

PROYECTO FINAL DE INGENIERÍA

APLICACIÓN DE DIFERENTES TECNOLOGÍAS NATURALES POTENCIADORAS DEL DULZOR PARA LOGRAR LA REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE AZÚCAR EN YOGURES Y EVALUACIÓN DE SU IMPACTO EN LA PERCEPCIÓN DEL DULZOR CON RESPECTO AL PRODUCTO TRADICIONAL

Temer, Luciana- LU: 1092684

Ingeniería en Alimentos

Tutor:

Guzmán, María Leticia, Chr. Hansen

Co-tutor:

Barceló Mariana, UADE

11 de diciembre del 2021

UADE

**UNIVERSIDAD ARGENTINA DE LA EMPRESA
FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS EXACTAS**

Agradecimientos

Quisiera agradecer a todas las personas involucradas que me permitieron llevar adelante este proyecto, en especial a mis familiares y seres queridos que me brindaron su apoyo incondicional durante toda la carrera y sus consejos para seguir adelante y poder cumplir mi gran objetivo de alcanzar el título de grado de esta gran carrera.

Por otra parte, quisiera agradecer a todo el equipo de Chr. Hansen por abrirme las puertas y brindarme su ayuda para desarrollar este proyecto. Particularmente, agradecer a mi tutora María Leticia Guzmán quien fue un soporte fundamental para capacitarme con mayor profundidad y desarrollar el proyecto. Como así también darle las gracias al equipo de Givaudan por aportar su panel sensorial y soporte sobre los temas referidos a análisis sensorial.

Y, por último, brindarle mis agradecimientos a todos los docentes y ayudantes que he tenido el placer de tener durante toda la carrera quienes me transmitieron con pasión todos los conocimientos necesarios para formarme como profesional. Haciendo mención especial a Martín Piña, director de la carrera, quien fue un pilar importante desde lo académico y lo personal durante la carrera.

Resumen

En las últimas décadas, la investigación acerca de diversas tecnologías que logren reducir el contenido de azúcar en los alimentos ha cobrado una relevante importancia debido al aumento de la prevalencia de enfermedades asociadas a la alimentación.

El objetivo del presente proyecto es aplicar diferentes tecnologías naturales potenciadoras del dulzor para lograr la reducción del contenido de azúcar en yogures y evaluar su impacto en la percepción del dulzor con respecto al producto tradicional.

Para este proyecto, se partió de una base de yogur estándar a la cual se aplicaron tres tecnologías naturales diferentes: enzima lactasa, modulador de sabor y fibra oligofruktosa; las cuales se aplicaron en forma individual y combinada para evaluar el efecto de las mismas sobre la percepción del dulzor utilizando un panel sensorial entrenado. Posteriormente, los resultados de la evaluación sensorial fueron analizados estadísticamente para determinar si existen diferencias significativas entre las muestras.

Luego de evaluar los resultados estadísticos y realizar un análisis de costos, se demostró que la combinación óptima de tecnologías potenciadores del dulzor se basa en la aplicación de enzima lactasa y modulador de sabor; la cual se aplicó sobre una receta de yogur relevante en el mercado latinoamericano a fin de evaluar sensorialmente y conocer el perfil del producto final.

Finalmente, los resultados de la investigación demostraron que la aplicación de tecnologías potenciadoras del dulzor permite reducir el contenido de azúcar de un yogur en al menos un 50% sin sufrir alteraciones en la percepción del dulzor, lo cual brinda una posible solución para la industria láctea para cumplir con los requerimientos legales dispuestos por la Ley de Etiquetado Frontal (Ley Número 27.642).

Palabras claves: yogur, percepción del dulzor, tecnologías potenciadoras del dulzor, azúcar

Abstract

In the last few decades, research on various technologies that could reduce the amount of sugar in food has become more relevant due to the raising of the prevalence of food-related diseases.

The main objective of this project is to apply different natural sweetness enhancing technologies in order to achieve the reduction of sugar content in yoghurts and to evaluate its impact on the perception about the sweetness regarding the traditional product.

This project began with a standard yoghurt base to which three different natural technologies were applied: lactase enzyme, flavor enhancer and oligofructose fiber. They were implemented individually and in combination to evaluate their effect on the sweetness perception using a trained sensory panel. Afterwards, the results of the sensory evaluation were statistically analyzed to verify if there were significant differences between the samples.

After evaluating the statistic results and making a cost analysis, it was shown that the optimal combination of sweetness enhancing technologies is based on the application of the lactase enzyme and flavor enhancer, which was applied on a relevant yoghurt recipe in the Latin American in order to measure sensorially and know the profile of the final product.

Finally, the results of the research showed that the application of sweetness enhancing technologies allows to reduce the sugar content of a yoghurt by at least a 50% without suffering alterations in the perception of sweetness, which provides a possible solution for the dairy industry to fulfill the legal requirements laid down by the Frontal Labelling Law (Law number 27.642).

Key words: yoghurt, sweetness perception, sweetness enhancing technologies, sugar.

Índice

Resumen	3
Abstract	4
1. Introducción	8
1.1 Objetivos.....	8
1.2 Contexto.....	8
1.3 Yogur.....	19
1.4 Proceso productivo.....	28
1.4.1 Estandarización de proteína y contenido graso.....	28
1.4.2 Homogeneización.....	30
1.4.3 Tratamiento térmico.....	33
1.4.5 Fermentación.....	37
1.4.6 Pérdida de carga y Refrigeración.....	45
1.4.7 Envasado.....	47
1.5 Seguimiento.....	47
1.5.1 Reología.....	47
1.5.2 Post-acidificación.....	54
1.6 Tecnologías potenciadoras del dulzor.....	56
1.6.1 Lactasa.....	56
1.6.2 Modulador de sabor.....	61
1.6.3 Fibra.....	65
1.7 Evaluación sensorial.....	68
1.7.1 Aspectos generales para la evaluación sensorial.....	68
1.7.2 Métodos de evaluación sensorial.....	70

1.7.3 Análisis estadístico	72
2.Estado del arte	77
3.Hipótesis	80
4. Metodología	82
4.1 Preparación de las muestras.....	82
4.2 Seguimiento	86
4.2.1 Reología.....	86
4.2.2 Post acidificación	87
4.3 Análisis sensorial y análisis estadístico	88
4.4 Aplicación en yogures comerciales	89
5. Resultados y discusión	92
5.1 Cinética de acidificación	92
5.2 Reología.....	92
5.3 Post-acidificación	94
5.4 Evaluación sensorial	95
6. Conclusiones	104
7.Bibliografía	107

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1 Objetivos

El objetivo general del presente proyecto es aplicar diferentes tecnologías naturales potenciadoras del dulzor para lograr la reducción del contenido de azúcar en yogures y evaluar su impacto en la percepción del dulzor con respecto al producto tradicional. La aplicación de las tecnologías se realizará tanto en forma individual y combinada sobre una base estándar de yogur reducido en azúcar para analizar los resultados y determinar si existe o no una relación de sinergismo entre ellas. Una vez determinada la combinación y formulación óptima de las tecnologías, esta misma será evaluada en otras bases de yogures comerciales disponibles en el mercado latinoamericano.

Para alcanzar dicho propósito, se definieron los siguientes objetivos específicos:

- Aplicar las tecnologías en forma individual y combinada (posible sinergismo) para evaluar su impacto en la percepción.
- Analizar los resultados obtenidos y compararlos con la base de yogur original.
- Una vez determinada la mejor combinación y formulación de tecnologías, extrapolar esta aplicación a recetas de yogures comerciales relevantes en el mercado latinoamericano y evaluar el perfil del producto final

1.2 Contexto

En las últimas décadas, se observaron cambios muy rotundos en los hábitos alimenticios de la sociedad latinoamericana debido al aumento del consumo de productos ultra procesados. En la figura 1 se puede observar el aumento de las ventas diarias de alimentos ultra procesados en países latinoamericanos entre los años 2009-2019 y también concluir que somos el tercer país, dentro de los analizados en este estudio, con mayores ventas de estos productos.

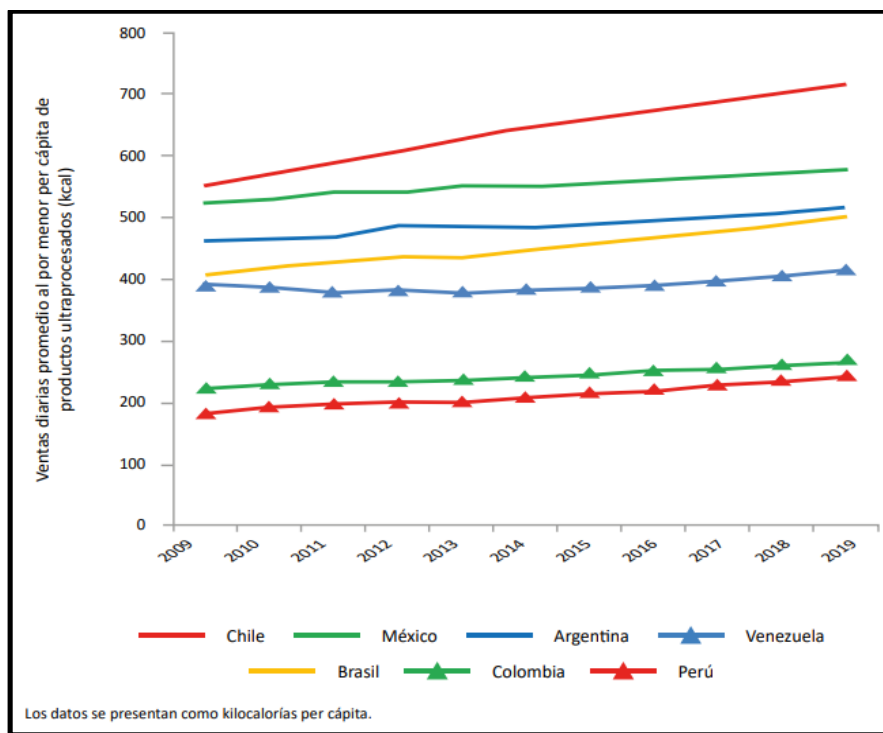


Figura 1: Ventas diarias promedio al por menor per cápita de productos ultraprocesados (kcal)

Fuente: OPS, 2019

El cambio de hábitos alimenticios y la preferencia de los consumidores ante los alimentos ultra procesados crea una alarmante preocupación con respecto al crecimiento de enfermedades asociadas a la alimentación tales como diabetes, sobrepeso, obesidad, hipertensión arterial, entre otras. De acuerdo a la clasificación del sistema NOVA, se entiende como alimentos procesados a aquellos que poseen formulaciones industriales elaboradas a partir de sustancias derivadas de los alimentos o sintetizadas de otras fuentes orgánicas. La mayoría de sus ingredientes son conservantes u otros aditivos como estabilizantes, emulsionantes, endulzantes, saborizantes, entre otros. Son productos listos para el consumo, duraderos, accesibles, atractivos para el consumidor y altamente rentables. Sin embargo, los alimentos ultra procesados presentan un desequilibrio a nivel nutricional ya que poseen un elevado contenido de azúcares libres, sodio, grasas totales y saturadas; y un bajo contenido de

proteínas, minerales, fibra alimentaria y vitaminas (Organización Panamericana de la Salud, 2019).

Como consecuencia del aumento de las ventas y por consiguiente el aumento del consumo de este tipo de alimentos, se observó un incremento de las enfermedades asociadas con la alimentación tales como la obesidad y sobrepeso. Según la Encuesta Nacional de Factores de Riesgo publicada en el año 2019, hubo un aumento significativo entre los resultados obtenidos con respecto al año 2013 en ciertos factores de riesgo particulares. Dentro de la población de estudio se pudo observar que el 25,4% posee obesidad, el 61,6% cuenta con exceso de peso y el 12,7% posee diabetes o hiperglucemia (Ver Figura 2).

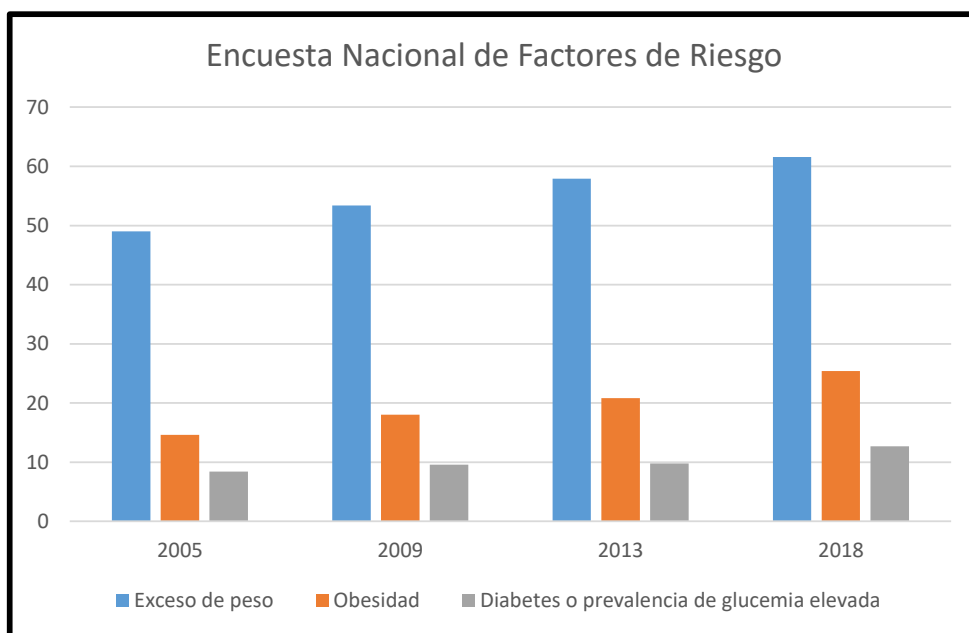


Figura 2: Encuesta Nacional de Factores de Riesgo

Fuente: Ministerio de Salud y Desarrollo Social, 2019

No obstante, el aumento en la prevalencia de enfermedades asociadas a la alimentación no solo es un problema en nuestro país, sino que es una problemática que afecta a todo el continente americano. Como podemos observar en las Figura 3 y 4, el aumento de la prevalencia de obesidad en los últimos 35 años, tanto en niños como en adultos, posee una curva exponencial con valores que preocupan a las autoridades de cada país del continente americano.

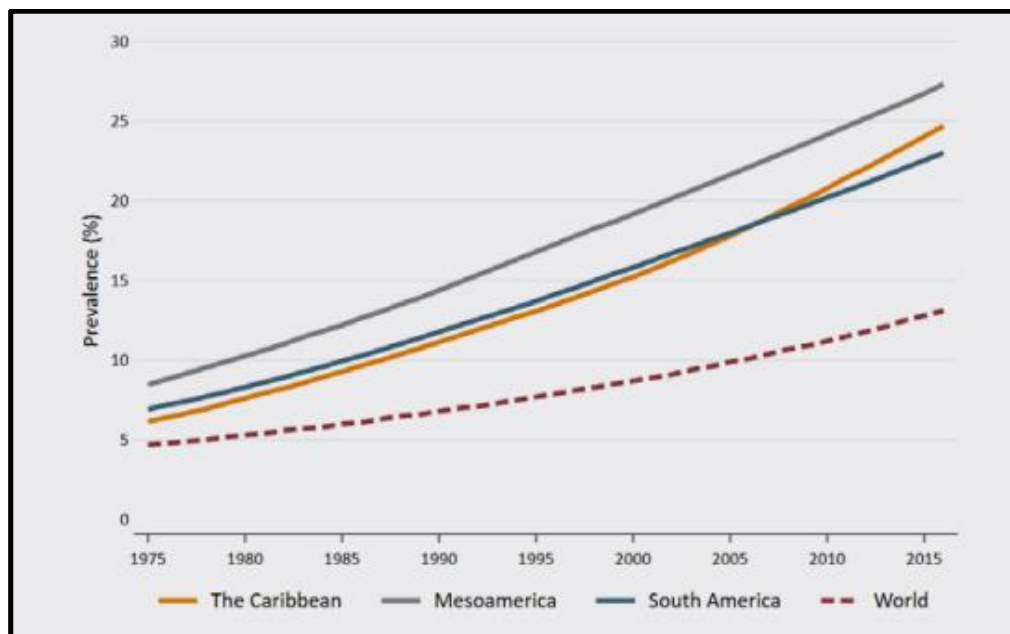


Figura 3: Prevalencia (%) de obesidad en adultos (18 años en adelante) en Latinoamérica, el Caribe y el resto del mundo entre 1975-2016

Fuente: FAO, PAHO, WFP y UNICEF. 2019.

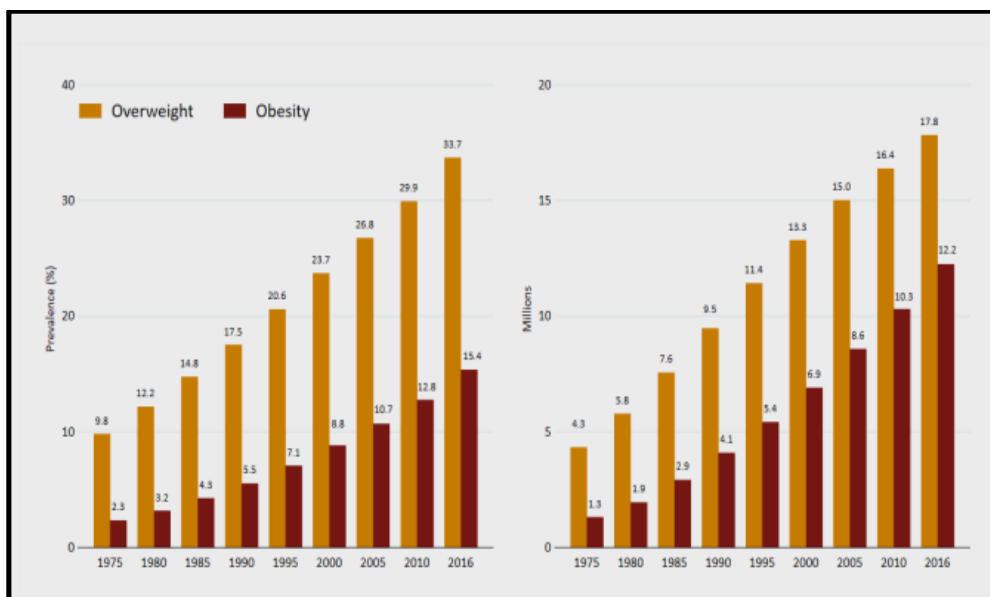


Figura 4: Evolución de sobrepeso y obesidad en niños (entre 5-9 años) en Latinoamérica, el Caribe entre 1975-2016

Fuente: FAO, PAHO, WFP y UNICEF. 2019.

Ante esta situación, organismos internacionales de la salud propusieron diferentes estrategias para afrontar la problemática y lograr disminuir la prevalencia de las enfermedades asociadas a una mala alimentación. Una de las estrategias propuestas es el rotulado frontal de los alimentos envasados, la cual se encuentra implementada en varios países a nivel mundial y en estado de proyecto en otros países. En el caso particular de Argentina, el proyecto de Ley de Etiquetado frontal fue finalmente aprobado el 27 de octubre del 2021 luego de varias horas de debate en la cámara de diputados, y el día 12 de noviembre del 2021, el Gobierno promulgó la Ley 27.642 de Promoción de Alimentación Saludable. A partir de dicha fecha, el Poder Ejecutivo dispone de 90 días para reglamentar la Ley y dictar las normas complementarias que resulten necesarias para su aplicación. Esta ley surge como recomendación de distintos organismos internacionales, como por ejemplo la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), con el objetivo de prevenir enfermedades ocasionadas por una mala alimentación tanto en adultos como en niños.

La ley de Etiquetado frontal busca regular el etiquetado de los alimentos procesados y ultraprocesados con el objetivo de brindar mayor información al consumidor acerca de la composición de los alimentos y en consecuencia que puedan decidir conscientemente acerca de sus elecciones. La finalidad de la misma es garantizar el derecho a la salud y promover una alimentación más saludable para evitar el desarrollo de enfermedades asociadas a la alimentación como por ejemplo hipertensión, diabetes y obesidad. Debido a esto, aquellos alimentos que excedan el límite permitido de calorías y nutrientes críticos: azúcares, sodio, grasas saturadas y grasas trans en su composición; deberán colocar un sello negro en forma de octógono en el frente de su envase que indique “EXCESO EN (NUTRIENTE CRÍTICO)” (Ver figura 5). Los sellos de advertencia deberán cumplir con la forma de octógono y los colores correspondientes, su tamaño no puede ser inferior al 5% de la superficie de la cara principal del envase y el sello no puede estar cubierto, ya sea de forma parcial o total, por ningún otro elemento.



Figura 5: Sellos octogonales negros utilizados como advertencia

Fuente: Organización Mundial de la Salud (OMS)

Otro punto importante al cual hace referencia la ley es acerca del uso de edulcorantes, donde aquellos productos que contengan edulcorantes en su formulación deberán colocar en el frente del envase la leyenda “CONTIENE EDULCORANTES-NO RECOMENDADO PARA NIÑOS”. Esto se debe a ciertos estudios realizados que sugieren la existencia de vínculos entre

el consumo de edulcorantes no nutritivos (ENN) y el aumento del apetito y peso corporal, debido a que los mismos no poseen un poder saciante como el del azúcar. Por otra parte, se insinúa que los ENN podrían estimular los receptores del gusto creando una adicción al sabor dulce. Sin embargo, los resultados de estos estudios continúan siendo inconsistentes y por lo tanto no hay evidencia científica concreta al respecto (Durán *et al*, 2013).

Según la Ley 27.642, los límites para cada uno de los nutrientes críticos especificados anteriormente se basan en el modelo de nutrientes de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), los cuales se detallan en la tabla a continuación (Tabla I). En cuanto al valor energético, todavía no se han definido los límites correspondientes y por lo tanto la autoridad de aplicación debe establecer parámetros específicos para su implementación.

Sodio	Azúcares libres	Otros edulcorantes	Total de grasas	Grasas saturadas	Grasas trans
≥ 1 mg de sodio por 1 kcal	≥ 10% del total de energía proveniente de azúcares libres	Cualquier cantidad de otros edulcorantes	≥ 30% del total de energía proveniente del total de grasas	≥ 10% del total de energía proveniente de grasas saturadas	≥ 1% del total de energía proveniente de grasas trans

TABLA I: Criterios del modelo de perfil de nutrientes de la OPS para indicar los productos procesados y ultraprocesados que contienen una cantidad excesiva de sodio, azúcares libres, otros edulcorantes, grasas saturadas, total de grasas y grasas trans.

Fuente: Modelo de nutrientes OPS, 2016

El término azúcares libres incluye los monosacáridos y disacáridos añadidos a los alimentos y bebidas por el fabricante, más los azúcares naturales presentes en miel, jarabes y jugos de frutas y hortalizas. Por lo tanto, para el caso particular del yogur solo se tendría en

cuenta la cantidad de sacarosa añadida dejando fuera la lactosa propia de la leche ya que no es considerada como un azúcar natural.

Hasta el momento, no se ha establecido un cronograma paulatino de aplicación con los correspondientes límites de nutrientes críticos y valor energético, y es por esa razón que la realización del proyecto se basó en la legislación de México, la cual posee los límites más exigentes dentro de Latinoamérica en cuanto a los nutrientes críticos, y cuenta con la aplicación de fases escalonadas para lograr el cumplimiento de la ley. A continuación, podemos observar los límites a cumplir desde el período de octubre 2020 a septiembre 2023. (Ver Figura 7).

	Energía	Azúcares	Grasas saturadas	Grasas trans	Sodio
Sólidos en 100 g de producto	≥ 275 kcal totales	≥ 10 % del total de energía proveniente de azúcares libres	≥ 10 % del total de energía proveniente de grasas saturadas	≥ 1 % del total de energía proveniente de grasas trans	≥ 350 mg
Líquidos en 100 mL de producto	≥ 70 kcal totales o ≥ 10 kcal de azúcares libres	Se exceptúan de sellos las bebidas con <10 kcal de azúcares libres			Bebidas sin calorías: ≥ 45 mg
Leyenda a usar	EXCESO CALORÍAS	EXCESO AZÚCARES	EXCESO GRASAS SATURADAS	EXCESO GRASAS TRANS	EXCESO SODIO

Figura 7: Límites establecidos de nutrientes críticos para la primera fase de implementación (1 de octubre de 2020 al 30 de septiembre de 2023)

Fuente: Ley de Etiquetado Frontal México

Tal como podemos visualizar en la tabla, se realiza una distinción en los límites de azúcares dependiendo si el alimento clasifica como sólido o líquido. Si consideramos al yogur como un alimento líquido, el producto se encontraría exceptuado del sello “EXCESO DE AZÚCAR” en caso de que las kilocalorías aportadas por los azúcares libres representen un valor menor a 10. Por lo tanto, para cumplir con el límite estipulado por la ley durante esta etapa de implementación estaríamos en condiciones de adicionar hasta 2,49 gramos de sacarosa cada 100 ml de producto teniendo en cuenta que 1 gramo de hidratos de carbono aporta 4 kcal.

Sin embargo, la ley posee un impacto negativo en la industria alimenticia ya que muchos de los productos que se encuentran en la góndola pasarían a obtener un sello en su envase, lo cual podría traer como consecuencia el rechazo por parte del consumidor. Por esta razón, muchas empresas de la industria argentina tales como Coordinadora de las Industrias de Productos Alimenticios (Copal), el Centro de la Industria Lechera (CIL) y la Cámara Azucarera Argentina se oponen a la implementación de la ley ya que poseen como desafío encontrar una solución para adaptar la formulación de ingredientes a los límites establecidos por la ley, y así evitar la colocación de sellos en sus productos. El presente proyecto se enfoca únicamente en la reducción de azúcares y posee como objetivo brindar una solución óptima a la industria que le permita obtener productos similares a los tradicionales evitando el agregado de sellos en las etiquetas.

El azúcar es uno de los ingredientes que forma parte de la formulación tradicional del yogur y su principal función es atenuar la acidez del producto para que sea agradable para el consumidor. Sin embargo, el azúcar no solo contribuye al dulzor, sino que también aporta a los sólidos totales e influye en la textura, viscosidad y cuerpo del yogur. La cantidad de azúcar o edulcorante a añadir depende de varios factores como el tipo de edulcorante o azúcar utilizado, las preferencias de los consumidores, los posibles efectos inhibidores sobre los microorganismos estárter del yogur y las consideraciones económicas (Tamine y Robinson, 1991). El contenido de azúcar (incluyendo los azúcares propios y agregados) de un yogur tradicional varía entre un 6% hasta un 11% dependiendo la variedad y el país de origen al cual nos estamos refiriendo. En nuestro país, los yogures batidos poseen un porcentaje de azúcar añadida que varía entre un 5% y un 7% según los datos brindados por una importante empresa láctea argentina.

En los últimos años, los medios de comunicación iniciaron una campaña negativa contra el azúcar advirtiéndolo a los consumidores acerca de los productos que parecían saludables pero que poseen un alto contenido de azúcar. Un claro ejemplo de esta situación es el caso de México donde una revista popular de dicho país lanzó una nota donde afirmaba que el contenido de azúcar de un yogur es aún mayor al de una bebida gaseosa. (Ver Figura 8). Esta campaña

provocó como consecuencia que los consumidores dejarán de ver al yogur como alimento saludable y por lo tanto redujeron su consumo.



Figura 8: Imagen comparativa entre el contenido de azúcar de un yogurt y una gaseosa

Fuente: Revista del Consumidor 2020

El yogur es un producto consumido tanto por adultos como niños, y es por ello que es importante reducir el contenido de azúcar del mismo para prevenir enfermedades asociadas a los alimentos. Según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la ingesta de azúcar en adultos debe ser menor al 5% de la ingesta calórica diaria, lo que es equivalente a 25 gramos de azúcares totales por día. Es por esta razón que la Ley de Etiquetado Frontal cobra un papel muy importante informando al consumidor acerca de la composición principal del alimento a consumir con el fin de que puedan decidir conscientemente sobre sus hábitos de consumo. De acuerdo a los datos obtenidos por una encuesta realizada sobre una muestra de 423 personas, solo el 55,3% de los encuestados tiene la costumbre de leer las etiquetas de los productos que compran (Ver Figura 9) y al porcentaje restante que no lo hace, se les preguntó acerca de las razones de la negativa. Las dos razones principales por las cuales los consumidores encuestados no leen las etiquetas de los productos que adquieren son: la falta

de conocimiento para la interpretación de las etiquetas con un 37,7% y la segunda causa con un 34,6% es el tamaño pequeño de las letras lo cual dificulta su lectura.



Figura 9: Resultados obtenidos de una encuesta propia

Ante esta respuesta de la muestra representativa encuestada, parece evidente la necesidad del consumidor de contar con alguna herramienta visual para poder informarse rápidamente acerca de los aspectos nutricionales del producto a consumir sin necesidad de tener los conocimientos óptimos para interpretar las etiquetas. Esto mismo se puede ver reflejado en los datos obtenidos por parte de los encuestados (Ver Figura 10), donde el 97,4% desea que los productos contengan una distinción visual con el objetivo de que los consumidores sean más conscientes sobre sus elecciones.

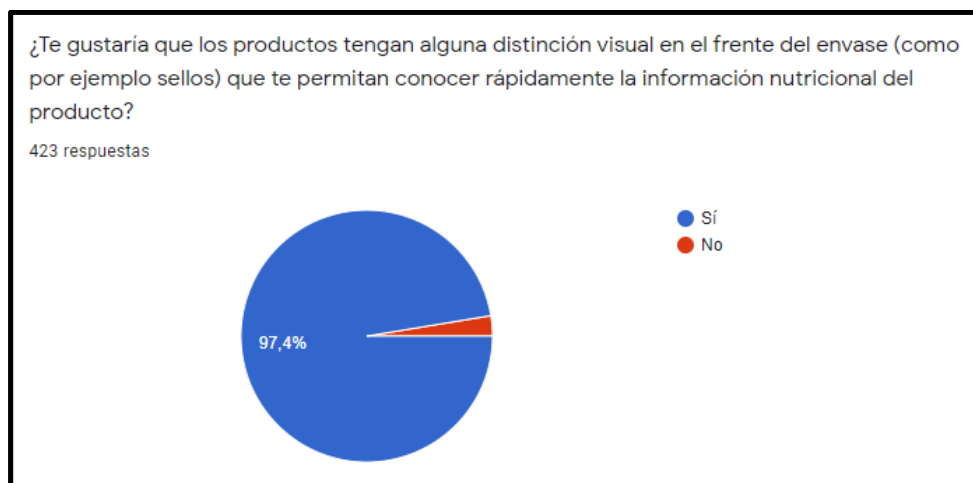


Figura 10: Resultados obtenidos de una encuesta propia

En conclusión, podemos afirmar que la Ley de Etiquetado Frontal es una herramienta útil y necesaria para el consumidor para que el mismo pueda decidir conscientemente sobre sus elecciones alimenticias. Por otra parte, es una medida que el gobierno nacional debe implementar para promover una alimentación saludable y lograr disminuir la prevalencia de enfermedades asociadas a los alimentos.

1.3 Yogur

El yogur es un producto lácteo obtenido a partir de la fermentación de la leche gracias a la acción de bacterias lácticas. La producción de leches fermentadas surge como necesidad de prolongar la vida útil de la leche en lugar de desecharla rápidamente. Es muy difícil determinar el origen puntual del yogur, pero se estima que su primera aparición fue accidental y ocurrió en Medio Oriente aproximadamente en el año 2000 AC, como consecuencia de la necesidad de transportar la leche. Para transportarla utilizaban como contenedor el estómago de las cabras y los colgaban sobre los camellos, por lo tanto, la leche entraba en contacto con los jugos gástricos y gracias al calor proporcionado por el cuerpo del camello y las altas temperaturas ambientales, se producía la coagulación de la leche y la obtención de yogur (Weill, 2017). Luego fueron mejorando el proceso calentando la leche a fuego abierto para eliminar los microorganismos patógenos y modificar las propiedades de la misma. Posteriormente colocaban la leche en

recipientes cerrados y en ambientes cálidos para favorecer la fermentación. Este método fue adoptado por otras sociedades y se fue modificando según las necesidades de cada una de ellas, hasta llegar al proceso industrial que conocemos actualmente.

Las leches fermentadas se obtienen a partir de la coagulación y disminución del pH de leche fluida o reconstituida (hasta un valor de 4,4-4,7), por la acción de bacterias lácticas específicas. Existen una gran variedad de leches fermentadas y entre ellas solo varía las especies de bacterias lácticas utilizadas y la participación de levaduras. La fermentación conserva todos los nutrientes de la leche y además mejora las características nutricionales de ciertos componentes de la leche, aportando al consumidor bacterias beneficiosas para la salud del mismo (Chandan, 2006). Existen aproximadamente 400 productos derivados de la fermentación de la leche donde varía la composición, sabor y textura de los mismos en función de la naturaleza de los microorganismos fermentadores, el tipo de leche utilizada y del proceso productivo aplicado. Sin embargo, podemos destacar que el yogur es una de las leches fermentadas más populares en el mundo. Según el Código Alimentario Argentino, *se entiende por yogur al producto definido como leche fermentada y cuya fermentación se realiza con cultivos protosimbóticos de **Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus** y **Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus** a los que en forma complementaria pueden acompañar otras bacterias acidolácticas que, por su actividad, contribuyen a la determinación de las características del producto terminado.* (Ver Figura 11 y 12). Los microorganismos responsables de la fermentación láctica deben ser viables y estar presentes en el producto final durante su período de validez en cantidad mínima de 10^7 UFC/gramo.



Figura 11: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*

Fuente: Joint Genome Institute, 2021



Figura 12: *Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus*

Fuente: Science Photo Library, 2021

El yogur es un producto que ha ido ganando popularidad a través de los años debido, entre otros aspectos, a los beneficios percibidos hacia la salud. Históricamente, siempre se ha asociado a este producto con atributos saludables, sin embargo, a inicios del siglo XX se

demonstró científicamente la relación entre el yogur y la salud gracias a los estudios realizados por Metchnikoff en el instituto Pasteur. A través de los resultados obtenidos, se pudo explicar que las bacterias ácido lácticas y los productos elaborados por ellas previenen el crecimiento de bacterias anaerobias formadoras de esporas en el intestino grueso (Parra Huertas, 2012). Según Panagiotis y Tzia, *el interés en la fabricación de yogur se ha incrementado en los últimos 20 años por razones científicas y comerciales*. Con respecto a lo científico, se ha comprobado que nuevos productos lácteos benefician la salud humana ya que cuentan con cultivos probióticos, como así también representan una fuente de proteínas y calcio. Por otra parte, las características sensoriales fueron mejorando a lo largo de los años y, por lo tanto, esto provocó un aumento de la demanda por parte de los consumidores.

Los productos lácteos han ido ganando mercado a nivel mundial a lo largo de los años, y por consecuencia su consumo también se incrementó en las últimas décadas. En la Figura 13 podemos observar los países con mayor consumo de productos lácteos (incluyendo leche, yogur y quesos entre otros) en el año 2020, siendo Argentina uno de los principales países con mayor consumo de estos productos.

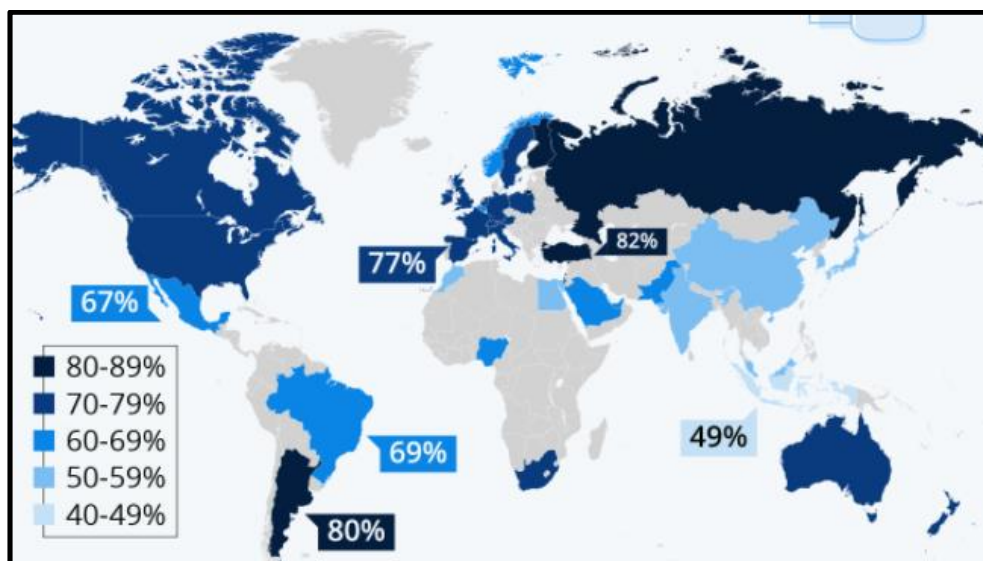


Figura 13: Países con mayor consumo de productos lácteos en el año 2020

Fuente: Statista Global Consumer Survey

En Argentina, el consumo de yogur tuvo variaciones por períodos a lo largo de los años donde podemos observar un crecimiento durante los años 2000-2008 alcanzando el pico de consumo en el año 2008 con un valor de 519.475 litros por año. Posteriormente, el consumo de yogur se mantuvo en los años siguientes y la disminución comenzó a ser evidente en el año 2014 donde el consumo se redujo en un 13,2% con respecto al pico del año 2008. (Ver Figura 14).

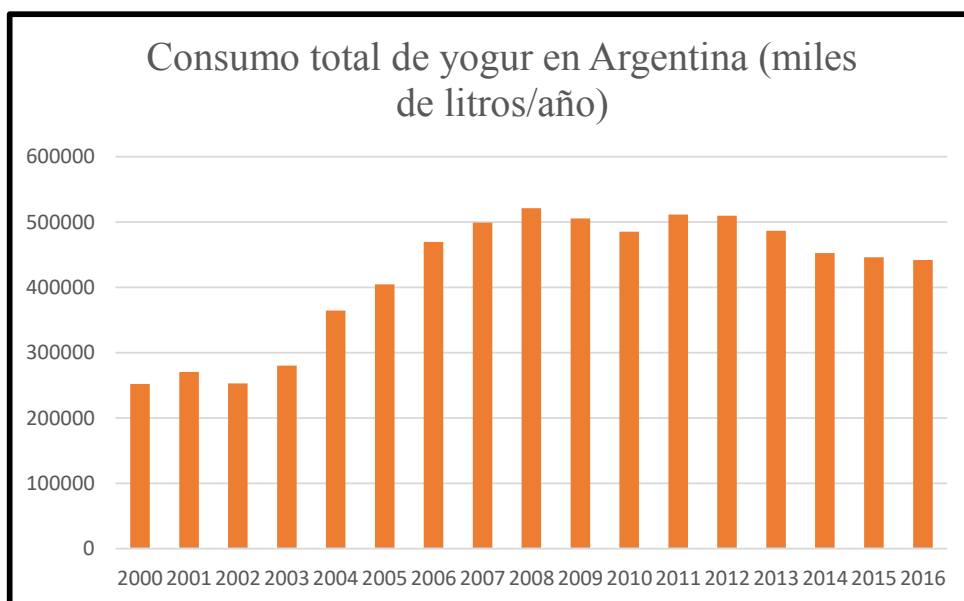


Figura 14: Consumo total de yogur en Argentina (miles de litros) entre el año 2000 y 2016.

Fuente: Datos obtenidos de la dirección nacional de Lechería

Como podemos observar en la Figura 15, la elaboración de yogur comenzó a disminuir progresivamente desde el año 2015 alcanzando el pico más bajo en los últimos 10 años.



Figura 15: Elaboración de yogur en miles de litros desde el año 2015 a 2020

Fuente: Datos obtenidos de la dirección nacional de lechería

La disminución en la elaboración y consumo de yogur se debe principalmente a la caída del nivel adquisitivo de los consumidores junto el constante aumento de precios, y otro factor que influye a nivel macroeconómico es la caída del PBI per cápita en los últimos 10 años el cual se ve relacionado con la disminución del consumo de leche. (Ver Figura 16)

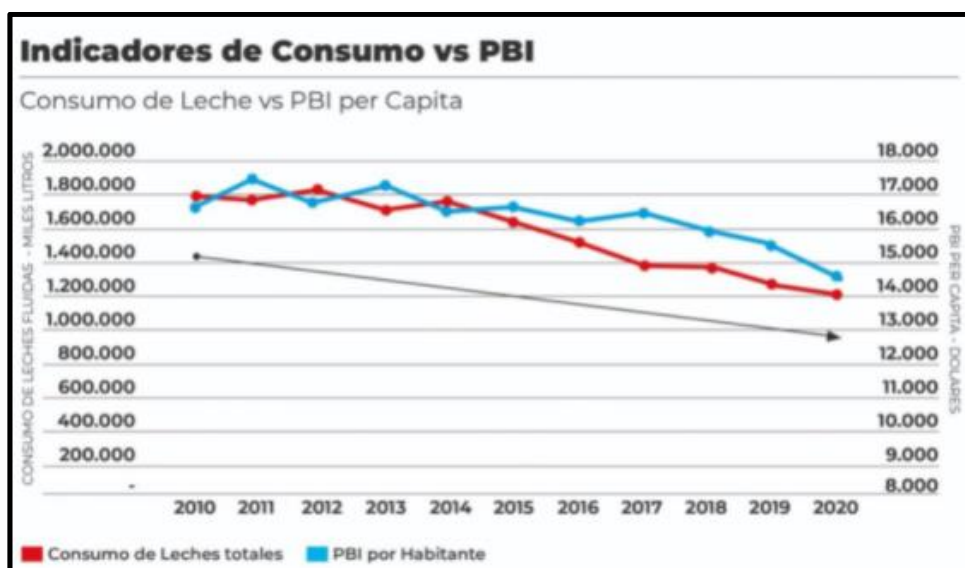


Figura 16: Consumo de leche vs PBI per cápita desde el año 2010 a 2020

Fuente: MINAGRI

Los yogures se diferencian entre sí en base a la formulación (contenido graso, contenido proteico, azúcares, estabilizantes), según el cultivo seleccionado, parámetros de procesamiento (tales como temperatura, presión, pH), agregado de pulpa o saborizantes y por último debido al agregado de ingredientes funcionales tales como probióticos o prebióticos. Por lo tanto, partiendo de un mismo cultivo se pueden obtener productos finales muy diferentes dependiendo de las variables mencionadas anteriormente (Alem, 2015).

A continuación, en la Figura 17 se pueden observar los principales factores que afectan la estructura del producto final.

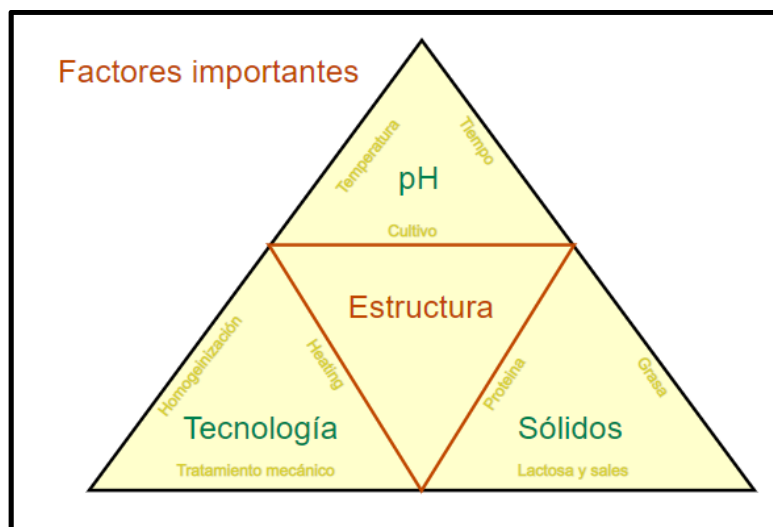


Figura 17: Factores que afectan la estructura de productos lácteos

Fuente: Alem, 2015

Por lo tanto, el yogur se puede clasificar en base a la composición química, proceso productivo, tipo de sabor y procesamiento post-incubación (Tamine y Deeth, 1980). La clasificación más utilizada es en función del proceso productivo y la estructura física del coágulo, donde podemos diferenciar dos grandes clasificaciones:

- Firme: aquel producto donde la fermentación se lleva a cabo en el envase donde será comercializado.
- Batido: aquel producto donde la fermentación se realiza en tanques de fermentación y luego se produce la ruptura del coágulo a través de acción mecánica. Posteriormente se procede al envasado y comercialización del producto final.

Como se puede observar en la Figura 18, todo el proceso productivo es común para ambos yogures, y únicamente la diferencia radica en la etapa productiva de la fermentación.

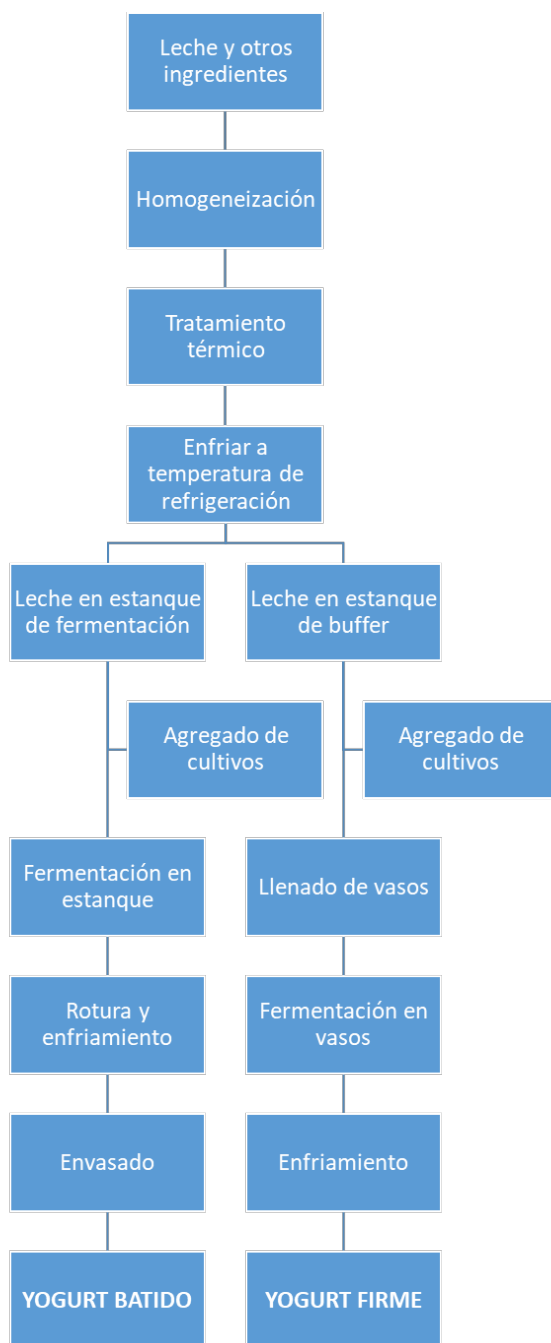


Figura 18: Etapas del proceso productivo de elaboración para yogur batido y firme

Fuente: Alem 2015

1.4 Proceso productivo

1.4.1 Estandarización de proteína y contenido graso

Partiendo de la leche como materia prima básica es necesario realizar un tratamiento preliminar antes de comenzar el proceso productivo en sí. La composición de la leche fresca no es constante a lo largo de todo el año y existen variaciones dentro de la misma raza por factores como la edad del animal, el estado sanitario de la ubre, la alimentación, la estación del año, entre otros. Con el objetivo de evitar estas variaciones dentro de la composición de la leche se realiza la estandarización de la misma para lograr cumplir con las especificaciones exigidas por la ley y para estandarizar la calidad del yogur a obtener (Tamine y Robinson, 1991).

Según el Código Alimentario Argentino (CAA)-Capítulo 8, las leches fermentadas se pueden clasificar según su contenido graso en:

- Con crema: aquellas que contengan un mínimo de 6 g/100 g.
- Enteras: aquellas cuyo contenido de grasa mínimo sea de 3,0 g/100 g y con un máximo de 5,9 g/100 g.
- Parcialmente descremadas: aquellas cuyo contenido mínimo sea de 0,6 g/100 g y con un máximo de 2,9 g/100 g.
- Descremadas: aquellas cuyo contenido máximo sea de 0,5 g/100 g.

Para lograr la estandarización de contenido graso de la leche se pueden utilizar distintos métodos como la eliminación parcial de la grasa, mezcla de leche entera con leche descremada, adición de crema o utilización de centrífugas. El contenido graso tiene una gran influencia en las características del producto final, debido a que un aumento en el contenido graso se traduce en aumento de la consistencia y viscosidad del yogur (Sfakianakis y Tzia, 2014).

En el caso de proteínas lácteas, el CAA establece que las leches fermentadas deberán contar con un mínimo de 2,9 g/100 g. La leche es la principal fuente de proteínas sin embargo puede ser necesaria la adición de leche en polvo con el objetivo de aumentar el contenido de proteínas y los sólidos totales. Las proteínas tienen un papel fundamental ya que la viscosidad y la consistencia del coágulo depende de ellas, y relacionado a ello, los sólidos totales o extracto seco también contribuye a la consistencia y viscosidad del producto final. El contenido de

sólidos totales puede variar en un rango de 9% en yogures descremados hasta un 20% en otro tipo de yogures, aunque el rango recomendado suele ser entre un 14-18%. (Tamine y Robinson, 1991)

Es importante definir el porcentaje de proteínas requerido en la base estándar de yogur ya que es uno de los parámetros que afectan la velocidad de acidificación y por lo tanto repercute en el producto final. En la Figura 19, se puede observar el efecto del contenido de proteínas sobre el tiempo de acidificación partiendo de una base tratada a la misma temperatura y utilizando el mismo cultivo. Como podemos observar, aquellas bases con menor contenido de proteína son las que acidifican más rápido en comparación con bases de mayor contenido proteico.

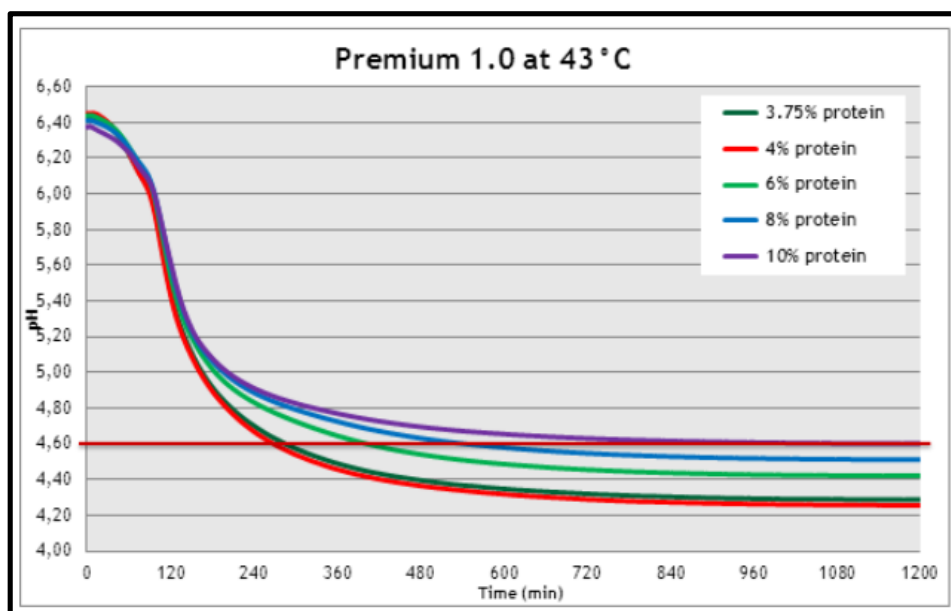


Figura 19: Efecto de la concentración proteica sobre el tiempo de acidificación a 43°C

Fuente: Alem,2015

1.4.2 Homogeneización

La homogeneización consiste en la formación de una emulsión homogénea de 2 líquidos inmiscibles. La leche destinada a la elaboración de yogur es una emulsión del tipo “aceite en agua”, es decir que las gotas de aceite o grasa se encuentran dispersas en la fase acuosa. En este tipo de emulsiones la grasa tiende a separarse de la fase acuosa formando una película superficial, y para evitar este fenómeno la leche se somete al proceso de homogeneización. La leche destinada a la elaboración de yogur se somete a temperaturas entre 50-70 °C y a presiones entre 100-200 kg/cm² para lograr el tamaño de glóbulo graso requerido y evitar la separación de fases.

El proceso de homogeneización consta de forzar el paso de la leche por un pequeño orificio a elevada presión provocando la ruptura de los glóbulos grasos, y como consecuencia los mismos serán menos propensos a la separación de la fase acuosa. El proceso se puede realizar en una o dos etapas dependiendo las características del producto (Tamine y Robinson, 1991). La homogeneización en una etapa se utiliza para productos con bajo contenido de grasa y aquellos que requieren una alta viscosidad, en cambio el proceso en dos etapas se aplica para productos con alto contenido graso, alto contenido de sólidos o para productos donde se busca una baja viscosidad (Chandan, 2006). El tamaño general de los glóbulos grasos presentes en la leche oscila entre 1-10 µm (micrómetros) y a través del proceso de homogeneización se reduce el tamaño de los mismos a un valor < 1 µm y se logra un incremento de la superficie de los nuevos glóbulos grasos.

Desde el punto de vista técnico, los homogeneizadores son máquinas de alta presión donde la presión es aportada y creada a partir de pistones alternativos. Estos equipos están conformados principalmente por una bomba de presión y una válvula de homogeneización, donde la bomba se utiliza para forzar el paso del fluido a través de la válvula. La bomba de presión está constituida de 3 a 5 pistones, los cuales se encuentran accionados por un motor eléctrico de alta potencia y cada pistón se desplaza en el interior de un cilindro de alta presión sobre el que se monta la válvula de homogeneización. El cilindro de cada pistón posee dos válvulas: válvula de succión (ubicada en la base del cilindro) y válvula de descarga (ubicada en la parte superior). La leche previamente presurizada pasa a través de una abertura pequeña y

luego fluye hacia una zona de presión atmosférica, lo que provoca una caída de presión causando la ruptura de los glóbulos grasos los cuales serán más estables (Ver Figura 20). En los homogeneizadores de alta presión más modernos, el fluido se alimenta de forma axial a la parte móvil de la válvula y luego se acelera radialmente a través del espacio entre la válvula y el asiento de la misma. *“La eficacia de la homogeneización depende principalmente del diseño de la válvula de homogeneización y de la presión aplicada durante el proceso”* (Tamine y Robinson, 1991)

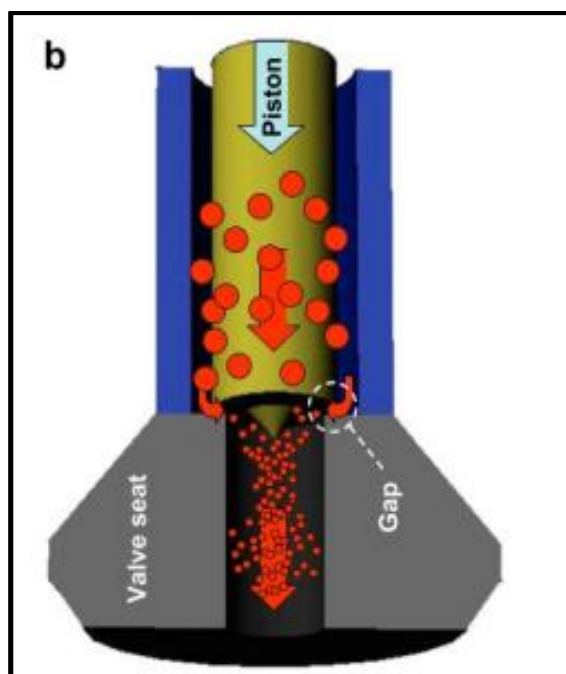


Figura 20: Esquema de funcionamiento de homogeneizador

Fuente: Mayta-Hanco *et al*, 2020

Como consecuencia del paso de la leche a través de la válvula de homogeneización, se ven afectadas las características de las proteínas propias de la leche como la caseína y las proteínas séricas. Según Jhony Mayta-Hanco *et al*, se produce la ruptura y disminución del tamaño de las micelas de caseína junto con la desnaturalización de las proteínas séricas provocando la incorporación de las micelas y sub micelas de caseína a la membrana de los glóbulos grasos. Este proceso evita la tendencia a la floculación de los glóbulos grasos debido

a que aumenta la densidad de los mismos, y el color de la leche es más blanco ya que el mayor número de glóbulos grasos aumenta la dispersión y reflexión de la luz (Tamine y Deeth, 1980). Otro efecto causado por este proceso es el aumento de viscosidad del producto final como consecuencia del cambio en la capacidad de retención de agua de las proteínas de la leche, y también la disminución de la sinéresis.

Los efectos de la homogeneización son los siguientes:

- Disminución del diámetro de los glóbulos grasos
- Evita la floculación de glóbulos grasos.
- Provoca la desnaturalización de las proteínas de lactosuero
- Mejora la viscosidad y textura del producto

El tamaño del glóbulo de grasa que se obtiene luego del proceso de homogeneización depende de la presión aplicada. Como se puede observar en la Figura 21, cuanto mayor es la presión aplicada durante el proceso, menor será el tamaño del glóbulo graso.

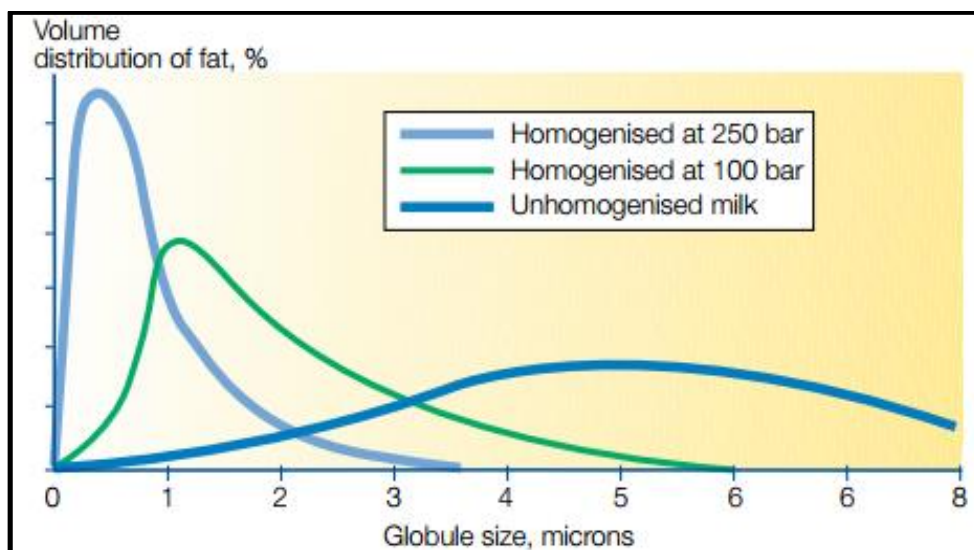


Figura 21: Efecto de la presión aplicada sobre el tamaño del glóbulo graso

Fuente: Gosta Bylund, 1996

1.4.3 Tratamiento térmico

El tratamiento térmico es el proceso que permite la destrucción de las formas vegetativas de microorganismos patógenos y otros microorganismos indeseables, como hongos y levaduras, asegurando que el cultivo estéril quede libre de competidores. También provoca cambios en las propiedades fisicoquímicas de la leche que afectan las características del producto final.

Existen distintas combinaciones de tiempo-temperatura para lograr la pasteurización de la mezcla base para la elaboración de yogur pudiendo aplicar una pasteurización baja de temperaturas bajas y tiempos largos (LTLT), donde los parámetros productivos son 63°C durante 30 minutos, o un tratamiento de alta temperatura y tiempos cortos (HTST) utilizando 90°C y 5 minutos. Durante el tratamiento se logra la destrucción de la mayor parte de las formas vegetativas de microorganismos indeseables, excepto algunos microorganismos esporulados, y la inactivación de la mayoría de las enzimas, exceptuando las enzimas de la leche (particularmente la plasmina) y algunas lipasas y proteasas bacterianas (Sfakianakis y Tzia, 2014).

Con respecto al cambio en las propiedades fisicoquímicas de la leche, el efecto sobre las proteínas es uno de los más influyentes. El tratamiento térmico aumenta la estabilidad del coágulo y disminuye la sinéresis durante el almacenamiento del yogur gracias al efecto que posee el calor sobre las proteínas. Las proteínas de la leche están compuestas por 3 fracciones: caseínas, proteínas del lactosuero y peptona; siendo las caseínas la fracción mayoritaria en la composición. Las caseínas se encuentran en la leche en forma de micelas formadas por α 1-caseína, α 2-caseína y β -caseína estabilizadas por moléculas de κ -caseína y unidas gracias a la presencia de calcio y fosfato de calcio. Por otra parte, las proteínas del suero poseen una forma globular y su estructura es estable (Sfakianakis y Tzia, 2014).

Las caseínas son termoestables pero las proteínas del lactosuero se desnaturalizan a temperaturas superiores de 65 °C, y por encima de los 80°C se produce la unión mediante puentes de azufre entre la β -lactoglobulina y la κ -caseína presente en las micelas de caseína (Ver figura 22). Esto provoca que las micelas de caseína aumenten de tamaño formando una

matriz reticular que retiene la fase acuosa dentro de ella, y por la tanto se obtiene como consecuencia un coágulo con menor susceptibilidad a la sinéresis (Roser Romero del Castillo y Lagarriaga, 2004).

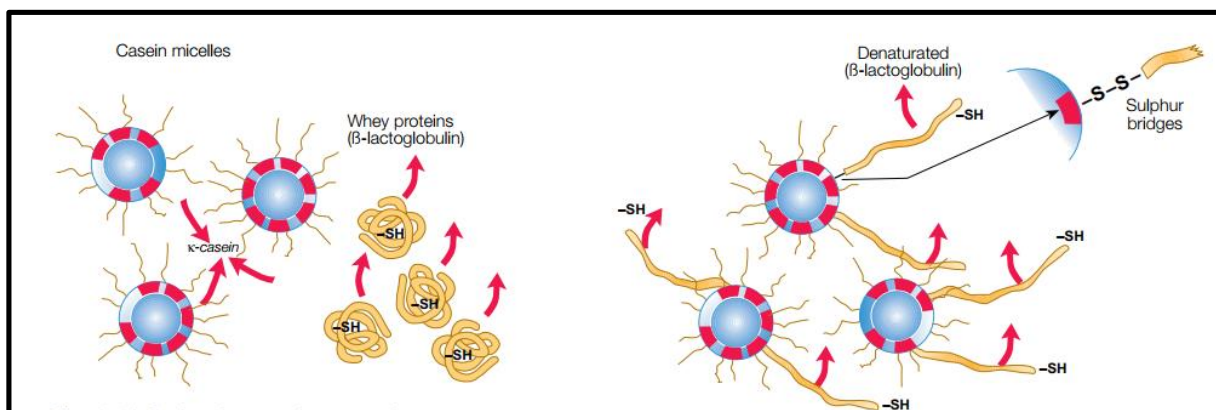


Figura 22: Unión de la κ -caseína a la β -lactoglobulina durante la desnaturalización

Fuente: Gosta Bylund, 1996

Las caseínas poseen un papel fundamental en la elaboración de yogur ya que la formación del gel se debe a la desestabilización de las caseínas. En el caso del yogur, es un gel ácido que se forma como consecuencia de la fermentación ácida de la leche.

Haciendo foco en las condiciones del tratamiento térmico, para que se produzca la transferencia de calor es fundamental que los fluidos presenten temperaturas distintas, donde el flujo de calor se dirige desde la zona de mayor temperatura a la zona de menor temperatura. Para lograr la transferencia de calor se utilizan intercambiadores de calor, los cuales pueden ser: de placas, casco y tubo, superficie rascada. En la industria láctea, los más utilizados son los intercambiadores de placa, donde la transferencia se manifiesta a través de convección (fluido caliente y fluido frío) y por conducción (a través de las placas de acero inoxidable) (Gösta Bylund, 1996). En estos equipos la leche se procesa de forma continua y las ventajas con respecto a los intercambiadores de calor discontinuos son: ocupan menos espacio, precisan menos energía debido a la mayor eficacia en la transferencia de calor, permiten incrementar la productividad y el sistema de operación es más versátil.

El intercambiador consta de un conjunto de placas sujetas por un bastidor, donde las mismas se empaquetan logrando un volumen pequeño. Según Tamime y Robinson, para el calentamiento de la leche son aconsejables placas muy juntas ya que la leche fluye formando una lámina fina a lo ancho de la placa lo cual permite un rápido intercambio de calor; pero para el enfriamiento del yogur ya coagulado es necesario utilizar una mayor separación para evitar una disminución excesiva de la viscosidad del producto.

El fluido calefactor que se utiliza suele ser agua caliente o vapor de agua (en el caso donde sea necesario calentar la leche a temperaturas superiores a 100°C). En cada una de las placas circula el fluido calefactor por una de las caras en cierta dirección y del lado opuesto circula con dirección opuesta el fluido a calentar, en nuestro caso nos referimos a la leche cruda que se pasteuriza. Las placas poseen un diseño rugoso para lograr un flujo más turbulento y aumentar la superficie de intercambio lo que permite aumentar la eficacia de la transmisión de calor. Adicionalmente, las placas poseen juntas de goma para evitar fugas y como consecuencia el mezclado de los fluidos, lo cual provocaría una contaminación de los mismos.

Las etapas de un intercambiador de calor a placas constan de una zona de regeneración, zona de calentamiento, zona de retención y zona de enfriamiento. Cada sección posee un gran número de placas para lograr el intercambio de calor necesario. En la Figura 23, se puede observar un esquema del funcionamiento de la transferencia de calor.

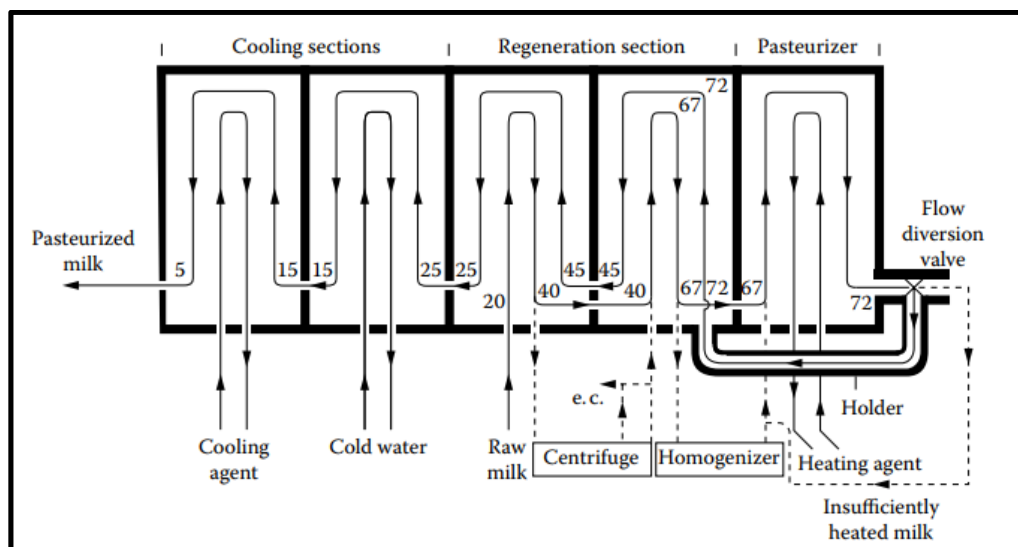


Figura 23: Esquema de funcionamiento de un intercambiador de calor con sus respectivas etapas

Fuente: Walstra,2006

En la zona de regeneración se utiliza la leche ya pasteurizada para precalentar la leche cruda que ingresa al equipo y a su vez se logra pre-enfriar la leche pasteurizada antes de la etapa de refrigeración, con la finalidad de aprovechar con mayor eficacia y economía la energía consumida.

Con respecto a la zona de retención, el objetivo es lograr la combinación tiempo-temperatura que satisfaga las exigencias legales. Para ello, se utiliza un tubo de retención de acero inoxidable dispuesto en forma de espiral o zigzag para minimizar el espacio que ocupa y lograr la retención deseada. El largo de la tubería y el caudal de producto que circula por la misma es calculado para lograr la combinación de temperatura y tiempo necesaria para asegurar una correcta pasteurización.

A escala piloto, los intercambiadores no cuentan con una zona de regeneración, sino que suelen utilizarse dos intercambiadores de calentamiento y dos de enfriamiento. Con respecto a los intercambiadores de calentamiento, el primero de ellos se utiliza para aumentar la temperatura de la mezcla base para que ingrese al homogeneizador y el segundo se utiliza para llevar la mezcla a temperatura de pasteurización antes de ingresar al tubo de retención. Por otro

lado, los intercambiadores utilizados para el enfriamiento permiten disminuir gradualmente la temperatura de la mezcla base pasteurizada ya sea a temperatura de fermentación (si se fermenta en el momento) o a temperatura de refrigeración (si se fermenta al día siguiente).

No obstante, una de las principales desventajas que posee este tipo de intercambiadores es la probabilidad de que se originen fugas ya sea por un desperfecto o como consecuencia del desgaste de las juntas que separan ambas placas. Este fenómeno puede generar la contaminación de la leche ya pasteurizada debido a la mezcla con la leche cruda, pero para prevenir esta situación el producto de salida del tubo de retención debe tener una presión mayor al fluido que ingresa al mismo. Esto mismo permite que en caso de presencia de fugas la leche ya pasteurizada fluya hacia la leche sin pasteurizar y no viceversa (Walstra, 2006).

1.4.5 Fermentación

La fermentación es la etapa clave en el proceso productivo debido a que se inoculan y se incuban los cultivos de bacterias ácido lácticas (BAL). Son bacterias que producen ácido láctico como producto de la fermentación de la lactosa presente en la leche y que contribuyen al sabor, aroma, textura del producto final. Las características de las bacterias ácido lácticas se detallan a continuación:

- Bacterias Gram positivas.
- Producen gran cantidad de ácido láctico.
- No producen esporas.
- Son anaerobias, pero también son aerotolerantes.
- Son poco proteolíticas y poco lipolíticas (Roser Romero del Castillo y Lagarriaga, 2004).

Según la ruta metabólica utilizada para hidrolizar las hexosas producidas a partir de la lactosa, las BAL se pueden clasificar en homofermentativas, cuando a partir de una molécula de lactosa producen cuatro de ácido láctico, y heterofermentativas, cuando producen dos moléculas de ácido láctico a partir de una de lactosa. Adicionalmente, se pueden clasificar de

acuerdo a la temperatura óptima de crecimiento en mesófilas (cuya temperatura óptima es 20-25 °C) o termófilas (cuya temperatura es 40-45 °C). Para la elaboración del yogur se utilizan bacterias homofermentativas termófilas, donde se incluyen las especies *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Streptococcus salivarius subsp thermophilus*. Según Tamine y Robinson, existe una relación simbiótica entre ambos microorganismos provocando que la producción de ácido láctico sea mucho mayor en comparación a la producción individual. (Ver Figura 24).

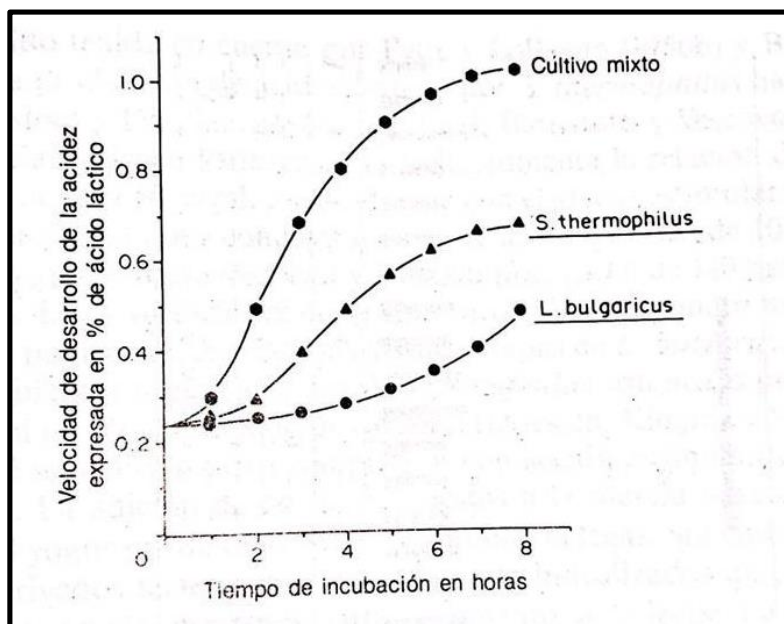


Figura 24: Comportamiento de cepas puras y mixtas de cultivos de yogur sembrados e incubados a 40°C en leche desnatada esterilizada en autoclave y sembrada con un 2% de cultivo

Fuente: Tamine y Robinson, 1991

La relación simbiótica se debe a que los lactobacilos liberan péptidos pequeños y aminoácidos, especialmente valina, como consecuencia de la actividad proteolítica que poseen y estos compuestos favorecen el crecimiento de los estreptococos. A su vez los estreptococos producen ácido fórmico y dióxido de carbono los cuales son necesarios para el desarrollo de los lactobacilos, y así se establece la simbiosis entre ambos (Ver Figura 25). Durante la

fermentación, la proporción entre los dos microorganismos varía ya que inicialmente los estreptococos crecen con mayor velocidad debido a la presencia de los factores de crecimiento sintetizados por los lactobacilos, pero luego se enlentece su desarrollo como consecuencia del ácido producido. Paralelamente, los lactobacilos empiezan a crecer más rápidamente ya que se encuentran estimulados por los factores de crecimiento sintetizados por los estreptococos y por lo tanto se alcanza un equilibrio entre ambos microorganismos (Roser Romero del Castillo y Lagarriaga, 2004).

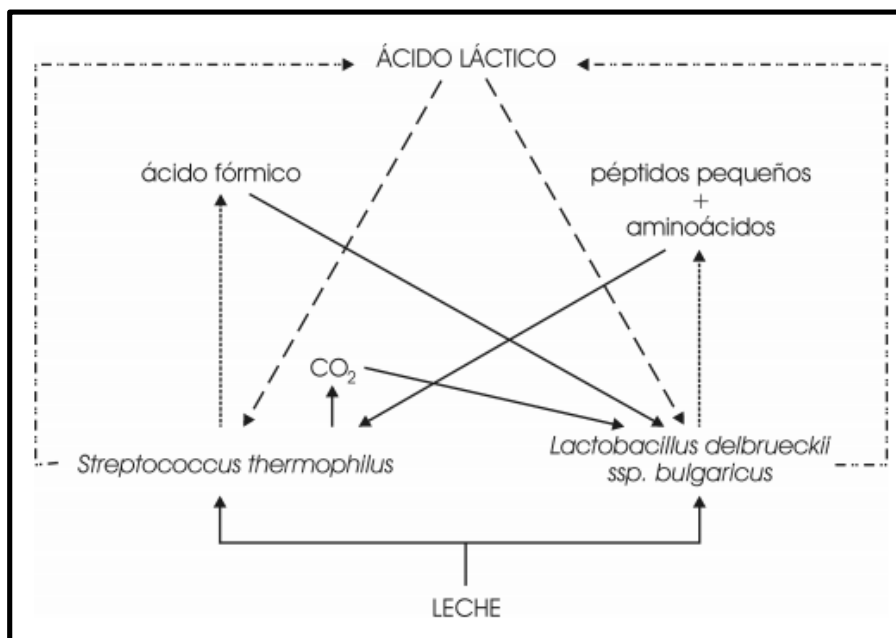


Figura 25: Simbiosis entre *St. Thermophilus* y *Lb. delbrueckii*, relacionando los productos y sustratos que giran en torno a ambas cepas

Fuente: Roser Romero del Castillo y Lagarriaga, 2004

La proporción óptima de ambas bacterias dentro del mix de inoculación suele ser de una ratio de cocos a bacilos entre 1:1 y 2:1, y es importante recalcar que la proporción de bacilos nunca debe exceder a los cocos ya que en ese caso el yogur sería demasiado ácido. Los factores que afectan la ratio entre ambos microorganismos son: la temperatura de incubación, tiempo de incubación y porcentaje de inóculo. Haciendo foco en el parámetro temperatura, se puede

observar en la Figura 26, que a temperaturas cercanas a 40°C es mayor la proporción de cocos sobre bacilo, en cambio a medida que la temperatura aumenta la proporción de bacilos supera a la de cocos.

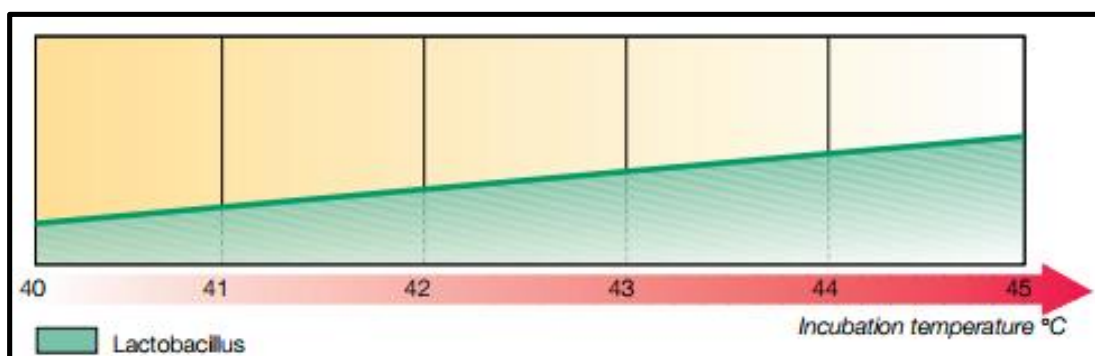


Figura 26: Efecto de la temperatura de incubación sobre la cantidad relativa de *St. salivarius ssp. thermophilus* (representado por color amarillo) y *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* (representado por color verde) a dosis y tiempo de incubación constantes

Fuente: Gösta Bylund, 1995

Es por esta razón que se demostró que la temperatura óptima de crecimiento de los cultivos mixtos es entre 42-43°C. “Aunque la actividad de los cultivos mixtos es óptima a 45°C se recomienda, para alcanzar la relación 1:1 entre *S.thermophilus* y *L. bulgaricus*, incubar a 42°C utilizando un inóculo del 2%.” (Tamine y Robinson, 1991)

Con respecto al metabolismo microbiano, el primer paso es el metabolismo de la lactosa, la cual debe ser transportada al interior de la célula bacteriana para poder ser hidrolizada posteriormente. Las bacterias homofermentativas termófilas utilizan el sistema permeasa ATP-dependiente para transportar la lactosa a través de la membrana sin modificaciones químicas, donde la energía se provee en forma de fuerza motriz de protones desarrollada por la ATPasa a expensas del hidrólisis de ATP. Posteriormente, la lactosa se hidroliza en glucosa y galactosa gracias a la acción de la enzima β -galactosidasa. (Ver Figura 27) (Roser Romero del Castillo y Lagarriaga, 2004).

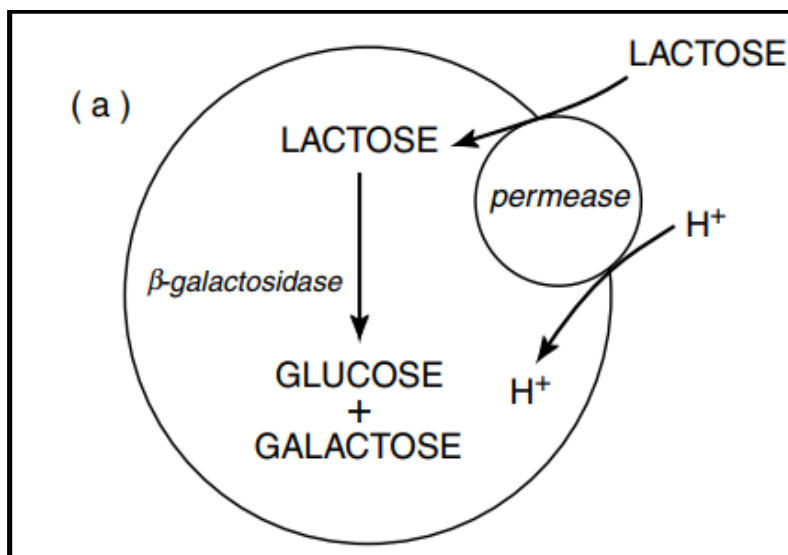


Figura 27: Esquema de metabolización de la lactosa en bacterias homofermentativas

Fuente: Walstra, 2006

Por un lado, la glucosa se metaboliza obteniendo piruvato a partir de la vía Emben-Meyerhoff y el piruvato se convierte en ácido láctico debido a la acción de la enzima lactato deshidrogenasa (Ver Figura 28). Por otra parte, la galactosa se excreta hacia el exterior de la célula y se acumula en el medio ya que las bacterias no poseen las enzimas necesarias para metabolizarla, lo cual contribuye a la textura cremosa del yogur (Yildiz, 2010).

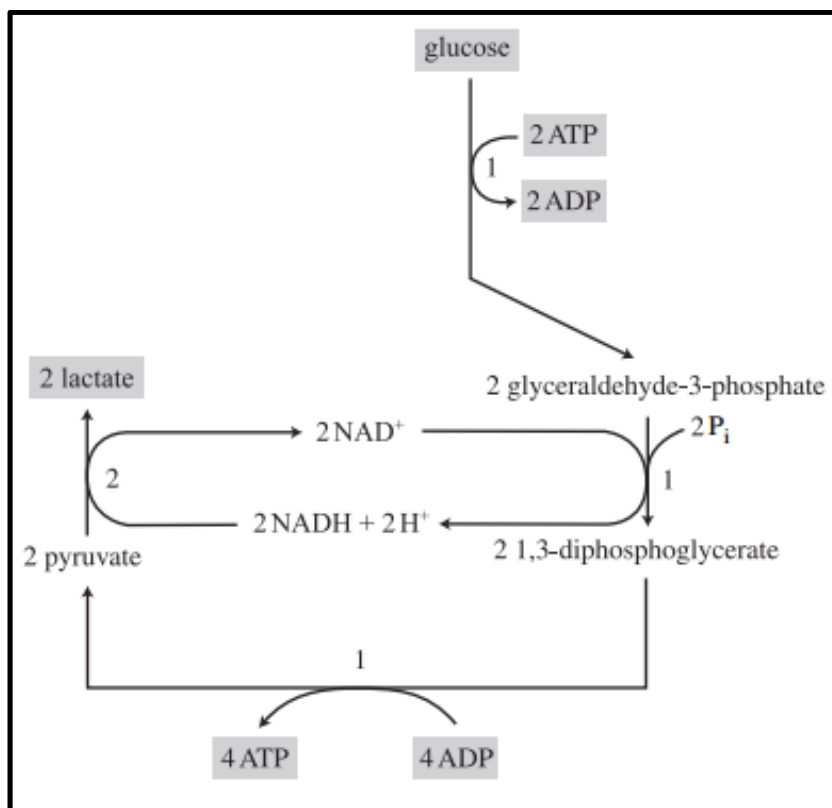


Figura 28: Esquema de fermentación láctica en bacterias homofermentativas

Fuente: Kim y Gadd, 2008

En conclusión, el metabolismo de la lactosa se puede simplificar con la siguiente ecuación



Según Tamine y Robinson, los cultivos estarter son los principales responsables de la producción de compuestos responsables del aroma del yogur, los cuales pueden ser agrupados en 4 categorías: ácidos no volátiles (láctico, pirúvico, oxálico), ácidos volátiles (fórmico, acético, propiónico), compuestos con grupos carbonilo (acetaldehído, acetona, diacetilo) y grupo heterogéneo de sustancias (incluidas aminoácidos y compuestos de degradación de proteínas). Sin embargo, se ha demostrado que el aroma y flavor del yogur se deben

básicamente a la producción de ácido láctico y de compuestos carbonilos (siendo el principal el acetaldehído)

El ácido láctico posee un papel fundamental en la elaboración del yogur debido a dos grandes razones: contribuye a la desestabilización de las micelas de caseína dando lugar a la formación del gel y además proporciona al yogur su sabor tradicional ácido. (Tamine y Robinson, 1991).

El acetaldehído es el principal componente aromático responsable del aroma y sabor típicos del yogur. Se obtiene principalmente a partir de la ruptura de la molécula de treonina (la cual se encuentra presente naturalmente en la leche) en acetaldehído y glicerina gracias a la acción de la enzima treonina aldolasa, la cual se encuentra presente en ambos microorganismos fermentadores. Sin embargo, se ha demostrado que *Lb. Bulgaricus* es el principal responsable de las características de aroma y sabor propios del yogur y que *S. Thermophilus* tiene poca influencia en este aspecto. Esto se debe a que, en las condiciones de manufactura del producto, la actividad de la treonina aldolasa proveniente de *Lb. Bulgaricus* se encuentra activa mientras que en el caso de *S. Thermophilus* la actividad de la enzima se encuentra disminuida significativamente (Routray y Mishra, 2011). La formación de acetaldehído no es evidente hasta que se alcanza un pH de 5,0, posee un máximo en un pH de 4,2 y se estabiliza a un pH de 4,0 (Gösta Bylund, 1996).

Otra función importante de la fermentación es la formación de exopolisacáridos (EPS), los cuales están compuestos principalmente por moléculas de glucosa, galactosa y restos de ramnosa. La producción de exopolisacáridos depende de la cepa de bacterias lácticas seleccionada, pudiendo producir homopolisacáridos (constituidos por uno solo tipo de monosacáridos) o heteropolisacáridos (formados por dos o más tipos de monosacáridos). Tanto la cepa de *Lb. Bulgaricus* y *S. Thermophilus* son productoras de EPS. Los exopolisacáridos contribuyen a las cualidades de los alimentos en cuanto a las propiedades reológicas y funcionales ya que actúan como espesantes naturales. En el caso particular de leches fermentadas, son capaces de incrementar la viscosidad y mejorar la textura sin alterar el sabor ni aroma. A su vez, poseen función estabilizante limitando la sinéresis en función de la

interacción de los EPS con los componentes de la leche, tales como proteínas e iones (Parra Huertas, 2010).

La fermentación se realiza a 40-45 °C debido a que son las condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano. Los tanques de fermentación se colocan en un baño de agua donde se setea la temperatura óptima para que ocurra el proceso, y una vez formado el coágulo se cambia la temperatura para enfriar rápidamente el mismo. Durante la fermentación se produce la formación del gel debido a que las bacterias ácido lácticas metabolizan la lactosa presente en la leche produciendo ácido láctico y otros compuestos. La formación de ácido láctico provoca la solubilización del fosfato cálcico y del citrato asociados a la micela lo que conduce a la desestabilización de las micelas de caseína, y a medida que el pH disminuye el tamaño de las micelas también disminuye. El pH irá disminuyendo hasta que llegue al punto isoelectrico donde las caseínas junto con las proteínas de lactosuero desnaturalizadas formarán el gel, y por lo tanto el coágulo (Roser Romero del Castillo y Lagarriaga, 2004).

Durante años se ha investigado cuál es la forma más eficiente de almacenar los cultivos y preservar su actividad. Existen distintas formas de presentación de los cultivos, relacionado a su forma de conservación; pudiendo ser: cultivos líquidos frescos, los cuales se mantienen almacenados a temperaturas entre 2-4°C (poco utilizados actualmente), cultivos liofilizados los cuales se encuentran en formato polvo y pueden conservarse varios meses a temperatura ambiente y entre 1-2 años bajo temperatura de congelación, y por último podemos mencionar los cultivos ultra congelados, los cuales pueden o no ser concentrados, y se almacenan a temperaturas menores a -45°C durante un año. En la figura 29, podemos observar las recomendaciones de la empresa Chr. Hansen acerca de la conservación de cultivos.

Storage conditions and shelf lives of some concentrated cultures. (Chr Hansen A/S, Denmark)

Type of culture	Storage	Shelf life, months
1. Freeze-dried DVS	Freezer below -18°C	minimum 12
2. Deep-frozen DVS	Freezer below -45°C	minimum 12
3. Freeze-dried REDI-SET	Freezer below -18°C	minimum 12
4. Deep-frozen REDI-SET	Freezer below -45°C	minimum 12
5. DRI-VAC	Refrigator below +5°C	minimum 12

1. Freeze-dried, superconcentrated culture (for direct inoculation of product)
2. Deep-frozen
3. Freeze-dried, concentrated culture (for preparation of bulk starter)
4. Deep-frozen, concentrated culture (for preparation of bulk starter)
5. Freeze-dried culture in powder form (for preparation of mother culture)

Figura 29: Condiciones de almacenamiento y vida útil de algunos cultivos concentrados

Fuente: Gösta Bylund, 1995

1.4.6 Pérdida de carga y Refrigeración

El proceso de refrigeración se lleva a cabo cuando el yogur alcanza el pH de corte (aproximadamente 4,6) y el principal objetivo es reducir la actividad metabólica del cultivo estárter para controlar la acidez del producto final. La refrigeración del producto a temperaturas menores a 10 °C permite retardar las reacciones biológicas y bioquímicas que se producen en el yogur. Las reacciones biológicas son el resultado de la actividad metabólica de los cultivos del yogur y de microorganismos contaminantes resistentes al tratamiento térmico y al proceso de fermentación tales como mohos y levaduras. Con respecto a las reacciones bioquímicas se incluyen: oxidación de las grasas por la presencia de oxígeno, hidratación de las proteínas, ligera deshidratación y mejora de la viscosidad del producto durante el almacenamiento (Tamine y Robinson, 1991).

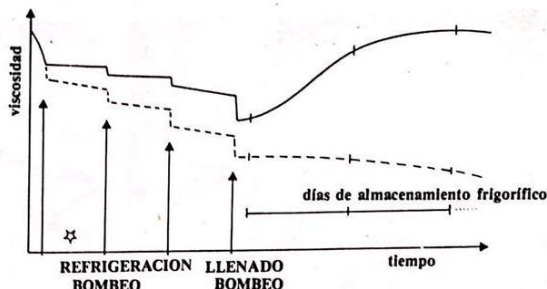
“Durante las primeras 24-48 horas de almacenamiento en refrigeración, se puede observar una mejora de las características físicas del coágulo debido a la hidratación y/o

estabilización de las micelas de caseína, por lo que es aconsejable retrasar el reparto y distribución del producto durante este tiempo.” (Tamine y Robinson, 1991)

Según Tamine y Robinson, el proceso de refrigeración se puede llevar a cabo de 2 formas: enfriamiento en una sola fase y enfriamiento en dos fases. El enfriamiento en una sola fase consiste en enfriar el coágulo desde la temperatura de incubación hasta temperaturas inferiores a los 10°C, lo cual posee como ventaja un coágulo más estable. Por otra parte, el enfriamiento en 2 etapas consiste en reducir la temperatura del coágulo desde la temperatura de incubación hasta los 15-20°C, realizar el envasado y luego enfriar el yogur hasta temperaturas por debajo de los 10°C utilizando cámaras de refrigeración. Este enfriamiento final mejora la viscosidad del producto luego de 1-2 días de almacenamiento. El método de enfriamiento en 2 fases permite mejorar la calidad del yogur batido.

En escala industrial, los distintos elementos de la línea de procesamiento de yogur están conectados a través de tuberías y accesorios, válvulas y filtros; los cuales provocan alteraciones de la estructura del coágulo del yogur. Es por esta razón que lo más recomendable es instalar los tanques de fermentación, los refrigerados y los tanques de almacenamiento lo más próximos posible utilizando cañerías de gran diámetro, pero de longitud corta. A su vez, se recomienda utilizar bombas de desplazamiento positivo para transportar el producto final ya que las mismas evitan la destrucción del coágulo de yogur. A escala piloto, se debe simular la pérdida de carga que ocurre en las cañerías debido al transporte del producto desde el tanque de fermentación hasta la etapa de enfriamiento y posterior envasado.

En la Figura 30, se puede observar el efecto de la manipulación del coágulo sobre la viscosidad del producto terminado. Si el coágulo se manipula cuidadosamente la viscosidad del yogur se recupera durante el período de almacenamiento en refrigeración, pero si la manipulación del mismo es brusca se produce como consecuencia la pérdida de la capacidad de recuperación.



(—) Evolución de la viscosidad en una planta de procesamiento Alfa-Laval, el coágulo es extraído mediante una bomba de desplazamiento positivo sin agitación en el tanque de fermentación.
 (---) Evolución de la viscosidad como resultado de diferentes tratamientos mecánicos.

Figura 30: Relación entre la viscosidad y el tratamiento mecánico

Fuente: Tamine y Robinson, 1991

1.4.7 Envasado

El envasado es una de las etapas más importantes del proceso ya que asegura la correcta protección y distribución del producto hasta llegar al consumidor final.

Dentro de los materiales más utilizados para el envasado de yogur se encuentran: polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), cloruro de polivinilo (PVC) y cloruro de polivinilideno (PVDC). Los materiales que se encuentren en contacto directo con el alimento deben ser atóxicos e inertes, es decir no reaccionar con el producto que contienen y los envases utilizados para la comercialización de yogures deben ser resistentes a los ácidos, evitar la pérdida de sustancias volátiles y ser impermeables al oxígeno con el objetivo de evitar la proliferación de hongos y levaduras (Tamine y Robinson, 1991).

1.5 Seguimiento

1.5.1 Reología

La reología es la ciencia de la deformación y el flujo de la materia, y estudia las propiedades mecánicas de los gases, líquidos, plásticos, materiales cristalinos, entre otros. Uno de los principales objetivos de estudio de la reología es analizar la deformación o movimiento

de la materia causado por las fuerzas de contacto externas. Según Ocampo, la reología de los alimentos es una de las ramas de esta ciencia y se basa en el estudio de la deformación y flujo de los materiales frescos, productos intermedios y productos finales de la industria alimentaria. El estudio de la reología de los alimentos fue ganando importancia a lo largo de los años ya que el adecuado conocimiento de las propiedades reológicas de los mismos nos brinda ciertas ventajas como las que se detallan a continuación:

- Permiten obtener información acerca de la estructura de los alimentos: la determinación de los parámetros reológicos del alimento proporcionan información acerca del comportamiento mecánico de la estructura.
- Control de calidad: aplicable en ciertas líneas de producción donde es necesario controlar la viscosidad del producto con el objetivo de controlar el buen funcionamiento del proceso productivo y la calidad de las materias primas, productos en proceso y productos terminados.
- Evaluación sensorial y aceptabilidad de los consumidores: los atributos de la textura son las principales características en las cuales el consumidor se basa para determinar si un alimento es agradable o no, y esos atributos son la manifestación de las propiedades reológicas y la estructura física del alimento. En este caso en particular, la reología se utiliza para determinar la consistencia de los alimentos, término que resulta de la conjunción de 2 componentes: viscosidad (dificultad que tiene para fluir) y elasticidad (tenacidad estructural).
- Cálculos en ingeniería de procesos y diseño de equipos: conocer las propiedades de comportamiento de flujo y de deformación de los alimentos es útil para la estimación y cálculo de fenómenos de transporte de cantidad de movimiento, calor y energía. También es importante conocer la viscosidad del alimento para el diseño y dimensionamiento de equipos tales como bombas, tuberías, tanques de almacenamiento, entre otros (Díaz Ocampo, 2018).

Para definir los parámetros utilizados en la reología se utiliza el modelo de las dos placas (Figura 31)

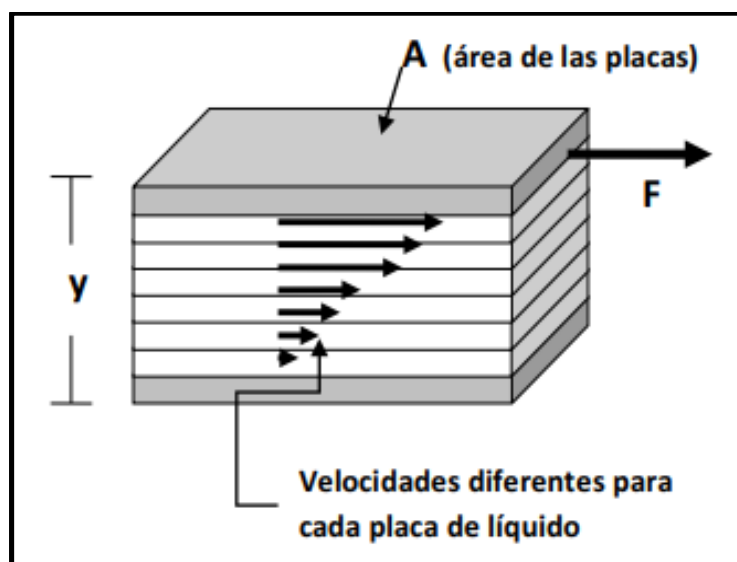


Figura 31: Modelo de flujo laminar

Fuente: Díaz Ocampo, 2018

El plato superior con un área de deformación A , es puesto en movimiento debido a una fuerza de deformación F y adquiere una velocidad V la cual puede ser medida. El plato inferior es estacionario y por lo tanto no adquiere velocidad, y la distancia entre los platos se encuentra representada por “ y ”. De este modelo se obtienen los parámetros más importantes: velocidad de cizalla/ de deformación y esfuerzo de cizalla/ tensión los cuales se definen a continuación.

Un fluido se define como una sustancia que se deforma continuamente bajo la acción de un esfuerzo de corte. Los fluidos pueden clasificarse según la relación entre el esfuerzo de corte aplicado y la relación de deformación. La fuerza por unidad de área necesaria para el movimiento de un fluido se define como F/A y se denota como “ σ ” (tensión o esfuerzo de cizalla). Según Newton, la tensión o esfuerzo cortante es proporcional al gradiente de la velocidad (dv/dy), el cual también se lo denomina con el símbolo “ γ ”. La ley de Newton describe el comportamiento de un líquido ideal, la cual resume lo dicho anteriormente en la siguiente ecuación

$$\tau = \mu \frac{dv}{dy} = \mu \cdot \dot{\gamma} \quad (2)$$

Siendo τ el esfuerzo cortante (mPa), μ la viscosidad (mPa.s) y γ la velocidad de deformación (s^{-1}). Actualmente es aplicado a fluidos homogéneos considerados como “newtonianos” siendo algunos ejemplos el agua, aceites orgánicos e inorgánicos y soluciones de todo tipo (electrolíticas, ácidas y básicas) (Ramirez Navas, 2006).

Según Ocampo, “*la viscosidad es una propiedad de transporte que cuantifica la conductividad de cantidad de movimiento a través de un medio conductivo o fluido.*” Se puede expresar como la resistencia al flujo que ofrece el material. Retomando la Ley de Newton descrita anteriormente, la viscosidad es la constante de proporcionalidad entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación del fluido.

Existen tres tipos de viscosidad que se pueden definir de la siguiente forma y visualizar la diferencia en la Figura 32:

1. Viscosidad dinámica o absoluta (μ): representa la pendiente en cada punto de la curva de fluidez (esfuerzo cortante vs velocidad de deformación).
2. Viscosidad aparente (η): se define como el cociente entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación σ/γ para cada γ . Se utiliza para hablar en términos de viscosidad en aquellos fluidos considerados como no-newtonianos.
3. Viscosidad cinemática (ν): relaciona la viscosidad dinámica con la densidad del fluido utilizado.

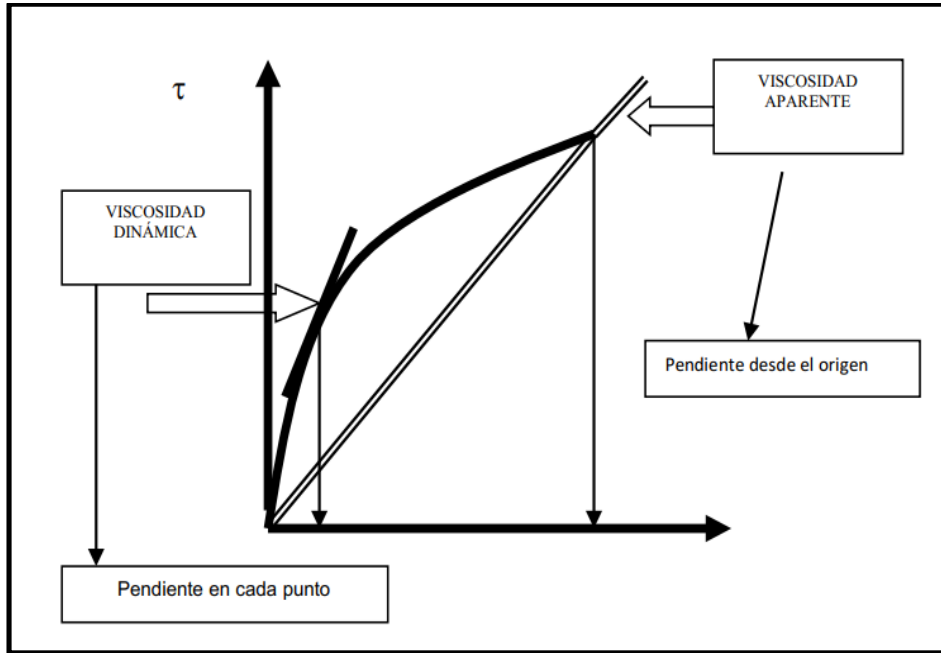


Figura 32: Curva de Fluidez para representar la viscosidad dinámica y aparente

Fuente: Díaz Ocampo, 2018

Los fluidos se pueden clasificar en función del esfuerzo de cizalla σ y la velocidad de deformación γ (es decir la respuesta dinámica del fluido ante el esfuerzo aplicado) en dos grandes grupos: fluidos newtonianos y fluidos no newtonianos (Figura 33).

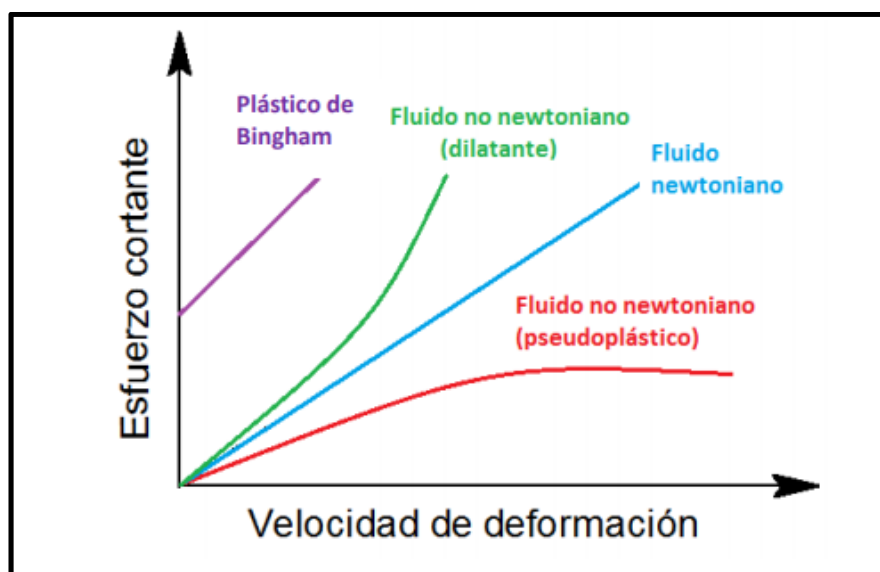


Figura 33: Clasificación de fluidos en función de su esfuerzo cortante y velocidad de deformación

Fuente: Carrillo Parra, 2016

Los newtonianos son aquellos que obedecen a la ley de Newton descrita anteriormente, donde la relación entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación se mantiene constante. En este tipo de fluidos la viscosidad es constante y no depende del esfuerzo de cizalla aplicado.

En cambio, en los fluidos no newtonianos la relación entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación deja de ser lineal. En este caso la viscosidad no permanece constante, sino que depende del esfuerzo cortante. A su vez, los mismos se pueden clasificar según si el flujo es dependiente (tixotrópico, reopéctico y viscoelástico) o independiente del tiempo (pseudoplástico, dilatante y plástico de Bingham) (Díaz Ocampo, 2018).

El yogur es un fluido no newtoniano clasificado como tixotrópico, el cual se caracteriza por un cambio de su estructura interna al aplicar un esfuerzo. La viscosidad va disminuyendo al aplicar una fuerza, pero luego vuelve a aumentar cuando cesa la aplicación de la fuerza. Se recupera la viscosidad inicial luego de un tiempo de reposo y se produce un fenómeno llamado histéresis (Ramirez Navas, 2006). Sin embargo, los autores Lee y Lucey sostienen que el yogur

no puede ser considerado como un verdadero material tixotrópico ya que la ruptura estructural debido al esfuerzo de cizalla no es completamente reversible una vez que se detiene el esfuerzo. Las propiedades reológicas del yogur dependen de varios factores tales como el tipo de cultivo utilizado, la temperatura de incubación, la composición química de la leche, las condiciones de procesamiento y el tiempo de almacenamiento (Wu *et al*, 2009).

Para evaluar las propiedades reológicas de un alimento se pueden realizar dos tipos de pruebas:

- Test rotacional con velocidad de deformación controlada, donde la velocidad de cizalla es fija y se mide el esfuerzo. En el caso del yogur se encuentra relacionado con “mouth thickness”.
- Test oscilatorio con barrido de frecuencia, donde se cambia la frecuencia (medida en Hz) y se mantiene constante la amplitud/ ángulo de cambio de fase. Se encuentra relacionado con la firmeza del gel para el caso del yogur.

A continuación, profundizaremos acerca de los testeos mencionados anteriormente aplicados específicamente al yogur. En el caso del análisis de test rotacional, el reómetro opera a determinados valores de velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$) que van en aumento hasta alcanzar el valor máximo de 300 1/s y luego comienza a descender la velocidad paulatinamente hasta el mínimo, aplicando un esfuerzo de cizalla (σ) distinto según la muestra. Por lo tanto, se obtienen dos curvas: una que se forma aumentando la velocidad de cizalla y otra que se forma cuando se disminuye la misma. El área entre ambas curvas se denomina histéresis y representa la habilidad que posee el yogur de recuperar su estructura luego de una deformación.

El proceso realizado durante este análisis se puede dividir en 3 etapas:

1. Pre-shear: el equipo posee una velocidad de cizalla de 10 1/s durante 10 segundos. Solo se aplica para el caso de yogures bebibles o suero.
2. Wait time: donde se reconstruye parcialmente la estructura original. Posee una duración de 5 minutos.
3. Linear ramp: el equipo aumenta progresivamente la velocidad de cizalla desde 0 a 300 (1/s) graficando el esfuerzo de corte en función de la velocidad. El esfuerzo de

corte alcanzado a la velocidad de cizalla de 300 1/s es considerado el parámetro más similar al descriptor sensorial “mouth thickness”.

En el caso del análisis de test oscilatorio, se aplica de forma oscilatoria una velocidad de deformación pequeña sobre un fluido y se mide la amplitud de la respuesta del esfuerzo cortante y el ángulo de fase entre el esfuerzo cortante y la deformación. Es útil para determinar las propiedades viscosas y elásticas del material, y permite cuantificar en qué medida un sistema alimentario se comporta como un sólido o como un líquido. Se representa en el eje X la variación de frecuencia (f) y en eje Y se representa la variación del módulo complejo (G^*). El módulo complejo representa la resistencia total de una sustancia frente a la deformación aplicada, y engloba el índice de comportamiento elástico y el índice de comportamiento viscoso (Díaz Ocampo, 2018).

Este análisis siempre se realiza antes del test rotacional para minimizar la ruptura de la estructura de la muestra. El proceso realizado durante este análisis se puede dividir en 2 etapas:

1. Wait time: donde se reconstruye parcialmente la estructura original. Posee una duración de 5 minutos.
2. Logarithmic ramp: el equipo aumenta progresivamente la frecuencia desde 0,5 a 8 Hz con una deformación constante del 0,3% graficando el módulo complejo (G^*) en función de la frecuencia. El módulo complejo alcanzado a una frecuencia de 1 Hz es considerado el parámetro más similar al descriptor sensorial de firmeza de gel.

1.5.2 Post-acidificación

Como se mencionó anteriormente, la acidificación es el proceso mediante el cual la lactosa se convierte en ácido láctico gracias a la acción de bacterias lácticas hasta alcanzar un pH entre 4,4-4,6. Sin embargo, luego del proceso de enfriamiento y durante el almacenamiento del producto, el pH continúa disminuyendo como consecuencia del metabolismo de las bacterias lácticas las cuales continúan replicándose, metabolizando y produciendo una lenta acidificación. Este fenómeno se conoce como post-acidificación, y surge cuando el pH del yogur disminuye a valores menores a 4,0 debido a la acción de las bacterias lácticas, lo que

produce como consecuencia alteraciones en el sabor (muy ácido) y reducción de la vida útil del yogur.

El contenido de ácido de un yogur de acidez moderada varía entre 0,85-0,95 % mientras que en un yogur con mayor acidez los valores oscilan entre 0,95-1,20%. Cabe mencionar que los cultivos poseen un grado de tolerancia a la acidez que depende según la cepa, en el caso de *S. Thermophilus* su tolerancia es de un 0,8% de ácido láctico y con respecto a *Lb. Bulgaricus* el mismo posee un tolerancia de 1,7%. Como podemos observar, el nivel de tolerancia a la acidez de este último microorganismo es mucho mayor que los valores reales de un yogur convencional, por lo tanto, podemos inferir que *Lb. Bulgaricus* es el principal responsable del proceso de acidificación (Taboada, 2016).

Actualmente el mercado busca productos más suaves, con baja post-acidificación, buena consistencia y textura. El problema al que se enfrentaron las empresas productoras de cultivos fue que al generar cultivos de baja post-acidificación se perdía la capacidad texturizante, haciendo necesario agregar agentes espesantes. Sin embargo, con el pasar de los años se lograron modificaciones genéticas del microorganismo causante de este fenómeno permitiendo alcanzar las ventajas deseadas (Van Hissenhoven Lapacó, 2017)

El fenómeno de post-acidificación se puede controlar a partir de la cadena de frío y de la elección del cultivo, teniendo en cuenta que genéticamente existen cultivos que pos acidifican más que otros. En la Figura 34, se puede observar las diferencias de los distintos cultivos en cuanto a la post-acidificación en un período de 28 días posteriores a la elaboración.

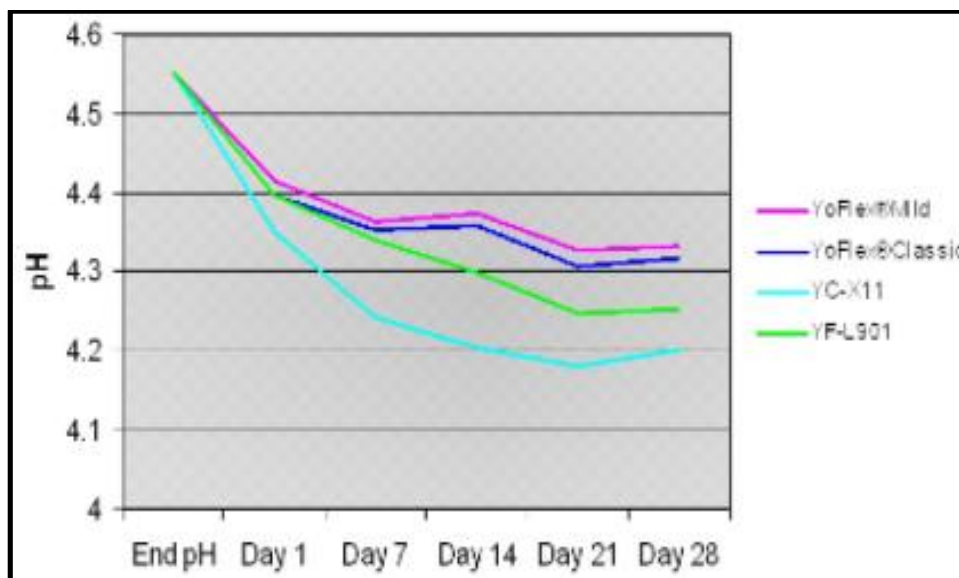


Figura 34: Evolución de pH y post-acidificación en diferentes cultivos lácticos

Fuente: Alem, 2015

1.6 Tecnologías potenciadoras del dulzor

1.6.1 Lactasa

La lactosa, *4-O-(β-D-galactopiranosil-D-glucopiranososa)*, es un disacárido que se encuentra presente naturalmente en la leche de mamíferos como por ejemplo leche de cabra, vaca, humanos, entre otros. Existe bajo dos formas isómeras de la molécula: α y β, las cuales se diferencian únicamente según la posición del grupo hidroxilo –OH en el carbono 1 de la molécula de glucosa. La lactosa se encuentra formada gracias a la unión entre una molécula de β-galactosa y una molécula de glucosa α o β (Ver Figura 35), a través de un enlace β-glucosídico entre el carbono 1 de la galactosa y el carbono 4 de la glucosa (Regenhardt, 2010)

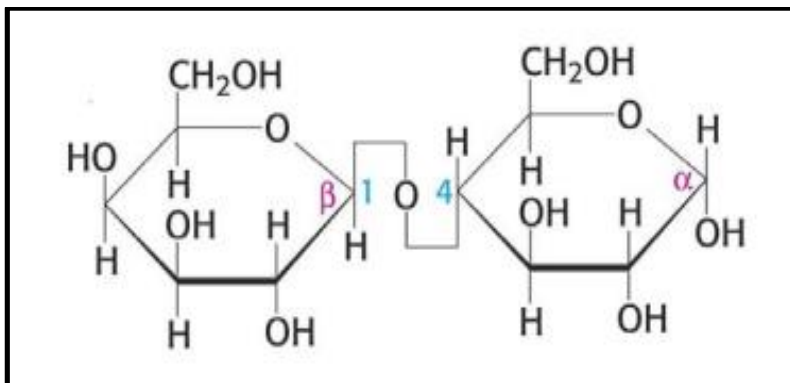


Figura 35: Estructura molecular de la lactosa

Fuente: Regenhardt, 2010

El contenido de lactosa varía según el producto lácteo al cual nos estamos refiriendo debido al tratamiento aplicado al mismo. En el caso del yogur, posee entre un 6-8% de lactosa luego de la pasteurización, pero la concentración decrece a valores entre 1-5% luego de la fermentación debido a la acción de los cultivos.

La lactasa es una enzima cuyo nombre científico es β -galactosidasa y se sintetiza en las microvellosidades de la membrana apical de los enterocitos, es decir las células absortivas del intestino delgado. Su principal función es hidrolizar la lactosa en glucosa y galactosa con el fin de metabolizarla correctamente. El origen del uso de esta enzima en la industria alimentaria surge como una solución efectiva para elaborar productos lácteos destinados a la población que sufre de intolerancia a la lactosa, enfermedad que posee una prevalencia del 70% en adultos a nivel mundial (Dutra Rosolen, 2010). Adicionalmente, el uso de la lactasa provoca un aumento del dulzor del producto como consecuencia del hidrólisis de la lactosa en glucosa y galactosa, ambos monosacáridos con mayor poder endulzante que la propia lactosa (Ver Figura 36). La lactosa es 9,4 veces menos dulce que el azúcar de mesa tradicional (sacarosa) pero cuando se hidroliza en glucosa y galactosa, la combinación de ambos azúcares posee 1,5 veces menos dulce que la sacarosa. *La hidrólisis de la lactosa presente en la leche provoca aproximadamente un 70% de ruptura de lactosa y se incrementa el dulzor a un equivalente de 2% de azúcar agregada.* (Dipendra Kumar, 2020).

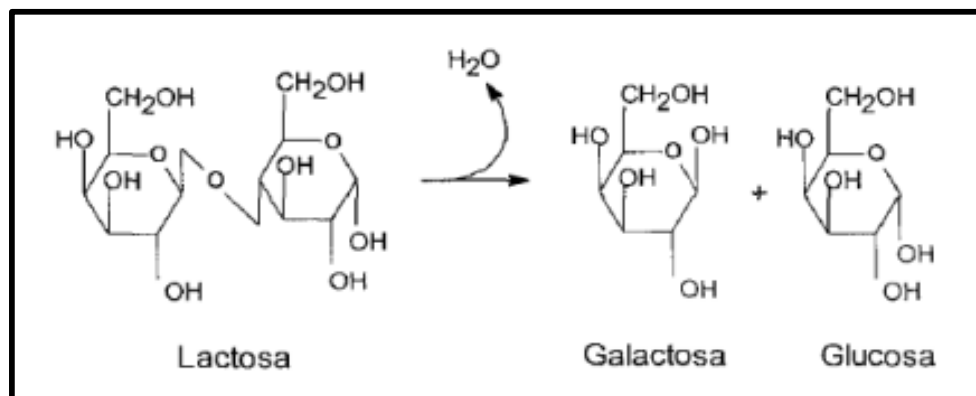


Figura 36: Esquema de hidrólisis de la lactosa en glucosa y galactosa

Fuente: Regenhardt, 2010

El uso de enzimas de origen bacteriano tiene numerosas aplicaciones industriales como en la industria láctea, farmacéutica, papelera, textil, alimentaria, entre otras. La aplicación de las mismas se encuentra en aumento en comparación con otros métodos convencionales debido a su mayor eficiencia, mayor calidad y menor impacto en el medio ambiente. Específicamente en la industria láctea, las enzimas poseen un papel muy importante en el desarrollo de las características del producto final ya que las mismas influyen en el aroma, el color y el sabor de los productos lácteos (Abada, 2019).

Las enzimas están compuestas por proteínas las cuales tienen la capacidad de acelerar reacciones químicas, es decir catalizarlas, y su actividad está determinada por la estructura terciaria de las proteínas. El sitio activo es una pequeña parte de la molécula, compuesta por aproximadamente 3-4 aminoácidos, y es el principal responsable del proceso de catálisis ya que es el sitio donde el sustrato se une a la enzima. La acción de la enzima es muy específica ya que solamente actúa sobre sustratos selectivos, y por lo tanto cataliza un tipo de reacción puntual. La especificidad de las enzimas depende de la forma complementaria, la carga y las características hidrofílicas o hidrofóbicas del sustrato, como así también de la estructura terciaria de la enzima. Existen dos factores principales que afectan la acción enzimática: el pH y la temperatura, y es por esta razón que es fundamental controlar los parámetros de proceso a fin de evitar la inactivación de la enzima. (Whitehurst Y Van Oort, 2010)

La enzima β -galactosidasa, conocida como lactasa, se puede obtener a partir de fuentes animales, vegetales o microbianas (bacterias, hongos y levaduras), sin embargo, aquellas de origen microbiano poseen una mayor productividad y por lo tanto poseen una mayor rentabilidad. A nivel industrial, se obtienen de levaduras como *Kluyveromyces lactis* y *Kluyveromyces fragilis*, o de hongos como *Aspergillus orizae* y *Aspergillus niger*. Es importante conocer la fuente de la enzima a utilizar ya que esto afecta los parámetros productivos a utilizar tales como el pH y la temperatura. Las enzimas provenientes de hongos presentan un pH óptimo entre 2,5-5,4 y una temperatura óptima de 55°C; en cambio las de levaduras poseen un pH óptimo entre 6 y 7 y una temperatura óptima entre 35-37°C (Dutra Rosolen *et al*, 2015).

Existen distintas técnicas para llevar a cabo la hidrólisis enzimática pero la más utilizada en la industria láctea se basa en el uso de enzimas purificadas de un solo uso en procesos batch. Una vez alcanzada la conversión deseada, la reacción se detiene por calentamiento o por el pH provocando la desnaturalización de la enzima y el cese de su actividad (Regenhardt, 2010).

Una de las recientes innovaciones en el mercado de enzimas es una enzima lactasa llamada NOLA Fit producida por la empresa danesa Chr. Hansen, la cual proviene de la bacteria *Bacillus licheniformis*. La misma se produce a partir de la fermentación sumergida sobre un sustrato vegetal utilizando una cepa de *B. Licheniformis* bajo ciertas condiciones. Es una enzima que posee diversos usos en productos lácteos tales como leche, crema, queso, leches fermentadas, suero, dulce de leche, helados, entre otros. La dosis a utilizar varía entre 500-18000 BLU/l lo cual depende de la concentración inicial de lactosa en la matriz a aplicar. La unidad de medición que se utiliza es Bífido Lactase Unit (BLU) la cual fue definida por la empresa elaboradora para determinar el nivel de actividad de la enzima.

Con respecto a los parámetros óptimos de actividad podemos resaltar la influencia de la temperatura y el pH. La temperatura es uno de los factores más importantes ya que puede afectar la estructura tridimensional de la proteína que la compone, lo que provocaría una disminución o cese de su actividad. Es por esta razón que las enzimas poseen un rango de temperatura óptima, y en el caso de la lactasa NOLA Fit la temperatura adecuada para obtener el grado de hidrólisis deseado se encuentra entre 35-45 °C. Con respecto al pH, la misma posee un rango

óptimo de actividad a pH bajos con valores entre 5.0 y 7.0, sin embargo, la total inhibición de la enzima se da en valores por debajo de 4.5. Esto supone una ventaja considerable para la aplicación en leches fermentadas con respecto a las enzimas obtenidas a partir de levaduras ya que las mismas se inhiben por debajo de un pH de 6.0 y por lo tanto es necesario utilizar una dosis mucho mayor para lograr el grado de hidrólisis deseado antes del cese de su actividad (Figura 37). A su vez, para lograr la correcta hidrólisis de la lactosa se deben seleccionar correctamente los tiempos, temperatura y dosis con el fin de obtener la reacción deseada.

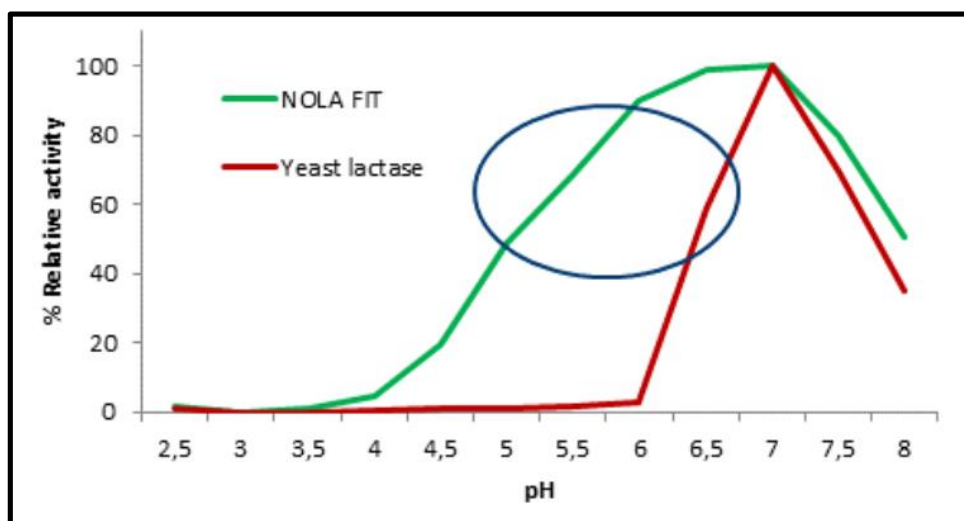


Figura 37: Influencia del pH sobre la actividad de la enzima usando sustrato permeado de suero (con 5% de lactosa) a 37°C

Fuente: Material aportado por la empresa Chr. Hansen

Otra característica importante que podemos resaltar de la enzima NOLA Fit es acerca del alto nivel de pureza que posee a diferencia de las enzimas provenientes de las levaduras, lo cual permite evitar la aparición de sabores indeseados principalmente en leches deslactosadas. Las enzimas con un bajo grado de pureza pueden provocar variaciones en el producto final como: mayor proteólisis, oscurecimiento del producto, menor vida útil, variabilidad del color del producto entre los distintos lotes, entre otros. (Chr. Hansen-Food Ingredients Brasil-2015).

1.6.2 Modulador de sabor

Los moduladores de sabor, o también llamados moduladores alostéricos positivos (PAM), son una de las tecnologías más recientes en estos últimos años identificadas gracias al uso de tecnologías de screening. Básicamente, se trata de moléculas que no aportan sabor, pero permiten resaltar y aumentar la percepción del dulzor propio del alimento o de azúcares agregados. Según Carniel Beltrami *et al 2018*, *las sustancias que mejoran principalmente el dulzor de los alimentos intensificando el sabor de los azúcares o edulcorantes añadidos deben considerarse potenciadores del sabor. La función prevista de la sustancia añadida es aumentar la percepción del dulzor, lo cual brinda la posibilidad de reducir la cantidad de azúcares agregados.*

El descubrimiento de los mismos surge como resultado de la problemática constante de lograr reducir el contenido de azúcares agregados de los productos alimenticios debido al aumento constante de las enfermedades asociadas a los alimentos, y encontrar nuevas alternativas a los edulcorantes artificiales los cuales no logran reproducir el sabor propio del azúcar y traen aparejados sabores indeseables. Otra problemática que poseen los edulcorantes artificiales se basa en la curva de tiempo-intensidad del dulzor con respecto al azúcar. El azúcar es altamente soluble en agua y migra rápidamente hacia los receptores del dulzor de la lengua, a través de la saliva, brindando una rápida percepción del dulzor con un pico dulce que luego desaparece completamente. En cambio, los edulcorantes artificiales son menos solubles en agua y migran lentamente hacia los receptores del dulzor en la lengua provocando una lenta percepción del dulzor que se traduce en un pico de intensidad de dulzor menor con un sabor que persiste en el tiempo. (Ver Figura 38). Por lo tanto, el uso de moduladores de sabor permite lograr un comportamiento muy similar al del azúcar logrando evitar los problemas aparejados de los edulcorantes (Woo,2020).

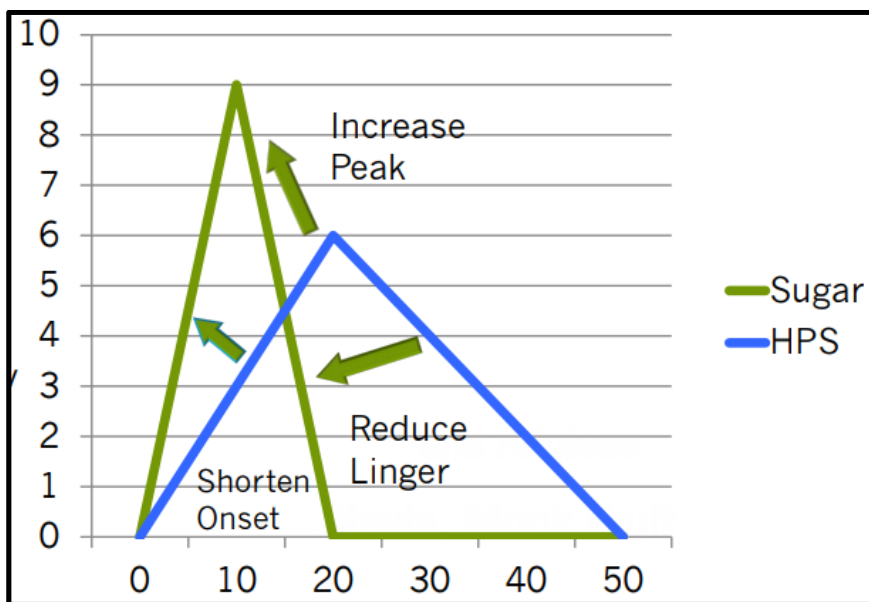


Figura 38: Representación gráfica de la intensidad del dulzor (eje Y) versus el tiempo (eje X) para el azúcar y edulcorantes de alta potencia (HPS)

Fuente: Woo, 2020

Es importante resaltar la diferencia entre los edulcorantes artificiales y los moduladores de sabor/potenciadores del sabor: el edulcorante es aquella sustancia que provoca una percepción del dulzor significativamente más intensa y se encuentra desequilibrada con respecto a la modificación de las otras características del sabor. En cambio, el modulador de sabor es aquella sustancia que aumenta la percepción general de todas las características del sabor, incluyendo el dulzor. (Ver Figura 39).

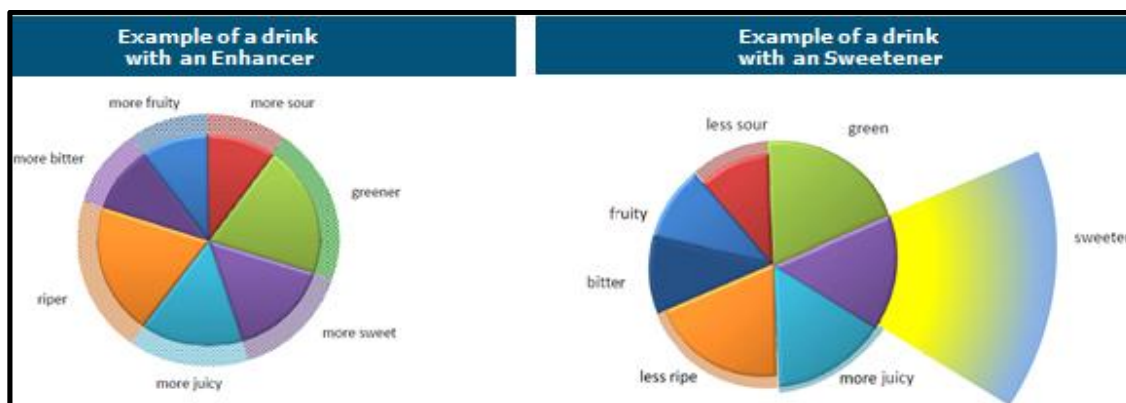


Figura 39: Diferencias en el efecto sobre la percepción general entre modulador de sabor y edulcorante

Fuente: Material aportado por la empresa Givaudan

Es importante comprender cómo el ser humano detecta los gustos básicos a fin de entender dónde y cómo actúan los moduladores de sabor. El mecanismo de reconocimiento de los 5 gustos básicos comienza en los receptores del sabor situados en la membrana apical de las células receptoras de la lengua. Estos receptores se unen a las sustancias gustativas, las reconocen y activan las células gustativas, las cuales liberan neurotransmisores que estimulan la transmisión de información sensorial al cerebro. Para el caso particular del sabor dulce, se encuentra mediado por receptores acoplados a la proteína G llamados receptores de sabor de tipo 1, los cuales reconocen compuestos naturales y artificiales percibidos como dulces por los seres humanos (Carniel Beltrami *et al*, 2018)

Como se puede observar en la Figura 40, a nivel molecular, los moduladores de sabor se unen al receptor de dulzor sin activarlo, pero logran que los edulcorantes nutritivos tales como sacarosa, glucosa y fructosa se enlacen en el sitio activo del receptor con mayor afinidad logrando una percepción del dulzor mayor que la unión tradicional (DuBois y Prakash, 2012)

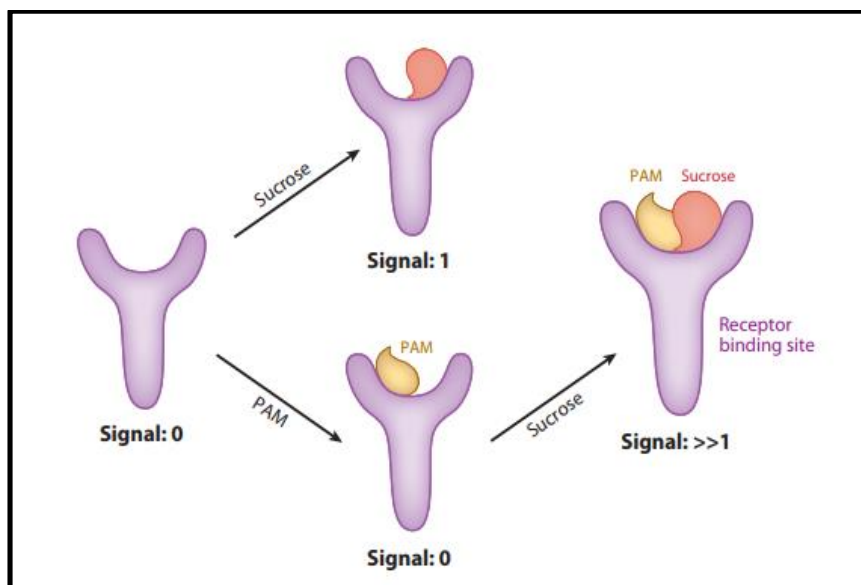


Figura 40: Modelo conceptual de acción moduladora alostérica en un receptor de dulzor

Fuente: DuBois y Prakash, 2012

Anteriormente se han realizado estudios experimentales con moduladores de sabor para evaluar el impacto sensorial que poseen sobre la percepción del dulzor. Los primeros ejemplos de PAM surgen en la empresa Senomyx Incorporation ubicada en Estados Unidos, donde una molécula con el nombre SE-2 lograba una reducción de 4 a 6 veces de la cantidad de azúcar agregada manteniendo el dulzor inicial, por lo tanto, es una de las posibles tecnologías a aplicar en la industria alimenticia con el objetivo de resolver la problemática de reducir el contenido de azúcar sin alterar la percepción del dulzor.

Con respecto a la declaración y etiquetado de los mismos, los moduladores de sabor están aprobados por una asociación estadounidense llamada FEMA (Flavour and Extracts Manufacturers Association) avalada por la FDA (Food and Drug Administration), donde se establece que se pueden declarar como “Saborizante Natural” si la dosis aplicada se encuentra entre 0,05-0,20%. Para el caso de nuestro país, el CAA (Código Alimentario Argentino) define como saborizantes y aromatizantes a *sustancias o mezclas de sustancias con propiedades odoríferas y/o sápidas capaces de conferir o intensificar el aroma y/o sabor de los alimentos.*

El listado de aromatizantes y saborizantes aprobados por nuestra legislación se basa en aquellos componentes que han sido aprobados por al menos una de las siguientes entidades: JECFA (Summary of Evaluations Performed by Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), UE (Unión Europea), FDA o FEMA. Es por esa razón que aquellas sustancias naturales clasificadas como moduladores de sabor pueden ser declaradas como saborizantes naturales siempre y cuando se cumplan con los límites establecidos por la FEMA.

1.6.3 Fibra

La fibra dietética se define como la fracción de pared celular de las plantas resistente al hidrólisis de las enzimas digestivas humanas pero fermentada por la microflora presente en el colon humano. Se incluye la lignina y los polisacáridos no almidonados como la celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, entre otros (Trowell, 1974). Años más tarde, se integra a la definición anterior la fibra funcional donde se incluyen los hidratos de carbono no digeribles, los cuales poseen efectos fisiológicos benéficos para la salud del ser humano. Dentro de esta categoría se incluye el almidón resistente, inulina y diversos oligosacáridos. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la ingesta diaria recomendada de fibra en adultos es de 27 a 40 gramos y en niños mayores a dos años se recomienda una ingesta diaria mayor o igual a 5 gramos.

La fibra dietética produce distintos efectos fisiológicos positivos sobre el organismo humano tales como: la fermentación colónica, fundamental para el desarrollo y mantenimiento de la flora bacteriana benéfica; aumento de la velocidad del tránsito intestinal, disminución del colesterol LDL en sangre y por último podemos destacar el impacto sobre la reducción del riesgo de contraer cáncer de colon y enfermedades como diabetes, obesidad y cardiovasculares (Matos-Chamorro y Chambilla-Mamani, 2010).

Las fibras se pueden clasificar según su comportamiento en medio acuoso en dos grandes grupos: fibra soluble y fibra insoluble. La soluble es aquella que forma una dispersión en agua y permite la formación de geles viscosos en el tracto gastrointestinal, lo cual permite retardar la evacuación gástrica. Es altamente fermentable y se asocia con el metabolismo de carbohidratos y grasas. Las principales fuentes de este tipo de fibra son frutas y algas marinas.

En cambio, la fibra insoluble no forma una dispersión en el agua y son consideradas parcialmente fermentables por las bacterias presentes en el colon. Este tipo de fibra se encuentra presente en verduras, cereales, oleaginosas y frutas (Matos-Chamorro y Chambilla-Mamani, 2010).

Haciendo foco en la fibra funcional, los prebióticos son ingredientes alimenticios no digeribles que afectan de forma positiva al ser humano ya que estimulan el crecimiento selectivo de cepas bacterianas presentes en el colon, tales como bifidobacterias y lactobacilos (considerados como probióticos), permitiendo la formación de una biomasa saludable debido a la disminución de cepas perjudiciales. Los oligosacáridos más estudiados por su efecto prebiótico son los fructanos, donde podemos destacar la inulina y la oligofruktosa (Madrigal y Sangronis, 2007).

La inulina está compuesta por una cadena de moléculas de fructosa unidas a través de enlaces β -(2 \rightarrow 1) fructosil-fructosa con una unidad de glucosa terminal unida por un enlace α -(1,2) también conocido como residuo D-glucopiranosil (Figura 41 A), o también puede terminar con un monómero terminal del tipo β -D-fructopiranosil (Figura 41 B). Es un hidrato de carbono de reserva presente en plantas del tipo gramíneas (plantas herbáceas) y plantas compuestas tales como ajo y alcachofa. Su principal fuente de síntesis a nivel industrial es la raíz de achicoria. La inulina posee un sabor neutro, es moderadamente soluble en agua y aporta cuerpo y palatabilidad a la matriz de aplicación.

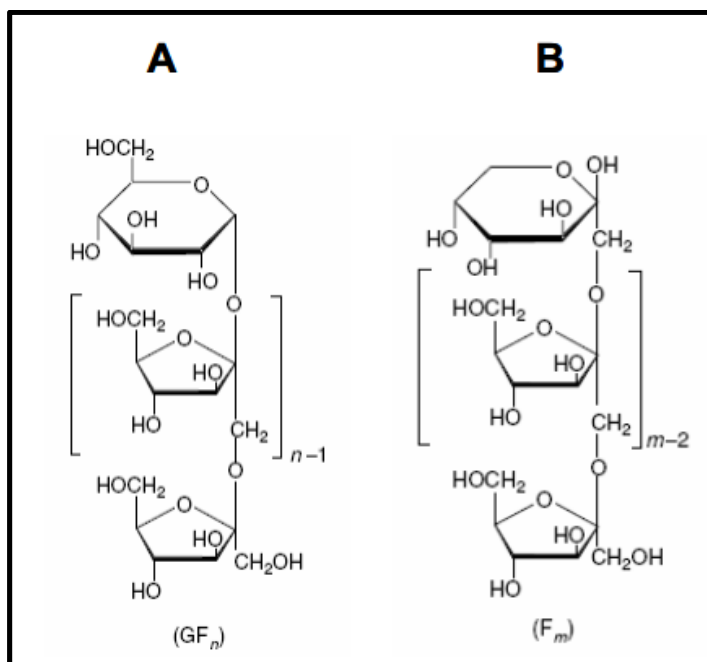


Figura 41: Estructura molecular de la inulina en forma de residuo D-glucopiranosil (A) y como monómero terminal del tipo β -D-fructopiranosil (B)

Fuente: Madrigal y Sangronis, 2007

La oligofruktosa se obtiene del hidrólisis enzimática parcial de la inulina y posee la misma estructura, aunque se diferencian en el grado de polimerización. El rango de polimerización de la inulina varía entre 2 y 60, en cambio para la oligofruktosa el rango varía entre 2 y 9. Esta sustancia es más soluble que la inulina, aporta un mayor dulzor, mejora la textura del producto final, reduce la actividad acuosa y provoca cambios en los puntos de ebullición y congelamiento.

Debido a las propiedades intrínsecas de la fibra en relación al dulzor, se han realizado diversas investigaciones en los últimos años con el objetivo de evaluar la posibilidad de utilizarla como sustituto del azúcar. Un estudio realizado por Hoppert, *et al*, demostró una aceptación admisible en una población de 704 consumidores sobre muestras de yogures reducidos en un 30% de azúcar y adicionados con diferentes tipos de fibras (entre ellas la

inulina). Por tal motivo, la investigación sobre la aplicación de diversas fibras sobre productos alimenticios se encuentra en auge a fin de encontrar una alternativa rentable para la industria.

1.7 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es la disciplina científica que estudia cómo son percibidas las propiedades de los alimentos y/o materiales por los sentidos humanos (vista, olfato, gusto, oído, tacto). Uno de los objetivos principales de esta ciencia es entender la importancia de las características sensoriales y el papel que juegan en la experiencia sensorial que vive el consumidor, influyendo en la decisión de aceptación o rechazo del producto. Algunas de las aplicaciones más conocidas son: controlar la calidad sensorial de materias primas y productos terminados, análisis de productos de la competencia, desarrollo de nuevos productos, pruebas de mercado, entre otras.

1.7.1 Aspectos generales para la evaluación sensorial

El instrumento empleado para la evaluación sensorial son jueces entrenados que realizan una medición y evaluación objetiva e integral del producto que analizan, y es por ello que es importante tener normalizadas las condiciones fisiológicas que rodean al panel de jueces. Para que los panelistas no desvíen su atención del objeto de análisis, es muy importante tener controladas las condiciones ambientales a fin de evitar cualquier tipo de distracción que influirá directamente sobre sus juicios.

La sala de evaluación sensorial debe contar con cabinas individuales que garanticen su intimidad, eviten cualquier distracción y no permitan la comunicación entre jueces. Existen ciertos requisitos estructurales que deben estar presentes tales como buena iluminación, exentas de ruido, color de las paredes claro, temperatura y humedad relativa agradable, entre otras. (Ver Figura 42). Otro punto importante a tener en cuenta es acerca de los factores fisiológicos y/o psicológicos que pueden afectar a los jueces a la hora de la evaluación, y por lo tanto es fundamental prepararlos correctamente con el objetivo de que sean capaces de emitir juicios confiables y exactos.



Figura 42: Sala de evaluación sensorial

Fuente: Sharif, Mian, *et al*, 2017

Dentro de los jueces podemos diferenciar dos clasificaciones: jueces analíticos y jueces afectivos. Los analíticos son aquellos individuos que han demostrado una sensibilidad sensorial específica y son entrenados para perfeccionar y agudizar aún más la sensibilidad demostrada con el objetivo de poder emitir juicios acerca de las características sensoriales de alimentos y/o bebidas, y los afectivos son aquellos individuos seleccionados al azar (representando a la población general) con el objetivo de conocer el grado de preferencia o agrado sobre cierto producto.

Para el caso particular de los jueces analíticos, es importante llevar a cabo un proceso de selección y entrenamiento con el objetivo de lograr que los mismos sean capaces de emitir juicios reproducibles, exactos y precisos. El proceso de formación de jueces entrenados posee 4 etapas las cuales se detallan a continuación:

1. Pre-selección: durante esta etapa se realizan entrevistas personales con el objetivo de conocer aspectos que pueden influir el desempeño de los futuros

jueces tales como hábitos de consumo, condiciones de salud, interés personal, disponibilidad, etc.

2. Selección: en esta etapa se realizan pruebas sensoriales a los candidatos preseleccionados con el fin de determinar las aptitudes sensoriales de cada uno de ellos en función de los resultados de las pruebas como por ejemplo identificación de sabores y olores básicos (pruebas de detección), como así también el grado de sensibilidad que posee cada candidato. Los grupos de jueces entrenados suelen ser de entre 8-12 personas.
3. Entrenamiento: es una de las tareas más importantes ya que tiene el objetivo de mejorar las habilidades de los jueces, conseguir juicios precisos, homogeneizar las respuestas del grupo y lograr que los jueces brinden respuestas objetivas. El entrenamiento debe ser exhaustivo para que el mismo tenga éxito y debe comprender los siguientes estadios: fase teórica, entrenamiento de manejo de escalas de cada parámetro y entrenamiento de la evaluación cuantitativa y cualitativa.
4. Monitoreo: una vez finalizado el entrenamiento es necesario la comprobación periódica para garantizar la confiabilidad de los resultados. Para ello, existen diferentes métodos estadísticos que permiten evidenciar la consistencia individual de los jueces y/o la uniformidad del equipo. Este proceso se suele realizar como etapa inicial de una nueva evaluación sensorial con el fin de entender como performa el panelista con el grupo y con sí mismo, lo que permite brindar resultados consistentes y evitar desvíos. Para ello se puede utilizar el análisis secuencial o análisis de varianza. (Watts, 1992)

1.7.2 Métodos de evaluación sensorial

Para determinar correctamente la metodología a emplear es fundamental tener bien definido cuál es el objetivo que se quiere alcanzar. Existen dos grandes clasificaciones sobre las pruebas sensoriales: analíticas y afectivas.

Las pruebas analíticas son aquellas realizadas por jueces analíticos entrenados y se ejecutan en condiciones controladas. Dentro de las mismas se pueden diferenciar 3 categorías distintas: discriminativas, escalares y descriptivas. Las pruebas discriminativas son aquellas que permiten comparar dos o más productos teniendo en cuenta un parámetro en particular, las escalares son aquellas donde se mide de forma cuantitativa la intensidad de una propiedad sensorial, y por último, las descriptivas son las más complejas donde los jueces establecen descriptores que definen las características sensoriales del producto. Por otra parte, las pruebas afectivas son aquellas realizadas por jueces afectivos, es decir consumidores reales o potenciales del producto con el objetivo de evaluar el grado de aceptación o rechazo del mismo. (Manfugás, 2007)

Haciendo foco en las pruebas discriminatorias, existen métodos de evaluación sensorial enfocados en la diferenciación o en la sensibilidad, y dentro de cada clasificación existen diferentes pruebas que se aplican según los requerimientos. (Figura 43)

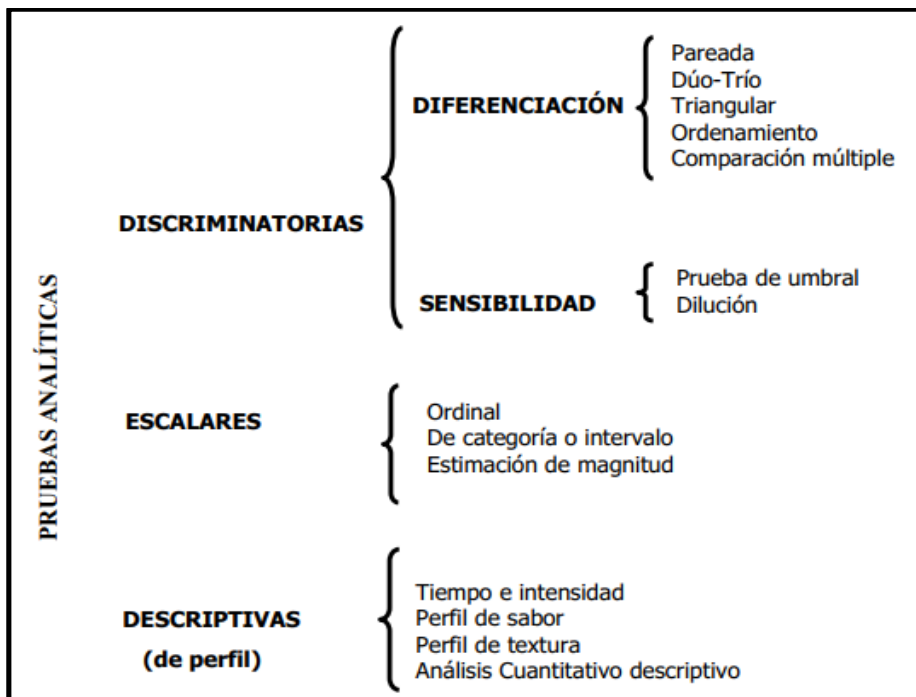


Figura 43: Esquema de clasificación de pruebas analíticas

Fuente: Manfugás, 2007

Con respecto a las pruebas descriptivas, se utiliza un panel sensorial entrenado el cual evalúa el producto a fin de determinar el perfil sensorial del mismo, utilizando descriptores aromáticos, táctiles y de gustos básicos. Estos descriptores varían en función de la matriz alimentaria a la cual nos estamos refiriendo, como por ejemplo en el caso del yogur se utilizan descriptores de la familia láctea.

1.7.3 Análisis estadístico

A continuación, profundizaremos acerca de algunas técnicas estadísticas haciendo foco en aquellas aplicadas al proyecto.

El análisis de regresión lineal simple es una técnica estadística utilizada para estudiar la relación entre una variable dependiente (Y) y una variable independiente (X) con el objetivo de averiguar en qué medida la variable dependiente puede estar explicada por la variable independiente, y adicionalmente obtener predicciones de la variable dependiente a partir de la independiente. Se busca obtener la ecuación mínima cuadrática que exprese de la mejor forma posible la relación entre ambas variables. A través del análisis de varianza se puede conocer cuánto de la variación de los datos es explicada por la regresión lineal y cuánto debe considerarse como no explicada o residual. Si la variación explicada es mucho mayor que la no explicada, entonces el modelo propuesto será bueno para fines predictivos. A través del coeficiente de determinación R^2 podemos medir la capacidad predictiva del modelo ya que el mismo relaciona la variación explicada en función de la variación total. (Lind, Marchal, Y Wathen, 2012). El análisis de regresión lineal nos brinda una recta de regresión (Ecuación 3) que relaciona ambas variables, la cual posee la siguiente estructura

$$Y_i = B_0 + B_1 X_i \quad (3)$$

Siendo Y_i y X_i las variables de estudio, B_1 la pendiente de la recta y B_0 el punto donde la recta corta al eje Y.

Por otra parte, el análisis ANOVA es un método estadístico que permite analizar las diferencias entre las medias (μ) de tres o más grupos con respecto a una variable cuantitativa. Usualmente se emplea cuando tenemos una única variable o factor independiente y se busca investigar si las variaciones del factor tienen un impacto medible en la variable dependiente. La

limitación del método radica en que nos permite determinar si existen diferencias significativas en las medias de los grupos analizados, pero no permite identificar cuáles grupos son los que difieren. (Dagnino, 2014)

Para llevar a cabo el método se deben plantear dos hipótesis: nula y alternativa. En la hipótesis nula se plantea que todas las medias poblacionales son iguales (Ecuación 4), en cambio en la alternativa se plantea que al menos una de las medias poblacionales es diferente (Ecuación 5)

$$H_0: \mu_i = \mu_j, \forall i, j \tag{4}$$

$$H_a: \exists i, j \text{ tal que } \mu_i \neq \mu_j \tag{5}$$

El análisis se puede realizar utilizando diferentes softwares estadísticos que facilitan el desarrollo del mismo. Para determinar si existen diferencias significativas entre las muestras, el ANOVA descompone la variabilidad total, la cual está compuesta por variaciones provenientes de diferentes fuentes tales como la variación entre poblaciones (VE) y la variación error (VNE). La variación entre poblaciones representa las desviaciones de las medias muestrales de cada muestra respecto a la media global y nos indica la variabilidad entre muestras (inter-muestras), y por otro lado, la variación error representa las desviaciones de cada dato respecto de la media muestral de la muestra de la que viene e indica la variabilidad interna (intra-muestras). (Contento Rubio, 2019)

A continuación, podemos observar su representación de suma de cuadrados mediante la Ecuación 6:

$$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y})^2 = \sum_{i=1}^a n_i (\bar{Y}_i - \bar{Y})^2 + \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2 \tag{6}$$

Variación Total (VT) **Variación entre poblaciones(VE)** **Variación error(VNE)**

Cada suma de cuadrados lleva asociada una cantidad de grados de libertad, que indican el número de de datos independientes utilizados para calcular cada suma de cuadrados. Los

mismos se calculan de la siguiente forma dependiendo la variación a la cual nos estamos refiriendo. (Ecuaciones 7,8 y 9)

$$VE = k - 1 \quad (7)$$

$$VNE = n - k \quad (8)$$

$$VT = n - 1 \quad (9)$$

Siendo “k” el número de muestras independientes de la variable de interés y “n” el número total de datos.

Posteriormente, se debe implementar un estadístico para poder aceptar o rechazar las hipótesis planteadas anteriormente y para ello se utiliza la razón F, la cual expresa la relación de las medias de cuadrados (división de la suma de cuadrados por los grados de libertad) de ambas fuentes de variación

$$F = \frac{\frac{VE}{k-1}}{\frac{VNE}{(n-k)}} \quad (10)$$

Cuando la hipótesis nula es verdadera, la razón F adquiere un valor cercano a 1 ya que las medias de cuadrados son similares. En cambio, cuando el numerador es mayor al denominador la razón F será mayor a 1 y por lo tanto la hipótesis nula no es verdadera.

Luego de analizar los resultados de ANOVA y comprobar que existen diferencias significativas al refutar la hipótesis nula, se aplica el método de comparaciones múltiples también llamado test de Tukey. El mismo permite identificar diferencias significativas y calcular como valor crítico una cantidad basada en el cuantil correspondiente de la distribución de rangos estudentizados. El estadístico de Tukey es uno de los más utilizados en la industria de evaluación sensorial ya que posee un nivel de exigencia confiable. El procedimiento consta de calcular todas las diferencias de medias muestrales entre los *t* niveles del factor en estudio, donde aquellas diferencias que estén por encima del umbral establecido se definen como

diferencias significativas y por el contrario, aquellas diferencias que se encuentren por debajo del umbral serán diferencias no significativas. (Contento Rubio, 2019).

ESTADO DEL ARTE

2.Estado del arte

En esta sección hablaremos acerca de los antecedentes existentes de las tecnologías que logran la reducción del contenido de azúcar en distintas matrices.

En el caso particular del hidrólisis de la lactosa, es una tecnología que surge con el objetivo de lograr productos deslactosados dirigidos al público de consumidores intolerantes a la lactosa. Años más tarde, se descubrió que al mismo tiempo se podían lograr productos con una mayor percepción del dulzor debido a la química intrínseca de la reacción del hidrólisis. Esto se debe a la ruptura de la lactosa en glucosa y galactosa, las cuales poseen un poder endulzante mayor que la lactosa y por lo tanto permite reducir el contenido de azúcar de la base de yogur en cierta medida (Tamine y Deeth, 1980). En este proyecto se busca aplicar la tecnología de hidrólisis a una base de yogur reducida en azúcar y evaluar individualmente la percepción del dulzor por parte de un panel sensorial entrenado, y lograr combinarla con otras tecnologías para obtener una percepción del dulzor similar a la de un yogur tradicional.

Otra de las tecnologías a aplicar es un modulador de sabor, el cual provoca una amplificación de la respuesta del receptor aún mayor que la provocada por los compuestos dulces. La aplicación de los mismos para lograr la reducción del contenido de azúcar es una de las alternativas más innovadoras y nuevas en el rubro alimenticio. Por lo tanto, dentro del proyecto se aplicará a las bases de yogur en estudio para evaluar el impacto sobre la percepción del dulzor.

Y por último hablaremos acerca de la adición de fibra para lograr la reducción del contenido de azúcar. Un estudio realizado por el Centro de Investigación y Desarrollo de Criotecnología de los Alimentos (Universidad Nacional de la Plata) determinó la influencia de la adición de fibra sobre las propiedades reológicas y sensoriales del yogur, evaluando de forma general el color, textura, aroma y sabor de las distintas bases adicionadas con fibras de diferentes orígenes. En el caso particular de este proyecto, se evaluó el impacto de la adición de fibra específicamente sobre la percepción del dulzor de una base de yogur previamente reducida en azúcar junto con la aplicación de otras tecnologías potenciadoras del dulzor con el objetivo de alcanzar una percepción del dulzor similar a la de un yogur con contenido de azúcar tradicional.

En conclusión, el presente proyecto posee el objetivo de aplicar las tecnologías potenciadoras del dulzor mencionadas en este apartado en forma individual y combinada sobre

una base de yogur previamente reducida en azúcar para evaluar la percepción del dulzor alcanzada y comparar este parámetro contra un yogur tradicional.

HIPÓTESIS

3.Hipótesis

Las hipótesis que se pondrán a prueba en el proyecto son:

Hipótesis 1: La aplicación de las tecnologías potenciadoras de sabor sobre una base de yogur estándar reducido en azúcar logra una percepción del dulzor igual a la de un yogur tradicional.

Hipótesis 2: Existe una relación de sinergismo entre las tecnologías aplicadas.

METODOLOGÍA

4. Metodología

4.1 Preparación de las muestras

Para la realización del proyecto se realizó una base estándar blanca de yogur batido, es decir que entre sus ingredientes no se incluyeron saborizantes, colorantes, agregado de fruta, ni tampoco se adicionaron espesantes y gelificantes con el objetivo de evaluar puramente el dulzor de la base de yogur.

A continuación, podemos observar la composición porcentual de la base estándar:

- 4% proteína
- 1,7% grasa
- 2,5% azúcar

A los fines prácticos de este proyecto, se utilizó como límite máximo de azúcar agregada un 2,5% con el objetivo de simplificar el procedimiento, pero debemos tener en cuenta que para cumplir con lo establecido por la legislación mexicana se debería adicionar hasta un 2,49%. Sin embargo, se estima que no se detectan diferencias en cuanto a la percepción del dulzor si reducimos en un 0,01% el contenido de azúcar agregada y, por lo tanto, toda la base técnica del proyecto y los resultados obtenidos son equivalentes para ambos porcentajes mencionados.

Los ingredientes utilizados para alcanzar dichos porcentajes de proteína y materia grasa fueron: leche comercial pasteurizada con 3% de proteína y 3% de materia grasa, crema de leche comercial la cual posee un 1,73% de proteína y un 36% de materia grasa y leche en polvo descremada con un 37% de proteína y sin materia grasa; y adicionalmente se agregó agua para alcanzar el volumen deseado. Todos los ingredientes fueron pesados utilizando una balanza Mettler Toledo Wildcat y se colocaron en baldes para su posterior mezclado utilizando un agitador con el fin de evitar la formación de grumos y asegurar un correcto mezclado de todos los ingredientes. La cantidad de base preparada fue de 46 kg teniendo en cuenta que el proceso productivo posee una merma del 30% aproximadamente.

Posteriormente, la base se sometió al proceso productivo tradicional mencionado anteriormente. En primer lugar, la base se homogeneizó utilizando el equipo GEA Ariete

NS2006 (Ver Figura 44) el cual se configuró a una velocidad de 70 rpm y una temperatura de 60°C, aplicando la presión requerida en dos etapas: primero se aplicó 50 bares de presión y luego se otorgó la presión necesaria hasta alcanzar los 200 bares. Consecutivamente, se llevó a cabo el tratamiento térmico de la base estándar de yogur utilizando el pasteurizador GEA (Ver Figura 45) y se aplicó una pasteurización de 95°C durante 5 minutos.



Figura 44: Homogeneizador GEA Ariete NS2006



Figura 45: Pasteurizador GEA

Luego de la pasteurización, la base de yogur se colocó en pequeños tanques y se refrigeró hasta el día siguiente de producción. Previo a la fermentación se procedió a la preparación de las muestras que se analizaron posteriormente en la etapa de evaluación sensorial. Partiendo de la base estándar de yogur descrita anteriormente, podemos observar la composición de las muestras en el siguiente apartado:

1. Muestras para realizar la curva de percepción del dulzor
 - 1.1 Base estándar de 2,5% de azúcar.
 - 1.2 Base estándar de 2,5% de azúcar + un agregado 3,5% de azúcar = Base con un 6% de azúcar
 - 1.3 Base estándar de 2,5% de azúcar + un agregado 6,5% de azúcar = Base con un 9% de azúcar
2. Base estándar de 2,5% de azúcar + 1200 BLU/litro de lactasa Nola Fit (Chr Hansen).
3. Base estándar de 2,5% de azúcar + 0,015% modulador de sabor/sweetness Givaudan.
4. Base estándar de 2,5% de azúcar + 1200 BLU/litro de lactasa Nola Fit + 0,015% modulador de sabor/sweetness Givaudan.

5. Base estándar de 2,5% de azúcar + 1200 BLU/litro de lactasa Nola Fit + 0,015% modulador de sabor Givaudan/sweetness + 5% fibra ORAFTI oligofruktosa con un nivel de dulzor del 30% (referido a la sacarosa).

Como siguiente paso en el proceso productivo, se llevó a cabo la fermentación utilizando el equipo FH Scandinox (ver figura 46) donde la temperatura se seteó a 42°C, se inoculó una dosis de 0,020% del cultivo YoFlex Premium 3.0 (Chr. Hansen) y la fermentación se llevó a cabo hasta alcanzar un pH de corte de 4,6.



Figura 46: Fermentador FH Scandinox

Posteriormente, se sometió la base al proceso de pérdida de carga y de refrigeración donde el equipo PTU Scandinox (Ver Figura 47) se seteó a una temperatura de 18°C y se aplicó una contrapresión de 2,5 bar a través de la válvula. Como último paso, se envasó el yogur en vasos estériles a rosca y bolsas estériles, los cuales se colocaron bajo flujo laminar y se llenaron utilizando una manguera, previamente esterilizada, conectada al equipo PTU Scandinox. Posteriormente se almacenaron en cámara frigorífica a temperatura de refrigeración.



Figura 47: PTU Scandinox

4.2 Seguimiento

4.2.1 Reología

Se realizaron los análisis de test rotacional y test oscilatorio sobre todas las muestras de yogur batido en el séptimo día posterior a la elaboración. El equipo utilizado para realizar las mediciones fue el reómetro ANTON PAAR MCR 102 (Ver figura 48), el cual efectúa los análisis en un tiempo aproximado de 15 minutos por muestra previamente acondicionada a una temperatura de 13°C utilizando un baño termostático acoplado al equipo.

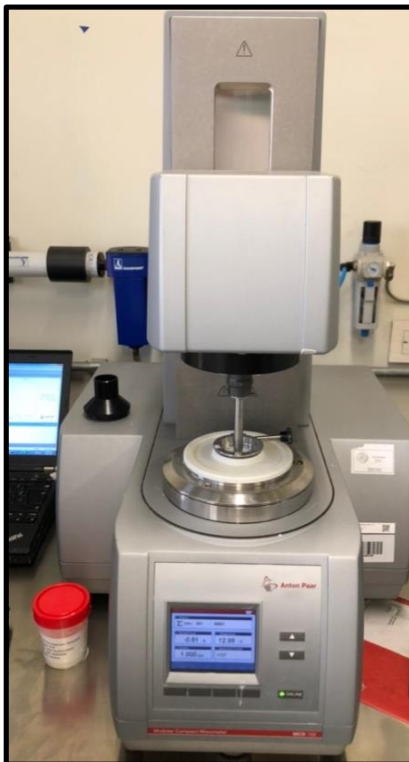


Figura 48: Reómetro ANTON PAAR MCR 102

4.2.2 Post acidificación

La post-acidificación requiere la mayor cantidad de días de seguimiento debido a su variabilidad durante la vida útil del producto. En el caso particular del proyecto, todas las muestras se almacenaron a temperatura de refrigeración (aproximadamente 6°C) y se realizó la medición de pH en los siguientes días post-elaboración: +7, +14, +18, +28 a una temperatura promedio de 20°C. El equipo utilizado para las mediciones fue el pHmetro Mettler Toledo (Figura 49).

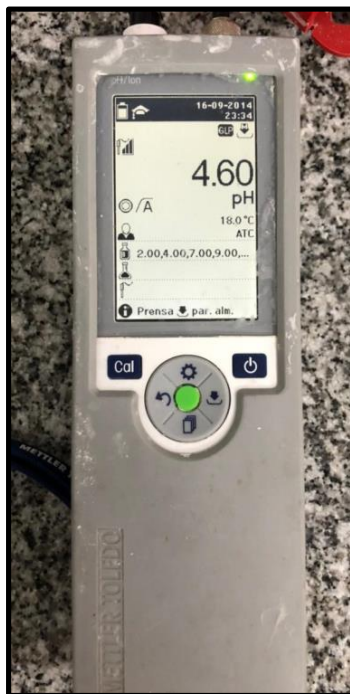


Figura 49: pHmetro Mettler Toledo

4.3 Análisis sensorial y análisis estadístico

En cuanto a lo sensorial, se realizaron pruebas discriminativas del tipo comparación múltiple donde se compara una muestra control con una o varias muestras experimentales, y el juez debe determinar el grado de diferencia existente entre la referencia contra las muestras experimentales utilizando una escala de puntuación del 0 a 100 con diferentes categorías en función de la intensidad de dulzor. (Ver Figura 50). Se utilizó como control un yogur con un 5% de azúcar y una percepción del dulzor de 50 puntos en la escala. En el caso particular de este proyecto, se trabajó con un panel sensorial compuesto por 7 jueces entrenados provisto por la empresa Givaudan donde las muestras se encontraban codificadas a través de un código de 3 dígitos. Las mismas se evaluaron por triplicado, con el fin de obtener resultados estadísticos confiables, a temperatura de refrigeración, y el panel contaba con agua y galletas para limpiar el paladar entre cada muestra.

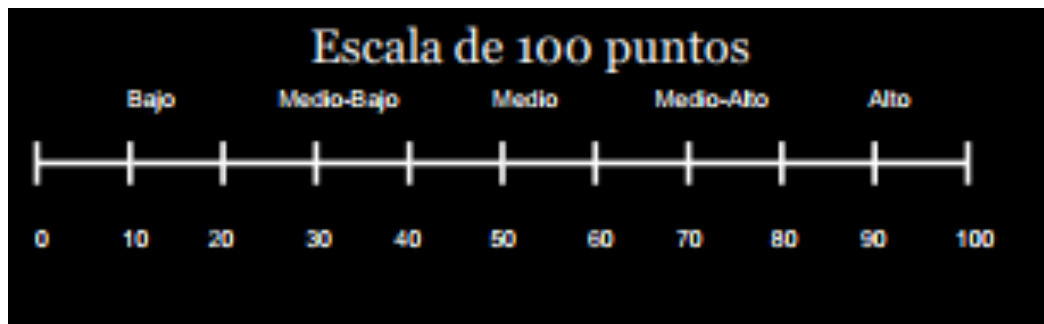


Figura 50: Escala de intensidad de dulzor utilizada por los jueces durante la evaluación sensorial

Para determinar si existen diferencias significativas en cuanto a la percepción del dulzor en las muestras analizadas se llevó a cabo el análisis estadístico de regresión lineal donde se estableció como variable independiente el contenido porcentual de azúcar y la variable dependiente es la intensidad/percepción del dulzor. Por otro lado, se realizó el análisis ANOVA (Análisis de la Varianza) con un nivel de significación del 5%, y posteriormente se utilizó el test de comparaciones múltiples Tukey.

4.4 Aplicación en yogures comerciales

Luego de analizar cuál es la mejor combinación de tecnologías potenciadoras del dulzor que logran una percepción similar a la de un producto con contenido de azúcar tradicional, se extrapoló a una receta de yogur relevante en el mercado latinoamericano. Para el caso particular del proyecto, se utilizó un yogur batido mexicano con la siguiente composición:

- Materia grasa 1,0%
- Proteína 2,80%
- Azúcar 2,50%
- Cultivos lácticos 0,02%
- Gelatina 200B 0,20%
- Almidón modificado 0,10%
- Goma Gellan 0,01%
- Sweetness 0,015%
- Saborizantes 0,08%
- Colorantes 0,03%

- Nola Fit 0,02%

Posteriormente, se sometió al proceso productivo utilizando los mismos parámetros establecidos para la base estándar de la etapa anterior. Luego, se llevó a cabo nuevamente la evaluación sensorial del producto, pero en este caso se utilizaron métodos descriptivos para evaluar las características sensoriales. Se utilizó un panel sensorial provisto por la empresa Givaudan, el cual estaba compuesto por 8 jueces entrenados y se utilizaron descriptores de la familia Dairy con una escala de puntuación de 100 puntos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. Resultados y discusión

5.1 Cinética de acidificación

Para esta etapa se realizó una medición continua del pH a través del tiempo (en minutos) en los tanques de fermentación. Como se puede observar en la Figura 51, las bases analizadas poseen curvas muy similares ya que se utilizó el mismo cultivo, la misma temperatura de incubación y el mismo tratamiento térmico. Los factores mencionados son los principales responsables en provocar variaciones en la fase lag del decrecimiento del pH y en este caso esos factores no fueron modificados entre una base y otra, es por esta razón que las curvas de fermentación obtenidas son tan similares entre sí (De Brabandere y De Baerdemaeker, 1999).

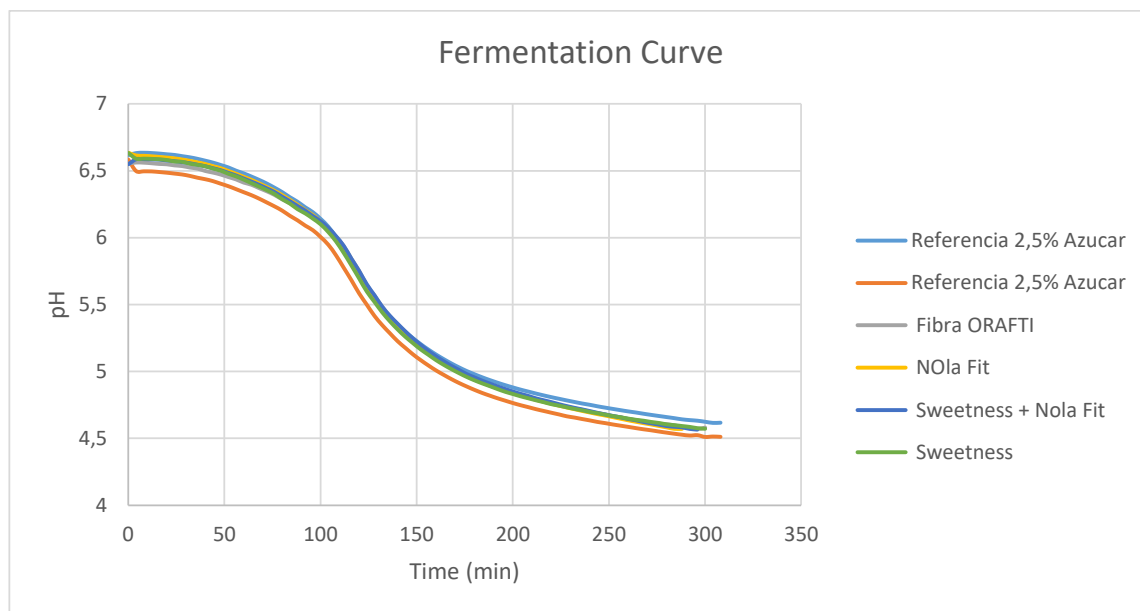


Figura 51: Evolución del pH en función del tiempo para cada una de las muestras analizadas

5.2 Reología

Para la etapa de evaluación de las propiedades reológicas de las muestras se realizaron las mediciones correspondientes al séptimo día posterior a la elaboración. A continuación,

podemos observar los resultados obtenidos para cada una de las muestras brindados por el software del equipo. (Figuras 52 y 53)

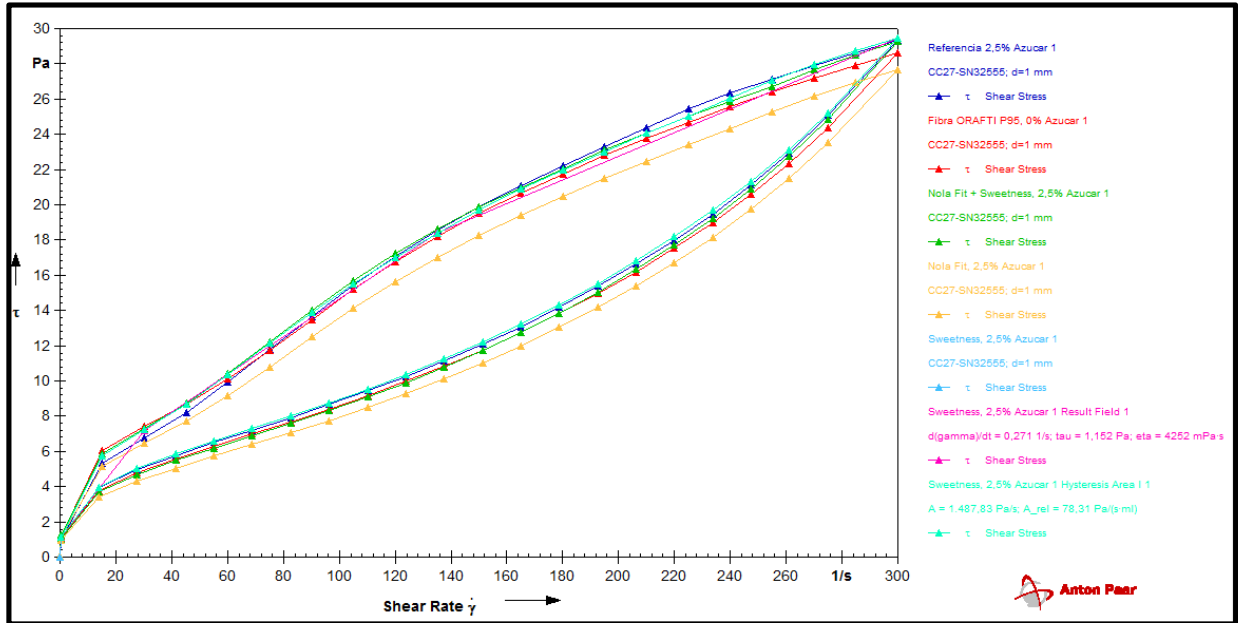


Figura 52: Resultados test rotacional

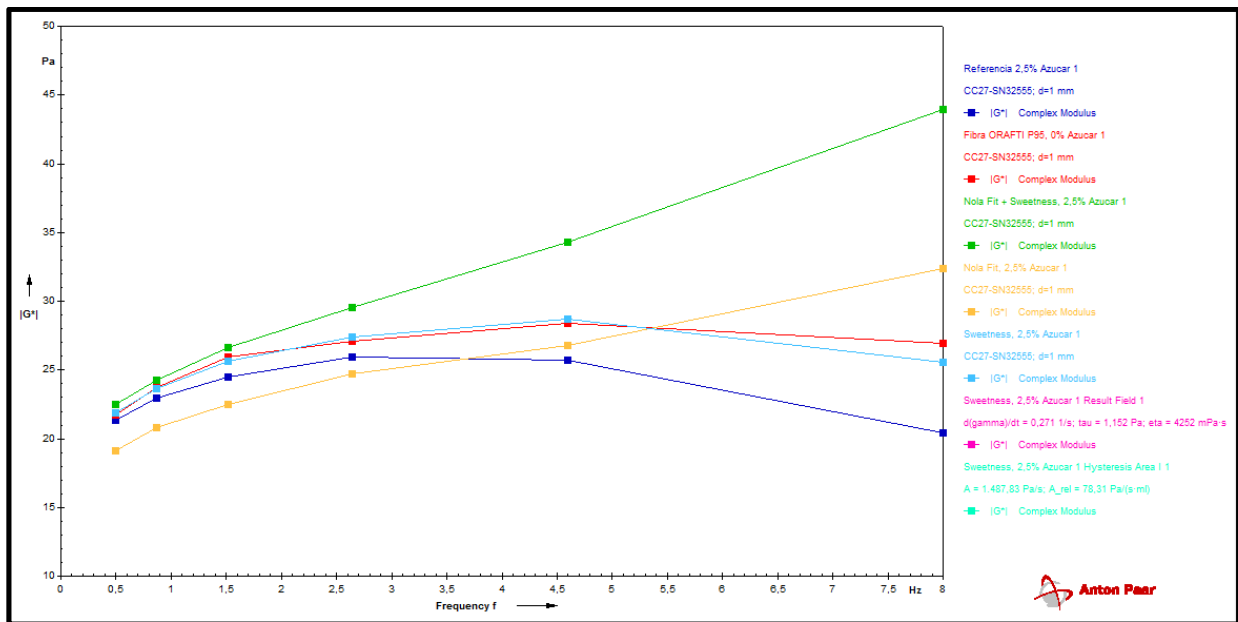


Figura 53: Resultados test oscilatorio

Como podemos observar en las gráficas, todas las curvas son muy similares entre sí ya que las propiedades reológicas dependen de factores como: el tipo de cultivo utilizado, la

temperatura de almacenamiento, la composición química de la leche, las condiciones de procesamiento, entre otros; y en este caso particular todos los parámetros aplicados fueron iguales para todas las muestras y, por lo tanto, se espera obtener curvas similares entre sí.

5.3 Post-acidificación

A continuación, se observa un gráfico con los resultados obtenidos del seguimiento de las distintas muestras en los días +7, +14, +18 y +28. (Figura 54)

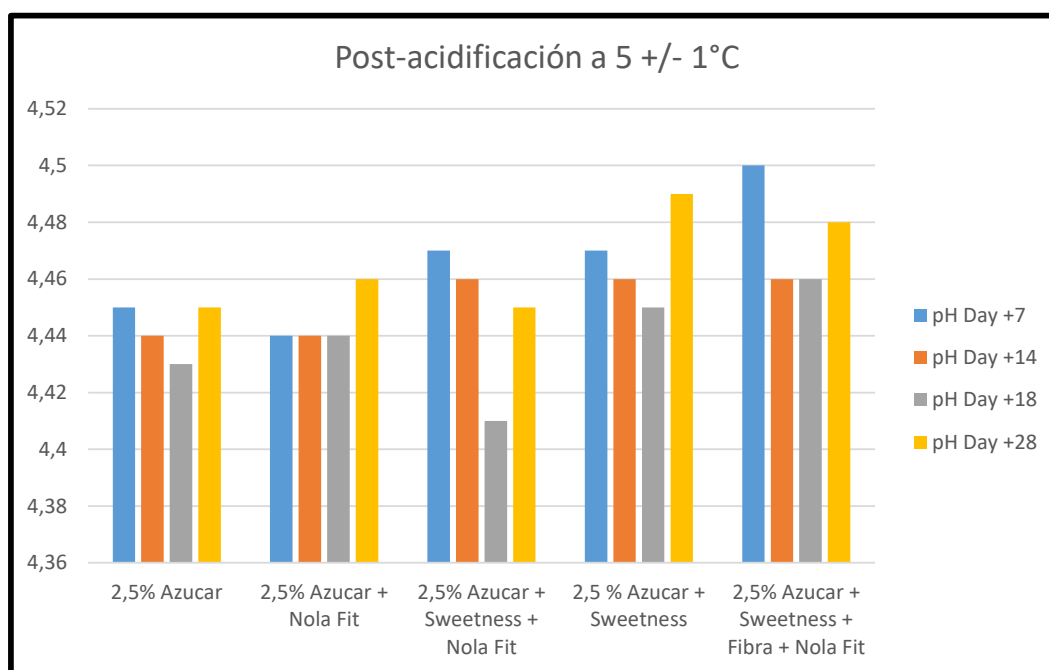


Figura 54: Resultados del seguimiento de post-acidificación en los días +7, +14, +18 y +28

Como podemos observar, existen ciertas variaciones de pH entre las diferentes muestras y dentro de cada una de ellas se dieron modificaciones en los valores medidos entre el día +7 y +28. Sin embargo, estas diferencias no son significativas ya que el pH no cae por debajo del valor 4,4, el cual es un punto crítico ya que si el pH es inferior al valor mencionado se percibe una acidez pronunciada que puede causar el rechazo del consumidor.

5.4 Evaluación sensorial

En primer lugar, debemos analizar los resultados obtenidos del análisis de regresión lineal para entender cómo se comporta la percepción del dulzor en función del contenido de azúcar. Para construir la curva de percepción del dulzor se utilizaron las muestras con 2,5%, 6% y 9% de azúcar las cuales fueron evaluadas por jueces entrenados. A continuación, podemos observar los resultados del análisis (Figura 55).

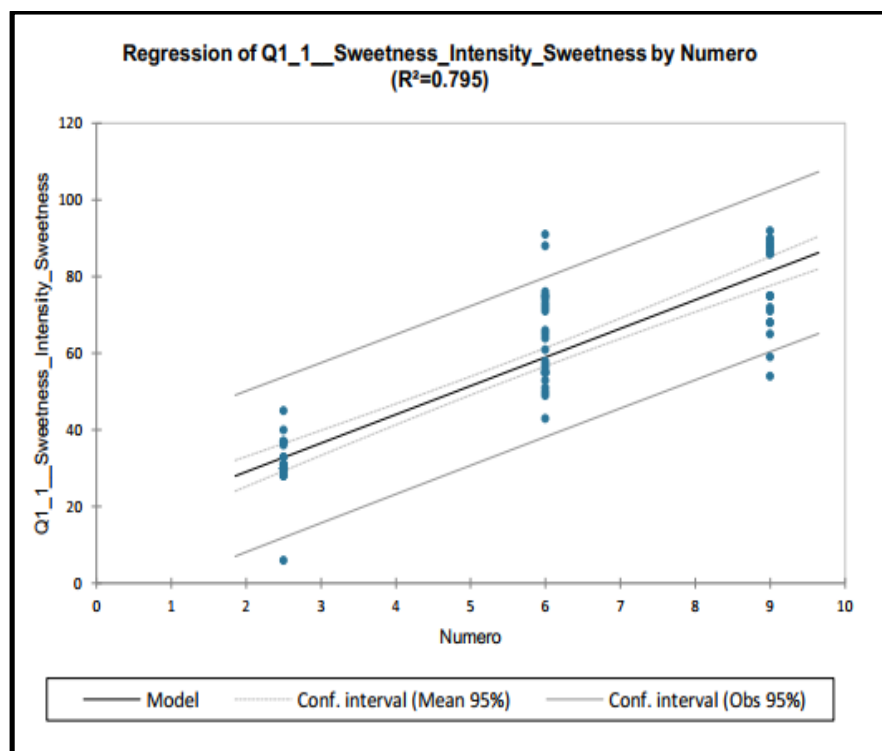


Figura 55: Curva de regresión lineal

La recta de regresión lineal obtenida luego del análisis se muestra a continuación

$$Intesidad\ del\ dulzor = 14,212 + 7,463 * \% \ azúcar \quad (11)$$

La pendiente de la recta indica que, en promedio, a cada aumento de una unidad en el porcentaje de azúcar (eje X) le corresponde un incremento de 7,463 puntos en la intensidad del dulzor. Si analizamos estos resultados junto con el coeficiente de determinación R^2 , podemos inferir que el 79% ($R^2=0,795$) de la variabilidad de la intensidad del dulzor se encuentra explicada por el contenido de azúcar. Este resultado nos permite afirmar que el modelo tiene capacidad predictiva y que la variable dependiente (intensidad/percepción del dulzor) tiene

correlación con la variable independiente (contenido porcentual de azúcar). La curva de percepción del dulzor obtenida del presente análisis fue utilizada como punto de comparación una vez evaluadas las muestras con las tecnologías de estudio.

Posteriormente, las muestras que contienen aplicadas las tecnologías potenciadoras del dulzor fueron analizadas por un panel sensorial entrenado y aportado por la empresa Givaudan, las cuales fueron evaluadas por un jurado de 7 jueces entrenados utilizando una escala de dulzor del 0 al 100. A partir de los resultados obtenidos por cada uno de los jueces, se obtuvo la media de la intensidad de dulzor para cada una de las muestras y se representó gráficamente tomando como referencia la curva de percepción del dulzor explicada por la regresión lineal (Figura 56)

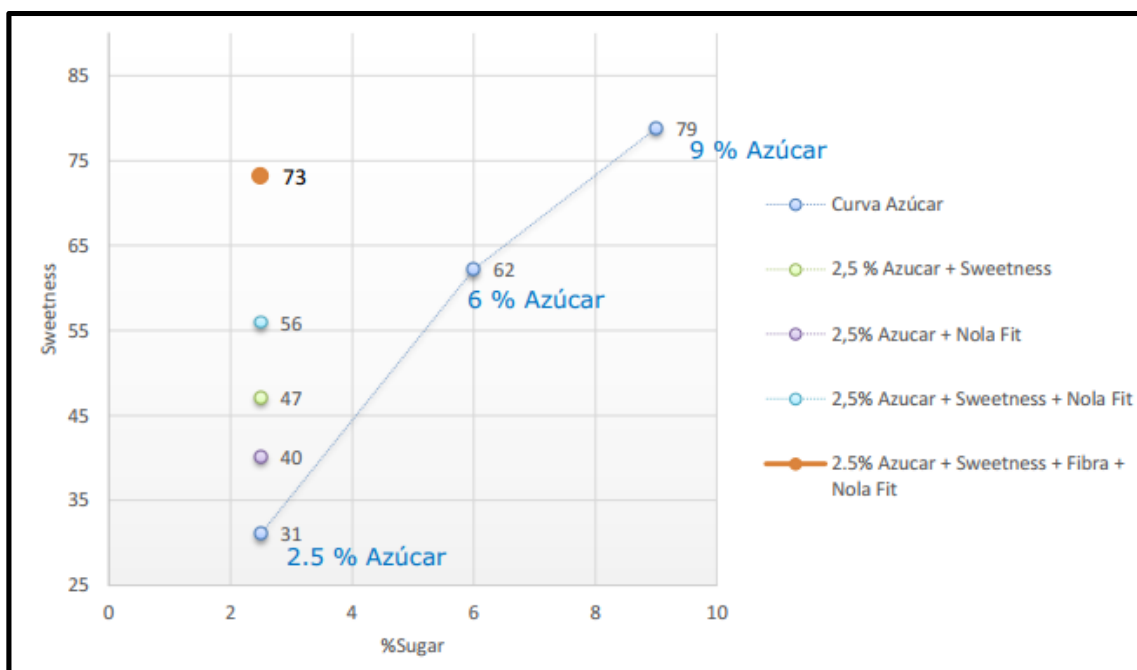


Figura 56: Representación gráfica de la media de la percepción del dulzor para cada una de las muestras

Como podemos observar en la gráfica, cualquier tecnología potenciadora del dulzor aplicada sobre la base de 2,5% de azúcar incrementa la intensidad de dulzor percibida. Al aplicar la lactasa Nola Fit podemos observar un incremento del 29% del dulzor percibido con respecto a la base estándar, y un incremento del 50% al aplicar el modulador de sabor provisto por Givaudan.

Otro punto a destacar que podemos visualizar a través de los datos obtenidos es que no existe una relación de sinergismo entre la lactasa y el modulador de sabor ya que la intensidad de dulzor aportada por las mismas es de un valor de 56 puntos dentro de la escala, y por lo tanto no cumple con la condición requerida para afirmar la existencia de sinergismo entre las tecnologías. Para poder afirmar que existe una relación de sinergismo entre ambas tecnologías se debería haber obtenido un valor de intensidad de dulzor superior a la sumatoria de la intensidad aportada por cada una de las tecnologías, en este caso 40 puntos aportados por la muestra con enzima lactasa Nola Fit y 47 puntos aportados por Sweetness, lo cual suma 87 puntos. Por lo tanto, no se cumple la relación de sinergismo ya que la percepción del dulzor aportada por ambas tecnologías en conjunto es de 56 puntos contra los 87 puntos obtenidos como resultado de la sumatoria de ambas tecnologías aplicadas individualmente. (Ecuación 12 y 13)

$$40 + 47 > 56 \quad (12)$$

$$87 \gg 56 \quad (13)$$

Posteriormente, se realizó un test ANOVA para aceptar o rechazar la hipótesis nula y por lo tanto confirmar si existen o no diferencias significativas entre las muestras. En este caso en particular, no es posible mostrar los resultados de la salida R provista por el software estadístico por confidencialidad de datos, sin embargo, el p-valor (probabilidad de que H_0 sea verdadera) obtenido del análisis fue menor al p-crítico fijado como nivel de significancia (5%)

$$p_{calculado} < p_{crítico}(0,05) \quad (14)$$

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula de la igualdad de medias entre las diferentes muestras y podemos afirmar que existen al menos dos pares de medias que difieren entre sí. Sin embargo, el ANOVA no nos permite identificar cuáles son las muestras que presentan diferencias significativas entre sí, y para ello se aplicó el Test de Tukey y se obtuvieron los siguientes resultados. (Figura 57)

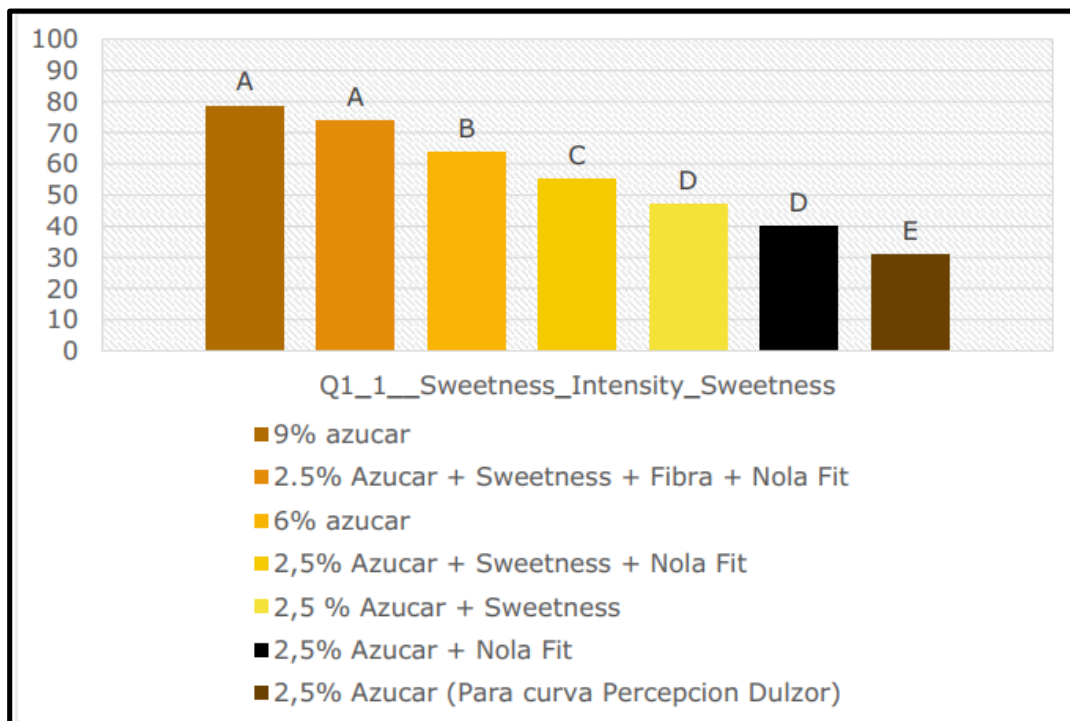


Figura 57: Resultados de la aplicación de Test de Tukey para determinar la existencia de diferencias significativas entre las muestras

Tal como podemos observar, las muestras que poseen la misma categoría alfabética son aquellas en las que no se detectan diferencias significativas, y por lo tanto, el consumidor promedio percibe un dulzor exactamente igual en ambas muestras. En este caso podemos afirmar que no existen diferencias significativas entre la base estándar con 9% de azúcar y la muestra que combina las tres tecnologías potenciadoras del dulzor probadas en este estudio (Figura 58). Adicionalmente, podemos observar que la muestra de yogur con el agregado de modulador de sabor y la muestra con el agregado de enzima lactasa no presentan diferencias significativas entre sí ya que pertenecen al mismo grupo de Tukey. Un punto relevante a destacar es que los yogures batidos presentes en el mercado argentino poseen entre un 5-7% de azúcar agregada, y por lo tanto, se considera como tradicional un yogur con un 6% de azúcar el cual se utiliza como punto de comparación.

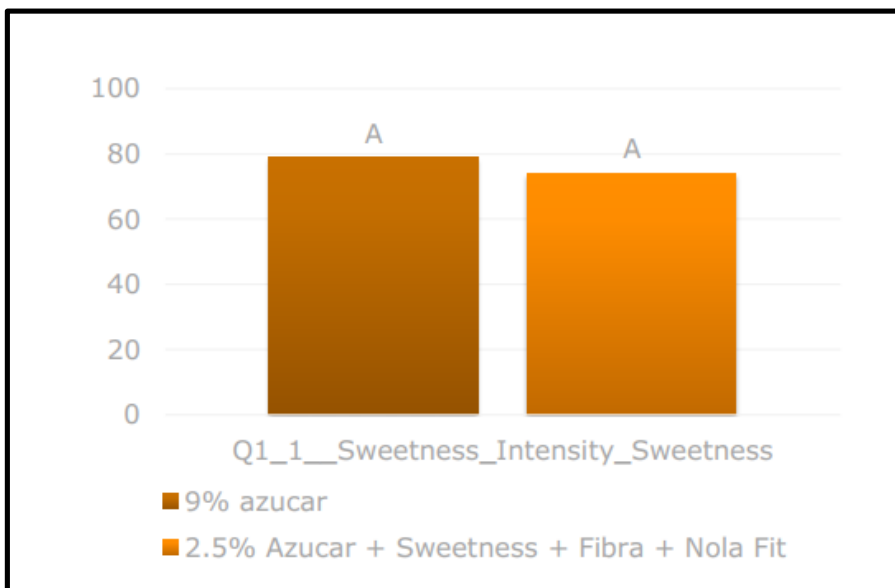


Figura 58: Comparación entre la muestra de 9% de azúcar y la muestra con las tres tecnologías aplicadas

A partir de los resultados obtenidos podemos inferir que la combinación de las tres tecnologías potenciadoras del dulzor es la aplicación más óptima para lograr una percepción del dulzor similar a un yogur con un 9% de azúcar. Sin embargo, al realizar un análisis de los costos podemos visualizar que el costo de aplicar todas las tecnologías es muy elevado y no es rentable para la industria láctea. El costeo de los diferentes prototipos se representa en forma porcentual para preservar la confidencialidad de los datos brindados por las empresas con respecto a los insumos utilizados para cada muestra.

TABLA II: Comparación de costeo porcentual de las muestras analizadas

Yogur con 6% de azúcar	Yogur con 2,5% de azúcar+Sweetness+Nola Fit	Yogur con 2,5% de azúcar+Sweetness+Nola Fit+fibra
100 %	101,28 %	153,1 %

Tal como podemos observar en la Tabla II, la diferencia porcentual de costos entre un yogur con un contenido de azúcar tradicional y un yogur reducido en azúcar con el agregado de la enzima lactasa y el modulador de sabor solo radica en un 1,28 %, lo cual representa una cifra

accesible para la industria láctea. En cambio, la diferencia porcentual del yogur reducido en azúcar con la aplicación de las tres tecnologías potenciadoras del dulzor supone un aumento del 53,1 % con respecto al producto tradicional, el cual expresa una opción de aplicación poco rentable para la industria. Sumado a esto, debemos tener en cuenta que los yogures batidos disponibles en el mercado argentino poseen un porcentaje de azúcar agregada que oscila entre el 5 y el 7 %, por lo tanto, no se justifica invertir en aplicar todas las tecnologías potenciadoras para lograr una percepción del dulzor similar a la de un yogur con un 9% de azúcar.

Por lo tanto, la formulación óptima para aplicar en un base de yogur es la combinación de lactasa y modulador de sabor la cual no logra exactamente una percepción del dulzor igual a la de una base de yogur con 6 % de azúcar ya que las muestras no pertenecen al mismo grupo de Tukey, pero se asemeja mucho a ella y se estima que el consumidor no percibirá diferencias en cuanto al dulzor.

Como se mencionó anteriormente en la etapa de metodología, una vez determinada la formulación óptima de tecnologías potenciadoras del dulzor la misma fue aplicada a una receta de yogur relevante del mercado latinoamericano, y luego se sometió a un testeo descriptivo utilizando un panel sensorial entrenado. Los resultados obtenidos se pueden observar gráficamente en la Figura 59.

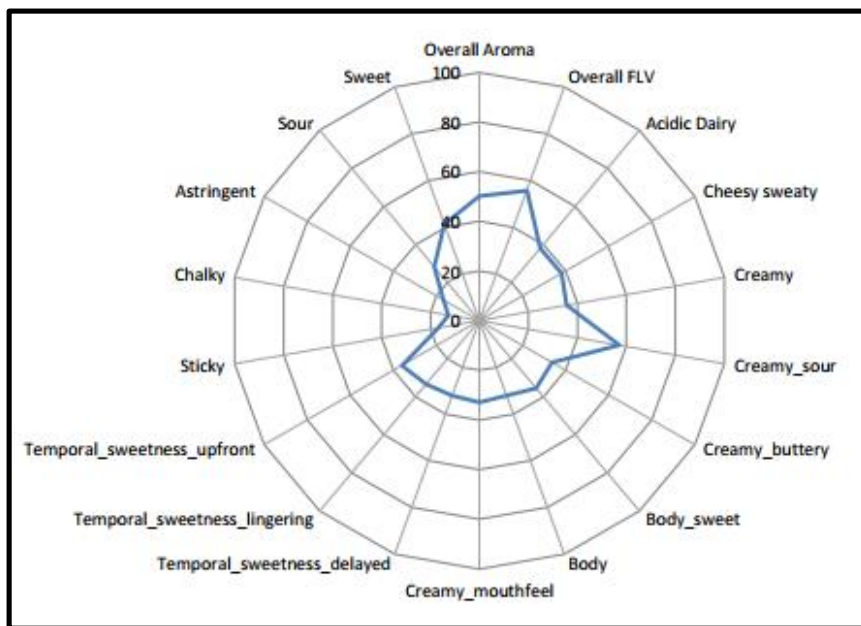


Figura 59: Gráfica de estrella del perfil sensorial del yogur

Tal como se observa en la gráfica, se muestra cual es la predominancia, en una escala de 100 puntos, de cada uno de los descriptores sensoriales utilizados para evaluar el perfil sensorial del producto final. La nota principal que se destaca en el producto es “Creamy Sour” con un puntaje que ronda los 60 puntos en la escala utilizada, y se trata de un aroma lácteo agrio asociado con productos tales como manteca, crema agria y yogur. Con respecto al dulzor, el producto cuenta con una intensidad de dulzor media ya que alcanzó un puntaje mayor a 40 puntos en la escala. Adicionalmente, podemos observar que el producto final posee un sabor general medio alcanzando casi los 60 puntos en la escala sobre la categoría “Overall FLV” (Flavour) y un aroma general medio, lo cual nos brinda el indicio de que el producto cumple con las características esperadas de sabor y aroma de un yogur.

Otro punto a destacar, es la acidez del producto final donde en este caso se puede observar que el producto presenta una acidez media-baja tomando en cuenta la escala de puntuación utilizada. Es importante resaltar que el yogur es un alimento con un perfil que tiende hacia lo ácido, sin embargo, se añade azúcar para contrarrestar la acidez y evitar el rechazo por parte de los consumidores. En nuestro caso, el contenido de azúcar se redujo a un 2,5% y aun así el producto final no posee una acidez pronunciada, lo cual nos demuestra lo efectiva que resulta la aplicación de las tecnologías potenciadoras del dulzor.

Por último, hablaremos acerca del perfil del producto en cuanto al cuerpo o textura del mismo. En este caso, se obtuvo una textura media-baja con un puntaje de 35 puntos aproximadamente, lo cual demuestra una textura deficiente para un yogur batido. Esta situación puede atribuirse a la reducción del contenido de azúcar del producto ya que el azúcar posee un papel fundamental en la viscosidad, textura y cuerpo del yogur; y por lo tanto debería ajustarse la dosis de estabilizante con el objetivo de lograr una textura que se asemeje a un yogur batido.

CONCLUSIONES

6. Conclusiones

Este trabajo de investigación demostró que es posible lograr la reducción del contenido de azúcar de un yogur batido al menos en un 50% sin alterar la percepción del dulzor gracias a la aplicación de tecnologías naturales potenciadoras del dulzor.

La aplicación de la enzima lactasa, el modulador de sabor y la fibra sobre una base de yogur estándar con 2,5% de azúcar logra conseguir una percepción del dulzor que no difiere de una muestra con un 9 % de azúcar, sin embargo, los costos productivos se incrementan a valores poco rentables y accesibles para la industria láctea.

Por esa razón, se concluyó que la formulación de aplicación óptima se basa en adicionar 1200 BLU/litro de lactasa Nola Fit y 0,015% Sweetness para lograr una percepción del dulzor similar a una base de yogur con un 6% de azúcar, lo cual incrementa los costos productivos en un 1,28 % siendo una alternativa más rentable para la industria.

Por otra parte, al extrapolar los resultados obtenidos de la base estándar de yogur y aplicarlos sobre una receta relevante del mercado latinoamericano se observa un perfil sensorial óptimo del producto final alcanzando un nivel de dulzor medio y una acidez media-baja. Sin embargo, la reducción del contenido de azúcar trajo aparejado modificaciones en la textura del producto final, lo cual indica que parece necesario modificar la formulación de estabilizantes ya que el yogur batido requiere un mayor cuerpo y textura.

Con respecto a los resultados obtenidos de la cinética de acidificación, reología y post-acidificación no se experimentaron diferencias entre las muestras debido a que no se realizaron modificaciones en los parámetros de producción tales como los cultivos lácticos, temperatura de fermentación, temperatura de almacenamientos, composición química de la leche, entre otros.

En último lugar, es posible afirmar que gracias a la aplicación de las tecnologías potenciadoras del dulzor se puede reducir el contenido de azúcar por debajo de los límites establecidos por la Ley de Etiquetado Frontal y por lo tanto permite evitar la colocación de sellos frontales tales como “EXCESO DE AZÚCAR” y “CONTIENE EDULCORANTES. EVITAR EN NIÑOS”. Por ende, es una solución útil, aplicable y rentable para la industria láctea a fin de hacer frente al inminente desafío actual debido a la reciente aprobación de la ley.

Esta investigación es útil como punto de partida para la realización de otras investigaciones más amplias que incluyan la aplicación de las tecnologías potenciadoras del dulzor en otros productos lácteos tales como bebidas lácteas, shots probióticos y otras leches fermentadas existentes en el mercado.

BIBLIOGRAFÍA

7. Bibliografía

- ABADA, Emad. *Application of Microbial Enzymes in the Dairy Industry-Chapter 5*. En: *Enzymes in Food Biotechnology*. Londres: Academic Press, 2019. ISBN: 978-0-12-813280-7
- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T). Código Alimentario Argentino. Capítulo VIII: Alimentos Lácteos [en línea]. 2020. [consulta: 14 de abril 2021]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>
- ALEM, Pablo. *Tendencias e innovaciones en el desarrollo de productos lácteos*. Chr. Hansen, 2015.
- CARNIEL BELTRAMI, Monique; DORING Thiago y DE DEA LINDNER Juliano. *Sweeteners and sweet taste enhancers in the food industry*. En: *Food Science and Technology* [en línea]. Abril-Junio 2018, Vol.38, No.2, p. 181-187. [consulta: 15 de octubre 2021]. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/cta/i/2018.v38n2/>
- CARRILLO PARRA, Ana. *Desarrollo de nuevos nanofluidos: Caracterización y comportamiento reológico*. [en línea]. Tesis de grado. Lugar de publicación: Cartagena, Colombia. 2016 [consulta: 6 de julio de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.upct.es/xmlui/handle/10317/6659>
- CHANDAN, Ramesh C. *Manufacturing yogurt and fermented milks*. Ames: Blackwell Publishing, 2006. ISBN: 978-0-8138-2304-1.
- CONTENTO RUBIO, Ricardo. *Estadística con aplicaciones en R*. Bogotá: Utadeo. 2019. ISBN: 978-958-725-273-6. Disponible en: https://www.utadeo.edu.co/sites/tadeo/files/node/publication/field_attached_file/libro_estadistica_con_aplicaciones_en_r_def_ago_11.pdf
- DAGNINO, Jorge. *Análisis de Varianza*. En: *Revista Chilena de Anestesia* [en línea]. 2014, Vol. 43, No. 4. [consulta: 11 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://revistachilenadeanestesia.cl/analisis-de-varianza/>
- DAVIES, Olivia. WHO calls on countries to reduce sugars intake among adults and children. En: Organización Mundial de la Salud (OMS) [en línea]. 4 marzo 2015

[consulta: 21 de abril 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/news/item/04-03-2015-who-calls-on-countries-to-reduce-sugars-intake-among-adults-and-children>

- DE BRABANDERE, Anne y DE BAERDEMAEKER, Josse. *Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation*. En: Journal of Food Engineering [en línea]. Agosto 1999, Vol. 41, no 3-4, p.221-227. [consulta: 30 de junio 2021]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00096-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00096-5)
- DELLO STAFFOLO, M, *et al.* *Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt*. En: International Dairy Journal [en línea]. Agosto 2003, Vol. 14, p.263-268. [consulta: 30 de mayo 2021]. Disponible en: doi:10.1016/j.idairyj.2003.08.004
- DÍAZ OCAMPO, Raúl. *Reología aplicada a sistemas alimentarios*. Guayaquil: Grupo Compás, 2018. ISBN: 978-9942-33-068-0.
- DUBOIS, Grant y PRAKASH, Indra. *Non-Caloric Sweeteners, Sweetness Modulators and Sweetener Enhancers*. En: Annual Review of Food Science and Technology [en línea]. Enero 2012, Vol. 3, p. 53-80 [consulta: 15 de octubre 2021]. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-food-022811-101236>
- DURÁN, Samuel, CORDÓNA, Karla y RODRÍGUEZ, María del Pilar. *Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de peso*. En: Revista Chilena de Nutrición [en línea]. Septiembre 2013, Vol. 40, No. 3 [consulta: 20 de agosto 2021]. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182013000300014
- DUTRA ROSOLEN, Michele, *et al.* *Lactose Hydrolysis in Milk and Dairy Whey Using Microbial β -galactosidases*. En: Hindawi [en línea]. Octubre 2015, Vol. 2015. [consulta: 30 de junio 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2015/806240>
- ESPINOSA MANFUGÁS, Julia. *Evaluación sensorial*. La Habana: Editorial Universitaria, 2007. ISBN 978-959-16-0539-9.
- FAO, PAHO, WFP and UNICEF. 2019. *Regional Overview of Food Security and Nutrition in Latin America and the Caribbean 2019*. Santiago. 135. [consulta: 25 de abril 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.4060/ca6979en>
- FEMA (Flavour and Extract Manufacturers Association). Estados Unidos, 2021 [consulta: 5 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.femaflavor.org/>

- GÖSTA BYLUND, M. *Dairy processing handbook*. Suecia: Teknotext AB, 1996.
- HOPPERT Karin, *et al.* *Consumer acceptance of regular and reduced-sugar yogurt enriched with different types of dietary fiber*. En: *International Dairy Journal* [en línea]. Enero 2013, Vol. 28, No. 1, p. 1-7. [consulta: 24 de mayo 2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694612001665?via%3Dihub>
- JOINT GENOME INSTITUTE [en línea]. California, Estados Unidos. 2021 [consulta: 22 de junio de 2021]. Disponible en: <https://genome.jgi.doe.gov/portal/lacde/lacde.home.html>
- KIM, Byung Hong y GADD, Geoffrey Michael. *Bacterial Physiology and Metabolism*. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. Capítulo 8, Anaerobic fermentation, p. 252–297. ISBN: 9780511790461.
- *Lactasa en la Industria Láctea*. En: *Revista Food Ingredients Brasil*. [en línea]. 2015, Vol. XVII, no 32, p. 20-22. [consulta: 30 de junio 2021]. Disponible en: <https://revista-fi.com.br/revista/69/mobile/index.html#p=22>
- LEE, W.J y LUCEY, J.A. *Formation and Physical Properties of Yogurt*. En: *Asian-Australian Journal of Animal Science*. [en línea]. Septiembre 2010, Vol. 23, No. 9, p.1127-1136 [consulta: 23 de mayo 2021]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/263440016_Formation_and_Physical_Properties_of_Yogurt
- LEY NÚMERO 27642. Ley de Etiquetado Frontal-Promoción de Alimentación Saludable. Boletín Oficial de la República Argentina. 12 de noviembre de 2021.
- LIND, Douglas, MARCHAL, William y WATHEN, Samuel. *Estadística aplicada a la economía y a los negocios*. México: Mc Graw Hill, Edición 15, 2012. ISBN: 978-607-15-0742-6
- MADRIGAL, Lorena y SANGRONIS, Elba. *La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales*. En: *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* [en línea]. Diciembre 2007, Vol. 57, No. 4 [consulta: 16 de agosto 2021]. Disponible en: <https://www.alanrevista.org/ediciones/2007/4/>
- MAHATO, Dipendra Kumar, *et al.* *Sugar Reduction in Dairy Food: An Overview with Flavoured Milk as an Example*. En: *Foods* [en línea]. Octubre 2020, Vol. 9, No. 10

[consulta: 24 de marzo 2021]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/10/1400>

- MATOS-CHAMORRO, Alfredo y CHAMBILLA-MAMANI, Elmer. *Importancia de la Fibra Dietética, sus Propiedades Funcionales en la Alimentación Humana y en la Industria Alimentaria*. En: Revista de Investigación de Ciencia y Tecnología de Alimentos [en línea]. Junio 2010, Vol. 1, no 1 [consulta: 16 de agosto 2021]. Disponible en: https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/ri_alimentos/article/view/813
- MAYTA-HANCCO, Jhony, et al. *La homogeneización a ultra-alta presión (UHPH): Efectos en la leche y aplicaciones en la fabricación de quesos*. En: Revista de Investigación Veterinaria del Perú. Junio 2020, vol. 31, no 2. e17934. [consulta: 4 de agosto 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i2.17934>
- MINAGRI (Ministerio de Agricultura, Pesca y Ganadería). Buenos Aires, 2021 [consulta: 16 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/agricultura>
- Ministerio de Salud y Desarrollo Social. *4° Encuesta Nacional de Factores de Riesgo. Principales resultados*. Buenos Aires, 2018.
- NORMA NÚMERO 051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-información comercial y sanitaria. Diario oficial de la Federación Mexicana. 5 de abril de 2010.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). *Alimentos y bebidas ultraprocesados en América Latina: ventas, fuentes, perfiles de nutrientes e implicaciones*. Washington, D.C.: OPS; 2019. ISBN: 978-92-75-12032-3.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). *Modelo de perfil de nutrientes de la Organización Panamericana de la Salud*. Washington DC: OPS, 2016. ISBN: 978-92-75-31873-7.
- PARRA HUERTAS, Ricardo Adolfo. *Yogur en la salud humana*. En: Revista Lasallista de Investigación [en línea]. Julio-Diciembre 2012, Vol. 9, No.2, p. 162-177 [consulta: 19 de agosto 2021]. Disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/rldi/article/view/347>
- PARRA HUERTAS, Ricardo. *Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos*. En: Revista de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Colombia [en línea].

Enero-Junio 2010, Vol. 8, No. 1. [consulta: 8 de agosto de 2021]. Disponible en:

<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>

- RAMÍREZ NAVAS, Juan Sebastián. *Introducción a la reología de los alimentos*. En: Revista de Revisiones de la Ciencia, Tecnología e Ingeniería de los Alimentos [en línea]. Junio 2006, Vol 6, no.1 [consulta: 30 de mayo 2021]. Disponible en: <https://revistareciteia.es.tl/v-.6-n.-1-a--v.-9-n.-2.htm>
- REGENHARDT, Silvina. 2010. *Estudio de la inmovilización de la β – galactosidasa para la reutilización de la lactosa del suero de quesería*. [en línea]. Tesis doctoral: Universidad Nacional del Litoral. [consulta: 30 de junio 2021]. Disponible en: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/handle/11185/326>
- REVISTA DEL CONSUMIDOR, México [en línea]. Octubre 2020 [consulta: 23 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://www.gob.mx/profec/documentos/revista-del-consumidor-2020?state=published>
- ROSER ROMERO DEL CASTILLO, Shelly y LAGARRIAGA, Josep. 2004. *Productos lácteos: tecnología*. Ediciones UPC. ISBN: 9788483017456.
- ROURAY, Winny y MISHRA, Hari. *Scientific and Technical Aspects of Yogurt Aroma and Taste: A Review*. En: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [en línea]. Julio 2011, Vol. 10, no 4 [consulta 4 de julio 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00151.x>
- SCIENCE PHOTO LIBRARY [en línea]. Londres, Reino Unido. 2021 [consulta: 22 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.sciencephoto.com/media/1019611/view/streptococcus-thermophilus-bacteria-illustration>
- SFAKIANAKIS, Panagiotis y TZIA, Constatnina, *Conventional and Innovative Processing of Milk for Yogurt Manufacture; Development of Texture and Flavor: A Review*. En: *Foods* [en línea]. Marzo 2014, Vol.3, No.1, p. 176-193 [consulta: 23 de mayo 2021]. Disponible en: [10.3390/foods3010176](https://doi.org/10.3390/foods3010176)
- SHARIF, Mian, *et al. Sensory Evaluation and Consumer Acceptability*. Capítulo 14: p. 362-386. En: *Handbook of Food Science and Technology*. New Jersey: Wiley, 2017.
- STATISTA [en línea]. Alemania, 2021. [consulta: 16 de julio de 2021]. Disponible en: <https://es.statista.com/>

- TABOADA, Graciela. *Revolucionario cultivo láctico para la elaboración de yogures*. En: Revista Tecnología Láctea Latinoamericana. [en línea]. 2016, N° 91 [consulta: 27 de julio 2021]. Disponible en:
<http://www.publitec.com.ar/contenido/objetos/ChrHansen.pdf>
- TAMINE, A.Y y DEETH, H.C. *Yogurt: Technology and Biochemistry*. En: Journal of Food Protection. Diciembre 1980, vol. 43, no.12. Páginas 939-977 [consulta: 22 de mayo 2021]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/311343388>
- TAMINE, A.Y y ROBINSON R.K. *Yogur: Ciencia y Tecnología*, Zaragoza: ACRIBIA S.A, 1991. ISBN 84-200-0687-4.
- TROWELL, H. C. *Definitions of fibre*. 1974. The Lancet, 1, 503–505. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4131897/>
- VAN HISSENHOVEN LAPACÓ, Silvina, 2017. *Evaluación de diferentes cultivos de baja post acidificación aplicados a una bebida láctea fermentada*. [en línea]. Trabajo fin de máster: Universidad Nacional de Colombia [consulta: 10 de agosto 2021]. Disponible en: https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/61012?locale-attribute=pt_BR
- WALSTRA, Pieter, *et al.* *Dairy Science and Technology*. 2ª edición. Boca Ratón: Taylor & Francis Group, 2006. Capítulo 7, Tratamiento térmico, p. 225-271. ISBN: 0-8247-2763-0
- WATTS, B. M, *et al.* *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*. Ottawa: Intenational Development Research Centre, 1992. ISBN: 0-88936-564-4
- WEILL, Ricardo, 2017. *El yogur, un alimento milenario a la luz del siglo XXI*. Buenos Aires: Asociación Civil Danone para la Nutrición, la Salud y la Calidad de Vida. Capítulo 2, El yogur en la historia del hombre, p 28-41. ISBN 978-987-28033-4-6.
- WHITEHURST, Robert y VAN OORT, Maarten. *Enzymes in Food Technology*. En: Van Oort, Maarten. *Enzymes in Food Technology-Introduction*. 2a. edición. Ames: Blackwell Publishing, 2010, p. 17-22. ISBN 978-1-4051-8366-6
- WOO, Alex. *Recent Research on Clean Label Sweetness Modulators*. En: Sweetness Systems Conference, 2020. [consulta: 15 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://sweeteners.globalfoodforums.com/sweetener-systems-articles/clean-label-sweetness-modulators/>

- WU, Sha, *et al.* *Effects of Incubation Temperature, Starter Culture Level and Total Solids Content on the Rheological Properties of Yogurt*. En: International Journal of Food Engineering [en línea]. Enero 2009, Vol. 5, No. 2, Artículo 3 [consulta: 25 de abril 2021]. DOI: 10.2202/1556-3758.1436. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/43520876_Effects_of_Incubation_Temperature_Starter_Culture_Level_and_Total_Solids_Content_on_the_Rheological_Properties_of_Yogurt
- YILDIZ, Fatih. *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*. Boca Ratón: Taylor & Francis Group, 2010. Capítulo 3, Yogurt Microbiology and Biochemistry, p. 97-122. ISBN: 978-1-4200-8207-4