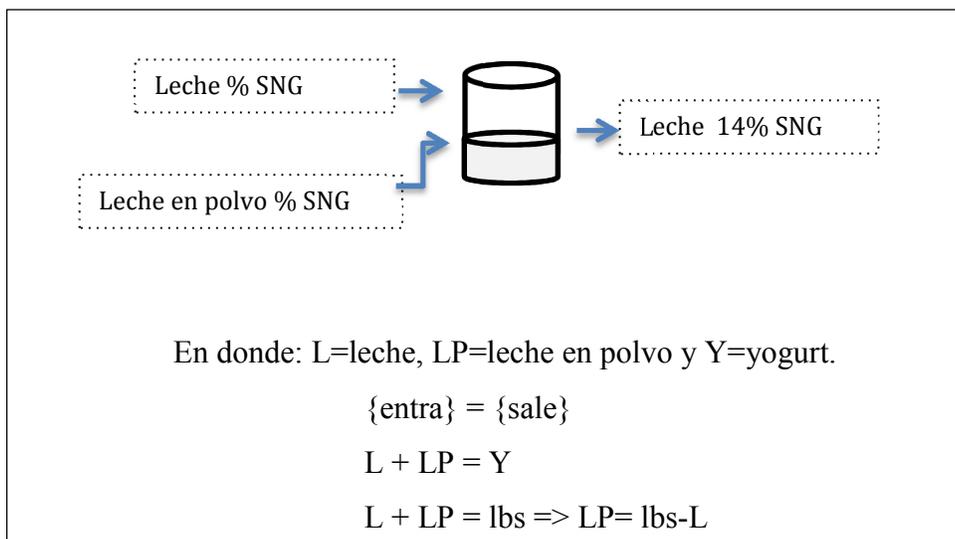


Figura 8. Método de Balance de Masas, ejemplo de modelo utilizado

Luego de la determinación de las cantidades requeridas para cada ingrediente (ver Tabla 4), se desarrollaron tres formulaciones, las cuales consistían en suero con leche en polvo (S-LP), suero con suero en polvo (S-SP) y suero con agente estabilizante (S-DB). Se evaluó su grado de aceptación por medio de un análisis sensorial. Para el análisis sensorial se realizaron dos pruebas: una prueba de ordenamiento y una prueba de preferencia.

Tabla 4. Formulaciones preliminares de yogurt a base de suero ácido

Formulación	% Suero	% Leche en Polvo	% Suero en polvo	% Dairyblend YG FB 3	% Fibra (Nutriloid 7000)	% Inóculo
S-LP	91.7	4.9	-	-	3.21	1
S-SP	91.8	-	4.7	-	3.21	1
S-DB	91.3	-	-	8.7	3.21	1

(Leyenda: LP= leche en polvo, SP=suero en polvo, DB= Dairyblend YG FB 3 y N=fibra Nutriloid. Aquellas muestras con DB no contienen Nutriloid, porque este ingrediente contiene 37 g de fibra/ 100 g de muestra).

3.3.3. Análisis Sensorial Preliminar

3.3.3.1. Preparación de la muestra para el análisis Sensorial

La elaboración de la muestra se llevó a cabo según el procedimiento descrito en la sección 3.3.5. El yogurt fue saborizado con vainilla y endulzado con sirop de fructosa. Las muestras fueron servidas en porciones individuales de 4 oz.

3.3.3.2. Procedimiento de la Prueba de Ordenamiento y Preferencia

El panel sensorial se llevó a cabo con el propósito de determinar la aceptación de estos productos con las diferentes formulaciones y determinar que formulaciones se utilizarían para la elaboración del producto final. Para cuantificar estas observaciones, se realizó un análisis sensorial con un panel no adiestrado compuesto por 50 panelistas seleccionados al azar, bajo la categoría de estudiantes y empleados no docentes del recinto. El reclutamiento de los participantes se hizo mediante invitación por correo electrónico, anuncio en salones de clases y afiches pegados en diferentes edificios del RUM. A cada panelista, se le suministró dos hojas de evaluación, la primera por el método de preferencia y la segunda prueba por el método de ordenamiento. El propósito de la prueba de preferencia fue para que el panelista seleccionara entre tres formulaciones de yogurt la de mayor agrado. Para evaluar el olor y sabor de las tres formulaciones de yogurt se les brindó la prueba de ordenamiento en la cual el número uno especificaba la formulación de mayor preferencia, el número dos la formulación de preferencia intermedia y el número tres la formulación de menor preferencia.

Los panelistas se ubicaron en un cuarto apropiado a temperatura controlada. A cada uno, se le proveyó tres muestras de yogurt identificadas con números aleatorios de tres dígitos los cuales anotaron en su prueba de izquierda a derecha (Meilgaard, et al, 2006).

3.3.4. Selección De Formulación De Yogurt

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de ordenamiento y la prueba de preferencia, se seleccionaron las dos mejores formulaciones con los mejores atributos e términos de olor y sabor, y preferencia general. Las 2 formulaciones seleccionadas fueron evaluadas

durante el periodo de almacenamiento. Se concluyó que solo dos formulaciones eran viables según la aceptación y preferencia de los panelistas. (ver Sección 4.2 para referencia).

Tabla 5. Combinación de ingredientes para cada tratamiento de yogurt

Código	Base líquida		Base sólida		Fibra añadida	
	% Leche	% Suero	% Leche en Polvo	% Suero en polvo	% Dairyblend YG FB 3	% Nutriloid 7000
	(M)	(W)	(LP)	(SP)	(DB)	(Nu)
S-LP	-	92.0	8.0	-	-	3.57
S-SP	-	92.0	-	8.0	6.0	1.1
M-LP	95.0	-	5.0	-	-	3.57

Leyenda: LP= leche en polvo, SP=suero en polvo, DB= Dairyblend YG FB 3 y N=fibra Nutriloid. DB contiene 37 g de fibra/ 100 g de muestra.

Según las formulaciones con mayor preferencia, se hizo una reformulación y se establecieron dos nuevas formulaciones. Las mismas fueron elaboradas utilizando 92% de suero ácido neutralizado como base líquida y un 8% de sólidos añadidos. A la formulación de suero con suero en polvo, se le agregó un agente estabilizante para disminuir la sinéresis en el producto final.

El agente estabilizante, Dairyblend YG FB 3, se usó según las cantidades recomendadas por el fabricante (entre un 4% - 6%). Con la formulación desarrollada, se procedió a elaborar el yogurt para establecer cuáles serían los parámetros adecuados para obtener la textura de la gel deseada.

Según la Tabla 5 a cada una de las formulaciones de yogurt se le añadió fibra para aumentar su valor nutricional, ya que este tipo de producto carece de este nutriente. Se puede observar que el tratamiento S-SP se le adicionó menor porcentaje de fibra, debido a que la goma utilizada (DB) ya contiene 37 g de fibra soluble/100 g. Mientras que para los tratamientos que contienen como ingrediente leche y suero en polvo se les añadió 3.57% de fibra. La fibra que se utilizó fue Nutriloid® 7000, esta contiene 90 g de fibra soluble/ 100 g.

3.3.5. Elaboración De Yogurt

La preparación del yogurt se llevó a cabo siguiendo el procedimiento de Gonzalez-Martinez, *et al* (2002) como puede ser observado en la Figura 9. Para la preparación de las formulaciones se utilizó suero de leche en substitución de la leche, como sólidos se utilizaron leche descremada en polvo y suero en polvo. En adición, dependiendo de la formulación se le añadió fibra y/o agente estabilizante. Para la preparación del yogurt, se calentaron en una olla el suero o la leche, hasta alcanzar una temperatura de 90°C por 15 minutos utilizando baño de María. Mientras se calentaba, se le adicionaron los ingredientes sólidos y se mezclaron hasta ser disueltos. Al terminar el tiempo, se colocó la mezcla en un baño de hielo para alcanzar una temperatura de 40°C. La muestra de suero se inoculó con yogurt “plain” bajo en grasa, que contenía *Lactobacillus debrueckii spp bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. Las muestras se sirvieron en vasos de 4 oz. y en envases de una pinta. Las mismas fueron incubadas (VWR, BOD low temp incubator) a 40°C, hasta alcanzar un pH aproximado de 4.40. Luego el yogurt fue refrigerado a 5°C por un periodo de 24 horas para detener el proceso de fermentación.

3.3.6. Procesamiento de producto y condiciones de almacenaje

El producto se almacenó bajo condiciones de refrigeración (4°C), y se le realizaron pruebas químicas y microbiológicas en la etapa inicial, intermedia y final (días 0, 15 y 28) para comparar las características del producto en estado fresco con las de un producto almacenado y determinar su largo de vida útil (ver Figura 9).

3.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El análisis microbiológico se realizó siguiendo los protocolos establecidos en el Bacteriological Analytical Manual (BAM por su siglas en inglés) y *Standard Methods for the Examination of Dairy Products* (Wehr & Frank, 2004). Se hicieron diluciones seriadas de acuerdo al análisis realizado. Las siembras se realizaron por triplicado para coliformes, hongos y levaduras, y para bacterias ácido lácticas. Los resultados fueron reportados como UFC/g (Unidades Formadoras de Colonias/gramo) de muestra.

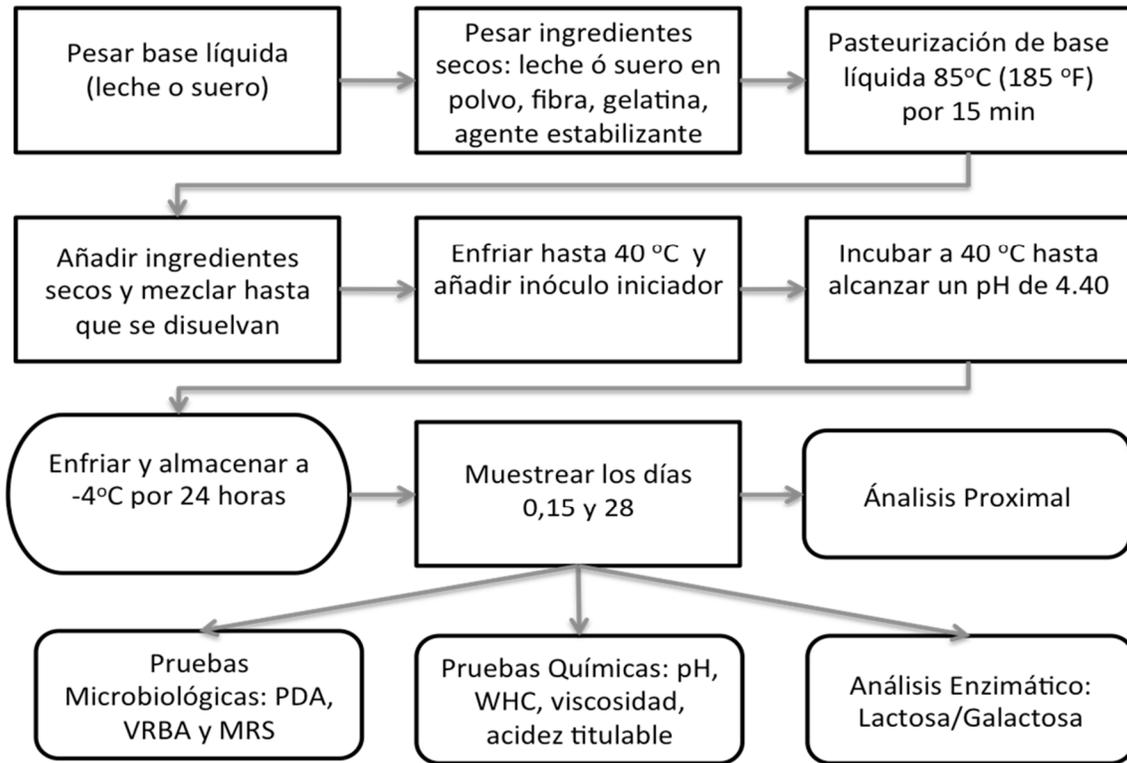


Figura 9. Diagrama de proceso de preparación de yogurt

3.4.1. Recuento de Coliformes totales

El recuento de coliformes se llevó a cabo con el medio de cultivo VRBA (Violet Red Bile Agar). El procedimiento consistió en transferir 1.0 mL de la muestra ó 0.1 mL de dilución en un plato estéril. El medio se adicionó por medio de la técnica de vertido en plato (pour-plate). Cuando el medio VRBA se solidificó, se vertieron 3.0 a 4.0 mL adicionales de medio como una capa sobrepuesta para inhibir la formación de colonias superficiales. Los platos se invirtieron e incubaron (Fisher Scientific, Isotemp, Standard Lab Incubators) a $32^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Para obtener los resultados, se contaron aquellos platos que contenían 15 a 150 colonias de color rojo oscuro.

3.4.2. Recuento de Hongos y Levaduras

El recuento de hongos se llevó a cabo con el medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar) al cual se le ajustó el pH a 3.5 ± 0.1 con una solución de ácido tartárico al 10% para inhibir el crecimiento de bacterias. Las muestras se prepararon siguiendo el protocolo de “standard plate

count” (SPC), se esparció 1.0 mL de la muestra ó 0.1 mL de dilución en el medio. Se incubaron (Fisher Scientific, Isotemp, Standard Lab Incubators) a 25 ± 1 °C, por 5 ± 0.5 días. No se invirtieron los platos durante el tiempo de incubación. Para la lectura de plato se utilizaron aquellos que contenían entre 15 a 150 colonias. Se reportaron como hongos y levaduras por gramo o por mililitro (Wehr & Frank, 2004).

3.4.3. Recuento de Bacterias Ácido Lácticas Totales

El recuento de bacterias ácido lácticas totales se llevó a cabo con el medio de cultivo MRS (Man, Ragosa y Sharpe). Durante el procedimiento las muestras fueron manejadas con mucho cuidado ya que las bacterias ácido lácticas son sensibles a condiciones ambientales adversas. Se prepararon diluciones de la muestra en agua peptonada al 0.1%. La muestra diluida se vertió en el plato y el crecimiento de la colonia se facilitó con el uso de atmósferas de oxígeno reducido o una capa sobrepuesta de medio MRS. Se incubaron (Fisher Scientific, Isotemp, Standard Lab Incubators) a 32°C o $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 48 ± 3 horas. Los resultados se reportaron como recuento de productores de ácido por gramo o mililitro.

3.5. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

3.5.1. Medidas de pH

El valor de pH se pudo medir con precisión utilizando un potenciómetro o metro de pH (Sartorius, Docu-pH meter) previamente calibrado con soluciones amortiguadoras de pH: 4, 7 y 10. Para llevar a cabo estas mediciones, se utilizó un volumen de 10.00 mL de la muestra de yogurt el cual se vertió en un vaso de precipitado de 20.00mL. El electrodo fue sumergido en la muestras y se esperó a que la lectura fuese constante. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado los días 0, 15 y 28.

3.5.2. Medidas de acidez titulable

La acidez titulable mide la concentración total de ácido en los alimentos. Se determinó la acidez en la muestra de yogurt por medio de una titulación potenciométrica, en donde se utilizó el indicador fenolftaleína como referencia al punto final y se midió el pH (Sartorius, Docu-pH

meter) de la muestra durante la titulación hasta que se alcanzó un pH de 8.3. Se utilizó como solución titulante NaOH 0.1 N estandarizado con ftalato ácido de potasio (KHP).

Para analizar la muestra, se pesaron 10.000 g de yogurt en un matraz de 250 mL, al cual se le añadieron 50.0 mL de agua destilada y 3 gotas de indicador. Antes de titular la muestra se llevó a cabo la titulación de unos blancos. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado los días 0, 15 y 28. El porcentaje de ácido láctico en la muestra se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ácido } (W/W) = \frac{N \times V \times \text{Peso Eq.}}{W \times 1000} \times 100 \quad [16]$$

Donde:

N = normalidad de solución de hidróxido de sodio, 0.1N

V = volumen del titulante (ml)

Peso Eq. = peso equivalente de ácido láctico (90.06 mg/mEq.)

W = peso de la muestra (g)

1000 = factor de conversión de mg a gramos (mg/g), (1/10 = 100/1000)

3.5.3. Medidas de viscosidad

La viscosidad aparente se determinó utilizando un viscosímetro *Brookfield* (DV-E viscosimeter) con un eje de rotación S06. Las medidas se reportaron en unidades de cps, a 1200 rpm. Las muestras se colocaron en hielo, para mantener una temperatura baja, y se tomó la lectura a intervalos de 1.0 min. Se realizaron tres (3) repeticiones. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado los días 0, 15 y 28.

3.5.4. Determinación de Capacidad de retención de agua

La determinación de capacidad de retención de agua, se realizó para determinar cuánto suero puede liberar la muestra con el paso del tiempo durante el periodo de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración.

La capacidad de retención de agua se determinó utilizando el procedimiento establecido en Sodini, *et al.* (2006) que fue una adaptación del seguido por Guzmán-González, *et al.* (1999). En este análisis se pesaron 20 g de yogurt (Y) los cuales fueron transferidos a un tubo de centrifuga

(eppendorf, modelo 5702). La muestra fue centrifugada por 30 min a 1200 x g a 20°C. El suero expulsado (WE) fue transferido a un plato de pesada y pesado. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado los días 0, 15 y 28. La capacidad de retención de agua (WHC) se definió como :

$$WHC (\%) = 100 \times \frac{(Y-WE)}{Y} \quad [17]$$

Donde:

Y= peso de la muestra de yogurt

WE= el suero expulsado

3.5.5. Determinación de Lactosa y Galactosa

La determinación de lactosa y galactosa se llevó a cabo por medio de un método rápido enzimático UV (Megazyme, K-LACGAR 03/14). Este equipo permite una determinación específica de cada azúcar. Siguiendo el procedimiento establecido por el fabricante, se pesó aproximadamente 1.0g de yogurt en un matraz volumétrico de 100 mL el cual contenía 60 mL de agua destilada. Se adicionaron 2.00 mL de la solución de Carrez I (3.60 g de Hexacianoferrato de potasio (II) $\{K_4[Fe(CN)_6].3H_2O\}$ en 100 mL de agua destilada), 2.00 mL de solución de Carrez II ((7.20 g de sulfato de zinc ($ZnSO_4.7H_2O$ en 100 mL de agua destilada) y 4.00 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 100mM. El volumen de la solución fue completado a 100 mL para luego ser mezclado y filtrado.

Para el análisis de lactosa, se añadieron 0.20 mL de muestra clarificada y 0.20 mL de una solución de β -galactosidasa a un tubo de ensayo. Esta mezcla fue incubada en un baño de agua a 25°C durante 10 minutos. Se continuó con la adición de 2.00 mL de agua destilada, 0.20 mL de una solución amortiguadora y 0.10 mL de una solución de NAD^+ . Luego de 3 minutos, se realizaron lecturas de absorbancia (A_1) a un largo de onda de 340nm (Thermo Scientific, Evolution 60S, UV-visible Spectrophotometer). Luego se adicionó 0.02 mL de una solución de β -GalDH/GalM, se mezcló y se leyó la absorbancia (A_2) al terminar la reacción (<5 min), o hasta que la lectura de la absorbancia se mantuvo constante por más un (1) minuto.

Para el análisis de D-galactosa, se siguió el mismo procedimiento utilizado durante el análisis de lactosa, a diferencia que el volumen de agua destilada añadido fue de 2.20 mL. Este análisis se llevó a cabo para muestras en los días 0, 15 y 28.

Con las dos lecturas de absorbancia se determinó el cambio en absorbancia (ΔA) durante la reacción:

$$\Delta A_{D\text{-galactose}} = (A_2 - A_1)_{\text{galactose sample}} - (A_2 - A_1)_{\text{galactose blank}} \quad [10]$$

$$\Delta A_{\text{lactose} + D\text{-galactose}} = (A_2 - A_1)_{\text{lactose sample}} - (A_2 - A_1)_{\text{lactose blank}} \quad [11]$$

$$\Delta A_{\text{lactose}} = \Delta A_{\text{lactose} + D\text{-galactose}} - \Delta A_{D\text{-galactose}} \quad [12]$$

La concentración de D-galactosa se determinó por medio de la siguiente fórmula:

$$\Delta A_{D\text{-galactose}} = (A_2 - A_1)_{\text{galactose sample}} - (A_2 - A_1)_{\text{galactose blank}} \quad [13]$$

La concentración de lactosa y D-galactosa se determinó por medio de la siguiente fórmula:

$$C = \frac{V \times PM}{\epsilon \times d \times v} \times \Delta A \quad [\text{g/L}] \quad [14]$$

Donde: V = volumen final [mL]

PM = Peso molecular de la sustancia analizada [g/mol]

ϵ = coeficiente extinción de NADH a 340 nm = 6300 [l x mol⁻¹ x cm⁻¹]

d = diámetro de la celda [cm]

v = volumen de la muestra [mL]

Para muestras sólidas o semi-sólidas, las cuales fueron pesadas previo a la preparación de la muestra, se utilizó la siguiente fórmula, donde el resultado se expresó como el porcentaje de lactosa ó D-galactosa en 100 g de muestra:

$$\% C_{(\text{lactosa ó d-galactosa})} = \frac{c \text{ [g/L sample volume]}}{\text{Weight}_{\text{sample}} \text{ [g/L sample volume]}} \times 100 \quad [\text{g/100g simple}] \quad [11]$$

3.6. CARACTERIZACIÓN DEL YOGURT

3.6.1. Análisis Proximal

Se siguieron los métodos utilizados en Sodini, et al. (2006), para realizar la caracterización del yogurt. Se llevaron a cabo los análisis de humedad, cenizas, determinación de proteína bruta, determinación de grasa cruda y determinación de carbohidratos. Se realizaron 6 repeticiones para cada análisis. Ver metodología descrita en la sección 3.3.1.

3.6.2. Determinación de fibra dietaria

La determinación de fibra dietaria total (TDF) se realizó en un laboratorio de referencia, y se utilizó el método enzimático-gravimético de AOAC 991.43. El mismo consistió de una digestión enzimática tratada con alcohol para precipitar la fibra soluble dietaria, antes de ser filtrada. El residuo obtenido fue lavado con alcohol y acetona, secado y pesado para determinar el contenido de TDF.

3.7. PRUEBA DE ACEPTABILIDAD

3.7.1. Preparación de la muestra

La elaboración de la muestra se llevó a cabo según el procedimiento descrito en la sección 3.3.5., utilizando el suero previamente neutralizado, y se almacenó bajo condiciones de refrigeración (-4°C) hasta su posterior uso. Se saborizó la muestra con vainilla y se endulzó con sirop de fructosa. Se sirvió en porciones individuales de 4 oz.

3.7.2. Análisis Sensorial Producto Final

Este análisis se llevó a cabo por medio de un panel sensorial que evaluó la aceptación del producto. Se seleccionaron 90-100 panelistas al azar con el uso de volantes, correo electrónico y redes sociales. Los participantes fueron estudiantes, empleados docentes y no docentes del Recinto Universitario de Mayagüez, y público en general. Se realizó la prueba con un panel no adiestrado.

A cada panelista se le indicó el propósito del análisis y se le explicó el procedimiento a seguir. Luego se llevaron a un cuarto apropiado con temperatura e iluminación controlada, en el cual se sentaron en cubículos individuales. A cada participante, se le proveyeron dos muestras de yogurt identificadas con números aleatorios de tres dígitos los cuales anotaron en su hoja de panelista de izquierda a derecha. Galleta y agua les fue brindada para limpiar el paladar y refrescar sus receptores entre cada muestra probada. Se le entregó una hoja con instrucciones claras a cada panelista. Al recibir la muestra debían agitarla para evaluar su consistencia y asignarle un valor dentro de la escala. Luego, probarla y repetir el procedimiento. Cada tratamiento se evaluó en diferentes fechas: el tratamiento S-LP se evaluó en abril 2016 con 98 participantes, y el tratamiento S-SP en noviembre 2016 con 100 participantes.

El propósito de la prueba de preferencia fue que el participante evaluará entre dos formulaciones de yogurt la de mayor agrado, utilizando una escala hedónica de nueve puntos. Siendo 1, mayor desagrado y 9, mayor agrado. Con esta prueba se pudo determinar cuál formulación tuvo mayor aceptabilidad.

3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se calcularon los valores de las medias (\bar{X}) y su desviación estándar (S) para medidas de cada uno de los experimentos que se hicieron a los lotes. Se compararon los resultados o respuestas por medio de un análisis de varianza ANOVA para determinar si existió diferencia entre los tratamientos con un 95% de confianza ($\alpha=0.05$). Para el análisis estadístico se generaron dos hipótesis:

H_0 = no existe diferencia entre los tratamientos

H_a = existe diferencia entre los tratamientos

Si el valor estadístico obtenido fue menor que el “alfa” utilizado ($p < 0.05$), la Hipótesis nula (H_0) fue rechazada, es decir al menos uno de los tratamientos fue diferente. De encontrarse diferencia en los tratamientos se procedió a realizar la prueba de Tukey al 95% para determinar el tratamiento diferente. Se utilizó el programa de SAS Studio para el análisis de los datos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA

Para poder desarrollar las formulaciones de yogurt, fue necesario caracterizar la materia prima. Principalmente, el suero ácido y la leche a utilizar. En la Tabla 6 se muestran los datos obtenidos, al realizar un análisis proximal a ambos ingredientes. Se observó que los porcentajes obtenidos para la leche fueron menor que los reportados por Walstra , Wouters, & Geurts (2006), ya que la leche utilizada durante el proceso de elaboración contenía 1.5% de grasa y en la literatura se refiere a muestra de leche entera. Al variar el contenido de grasa, esto causa que los demás porcentajes difieran también.

Los resultados obtenidos para el análisis de suero fueron valores cercanos a los citados por Mandal (2013), el porcentaje de cenizas no se pudo comparar ya que no existe una composición estándar del suero. La composición del suero va a depender del tipo de queso que se produzca y de la calidad de la leche utilizada (Mandal, et al, 2013). La Tabla 7 muestra los resultados obtenidos del análisis proximal en comparación con los provistos por el fabricante. Estos resultados demuestran consistencia de los resultado, ya que los valores son bien cercanos a los reportado por el fabricante.

Tabla 6. Composición de suero y leche (1.5% de grasa)

Componentes	Suero	Literatura ¹	Leche	Literatura ²
Grasa	0.14%	---	1.35%	4.0%
Proteínas	0.0031%	*0.5%	2.97%	3.3%
Lactosa	6.82%	*4.5-5.0%	7.80%	4.6%
Cenizas	0.05%	*0.2%	0.08%	0.7%
Sólidos totales	6.97%	*5.0%	10.9%	8.9%

*El suero de leche no tiene una composición estándar.

¹ (Mandal, et al, 2013)

² (Walstra , Wouters, & Geurts, 2006)

Tabla 7. Composición nutricional de ingredientes sólidos según “gramos de nutriente por tamaño de servicio”.

Componente	Cantidades en g							
	Suero en Polvo		Leche en polvo		Dairyblend		Nutriloid	
	Suero en Polvo	Referencia	descremada	Referencia	YG FB 3	Referencia	7000	Referencia
Grasa	0.03	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.45	0.00
Proteínas	1.01	1.00	7.82	8.00	0.89	0.00	0.65	0.00
Carbohidratos	6.04	6.00	11.51	12.00	87.06	89.00	90.55	93.00

Valores de referencia provistos por la compañía manufacturera.

Tabla 8. Valores en Porcentajes obtenidos a partir de Análisis Proximal

Componente	Cantidad en Porcentaje (%) de cada componente en cada ingrediente					
	Suero Ácido	Leche (1.5%)	Suero En Polvo (SP)	Leche En Polvo (LP)	Dairyblend YG FB 3 (DB)	Nutriloid 7000 (Nu)
Humedad	93.03	89.15	4.48	7.90	9.89	7.48
Cenizas	0.05	0.08	7.02	7.80	1.65	0.87
Proteínas	0.003	2.97	12.68	33.99	0.89	0.65
Grasa	0.14	1.35	0.38	0.25	0.00	0.45
Carbohidratos	6.82	7.80	75.44	50.06	87.06	90.55
Sólidos totales	6.97	10.85	95.52	92.10	90.11	92.52
Sólidos no Grasos	6.83	9.50	95.14	91.85	90.11	92.07

Media de 6 determinaciones ± la desviación estándar. Proteína= %N * 6.38

En la Tabla 8 se puede observar que tanto la leche 1.5% de grasa como el suero ácido fueron los que presentaron un mayor porcentaje de humedad. Este resultado era esperado ya que ambos se encontraban en estado líquido, donde su fase continua (o fase dispersante) era agua. Mientras que los demás ingredientes tuvieron un porcentaje similar entre ellos (rango entre 4 – 10%), aunque se observa que la goma Dairyblend tuvo el porcentaje mayor en comparación a los demás ingredientes secos.

En términos de minerales y proteínas, tanto el suero en polvo (SP) como la leche en polvo (LP) fueron los que mayor porcentaje obtuvieron. El porcentaje de cenizas fue de 7.02% y 7.80%, mientras que el contenido de proteínas fue de 12.68% y 33.99% respectivamente. Para el contenido de grasa, se pudo observar la diferencia de la leche líquida en comparación a los demás ingredientes, donde este fue el que obtuvo el mayor porcentaje de grasas con un 1.35% mientras que los demás ingredientes tienen valores menores de 0.50%. Para el contenido de carbohidratos, se observó que aquellos ingredientes con mayor contenido son la fibra Nutriloid y la goma Dairyblend, esto se debe a que ambos contienen fibra, el cual es un tipo de carbohidrato, a diferencia de la leche y el suero, donde el único carbohidrato que tienen presente es la lactosa.

Los valores de sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG) son parámetros que se consideran en el desarrollo de las formulaciones del yogurt. Por medio de la diferencia entre el valor de ST y el valor de grasa, se determinó el porcentaje de SNG, valor que se utilizó para calcular las proporciones por medio de Cuadrado de Pearson o por Balance de Masas. Una vez determinada la composición de los ingredientes, se procedió a desarrollar las formulaciones de yogurt con suero y fibra añadida.

4.2. DESARROLLO Y SELECCIÓN DE FORMULACIONES PRELIMINARES

Durante la etapa preliminar, se desarrollaron tres formulaciones viables que ofrecían las cualidades de textura, sabor, color y olor deseables en un yogurt utilizando los ingredientes que se presentan en la Figura 10.

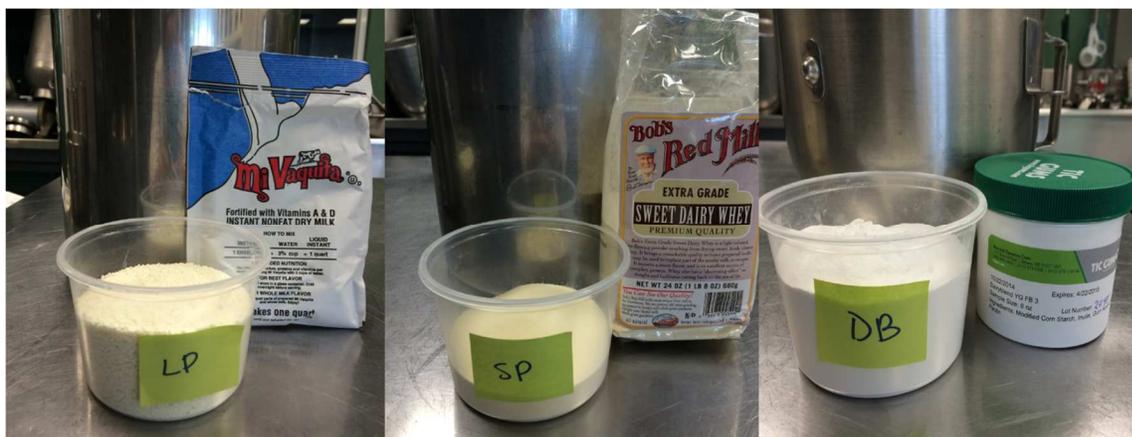


Figura 10. Combinación de ingredientes para formulaciones (de izquierda a derecha, S-LP, S-SP y S-DB).

Luego de una serie de repeticiones, se establecieron los parámetros de incubación ideales para este producto, además de los porcentajes de SNG y goma, ya que esta última promueve la disminución de sinéresis en el producto y provee una textura deseable. Los parámetros óptimos de incubación para el yogurt establecidos experimentalmente para este producto fueron 38°C por un periodo de 10 a 12 horas. Luego se almacenaron a una temperatura de refrigeración de -4°C por 24 horas para detener el proceso de fermentación.

La primera formulación realizada fue elaborada con suero ácido y LP como SNG con fibra añadida, esta fue comparable a la formulación estándar del yogurt comercial. La misma tuvo un color blanco y una textura suave. En términos de sabor y olor, la diferencia fue mínima, al ser comparada con un yogurt tradicional. Para la segunda formulación, se utilizó suero ácido y SP como SNG con fibra añadida, pero esta formulación no resultó una opción viable, ya que no permitió que ocurriera interacción con el inóculo, interfiriendo en el proceso de conversión de lactosa a ácido láctico, producto del metabolismo de las bacterias ácido lácticas. Durante el proceso de incubación, el producto alcanzó el pH óptimo de 4.4, pero el coágulo que se formó para producir el gel no fue el deseado. El coágulo formado no se expandió y ocurrió una separación total entre el suero y el coágulo, por lo que no se obtuvo la consistencia viscosa esperada. La última formulación fue suero ácido y DB como SNG con fibra añadida (Nutriloid). De esta formulación, se obtuvo un producto con una textura, apariencia y olor deseable, pero el

sabor no fue el esperado. Cuando se utilizó la fibra añadida, se pudo apreciar que observó si se utilizaban cantidades que excedieran las recomendadas (6%) por el fabricante, el sabor se vio afectado. Aunque el producto, visualmente cumplió con las características del yogurt, el sabor no correspondió al esperado. Este ingrediente impartió un sabor a goma, y aunque alcanzaba el pH de 4.4 y el grado de acidez deseado, el producto no presentó un sabor al esperado de un yogurt.

4.2.1. Análisis Sensorial: Prueba de Ordenamiento y Prueba de Preferencia

4.2.2. Prueba de Ordenamiento

En este análisis se le asignó una letra a cada una de las formulaciones donde A fue S-LP, B fue S-DB y C fue S-SP. La Figura 11 presenta los resultados obtenidos de la prueba de ordenamiento en términos de olor, en donde uno (1) representa la de mayor preferencia y tres (3) representa la de menor preferencia. En esta figura se puede observar que aquella formulación, a la cual mayor cantidad de panelistas (19) le otorgaron un valor de uno (1) fue la muestra C (S-SP), mientras que la formulación a la cual le asignaron mayor cantidad de veces el valor de tres (3) fue la muestra B, que corresponde a la formulación S-DB. La formulación con valor dos (2) es S-LP. Siendo la formulación S-SP aquella con mejores cualidades en términos de olor.

En términos de sabor, se puede observar en la Figura 12 que aquella muestra valorada con uno (1) la mayor cantidad de veces corresponde a la muestra A (S-LP), con un total de 23 panelistas. Mientras que la formulación que poseía el sabor menos agradable fue la C (S-SP). Lo que significa que la formulación con mejor sabor fue la formulación S-LP.

Por lo tanto, de un total de 50 participantes, un 38% respondió que la muestra con mayor preferencia en términos de olor fue la formulación S-SP, mientras que un 46% mostró mayor preferencia por la formulación S-LP en términos de sabor.

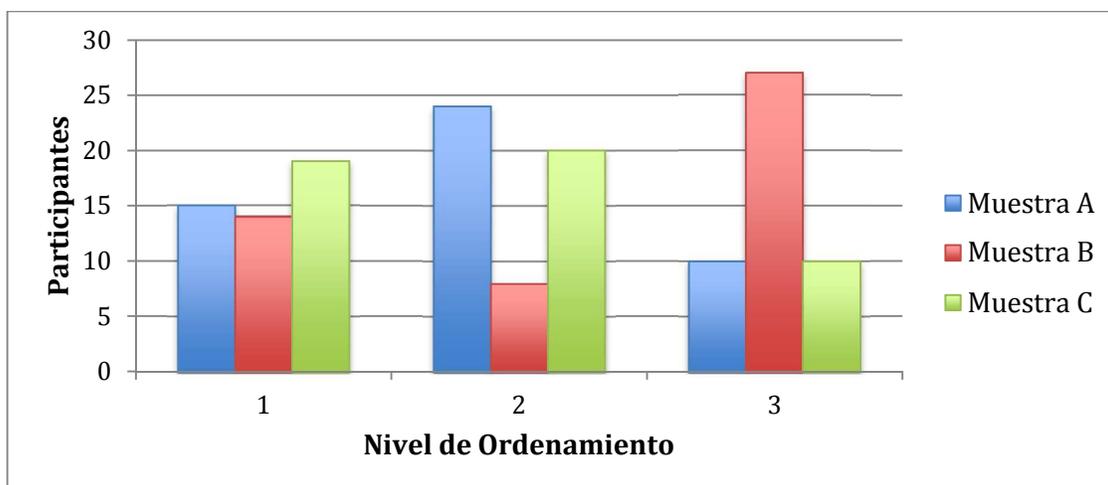


Figura 11. Análisis de Prueba de Ordenamiento en términos de olor.
 Codificación de muestras suministradas: A = S-LP, B = S-DB y C = S-SP.

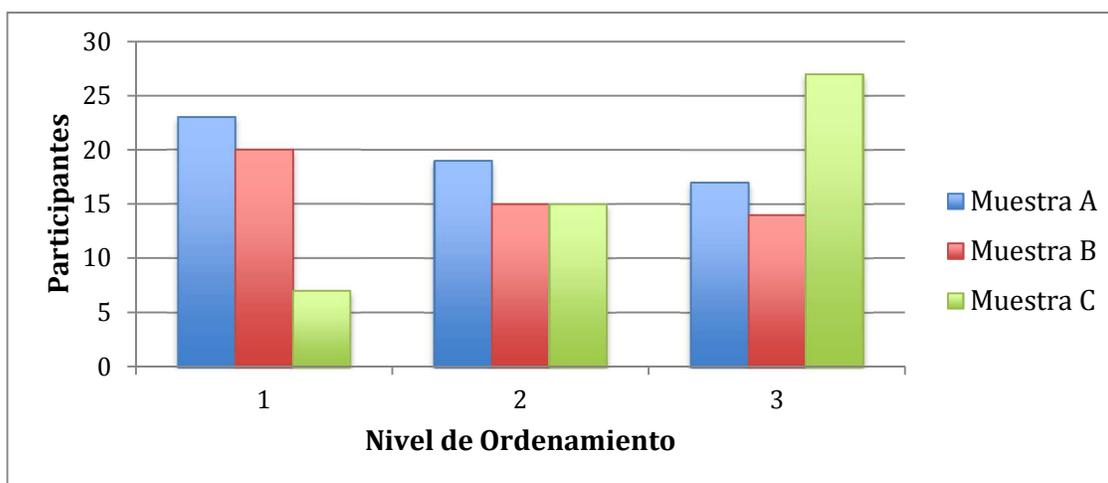


Figura 12. Análisis de Prueba de Ordenamiento en términos de sabor.
 Codificación de muestras suministradas: A = S-LP, B = S-DB y C = S-SP.

4.2.3. Prueba de Preferencia

En la prueba de preferencia (Figura 13) se evaluaron las formulaciones en términos generales, y se obtuvo que la formulación con mayor preferencia correspondió a la formulación S-LP, mientras que la formulación con menor preferencia fue S-SP.

Según se mencionó en la discusión del desarrollo de las formulaciones, la separación excesiva del suero afecta grandemente la aceptación de este producto. En la Figura 10 se observa que la formulación con mejor aroma o el olor más característico a yogurt fue la S-SP, lo que

significa que el comportamiento de un yogurt elaborado sólo con suero puede mostrar buenas cualidades de un yogurt en términos de olor y sabor.

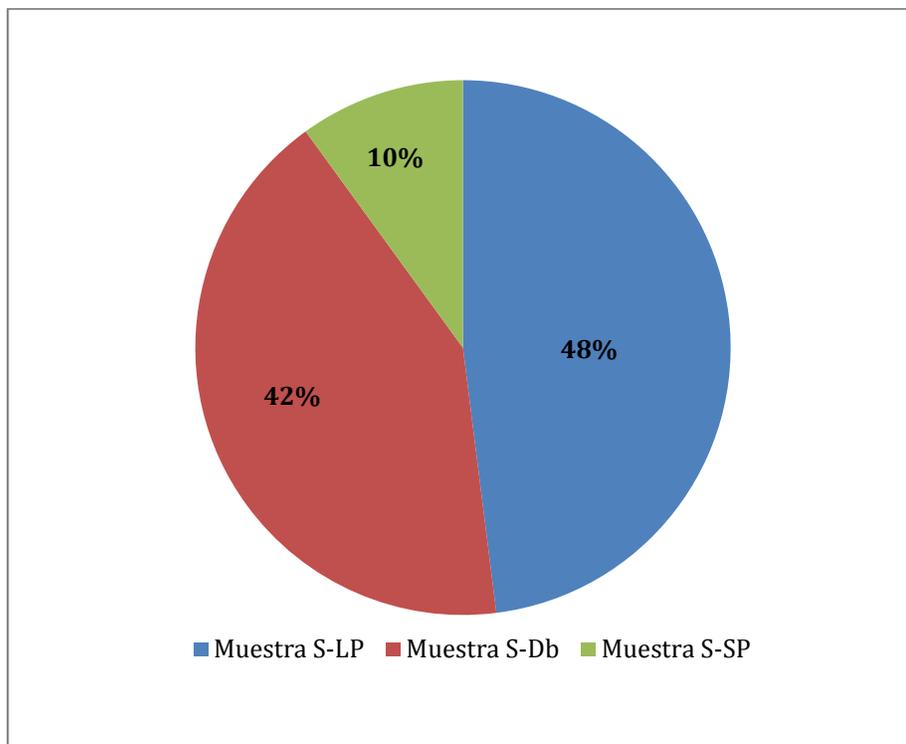


Figura 13. Resultados de Prueba de Preferencia expresados en porcentajes de preferencia.

4.2.4. Selección de Formulaciones

El proceso de elaboración del producto requirió tener en consideración los siguientes aspectos; (1) la interacción de los ingredientes y (2) las características que cada uno le provee. En adición las formulaciones tienen que cumplir con los estándares de identidad del producto. Al elaborar un yogurt a base de suero ácido con fibra añadida, el suero adquiere un valor agregado, además de aumentar el valor nutricional del producto, debido a la carencia de fibra en este tipo de producto derivado de la leche. Al evaluar las características físicas y las propiedades organolépticas, se estableció que la formulación más viable y con mayor preferencia resultó ser aquella que contiene suero ácido con leche descremada en polvo (S-LP) y fibra añadida. Esta formulación obtuvo un 48% de preferencia en términos generales (Figura 13).

Como la formulación de suero ácido con la goma Dairyblend no resultó ser una opción viable, según los resultados obtenidos por el análisis sensorial, para el desarrollo de esta investigación se tomaron en consideración las dos formulaciones de menor preferencia y se desarrolló una nueva formulación con suero en polvo y la goma. Esta decisión fue basada en que ambas formulaciones presentaron atributos que las favorecieron tales como el mejor olor para S-SP y un 42% de preferencia para S-DB. La adición del agente estabilizante (goma *Dairyblend YG FB 3*), se realizó para obtener un producto comparable a la formulación de mayor preferencia,. El agente estabilizante disminuye la separación de suero y coágulo presente en el S-SP. Por medio de un balance de masas se establecieron dos nuevas formulaciones, las cuales fueron utilizadas durante la investigación con el objetivo de desarrollar y elaborar un yogurt a base de suero ácido que fuese aceptable y del agrado del consumidor.

4.3. COMPOSICIÓN DE FORMULACIONES DE YOGURT

La Tabla 6 de la sección 3.4.3. muestra las formulaciones de los dos (2) tratamientos con suero y el grupo control. Estas formulaciones fueron las utilizadas en el desarrollo de esta investigación (Figura 14). Por medio de un análisis proximal se determinó la composición de las mezclas de yogurt elaboradas con suero ácido neutralizado.



Figura 14. Muestra de cada yogurt elaborado. (Izquierda a derecha: Control, Suero-leche descremada en polvo y Suero-suero en polvo).

Los datos obtenidos se muestran en la Tabla 9 y se puede observar que la formulación con mayor contenido de carbohidratos fue el tratamiento con suero ácido y suero en polvo, con un

14.97%, ya que esta contiene la mayor cantidad de sólidos añadidos debido a la adición del agente estabilizador *Dairyblend YG FB 3*. Este agente estabilizador es una mezcla de hidrocoloides (inulina, Goma Acacia, Pectina y almidón de maíz modificado). Además, se observó que el tratamiento control presentó el mayor porcentaje de proteínas, esto debido a que la formulación fue elaborada con leche y leche en polvo. Lo que significa que esta formulación contiene proteína de caseínas más las proteínas de suero. Las formulaciones en base a suero, sólo contienen proteínas de suero. A mayor contenido de suero en la formulación, menor el porcentaje de proteínas, ya que las proteínas de suero sólo representan un 20% de las proteínas totales en la leche (Haque, Richardson, & Morris, 2001), y en términos de su composición química el suero contiene menos de 1% de proteínas (ver tabla 6).

Tabla 9. Composición de formulaciones de yogurt reportados en porciento (%)

Componentes	Porcentaje de cada componente en cada formulación		
	Control	S-LP	S-SP
Humedad	85.73 ^a ± 0.12	85.30 ^{ab} ± 0.62	81.82 ^b ± 0.37
Cenizas	1.18 ^a ± 0.01	1.35 ^a ± 0.01	1.29 ^a ± 0.01
Proteínas	5.15 ^a ± 0.61	3.47 ^b ± 0.05	1.61 ^c ± 0.04
Grasa	0.69 ^a ± 0.06	0.30 ^b ± 0.02	0.32 ^b ± 0.02
Carbohidratos	7.24 ^a ± 0.17	9.59 ^b ± 0.66	14.97 ^b ± 0.33
Fibra [‡]	1.5	1.8	2.1
Sólidos totales	14.26 ^a ± 0.12	14.70 ^{ab} ± 0.62	18.18 ^b ± 0.37

Media de 6 determinaciones ± la desviación estándar. Medias designadas con la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes ($p < 0.05$, Prueba de Tukey)

[‡]Datos de fibra fueron provistos por un laboratorio de referencia; Proteína= %N * 6.38

Al analizar estadísticamente los resultados de análisis proximal, se observó que para las medidas de cenizas los tratamientos no mostraron diferencia significativas ($p < 0.05$), obteniendo resultados entre 1.18 y 1.35%. Mientras que para los análisis de grasa y carbohidratos, no hubo diferencia entre las formulaciones elaboradas con suero, pero si estas mostraron diferencias significativas con respecto al grupo control. Esto se debe a que la leche, a pesar de ser baja en grasa, contiene mayor porciento de grasa que el suero. Aquellos tratamientos elaborados con suero contendrán porcentajes similares de grasa, ya que a estos no se les adicionó ningún

ingrediente que aportara grasa a la formulación. Los ingredientes añadidos poseen menos de 0.50% de grasa (ver tabla 8).

Los porcentajes obtenidos en las pruebas de humedad y sólidos totales, mostraron las mismas diferencias entre tratamientos. Se observó que la formulación S-SP mostró diferencia significativa ($p > 0.05$) con el grupo control, mientras que la formulación S-LP no mostró diferencia significativa con ambos tratamientos (S-SP y grupo control). Esto se debe a que la composición de la formulación S-SP difiere al grupo control ya que la misma se compone sólo de suero, y contiene un ingrediente adicional, Dairyblend YG FB 3. Este ingrediente contribuyó a que la cantidad de sólido totales presentes en la mezcla fuese mayor, causando que el porcentaje de humedad disminuyera (mientras que el grupo control sólo contiene leche descremada en polvo al igual que la formulación de S-LP). Por último, vemos que los resultados de proteínas si mostraron diferencia significativas ($p > 0.05$) entre los tres (3) tratamientos. Esto se debe a que el grupo control tiene como fuente de proteínas (caseínas + proteínas de suero), las ya presentes en la leche más las proteínas adicionadas en la leche descremada en polvo. Mientras que la formulación S-LP, es la siguiente en orden descendente, ya que al ser elaborada con suero disminuye la cantidad de proteínas presentes, contiene menos caseínas, ya que estas son las proteínas más abundantes en la leche, seguidas por las proteínas de suero. La formulación S-SP, es la formulación con menor porcentaje de proteína, ya que su fuente principal son las proteínas de suero. (Mandal, et al, 2013).

4.3.1. Determinación de Lactosa

La determinación de lactosa, depende de la forma en la que esta se encuentre presente en la muestra. Pues aunque la leche no contiene galactosa, la presencia de esta indica que parte de la lactosa se hidrolizó. Por medio de una reacción enzimática se determinó la concentración de lactosa (Tabla 5), la cual mostró comportamientos diferentes según la formulación de yogurt. El tratamiento con el mayor contenido de lactosa fue S-SP, seguido por S-LP y con los valores menores el grupo control. Estos resultados muestran una relación directa entre el contenido de suero y el de lactosa en dichas formulaciones. Siendo S-SP el tratamiento con mayor utilización de suero tanto en su base líquida como en los sólidos añadidos y el tratamiento con mayor contenido de lactosa.

Tabla 10. Medias de gramos de lactosa/100g de yogurt según el tiempo de almacenamiento por tratamiento

Almacenamiento (días)	Tratamientos		
	Control	S-LP	S-SP
0	57.55 ^b ± 2.48	57.76 ^b ± 2.48	80.21 ^a ± 2.48
15	17.52 ^d ± 2.48	36.37 ^c ± 2.48	79.08 ^a ± 2.48
28	15.19 ^{de} ± 2.48	5.48 ^e ± 2.48	81.38 ^a ± 2.48

Media de 3 determinaciones ± la desviación estándar. Medias designadas con la misma letra en la misma fila o columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$, Prueba de Tukey).

Los tratamientos S-LP y el control tuvieron una disminución en la concentración de lactosa durante los días de almacenamiento a 4°C, mientras que el tratamiento S-SP se mantuvo constante a lo largo del tiempo.

En el día cero hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el tratamiento S-SP (80.21%) versus los tratamientos S-LP (57.76%) y el control (57.55%). Para el día 15 hubo una disminución en las medias obtenidas para los tratamientos S-LP (36.37%) y control (17.52%), mientras que el S-SP (79.08%) se mantuvo constante, por lo que se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias. En el día 28, se repite el comportamiento de S-SP, donde el porcentaje de lactosa se mantiene constante, mientras los tratamientos S-LP y control, muestran una disminución en contenido de lactosa. También se observaron diferencias significativas entre los tres (3) tratamientos.

En la figura 15 se observa como no hay interacción entre el tratamiento S-SP y los tratamientos S-LP y control. Si existe interacción entre los tratamientos S-LP y control en el día 28 de almacenamiento. Ambas formulaciones contienen leche en polvo en su formulación, por lo que ambos contienen presencia de caseína. La formación de la gel, permitió que en ambas formulaciones, el coágulo se extendiera a través de toda la muestra por lo que hubo mayor interacción del inóculo y el medio, y esto permitió disponibilidad de lactosa para ser metabolizada por las bacterias ácido lácticas (Jay, Loessner, & Golden, 2005). Durante esta etapa, las bacterias produjeron mayor cantidad de ácido láctico.

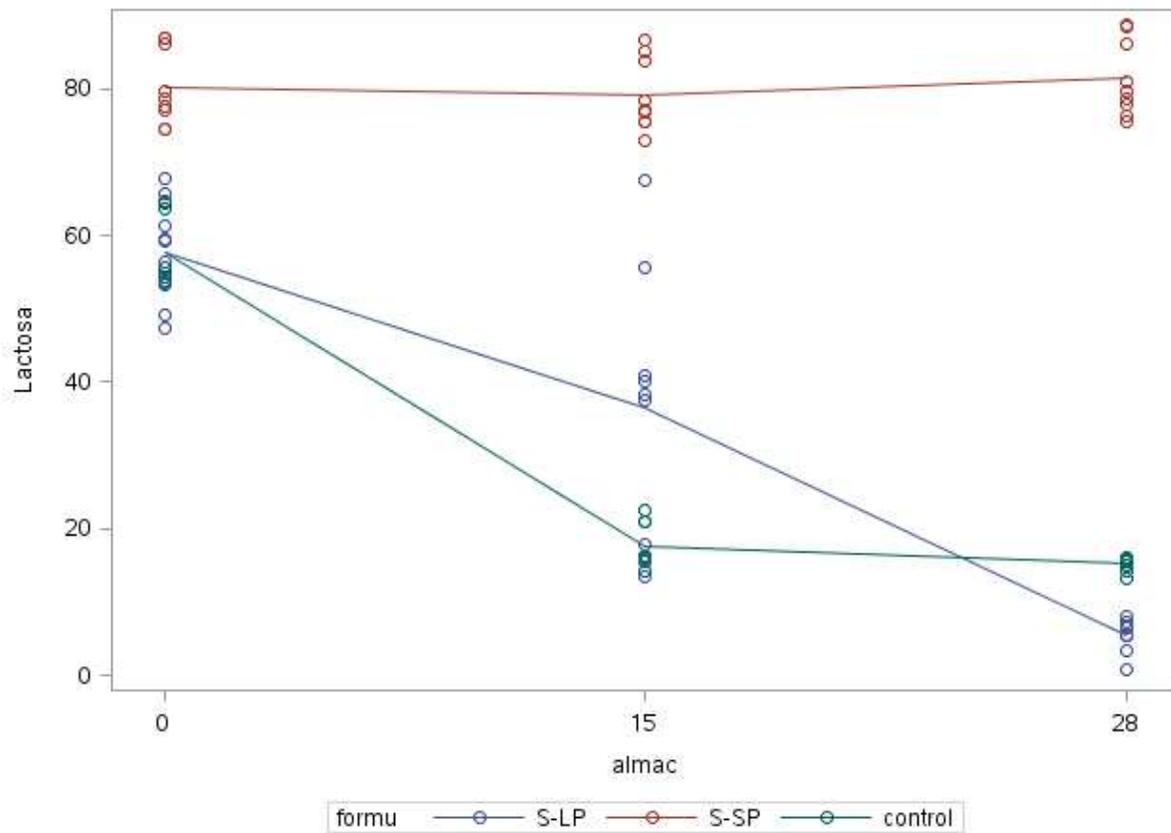


Figura 15. Cambios en concentración de lactosa durante el periodo de almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt almacenados a 4°C (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento).

El tratamiento S-SP mantuvo alta concentración de lactosa y no mostró cambio significativo a través del periodo de almacenamiento, lo que significa que la disponibilidad de la lactosa a ser metabolizada no fue efectiva o la disminución de lactosa toma un tiempo mayor durante el almacenamiento.

4.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Entre los parámetros de calidad, una de las preocupaciones mayores es que aumente la acidez en el yogurt durante el almacenamiento (0,15 y 28 días) del mismo. Es por esto que es necesario enumerar la población de bacterias ácido lácticas, así como la presencia de coliformes totales. La

presencia o recuento de hongos y levaduras de las colonias que se produzcan durante ese periodo determina el largo de vida de este producto.

4.4.1. Recuento de Coliformes totales

Durante el periodo de almacenamiento se realizó recuento de coliformes totales para cada lote de los tratamientos de S-LP, S-SP y el tratamiento control. No se encontró presencia de coliformes totales en ningún lote durante los días de almacenamiento para los diferentes tratamientos de yogurt. Además, se analizó un control del medio y un control del agua de dilución, los cuales también mostraron una respuesta negativa. Los coliformes, como otras bacterias no patogénicas Gram-negativas, se han reportado en otras investigaciones con productos que contienen un rango de pH de 4.4 a 9.0 y que han sido almacenados a temperaturas tan bajas como -2°C (Jay, Loessner, & Golden, 2005).

La ausencia de coliformes es indicativo de buenas prácticas asépticas durante el proceso de elaboración del yogurt, manejo y almacenamiento. Estos resultados también demuestran que el suero utilizado, obtuvo una pasteurización eficiente y que durante el proceso de la elaboración el tratamiento termal fue efectivo, la calidad e inocuidad del producto cumplió con los límites establecidos por las agencias reguladoras.

4.4.2. Recuento de Hongos y Levaduras

El recuento de hongos y levaduras durante el periodo de almacenamiento se realizó para cada lote de los tratamientos de S-LP, S-SP y el tratamiento control. Se encontró crecimiento durante el día 15 de cada tratamiento, y en las muestras elaboradas en el tercer lote de yogurt. Los recuentos para cada tratamiento fueron <15 colonias estimadas de hongos y levaduras en los días 0,15 y 28, sin exceder una (1) o dos(2) colonias de hongos contadas independientemente de la dilución de la muestra.

Los hongos son responsables del deterioro de yogurt y otros productos lácteos. Especies como *Absidia*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Monilia*, *Mucor*, *Penicillium*, y *Rhizopus* pueden crecer en la superficie del yogurt, pero el hongo crece secundario a las levaduras, las cuales crecen más rápidamente. La especie *Mucor* puede crecer en temperaturas de refrigeración. Por lo tanto,

aunque no se observó crecimiento de coliformes en ninguno de los lotes analizados, lo que significa buenas prácticas sanitarias, la razón de que se observara crecimiento de hongos podría ser presencia de esporas de hongos en el ambiente durante la preparación del mismo, a pesar de que cada producto elaborado fue envasado y tapado antes de ser colocado en la incubadora. Es importante mencionar que los hongos crecen en condiciones de mucha humedad, por ejemplo techos o paredes (Sørhaug, 2011).

4.4.3. Recuento de Bacterias Ácido lácticas

En la tabla 11 se observan los valores promediados del recuento de bacterias ácido lácticas (UFC/g) para cada formulación por cada día de muestreo durante el periodo de almacenamiento. Se observó que no hay diferencias significativas entre los tratamientos según los días de almacenamiento.

Tabla 11. Medias de bacterias ácido lácticas en agar MRS

Almacenamiento (días)	UFC/ g de yogurt		
	Control	S-LP	S-SP
0	5.32x10 ⁹ d	5.13x10 ⁹ d	4.12x10 ¹⁰ d
15	1.42x10 ⁹ d	1.42x10 ⁹ d	6.13x10 ⁹ d
28	5.72x10 ⁸ d	1.42x10 ⁹ d	2.62x10 ⁹ d
DE	1.13x10 ¹⁰	1.13x10 ¹⁰	1.13x10 ¹⁰

Medias designadas con la misma letra en la misma fila ó columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$, Prueba de Tukey). DE=desviación estándar

En el día cero, los recuentos iniciales fueron 4.12×10^{10} UFC para el tratamiento S-SP, mientras que el tratamiento S-LP y el grupo control tuvieron recuentos entre 5.13×10^9 a 5.35×10^9 UFC. El tratamiento S-SP fue el que presentó la mayor cantidad de unidades formadoras de colonias de productoras de ácido. Para el día 15, se observó una disminución en la población de bacterias, lo que representa que para este periodo las bacterias se encontraban en su fase estacionaria. El recuento para el tratamiento S-SP fue 6.13×10^9 colonias productoras de ácido, mientras que para los tratamientos S-LP y el grupo control se observaron recuentos de 1.42×10^9 colonias productoras de ácido. Para este día, no hubo diferencia entre los tratamientos.

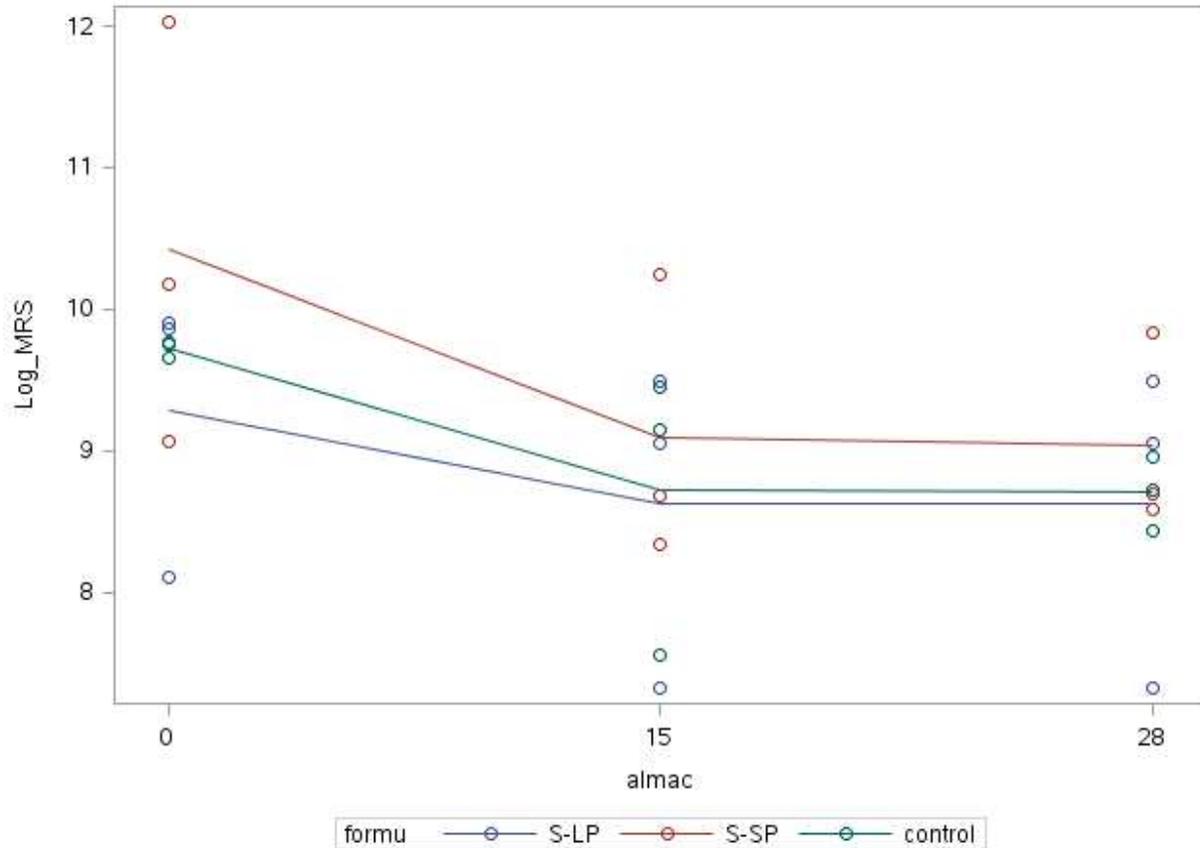


Figura 16. Crecimiento de bacterias ácido lácticas durante el periodo de almacenamiento. Valores de recuento expresado en Log de UFC/g de yogurt. (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento).

Para el día 28, el recuento de bacterias continuó disminuyendo para los tratamientos S-SP y control (2.62×10^9 y 5.72×10^8 colonias productoras de ácido respectivamente), mientras que el tratamiento S-LP no mostró cambio alguno, mantuvo el mismo recuento que el día 15. Esto significa que para el día 28, la población de bacterias ácido lácticas en el tratamiento S-LP había alcanzado su fase estacionaria. Para los tratamientos S-SP y control, se observó una disminución en la población, lo cual puede representar que las bacterias presentes se encontraban en su fase de muerte. A pesar de que las bacterias ácido lácticas son mesofílicas, pueden crecer a temperaturas más bajas de 5°C con respecto al pH desarrollado durante su crecimiento, algunas pueden crecer hasta pH tan bajos como 3.2, y la mayoría crecen a pH con valores de 4.0-4.5 (Jay, Loessner, & Golden, 2005). La figura 16 muestra las interacciones entre los factores evaluados. Se observó que no existen interacciones entre los tratamientos durante el periodo de almacenamiento.

4.5. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

4.5.1. pH

Durante el tiempo de almacenamiento se observó una disminución en las medidas de pH para el grupo control y las formulaciones con suero. Para elaboración del yogurt, se deseaba alcanzar un pH aproximado de 4.4, que es una de las propiedades del yogurt (Walstra , Wouters, & Geurts, 2006). Se observó que el grupo control fue el que presentó una mayor disminución de pH, incluso menor al pH esperado, con un valor de 4.26 ± 0.02 , mientras que los tratamientos con suero mantuvieron valores de pH cercanos al deseado, para S-LP el pH fue 4.35 ± 0.02 , mientras que S-SP tuvo un valor de 4.42 ± 0.02 . En la tabla 12 se observa que durante la etapa de almacenamiento el grupo control mantuvo la misma tendencia, al presentar el perfil de pH más bajos en comparación a los tratamientos con suero. Según aumentó el tiempo de almacenamiento, los valores de pH fueron menores con respecto al pH inicial del yogurt. Se pudo ver que la disminución en pH concuerda con los resultados obtenidos por Sah, et al, (2016), en el cual se obtuvo una diferencia significativa ($p < 0.05$) durante un periodo de almacenamiento de 28 días a 4°C. Aun así, los valores de pH obtenidos para cada tratamiento con suero no presentaron diferencias significativas. Este comportamiento se debe a que la adición de fibra a una formulación provoca un aumento en los valores de pH de la muestra (Aportela-Palacios, Sosa-Morales, & Vélez-Ruiz, 2005). La muestra S-SP es aquella con el mayor contenido de fibra ya que es el único tratamiento que contiene la fibra *Nutriloid* y la goma *Dairyblend YG FB 3*. Esto causó que obtuviera los valores más altos de pH durante el periodo de almacenamiento en comparación a los demás tratamientos.

Tabla 12. Medidas de pH según el tiempo de almacenamiento por tratamiento

Almacenamiento (días)	Tratamientos		
	Control	S-LP	S-SP
0	$4.26^{bc} \pm 0.02$	$4.35^{ab} \pm 0.02$	$4.42^a \pm 0.02$
15	$4.20^{cd} \pm 0.03$	$4.33^{ab} \pm 0.02$	$4.38^{ab} \pm 0.02$
28	$4.18^{d} \pm 0.02$	$4.31^{ab} \pm 0.02$	$4.34^{ab} \pm 0.02$

Media de 3 determinaciones \pm la desviación estándar. Medias designadas con la misma letra en la misma fila o columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$, Prueba de Tukey).

De acuerdo al análisis estadístico no existe diferencia significativa ($p < 0.05$) para las medidas de pH entre los tratamientos con suero, pero si hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) con respecto al grupo control, tratamiento con leche. Esto se debe a la diferencia en sus formulaciones, ya que el grupo control se elaboró con leche (L) y se le añadió LP siendo este tratamiento, la formulación regular de yogurt comercial. Mientras que los otros tratamientos se elaboraron a base de suero ácido neutralizado, con sólidos añadidos de leche en polvo (S-LP) y suero en polvo (S-SP).

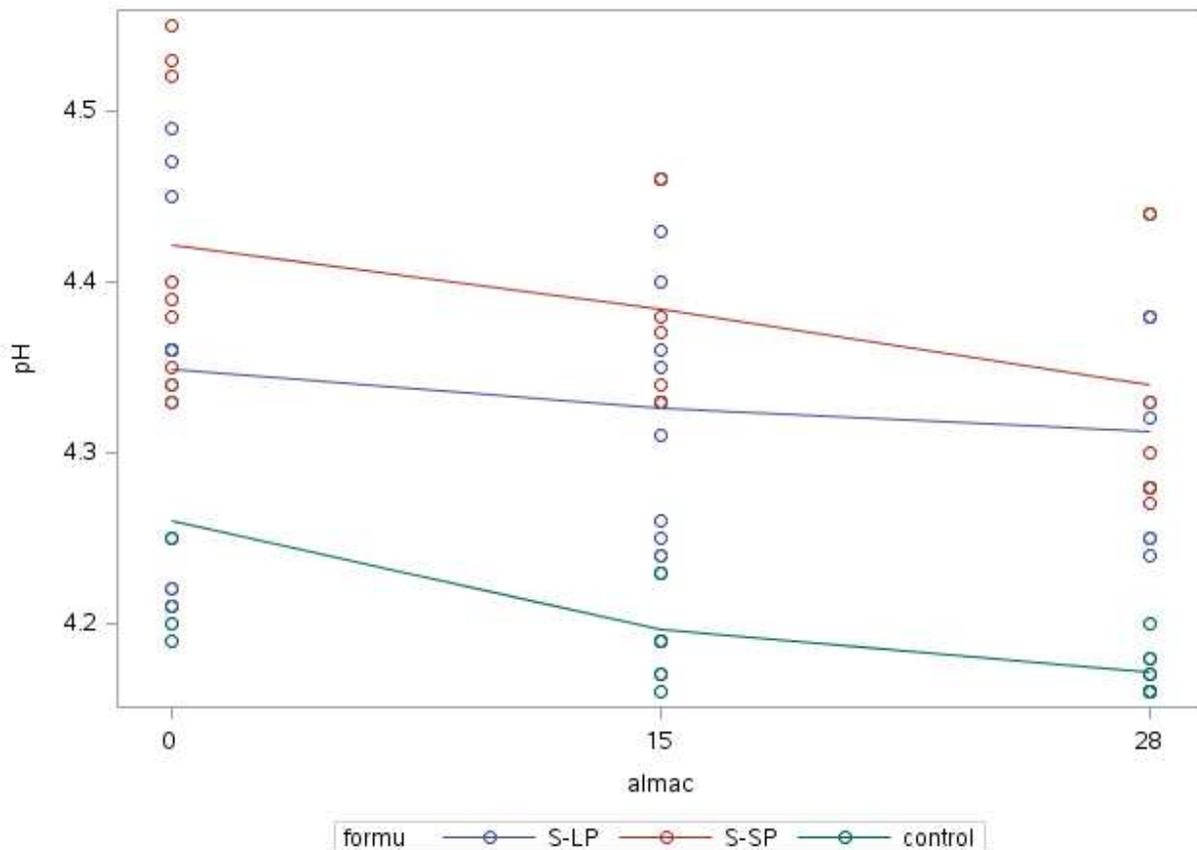


Figura 17. Comportamiento de pH en almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt almacenados a 4°C (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento).

En la figura 17 se puede observar que no hubo interacción entre los tratamientos durante el periodo de almacenamiento en términos de pH, aunque no existieron diferencias significativas entre los tratamientos S-LP y S-SP durante los días 15 y 28 de almacenamiento. No hubo interacción alguna entre el grupo control y los tratamientos con suero durante el periodo de almacenamiento.

4.5.2. Acidez Titulable

Según los resultados obtenidos (tabla 13), se observó que la formulación con menor porcentaje de ácido láctico producido fue S-SP, y aquel con el mayor porcentaje correspondió al grupo control. La razón de cambio entre la producción de ácido láctico y lactosa es inversamente proporcional, ya que los tratamientos S-LP y control fueron aquellos que mostraron disminución en la concentración de lactosa y aumento en concentración de ácido láctico.

La acidez del yogurt debe valorarse entre 0.99 – 1.11% de ácido láctico, en donde el pH debe encontrarse en el rango de 4.3-4.5, ambos parámetros se consideran necesarios para el desarrollo de sabor y textura en un yogurt de buena calidad (Aportela, Sosa, & Vélez, 2005). Los tratamientos de suero y el control mostraron diferencias significativas entre ellos en cada día de almacenamiento evaluado. Pero no mostraron interacción en ninguno de estos puntos.

Tabla 13. Medidas de acidez titulable reportados en base a porcentaje de ácido láctico según el tiempo de almacenamiento.

Almacenamiento (días)	Tratamientos		
	Control	S-LP	S-SP
0	1.21 ^{abc} ± 0.07%	1.16 ^c ± 0.07%	0.87 ^d ± 0.07%
15	1.27 ^{ab} ± 0.07%	1.17 ^{bc} ± 0.07%	0.87 ^d ± 0.07%
28	1.29 ^a ± 0.07%	1.18 ^{bc} ± 0.07%	0.83 ^d ± 0.07%

Media de 3 determinaciones ± la desviación estándar. Medias designadas con la misma letra en la misma fila ó columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$, Prueba de Tukey).

El tratamiento S-SP mantuvo una acidez titulable constante durante los primeros 15 días de almacenamiento y luego se observó una disminución al igual que el pH en el día 28. Mientras que los tratamientos control y S-LP mostraron una tendencia de aumento de acidez a medida que el pH disminuyó durante todo el periodo en el que el producto fue almacenado, aunque el grupo control mostró la mayor disminución entre todos los tratamientos.

Los resultados obtenidos coinciden con los resultados de Aportela, Sosa & Vélez (2005), en donde se observaron porcentajes de ácido láctico de 1.05-1.25%. Los tratamientos M-LP y S-LP mostraron valores dentro de ese rango. Por lo tanto, la adición de fibra causó que los valores de pH y acidez aumentaran. Sin embargo el tratamiento S-SP, mostró valores más bajos 0.83-

0.87%, esta variación se debe a que este tratamiento es el que mayor contenido de suero tiene, además de que es la formulación con mayor concentración de lactosa, 79-82%. En la figura 18 se observa que no hay interacción entre los tratamientos durante el periodo de 28 días.

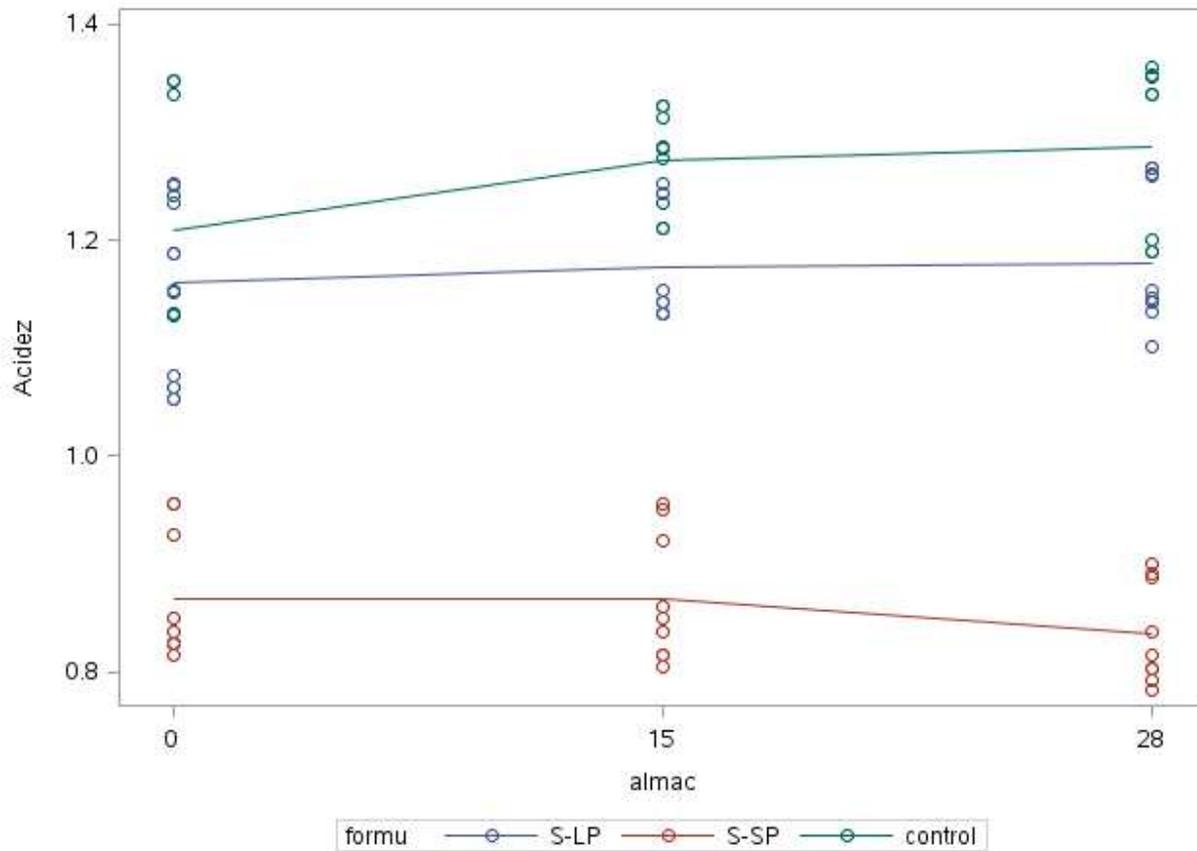


Figura 18. Producción de ácido láctico (%) durante el periodo de almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt a una temperatura de 4°C. (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento).

La producción del yogurt ocurre debido a un proceso de fermentación en el cual la cantidad de lactosa está siendo convertida en ácido láctico. A medida que transcurre el periodo de almacenamiento, se observa como el pH disminuye, a medida que aumenta el contenido de ácido en la muestra. Este comportamiento está relacionado a la presencia de bacterias ácido lácticas y la disponibilidad de lactosa en la leche y en el suero. Ya que las bacterias ácido lácticas utilizan la lactosa como combustible, y producen ácido, esto causa que el medio se haga más ácido y que el pH disminuya.

4.5.3. Viscosidad

La viscosidad es una propiedad importante considerada en la producción de yogurt durante el proceso de fermentación. Este proceso de acidificación causa que la caseína alcance su punto isoeléctrico (4.6) por desnaturalización y produce la formación de una gel entre la caseína y las proteínas del suero (Lee & Lucey, 2010; Matumoto, Rabiey, Robitallie, & Britten, 2011). En este punto, se obtiene un gel con firmeza que es característico del yogurt.

Entre las formulaciones de yogurt evaluadas existen diferencia significativa ($p < 0.05$), donde el grupo control resultó tener medidas de viscosidad diferentes a los valores del tratamiento S-LP y S-SP (Tabla 14). A diferencia de los resultados observados para cada tratamiento, donde no hubo diferencia significativa a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento.

Tabla 14 . Medidas de viscosidad en centipoise (cP) según el tiempo de almacenamiento por tratamiento

Almacenamiento (días)	Tratamientos		
	Control	S-LP	S-SP
0	6047.7 ^b ± 128.5	1481.1 ^d ± 128.5	5182.2 ^c ± 128.5
15	7057.8 ^a ± 128.5	1212.2 ^d ± 128.5	5667.8 ^c ± 128.5
28	7347.8 ^a ± 128.5	1218.9 ^d ± 128.5	5368.9 ^c ± 128.5

Media de 3 determinaciones ± la desviación estándar. Medias designadas con la misma letra en la misma fila ó columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$, Prueba de Tukey).

En la figura 19 se observa como cada tratamiento, presentó un comportamiento constante durante cada medida realizada entre los días 0, 15 y 28. Se observó que el tratamiento con el valor más alto durante todos los días de muestreo fue el grupo control, mientras que entre los tratamientos con suero, aquel con mayor viscosidad fue S-SP. Esto se debe a que esta formulación contiene un estabilizador, que evita la separación del suero con respecto al gel, y provee mayor firmeza al producto. La formulación S-LP, fue el tratamiento con menor firmeza y estabilidad del gel. En general, si se observó la interacción entre el suero y el coagulo, pero bajo agitación durante un minuto, la gel se debilitó y el yogurt presentó una consistencia más líquida de la acostumbrada en un yogurt. La viscosidad característica del yogurt se encuentra dentro de los valores de 4,000 a 4,500 cP para yogurt “set style” (Fetahagić, et al, 2004), mientras que para

un yogurt “stirred-style” el valor aproximado es de 400 cP (Walstra , Wouters, & Geurts, 2006). Ninguno de los valores obtenidos para cada tratamiento coincidió con los resultados obtenidos por Fetahagić (2004).

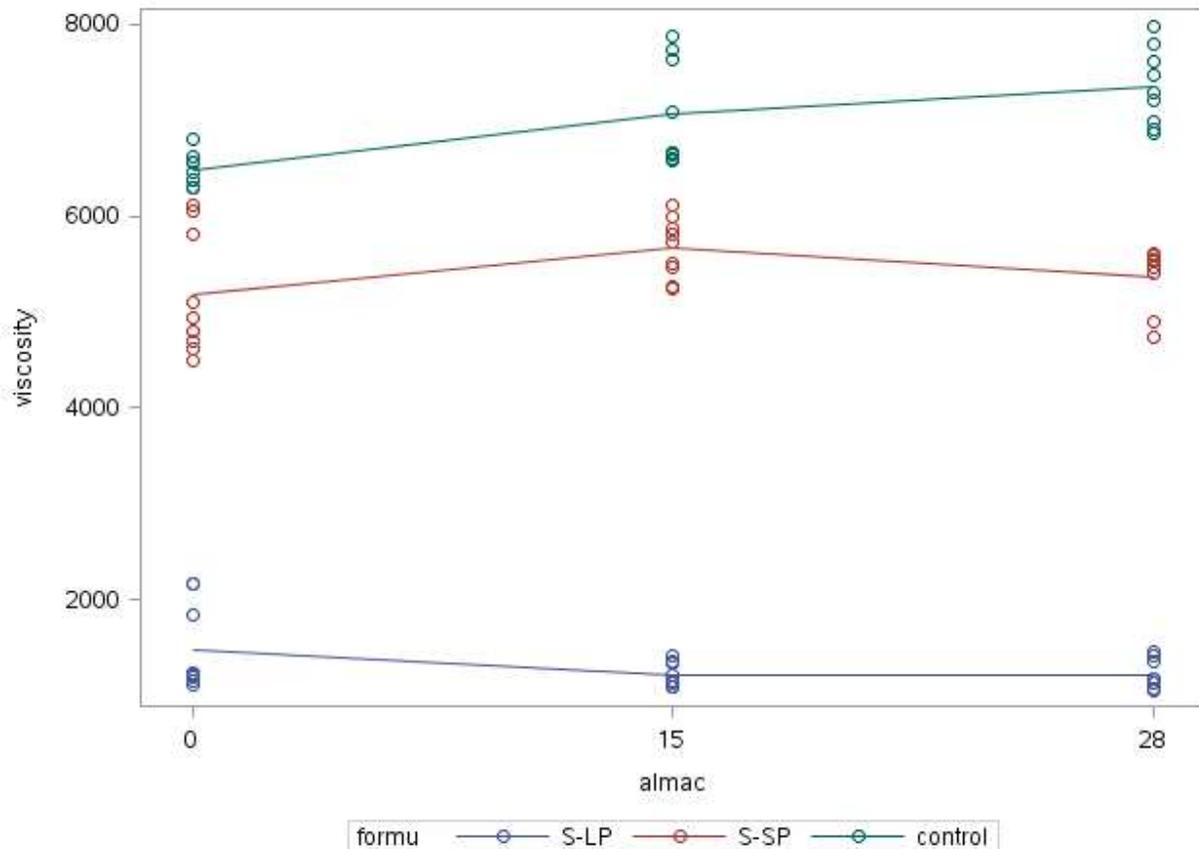


Figura 19. Comportamiento de la viscosidad (cP). en almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt almacenados a 4°C. (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento).

4.5.4. Capacidad de Retención de agua y Sinéresis

El enlace de las moléculas de agua es relevante en la evaluación sensorial, textura, y estabilidad de los alimentos (Hinrichs, Gotz, & Weisser, 2003). La capacidad de retención de agua de un alimento depende de su composición, además es una característica con la cual se determina la estabilidad de un gel, como lo es el yogurt. Además, permite determinar la sinéresis que puede presentar un alimento, ya que la relación entre WHC y sinéresis es una relación inversamente proporcional. La sinéresis es un defecto visible, que aparece como la acumulación

de líquido en la superficie de un alimento o producto. A mayor capacidad de retener el agua, menor será la sinéresis del alimento. La Tabla 15 muestra los resultados de porcentaje de capacidad de retención de agua (WHC) obtenidos para cada tratamiento.

Se observa que existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos, donde el tratamiento S-LP resultó tener la mayor sinéresis, lo cual fue un comportamiento constante a lo largo del periodo de almacenamiento. En comparación al tratamiento S-SP, que obtuvo unos valores cercanos a los observados por el grupo control. El tratamiento con los valores más alto fue el grupo control, y entre los tratamientos con suero, las muestras de S-SP. Se observó la misma tendencia tanto en el día inicial de almacenaje, como al final del periodo.

Tabla 15. Medidas de porcentaje de capacidad de retención de agua según el tiempo de almacenamiento por tratamiento

Tratamiento	Almacenamiento (Días)	WHC (%)	Sinéresis* (%)
control	0	97.59 ^a ± 0.85	2.41 ^c ± 0.84
	15	98.68 ^a ± 0.85	1.31 ^c ± 0.84
	28	98.23 ^a ± 0.85	1.77 ^c ± 0.84
S-LP	0	92.85 ^{bc} ± 0.85	7.15 ^c ± 0.84
	15	91.48 ^c ± 0.85	8.62 ^c ± 0.84
	28	91.59 ^{bc} ± 0.85	8.41 ^c ± 0.84
S-SP	0	95.40 ^{ab} ± 0.85	4.59 ^c ± 0.84
	15	95.40 ^{ab} ± 0.85	2.70 ^c ± 0.84
	28	96.79 ^a ± 0.85	3.21 ^c ± 0.84

Media de 3 determinaciones ± la desviación estándar. Medias designadas con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$, Prueba de Tukey). *Valores de sinéresis se determinan por diferencia: $100 - \%WHC$

En la figura 20 se observa que no hubo interacción entre los diferentes tratamientos. El tratamiento con el menor porcentaje de WHC observado, 91-93%, corresponde al S-LP. Mientras que el tratamiento con el mayor valor obtenido, 97-99%, es el grupo control. Según sus formulaciones, el grupo control es aquel que contiene caseínas, siendo éstas las proteínas responsables de la formación de la gel compuesta de micelas que se forman entre caseínas y proteínas de suero. Estas micelas es lo que provee la consistencia característica del yogurt. Aunque entre los tratamientos de suero, el S-LP es aquel que contiene mayor cantidad de caseínas, el tratamiento S-SP mostró valores de viscosidad mayores debido a que contiene un

agente estabilizante. Esta agente permite que el yogurt tenga un gel más fuerte y estable, lo que tiene como efecto que atrapa el agua presente y disminuye la sinéresis del yogurt (Aportela, Sosa, & Vélez, 2005). El tratamiento S-LP, presentó el mayor porcentaje de sinéresis, resultado que coincide con los valores obtenidos de viscosidad. Al formar un gel menos viscoso e inestable, esta tiene a atrapar menos agua y como consecuencia liberar más suero.

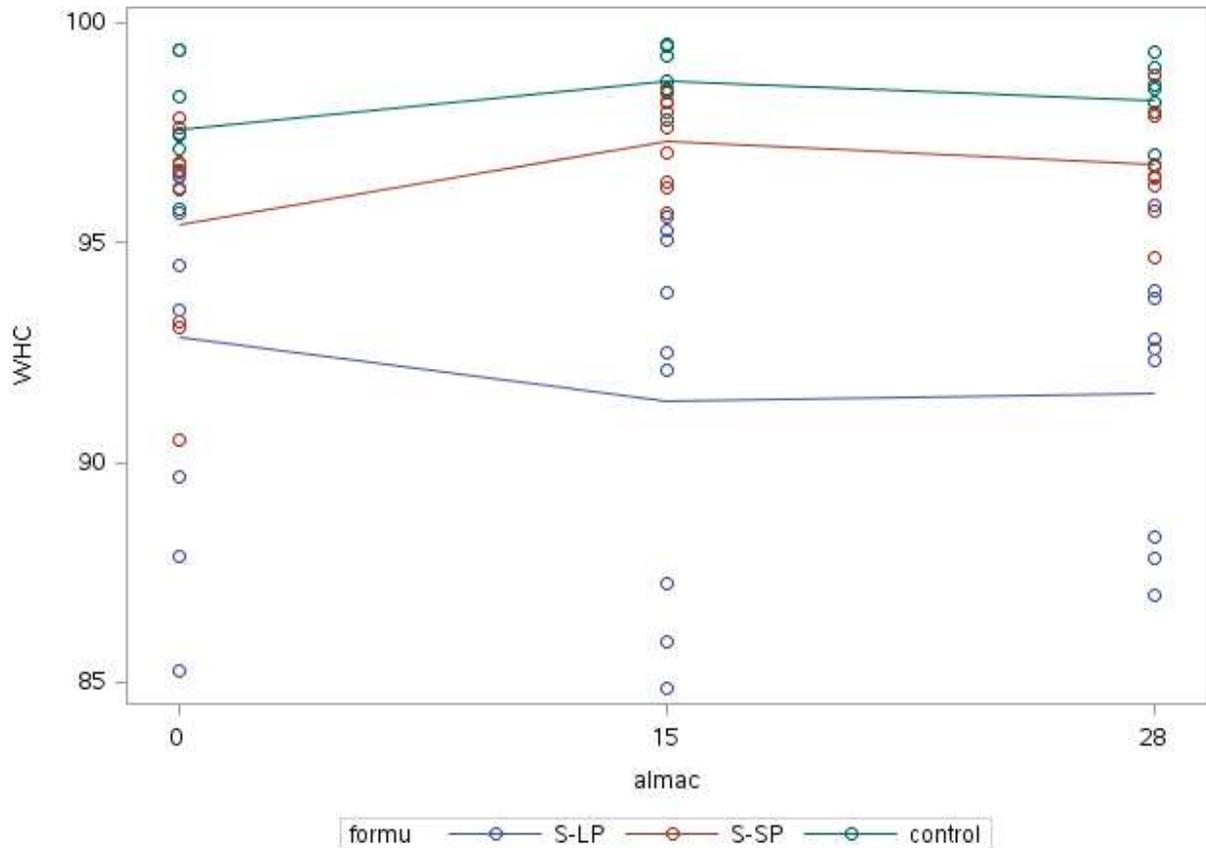


Figura 20. Comportamiento de capacidad de retención de agua (WHC) en almacenamiento, para los tres tratamientos de yogurt almacenados a 4°C. (Interacción de factores: formulación vs almacenamiento).

La sinéresis puede afectar la aceptación de un producto por parte del consumidor. Sah, et al (2016) reportó en su estudio valores de sinéresis de 1-3% en un periodo de 28 días, valores cercanos fueron obtenidos por el grupo control, 1-3%, y el tratamiento de S-SP con un rango de 2-5%. Mientras que el tratamiento S-LP mostró valores entre 7-9%.

4.6. ANÁLISIS SENSORIAL DE PRODUCTO FINAL

4.6.1. Prueba de Aceptabilidad del producto final

La aceptabilidad de las formulaciones de yogurt de suero se evaluó con una escala hedónica de 9 puntos. Se evaluó la muestra fresca entre el día 0 y 1, en términos de sabor y textura individualmente. En la figura 21 se observan los valores otorgados a cada formulación. Para el atributo de sabor. En esta figura se puede observar que los tratamientos S-LP y S-SP obtuvieron una puntuación de 5.35 y 5.66 respectivamente. Para el atributo de textura se obtuvo valores de 6.18 y 5.65 correspondientes a los tratamientos S-SP y S-LP respectivamente.

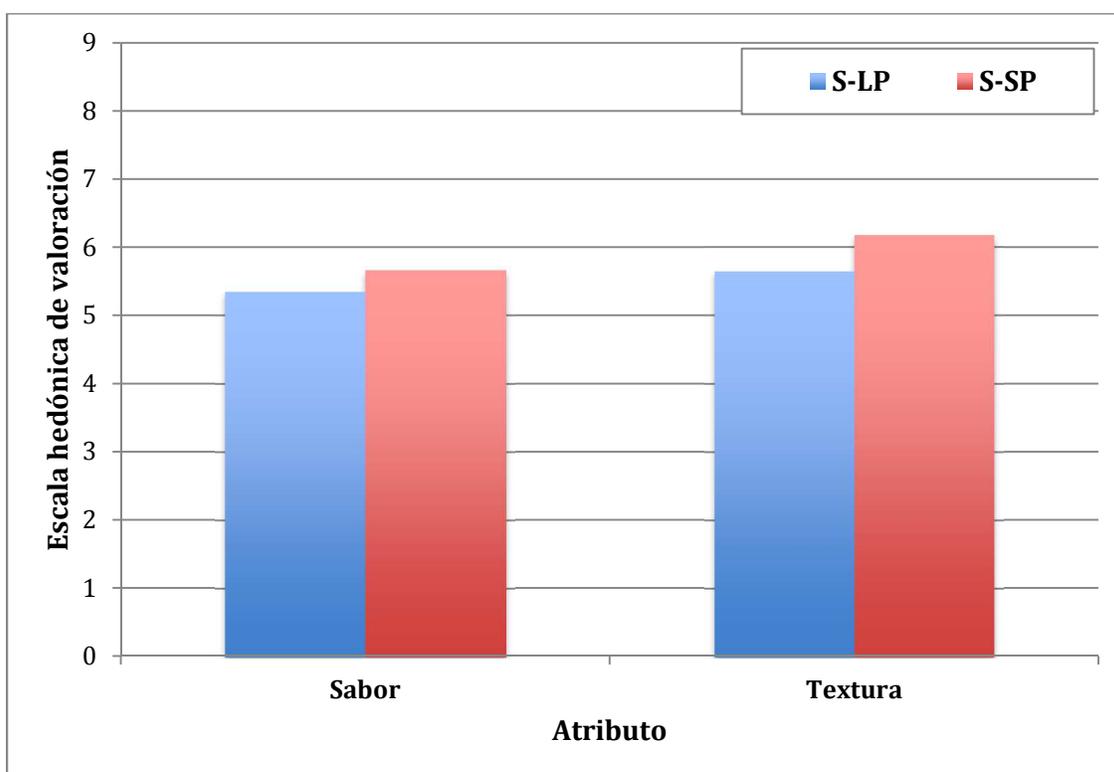


Figura 21. Aceptabilidad de formulaciones desarrolladas de yogurt a base de suero lácteo en término de los atributos: sabor y textura.

La evaluación de ambos atributos resultó en mayores puntuaciones para el tratamiento S-SP con respecto a S-LP, siendo éste el más aceptado por el público participante. La formulación S-LP según su puntuación para el atributo de sabor obtuvo una respuesta de “ni me gusta, ni me disgusta”, mientras que para el atributo de textura, su respuesta fue agrado ligero. Para la formulación S-SP, la respuesta para los atributos de sabor y textura fue agrado ligero.

De acuerdo a los estándares del yogurt, el tratamiento S-LP cumplió con la apariencia y sabor, pero su consistencia fue más líquida de lo esperado, mientras que el tratamiento S-SP, a pesar de no tener el color blanco característico del yogurt, si poseía una consistencia y sabor característico del yogurt. Se esperaba que el tratamiento con mayor aceptabilidad fuese S-LP, pero el análisis ofreció en sus resultados que la formulación de mayor agrado lo fue S-SP. Siendo la consistencia el factor determinante para esta prueba.

Se entiende que la aceptabilidad está relacionada a la expectativa del panelista. Ya que entre sus comentarios se obtuvo que de mejorar la consistencia, su agrado hubiese sido mayor. El puntaje del producto se acercará a 9 si el mismo es ofrecido como yogurt líquido.

5. CONCLUSIONES

En esta investigación se desarrollaron dos formulaciones de yogurt a base de suero ácido (97%) con fibra añadida. Para los sólidos añadidos se utilizó leche descremada en polvo y suero en polvo (8%). Ambas formulaciones se compararon con un grupo control elaborado a base de leche.

Para poder desarrollar las formulaciones con suero líquido se realizó una caracterización química por medio de un análisis proximal en donde se obtuvo que el suero contenía 0.14% de grasa, 0.0031% de proteínas, 6.82% de carbohidratos (lactosa), y 6.97% de sólidos totales. Fue necesario neutralizar el suero ácido a un pH entre 6.5-6.7 (pH de la leche) para crear condiciones similares al grupo control al iniciar el proceso de fermentación. Se establecieron que los parámetros óptimos para el proceso de fermentación fueron 10-12 horas a 38°C.

La composición química del yogurt a base de suero mostró valores cercanos a los valores del control. Se alcanzó el porcentaje de sólidos totales deseado (14.7 a 18.2 %). Las formulaciones elaboradas resultaron como yogurt bajos en grasa con valores dentro del rango de 0.30 – 0.32%. El contenido de proteína resultó entre 1-4% y el contenido de cenizas se encontró aproximadamente en un 1.3%.

Se determinó el largo de vida útil y se evaluó la calidad del proceso durante el periodo de almacenamiento, tomando muestras en los días 1, 15 y 28, por medio de análisis microbiológicos. Se observó que la carga de bacterias ácido lácticas en el día 28 fue de 1.42×10^9 para el tratamiento S-LP y 2.62×10^9 para el tratamiento S-SP, presentando una disminución en el conteo de microorganismos con respecto al control. Durante el tiempo de almacenamiento no se observaron coliformes. Se observaron recuentos de <15 hongos y levaduras durante todo el almacenamiento.

Se evaluó el efecto del uso de suero y fibra en las siguientes propiedades físico-químicas: viscosidad, capacidad de retención de agua, acidez y pH. Se observó que a mayor contenido de

fibra, mayor la viscosidad y capacidad de retener agua del producto. Además, de que aumentó los valores de pH y causó una prolongación en el proceso de fermentación.

El uso de suero en polvo en la producción de yogurt fue responsable del aumento en la concentración de lactosa y de recuentos de bacterias ácido lácticas más altos durante todo el periodo de almacenamiento. La adición de un agente gelificante, causó disminución en la conversión de lactosa a ácido láctico, y aumentó los porcentos de sólidos totales y fibra mayores. Durante un periodo de almacenamiento de 28 días a temperatura de refrigeración (4°C), el producto fue estable con respecto a cambios en acidez.

Por lo tanto, el uso de suero y fibra añadido mejoran los atributos de consistencia y sabor del yogurt. Y contribuye a un gel firme, con un pH aproximado a 4.40 y la menor cantidad de sinéresis. Estas propiedades permiten que el producto tenga una buena aceptación ante el consumidor, si el mismo es mercadeado como un producto líquido.

Por lo tanto, el uso de suero y fibra añadido mejoran los atributos de consistencia y sabor del yogurt. Y contribuye a un gel firme, con un pH aproximado a 4.40 y la menor cantidad de sinéresis. Estas propiedades permiten que el producto tenga una buena aceptación ante el consumidor. Además, de que el yogurt elaborado a base de suero (sin caseínas) representa una opción viable dirigida a un nicho de mercado de personas alérgicas a la caseína. Lo cuál tendría un impacto positivo, dado que atendería una necesidad para la cual no hay una oferta amplia en el mercado.

6. RECOMENDACIONES

Para proyectos y/o estudios futuros se recomienda:

Utilizar concentrados de proteínas de suero como sólido añadido en distintas concentraciones, y evaluar su efecto en las propiedades físico-químicas de yogurt: pH, viscosidad, sinéresis y producción de ácido durante el periodo de almacenamiento.

Evaluar cambios en sinéresis y producción de ácido láctico durante un proceso de fermentación a 20 °C.

Estudiar el efecto de la estabilidad del producto y firmeza de la gel al aumentar el porcentaje de sólidos añadidos.

Modificar la formulación del yogurt de suero para preparar un yogurt líquido saborizado, y evaluar la aceptabilidad de producto en el mercado.

Utilizar el yogurt de suero como base para un yogurt congelado y estudiar como el contenido de suero afecta el punto de congelación.

Realizar un estudio de largo de vida útil en el producto con sólidos de suero hasta alcanzar la fase letal de las bacterias ácido lácticas; y evaluar por medio de un análisis sensorial si se perciben cambios en el sabor ácido del producto.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aktas, N., Hakkı , B., Mutlu, M., & Tanyolac, A. (2006). Optimization of lactose utilization in deproteinated whey by *kluuveromyces marxianus* using response surface methodology (RSM). *Bioresource Technology* , 97, 2252–2259.
- Anderson, J. W., Baird, P., Davis Jr, R. H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Et Al. (2009). Health benefits by dietary fiber. *Nutrition Reviews* , 67 (4), 188-205.
- Aportela-Palacios, A., Sosa-Morales, M., & Vélez-Ruiz, J. (2005). Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. *Journal of Texture Studies*, 36, 333-349.
- Benitez, C., Pece, M., & Galindez, M. (2010). *Análisis de la variancia en experimentos factoriales*. Santiago De Estero: Facultad De Ciencias Forestales.
- Cueva, , O., & Aryana, K. (2006). Quality attributes of a heart healthy yogurt. *LWT- Food Science and Technology* , 41, 537–544.
- De Brabandere, A. G., & De Baerdemaeker, J. G. (1999). Effects of process conditions on the ph development during yogurt fermentation. *Journal of Food Engineering* , 41, 221-227.
- ERS/USDA. (1 De Febrero De 2013). *United States Department Od Agriculture, Economic Research Service*. Retrieved 13 De September De 2013 from [http://Www.Ers.Usga.Gov/Data-Products/Food-Availability-\(Per-Capita\)-Data-System/Food-Availability-Documentation.aspx](http://Www.Ers.Usga.Gov/Data-Products/Food-Availability-(Per-Capita)-Data-System/Food-Availability-Documentation.aspx)
- Euston, S. R., Finnigan, S. R., & Hirst , R. L. (2002). Kinetics of droplets aggregation in heated whey protein-stabilized emulsions: Effect of polysaccharides. *Food Hydrocolloids* , 16, 499-505.
- Fetahagić, S., Denin-Djurdjević, J., Jovanović , S., & Maćej, O. (2004). Influence of selected factors on the viscosity of set style yogurt and acid casein gel at constant speed of spindle rotation. *Journal of Agricultural Sciences* , 49 (2), 233-250.
- Fox, P. F., & Mcsweeney, P. L. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. London: Blackie Academic & Professional.
- Gebhardt, S. E., & Thomas, R. G. (2002). *Nutritive Value Of Foods*. U.S. Department Of Agriculture, Agricultural Research Service. Beltsville, Maryland: Home And Garden Bulletin 72.
- Giménez , A., Ares, F., & Ares, G. (2010). Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food Research International* , 49, 311–325.
- Glibowski, P. (2009). *Rheological properties ans structure of inulin-whey protein gels* (Vol. 19). Poland: International Dairy Journal.

- Gonzalez-Martinez, C., Becerra, M., Chafer, M., Albors, A., Carot, J., & Chiralt, A. (2002). Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Science & Technology*, *13*, 334-340.
- Guzmán-González, M., Morais, F., Ramos, M., & Amigo, L. (1999). Influence of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low fat set-type yoghurt model system. I: Use of whey protein concentrates, milk protein concentrates and skimmed milk powder. *Journal of The Science Of Food And Agriculture*.
- Ha, E., & Zemel, M. (2003). Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: Mechanisms underlying health benefits for active people (Review) (Vol. 14). Idaho: *Journal of Nutritional Biochemistry*.
- Haque, A., Richardson, R., & Morris, E. (2001). Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. *Food Hydrocolloids*, *15*, 593-602.
- Harcar, T., & Karakaya, F. (2005). A cross-cultural exploration of attitudes toward product expiration dates. *Psychology & Marketing*, *22*, 353-371.
- Hinrichs, R., Gotz, J., & Weisser, H. (2003). Water-holding capacity and structure of hydrocolloid-gels, wpc-gels and yogurts characterised by means of NMR. *Food Chemistry*, *82*, 155-160.
- Hoppert, K., Zahn, S., Jänecke, L., Mai, R., Hoffman, S., & Rohm, H. (2013). Consumer acceptance of regular and reduced-sugar yogurt enriched with different types of dietary fiber. *International Dairy Journal* (28), 1-7.
- Jay, J., Loessner, M., & Golden, D. (2005). *Modern Food Microbiology* (7th Ed.). Springer.
- Keogh, M., & O'Kennedy, B. (1998). Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science*, *63* (1), 108-112.
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (1998). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. NY: Chapman & Hall.
- Lee, W. L. (2010). Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *23* (9), 1127-1136.
- Liang, M., Chen, V. Y., Chen, H.-L., & Chen, W. (2006). A Simple and direct isolation of whey components from raw milk by gel filtration chromatography and structural characterization by fourier transform raman spectroscopy. *Talanta*, *69*, 1269-1277.
- Mandal, S., Puniya, M., Sangu, K., Singh Dagar, S., Singh, R., & Puniya, A. (2013). Dairy by-products: wastes or resources? the shifting perception after valorization. In M. Chandrasekaran (Ed.), *Valorization of Food Processing By-Products* (Pp. 617-640). CRC Press.

- Mao, R., Tang, J., & Swanson, B. (2001). Water-holding capacity and microstructure of gellan gels. *Carbohydrate Polymers* , 46, 365-371.
- Marafon, A. P., Sumi, A., Alcantara, M. R., Tamime, A. Y., & Nogueira De Oliviera, M. (2011). Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. *LWT- Food Science and Technology* , 44, 511-519.
- Matumoto-Pintro, P., Rabiey, L., Robitallie, G., & Britten, M. (2011). Use of modified whey protein in yoghurt formulations. *International Dairy Journal* , 21 (1), 21-26.
- Mcgee, H. (2004). *On Food And Cooking: The Science And Lore Of The Kitchen*. New York: Scribner.
- Meilgaard, M., Carr, B., & Vance Civille, G. (2006). *Sensory Evaluation Techniques, Fourth Edition*. Michigan: CRC Press.
- Messia, M. C., Candigliota, T., & Marconi, E. (2007). Assessment of quality and technological characterization of lactose-hydrolyzed milk. *Food Chemistry* , 104, 910–917.
- Nielsen, S. S. (2010). *Food Analysis Fourth Edition*. West Lafayette, IN, USA: Springer.
- Ozcan , T., Horne, D., & Lucey, J. (2015). Yogurt made from milk heated at different ph values (Vol. 98). Wisconsin: *Journal of Dairy Science*.
- Panaras, G., Moatsu, G., Yanniotis, S., & Mandala, I. (2011). The influence of functional properties of different whey protein concentrates on the rheological and emulsification capacity of blends with xanthan gum. *Carbohydrates Polymers* , 86, 433-440.
- Peryam, D. R. (1950). Problem of preference gets qm focus. *Food Industries* , 1-10.
- Prazeres, A., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of Enviromental Management* , 110, 48-68.
- Ramos, Oscar L; Pereira, Joana O; Silva, Sara I; Amorim, Maria M; Fernandes, Joao C; Lopes-Da-Silva, Jose A; Pintado, Manuela E; Malcata, F. Xavier. (2012). Effect of composition of commercial whey protein preparations upon gelation at various ph values. *Food Research International* , 48, 681-689.
- Remeuf, F., Mohammed, I., Sodini, I., & Tissier, J. (2003). Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *International Dairy Journal* , 13, 773-782.
- Rodriguez, V. A., Cravero, B. F., & Alonso, A. (2008). Proceso de elaboración de yogur deslactosado de leche de cabra. *Ciencia y Tecnologia De Alimentos* , 28, 109-115 .
- Sørhaug, T. (2011). *Spoilage Molds In Dairy Products* (Vol. 3). Norway: Elsevier.

Sah, B., Donkor, O., Mckechnie, S., & Vasiljevic A, T. (2016). Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology* , 65, 978-986.

Snyder, A., Churey, & Worobo, R. (2016). *Characterization and Control of Mucor Circinelloides Spoilage In Yogurt*. 228, 14-21.

Sodini, I., Mattas, J., & Tong, P. S. (2006). Influence of ph and heat treatment of whey on the functional properties of whey protein concentrates in yoghurt. *International Dairy Journal* , 16, 1464-1469.

Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S., & Corrieu, G. (2004). *The Relative Effect of Milk Base, Starter, and Process o`n Yogurt Texture: A Review* (Vol. 44). Critical Reviews In Food Science And Nutrition.

Stone, H., Bleibaum, R., & Thomas, H. (2012). *Sensory Evaluation Practices* (4th Ed.). UK: Elsevier.

USDA. (2001). *USDA Specifications For Yogurt, Nonfat Yogurt And Lowfat Yogurt*. United States Department Of Agriculture, Agricultural Marketing Service. AMS-USDA.

Walstra , P., Wouters, J., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science And Technology* (2nd Ed.). Boca Raton, FL: Taylor & Francis/CRC Press.

Wang, H., Livingston, K., Fox, C., Meigs, J., & Jacques, P. (2013). Yogurt consumption is associated with better diet quality and metabolic profile in american men and women. *Nutrition Research* , 33, 18-26.

Wehr, H., & Frank, J. (2004). *Standards Methods For Thr Examination Of Dairy Products* (17th Ed.). Washington, DC: APHA.

9. ANEJOS

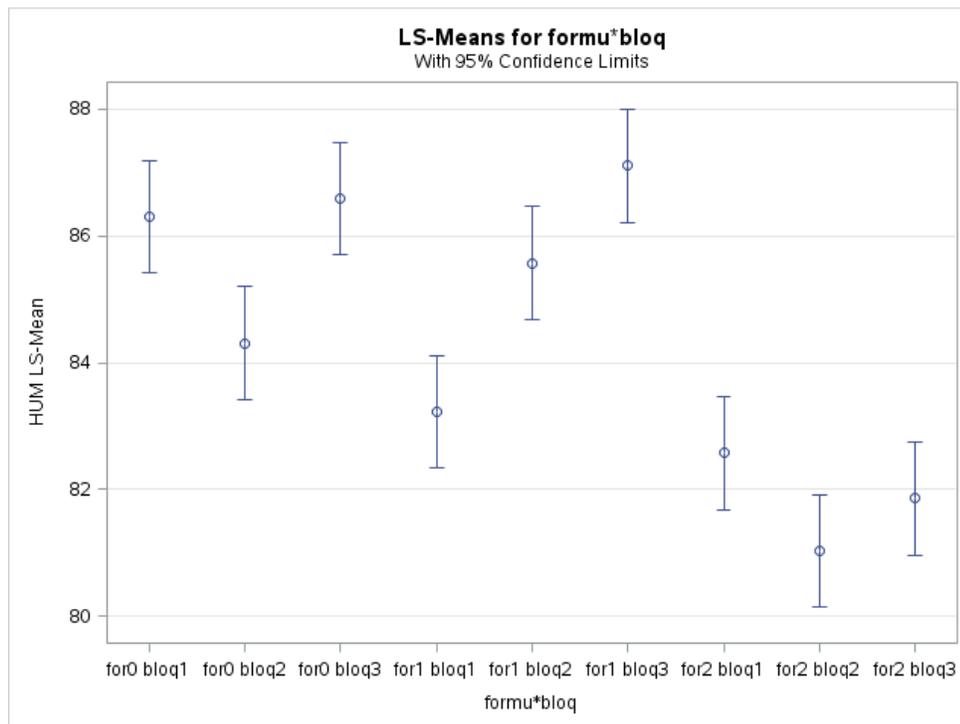
9.1. Análisis estadístico

9.1.1. Caracterización de Producto Final

9.1.2. Humedad

Class Level Information		
Class	Levels	Values
formu	3	for0 for1 for2
bloq	3	bloq1 bloq2 bloq3

formu*bloq Least Squares Means									
formu	bloq	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
for0	bloq1	85.7275	0.4334	18	197.80	<.0001	0.05	84.8169	86.6381
for0	bloq2	84.4600	0.6129	18	137.80	<.0001	0.05	83.1723	85.7477
for0	bloq3	86.5900	0.5005	18	173.02	<.0001	0.05	85.5386	87.6414
for1	bloq1	83.2233	0.5005	18	166.29	<.0001	0.05	82.1719	84.2748
for1	bloq2	85.5667	0.5005	18	170.98	<.0001	0.05	84.5152	86.6181
for1	bloq3	87.1067	0.5005	18	174.05	<.0001	0.05	86.0552	88.1581
for2	bloq1	82.5733	0.5005	18	165.00	<.0001	0.05	81.5219	83.6248
for2	bloq2	81.0267	0.5005	18	161.90	<.0001	0.05	79.9752	82.0781
for2	bloq3	81.8600	0.5005	18	163.57	<.0001	0.05	80.8086	82.9114



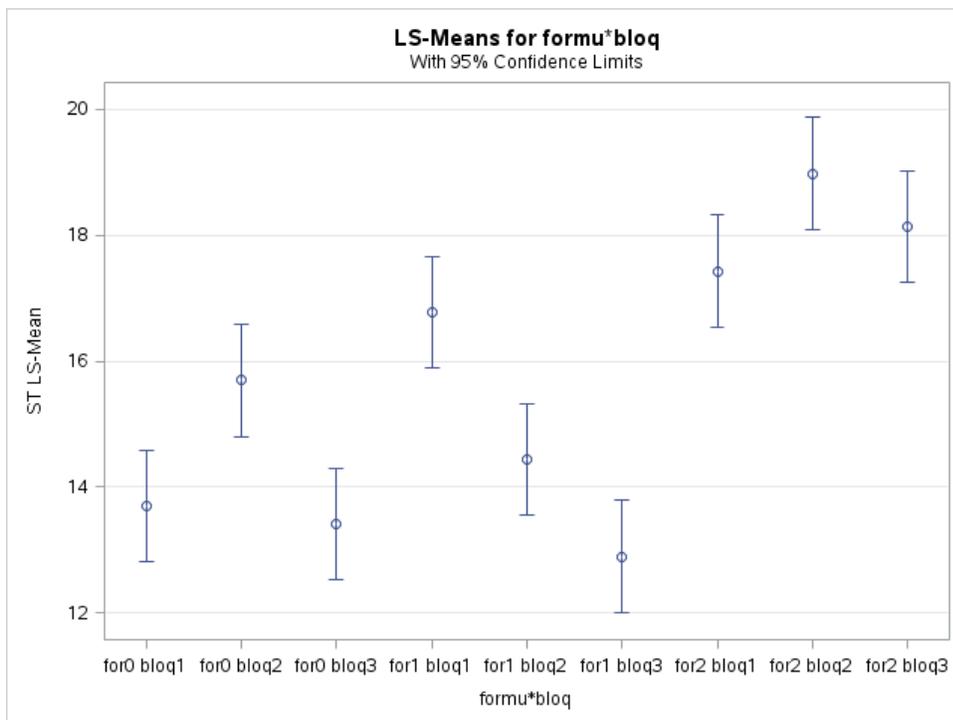
Tukey-Kramer Grouping for formu*bloq Least Squares Means (Alpha=0.05)

LS-means with the same letter are not significantly different.					
formu	bloq	Estimate			
for1	bloq3	87.1067		A	
				A	
for0	bloq3	86.5900		A	
				A	
for0	bloq1	85.7275		A	
				A	
for1	bloq2	85.5667	B	A	
			B	A	
for0	bloq2	84.4600	B	A	C
			B		C
for1	bloq1	83.2233	B	D	C
				D	C
for2	bloq1	82.5733		D	C
				D	C
for2	bloq3	81.8600		D	C
				D	
for2	bloq2	81.0267		D	

9.1.3. Sólidos totales

Class Level Information		
Class	Levels	Values
formu	3	for0 for1 for2
bloq	3	bloq1 bloq2 bloq3

formu*bloq Least Squares Means									
formu	bloq	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
for0	bloq1	13.6974	0.4243	18	32.28	<.0001	0.05	12.8060	14.5889
for0	bloq2	15.6907	0.4243	18	36.98	<.0001	0.05	14.7992	16.5821
for0	bloq3	13.4092	0.4243	18	31.60	<.0001	0.05	12.5178	14.3007
for1	bloq1	16.7770	0.4243	18	39.54	<.0001	0.05	15.8855	17.6685
for1	bloq2	14.4358	0.4243	18	34.02	<.0001	0.05	13.5443	15.3273
for1	bloq3	12.8940	0.4243	18	30.39	<.0001	0.05	12.0025	13.7854
for2	bloq1	17.4256	0.4243	18	41.07	<.0001	0.05	16.5342	18.3171
for2	bloq2	18.9749	0.4243	18	44.72	<.0001	0.05	18.0834	19.8664
for2	bloq3	18.1385	0.4243	18	42.75	<.0001	0.05	17.2470	19.0299



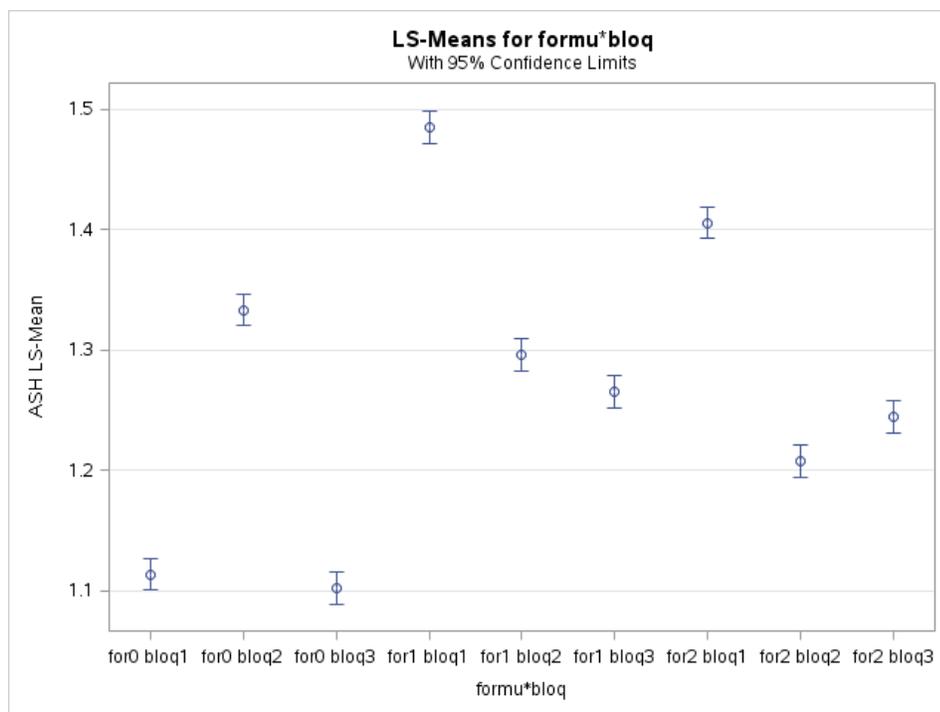
Tukey Grouping for formu*bloq Least Squares Means (Alpha=0.05)					
LS-means with the same letter are not significantly different.					
formu	bloq	Estimate			
for2	bloq2	18.9749		A	
				A	
for2	bloq3	18.1385	B	A	
			B	A	
for2	bloq1	17.4256	B	A	C
			B		C
for1	bloq1	16.7770	B		C
					C
for0	bloq2	15.6907		D	C
				D	
for1	bloq2	14.4358	E	D	
			E	D	
for0	bloq1	13.6974	E	D	
			E		
for0	bloq3	13.4092	E		
			E		
for1	bloq3	12.8940	E		

9.1.4. Cenizas

Class Level Information		
Class	Levels	Values
formu	3	for0 for1 for2
bloq	3	bloq1 bloq2 bloq3

formu*bloq Least Squares Means									
formu	bloq	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
for0	bloq1	1.1137	0.006395	18	174.15	<.0001	0.05	1.1002	1.1271
for0	bloq2	1.1335	0.006395	18	177.24	<.0001	0.05	1.1200	1.1469
for0	bloq3	1.1018	0.006395	18	172.29	<.0001	0.05	1.0884	1.1152
for1	bloq1	1.2850	0.006395	18	200.94	<.0001	0.05	1.2716	1.2985
for1	bloq2	1.2957	0.006395	18	202.62	<.0001	0.05	1.2823	1.3092
for1	bloq3	1.2649	0.006395	18	197.79	<.0001	0.05	1.2514	1.2783
for2	bloq1	1.2060	0.006395	18	188.58	<.0001	0.05	1.1925	1.2194
for2	bloq2	1.2078	0.006395	18	188.86	<.0001	0.05	1.1943	1.2212

formu*bloq Least Squares Means									
formu	bloq	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
for2	bloq3	1.2448	0.006395	18	194.66	<.0001	0.05	1.2314	1.2583



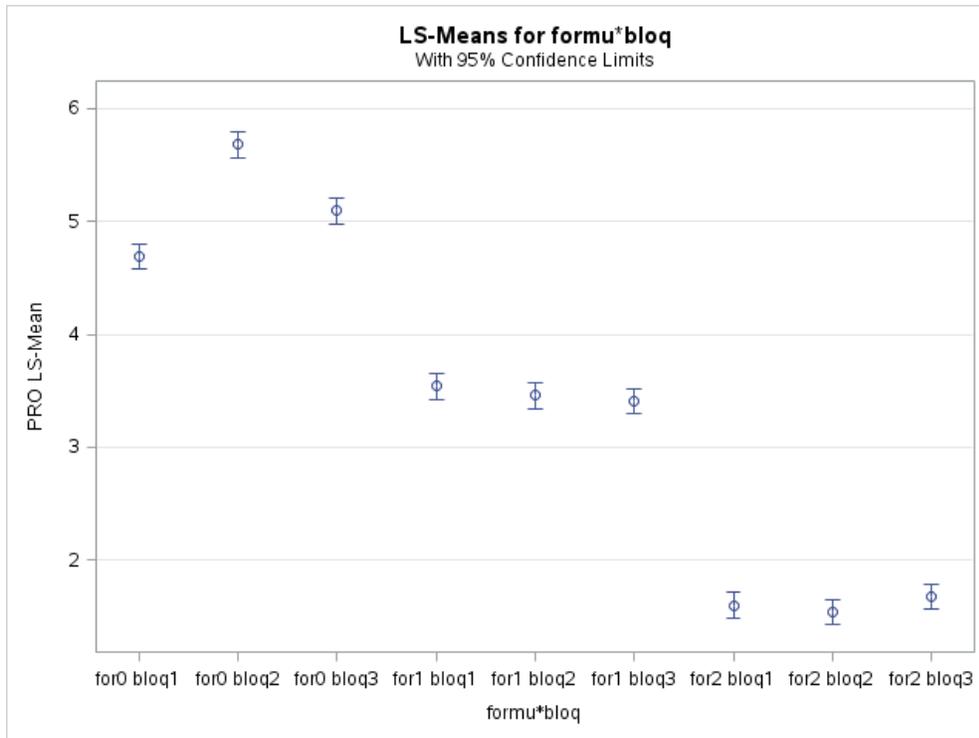
Tukey Grouping for formu*bloq Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
formu	bloq	Estimate		
for1	bloq2	1.2957		A
				A
for1	bloq1	1.2850		A
				A
for1	bloq3	1.2649	B	A
			B	
for2	bloq3	1.2448	B	
for2	bloq2	1.2078		C
				C
for2	bloq1	1.2060		C
for0	bloq2	1.1335		D
				D
for0	bloq1	1.1137		D

Tukey Grouping for formu*bloq Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
formu	bloq	Estimate		
				D
for0	bloq3	1.1018		D

9.1.5. Proteínas

Class Level Information		
Class	Levels	Values
formu	3	for0 for1 for2
bloq	3	bloq1 bloq2 bloq3

formu*bloq Least Squares Means									
formu	bloq	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
for0	bloq1	4.6868	0.05364	18	87.37	<.0001	0.05	4.5741	4.7995
for0	bloq2	5.6801	0.05364	18	105.89	<.0001	0.05	5.5674	5.7928
for0	bloq3	5.0932	0.05364	18	94.95	<.0001	0.05	4.9805	5.2059
for1	bloq1	3.5399	0.05364	18	65.99	<.0001	0.05	3.4272	3.6526
for1	bloq2	3.4592	0.05364	18	64.49	<.0001	0.05	3.3465	3.5719
for1	bloq3	3.4090	0.05364	18	63.55	<.0001	0.05	3.2963	3.5217
for2	bloq1	1.5994	0.05364	18	29.82	<.0001	0.05	1.4867	1.7121
for2	bloq2	1.5429	0.05364	18	28.76	<.0001	0.05	1.4302	1.6556
for2	bloq3	1.6789	0.05364	18	31.30	<.0001	0.05	1.5662	1.7916



Tukey Grouping for formu*bloq Least Squares Means (Alpha=0.05)

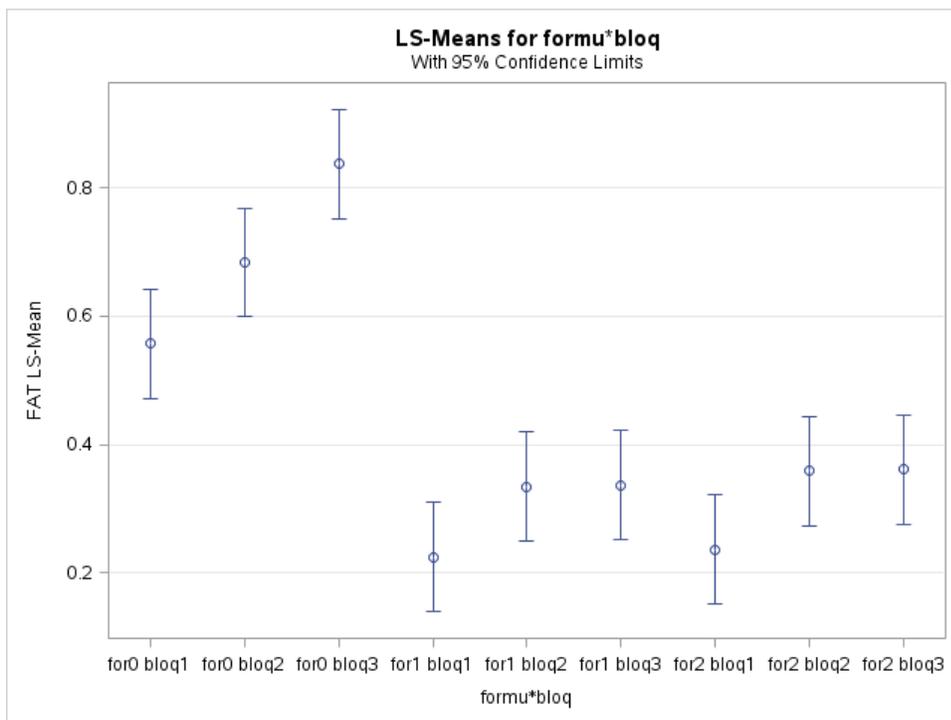
LS-means with the same letter are not significantly different.

formu	bloq	Estimate	Grouping
for0	bloq2	5.6801	A
for0	bloq3	5.0932	B
for0	bloq1	4.6868	C
for1	bloq1	3.5399	D
for1	bloq2	3.4592	D
for1	bloq3	3.4090	D
for2	bloq3	1.6789	E
for2	bloq1	1.5994	E
for2	bloq2	1.5429	E

9.1.6. Grasa

Class Level Information		
Class	Levels	Values
formu	3	for0 for1 for2
bloq	3	bloq1 bloq2 bloq3

formu*bloq Least Squares Means									
formu	bloq	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
for0	bloq1	0.5572	0.04049	18	13.76	<.0001	0.05	0.4721	0.6423
for0	bloq2	0.6836	0.04049	18	16.88	<.0001	0.05	0.5986	0.7687
for0	bloq3	0.8369	0.04049	18	20.67	<.0001	0.05	0.7519	0.9220
for1	bloq1	0.2247	0.04049	18	5.55	<.0001	0.05	0.1396	0.3097
for1	bloq2	0.3343	0.04049	18	8.26	<.0001	0.05	0.2493	0.4194
for1	bloq3	0.3367	0.04049	18	8.31	<.0001	0.05	0.2516	0.4217
for2	bloq1	0.2360	0.04049	18	5.83	<.0001	0.05	0.1509	0.3211
for2	bloq2	0.3587	0.04049	18	8.86	<.0001	0.05	0.2736	0.4437
for2	bloq3	0.3610	0.04049	18	8.92	<.0001	0.05	0.2759	0.4461



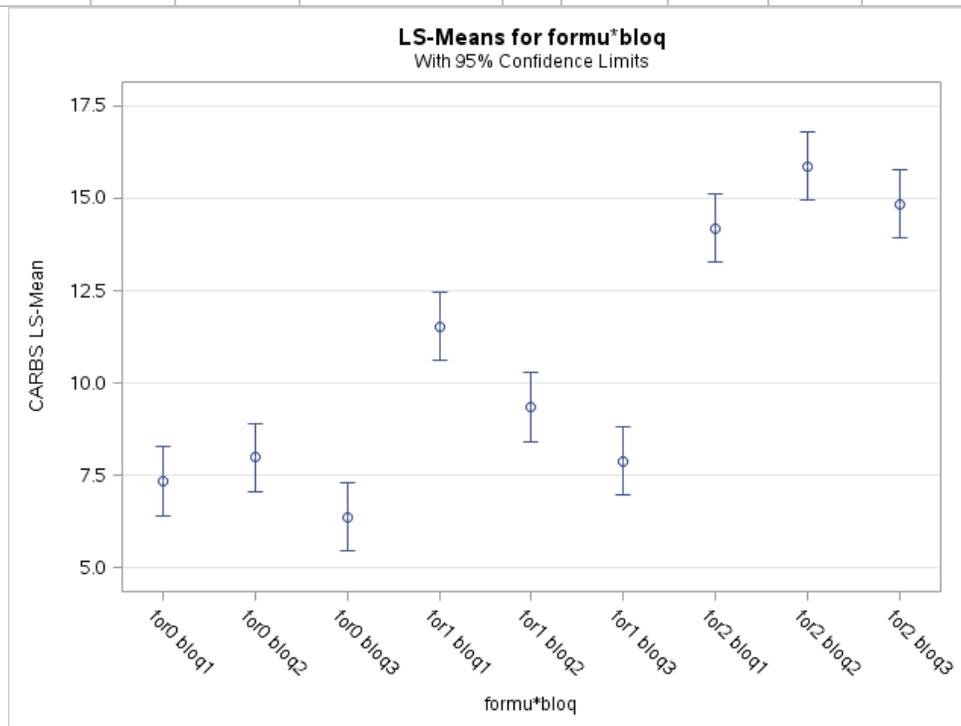
Tukey Grouping for formu*bloq Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
formu	bloq	Estimate		
for0	bloq3	0.8369		A
				A
for0	bloq2	0.6836	B	A
			B	
for0	bloq1	0.5572	B	C
				C
for2	bloq3	0.3610	D	C
			D	C
for2	bloq2	0.3587	D	C
			D	
for1	bloq3	0.3367	D	
			D	
for1	bloq2	0.3343	D	
			D	
for2	bloq1	0.2360	D	
			D	
for1	bloq1	0.2247	D	

9.1.7. Carbohidratos

Class Level Information		
Class	Levels	Values
formu	3	for0 for1 for2
bloq	3	bloq1 bloq2 bloq3

formu*bloq Least Squares Means									
formu	bloq	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
for0	bloq1	7.3398	0.4400	18	16.68	<.0001	0.05	6.4155	8.2641
for0	bloq2	7.9934	0.4400	18	18.17	<.0001	0.05	7.0691	8.9177
for0	bloq3	6.3772	0.4400	18	14.50	<.0001	0.05	5.4529	7.3015
for1	bloq1	11.5275	0.4400	18	26.20	<.0001	0.05	10.6032	12.4518
for1	bloq2	9.3466	0.4400	18	21.24	<.0001	0.05	8.4223	10.2709
for1	bloq3	7.8835	0.4400	18	17.92	<.0001	0.05	6.9592	8.8078
for2	bloq1	14.1843	0.4400	18	32.24	<.0001	0.05	13.2600	15.1086
for2	bloq2	15.8656	0.4400	18	36.06	<.0001	0.05	14.9413	16.7899

formu*bloq Least Squares Means									
formu	bloq	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
for2	bloq3	14.8537	0.4400	18	33.76	<.0001	0.05	13.9294	15.7780



Tukey Grouping for formu*bloq Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
formu	bloq	Estimate		
for2	bloq2	15.8656		A
				A
for2	bloq3	14.8537		A
				A
for2	bloq1	14.1843		A
for1	bloq1	11.5275		B
for1	bloq2	9.3466		C
				C
for0	bloq2	7.9934	D	C
			D	C
for1	bloq3	7.8835	D	C
			D	C
for0	bloq1	7.3398	D	C
			D	

Tukey Grouping for formu*bloq Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
formu	bloq	Estimate		
for0	bloq3	6.3772	D	

9.1.8. Lactosa

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	65271.30769	8158.91346	147.75	<.0001
Error	72	3975.79947	55.21944		
Corrected Total	80	69247.10716			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Lactosa Mean
0.942585	15.53354	7.430978	47.83827

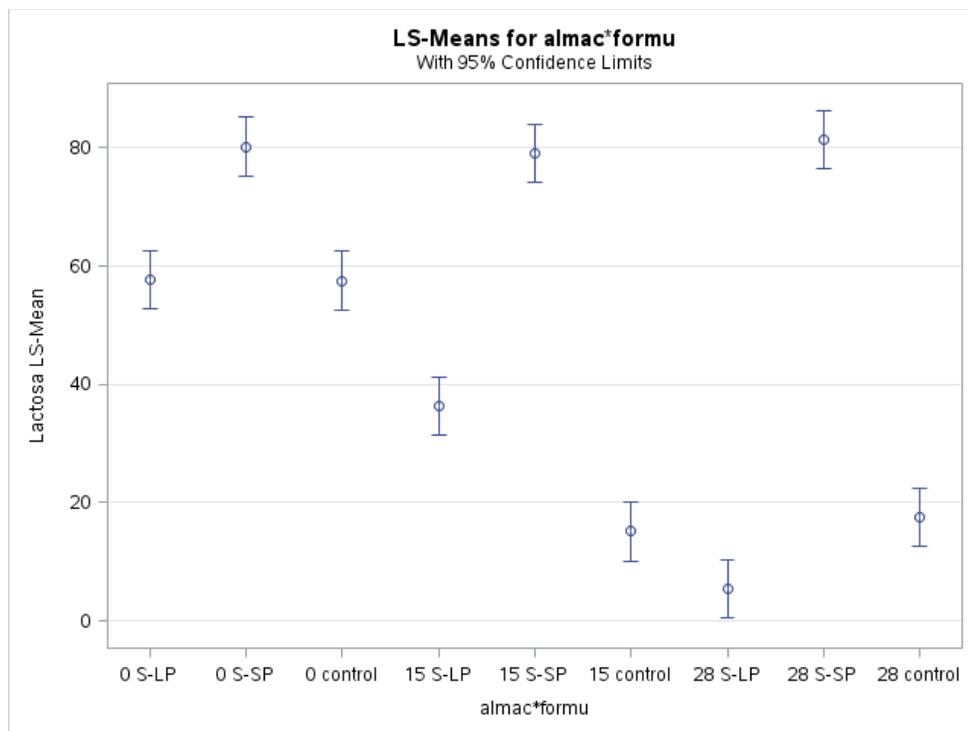
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	42601.14046	21300.57023	385.74	<.0001
almac	2	13192.66834	6596.33417	119.46	<.0001
almac*formu	4	9477.49889	2369.37472	42.91	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	42601.14046	21300.57023	385.74	<.0001
almac	2	13192.66834	6596.33417	119.46	<.0001
almac*formu	4	9477.49889	2369.37472	42.91	<.0001

Class Level Information		
Class	Levels	Values
almac	3	0 15 28
formu	3	S-LP S-SP control

almac*formu Least Squares Means									
almac	formu	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
0	S-LP	57.7622	2.4782	72	23.31	<.0001	0.05	52.8219	62.7025
0	S-SP	80.2100	2.4782	72	32.37	<.0001	0.05	75.2697	85.1503
0	control	57.5533	2.4782	72	23.22	<.0001	0.05	52.6130	62.4936
15	S-LP	36.3689	2.4782	72	14.68	<.0001	0.05	31.4286	41.3092

almac*formu Least Squares Means									
almac	formu	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
15	S-SP	79.0778	2.4782	72	31.91	<.0001	0.05	74.1375	84.0181
15	control	17.5256	2.4782	72	7.07	<.0001	0.05	12.5853	22.4659
28	S-LP	5.4800	2.4782	72	2.21	0.0302	0.05	0.5397	10.4203
28	S-SP	81.3756	2.4782	72	32.84	<.0001	0.05	76.4353	86.3159
28	control	15.1911	2.4782	72	6.13	<.0001	0.05	10.2508	20.1314



Tukey Grouping for almac*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
almac	formu	Estimate		
28	S-SP	81.3756	A	
			A	
0	S-SP	80.2100	A	
			A	
15	S-SP	79.0778	A	
0	S-LP	57.7622	B	
			B	
0	control	57.5533	B	
15	S-LP	36.3689	C	

Tukey Grouping for almac*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
almac	formu	Estimate		
15	control	17.5256		D
				D
28	control	15.1911	E	D
			E	
28	S-LP	5.4800	E	

9.1.9. Análisis Físico-químico

9.1.10. pH

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	0.49653580	0.06206698	13.10	<.0001
Error	72	0.34106667	0.00473704		
Corrected Total	80	0.83760247			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.592806	1.597901	0.068826	4.307284

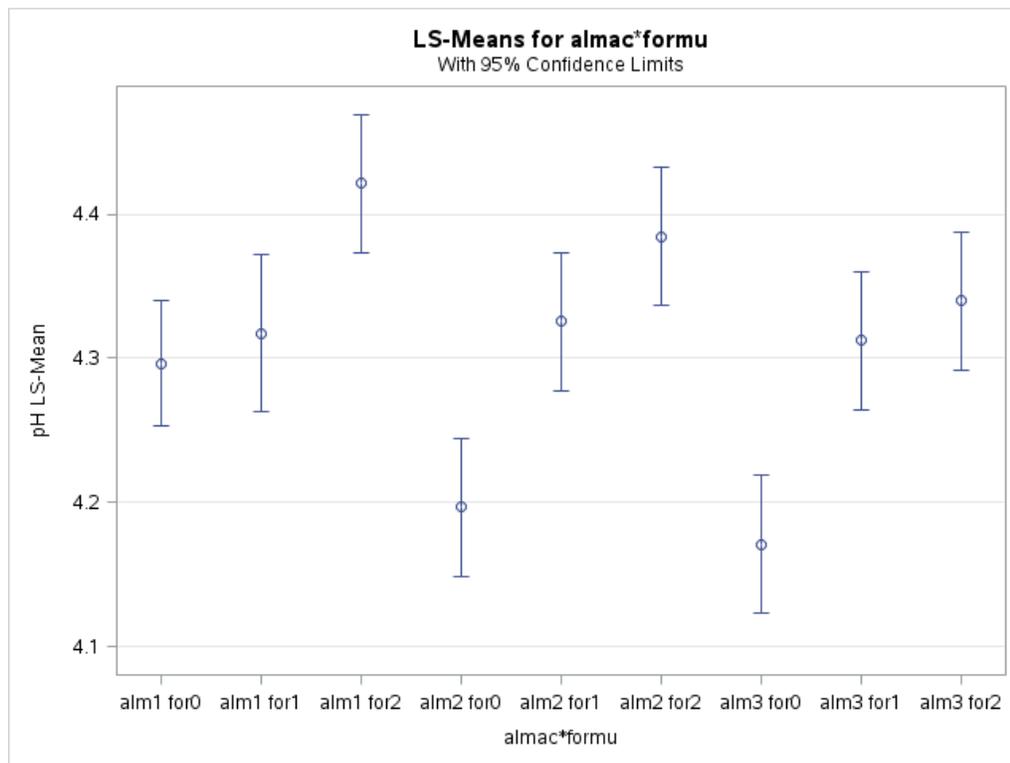
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	0.42442469	0.21221235	44.80	<.0001
almac	2	0.06170617	0.03085309	6.51	0.0025
almac*formu	4	0.01040494	0.00260123	0.55	0.7002

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	0.42442469	0.21221235	44.80	<.0001
almac	2	0.06170617	0.03085309	6.51	0.0025
almac*formu	4	0.01040494	0.00260123	0.55	0.7002

Class Level Information		
Class	Levels	Values
almac	3	alm1 alm2 alm3
formu	3	for0 for1 for2

almac*formu Least Squares Means									
almac	formu	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
alm1	for0	4.2964	0.02178	72	197.24	<.0001	0.05	4.2529	4.3398
alm1	for1	4.3171	0.02731	72	158.11	<.0001	0.05	4.2627	4.3716
alm1	for2	4.4211	0.02408	72	183.59	<.0001	0.05	4.3731	4.4691

almac*formu Least Squares Means									
almac	formu	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
alm2	for0	4.1967	0.02408	72	174.27	<.0001	0.05	4.1487	4.2447
alm2	for1	4.3256	0.02408	72	179.62	<.0001	0.05	4.2776	4.3736
alm2	for2	4.3844	0.02408	72	182.07	<.0001	0.05	4.3364	4.4324
alm3	for0	4.1711	0.02408	72	173.21	<.0001	0.05	4.1231	4.2191
alm3	for1	4.3122	0.02408	72	179.07	<.0001	0.05	4.2642	4.3602
alm3	for2	4.3400	0.02408	72	180.22	<.0001	0.05	4.2920	4.3880



Tukey-Kramer Grouping for almact*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)					
LS-means with the same letter are not significantly different.					
almact	formu	Estimate			
alm1	for2	4.4211		A	
				A	
alm2	for2	4.3844	B	A	
			B	A	
alm3	for2	4.3400	B	A	
			B	A	
alm2	for1	4.3256	B	A	
			B	A	
alm1	for1	4.3171	B	A	

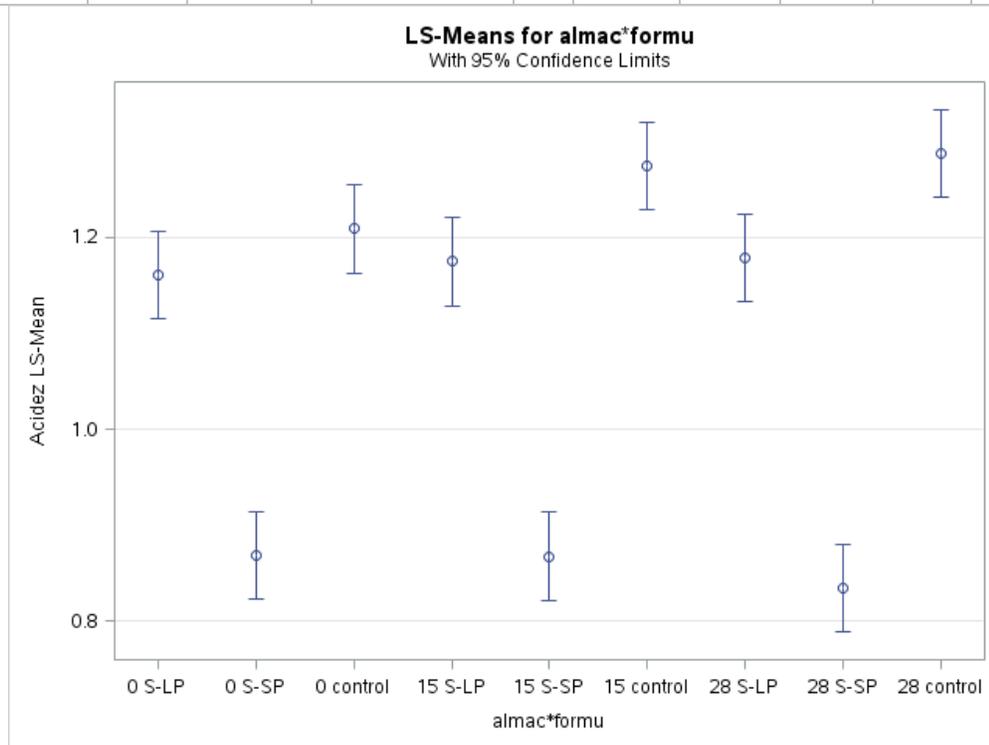
Tukey-Kramer Grouping for almac*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
almac	formu	Estimate		
			B	A
alm3	for1	4.3122	B	A
			B	
alm1	for0	4.2964	B	C
				C
alm2	for0	4.1967	D	C
			D	
alm3	for0	4.1711	D	

9.1.11. Acidez titulable

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	2.43323756	0.30415469	63.69	<.0001
Error	72	0.34383867	0.00477554		
Corrected Total	80	2.77707622			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	Acidez Mean		
0.876187	6.310129	0.069105	1.095148		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	2.39347319	1.19673659	250.60	<.0001
almac	2	0.01018400	0.00509200	1.07	0.3497
almac*formu	4	0.02958037	0.00739509	1.55	0.1974
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	2.39347319	1.19673659	250.60	<.0001
almac	2	0.01018400	0.00509200	1.07	0.3497
almac*formu	4	0.02958037	0.00739509	1.55	0.1974

Class Level Information		
Class	Levels	Values
almac	3	0 15 28
formu	3	S-LP S-SP control

almac*formu Least Squares Means									
almac	formu	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
0	S-LP	1.1611	0.02304	72	50.41	<.0001	0.05	1.1152	1.2070
0	S-SP	0.8687	0.02304	72	37.71	<.0001	0.05	0.8227	0.9146
0	control	1.2090	0.02304	72	52.49	<.0001	0.05	1.1631	1.2549
15	S-LP	1.1749	0.02304	72	51.00	<.0001	0.05	1.1290	1.2208
15	S-SP	0.8677	0.02304	72	37.67	<.0001	0.05	0.8217	0.9136
15	control	1.2742	0.02304	72	55.32	<.0001	0.05	1.2283	1.3201
28	S-LP	1.1788	0.02304	72	51.17	<.0001	0.05	1.1329	1.2247
28	S-SP	0.8349	0.02304	72	36.24	<.0001	0.05	0.7890	0.8808
28	control	1.2871	0.02304	72	55.88	<.0001	0.05	1.2412	1.3330



Tukey Grouping for almac*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)				
LS-means with the same letter are not significantly different.				
almac	formu	Estimate		
28	control	1.2871	A	

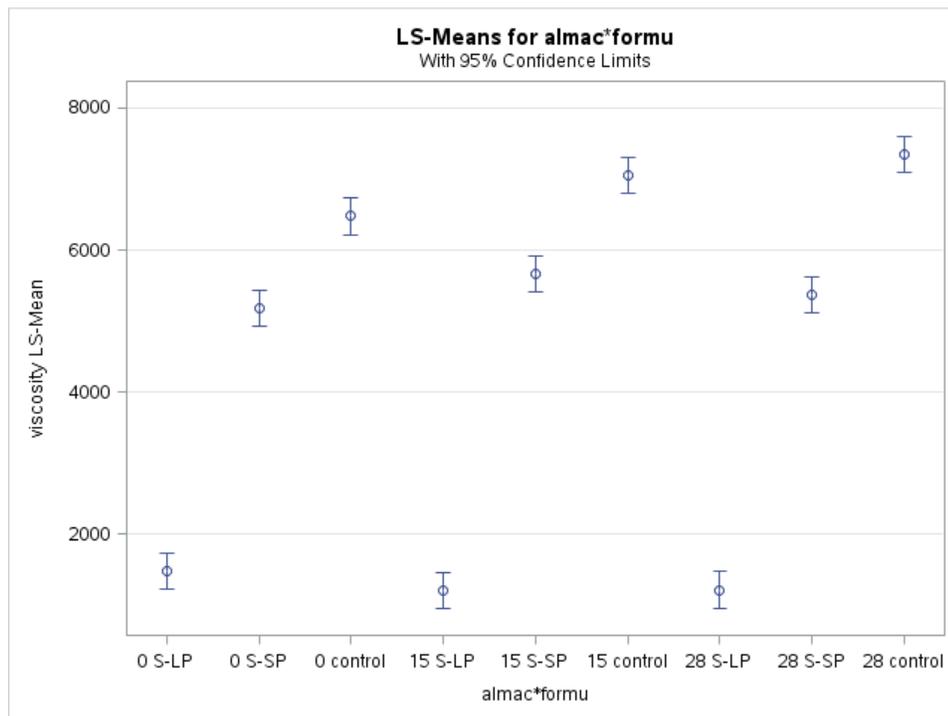
Tukey Grouping for almac*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)					
LS-means with the same letter are not significantly different.					
almac	formu	Estimate			
				A	
15	control	1.2742	B	A	
			B	A	
0	control	1.2090	B	A	C
			B		C
28	S-LP	1.1788	B		C
			B		C
15	S-LP	1.1749	B		C
					C
0	S-LP	1.1611			C
0	S-SP	0.8687		D	
				D	
15	S-SP	0.8677		D	
				D	
28	S-SP	0.8349		D	

9.1.12. Viscosidad

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	466226644.4	58278330.6	392.39	<.0001
Error	72	10693644.4	148522.8		
Corrected Total	80	476920288.9			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	viscosity Mean		
0.977578	8.456956	385.3866	4557.037		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	461181622.2	230590811.1	1552.56	<.0001
almac	2	1269363.0	634681.5	4.27	0.0176
almac*formu	4	3775659.3	943914.8	6.36	0.0002
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	461181622.2	230590811.1	1552.56	<.0001
almac	2	1269363.0	634681.5	4.27	0.0176
almac*formu	4	3775659.3	943914.8	6.36	0.0002

Class Level Information		
Class	Levels	Values
almac	3	0 15 28
formu	3	S-LP S-SP control

almac*formu Least Squares Means									
almac	formu	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
0	S-LP	1481.11	128.46	72	11.53	<.0001	0.05	1225.03	1737.20
0	S-SP	5182.22	128.46	72	40.34	<.0001	0.05	4926.14	5438.31
0	control	6476.67	128.46	72	50.42	<.0001	0.05	6220.58	6732.75
15	S-LP	1212.22	128.46	72	9.44	<.0001	0.05	956.14	1468.31
15	S-SP	5667.78	128.46	72	44.12	<.0001	0.05	5411.69	5923.86
15	control	7057.78	128.46	72	54.94	<.0001	0.05	6801.69	7313.86
28	S-LP	1218.89	128.46	72	9.49	<.0001	0.05	962.80	1474.97
28	S-SP	5368.89	128.46	72	41.79	<.0001	0.05	5112.80	5624.97
28	control	7347.78	128.46	72	57.20	<.0001	0.05	7091.69	7603.86



Tukey Grouping for almact*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)

LS-means with the same letter are not significantly different.

almac	formu	Estimate
-------	-------	----------

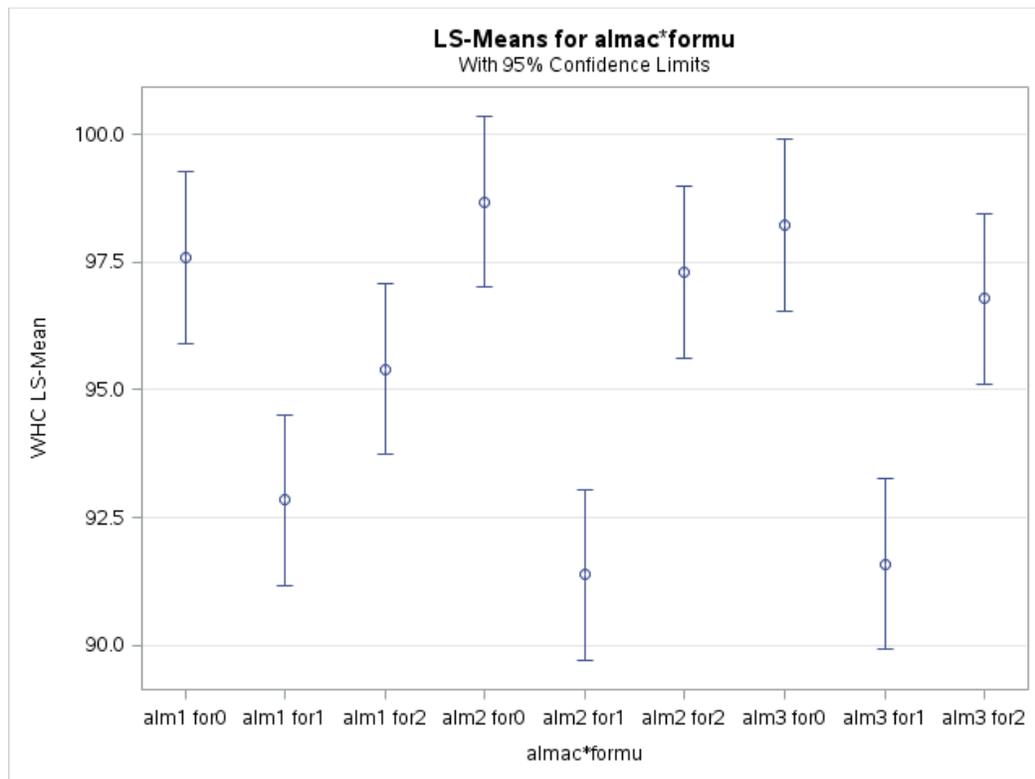
Tukey Grouping for almac*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)			
LS-means with the same letter are not significantly different.			
almac	formu	Estimate	
28	control	7347.78	A
			A
15	control	7057.78	A
0	control	6476.67	B
15	S-SP	5667.78	C
			C
28	S-SP	5368.89	C
			C
0	S-SP	5182.22	C
0	S-LP	1481.11	D
			D
28	S-LP	1218.89	D
			D
15	S-LP	1212.22	D

9.1.13. Capacidad de Retención de Agua

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	594.259244	74.282406	11.71	<.0001
Error	72	456.906111	6.345918		
Corrected Total	80	1051.165356			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	WHC Mean		
0.565334	2.636963	2.519111	95.53074		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	559.7238889	279.8619444	44.10	<.0001
almac	2	3.6352667	1.8176333	0.29	0.7518
almac*formu	4	30.9000889	7.7250222	1.22	0.3110
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	559.7238889	279.8619444	44.10	<.0001
almac	2	3.6352667	1.8176333	0.29	0.7518
almac*formu	4	30.9000889	7.7250222	1.22	0.3110

Class Level Information		
Class	Levels	Values
almac	3	alm1 alm2 alm3
formu	3	for0 for1 for2

almac*formu Least Squares Means									
almac	formu	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
alm1	for0	97.5856	0.8393	72	116.27	<.0001	0.05	95.9125	99.2586
alm1	for1	92.8489	0.8393	72	110.63	<.0001	0.05	91.1758	94.5219
alm1	for2	95.4078	0.8393	72	113.68	<.0001	0.05	93.7347	97.0808
alm2	for0	98.6844	0.8393	72	117.58	<.0001	0.05	97.0114	100.36
alm2	for1	91.3767	0.8393	72	108.88	<.0001	0.05	89.7036	93.0497
alm2	for2	97.3044	0.8393	72	115.94	<.0001	0.05	95.6314	98.9775
alm3	for0	98.2278	0.8393	72	117.04	<.0001	0.05	96.5547	99.9008
alm3	for1	91.5889	0.8393	72	109.13	<.0001	0.05	89.9158	93.2619
alm3	for2	96.7856	0.8393	72	115.32	<.0001	0.05	95.1125	98.4586



Tukey Grouping for almact*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)			
LS-means with the same letter are not significantly different.			
almact	formu	Estimate	

Tukey Grouping for almac*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)

LS-means with the same letter are not significantly different.				
almac	formu	Estimate		
alm2	for0	98.6844		A
				A
alm3	for0	98.2278		A
				A
alm1	for0	97.5856		A
				A
alm2	for2	97.3044		A
				A
alm3	for2	96.7856		A
				A
alm1	for2	95.4078	B	A
			B	
alm1	for1	92.8489	B	C
				C
alm3	for1	91.5889		C
				C
alm2	for1	91.3767		C

9.1.14. Sinéresis

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	595.670111	74.458764	11.75	<.0001
Error	72	456.419511	6.339160		
Corrected Total	80	1052.089622			

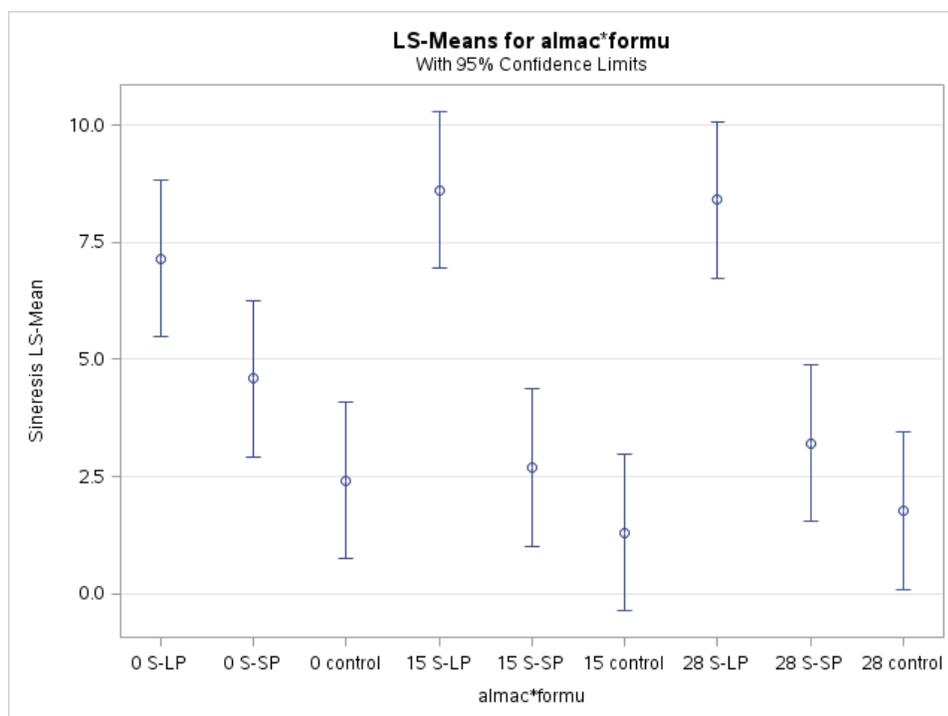
R-Square	Coeff Var	Root MSE	Sineresis Mean
0.566178	56.38666	2.517769	4.465185

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	561.4584667	280.7292333	44.28	<.0001
almac	2	3.4960889	1.7480444	0.28	0.7598
almac*formu	4	30.7155556	7.6788889	1.21	0.3135
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
formu	2	561.4584667	280.7292333	44.28	<.0001
almac	2	3.4960889	1.7480444	0.28	0.7598

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
almac*formu	4	30.7155556	7.6788889	1.21	0.3135

Class Level Information		
Class	Levels	Values
almac	3	0 15 28
formu	3	S-LP S-SP control

almac*formu Least Squares Means									
almac	formu	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
0	S-LP	7.1511	0.8393	72	8.52	<.0001	0.05	5.4781	8.8241
0	S-SP	4.5922	0.8393	72	5.47	<.0001	0.05	2.9192	6.2652
0	control	2.4144	0.8393	72	2.88	0.0053	0.05	0.7414	4.0875
15	S-LP	8.6233	0.8393	72	10.27	<.0001	0.05	6.9503	10.2964
15	S-SP	2.6956	0.8393	72	3.21	0.0020	0.05	1.0225	4.3686
15	control	1.3122	0.8393	72	1.56	0.1223	0.05	-0.3608	2.9852
28	S-LP	8.4111	0.8393	72	10.02	<.0001	0.05	6.7381	10.0841
28	S-SP	3.2144	0.8393	72	3.83	0.0003	0.05	1.5414	4.8875
28	control	1.7722	0.8393	72	2.11	0.0382	0.05	0.09920	3.4452



Tukey Grouping for almac*formu Least Squares Means (Alpha=0.05)

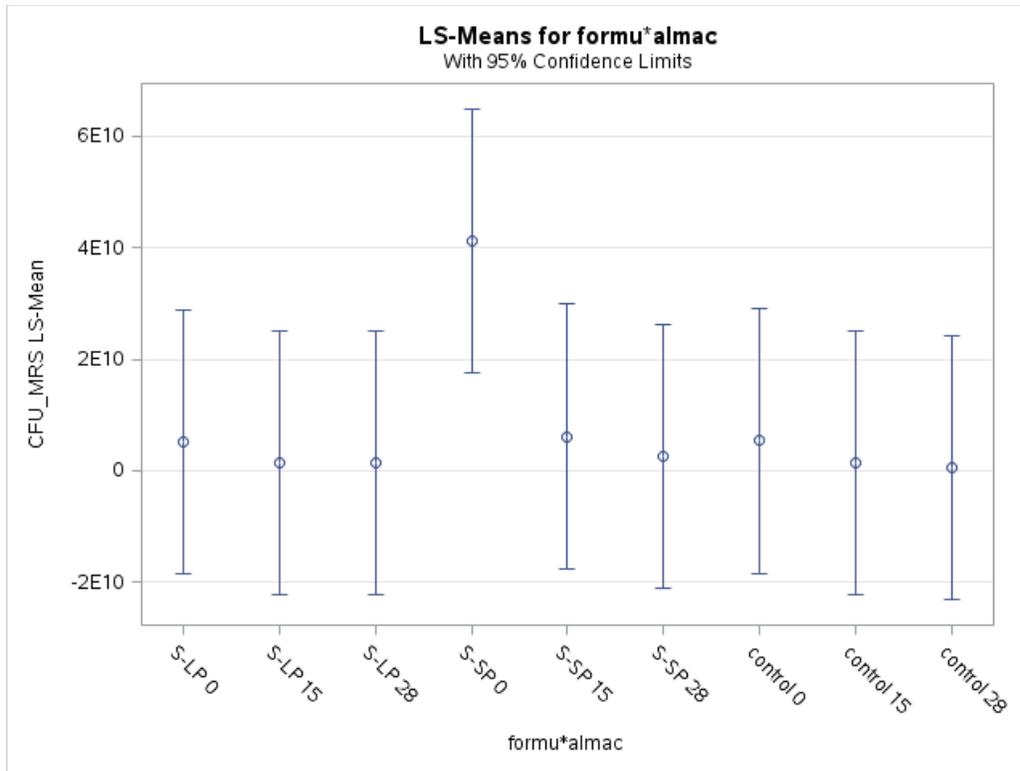
LS-means with the same letter are not significantly different.

almac	formu	Estimate		
15	S-LP	8.6233		A
				A
28	S-LP	8.4111		A
				A
0	S-LP	7.1511	B	A
			B	
0	S-SP	4.5922	B	C
				C
28	S-SP	3.2144		C
				C
15	S-SP	2.6956		C
				C
0	control	2.4144		C
				C
28	control	1.7722		C
				C
15	control	1.3122		C

9.1.15. Análisis microbiológico: Bacterias ácido lácticas

Class Level Information		
Class	Levels	Values
formu	3	S-LP S-SP control
almac	3	0 15 28

formu*almac Least Squares Means									
formu	almac	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
S-LP	0	5.1323E9	1.129E10	18	0.45	0.6549	0.05	-1.86E10	2.886E10
S-LP	15	1.4203E9	1.129E10	18	0.13	0.9013	0.05	-2.23E10	2.515E10
S-LP	28	1.4203E9	1.129E10	18	0.13	0.9013	0.05	-2.23E10	2.515E10
S-SP	0	4.115E10	1.129E10	18	3.64	0.0019	0.05	1.742E10	6.487E10
S-SP	15	6.1317E9	1.129E10	18	0.54	0.5938	0.05	-1.76E10	2.986E10
S-SP	28	2.6233E9	1.129E10	18	0.23	0.8189	0.05	-2.11E10	2.635E10
control	0	5.3167E9	1.129E10	18	0.47	0.6435	0.05	-1.84E10	2.904E10
control	15	1.4155E9	1.129E10	18	0.13	0.9016	0.05	-2.23E10	2.514E10
control	28	5.72E8	1.129E10	18	0.05	0.9602	0.05	-2.32E10	2.43E10



Tukey Grouping for formu*almec Least Squares Means (Alpha=0.05)

LS-means with the same letter are not significantly different.

formu	almec	Estimate	Group
S-SP	0	10.4233	A
			A
control	0	9.7233	A
			A
S-LP	0	9.2867	A
			A
S-SP	15	9.0900	A
			A
S-SP	28	9.0400	A
			A
control	15	8.7200	A
			A
control	28	8.7033	A
			A
S-LP	15	8.6200	A
			A
S-LP	28	8.6200	A

9.2. Análisis Sensorial

9.2.1. Fase Preliminar

9.2.2. Formulario de hoja de panelista para Prueba de Ordenamiento

Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos			
PRUEBA DE ORDENAMIENTO			
Fecha:	_____	No. Panelista: _____	
Producto:	Yogurt a base de Suero Ácido		
Atributo:	Olor y Sabor		
<p>INSTRUCCIONES: Se le están entregando tres muestras de yogurt, codificada con un número aleatorio de 3 dígitos. Seleccione cada muestra de izquierda a derecha y anote el código en el espacio correspondiente. Se utilizará una escala de 1-3, donde 1 será el de mayor preferencia y 3, el de menor preferencia. Tome la muestra, destápela y evalúe la misma en términos de olor.</p>			
Código	_____	_____	_____
Valor	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<p>Antes de probar la muestra de yogurt, deberá mezclar bien. Luego evalúe la misma en términos de sabor. Entre cada muestra coma una galleta para limpiar el paladar y tome agua para refrescar sus receptores.</p>			
Código	_____	_____	_____
Valor	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<p>Comentarios:</p> <hr/> <hr/> <hr/>			

9.2.3. Formulario de hoja de panelista para Prueba de Preferencia

**Universidad de Puerto Rico
Recinto Universitario de Mayagüez
Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos**

PRUEBA DE PREFERENCIA

Fecha: _____ No. Panelista: _____
Producto: Yogurt a base de Suero Ácido
Atributo: **Preferencia**

INSTRUCCIONES: Se le están entregando tres muestras de yogurt, codificada con un número aleatorio de 3 dígitos. Pruebe las muestras de izquierda a derecha. Escriba en el espacio provisto el número de la muestra en el orden que les fue presentada. Marque con una **X** bajo la muestra de mayor **preferencia**.

Entre cada muestra coma una galleta para limpiar el paladar y tome agua para refrescar sus receptores.

Código	_____	_____	_____
Valor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Comentarios:

9.2.4. Carta de aprobación de Comité Protección de Seres humanos en la Investigación



Comité para la Protección de los Seres Humanos en la Investigación

CPSHI/IRB 00002053

Universidad de Puerto Rico – Recinto Universitario de Mayagüez
Decanato de Asuntos Académicos
Call Box 9000
Mayagüez, PR 00681-9000



4 de septiembre de 2013

Sa. Iris Marie Torres Mass
Depto. de Ciencia y Tecnología de Alimentos
Colegio de Ciencias Agrícolas
Call Box 9000
Recinto Universitario de Mayagüez
Mayagüez, PR 00681-9000

Estimada Sa. Torres Mass:

Como presidente del Comité para la Protección de los Seres Humanos en la Investigación (CPSHI), he estudiado la documentación sometida para el proyecto titulado *Elaboración de Yogurt a Base de Suero de Lácteo* y determinado que, por limitarse la participación de los seres humanos a un estudio sensorial de opciones para la elaboración de yogurt y además se toman medidas para evitar que mujeres embarazadas y personas con intolerancia a la lactosa o alérgicas a la leche participen, su proyecto está exento, bajo la cláusula 45 CFR 46.101(b)(6) de todos los requisitos de la parte 45 CFR 46. En otras palabras, no requiere de nuestra aprobación para proceder.

Agradecemos su compromiso con los más altos estándares de protección de los seres humanos en la investigación. Quedamos de usted,

Atentamente,

Rosa F. Martínez Cruzado

Rosa F. Martínez Cruzado, Ph.D.
Presidente
CPSHI/IRB
UPR - RUM

9.2.5. Prueba de Aceptabilidad

9.2.6. Formularios de hoja de panelista

**Universidad de Puerto Rico
Recinto Universitario de Mayagüez
Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos**

Prueba de Aceptabilidad

Fecha _____

Num. De Panelista _____

Producto: **Yogurt**

Atributo: **CARACTERISTICAS DE TEXTURA Y SABOR**

Se le están entregando una muestra de yogurt, codificada con un números de 3 dígitos. Pruebe la muestra y **evalúe cuanto le gusta o le disgusta la misma en términos de su sabor**. Tome agua entre muestras para refrescar sus receptores

Muestra _____

_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta	Me disgusta	Me disgusta	Me disgusta	Ni me gusta	Me gusta	Me gusta	Me gusta	Me gusta
Extremadamente	Mucho	Moderadamente	Ligeramente	Ni me disgusta	Ligeramente	Moderadamente	Mucho	
Extremadamente								

Pruebe nuevamente la muestra de yogurt y esta vez evalúe cuanto le gusta o le disgusta la misma en términos de su textura.

_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta	Me disgusta	Me disgusta	Me disgusta	Ni me gusta	Me gusta	Me gusta	Me gusta	Me gusta
Extremadamente	Mucho	Moderadamente	Ligeramente	Ni me disgusta	Ligeramente	Moderadamente	Mucho	
Extremadamente								

Usted compraría este producto si se encontrara en el mercado? _____

Comentarios: _____

9.2.8. Carta de aprobación de Comité Protección de Seres humanos en la Investigación



Comité para la Protección de los Seres Humanos en la Investigación
CPSHI/IRB 00002053
Universidad de Puerto Rico – Recinto Universitario de Mayagüez
Decanato de Asuntos Académicos
Call Box 9000
Mayagüez, PR 00681-9000



29 de marzo de 2016

Iris Torres Mass
Ciencia y Tecnología de Alimentos
RUM

Estimada estudiante:

El Comité para la Protección de los Seres Humanos en la Investigación (CPSHI) ha considerado el proyecto titulado *Caracterización Físico-Química y Microbiológica de un Yogurt Elaborado a Base de Suero Lácteo Acido* (# Protocolo 20160329). Luego de evaluar el mismo hemos certificado que este cumple con todos los requisitos para ser aprobado como exento bajo la Categoría 6 del 45 CFR 46.101(b). La determinación de exención implica que este proyecto no requiere ser re-evaluado ni re-autorizado por nuestro comité. Le recordamos que la aprobación emitida por nuestro comité no lo exime de cumplir con cualquier otro requisito institucional o gubernamental relacionado al tema o fuente de financiamiento de su proyecto.

Cualquier cambio al protocolo o a la metodología que altere los criterios de exención deberá ser revisado y aprobado por el CPSHI ANTES de su implantación, excepto en casos en que el cambio sea necesario para eliminar algún riesgo inmediato para los/as participantes. El CPSHI deberá ser notificado de dichos cambios tan pronto le sea posible al/a la investigador/a. Igualmente, el CPSHI deberá ser informado de inmediato de cualquier efecto adverso o problema inesperado que surgiera con relación al riesgo de los seres humanos, de cualquier queja sobre la conducción de esta investigación y de cualquier violación a la confidencialidad de los participantes.

Atentamente,

Dr. Rafael A. Boglio Martínez
Presidente
CPSHI/IRB
UPR - RUM

Teléfono: (787) 832 - 4040 x 6277, 3807, 3808 – Fax: (787) 831-2085 – Página Web: www.uprm.edu/cpschi
Email: cpshi@uprm.edu

9.3. Figuras de los procedimientos realizados en la investigación



Figura 22. Recibimiento de suero ácido



Figura 23. Proceso de neutralización de suero



Figura 24. Filtración de suero neutralizado



Figura 25. Incubadora utilizada para proceso de fermentación.



Figura 26. Procedimiento de Incubación

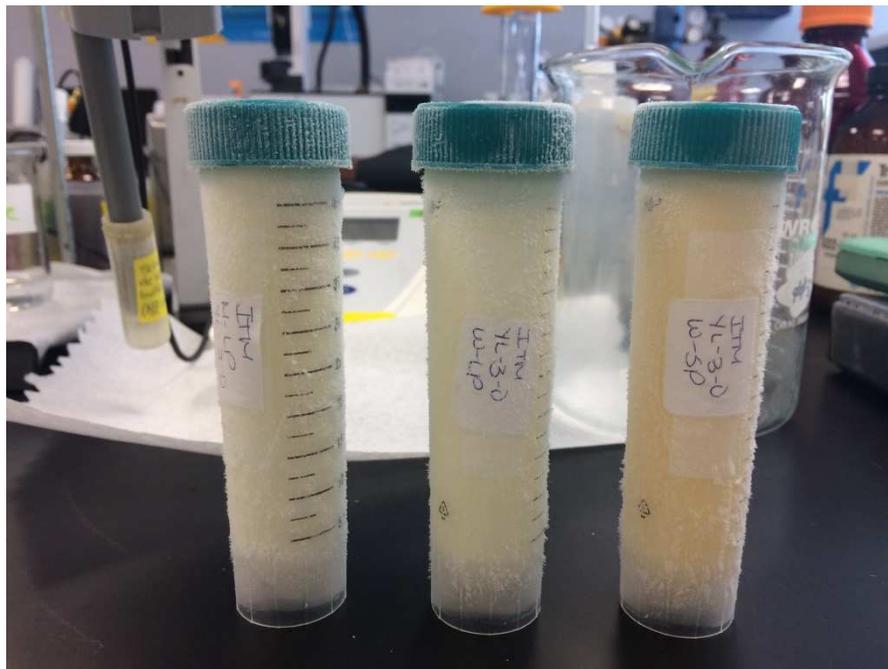


Figura 27. Muestra congelada a -80 grados Celsius.



Figura 28. Equipo CEM. (utilizado para medir humedad y sólidos totales como método rápido durante la elaboración del producto).



Figura 29. Análisis de pH: Potenciómetro digital



Figura 30. Análisis de Acidez Titulable



Figura 31. Centrífuga utilizado para análisis de Capacidad de retención de agua



Figura 32. Espectrofotómetro utilizado para análisis enzimático de lactosa.



Figura 33. Kit de Megazyme utilizado para Análisis Enzimático de determinación de lactosa/galactosa.



Figura 34. Frasco de Mojonnier para análisis de grasa



Figura 35. Análisis de grasa



Figura 36. Análisis de Viscosidad



Figura 37. Análisis de Proteína: Bloque de digestión

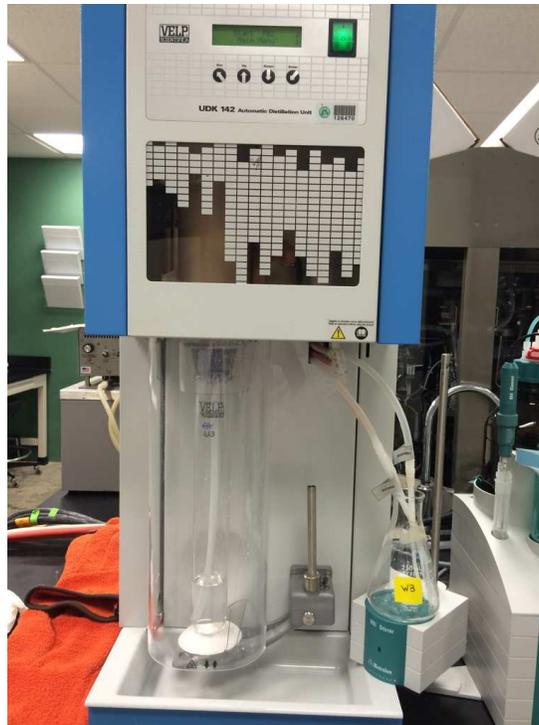


Figura 38. Análisis de proteína: Destilación por arraste de vapor.

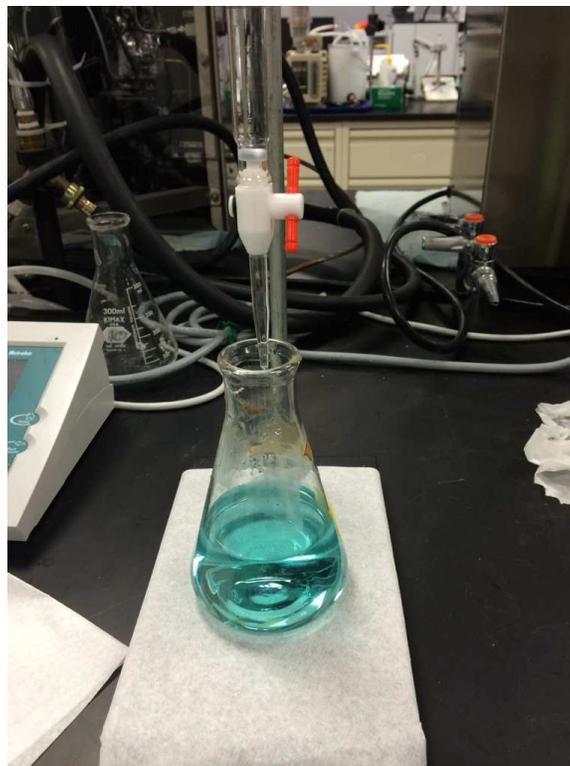


Figura 39. Análisis de proteína: proceso de titulación



Figura 40. Análisis de humedad, Horno convencional



Figura 41. Análisis de cenizas, mufla



Figura 42. Proceso de pre-secado para Análisis de cenizas

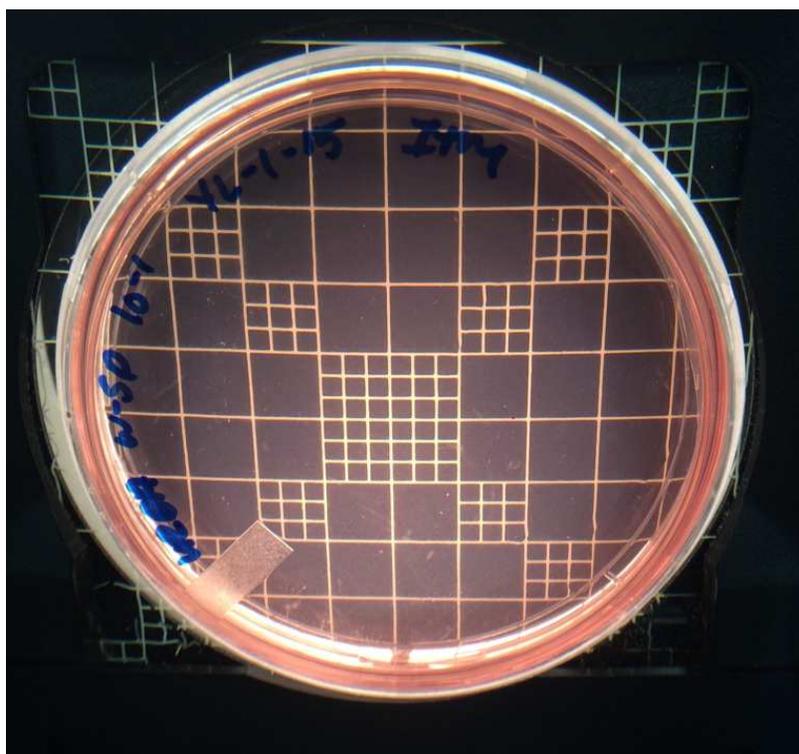


Figura 43. Plato de Violet Red bile Agar para determinación de coliformes totales

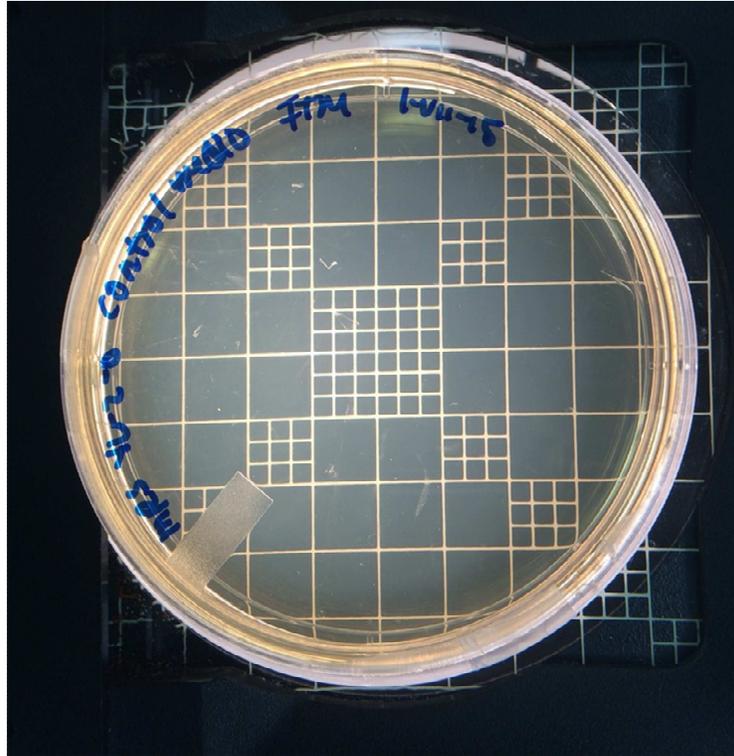


Figura 44. Plato de MRS (Man, Ragosa y Sharpe) para determinación de bacterias ácido lácticas.

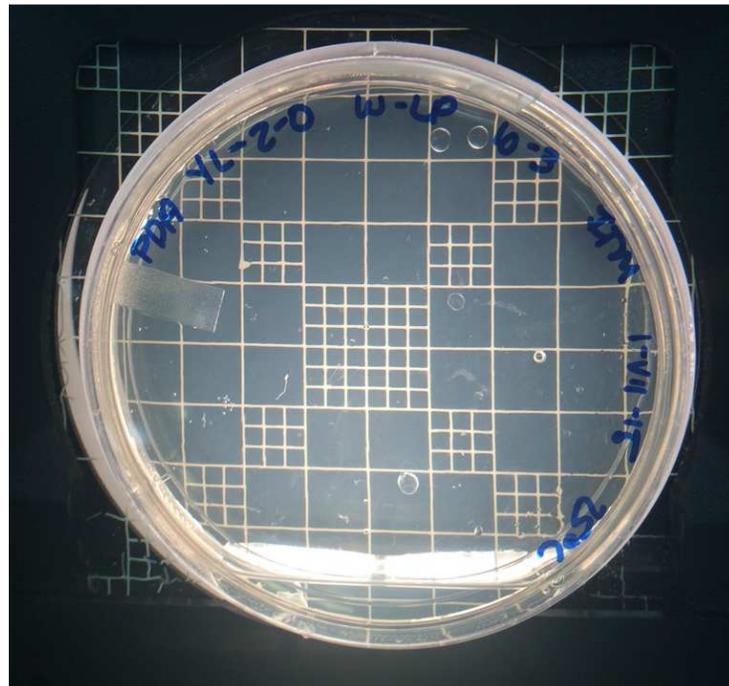


Figura 45. Plato de Potato Dextrose Agar para determinación de hongos y levaduras.