

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**Efecto de la adición de proteína de suero de leche concentrado  
y tiempo de almacenamiento sobre la acidez, viscosidad,  
sinéresis, recuento de bacterias lácticas y aceptabilidad general  
en el yogurt bebible**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE:**

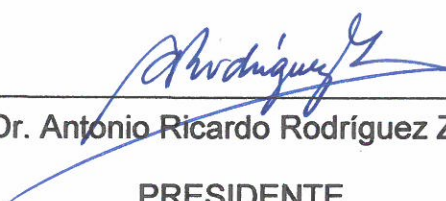
**INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**ROXANA MARLENE GAVIÑO HONORIO**

**TRUJILLO, PERÚ**

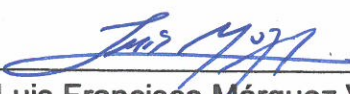
**2019**

La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:



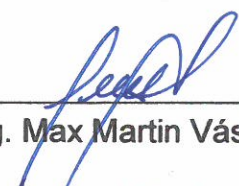
---

Ing. Dr. Antonio Ricardo Rodríguez Zevallos  
PRESIDENTE



---

Ing. Ms. Luis Francisco Márquez Villacorta  
SECRETARIO



---

Ing. Mg. Max Martin Vásquez Senador  
VOCAL



---

Ing. Ms. Ana Cecilia Ferradas Horna  
ASESOR

## **DEDICATORIA**

A Dios, por iluminarme y permitirme culminar la presente investigación.

A mi madre Lucrecia Honorio, quien es mi soporte, mi fortaleza y a quien le estaré sumamente agradecida por cada esfuerzo.

A mi padre Jorge Gaviño, mi ángel guardián, quien guía mis pasos para ser mejor cada día.

A mi abuelito Raúl Honorio, mi segundo padre que también me cuida desde el cielo.

A mis hermanos Samuel y Fernando y a toda mi familia, amistades por su apoyo y confianza, quienes estuvieron conmigo en los buenos y malos momentos.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi asesora Ing. Ms. Ana Cecilia Ferradas Horna por la confianza y apoyo constante para la realización de esta investigación.

A los señores miembros del jurado: Dr. Antonio Rodríguez Zevallos, Ing. Ms. Luis Márquez Villacorta e Ing. Mg. Max Vásquez Senador por sus consejos y recomendaciones en cada etapa de esta investigación.

A la Ing. María Luisa Hayayumi por su apoyo en la parte experimental de esta investigación.

## ÍNDICE GENERAL

Pág.

CARÁTULA.....	i
APROBACIÓN POR EL JURADO DE TESIS.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
ÍNDICE GENERAL .....	v
ÍNDICE DE CUADROS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xi
RESUMEN .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA.....	4
2.1. Leche.....	4
2.2. Leches fermentadas .....	5
2.2.1. Definición.....	5
2.2.2. Clasificación .....	6
2.2.2.1. Fermentación láctica pura.....	6
2.2.2.2. Fermentación láctica y fermentación posterior por levaduras.....	6
2.2.2.3. Fermentación láctica y ataque posterior por hongos .....	6
2.2.3. Leches fermentadas tradicionales.....	6
2.3. Yogurt .....	8
2.3.1. Definición del yogurt.....	8
2.3.2. Composición nutricional del yogurt.....	8
2.3.3. Clasificación .....	9
2.3.4. Requisitos fisicoquímicos .....	10
2.4. Elaboración del yogurt .....	11

2.5. Características físicas y sensoriales del yogurt .....	12
2.5.1. Sinéresis.....	12
2.5.2. Viscosidad .....	13
2.5.3. Sabor y aroma.....	13
2.6. Bacterias lácticas del yogurt .....	14
2.7. Proteína láctea.....	15
2.8. Productos a partir de proteínas lácteas .....	16
2.8.1. Caseína .....	17
2.8.2. Lactoalbúmina .....	18
2.8.3. Lactoglobulina .....	18
2.9. Proteína de suero de leche.....	19
2.9.1. Generalidades .....	19
2.9.2. Tipos.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
3.1. Lugar de ejecución .....	21
3.2. Materiales.....	21
3.3. Equipos e instrumentos .....	21
3.4. Metodología.....	22
3.4.1. Esquema experimental para la evaluación del yogurt bebible .....	22
3.4.2. Procedimiento experimental para la elaboración del yogurt bebible .....	22
3.4.3. Formulación del yogurt bebible .....	26
3.5. Métodos de análisis.....	26
3.5.1. Acidez titulable.....	26
3.5.2. Viscosidad aparente .....	26
3.5.3. Sinéresis .....	26
3.5.4. Bacterias ácido lácticas .....	27
3.5.5. Aceptabilidad general .....	27
3.6. Métodos estadísticos.....	29

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1. Efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento sobre la acidez titulable en el yogurt bebible.....	30
4.2. Efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento sobre la viscosidad aparente en el yogurt bebible .....	34
4.3. Efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento sobre la sinéresis en el yogurt bebible .....	39
4.4. Efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento sobre el recuento de bacterias ácido lácticas en el yogurt bebible .....	43
4.5. Efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento sobre la aceptabilidad general en el yogurt bebible .....	48
V. CONCLUSIONES.....	52
VI. RECOMENDACIONES .....	53
VII. BIBLIOGRAFÍA .....	54
VIII. ANEXOS .....	60

## ÍNDICE DE CUADROS

Pág.

Cuadro 1. Requisitos fisicoquímicos de la leche .....	4
Cuadro 2. Composición química y nutricional del yogurt.....	9
Cuadro 3. Requisitos fisicoquímicos de tipos de yogurt .....	11
Cuadro 4. Composición química de los diferentes tipos de proteínas de suero de leche .....	20
Cuadro 5. Formulación del yogurt bebible .....	26
Cuadro 6. Prueba de Levene para la acidez (% ácido láctico) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	32
Cuadro 7. Análisis de varianza para la acidez (% ácido láctico) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	33
Cuadro 8. Prueba de Duncan para la acidez (% ácido láctico) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	34
Cuadro 9. Prueba de Levene para la viscosidad aparente (mPa.s) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	36
Cuadro 10. Análisis de varianza para la viscosidad aparente (mPa.s) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	37
Cuadro 11. Prueba de Duncan para la viscosidad aparente (mPa.s) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	38
Cuadro 12. Prueba de Levene para la sinéresis (%) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento.....	41



Cuadro 13. Análisis de varianza para la sinéresis (%) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento.....	42
Cuadro 14. Prueba de Duncan para la sinéresis (%) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento.....	43
Cuadro 15. Prueba de Levene para bacterias ácido lácticas (ufc/mL) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	46
Cuadro 16. Análisis de varianza para bacterias ácido lácticas (ufc/mL) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento.....	46
Cuadro 17. Prueba de Duncan para bacterias ácido lácticas (ufc/mL) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	47
Cuadro 18. Prueba de Friedman en la aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	50
Cuadro 19. Prueba de Wilcoxon de la aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Esquema experimental para la investigación sobre el yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	24
Figura 2. Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado.....	25
Figura 3. Cartilla para la evaluación de la aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado .....	29
Figura 4. Acidez (% ácido láctico) en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible .....	30
Figura 5. Viscosidad aparente (mPa.s) en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible.....	35
Figura 6. Sinéresis (%) en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible .....	39
Figura 7. Bacterias ácido lácticas (ufc/mL) en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible.....	44
Figura 8. Aceptabilidad general en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible .....	48

**INDICE DE ANEXOS**

Anexo 1. Valores de la acidez titulable (% ácido láctico) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	61
Anexo 2. Valores de la viscosidad aparente (mPa.s) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	62
Anexo 3. Valores de la sinéresis (%) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	63
Anexo 4. Valores del recuento de bacterias ácido lácticas (ufc/mL) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento .....	64
Anexo 5. Calificaciones de la prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento a 0 días .....	65
Anexo 6. Calificaciones de la prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento a 7 días .....	66
Anexo 7. Calificaciones de la prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento a 14 días .....	67
Anexo 8. Calificaciones de la prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento a 21 días .....	68
Anexo 9. Ficha técnica del cultivo láctico y de la proteína de suero de leche concentrado.....	69

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de tres adiciones (1, 2 y 3%) de proteína de suero de leche concentrado y cuatro tiempos de almacenamiento (7, 14, 21 y 28 días) sobre la acidez, viscosidad aparente, sinéresis, recuento de bacterias lácticas y aceptabilidad general en el yogurt bebible. Se trabajó con leche fresca para la elaboración del producto, reportando valores de densidad 1.029 kg/L, acidez titulable 0.14% ácido láctico, grasa 3.1% y sólidos totales 10.83%. El análisis de varianza indicó un efecto significativo de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento sobre la acidez, viscosidad aparente, sinéresis y recuento de bacterias lácticas. Además, la evaluación sensorial se realizó hasta 21 días de almacenamiento, pero las muestras ya denotaban baja aceptación sensorial. Se determinó que el tratamiento con adición al 1% de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento de 14 días, permitió obtener la mejor acidez titulable y viscosidad aparente, la menor sinéresis, adecuado valor de recuento de bacterias lácticas y una aceptabilidad general con mayor rango promedio y similitud al tratamiento control.

## **ABSTRACT**

The effect of three additions (1, 2 and 3%) of concentrated whey protein and four storage times (7, 14, 21 and 28 days) on acidity, apparent viscosity, syneresis, proteins, counting of lactic bacteria and general acceptability in drinkable yogurt was evaluated. We worked with fresh milk for the elaboration of the product, reporting values of density 1.029 kg / L, titratable acidity 0.14% lactic acid, fat 3.1% and total solids 10.83%. The analysis of variance indicated a significant effect of the concentrated whey protein and the storage time on the acidity, apparent viscosity, syneresis and lactic acid bacteria count. In addition, the sensory evaluation was performed up to 21 days of storage, but the samples already showed low sensory acceptance. It was determined that the treatment with 1% addition of the whey protein concentrate and the storage time of 14 days, allowed to obtain the best titratable acidity and apparent viscosity, the lowest syneresis, adequate value of lactic acid bacteria count and a general acceptability with a higher average range and similarity to the control treatment.

## I. INTRODUCCIÓN

La leche, como alimento rico en azúcares, puede experimentar fermentaciones espontáneas. Los residuos de algunas leches favorablemente fermentadas se han conservado tradicionalmente para servir de inicio para nuevas fermentaciones, esta vez dirigidas, dando origen así a productos lácteos cada vez más distanciados de la leche cruda (Fálder, 2007). La importancia de la elaboración de leches fermentadas era, en un principio, la conservación de la leche y su valor nutritivo, pero dicha finalidad ha pasado a un segundo plano y se busca, principalmente, diversificar e innovar productos lácteos nutricionales (Gutiérrez, 2017).

Las leches fermentadas son productos acidificados por medio de un proceso de fermentación. Como consecuencia de la acidificación por las bacterias lácticas, las proteínas de la leche se coagulan y se precipitan. Luego, estas proteínas pueden disociarse separando los aminoácidos. Por esta razón, las leches fermentadas se digieren mejor que las no fermentadas. Los productos fermentados más consumidos son el yogurt y el suero de mantequilla cultivado (Tojo y otros, 2006).

La popularidad y el consumo de yogurt y bebidas derivadas continúan creciendo a medida que las personas alrededor del mundo reconocen los beneficios para la salud y el bienestar asociado con el consumo de estos alimentos lácteos fermentados. Los ingredientes del suero aportan múltiples beneficios nutricionales, funcionales y económicos, que aumentan el valor de todos los tipos de yogurt. Estos ingredientes totalmente naturales y derivados de la leche complementan el sabor, la textura y la composición del yogurt (Gerdes y otros, 2009).

El valor nutritivo de una proteína depende de su digestibilidad, que es excelente en casi todos los preparados de proteínas lácteas, y de su perfil

de aminoácidos, que es bueno en caseína, muy bueno en las proteínas del suero y todavía mejor en las mezclas de ambas. Los concentrados de proteínas del suero se utilizan frecuentemente en la elaboración de los alimentos infantiles para que su composición sea más parecido al de la leche humana, que contiene aproximadamente un 0.3% de caseína y un 0.5% de proteínas del suero más que de la vaca (Walstra y otros, 2001).

La utilización del suero va acompañada de la realización de investigaciones en la industria láctea, siendo considerado uno de los campos más importantes de investigación y desarrollo de esta industria de alimentos (Guerrero y otros, 2011). La fermentación de lactosuero por bacterias lácticas podría disminuir el contenido alto de lactosa contenido en el lactosuero, produciendo principalmente ácido láctico y otros metabolitos como aromas contribuyendo al sabor, olor y textura e incrementando solubilidad de carbohidratos y dulzor del producto final. En el mercado de bebidas ha sido muy difundido el interés en el consumo de bebidas lácteas basadas en lactosuero constituyendo un segmento emergente de productos lácteos no convencionales (Pescumma, 2008).

Los productos de suero de leche ofrecen beneficios funcionales múltiples que pueden ayudar a los formuladores a reemplazar ingredientes menos deseables. Existen muchos beneficios resultantes de la adición de productos de suero de leche seleccionados en las fórmulas de yogurt. Estos beneficios incluyen: sabor mejorado, enriquecimiento nutricional, vida de anaquel prolongada, efecto prebiótico (Huginin, 2003).

Los componentes bioactivos y las proteínas en los ingredientes de suero pueden estimular el crecimiento de cultivos probióticos (tanto en el producto como en el intestino del consumidor) al ejercer un efecto prebiótico, también influye positivamente en la salud cardiovascular, construyen masa muscular y previenen su pérdida, y ayudan a promover una salud óptima.

Estos potenciales beneficios para la salud y bienestar complementan la imagen saludable que rodea al yogurt y a las bebidas elaboradas con yogurt, la cual incluye ser una fuente de calcio y otras vitaminas, minerales, proteínas lácteas y cultivos probióticos (Gerdes y otros, 2009).

El problema planteado fue:

¿Cuál será el efecto de la adición de tres concentraciones (1; 2 y 3%) de proteína de suero de leche concentrado y cuatro tiempos de almacenamiento (7; 14; 21 y 28 días) sobre la acidez, viscosidad aparente, sinéresis, recuento de bacterias lácticas y aceptabilidad general en el yogurt bebible?

Los objetivos fueron:

- Evaluar el efecto de la adición de tres concentraciones de proteína de suero de leche concentrado y cuatro tiempos de almacenamiento sobre la acidez titulable, viscosidad aparente, sinéresis, recuento de bacterias lácticas y aceptabilidad general en el yogurt bebible.
- Determinar la concentración de proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento para obtener la mejor acidez titulable y viscosidad aparente, menor sinéresis, adecuado valor de recuento de bacterias lácticas y aceptabilidad general en el yogurt bebible.



## II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

### 2.1. Leche

La leche cruda entera es el producto no alterado ni adulterado del ordeño higiénico, regular y completo de vacas sanas y bien alimentadas, sin calostro y exento de color, olor, sabor y consistencia anormales y que no ha sido sometido a procesamiento o tratamiento alguno (Norma Técnica Peruana 202.001:2003).

Desde un punto de vista dietético la leche es un alimento puro más próximo a la perfección. Su principal proteína es la caseína, contiene los aminoácidos esenciales y como fuente de calcio, fosforo y riboflavina (vitamina B<sub>12</sub>), contribuye significativamente a los requerimientos de vitamina A y B<sub>1</sub> (tiamina). Por otra parte, los lípidos y la lactosa contribuyen un importante aporte energético (Agudelo, 2005; Canchohuaman y Landera, 2010).

En el Cuadro 1, se presentan los requisitos fisicoquímicos de la leche según la Norma Técnica Peruana 202.001:2003.

Cuadro 1. Requisitos fisicoquímicos de la leche

Ensayo	Requisitos
Materia grasa (g/100g)	Mínimo 3.2
Sólidos no grasos (g/100g)	Mínimo 8.2
Sólidos totales (g/100g)	Mínimo 11.4
Acidez expresada en g. de ácido láctico (g/100g)	0.14 – 0.18
Densidad a 15 °C (g/mL)	1.0296 – 1.0340

Fuente: NTP 202.001:2003

## **2.2. Leches fermentadas**

### **2.2.1. Definición**

Son aquellos productos lácteos obtenidos mediante la fermentación por parte de las bacterias lácticas u otros microorganismos transformando la lactosa en ácido láctico y otros metabolitos (Comunidad de Madrid, 2017). El principal cambio es la reducción del pH (hasta 4.6-4.0) de la leche; como consecuencia de esta disminución, se produce la coagulación de la caseína, formando un gel y la inhibición del desarrollo de gran número de microorganismos, entre ellos la mayoría de los patógenos, debido a la producción de ácido láctico y otros metabolitos menores como el ácido acético. El acetaldehído y diacetilo, aportan aroma al producto y algunas bacterias lácticas producen polisacáridos que aportan a la leche fermentada una textura suave y cremosa (Romero del Castillo y Mestres, 2009).

También pueden definirse como producto lácteo preparado con leche sometida a un proceso de pasteurización, a la que se le inoculan bacterias lácticas (Comunidad de Madrid, 2017). Estos productos lácteos fermentados pueden sufrir alteraciones microbiológicas, químicas y físicas. Los mohos y levaduras son capaces de seguir creciendo a un pH inferior a 3.8, y son sin duda los principales agentes de deterioro microbiano. El crecimiento de levaduras y mohos aerobios en los productos contaminados, está determinado por la extensión de la contaminación, la temperatura y el tiempo de almacenamiento, la cantidad de aire en el envase y la permeabilidad del material de envasado. Cuando los productos fermentados se prolonga su almacenamiento o cambios de temperatura, la actividad enzimática de las bacterias lácticas continúa, y origina defectos como amargor, acidez y olores característico a queso (Walstra y otros, 2001).

## **2.2.2. Clasificación**

Las leches fermentadas forman un grupo muy amplio porque en cada región del mundo existen modalidades de elaboración con cepas de microorganismos (bacterias y levaduras) específicos, lo que da origen a numerosas variedades de fermentación. Según Fálder, 2007, se pueden considerarse los siguientes tipos.

### **2.2.2.1. Fermentación láctica pura:**

#### **Iniciadores (starter) mesófilos (18-20 °C)**

- Mazada fermentada
- Nata acida
- Langfil (típica de países escandinavos)

#### **Iniciadores (starter) termófilos (45-50 °C)**

- Yogurt
- Leche acidófila
- Yakult japonés

### **2.2.2.2. Fermentación láctica y fermentación posterior por levaduras**

- Kéfir
- Koumiss

### **2.2.2.3. Fermentación láctica y ataque posterior por hongos**

- Viili finlandés

## **2.2.3. Leches fermentadas tradicionales**

A continuación se presentan las leches fermentadas tradicionales, según Fálder (2007):

- **Kéfir.** Es una bebida alcohólica, cremosa, burbujeante (a causa del CO<sub>2</sub>) y ácida (ácido láctico). Microflora muy

variable que se incorpora a la leche de oveja, cabra o vaca. La fermentación produce ácido láctico y alcohol junto con CO<sub>2</sub>. El contenido alcohólico es bajo (del orden 0.5%). Intervienen *lactococcus* (plural lactococci), *leuconostocs* y *lactobacilos* en la formación del ácido láctico. El alcohol es producido por levaduras *Kluyveromices* y *Saccharomyces* (Fálder, 2007).

- **Koumiss.** Es una bebida láctea de origen ruso y caucásico. Tradicionalmente se trabajaba con leche de yegua, pero también se hace con leche de vaca. Es parecida al kéfir, pero contiene más alcohol porque para ello se añade sacarosa a la leche que hay que fermentar. La fermentación láctica es ocasionada por *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus delbrueckii (bulgaricus)*. La levadura productora del alcohol es *kluyveromyces marxianus* (variedad lactis).
- **Yakult.** Se fabrica en Japón a partir de leche entera o semidesnatada azucarada, que se coagula con *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*. Hay dos variantes Yakult (con leche semidesnatada) y Yakult miru-miru (con leche entera).
- **Viii.** Se fabrica a partir de leche grasa fermentada por leuconostocs y lactobacilos; sobre la nata que flota en la superficie se desarrolla un moho *Geotrichum candidum*, madurador de esta leche ácida.
- **Yogurt griego.** Elaborado con leche de oveja y por tanto tiene elevado contenido graso y una viscosidad característica.

## **2.3. Yogurt**

### **2.3.1. Definición del yogurt**

Es el producto obtenido por la coagulación de la leche y la acidificación biológica, mediante la acción de fermentos lácticos de las especies *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, a partir de la leche entera, parcialmente descremada, reconstituida, recombinada, con tratamiento térmico antes de la fermentación (Norma Técnica Peruana para Leche y Productos lácteos, 2008).

Existen numerosas variantes de yogurt. Pueden clasificarse atendiendo a su consistencia en yogures firmes y yogures batidos. Por el origen de la leche utilizada: de vaca, de cabra, de oveja, de camella o de yegua. Se puede procesar con leches enteras, semidesnatada o desnatada. Se pueden incorporar trozos de frutas, frutos secos, cereales, fibra, azúcar, otros edulcorantes, aromatizantes, estabilizantes, jugos concentrados de frutas, etc. (Tamine y Robinson, 1991).

El aspecto sólido del yogur se consigue porque en la leche tras la fermentación láctica disminuye el pH y se produce una coagulación acida de la caseína. Es decir, se produce el cuajo de la leche y, posteriormente, la sinéresis o retracción de coagulo que expulsa el suero (Fálder, 2007).

### **2.3.2. Composición nutricional del yogurt**

Early (2000), mencionado por Puelles (2015) señala que el valor nutritivo del yogurt depende de su composición, las materias primas utilizadas, los ingredientes añadidos y el proceso de fabricación; todas estas consideraciones determinan los contenidos en vitaminas, proteína, grasa y minerales. En el Cuadro 2, se presenta la composición química y nutricional por 100 g de yogurt.

Cuadro 2. Composición química y nutricional del yogurt

Composición	Yogurt natural	Yogurt con frutas desnatado	Yogurt con frutas
Energía (kJ)	255	168	498
Grasa (g)	1	0.32	3
Proteína (g)	5	4.0	3.5
Carbohidratos (g)	7	5.5	18
Vitamina A (g)	9.8	0.8	-
Tiamina (B <sub>1</sub> )	0.04	0.04	-
Riboflavina (B <sub>2</sub> ) (mg)	0.03	0.19	0.24
Piridoxina (B <sub>6</sub> ) (mg)	0.05	0.08	-
Ácido fólico (ug)	3.7	4.7	-
Niacina (mg)	1.5	1.35	-
Vitamina C (mg)	0.7	1.6	-
Calcio (mg)	142	140	180
Fosforo (mg)	90	116	150
Hierro (mg)	0.09	0.09	<1
Potasio (mg)	214	64	230
Zinc (mg)	0.59	0.44	<1
Magnesio (mg)	14.3	13.7	16

Fuente: Fardy (2000)

### 2.3.3. Clasificación

Según la Norma Técnica Peruana (202.092:2008. Leche y productos lácteos). Aplica las siguientes clasificaciones.

#### Por su textura, pueden ser:

- Yogurt batido: yogurt cuya fermentación se realiza en tanques de incubación produciéndose en ellos la coagulación, siendo luego sometido a un tratamiento mecánico de batido.

- Yogurt bebible: yogurt batido, que ha recibido un mayor tratamiento mecánico.
- Yogurt afluado: yogurt cuya fermentación y coagulación se produce en el envase.

**Por su contenido graso:**

- Yogurt entero: contenido de grasa como mínimo 3.0%.
- Yogurt parcialmente descremado: el contenido de grasa en este yogurt es de 0.6 a 2.9%.
- Yogurt descremado: contenido de grasa como máximo 0.5%.

**Por sus ingredientes:**

- Yogurt tradicional o natural: yogurt sin adición de saborizantes, azúcares y/o colorantes, permitiéndose solo la adición de estabilizadores y conservadores.
- Yogurt frutado: yogurt al que se le ha agregado fruta procesado en trozos, jugo y/o pulpa de frutas y aditivos.
- Yogurt aromatizado: yogurt cuya composición ha sido alterada mediante la incorporación de un máximo de 30% de ingredientes no lácteos (carbohidratos nutricionales, frutas, verduras, jugos, purés, pastas, preparados y conservadores derivados de los mismos, cereales, miel, chocolate, frutos secos, café, especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inocuos) y/o sabores. Los ingredientes no lácteos pueden ser añadidos antes o después de la fermentación.

**2.3.4. Requisitos fisicoquímicos**

En el Cuadro 3, se muestran los requisitos fisicoquímicos del yogurt entero, yogurt parcialmente descremado y yogurt descremado.

Cuadro 3. Requisitos fisicoquímicos de tipos de yogurt

Requisitos	Yogurt entero	Yogurt parcialmente descremado	Yogurt descremado
Materia grasa % (m/m)	Mínimo 3.0	1.0 – 2.9	Menos de 1.0
Sólidos no grasos % (m/m)	Mínimo 8.2	Mínimo 8.2	Mínimo 8.2
Acidez, expresada en % de ácido láctico	0.6 – 1.5	0.6 – 1.5	0.6 – 1.5

Fuente: NTP 202.092:2008

Los requisitos microbiológicos señalados por la Norma Técnica Peruana (202.092:2008) para el yogurt, en el contenido de bacterias lácticas totales es como mínimo  $10^7$  ufc/g.

#### 2.4. Elaboración del yogurt

La elaboración del yogurt dependerá del tipo de leche utilizada y su contenido en grasa y proteína, el yogurt tendrá una consistencia y viscosidad diferente (Romero del Castillo y Mestres, 2009). Las proteínas desempeñan un papel determinante sobre la textura y la materia grasa sobre las características organolépticas (sabor, aroma) y contribuyen también a enmascarar la acidez del producto (Mahaut y otros, 2004).

La leche se somete a un tratamiento térmico de 90-95 °C durante 3 a 5 min. Este tratamiento tiene la finalidad de destruir todos los gérmenes patógenos e indeseables (bacterias, levaduras y mohos). Este tratamiento térmico por desnaturalización de las proteínas solubles también permite aumentar la retención de agua y mejorar la textura del yogurt y su estabilidad (Mahaut y otros, 2004).



La siembra de un cultivo de *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Bulgaricus* y de *Streptococcus thermophilus*, debe realizarse con una dosis bastante elevada para garantizar una correcta acidificación, una vez mezclados la leche y los fermentos se realiza la incubación a 42-45 °C. El objetivo de esta fase es alcanzar una acidez de 0.7-0.8% en los yogures firmes incubados en estufa y de 1.0-1.2% en los yogures batidos (Mahaut y otros, 2004).

Cuando se alcanza la acidez deseada, se refrigera rápidamente para detener el proceso fermentativo (Mahaut y otros, 2004). Preferiblemente a unos 4-5°C, aunque no debe realizarse bruscamente porque puede producirse la contracción del coágulo y la condensación de agua (Romero y Mestres, 2009).

Una vez obtenido el yogurt refrigerado se debe tener cuidado para mantener las características óptimas del producto. De esta manera se evita la sobreacidificación, sinéresis, rompimiento del coágulo y el crecimiento de microorganismos indeseables como hongos y levaduras (Romero y Mestres, 2009). Durante el almacenamiento en frío el yogurt adquiere viscosidad y consistencia, además de reducir la capacidad del yogurt para retener el suero. Una vez elaborado el yogurt es almacenado entre 5 y 10 °C con una caducidad entre 15 a 21 días (Mahaut y otros, 2004).

## **2.5. Características físicas y sensoriales del yogurt**

### **2.5.1. Sinéresis**

La sinéresis es la separación del lactosuero debido a la contracción del gel, afectando la calidad de todo producto lácteo. Esto se debe fundamentalmente a una reorganización de la red molecular de la caseína después de la formación del gel. Entre los procesos asociados con la formación de la sinéresis esta la rápida acidificación,

alta temperatura de incubación, excesivo tratamiento térmico y bajo contenido de sólidos (Walstra y otros, 2001).

### **2.5.2. Viscosidad**

Es una medida de la fricción interna del fluido o resistencia a la deformación. Esta propiedad se relaciona con el contenido de lactosa, grasa, estructura de la caseína y los tamaños del glóbulo de grasa; además, varía con la temperatura, el estado de dispersión y la concentración de los componentes sólidos (López, 2003). La intensidad del tratamiento mecánico influye en la viscosidad del yogurt y una fuerte acción mecánica determina frecuentemente una consistencia más líquida, sobre todo si el contenido en sólidos es bajo, si se bate incorporando aire, favorece la separación de suero. La intensidad y tiempo óptimo de batido serán función de factores tales como: temperatura, pH, consistencia del gel y capacidad del depósito (Tamine y Robinson, 1991).

En el yogurt batido, las partículas del gel poseen un diámetro aproximado de 0.1–0.4 mm, mientras que en el yogurt bebible el diámetro es inferior a 0.01 mm (Romero del Castillo y Mestres, 2009).

### **2.5.3. Sabor y aroma**

Tamine y Robinson (1991) mencionan las principales características organolépticas que se juzgan en el control de calidad del yogurt. Estas son el aspecto y color, cuerpo y textura, y el aroma y sabor.

Romero del Castillo y Mestres (2009) aseguran que el aroma del yogurt está formado por una mezcla de compuestos cuyo origen puede ser la fermentación de la leche, la leche original o el tratamiento térmico de esta. Los principales responsables del aroma y sabor del yogurt son el ácido láctico y los compuestos carbonílicos. Mientras que

los compuestos que contribuyen al aroma y sabor del yogur pueden ser agrupados en cuatro categorías:

- Ácidos no volátiles como el láctico, pirúvico, oxálico o succínico
- Ácidos volátiles como el fórmico, acético, propiónico o butírico
- Compuestos con grupos carbonilo como el acetaldehído, acetona, diacetilo y acetona o 2-butanona.
- Un grupo heterogéneo de sustancias, entre las que incluyen algunos aminoácidos y/u otros compuestos formados por la degradación de las proteínas, la grasa o la lactosa por acción de la temperatura.

## 2.6. Bacterias lácticas del yogurt

Las bacterias ácido lácticas o bacterias lácticas, son los microorganismos utilizados en la producción de la leche y otros productos lácteos acidificados (fermentados). Todas las bacterias que forman parte de los cultivos iniciadores pertenecen a los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* y *Lactobacillus* (Walstra y otros, 2001).

El propósito de estas bacterias es descomponer el azúcar natural de la leche (lactosa), esto lo hace más digerible para la gente que es intolerante a la lactosa, considerando que las bacterias son la fuente benéfica del yogurt (Vera, 2011).

En la industria láctea, los géneros de especial interés son: *Streptococcus* (denominados como estreptococos lácticos), *Lactobacillus* y *Leuconostoc*. La relevancia de estos géneros como cultivos iniciadores lácteos queda reflejada en los siguientes puntos (Robinson, 1987).

- El género *Streptococcus* se utiliza ampliamente en la industria quesera. Comprende las siguientes especies: *Str. lactis*, *Str. lactis* sub-sp *diacetylactis*, *Str. cremoris* y *Str. thermophilus*. Todas estas bacterias son homofermentativas, produciendo solo ácido láctico a

partir de la glucosa y con la excepción de *Str. thermophilus*, son mesófilas. *Str. thermophilus* es un microorganismo termófilo y se utiliza en simbiosis con *Lactobacillus bulgaricus* como cultivo indicador para el yogurt y para algunos quesos.

- Del género *Leuconostoc*, solo *L. cremoris* y *L. dextranicum* se han utilizado como cultivos iniciadores. Son heterofermentativos, capaces de producir ácido láctico, dióxido de carbono y sustancias aromáticas (etanol y ácido acético) a partir de la glucosa.
- El género *Lactobacillus* se divide en tres grupos: *Thermobacterium*, *Streptobacterium* y *Betabacterium*. Los dos primeros son homofermentativos y las especies que se utilizan en la industria láctea son *Lac. bulgaricus*, *Lac. lactis*, *lac. acidophilus*, *Lac. helveticus*, *Lac. casei* y *Lac. plantarum*. Las  $\beta$ -bacterias son heterofermentativas pero no son importantes en relación con los cultivos iniciadores.

## 2.7. Proteína láctea

En la química láctea se considera normalmente como proteína láctea a la suma de todas las moléculas nitrogenadas que se determinan como tales mediante el método de Kjeldahl. Las caseínas y las proteínas del suero son las proteínas mayoritarias de la leche. La relación cuantitativa entre estos dos grupos de proteínas es de 82:18 (Schlimme y Buchheim, 2002).

Desde el punto de vista nutricional, la leche representa una invaluable fuente de proteínas de alta calidad. Estas constituidas principalmente por la caseína, además de cantidades menores de otras proteínas como la albúmina y globulina. Estas dos últimas se pierden en el suero en el proceso de elaboración de queso, mientras que la caseína se coagula y permanece en los sólidos de la leche (Aguhob y Barrie, 1998).

Las proteínas de la leche presentan un elevado valor biológico y tanto las caseínas como las proteínas del lactosuero (lactoalbúmina y lactoglobulina) contienen una elevada proporción de aminoácidos esenciales. La concentración de proteínas del yogurt es superior al de la leche como resultado de la concentración de la misma o de la adición de extracto seco lácteo, haciendo de este producto una fuente de proteínas de un atractivo superior al de la leche (Tamime y Robinson, 1991).

Dentro de la clasificación de las proteínas solubles se agrupan las proteínas lácteas que no precipitan a un pH de 4.6. Las proteínas solubles representan el 20% de las sustancias nitrogenadas presentes en la leche, las más abundante son la  $\beta$ -lactoglobulina, que (representa el 50% de las proteínas solubles de la leche) poseen una función biológica relacionada con la asimilación intestinal de la vitamina A y la  $\alpha$ -lactoalbúmina. Ambas presentan la propiedad de insolubilizarse por el calor antes de los 100 °C (Romero y Mestres, 2009). Mientras que las caseínas (insoluble) son muy termorresistentes, tolerando tratamientos esterilizantes sin que se produzcan cambios estructurales y sensoriales. Ciertas modificaciones en su estructura (por acidificación o tratamientos con determinadas proteasas) pueden inducir la formación de un gel, lo que constituye el fundamento de la fabricación de yogurt y queso (Ordoñez y otros, 1998).

## **2.8. Productos a partir de proteínas lácteas**

Schlimme y Buchheim (2002) aseguran que una larga serie de derivados de proteínas lácteas y las fracciones individuales de estas, son importantes para la industria alimentaria. Entre estos productos de proteínas lácteas se encuentran los siguientes:

- Leche desnatada, ya sea concentrada o reconstituida a partir de leche desnatada en polvo.

- Concentrado de proteína láctea con contenido reducido de sal y de lactosa. Por ejemplo, el retenido de la ultrafiltración (hasta un 85% de proteína).
- Caseína (caseína acida, caseína al cuajo).
- Caseinato sódico, caseinato potásico, caseinato cálcico.
- Precipitados de caseína y proteínas del suero (complejos insolubles entre proteínas del suero desnaturalizadas y caseína).
- Proteinato lácteo (95% de proteína, complejos solubles entre caseínas y proteínas del suero).
- Fosfocaseinato nativo (caseína micelar aislada por microfiltración).
- Suero (suero ácido, suero enzimático, llegado el caso concentrado o reconstituido a partir de suero en polvo).
- Concentrado de proteínas del suero (35-85% de proteína): desnatado, desazucarado, desmineralizado.
- Aislados de proteínas del suero (>90% de proteínas).
- Lactalbumina (proteínas del suero precipitadas por el calor).
- Proteínas lácteas modificadas: defosforiladas, succiniladas, fosforiladas e hidrolizadas.

### **2.8.1. Caseína**

Las caseínas constituyen una fracción mayoritaria de las proteínas de leche de vaca, jugando un papel primordial durante la elaboración de determinados productos lácteos, como el yogur o el queso (Tamime y Robinson, 1991).

La caseína se define como la proteína que precipita en la leche a pH 4.6 y, por lo tanto, no es soluble a su pH isoeléctrico. La caseína es bastante termorresistente y a temperaturas superiores a 120 °C la caseína se va insolubilizando lentamente. El descenso del pH la leche

reduce considerablemente su estabilidad térmica (Walstra y otros, 2001).

Las caseínas se clasifican en: caseína  $\alpha_{s1}$ , caseína  $\alpha_{s2}$ , caseína  $\beta$  y caseína  $\kappa$ . Las cuatro caseínas difieren mucho entre sí, una de las características distintivas respecto de las proteínas del suero es el enlace ester-fosfato, del cual carecen las proteínas del suero. También varían en la distribución de la carga eléctrica y en la tendencia a agregarse en presencia de iones de calcio (Romero del Castillo y Mestres, 2009).

### **2.8.2. Lactoalbúmina**

Es una proteína del suero de leche que se encuentra en la leche de mamíferos, por encima de 65 °C empieza a desnaturalizarse. El fenómeno de desnaturalización es parcialmente reversible: a temperaturas de 70 °C el 80-90% de las moléculas desnaturalizadas recuperan su conformación nativa al cesar el tratamiento térmico. La referida reversibilidad va disminuyendo a medida que la temperatura a la que se somete la  $\alpha$ -lactoalbúmina es más elevada, siendo prácticamente nula a temperaturas superiores a 100 °C (Romero del Castillo y Mestres, 2009).

### **2.8.3. Lactoglobulina**

Es la principal proteína del suero de leche e hidrofóbica (hidrofobicidad media = 5.1), igual que la caseína, pero no contiene ésteres-fosfato y solo una pequeña cantidad de prolina. Su solubilidad es muy dependiente del pH y de la fuerza iónica, pero no precipita por acidificación de la leche, además, no es soluble en agua pura. En la leche se encuentra en forma de dímero. Ambas moléculas están fuertemente unidas entre sí, sobre todo mediante interacciones hidrofóbicas. El dímero se disocia a alta temperatura. En condiciones

de pH más bajo, la  $\beta$ -lactoglobulina se asocia para formar un octámero (Walstra y otros, 2001).

## **2.9. Proteína de suero de leche**

### **2.9.1. Generalidades**

En comparación con las caseínas, la influencia que tienen las seroproteínas sobre las propiedades fisicoquímicas de la leche cruda es muy baja, pero durante el tratamiento térmico adquieren gran importancia y, desde un punto de vista comercial, la importancia de estas proteínas, en el suero, va en aumento (Robinson, 1987). Las proteínas del lactosuero tienen excelentes propiedades funcionales y un gran valor nutritivo, su composición en aminoácidos esenciales, cubre todas las exigencias nutritivas del hombre. Por ello se consideran unas proteínas ideales para la dietética humana (Miranda y otros, 2014).

El suero representa aproximadamente entre el 80–90% del volumen total de la leche que va a ser procesada y contiene aproximadamente el 50% de los nutrientes de la leche original: proteínas solubles, lactosa, vitaminas y sales minerales. Debido al elevado porcentaje de proteínas hidrosolubles que contiene, particularmente el suero de queso se encontró que a través de su tratamiento con distintas tecnologías pueden obtenerse concentrados proteicos de amplia aplicación en la industria alimentaria. Entre los principales subproductos se encuentra; el suero en polvo, suero en polvo desmineralizado, lactosa en polvo, suero en polvo deslactosado y suero reducido en lactosa, aislados proteicos de suero, proteínas concentradas de suero, lactalbúmina y suero permeado. Debido a la funcionalidad tecnológica que poseen algunos de estos concentrados proteicos se utilizan como ingredientes en la formulación de nuevos



productos en diversos sectores alimentarios (Dirección General de Promoción Agraria, 2005).

### 2.9.2. Tipos

Parra (2009) menciona dos tipos; concentrados y aislados de proteínas de suero. En el Cuadro 4, se presenta la composición química de los diferentes tipos de proteína de suero de leche concentrado.

- **Concentrados.** Son elaborados por la ultrafiltración que consiste en una membrana semipermeable, la cual selectivamente permite pasar materiales de bajo peso molecular como agua, iones y lactosa, mientras retiene materiales de peso molecular alto como la proteína. Es concentrado por evaporación y liofilizado.
- **Aislados.** Los aislados de proteína de lactosuero (WPI) tienen como características importantes un 90 % de proteína y entre 4 - 5.5 % de agua. Por su alta pureza los WPI son usados extensivamente en suplementación nutricional, bebidas deportivas y medicinales. Han sido empleados como proteínas de alimentos funcionales en formulaciones de alimentos, por sus propiedades de hidratación, gelificación y emulsificación.

Cuadro 4. Composición química de los diferentes tipos de proteínas de suero de leche concentrado.

Componente	Concentrado de Proteína de suero de Leche (80%)	Aislado de proteína de suero de Leche
Proteína (%)	80.0 – 82.0	92.0
Lactosa (%)	4.0 – 8.0	0.5
Lípido (%)	1.0 – 6.0	1.0
Minerales (%)	3.0 – 4.0	2.0
Humedad (%)	3.5 – 4.5	4.5

Fuente: Parra (2009)

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

Las pruebas experimentales se realizaron en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos y los análisis en el Laboratorio de Ciencia de Alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Privada Antenor Orrego.

#### 3.2. Materiales de investigación e insumos

- Leche fresca procedente del Fundo UPAO.
- Proteína de suero de leche – concentrado (en polvo) marca Frutarom. Proveedor Montana S.A.
- Azúcar blanca refinada. Marca Sol de Laredo. Proveedor Supermercado Plaza Vea.
- Cultivo lácteo (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) marca VIVOLAC. Dri-Set 438. Proveedor Montana S.A.
- Botellas de plástico de 1 L. Adquirido de Suman.

#### 3.3. Equipos e instrumentos

- Equipo microkjeldhal. Marca Selecta.
- Estufa de laboratorio. Marca MMM Gropu, modelo Venticell 111. Rango de temperatura de 10:250 °C.
- Refrigeradora. Marca Bosch. Modelo Frost 44. Rango 0 a 8 °C. Precisión + 2 °C.
- Viscosímetro digital. Marca Brookfield. Modelo RVDV-III. Husillo N°. 27
- Centrifuga Marca Heraeus Sepatech. Modelo Labofuge 200.
- Balanza analítica (200 g – A&D Company). Sensibilidad 0.0001 g. Capacidad: 210 g.
- Incubadora. Marca Kiyaseisakusao. Modelo SIM.

- Termómetro digital. Marca Multidigital. Rango de 50 a 200 °C. Precisión  $\pm 0.01$  °C.
- pHmetro. Marca Mettler Toledo. Rango de 0-14. Sensibilidad aprox. 0.01.

### 3.4. Metodología

#### 3.4.1. Esquema experimental para la evaluación del yogurt bebible

En la Figura 1, se muestra el esquema experimental para la evaluación del yogurt bebible. Son variables independientes las concentraciones de proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento, y variables dependientes: acidez titulable, viscosidad aparente, sinéresis, proteínas, recuento de bacterias y aceptabilidad general.

#### 3.4.2. Procedimiento experimental para la elaboración del yogurt bebible

En la Figura 2, se presenta el diagrama de flujo para la elaboración del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado.

A continuación se describe cada operación sugerida por Real y Ortega (2012) en el diagrama de flujo de la Figura 2.

- **Recepción.** Se evaluó la densidad, contenido de sólidos totales, contenido de grasa y acidez de acuerdo con la NTP.
- **Estandarizado.** Se reguló el contenido de sólidos totales a 11.4%, siendo el contenido mínimo de acuerdo con la NTP.
- **Pasteurizado.** A 65 °C, se agregaron al 10% de azúcar, agua y el suero de leche concentrado, y se pasteurizó a 85 °C durante 10 min.

- **Enfriado.** La leche pasteurizada fue enfriada a 43-45 °C, temperatura óptima para la adición del cultivo y desarrollo de microorganismos.
- **Inoculado.** Se utilizó el cultivo VIVOLAC (*Lactobacillus bulgaricus* 10 % y *Streptococcus thermophilus* 90 %). Se empleó el 3% del cultivo láctico.
- **Incubado.** Se efectuó a 45 °C y durante 5 h, con la finalidad del desarrollo de los cultivos lácticos inoculados y se produce una coagulación con acidez 0.53-0.73% ácido láctico.
- **Enfriado.** Finalizado el proceso de incubación el yogurt se enfrió y se mantuvo a 4 °C.
- **Batido.** Se procedió a batir lentamente comenzando desde la parte superior y se culminó hasta obtener una consistencia homogénea en todo el yogurt.
- **Envasado.** Se envasaron en botellas transparentes de plástico de 1 L y posteriormente fueron selladas, en condiciones asépticas.
- **Almacenado.** Se almacenó a 4 °C hasta durante los tiempos de evaluación (0, 7, 14, 21 y 28 días).

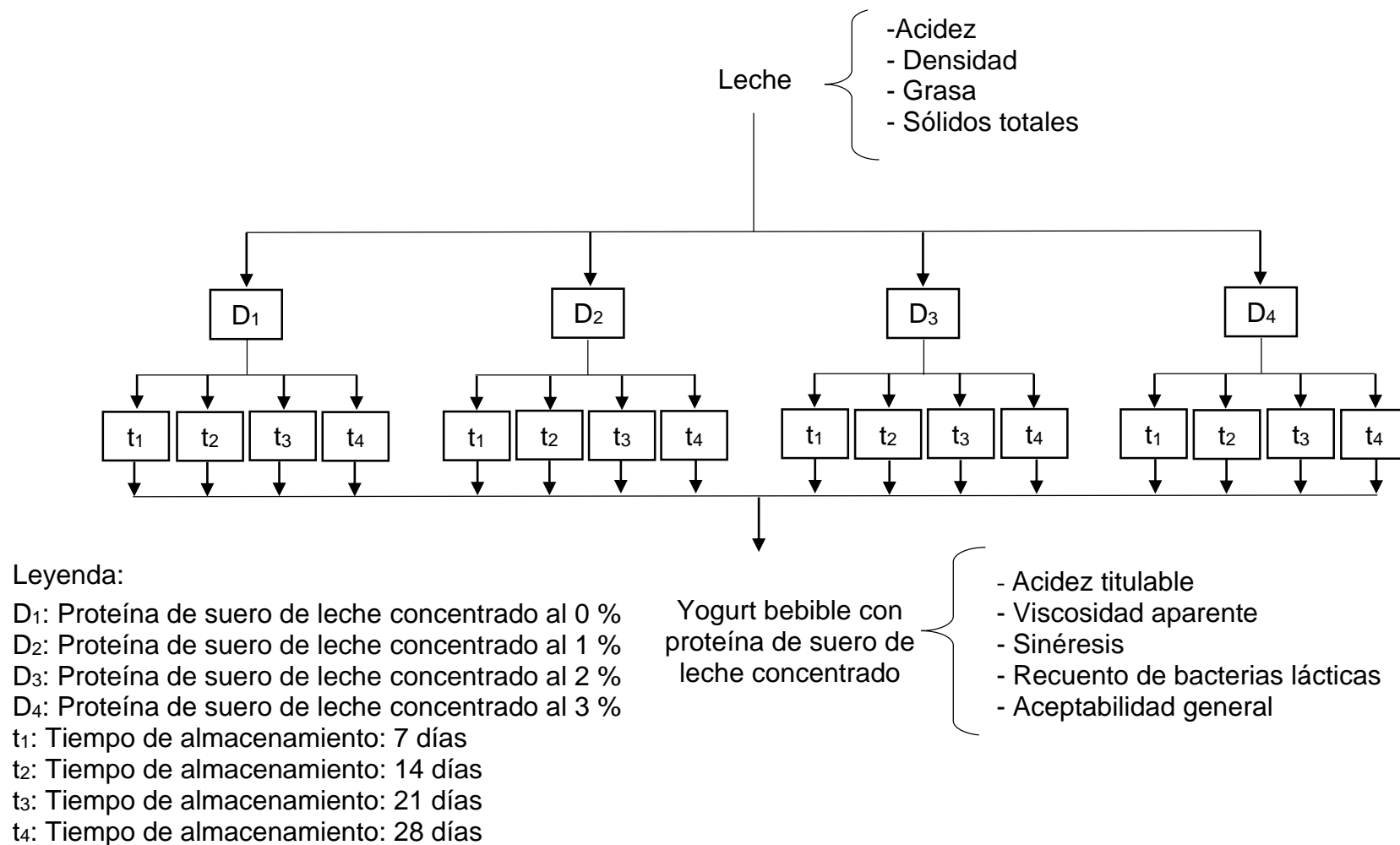


Figura 1. Esquema experimental para la investigación sobre el yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

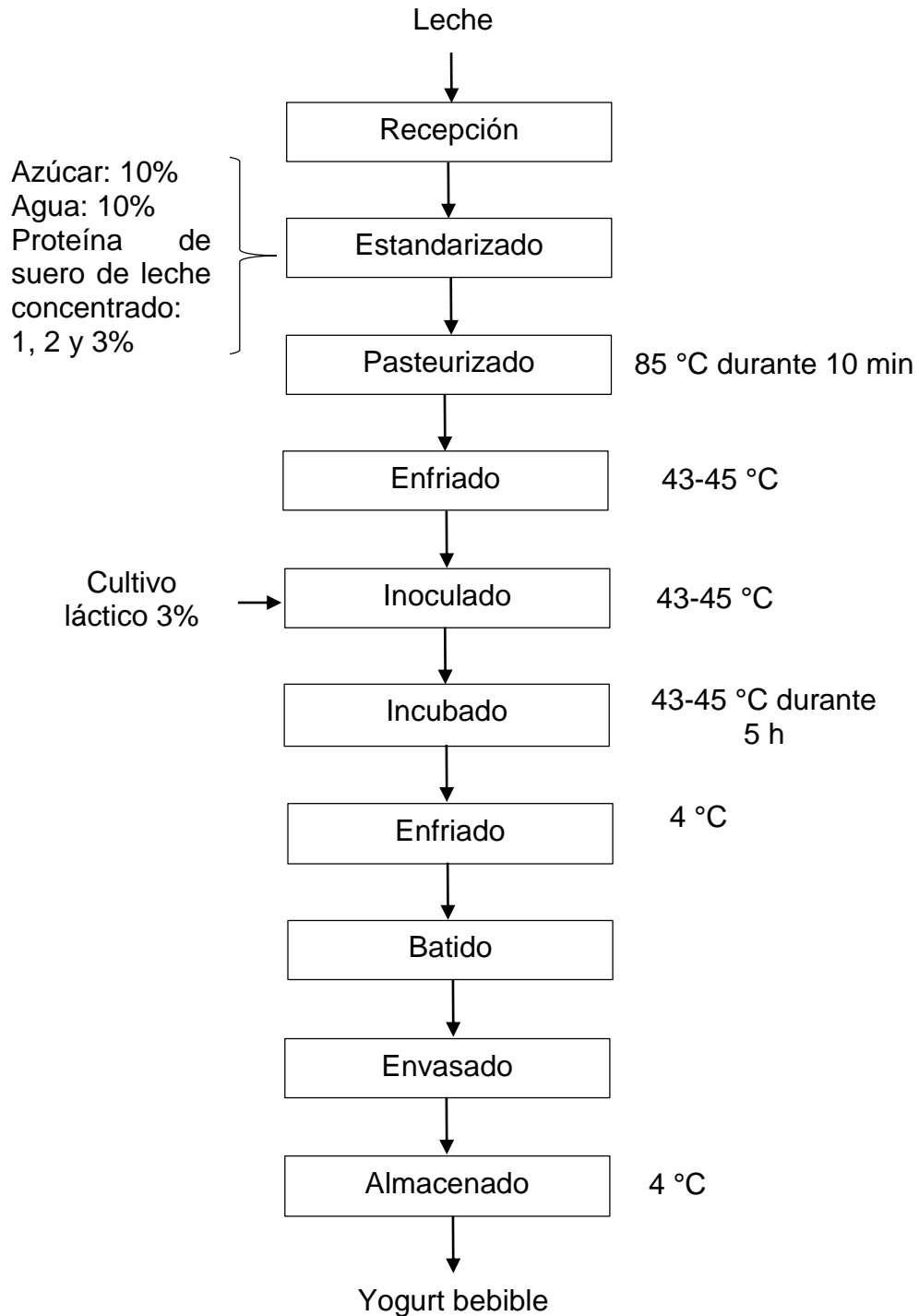


Figura 2. Diagrama de flujo para elaboración del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado

### 3.4.3. Formulación del yogurt bebible

En el Cuadro 5, se presenta la formulación para la elaboración del yogurt bebible con suero de leche concentrado.

Cuadro 5. Formulación del yogurt bebible

Componentes	Control	F1	F2	F3
Leche (%)	100	100	100	100
Agua (%)	10	10	10	10
Azúcar (%)	10	10	10	10
*WPC (%)	0	1	2	3
Cultivo (%)	3	3	3	3
TOTAL	123	124	125	126

(\*): Concentrado de suero de leche al 80%.

## 3.5. Métodos de análisis

### 3.5.1. Acidez titulable

La acidez se determinó según el método 947.05 de la AOAC (1997). Se midió 10 mL de muestra y se colocó en un vaso de precipitado a 50 mL. Se añadieron 5 gotas de fenolftaleína como indicador y se tituló la muestra con una solución de NaOH 0.1N hasta que viró a rosado grosella (cada 0.1 mL equivale 0.01% de ácido láctico). El resultado se expresó en porcentaje de ácido láctico.

### 3.5.2. Viscosidad aparente

Se empleó el viscosímetro de Brookfield con el husillo N° 27, a una velocidad de 100 rpm y un volumen de muestra de 11 mL a  $10 \pm 1$  °C. La medida de viscosidad se reportó en mPa.s (Vera, 2012).

### 3.5.3. Sinéresis

La sinéresis expresada como el volumen de suero desprendido durante el almacenamiento, siguiendo el método mencionado por Hernández (2004), se utilizó una muestra de 10 g de yogurt a 12 °C en un tubo de centrífuga y se centrifugó a 5000 rpm durante 20 min. El peso del

sobrenadante se empleó para calcular el porcentaje de sinéresis mediante la expresión siguiente (Vera 2012).

$$\text{sinéresis (\%)} = \frac{\text{peso de sobrenadante}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

#### **3.5.4. Recuento de bacterias lácticas**

Se tomó 10 mL del producto, se añadió a 90 mL de agua peptonada 1% (P/V) y se procedió a realizar diluciones seriadas que fueron desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-6}$  (Ramírez, 2010). Se distribuyó por duplicado porciones de 0.1 mL de cada dilución decimal uniformemente sobre toda la superficie del agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe) con ayuda de varillas de vidrio estériles dobladas. Se incubó por 48 h a 37 °C en condiciones microaerofilia. Se determinó el número de colonias pequeñas, regulares, en placas que contenían entre 20 y 200 colonias. El número de colonias se multiplicó por el inverso de la dilución y por 10 para obtener las ufc/mL formadas (Mossel y otros, 2006).

#### **3.5.5. Aceptabilidad general**

Durante cada tiempo de almacenamiento del yogurt bebible se sometió a un análisis sensorial mediante una escala hedónica estructurada de 9 puntos, desde “Me gusta muchísimo” a “Me desagrada muchísimo”. Se trabajó con 30 panelistas no entrenados, y representantes del público objetivo que degustaron las muestras de yogurt (Ramírez-Navas, 2012).

Las muestras se presentaron en porciones de 50 mL a una temperatura de 5 °C, las cuales fueron colocadas en vasos descartables de primer uso, se colocaron los 3 tratamientos y el control al azar con su respectivo código de tres dígitos y agua como neutralizante entre muestras. En la Figura 3, se muestra la cartilla para la evaluación sensorial del yogurt bebible con suero de leche concentrado en escala hedónica.



**Prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado**

Nombre: ..... Fecha: .....

**Instrucciones:** Pruebe el yogurt bebible que se le ha proporcionado y califique según la escala que se presenta, marcando con una (X) en el casillero correspondiente de acuerdo con el nivel de agrado o desagradado que le produzca.

<b>ESCALA</b>	<b>MUESTRA</b>			
	<b>234</b>	<b>567</b>	<b>432</b>	<b>128</b>
Me agrada muchísimo				
Me agrada mucho				
Me agrada moderadamente				
Me agrada poco				
No me agrada ni me desagradado				
Me desagradado poco				
Me desagradado moderadamente				
Me desagradado mucho				
Me desagradado muchísimo				

Comentarios.....  
 .....  
 .....

Figura 3. Cartilla para evaluación la aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado

### **3.6. Métodos estadísticos**

El diseño estadístico a aplicar corresponde a un diseño factorial 3x4 con 3 repeticiones. Para los análisis de acidez, viscosidad, sinéresis, proteínas y recuento de bacterias lácticas se utilizaron la prueba de Levene con el fin de determinar la homogeneidad de varianzas de los datos experimentales, posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANVA), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Duncan para comparar los resultados mediante la formación de subgrupos y determinar de esta manera el mejor tratamiento. La aceptabilidad general fue evaluada mediante las pruebas de Friedman y Wilcoxon.

Todos los análisis estadísticos se realizaron a un nivel de confianza del 95%. Para procesar los datos se utilizó el software especializado Statistical Package for the Social Science (SPSS) versión 20.0.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento sobre la acidez titulable en el yogurt bebible

La evaluación de las variables dependientes se realizó hasta el día 28 de almacenamiento, pero en cuanto a la aceptabilidad general solo hasta el día 14, obteniéndose valores adecuados en la escala hedónica de 9 puntos utilizados; por este motivo el análisis a continuación se realizó hasta este día. Se trabajó con leche fresca, reportando una acidez 0.32% ácido láctico, sólidos totales 10.83% y grasa 3.2%. En la Figura 4, se observa que a medida que aumentó la adición de proteína de suero de leche concentrado incrementó la acidez titulable del yogurt.

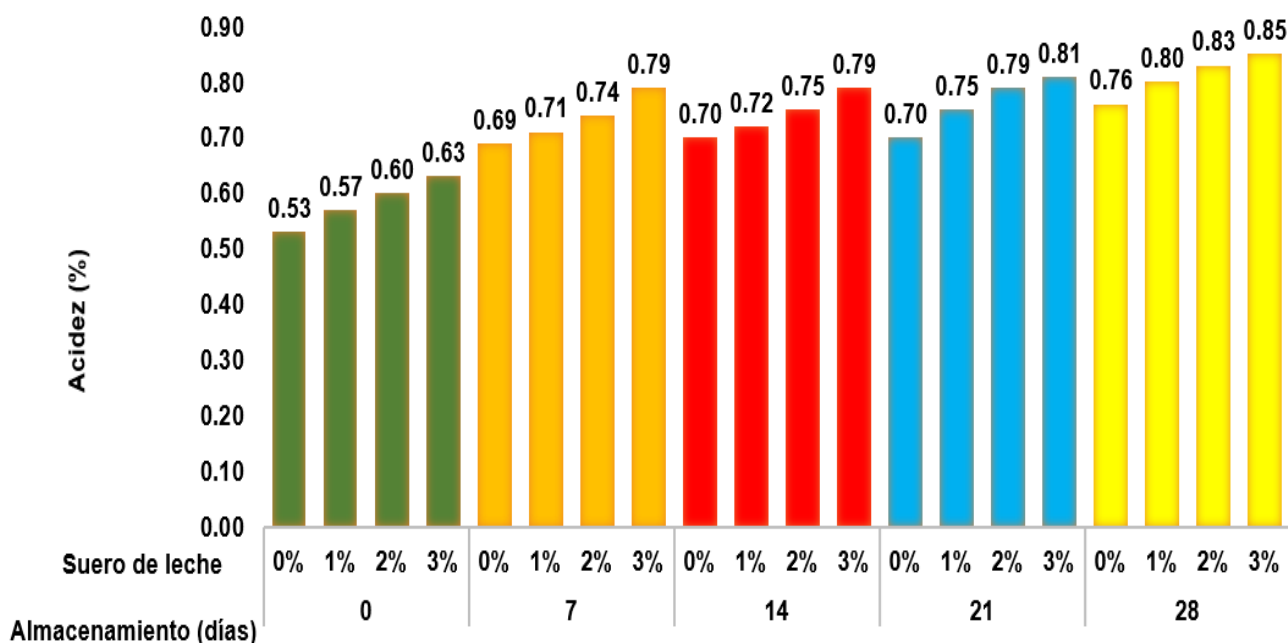


Figura 4. Acidez titulable (% ácido láctico) en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible

Los diferentes días de almacenamiento entre cada tratamiento también muestran un aumento significativo en la acidez, debido a que las bacterias

lácticas continúan su actividad metabólica, produciendo ácido láctico, provocando que el medio se acidifique. Los resultados de acidez titulable de las diferentes muestras oscilaron entre 0.53 y 0.79%, hasta el almacenamiento de 14 días. La NTP 2002.092 (Indecopi, 2008), señala valores de 0.6 a 1.5% ácido láctico para yogurt, comparando con los resultados de acidez titulable en el yogurt bebible de esta investigación, se puede ver que se encuentran dentro del rango establecido. En el Anexo 1, se encuentran los valores de acidez.

Stijepic y otros (2012) evaluaron el efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado (WPC) al 1%, así como la combinación de WPC con miel al 2 y 4% en la elaboración de un yogurt bajo en grasa durante 21 días de almacenamiento. Fueron reportados valores de ácido láctico con un comportamiento creciente a medida que pasaban los días, oscilando entre 0.69 hasta 0.88% ácido láctico; el mismo comportamiento y valores dentro del rango de esta investigación. Asimismo, Real y Ortega (2012) también reportaron similar comportamiento con valores de 0.56, 0.63 y 0.64% ácido láctico a concentraciones de 10, 20 y 25% proteína de suero de leche, comprobando que a medida que existe un aumento de las proteínas de suero de leche, existe una proliferación de bacterias lácticas y por lo tanto mayor acidez.

Las bacterias ácido lácticas son estrictamente fermentativas, debido a que necesitan un medio rico nutricionalmente para su desarrollo. Durante la fermentación de la leche existe un descenso del pH que desestabiliza las micelas de caseína suspendidas en la fase acuosa debido a la liberación de sales de calcio (fosfatos y calcio), lo que da lugar a la formación del gel; siendo relacionada con el cambio de pH, ya que la producción de ácido láctico por fermentación de la lactosa reduce el pH del yogurt (Cabeza, 2006). Además, de la producción de ácido láctico por el medio enriquecido de aminoácidos y minerales que aportan las proteínas de suero de leche, existen otro tipo de compuestos generados durante el almacenamiento como el acetaldehído, ácido fórmico y dióxido de carbono que también aumentan la acidez (Fálder, 2007).

Akalin y otros (2012) evaluaron la influencia de ingredientes basados en la proteína de suero de leche concentrado en la elaboración de un yogurt durante 28 días de almacenamiento. Se obtuvieron tratamientos con 2% de leche desnatada en polvo como control (C), 2% caseinato de sodio y calcio (SCaCN), 2% proteína de suero de leche concentrado (WPC) y mezcla del 1% SCaCN-1% con WPC (M1). Los resultados de acidez para el control oscilaron entre 1.14 a 1.20% ácido láctico, para SCaCN oscilaron entre 1.26 a 1.29% ácido láctico, para WPC oscilaron entre 1.23 a 1.29% ácido láctico y para M1 oscilaron entre 1.22 a 1.30% ácido láctico. Para todos los tratamientos, la acidez fue mayor debido al enriquecimiento del medio lácteo, tipo de yogurt y dosis de inóculo.

Aziznia y otros (2012) analizaron el efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado (WPC) y goma tragacanto (GT) como sustitutos de grasa en un yogurt deslactosado. Obtuvieron siete tratamientos, de los cuales, tres tratamientos con WPC al 0.75, 1.50 y 2.00%, y 4 tratamientos con GT al 0.025, 0.050, 0.075 y 1.0%. Los valores de acidez tuvieron un comportamiento creciente a medida que aumentaron las adiciones, para WPC fueron 1.19, 1.24 y 1.23% ácido láctico, respectivamente y con GT fueron 1.16, 1.17, 1.17 y 1.18% ácido láctico, respectivamente

En el Cuadro 6, se presenta la prueba de Levene aplicada a los valores de la acidez del yogurt bebible. La prueba de Levene determinó la existencia de homogeneidad de varianza ( $p > 0.05$ ) para la acidez.

Cuadro 6. Prueba de Levene para la acidez (% ácido láctico) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Estadístico de Levene	p
0.931	0.058

En el Cuadro 7, se muestra el análisis de varianza para los valores de la acidez del yogurt bebible con proteínas de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento. El análisis de varianza demostró que la adición de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento presentaron efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre la acidez titulable en el yogurt bebible.

Cuadro 7. Análisis de varianza de acidez (% ácido láctico) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Tiempo de almacenamiento: A	0.348	4	0.087	303.895	0.000
Suero de leche: B	0.075	3	0.025	87.479	0.000
A*B	0.003	12	0.000	0.957	0.503
Error	0.011	40	0.000		
Total	0.438	59			

En el cuadro 8, se observa la prueba Duncan aplicada a los valores de acidez del yogurt bebible con adición de proteínas de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento. Esta prueba indica que existió diferencia significativa entre los tratamientos denotados por la formación de subgrupos. Del subgrupo 2, se eligió la muestra con mayor proteína de suero de leche concentrado al 1% y 14 días de almacenamiento, ya que obtuvo valores cercanos a los tratamientos control y una acidez titulable que se encuentra dentro del rango (0.6-1.5%) establecido por la NTP 2002.092,

Cuadro 8. Prueba de Duncan para la acidez (% ácido láctico) del yogurt bebible con adición de proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Almacenamiento (Días)	Suero de leche (%)	Subgrupo					
		1	2	3	4	5	6
	0	0.53					
0	1	0.57					
	2	0.6					
	3	0.63					
	7	0		0.69			
14	0		0.70				
21	0		0.70				
7	1		0.71				
14	1		0.72				
7	2			0.74			
14	2			0.75			
21	1			0.75			
28	0			0.76			
7	3				0.79		
14	3				0.79		
21	2				0.79		
28	1				0.80		
21	3				0.81		
28	2					0.83	
	3						0.85

#### 4.2. Efecto de la adición de proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento sobre la viscosidad aparente en el yogurt bebible

En la figura 5, se muestra un comportamiento creciente de la viscosidad aparente a medida que aumentaron las concentraciones de proteína de suero de leche concentrado, sin embargo, a medida que pasaban los días de almacenamiento la viscosidad disminuyó ligeramente. Cabeza (2006) menciona que durante el proceso de batido en la elaboración del yogurt, puede provocar

con el tiempo que el gel pierda firmeza y consistencia; además del desprendimiento del suero, lo que provoca que la viscosidad disminuya con el tiempo de almacenamiento. En el almacenamiento de 0 días, se obtuvo el mayor valor de viscosidad con 740.0 mPa.s para la adición de 3% proteína de suero de leche concentrado, y en almacenamiento de 14 días, se obtuvo el de menor valor de viscosidad con 155.0 mPa.s para la adición de 0% proteína de suero de leche concentrado. En el Anexo 2, se encuentran los valores de viscosidad.

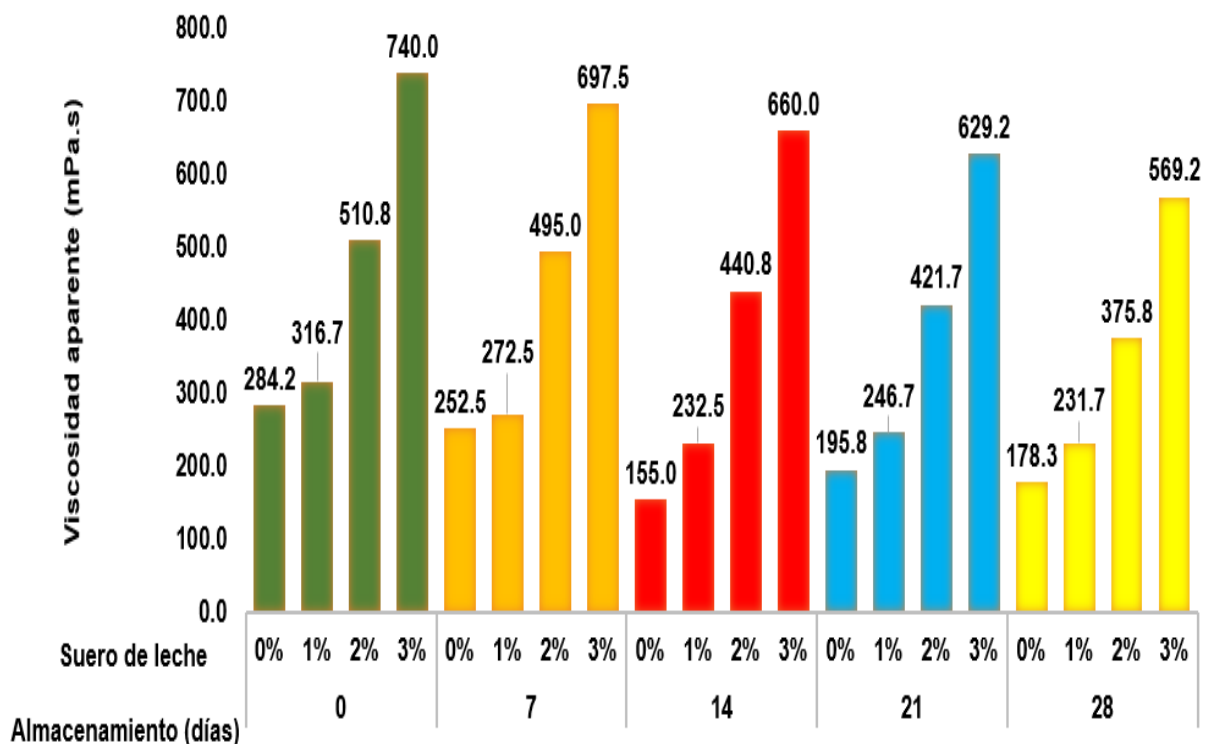


Figura 5. Viscosidad aparente (mPa.s) en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible

Zhang y otros (2015) investigaron el efecto de la adición de harina de suero de leche de cabra en la elaboración de un yogurt sin grasa. Las adiciones fueron 0.8, 1.0, 1.2 y 1.4% en la leche de cabra sin grasa. Se reportaron valores de 575.4, 695.5, 809.3 y 831.5 mPa.s, aumentando la viscosidad a medida que se incrementó las proteínas del suero de leche concentrado, debido al empleo de la



pectina al 0.35% en la formulación del yogurt. Se presenta en esta investigación un mismo comportamiento pero con menores valores. Estas diferencias se deben al poder gelificante que proporciona la pectina sobre las propiedades reológicas en el yogurt.

Stijepic y otros (2012) evaluaron el efecto de la concentración de proteína de suero de leche (WPC) al 1%, así como la combinación de WPC con miel al 2 y 4% en la elaboración de un yogurt bajo en grasa durante 21 días de almacenamiento. Se reportaron valores de viscosidad de 175.2, 217.2 y 280.5 mPa.s respectivamente durante el primer día. A los 21 días los valores fueron menores con 152.3, 208.5 y 224.1 mPa.s. Se presenta un mismo comportamiento que en esta investigación pero con valores menores, posiblemente por ser un yogurt bajo en grasa.

En el Cuadro 9, se presenta la prueba de Levene aplicada a los valores de viscosidad aparente en el yogurt bebible. La prueba de Leven determinó la existencia de homogeneidad de varianzas ( $p > 0.05$ ) para la viscosidad aparente.

Cuadro 9. Prueba de Levene para la viscosidad aparente (mPa.s) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Estadístico de Levene	p
1.502	0.137

La aplicación de concentrados proteicos como ingredientes en alimentos se basa en las propiedades funcionales que posee las proteínas del suero, tales como gelificación, emulsificación, espesamientos y retención de lípidos y sabores; todas estas dependiendo de la estructura química de las proteínas (Real y Ortega, 2012).

En el Cuadro 10, se muestra el análisis de varianza para los valores de la viscosidad aparente del yogurt bebible con adición de proteínas de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento. El análisis de varianza demostró que la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento presentaron efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre la viscosidad aparente en el yogurt bebible.

Cuadro 10. Análisis de varianza de la viscosidad aparente (mPa.s) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Tiempo de almacenamiento: A	119.431	4	29.857	4.575	0.004
Suero de leche: B	1859.551	3	619.851	94.987	0.000
A*B	17.669	12	1.472	0.226	0.996
Error	261.025	40	6.525		
Total	2257.676	59			

Stijepic y otros (2012) reportaron la existencia del efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre la viscosidad aparente en un yogurt bajo en grasa con proteína de suero de leche (WPC) al 1%, así como la combinación de WPC con miel al 2 y 4% durante 21 días de almacenamiento.

En el cuadro 11, se observa la prueba Duncan aplicada a los valores de la viscosidad aparente del yogurt bebible con proteínas de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento. Esta prueba indica que existió diferencia significativa entre los tratamientos denotados por la formación de subgrupos. Se observan tres tratamientos en el subgrupo 2, cada uno al 1% suero de leche concentrado a diferentes días de almacenamiento (7, 14 y 21 días), encontrándose cercano al rango de los valores del primer día de análisis.



#### 4.3. Efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento sobre la sinéresis en el yogurt bebible

En la figura 6, se muestra una disminución en la sinéresis a medida que se aumentó las proteínas del suero de leche concentrado, sin embargo, conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento, el porcentaje de sinéresis fue aumentando ligeramente.

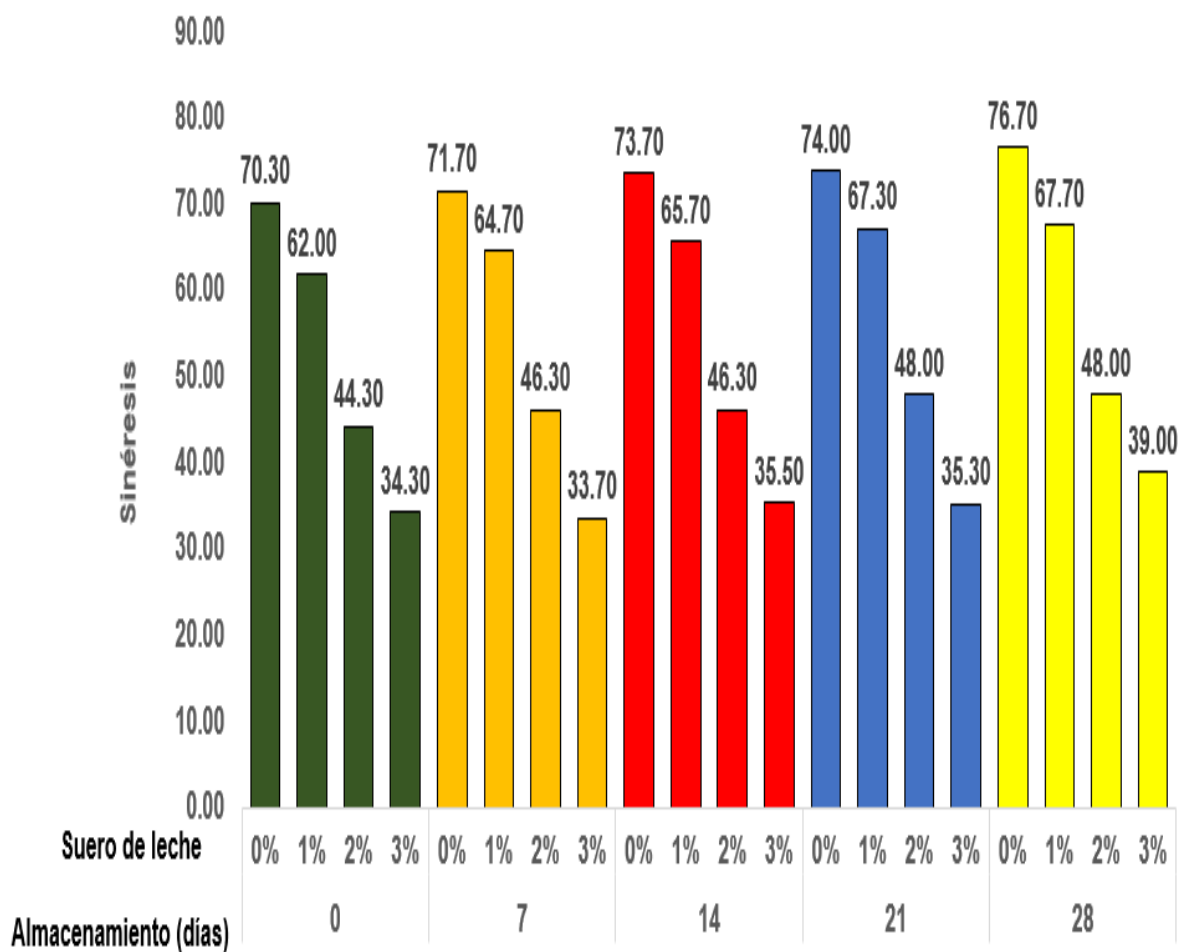


Figura 6. Sinéresis (%) en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible

Esto se debe al ligero rompimiento del gel, el cual ocasionó menor retención de agua en la estructura del yogurt, provocando altos valores de sinéresis,

demás, el aporte de las proteínas del suero de leche concentrado estabiliza el yogurt, aportando una mejor apariencia y dando una consistencia más firme, y viscosidad al producto. Este aumento de la sinéresis en función del tiempo se debe principalmente al rompimiento del gel que ocasionó una menor retención de agua en la estructura del yogurt, provocando el incremento de la sinéresis. Por otro lado el almacenamiento pudo haber tenido un efecto sobre el encogimiento de la matriz de micelas de caseína causando liberación del suero. El tratamiento que obtuvo menor sinéresis fue a 0 días de almacenamiento y 3% proteína de suero de leche concentrado con 70.30% y con mayor sinéresis fue a 14 días de almacenamiento y 0% proteína de suero de leche concentrado con 73.70%. En el Anexo 3, se encuentran los resultados sinéresis.

El porcentaje de sinéresis adecuado para un yogurt de calidad, según Alatraste (2002) debe ser menor al 42%, valor que se cumple con las concentraciones al 3% de suero de leche concentrado, así mismo, Tamine y Robinson (1991) mencionan que si el porcentaje de sinéresis es mayor a 42%, se dice que la formación de la estructura del gel no es muy buena, lo cual puede deberse a factores como reducción de grasa, adiciones de minerales y batido exagerado del yogurt. Además, el suero de leche concentrado cumple una función específica sobre las propiedades gelificantes (lactoglobulina), emulsiones, además, de aportar sólidos totales en la retención de agua en la estructura química del producto.

Zhang y otros (2015) investigaron el efecto de la adición de harina de suero de leche de cabra en la elaboración de un yogurt sin grasa. La leche de cabra tuvo 11.7 % sólidos totales. Las adiciones fueron 0.8, 1.0, 1.2 y 1.4% en la leche de cabra sin grasa y pectina al 0.35%. Obtuvieron menor sinéresis a medida que aumentó las adiciones de suero de leche de cabra en polvo, presentando valores de 32.1, 27.5, 22, 1 y 19.4%. Se encuentra una misma tendencia pero con valores menores, dicha diferencia de valores, se debe por la adición de la pectina, evitando la separación de fases en el yogurt; además, la sinéresis es un

fenómeno que varía dependiendo del tipo de yogurt y la cantidad de sólidos totales presentes en la leche, siendo mayor en la leche de cabra.

Real y Ortega (2012) analizaron la influencia de la concentración de proteína de suero de leche (concentrado al 33.8%) al 0, 10, 20 y 25% en la elaboración de un yogurt; mostrando resultados que oscilaron de 51 hasta 43%, corroborando la misma tendencia que en esta investigación, debido al aumento de la propiedad hidrofilia del yogurt enriquecido al incrementar el porcentaje de adición de proteínas (Carrillo y Contreras, 2009).

Delikanli y Ozcan (2014) evaluaron la adición de proteína de suero de leche (concentrado al 80%) al 1% en la elaboración de un yogurt bebible en tiempos de 0, 7 y 14 días de almacenamiento. Reportaron valores en sinéresis que oscilaron de 23.0 a 28.0% respectivamente, existiendo menor aumento durante los días de almacenamiento en comparación de los resultados de esta investigación. Parzanese (2013) indica que se debe a una reducción en el drenaje del suero, mejorando las propiedades reológicas y la formación de complejos entre las proteínas del concentrado proteico del suero, y la caseína de la leche que mejoran la retención de líquido en el yogurt.

En el Cuadro 12, se presenta la prueba de Levene aplicada a los valores de sinéresis en el yogurt bebible. La prueba de Levene determinó la existencia de homogeneidad de varianzas ( $p > 0.05$ ) para la sinéresis.

Cuadro 12. Prueba de Levene para la sinéresis (%) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Estadístico de Levene	p
0.749	0.748

En el Cuadro 13, se muestra el análisis de varianza para los valores de la sinéresis del yogurt bebible con proteínas de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento. El análisis de varianza demostró que la proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento presentaron efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre la sinéresis en el yogurt bebible.

Cuadro 13. Análisis de varianza para la sinéresis (%) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Tiempo de almacenamiento: A	122.933	4	30.733	3.185	0.023
Suero de leche: B	13388.183	3	4462.728	462.459	0.000
A*B	71.067	12	5.922	0.614	0.818
Error	386.000	40	9.650		
Total	13968.183	59			

En el cuadro 14, se observa la prueba Duncan aplicada a los valores de sinéresis del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento. Esta prueba indica que existió diferencia significativa entre los tratamientos denotados por la formación de subgrupos. En el subgrupo 4, se presentan los tratamientos al 1% proteínas de suero de leche concentrado con diferentes días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21 días), eligiéndose como mejor tratamiento al de 14 días de almacenamiento con 65.7% de sinéresis.

Cuadro 14. Prueba de Duncan para la sinéresis (%) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Almacenamiento (Días)	Suero de leche (%)	Subgrupo						
		1	2	3	4	5	6	7
7		33.7						
0		34.3						
14	3	35.3						
21		35.3						
28		39.0	39.0					
0				44.3				
7				46.3				
14	2			46.3				
28				48.0				
21				48.0				
21					63.3			
7					63.7			
14	1				65.7			
0					67.0			
28					67.7			
0						70.3		
7						71.7		
14	0						73.7	
21							74.0	
28								76.7

#### 4.4. Efecto de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento sobre el recuento de bacterias lácticas en el yogurt bebible.

En la Figura 7, se muestra un comportamiento creciente en el recuento de bacterias ácido lácticas a medida que aumentó las cantidades de proteína de suero de leche concentrado; manteniendo el mismo comportamiento para los diferentes días de almacenamiento, pero con valores inferiores.



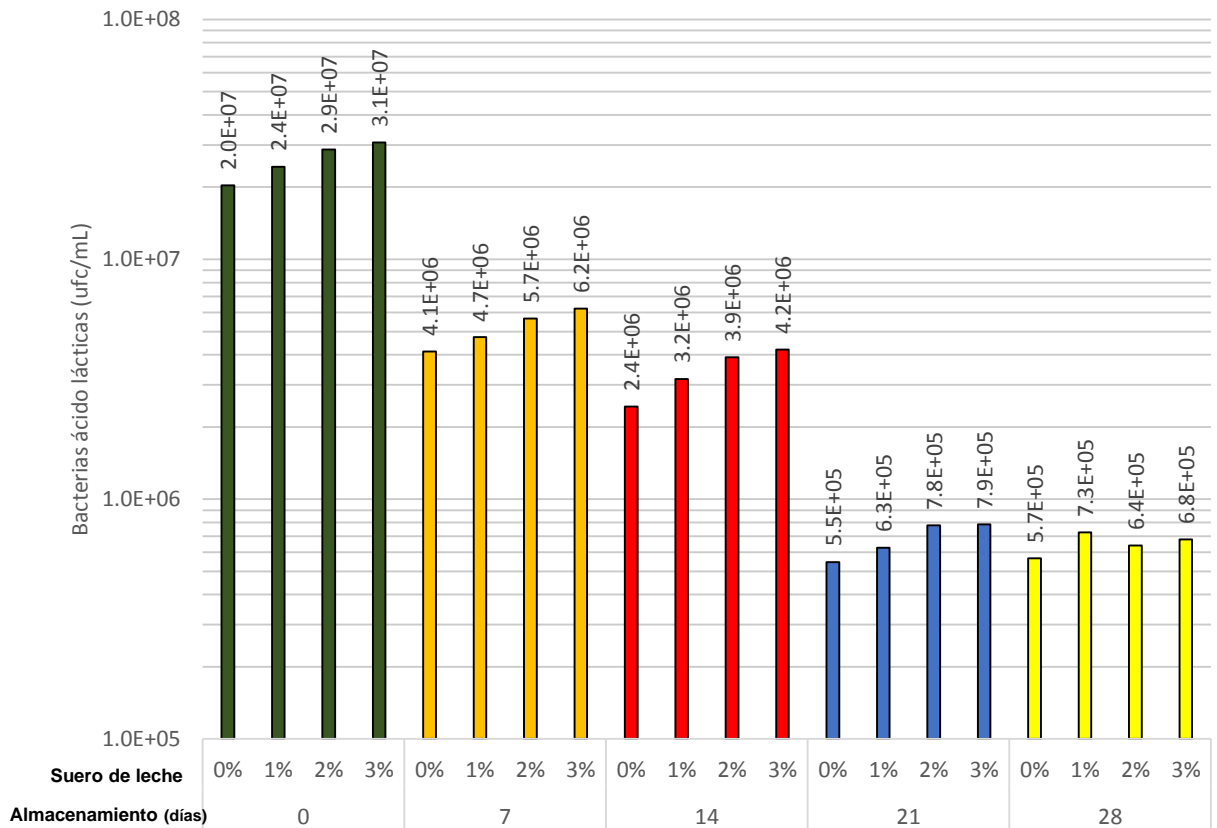


Figura 7. Bacterias ácido lácticas (ufc/mL) en función de la adición de proteína de suero de leche y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible

Este comportamiento se debe a las bacteriocinas (péptidos de origen proteínico, que a bajas concentraciones presentan una inhibición microbiológica) desarrollados por las bacterias ácido lácticas. Dicha producción ocurre de forma natural durante la fase logarítmica del desarrollo bacteriano o al final de la misma, guardando relación directa con la biomasa producida, siendo estables a pH ácidos (Bauza y otros, 2012). Para los tratamientos con las distintas adiciones de proteína de suero de leche concentrado a 0 días de almacenamiento presentan mayor recuento de bacterias ácido lácticas, y a medida que pasaron los días, las bacterias lácticas disminuían debido a la acción antimicrobiana

natural por las bacterias bajo condiciones de pH ácidos. En el Anexo 4, se encuentran los valores de las bacterias ácido lácticas.

Zhang y otros (2015) evaluaron el efecto de la adición de harina de suero (1.4%) de leche de cabra en la elaboración de un yogurt sin grasa durante 28 días de almacenamiento; se reportaron valores decrecientes de bacterias ácido lácticas a medida que transcurrían los días, oscilando valores de  $1 \times 10^7$  hasta  $1 \times 10^5$  ufc/mL. Este descenso en las bacterias lácticas podría deberse a la producción de peróxido de hidrogeno por parte del *L. Bulgaricus* durante el almacenamiento, que puede inhibir el *L. acidophilus*.

Akalin y Unal (2013) analizaron la influencia de la adición de proteína de suero de leche en cantidades de 2 y 4% en la elaboración de un yogurt durante 28 días de almacenamiento; reportaron valores de bacterias ácido lácticas al 2% con  $8.5 \times 10^8$  hasta  $7.6 \times 10^6$  ufc/mL y al 4% con  $8.96 \times 10^8$  hasta  $7.7 \times 10^6$  ufc/mL. Comparando con nuestros resultados, se asemejan en la misma tendencia pero con valores mayores, debido a las mayores concentraciones de proteínas de suero (aminoácidos, péptidos y minerales), dosis de inoculado de bacterias ácido lácticas en el proceso de incubado y metodología de elaboración del yogurt.

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son ácido tolerantes, pudiendo crecer mayormente a pH entre 4 y 4.5, permitiendo vivir naturalmente; ya que a medida que pasan los días de almacenamiento el yogurt disminuye su valor de pH haciendo que las bacterias lácticas tengan dificultad en el medio de desarrollo y por lo tanto la disminución de estas (Stijepic y otros, 2012).

En el Cuadro 15, se presenta la prueba de Levene aplicada a los valores de bacterias ácido lácticas en el yogurt bebible. La prueba de Levene determinó la existencia de homogeneidad de varianzas ( $p > 0.05$ ) para bacterias ácido lácticas.

Cuadro 15. Prueba de Levene para bacterias ácido lácticas (ufc/mL) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Estadístico de Levene	p
1.682	0.082

En el Cuadro 16, se muestra el análisis de varianza para los valores de bacterias ácido láctico en el yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento. El análisis de varianza demostró que la proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento presentaron efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre las bacterias ácido lácticas en el yogurt bebible.

Cuadro 16. Análisis de varianza de bacterias ácido lácticas (ufc/mL) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Tiempo de almacenamiento: A	193.856	4	48.464	911.549	0.000
Suero de leche: B	40.548	3	13.516	254.223	0.010
A*B	5.217	12	0.435	8.178	0.000
Error	2.127	40	0.053		
Total	241.748	59			

Akalin y Unal (2013) presentaron efecto significativo en la aplicación de la adición de proteína de suero de leche en cantidades de 2 y 4% en la elaboración de un yogurt durante 28 días de almacenamiento. Así mismo, Zhang y otros (2015) reportaron efecto significativo por la adición de suero en polvo (1.4%) de leche de cabra en la elaboración de un yogurt sin grasa durante 28 días de almacenamiento.

En el cuadro 17, se observa la prueba Duncan aplicada a los valores de bacterias ácido lácticas del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento.

Cuadro 17. Prueba de Duncan para bacterias ácido lácticas (ufc/mL) del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Almacenamiento (Días)	Suero de leche (%)	Subgrupo		
		1	2	3
21	0	5.47E+05		
28	0	5.67E+05		
21	1	6.27E+05		
28	2	6.40E+05		
28	3	6.80E+05		
28	1	7.27E+05		
21	2	7.77E+05		
21	3	7.85E+05		
14	0		2.43E+06	
14	1		3.17E+06	
14	2		3.90E+06	
7	0		4.13E+06	
14	3		4.20E+06	
7	1		4.73E+06	
7	2		5.67E+06	
7	3		6.23E+06	
0	0			2.03E+07
0	1			2.43E+07
0	2			2.87E+07
0	3			3.07E+07

Esta prueba indica que existió diferencia significativa entre los tratamientos denotados por la formación de subgrupos. En el subgrupo 2, se muestran tratamientos que presentan semejanzas entre sí y pudiendo ser cualquiera de dicho subgrupo como mejor tratamiento, eligiéndose al tratamiento de 1% proteínas de suero de leche concentrado con 14 días de almacenamiento con el mejor recuento de bacterias ácido lácticas de  $3.17 \times 10^6$  ufc/mL y según la NTP

2002.092 (Indecopi, 2008) indica como mínimo  $1 \times 10^7$  ufc/mL en el yogurt, por lo tanto, dichos valores se encuentran cercanos al valor establecido por dicha norma. Además, se encuentran dentro del rango ( $8.5 \times 10^8$  hasta  $7.6 \times 10^6$  ufc/mL) obtenido por Ukalin y Unal (2013).

#### 4.5. Efecto de la adición de proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento sobre la aceptabilidad general en el yogurt bebible

En la Figura 8, se presenta la moda de las calificaciones de aceptabilidad general para los diferentes tratamientos.

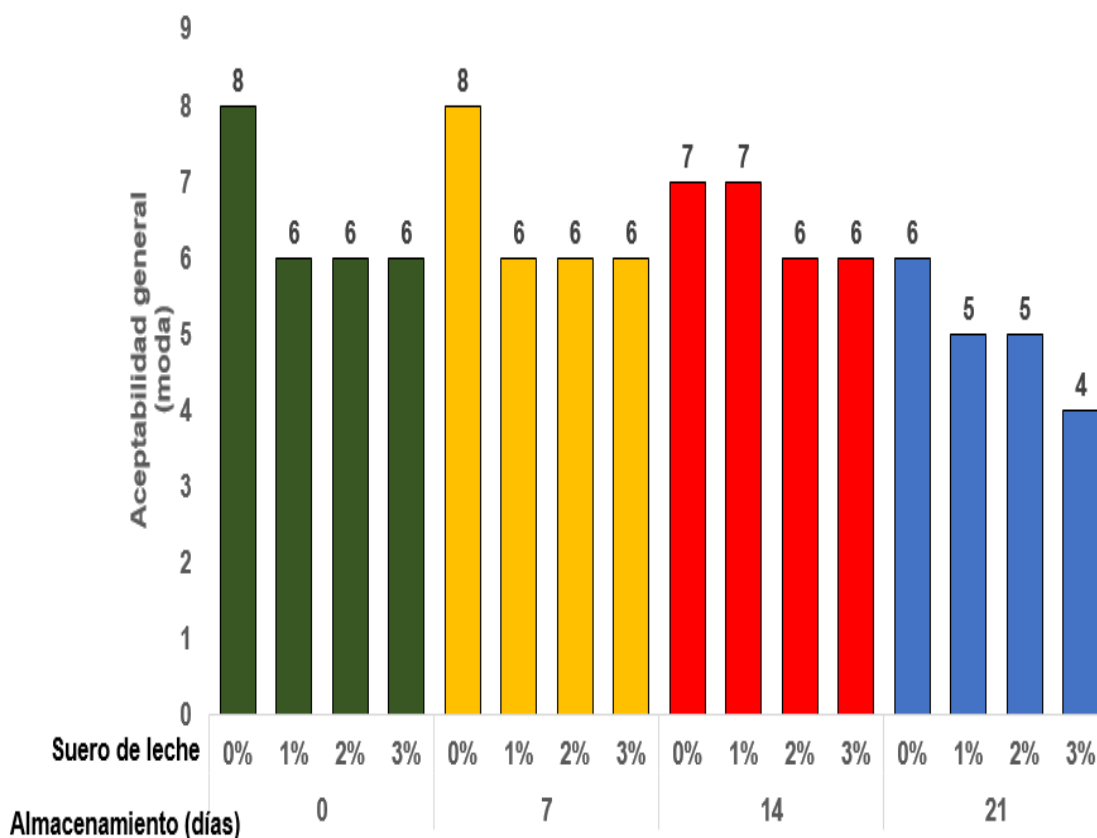


Figura 8. Aceptabilidad general en función de la adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento en el yogurt bebible

Se observa que el tratamiento control (0% adición de proteína de suero de leche concentrado) a 0 días de almacenamiento obtuvo la mayor moda con 8 punto pero a los 14 días de almacenamiento, los panelistas reportaron una misma moda (7 puntos) para el control y 1% adición de proteína de suero de leche concentrado. Los panelistas indicaron que a medida que pasaban los días de almacenamiento, el yogurt perdía sus características organolépticas como sabor, olor, consistencia y dulzor. En los Anexos del 5 al 8, se encuentran los valores de la aceptabilidad general.

En el Cuadro 18, se presenta la prueba de Friedman, que determinó la existencia de diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la aceptabilidad del yogurt con proteína de suero de leche concentrado a los diferentes días de almacenamiento y tiempo de almacenamiento. Entre los tratamientos, se presenta con mayores valores en rango promedio y media para la proteína de suero de leche concentrado al 1% en los diferentes días de almacenamiento (0, 7 y 14 días), eligiéndose como mejor tratamiento a 14 días de almacenamiento, ya que posee mayor moda entre los tratamientos con proteínas de suero de leche concentrado.

En esta investigación el tratamiento con mayor aceptación fue el de mínimo contenido de proteína de suero de leche concentrado (1%) durante los diferentes días de almacenamiento, ya que a mayor concentración, influía el sabor y olor de las proteínas del suero sobre el yogurt bebible, alterando sus características sensoriales. Stijepic y otros (2012) evaluaron el efecto de la concentración de proteína de suero de leche (WPC) al 1%, así como la combinación de WPC con miel al 2 y 4% en la elaboración de un yogurt, determinando que a medida que se aumentaba la proteína, el nivel de agrado disminuía.

En el Cuadro 19, se presenta la prueba de Wilcoxon para la aceptabilidad general, que es usada para obtener información complementaria a la prueba de Friedman, cuando esta resulta significativa, comparándose todos los tratamientos por pares.

Cuadro 18. Prueba de Friedman de la aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Almacenamiento (Días)	Tratamientos	Rango promedio	Moda	Media	Chi-Cuadrado	p
0	Control	3.55	8	7.63	45.850	0.000
	Suero de leche al 1%	2.82	6	6.87		
	Suero de leche al 2%	1.92	6	5.87		
	Suero de leche al 3%	1.72	6	5.47		
7	Control	3.00	8	6.90	12.489	0.006
	Suero de leche al 1%	2.78	6	6.53		
	Suero de leche al 2%	2.13	6	5.83		
	Suero de leche al 3%	2.08	6	5.77		
14	Control	3.05	7	6.70	19.590	0.000
	Suero de leche al 1%	2.82	7	6.37		
	Suero de leche al 2%	2.32	6	6.03		
	Suero de leche al 3%	1.82	6	5.57		

En el almacenamiento de 0 días, todos los tratamientos tuvieron diferencia significativa frente al 1% proteína de suero de leche concentrado. En el almacenamiento de 14, las comparaciones de los tratamientos tuvieron diferencia significativa con excepción del 1% proteína de suero de leche frente al control y 2% proteína de suero de leche concentrado, encontrándose similitud entre sí. Por lo tanto, se elige como mejor tratamiento a 14 días de almacenamiento y 1% proteína de suero de leche concentrado, encontrándose semejante al control.

Cuadro 19. Prueba de Wilcoxon de la aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento

Almacenamiento (Días)	Tratamiento	z	p	
0	Control	Suero de leche al 1%	-2.820	0.005
		Suero de leche al 2%	-4.078	0.000
		Suero de leche al 3%	-4.157	0.000
	Suero de leche al 1%	Suero de leche al 2%	-3.082	0.002
		Suero de leche al 3%	-3.596	0.000
		Suero de leche al 2%	Suero de leche al 3%	-1.180
7	Control	Suero de leche al 1%	-1.122	0.262
		Suero de leche al 2%	-3.124	0.002
		Suero de leche al 3%	-3.407	0.001
	Suero de leche al 1%	Suero de leche al 2%	-1.733	0.083
		Suero de leche al 3%	-2.035	0.042
		Suero de leche al 2%	Suero de leche al 3%	-0.250
14	Control	Suero de leche al 1%	-1.201	0.230
		Suero de leche al 2%	-2.039	0.041
		Suero de leche al 3%	-3.249	0.001
	Suero de leche al 1%	Suero de leche al 2%	-1.284	0.199
		Suero de leche al 3%	-2.956	0.003
		Suero de leche al 2%	Suero de leche al 3%	-2.349

Los tratamientos del día 28 no fueron sometidos a las pruebas de Friedman y Wilcoxon porque no se encontraban aptos para el consumo, ya que empezaron a tener cambios sensoriales de sabor y olor. Esto se debe a que cuando los productos fermentados se conservan durante mucho tiempo, la actividad enzimática de las bacterias lácticas continúan proliferándose (Walstra y otros, 2001).



## **V. CONCLUSIONES**

La adición de la proteína de suero de leche concentrado y el tiempo de almacenamiento presentaron efecto significativo sobre la acidez titulable, viscosidad aparente, sinéresis, recuento de bacterias lácticas y aceptabilidad general en el yogurt bebible.

El tratamiento con adición al 1% de la proteína de suero de leche concentrado y tiempo de almacenamiento de 14 días, permitió obtener la mejor acidez titulable y viscosidad aparente, menor sinéresis y adecuado valor de recuento de bacterias lácticas en comparación con la NTP (202.092.2008) e investigaciones científicas, y la aceptabilidad general con mayor rango promedio y similitud al tratamiento control, además, se evaluó hasta el almacenamiento de 14 días, ya que los días de almacenamiento posteriores empezaron cambios sensoriales de sabor y olor, no aptos para la evaluación sensorial.

## **VI. RECOMENDACIONES**

Realizar investigaciones con sustituciones de proteína de suero de leche de cabra utilizando además hidrocoloides que permitan obtener un producto con las mejores características fisicoquímicas y sensoriales.

Realizar análisis bacteriológicos a la leche fresca para determinar la calidad y posteriormente ver la influencia en el producto terminado.

Utilizar panelistas entrenados en la evaluación descriptiva de un yogurt para determinar las diferentes texturas, sabor, olor, etc.

Evaluar viscosidad aparente de yogurts bebibles de diferentes marcas comerciales para determinar rangos promedios para comparar con el producto investigado.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

Agudelo, D. 2005. Composición nutricional de la leche de ganado Segunda Edición. Revista Lasallista de Investigación. Pag.38-42. Colombia.

Akalin, A., Unal, G., Dinkci, N. y Hayaloglut, A. 2012. Microstructural, textural and sensory characteristics of probiotic yoghurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science* 95:2617-3628.

Akalin, A. y Unal, G. 2013. Influence of fortification with sodium calcium caseinate and whey protein concentrate on microbiological, textural and sensory properties of set-type yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*. 66(2):264-272.

AOAC International. 1997. *Official Methods of Analysis*. 16th edition. Edit. Agric. Chem. Assoc. Washington, DC. Unite State

Aguhob, S. y Barrie, A. 1998. *Procesamiento de lácteos*. Segunda edición. Intermediate Technology Development Group, ITDG. Peru.

Aziznia, S., Khosrowshahi, A. Madadlou y Rahimi, J. 2008. Whey protein concentrate and Gum tragacanth as fat replacers in nonfat yogurt: Chemical, physical and microstructural properties. *Journal of Dairy Science* 91(7):2545-2552.

Bauza, A., Palou, E. y López, A. 2012. Bacteriocinas, antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2):64-78.

Cabeza, E. 2006. Bacterias ácido-lácticas (BAL). Aplicaciones como cultivosestárter para la industria láctea y cárnica. Simposio regional de microbiología. Barranquilla, Colombia. Recuperado de:  
<http://www.alimentoshoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/viewFile/431/355>

Canchohuamán, H. y Ladera, J. 2010. Caracterización fisicoquímica y sensorial del yogurt con adición de goma de tara como estabilizante a diferentes concentraciones. Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional del Centro del Perú.

Carrillo, W. y Contreras, M. 2009. Funcionalidad de componentes lácteos. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 1ra Edición. Editorial CYTED. México D.F.

Comunidad de Madrid. 2017. Leches fermentadas. Diagnóstico de situación del mercado lácteo. Documento Técnico de Salud Pública N° 106. España. Recuperado en:  
<http://www.madrid.org/bvirtual/BVCM009021.pdf>

Delikanli, B. y Ozcan, T. 2014. Effect of various whey proteins on the physicochemical and textural properties of set type nonfat yoghurt. International Journal of Dairy Technology 67(4):495-503.

Dirección General de Promoción Agraria. DGPA. 2005. Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. Ministerio de Agricultura. Recuperado de:  
[http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3\\_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/%24FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/%24FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf)

Early, R. 2000. Tecnología de los productos lácteos. Editorial Acribia SA. Zaragoza, España.

Fálder, A. 2007. Enciclopedia de los alimentos. Primera edición. Editorial Mercasa. Madrid, España.

Gerdes, S., Lucey, J. y Hugunin, A. 2009. Whey ingredients in yogurt and yogurt beverages. U.S. Dairy Export Council (USDEC). Disponible en: <https://www.portalechero.com/innovaportal/v/3373/1/innova.front/aplicacion-de-ingredientes-de-suero-en-yogur-y-bebidas-con-yogur-.html>

Guerrero, J., Ramírez, A. y Puente, W. 2011. Caracterización del suero de queso blanco del combinado lácteo. Tecnología Química, 31(3):93-100.

Gutiérrez, M. 2017. Leches fermentadas terapéuticas. Contribución a su composición nutricional. Tesis para obtener el Grado en Nutrición Humana y Dietética. Universidad de Valladolid. España.

Hugunin, A. 2003. Productos de suero de leche en yogurt y productos lácteos fermentados. U.S. Dairy Export Council USA. Disponible en: <https://www.portalechero.com/innovaportal/v/732/1/innova.front/productos-de-suero-de-leche-en-yogurt-y-productos-lacteos-fermentados-.html?page=1>

López, A. 2003. Manual de industrias lácteas. 2<sup>da</sup> Edición. Editorial Tetra Pak Processing System A.B. Madrid. España

Mahaut, M., Jeantet, R., Brulé, G. y Schuck, P. 2004. Productos lácteos industriales. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.

Miranda, O., Fonseca, P., Ponce, I., Cedeño, C., Rivero, L. y Vázquez, L. 2014. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de leche que incorpora *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, 24(1):7-16.

Meyer, M., Salinas, K., Olmos, U., Berlijn, J., Figueroa, M. y Luna, O. 1988. Elaboración de productos lácteos. Primera edición. Editorial Trillas, S.A. México D.F.

Mossel, D., Moreno, B. y Struijk, C. 2006. Microbiología de los alimentos. Segunda edición. Editorial Acribia, S.A. España.

Norma técnica peruana. (202.092.2008). Leche y Productos Lácteos. Yogurt. Requisitos. Cuarta Edición.

Ordoñez, J., Cambero, M., Fernández, L., García, M., García de Fernando, G., Perales, L. y Selgas, M. 1998. Tecnología de los alimentos. Volumen 2. Editorial Síntesis. Madrid, España.

Parra, R. 2009. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellin 62(1):4967-4982.

Parzanese, P. 2013. Bioutilisation of whey for lactic acid production. Food Chemistry, 10:1-14.

Pescumma, M. 2008. Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. Food Microbiology, 25:442-451.

Puelles, C. 2015. Efecto de la adición de hidrolizado de tilapia sobre las características fisicoquímicas del yogurt batido base e influencia de mermelada de kiwi sobre la aceptabilidad general del yogurt batido. Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Universidad Privada Antenor Orrego.

Ramírez, F. 2010. Aislamiento de bacterias *Lactobacillus* s.p y Levaduras a partir de productos lácteos artesanales y evaluación de la capacidad antagónica in vitro. Trabajo de grado microbiología industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Ramírez-Navas, J. 2012. Análisis sensorial: Pruebas orientadas al consumismo. Universidad del Valle. Colombia.

Real del Sol, E. y Ortega, O. 2012. Elaboración de yogur con adición de concentrados de proteínas de Suero. Ciencia y tecnología, 22(2):59-63.

Robinson, R. 1987. Microbiología lactológica. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.

Romero del Castillo, R. y Mestres, J. 2009. Productos lácteos: Tecnología. Primera edición. Editorial UPC. Barcelona.

Schlimme, E. y Buchheim, W. 2002. La leche y sus componentes, propiedades químicas y físicas. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Stijepić, M., Durdević-Milosević, D. Y Glusać, J. 2012. Production of low fat yoghurt enriched with different functional ingredients. Quality of life, 3(1):5-12

Tamime, A. y Robinson, R. 1991. Yogur: Ciencia y tecnología. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza, España.

Tojo, R., Leis, R., Barros, J. y Prado, M. 2006. Productos lácteos fermentados. Antonie Van Leeuwenhoek, 4(1):54-66.

Vera, M. 2011. Elaboración y aplicación gastronómica del yogurt. Monografía previa a la obtención del título de Licenciada en gastronomía y servicios de alimentos y bebidas. Facultad de ciencias hospitalarias. Universidad de Cuenca. Cuenca. Ecuador.

Vera, R. 2012. Efecto de la adición de caseinato de sodio y gelatina, sobre la viscosidad aparente, sinéresis y tiempo de fermentación en yogurt batido. Tesis para optar el título de ingeniero en industrias alimentarias. Facultad de ciencias agrarias. Universidad Privada Antenor Orrego.

Walstra, P., Geurts, T., Noomen, A., Jellema, A. y Boekel, M. 2001. Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Editorial Zaragoza. España.

Zhang, T., McCarthy, J., Wang, G., Liu, Y. y Guo. M. 2015. Physiochemical properties, microstructure and probiotic survivability of nonfat goats milk yogurt using heat-treated whey protein concentrate as fat replacer. *Journal of Food Science*, 80(4):788-794.



## VIII. ANEXO

Anexo 1. Valores de la acidez titulable (% ácido láctico) del yogurt bebible con proteína de suero de leche y tiempo de almacenamiento

WPC %	Tiempo de almacenamiento (días)	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Promedio
0	0	0.50	0.55	0.54	0.53
1		0.59	0.57	0.56	0.57
2		0.60	0.61	0.59	0.60
3		0.62	0.64	0.62	0.63
0	7	0.68	0.69	0.72	0.69
1		0.73	0.69	0.71	0.71
2		0.74	0.76	0.73	0.74
3		0.81	0.8	0.77	0.79
0	14	0.70	0.69	0.72	0.70
1		0.74	0.70	0.72	0.72
2		0.74	0.73	0.77	0.75
3		0.78	0.80	0.8	0.79
0	21	0.72	0.68	0.70	0.70
1		0.75	0.75	0.74	0.75
2		0.79	0.79	0.78	0.79
3		0.81	0.79	0.83	0.81
0	28	0.76	0.77	0.76	0.76
1		0.79	0.81	0.80	0.80
2		0.83	0.81	0.84	0.83
3		0.82	0.87	0.85	0.85

Anexo 2. Valores de la viscosidad aparente (mPa.s) del yogurt bebible con proteína de suero de leche y tiempo de almacenamiento

WPC %	Tiempo de almacenamiento (días)	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Promedio
0		207.5	297.5	347.5	284.2
1	0	237.5	310.0	402.5	316.7
2		427.5	527.5	577.5	510.8
3		567.5	740.0	912.5	740.0
0		187.5	242.5	327.5	252.5
1	7	187.5	247.5	382.5	272.5
2		387.5	532.5	565.0	495.0
3		552.5	750.0	790.0	697.5
0		125.0	132.5	207.5	155.0
1	14	215.0	240.0	242.5	232.5
2		417.5	430.0	475.0	440.8
3		532.5	702.5	745.0	660.0
0		147.5	180.0	260.0	195.8
1	21	207.5	230.0	302.5	246.7
2		370.0	427.5	467.5	421.7
3		545.0	680.0	662.5	629.2
0		127.5	137.5	270.0	178.3
1	28	190.0	195.0	310.0	231.7
2		350.0	407.5	370.0	375.8
3		522.5	602.5	582.5	569.2

Anexo 3. Valores de la sinéresis (%) del yogurt bebible con proteína de suero de leche y tiempo de almacenamiento

WPC %	Tiempo de almacenamiento (días)	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Promedio
0		70	69	72	70
1	0	61	70	66	62
2		47	45	41	44
3		37	34	32	34
0		72	68	75	72
1	7	62	67	62	64
2		43	47	49	46
3		31	33	37	34
0		74	75	72	74
1	14	63	70	64	66
2		43	50	46	46
3		33	35	38	35
0		75	74	73	74
1	21	66	69	64	67
2		44	52	48	48
3		34	32	40	35
0		77	74	79	77
1	28	66	70	67	68
2		45	51	48	48
3		39	42	36	39

Anexo 4. Valores del recuento de bacterias ácido lácticas (ufc/mL) del yogurt bebible con proteína de suero de leche y tiempo de almacenamiento

WPC %	Tiempo de almacenamiento (días)	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Promedio
0	0	2.10E+07	1.90E+07	2.10E+07	2.03E+07
1	0	2.80E+07	2.50E+07	2.00E+07	2.43E+07
2	0	3.00E+07	2.90E+07	2.70E+07	2.87E+07
3	0	3.00E+07	2.90E+07	3.30E+07	3.07E+07
0	7	4.20E+06	4.00E+06	4.20E+06	4.13E+06
1	7	5.10E+06	4.50E+06	4.60E+06	4.73E+06
2	7	6.00E+06	5.60E+06	5.40E+06	5.67E+06
3	7	6.60E+06	6.00E+06	6.10E+06	6.23E+06
0	14	2.80E+06	2.20E+06	2.30E+06	2.43E+06
1	14	3.00E+06	3.20E+06	3.30E+06	3.17E+06
2	14	3.80E+06	4.00E+06	3.90E+06	3.90E+06
3	14	4.00E+06	4.20E+06	4.40E+06	4.20E+06
0	21	5.00E+05	5.80E+05	5.60E+05	5.47E+05
1	21	6.10E+05	6.50E+05	6.20E+05	6.27E+05
2	21	7.20E+05	7.90E+05	8.20E+05	7.77E+05
3	21	7.70E+05	8.00E+05	8.2 E+05	7.85E+05
0	28	5.00E+05	5.40E+05	6.60E+05	5.67E+05
1	28	7.10E+05	7.50E+05	7.20E+05	7.27E+05
2	28	6.20E+05	6.90E+05	6.10E+05	6.40E+05
3	28	6.70E+05	6.90E+05	6.2 E+05	6.80E+05

Anexo 5. Calificaciones de prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche y tiempo de almacenamiento de 0 días

Panelistas	Tiempo de almacenamiento: 0 días			
	Control	suero de leche al 1%	suero de leche al 2%	suero de leche al 3%
1	8	7	5	6
2	7	5	6	6
3	8	9	6	7
4	6	6	5	8
5	9	6	4	6
6	8	6	6	5
7	8	6	7	5
8	8	6	6	4
9	6	5	4	1
10	9	9	6	4
11	9	9	9	9
12	7	7	5	6
13	8	6	5	4
14	7	6	5	4
15	9	5	8	6
16	7	7	4	6
17	7	8	6	7
18	6	7	5	5
19	8	8	6	4
20	8	7	7	6
21	7	6	6	5
22	6	6	5	6
23	3	8	8	3
24	7	7	7	7
25	9	8	8	6
26	9	8	7	6
27	9	8	8	8
28	8	7	6	5
29	9	7	4	7
30	9	6	2	2
Promedio	7.6	6.9	5.9	5.5
Moda	8	6	6	6

Anexo 6. Calificaciones de prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche y tiempo de almacenamiento de 7 días

Panelistas	Tiempo de almacenamiento: 7 días			
	Control	suero de leche al 1%	suero de leche al 2%	suero de leche al 3%
1	7	8	4	5
2	8	7	4	5
3	8	8	6	6
4	8	6	5	7
5	6	6	6	5
6	7	5	6	7
7	8	6	5	4
8	6	7	5	4
9	6	5	5	4
10	7	8	7	6
11	7	9	8	6
12	8	5	7	6
13	5	6	6	7
14	8	6	5	4
15	7	8	5	6
16	7	8	6	5
17	7	8	7	6
18	6	7	4	5
19	5	9	4	5
20	7	7	6	8
21	6	4	8	6
22	6	6	6	7
23	8	9	7	4
24	5	6	6	5
25	6	6	7	7
26	8	5	9	7
27	8	4	7	6
28	8	6	6	7
29	6	8	4	6
30	8	3	4	7
Promedio	6.9	6.5	5.8	5.8
Moda	8	6	6	6

Anexo 7. Calificaciones de prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche y tiempo de almacenamiento de 14 días

Panelistas	Tiempo de almacenamiento: 14 días			
	Control	suero de leche al 1%	suero de leche al 2%	suero de leche al 3%
1	5	7	4	5
2	4	5	6	7
3	8	7	6	5
4	5	6	7	6
5	7	5	6	6
6	6	7	7	7
7	6	7	4	3
8	7	5	6	4
9	8	6	7	6
10	7	7	6	5
11	7	7	6	6
12	7	7	6	6
13	6	6	5	5
14	4	6	6	5
15	8	7	5	5
16	8	5	4	6
17	7	8	8	7
18	6	7	5	4
19	6	6	6	6
20	6	5	7	5
21	8	6	5	4
22	6	7	6	6
23	7	6	6	6
24	6	6	8	6
25	7	7	6	6
26	8	8	7	7
27	9	5	8	6
28	8	7	7	6
29	7	7	6	7
30	7	6	5	4
Promedio	6.7	6.4	6.0	5.6
Moda	7	7	6	6

Anexo 8. Calificaciones de prueba de aceptabilidad general del yogurt bebible con proteína de suero de leche y tiempo de almacenamiento de 21 días

Panelistas	Tiempo de almacenamiento: 21 días			
	Control	suero de leche al 1%	suero de leche al 2%	suero de leche al 3%
1	5	7	6	4
2	7	6	5	4
3	7	7	6	4
4	6	6	5	4
5	7	6	4	5
6	6	7	6	8
7	7	6	5	4
8	6	5	5	6
9	6	6	7	6
10	5	5	5	6
11	5	5	6	3
12	7	7	6	4
13	5	6	6	6
14	5	3	4	2
15	6	5	5	4
16	6	4	4	4
17	6	5	5	4
18	7	5	3	5
19	6	6	6	6
20	8	4	6	6
21	7	5	4	3
22	7	6	6	5
23	6	6	5	5
24	6	5	5	4
25	7	8	6	4
26	7	5	6	4
27	6	8	5	5
28	5	5	4	4
29	8	5	5	5
30	6	5	5	5
Promedio	6.27	5.63	5.20	4.63
Moda	6	5	5	4



Anexo 9. Ficha técnica del cultivo láctico y de la proteína de suero de leche

A continuación se presentan las fichas técnicas del cultivo láctico y de la proteína de suero de leche que fue empleada en la elaboración del yogurt.

# DriSet YOGURT 438



PREMIUM FREEZE DRIED LACTIC CULTURE

December 20, 2013

The VIVOLAC DriSet YOGURT SERIES is a premium line of freeze dried concentrated cultures for the production of bulk set or cup set yogurt as well as frozen yogurt and yogurt bulk starter. These cultures contain select strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* that provide a high active count in the finished product. Vivolac DriSet YOGURT 438 provides a moderate yogurt flavor, high viscosity and moderate post acidification.

## YOGURT 400 SERIES CULTURE

CULTURE SERIES	DESCRIPTION	INOCULATION RATES	INCUBATION PARAMETERS
DriSet YOGURT 438	Concentrated freeze-dried strains of <i>Streptococcus thermophilus</i> and <i>Lactobacillus bulgaricus</i> lactic acid bacteria for the manufacture of yogurt with mild yogurt flavor, high viscosity, and moderate post acidification	50 LU / 50 liter	35-44°C for 6-12 hours  (Time may vary with application)
		100 LU / 100 liters	
		250 LU / 250 liters	
		500 LU / 500 liters	
		1000 LU / 1000 liters	
		2000 LU / 2000 liters	

### Strain Composition:

DriSet Yogurt 438 – 90% *Streptococcus thermophilus*  
10% *Lactobacillus bulgaricus*

For more information about these or any other Vivolac products, contact your technical representative at 1-317-359-9528 or 1-800-VIVOLAC between 8:00 AM and 4:30PM eastern standard time.

This information, results, reports, and/or interpretation is/are believed to be accurate and offered toward a better understanding of products or services for the benefit and knowledge to other entities. Vivolac/Lyoferm does not assume any liability or risk involved in the use of its products since the conditions of use are beyond our control. Nothing contained herein shall constitute an expressed or implied guarantee or warranty with respect to Vivolac/Lyoferm products or their use. Statements concerning possible use of Vivolac/Lyoferm products are not to be construed as a recommendation for any use which would violate any patent rights, regulations or statutory restrictions. This information, results, reports, and/or interpretation is a general description or guideline of processes and procedures for application of products and are not intended to suggest, recommend or guarantee a procedure or result of processing which may vary considerably.

# PRODUCT SPECIFICATIONS:

**Product name:** VIVOLAC DriSet YOGURT 438

**Ingredients:** non-fat dry milk, lactic acid bacteria, cryo-protective agents

**Appearance:** Freeze-dried brown powder with a lactic acid smell

**Lactic Count:** Not less than  $1.0 \times 10^{10}$  CFU/gram

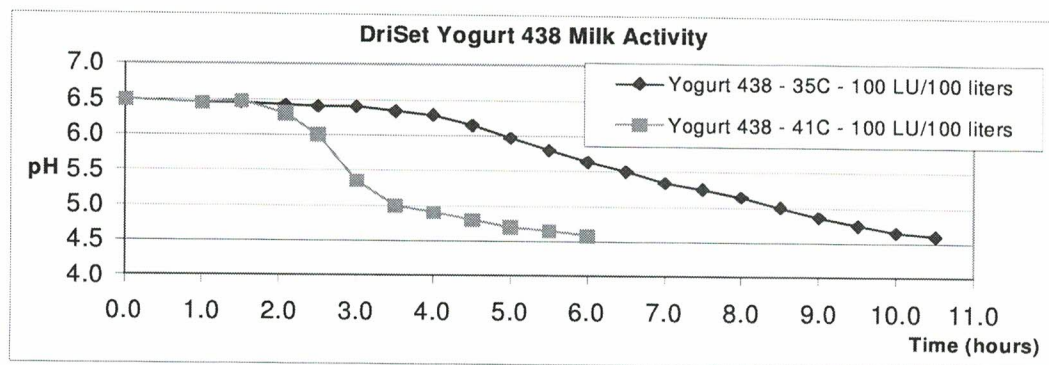
**Microbial Analysis:**

Coliform	< 1 CFU/gram
E. coli.	Negative
Salmonella	Negative
Staphylococcus (Coagulase +)	Negative
Yeast and Mold	< 10 CFU/gram

**Packaging:** FDA tamper evident foil pouches or plastic bottles with tamper evident shrink seal.  
Shipped in Styrofoam containers on dry-ice

**Storage/Shelf-life:** <-20°F (-30°C) / 12 months

## Culture Activity Test:



**Culture Activity Test: 35°C and 41°C in heat shocked skim milk at 9% milk solids**

This information, results, reports, and/or interpretation is/are believed to be accurate and offered toward a better understanding of products or services for the benefit and knowledge to other entities. Vivolac/Lyoferm does not assume any liability or risk involved in the use of its products since the conditions of use are beyond our control. Nothing contained herein shall constitute an expressed or implied guarantee or warranty with respect to Vivolac/Lyoferm products or their use. Statements concerning possible use of Vivolac/Lyoferm products are not to be construed as a recommendation for any use which would violate any patent rights, regulations or statutory restrictions. This information, results, reports, and/or interpretation is a general description or guideline of processes and procedures for application of products and are not intended to suggest, recommend or guarantee a procedure or result of processing which may vary considerably.

# 80% Dry Basis Instantized WPC

## Product Code 49525

### Product Definition

Instantized Whey Protein Concentrate (WPC) 80% is a kosher approved USPH Grade A source of protein processed with lecithin for superior dispersion properties. 49525 is specifically processed to quickly dissolve in liquids. Derived from high quality mozzarella, low temperature cross flow ultra-filtration is used to concentrate the proteins.

### Product Applications

Unlike high protein powders, which require an electric blender to dissolve, Instantized WPC 80% - 49525 is easily dissolved in water and beverages with hand stirring or shaking. It may be used in food products as a rich source of high-quality protein. Suggested applications include nutritional beverages, food bars, supplements and infant foods.

### Chemical Analysis

	<u>Typical Values</u>	<u>Specification</u>	<u>Methodology</u>
Protein (dry basis)	80.5%	80.0% min.	Kjeldahl
pH (10% solution)	6.4	6.0 - 7.0	Combination electrode
Moisture	5.0%	7.0% max.	Vacuum Oven 149° F (65° C)
Fat	7.5%	8.5% max.	Rose – Gottlieb (Ether extraction)
Ash	Less than 3.0%	4.0% max.	Residue in ignition
Sediment	Disc A	Disc B max.	ADPI

### Microbiological Standards

	<u>Typical Values</u>	<u>Specification</u>	<u>Methodology</u>
Total Aerobic Count	< 5,000/g	20,000/g max.	Standard Methods Agar
Salmonella	Negative	Negative/750g	FDA-BAM
Coliform	< 10/g	< 10/g	Violet Red Bile Agar
Yeast and Mold	< 10/g	10/g max.	Acidified Potato Dextrose Agar

### Nutritional Information\*

(Mean/100g)	
Calories .....	407.24
Calories from fat .....	63.00
Total Fat (g) .....	7.00
Saturated Fat (%) .....	2.61
Trans Fatty Acids (g) .....	0.26
Cholesterol (mg) .....	230.33
Total Carbohydrate (g) .....	9.83
Sugars (%) .....	6.32
Protein (g) .....	76.23
Sodium (mg) .....	163.00
Calcium (mg) .....	523.00
Iron (mg) .....	0.89
Vitamin A (IU) .....	79.37
Vitamin C (mg) .....	0.40

\*Nutritional results, although based on limited testing, fall within the expected manufacturing ranges.

### Ingredient Statement

Whey Protein Concentrate (milk), Lecithin (soy)

### Physical Characteristics

Appearance: Cream color powder  
 Flavor and Odor: Typical dairy flavor

### Packaging and Storage

Packaged in 20 kg (44.1 lb.) kraft paper bag (35 1/2" 22" x 5") with 3.0 mil PE liner suitable for export; also available in 1000 pound totes. Product should be stored in a cool, dry warehouse. Product is recommended to be stored at no more than 80° F (27° C) and relative humidity under 75%.





## Typical Amino Acid Profile of 80% Dry Basis Soluble WPC

Amino Acid	Grams of Amino Acid/100 gm of Protein
Alanine	4.82
Arginine	3.18
Aspartic Acid	12.26
Cysteine/Cystine	2.28
Glutamic Acid	15.41
Glycine	2.00
Histidine	2.40
Isoleucine *	6.41
Leucine *	11.60
Lysine *	9.83
Methionine *	2.35
Phenylalanine *	3.56
Proline	6.28
Serine	6.24
Threonine *	8.44
Tryptophan *	1.80
Tyrosine	3.26
Valine *	6.09

\* Essential Amino Acids