

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Proyecto Final de Graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para optar por
el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos

***Evaluación de la post-acidificación del yogurt líquido de fresa durante el
almacenamiento y su efecto en el agrado del consumidor***

Elaborado por:

Vivian Vanessa Morera Montoya

Carné A63951

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

Diciembre, 2014

TRIBUNAL EXAMINADOR

Proyecto de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.

Elaborado por:

Vivian Vanessa Morera Montoya

Aprobado por:



M.Sc. Pedro Vargas Aguilar
Presidente del Tribunal



Ph. D. Elba María Cubero Castillo
Directora del Proyecto



M.Sc. Alejandro Chacón Villalobos
Asesor del Proyecto



MBA. Marcos Chaverri García
Asesor del Proyecto



Licda. Diana Viquez Barrantes
Profesora Designada

DEDICATORIA

A mi mamá, hermanos y sobrinitas...que son mi fuerza de empuje para alcanzar mis metas. Esto es para y por ustedes.

Sobre todo a mi mamá que nos enseñó a estar siempre juntos y ayudándonos entre todos, nos enseñó que la unión hace la fuerza y que todo se puede con ayuda de Dios.

AGRADECIMIENTOS

Primero agradecerle a Dios, que sin él no hubiese sido posible concluir mi carrera. Por poner obstáculos que me hicieron aprender y crecer, y mostrarme la hermosa familia que me dio.

A mi mamá, mis hermanos Karina, Coco, Marce y Alvarito, y también a Tavo porque de una u otra manera me ayudaron durante toda mi carrera, dándome desde apoyo emocional hasta económico. Gracias por estar siempre ahí, brindando toda la ayuda y cariño que puedan dar.

Muchas gracias a la Escuela de Química, especialmente a la sección de Química Orgánica, al profe Guy que siempre me brindó apoyo con asistencias durante más de la mitad de mi carrera.

A la profe Elba Cubero por guiarme, exigirme y ayudarme de la mejor manera en este trabajo.

Al profe Alejandro Chacón por ayudarme a concretar el proyecto entre la Dos Pinos y la Universidad de Costa Rica.

A Marcos Chaverri por todos los consejos para la tesis y a nivel profesional, por toda su ayuda y apoyo.

A los muchachos de producción del Aréa 1, especialmente a Donald Soto, Bryan Venegas, José Calvo y Gabriela Hernández por toda la ayuda. Al igual que Rodrigo Vargas, colaborador de Investigación y Desarrollo.

A la empresa Dos Pinos por abrirme las puertas y brindarme todo el apoyo del personal y el espacio para realizar mi trabajo.

A Pame Rodríguez, gracias infinitas por toda la ayuda en éste trabajo.

A mis compañeros de carrera que me ayudaron durante la realización de mi proyecto, especialmente a Lola, Javier y Gustavo. También Pame Castro, Mauren, María, Jéssica, David José y Tatiana. Y a todos los que me ayudaron de algún modo durante mi curso por la carrera.

A mis amigos Sergio, Manuel, Mariana y Pri que siempre han estado ahí, ayudándome en todo lo que se pueda.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xii
JUSTIFICACIÓN	1
OBJETIVOS	4
1. Objetivo general.....	4
2. Objetivos específicos	4
MARCO TEÓRICO.....	5
1. Definición de yogurt.....	5
2. Características del yogurt	5
3. Tipos de yogurt	6
4. Materias primas utilizadas en la elaboración del yogurt	7
4.1 Leche	7
4.2 Sólidos lácteos no grasos	8
4.3 Cultivo lácteo.....	9
4.4 Ingredientes no lácteos	10
5. Proceso de elaboración del yogurt líquido aromatizado	13
5.1 Estandarización	13
5.2 Homogenización- pasteurización	14
5.3 Fermentación	15
5.4 Enfriamiento.....	16
5.5 Batido	16
5.6 Empaque	17
5.7 Almacenamiento	17
6. Post-acidificación y vida útil del yogurt	18
7. Análisis sensorial	19
7.1 Pruebas de diferenciación o discriminación	19

7.2 Pruebas con consumidores	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
1. Localización del proyecto.....	23
2. Muestra.....	23
3. Pruebas preliminares	24
3.1 Cambio de la acidez en el yogurt a través del tiempo de almacenamiento a 6 °C	24
3.2 Porcentaje mínimo de ácido láctico percibido como diferente (Prueba Discriminatoria 2 AFC) 25	
3.3 Determinación del número de repeticiones	27
4. Pruebas experimentales	27
4.1 Prueba de agrado del consumidor por la acidez del yogurt líquido de fresa	27
4.2 Variación de la acidez en el yogurt de fresa durante el tiempo de almacenamiento a dos diferentes temperaturas.....	29
4.3 Factores que influyen en la post-acidificación del yogurt líquido de fresa.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
1. Prueba de agrado del consumidor por la acidez del yogurt líquido de fresa	34
1.1 Estudio de la acidez y pH del yogurt durante 45 días a 6 °C	34
1.2 Elaboración de la curva acelerada de yogurt	36
1.3 Prueba de agrado por el yogurt	38
2. Variación de la acidez en el yogurt de fresa durante el tiempo de almacenamiento a dos diferentes temperaturas.....	42
3. Caracterización del proceso de elaboración de yogurt de fresa	45
CONCLUSIONES	50
RECOMENDACIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
APÉNDICE	58
APENDICE A. Cambio de la acidez y pH a través del tiempo de almacenamiento a 6 °C por 45 días (preliminar 1).....	58
APENDICE B. Porcentaje mínimo de ácido láctico percibido como diferente (Prueba Discriminatoria 2 AFC) (preliminar 2)	61
APENDICE C. Determinación del número de repeticiones o lotes a evaluar	63
APENDICE D. Características de las muestras de yogurt utilizadas para el panel de agrado al consumidor	64

APÉNDICE E. Temperatura real de los puntos de venta	66
APENDICE F. Características de las muestras de yogurt almacenado a 6 °C y 10 °C	70
APENDICE G. Características del yogurt durante el procesamiento y trasiego	74
APENDICE H. Descripción de las pruebas químicas realizadas al yogurt	78

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I. Composición generalizada del yogurt luego del proceso de fermentación	6
Cuadro A 1. Datos experimentales de acidez y pH de las muestras de yogurt almacenadas a 6 °C por 45 días.....	58
Cuadro A 2. Análisis de varianza (ANDEVA) para la acidez del yogurt durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días y a 42 °C por 72 horas, utilizando un 95 % de confianza	60
Cuadro B 1. Datos experimentales de acidez y pH de las muestras de yogurt almacenadas a 42 °C por 72 horas	61
Cuadro B 2. Aciertos obtenidos y requeridos, su proporción y la probabilidad de cometer error tipo I	61
Cuadro B 3. Acidez de las muestras de yogurt líquido utilizadas en el panel 2 AFC	62
Cuadro C 1. Datos necesarios para calcular el número de repeticiones.....	63
Cuadro C 2. Datos necesarios para determinar el número de repeticiones utilizando las Tablas Neter et al. (1996)	63
Cuadro D 1. Tiempo de fermentación (42°C) y concentración de ácido láctico de las muestras de yogurt presentadas al panel del consumidor.....	64
Cuadro D 2. Análisis de varianza del agrado por las muestras de yogurt en dos grupos de consumidores, utilizando un 95 % de confianza	64
Cuadro D 3. Valores de probabilidad a un 95 % de confianza y coeficientes de correlación entre el agrado y acidez por conglomerado	64
Cuadro D 4. Valores promedio de agrado de cada muestra de yogurt líquido y análisis de diferencias significativas utilizando la comparación múltiple de Fisher (LSD).....	65
Cuadro F 1. Datos experimentales de las muestras de yogurt almacenadas a 6 °C por 45 días.....	70
Cuadro F 2. Datos experimentales de las muestras de yogurt almacenadas a 10 °C por 45 días....	71
Cuadro F 3. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos factores, lote y temperatura, para la acidez del yogurt utilizando un 95 % de confianza	72

Cuadro G 1. Datos experimentales de acidez, pH, sólidos totales y solubles medidos en tres diferentes lotes de yogurt líquido de fresa durante cada una de las operaciones del proceso de elaboración..... 74

Cuadro G 2. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos factores, lote y operación, para el promedio de la acidez del yogurt durante el proceso de elaboración, utilizando un 95 % de confianza 74

Cuadro G 3. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para la acidez del yogurt en las operaciones involucradas en el proceso de elaboración 75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Puntos de muestreo durante el proceso de elaboración del yogurt de fresa y su trasiego	33
Figura 2. Acidez y pH promedio de dos lotes de yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días.....	34
Figura 3 Acidez y pH promedio de tres lotes de yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 42 °C por 72 horas	37
Figura 4. Agrado de los consumidores por muestras de yogurt con diferente acidez, utilizando 100 jueces sin entrenamiento.....	39
Figura 5. Efecto de la temperatura de almacenamiento en la acidez del yogurt líquido de fresa durante 45 días de almacenamiento	42
Figura 6. Efecto de la temperatura de almacenamiento en el pH del yogurt líquido de fresa durante 45 días de almacenamiento	43
Figura 7. Concentración del ácido láctico en cada operación del proceso de elaboración y trasiego del yogurt líquido de fresa	45
Figura 8. Valores de pH en cada operación del proceso de elaboración y trasiego del yogurt líquido de fresa.....	46
Figura A 1.Valor promedio de sólidos solubles de 2 lotes de yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días.....	60
Figura A 2. Valor promedio de sólidos totales de 2 lotes de yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días.....	60
Figura B 1. Ejemplo de la hoja entregada al juez durante la prueba comparativa 2 AFC	62
Figura E 1. Control semanal de la temperatura interna de la cámara abierta del supermercado A	66
Figura E 2. Control semanal de la temperatura interna de la cámara abierta del supermercado B	67
Figura E 3. Control semanal de la temperatura interna de la cámara abierta del supermercado C	68
Figura E 4. Control semanal de la temperatura interna de la cámara abierta del supermercado D	69

Figura F 1. Acidez del yogurt a 6 °C y 10 °C (calculada), durante 45 días de almacenamiento.....	72
Figura F 2. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los sólidos solubles del yogurt líquido de fresa durante 45 días de almacenamiento	73
Figura F 3. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los sólidos totales del yogurt líquido de fresa durante 45 días de almacenamiento	73
Figura G 1. Efecto de la operación unitaria sobre los sólidos totales y sólidos solubles del yogurt líquido de fresa durante el proceso de elaboración y trasiego.....	77

RESUMEN

El yogurt de fresa es uno de los productos de mayor venta de la empresa Dos Pinos, la cual se coloca como el mayor productor de lácteos de nuestro país, y como consecuencia el mayor exportador de lácteos a nivel de América Central. Se encontró cierta insatisfacción del consumidor por este producto a lo largo de su vida útil de 45 días, que se relacionó con el efecto de post-acidificación que sufre el producto durante su almacenamiento a 6 °C.

Para conocer si la post-acidificación del yogurt causaba efecto en el agrado del consumidor se evaluó, en primera instancia, el comportamiento de la acidez del yogurt durante los 45 días a 6 °C, para luego emularlo acelerando la fermentación del yogurt recién producido mediante el almacenamiento a 42 °C por 3 días. Se determinó el valor de acidez mínimo percibido como diferente por el consumidor, el cual resultó de 0,046 %AL, con lo que se establecieron los porcentajes de acidez de las muestras presentadas al panel de agrado, para que fuesen percibidas como diferentes. Con el panel de agrado se encontró que existieron dos grupos de consumidores: uno compuesto por el un 40 % de la población que no les afectó la acidez en su criterio de agrado por el yogurt, y el otro, conformado por el 60 % de la población, que relacionó el agrado por yogurt con su acidez, mostrando menor agrado por los valores de acidez más altos (0,537 %AL y 0,566 %AL).

Luego se determinó el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la post-acidificación, para lo que se utilizó 6 °C y 10 °C por 45 días. Se encontró que el yogurt a 10 °C presentó una acidez significativamente mayor que el de 6 °C. Además, al relacionarlo con el agrado del 60 % de los consumidores (grupo 2), almacenar el yogurt a 10 °C acorta la vida útil del yogurt de 28 días (almacenamiento a 6 °C) a 18 días.

Por último se evaluó el efecto del proceso de elaboración del yogurt sobre la post-acidificación, mediante la medición de la acidez en cada operación y trasiego. Se identificó que la operación de enfriamiento y envasado afectaron de manera significativa la acidez. Sin embargo el tiempo de fermentación resultó clave en la elaboración de un producto terminado con una acidez baja que evite el rechazo del consumidor a los 28 días de almacenamiento a 6 °C.

JUSTIFICACIÓN

El consumo de productos lácteos en el mundo se ve influenciado por el importante valor nutritivo que aportan, al contener en forma balanceada macronutrientes y micronutrientes necesarios para el adecuado funcionamiento del organismo. La leche se considera como el producto con mayor relevancia en la dieta del consumidor, y los derivados como el yogurt contienen igual o mayor cantidad de macronutrientes y micronutrientes que contribuyen a la salud de las personas (Chryssanthopoulos & Maridaki, 2009).

En la actualidad, los avances científicos y tecnológicos en la industria alimentaria han permitido que los consumidores puedan escoger entre una gran variedad de productos lácteos como leches, quesos y yogurt. Estos se pueden encontrar en una serie de diferentes sabores, formas, texturas y colores, los cuales ofrecen diversas cualidades nutricionales que le dan la opción al consumidor de elegir una dieta sana y óptima (Chryssanthopoulos & Maridaki, 2009). Según lo describen Rojas *et al.* (2007), el yogurt es el producto lácteo acidificado más popular al cumplir con las características que busca el consumidor, como son ser natural y saludable.

La importancia del yogurt en la dieta recae en su valor nutritivo y en sus propiedades funcionales, ya que es fuente importante de carbohidratos, proteínas como caseínas y seroproteínas, lípidos, vitaminas y minerales. Además, al ser un producto fermentado se aumenta la digestibilidad de carbohidratos (principalmente la lactosa), proteínas y grasa. En cuanto a su valor nutricional, este es una importante fuente de vitamina B12, ácido fólico y potasio, presenta una mayor biodisponibilidad de magnesio, zinc, calcio y fósforo, y posee proteínas de alto valor nutritivo (Rojas *et al.*, 2007).

La descripción del yogurt como un alimento funcional se debe, en gran parte, a que las personas con padecimiento de intolerancia a la lactosa pueden consumir este producto lácteo sin sufrir alguna reacción adversa. La presencia de microorganismos acidolácticos y probióticos adicionales se encargan de hidrolizar la lactosa, aún después de la ingestión y provocan la disminución de lactosa residual que llega al intestino. De esta forma, aunque el yogurt contenga de 4,5 a 6 % de lactosa puede ser consumido por personas con deficiencia de lactasa en su organismo (Chryssanthopoulos & Maridaki, 2009; Karagül & Kemal, 2010; Ares *et al.*, 2008).

Otras de las razones más importantes que le dan un gran valor agregado al yogurt son la formación de un fino coágulo fácilmente metabolizable por las enzimas digestivas, la regeneración

de la flora intestinal, la estimulación de la producción de jugos gástricos e intestinales y la presencia de microorganismos asociados a la posible disminución del riesgo de cáncer de colon (Rojas *et al.*, 2007; Rasic & Kurmann, 1978; Horst *et al.*, 1995).

Según la Organización Mundial del Comercio (OMC) (2007) la Unión Europea es el mayor productor de lácteos a nivel mundial, seguida por los Estados Unidos, India y Rusia. En América Latina se destacan Uruguay y Argentina como los mayores y más importantes exportadores (CEPAL, 2003). En cuanto a Centroamérica, se reconoce a Costa Rica como el principal productor de lácteos de la región, el cual dirige sus productos principalmente a Guatemala, El Salvador y Nicaragua (OMC, 2007; PROCOMER, 2012; La Nación, 2011).

Nuestro país se reconoce como un importador y exportador de lácteos al mismo tiempo. Las importaciones de lácteos provienen mayoritariamente de Panamá y Estados Unidos (CEPAL, 2003), mientras que las exportaciones de lácteos se dirigen al Caribe, América del Sur y principalmente a América Central, resultando Guatemala como nuestro principal comprador seguido de El Salvador, Nicaragua, República Dominicana y Honduras, en orden respectivo. Para el caso específico del yogurt, este representa un 6,2 % del total de las exportaciones de productos lácteos nacionales (PROCOMER, 2012).

La principal empresa productora de lácteos en nuestro país es la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. (PROCOMER, 2012), la cual se coloca como el mayor exportador de productos lácteos y abarca una extensa parte del mercado nacional. Esta empresa busca satisfacer las necesidades de los consumidores por medio de la mejora continua de los productos ofrecidos, por lo que se le da gran relevancia a su opinión (Chaverri, 2012).

De esta forma, resulta esencial conocer el agrado del consumidor por el yogurt líquido de fresa, el cual presenta un consumo importante en relación al resto de yogurts elaborados por la empresa y al que, además, se le reconoce cierta insatisfacción antes de concluir su vida útil debido posiblemente a la alta acidez (Chaverri, 2012). Sin embargo, no se ha realizado ningún estudio de manera formal que permita determinar si existe desagrado en el producto en algún momento durante su vida útil y si es el caso, identificar en qué momento se da, los factores que pueden influir, y plantear posibles mejoras en el proceso para lograr satisfacer al consumidor.

El yogurt experimenta un aumento en la concentración de ácido láctico durante el almacenamiento a temperaturas inferiores a 10 °C, lo que se conoce como post-acidificación. Este cambio en la composición química puede provocar cambios sensoriales que pueden concluir en el

rechazo del alimento, aún sin haber alcanzado el final de su vida útil indicada en la etiqueta. De manera que es necesario controlar la acidificación del yogurt luego de su producción, durante su almacenamiento, distribución y venta, ya que éste podría encontrarse muy ácido en el momento en que es consumido y su vida útil se acortaría (MacBean, 2009; Özer & Avni, 2010).

Los cambios experimentados por el yogurt durante su almacenamiento, ya sean físicos, químicos y/o microbiológicos pueden ser evaluados utilizando pruebas instrumentales. Sin embargo, aunque estas pruebas obtengan valores adecuados en los parámetros evaluados, éstos no necesariamente se asocian con el agrado que el consumidor muestra por dicho producto. Por tal motivo, es necesario realizar pruebas sensoriales donde se evalúen los atributos del alimento y se comparen con las pruebas instrumentales (Özer & Avni, 2010). La relación entre ambos métodos radica en traducir alguna alteración en la composición del alimento en cambios en los parámetros sensoriales, lo que genera una modificación en la aceptación del producto. Cuando el cambio en la composición es tal que produce un rechazo por parte del consumidor se puede dar por terminada la vida útil del alimento (Witting *et al.*, 2005).

OBJETIVOS

1. *Objetivo general*

Evaluar la post-acidificación del yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento para relacionar la acidez con su proceso de elaboración y trasiego, y determinar su efecto en el agrado del consumidor y en la vida útil.

2. *Objetivos específicos*

- Medir el efecto de la acidez del yogurt líquido de fresa sobre el agrado del consumidor.
- Determinar el efecto de la temperatura de almacenamiento del yogurt líquido de fresa sobre la acidez utilizando dos temperaturas de almacenamiento en refrigeración (6 °C y 10 °C).
- Caracterizar la acidez del yogurt a lo largo del proceso de elaboración y trasiego para determinar las operaciones que influyen en la post-acidificación del yogurt con la finalidad de proponer mejoras en el proceso de elaboración de yogurt.

MARCO TEÓRICO

1. Definición de yogurt

El yogurt es el producto lácteo elaborado a partir de la fermentación de leche entera o modificada (semidescremada, descremada o una mezcla de estas), por la adición de una mezcla de cultivos lácticos constituidos por las bacterias *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus* (o toda especie de *Lactobacillus*). Estos microorganismos son capaces de producir ácido láctico, provocando la reducción del pH y la coagulación de las proteínas (FDA, 2011; Codex, 2003). Según lo establece la norma, el cultivo láctico debe ser viable, activo y abundante en el producto hasta finalizar su vida útil, en caso de que no se realice un tratamiento térmico luego de la fermentación (Codex, 2003).

Entre los ingredientes utilizados para la elaboración del yogurt se pueden encontrar los sólidos lácteos, bacterias ácido lácticas complementarias y productos no lácteos, tales como frutas y verduras, carbohidratos nutricionales y no nutricionales, frutos secos, especias, miel, chocolate y demás alimentos aromatizantes naturales e inoos (MEIC-MAG, 2009). La adición de los ingredientes no lácteos se realiza antes o después de la fermentación, y provoca un cambio en la denominación del “yogurt natural” a “yogurt aromatizado o saborizado”, el cual según la norma debe contener un máximo del 50 % (p/p) de estos productos en el yogurt terminado (Codex, 2003).

2. Características del yogurt

El yogurt se caracteriza por tener una estructura de gel, que se consigue por medio de la formación de una cadena de caseínas agregadas en las cuales se depositan las seroproteínas desnaturizadas donde se introducen los glóbulos de grasa y el suero (Walstra *et al.*, 2005). Por su estructura, el yogurt se clasifica como un producto pseudoplástico que presenta algunas propiedades elásticas de un sólido ideal y de un líquido ideal, como la viscosidad, por lo que es un fluido viscoelástico (Lee & Lucey, 2010).

En cuanto a la composición del yogurt, en el Cuadro I se pueden observar los valores establecidos por el Codex (2003) para grasa, proteínas, ácido láctico y microorganismos beneficiosos. Es importante mencionar que los valores de grasa varían de acuerdo al tipo de yogurt que se desee elaborar. En este cuadro únicamente se toman en cuenta los compuestos orgánicos y

microorganismos necesarios para categorizar al alimento como yogurt. Sin embargo, el yogurt presenta una serie de compuestos orgánicos volátiles que le dan su sabor y aroma característico.

Cuadro I. Composición generalizada del yogurt luego del proceso de fermentación

Componente	Cantidad (%)
Proteína láctea (% p/p)	mín 2,7
Grasa láctea (% p/p)	Menos de 10
Acidez titulable expresada como ácido láctico (% p/p)	mín 0,3
Total de microorganismos del cultivo (UFC/g)	mín 10^7
Total de microorganismos complementarios al cultivo (UFC/g)	mín 10^6

Los compuestos volátiles responsables del aroma y sabor, en mayor cantidad en el yogurt, son el acetaldehído, ácido acético y diacetil. El acetaldehído se encuentra en una concentración aproximada de 10 ppm, mientras que el ácido acético entre 30 y 50 ppm, y el diacetil entre 0,8 y 1,5 ppm. También se conocen otros compuestos orgánicos presentes en el yogurt, como el etanol y los polisacáridos (expolisacáridos). El etanol no contribuye en el sabor del yogurt y se encuentra en cantidades de 10 a 40 ppm, y los polisacáridos ayudan a la consistencia del yogurt, principalmente en el yogurt batido (Walstra *et al.*, 2005).

En cuanto al análisis químico y microbiológico que se le realiza al yogurt para determinar su calidad, en nuestro país se establecen los siguientes parámetros por norma: el pH, el cual no debe sobrepasar los 4,8, la acidez como ácido láctico debe encontrarse entre 0,6 y 1,5 g/100g, el recuento de bacterias lácticas totales con un mínimo de 10^7 UFC/g y, en el caso de contener probióticos, debe presentar un mínimo de 10^6 UFC/g. El análisis de materia grasa, proteína, ácidos grasos saturados, hierro, vitamina A y ácido fólico se establecen para evaluaciones nutricionales del producto (MEIC-MAG, 2009).

3. Tipos de yogurt

La clasificación del yogurt se realiza de acuerdo a su composición y/o el proceso de elaboración que le dan características diferentes al producto. De tal manera que, de acuerdo al contenido de grasa en el producto terminado, se puede dar la clasificación del yogurt como parcialmente descremado o semidescremado (contenido de grasa menor a 3,0 % m/m y mayor al 0,5 % m/m), descremado (contenido de grasa menor al 0,5 % m/m) o “entero” (contenido de grasa de 3,0 %

m/m o más). Por composición también se reconocen el yogurt aromatizado o saborizado y el yogurt natural. Otro tipo de yogurt es el tratado térmicamente, el cual no contiene cultivo láctico viable (MEIC-MAG, 2009).

Las diferentes texturas en el yogurt permiten la clasificación del mismo en aflanado, batido y líquido. Esta propiedad depende de la composición química y, principalmente, del proceso de elaboración, de manera más específica las operaciones de fermentación y el tratamiento mecánico post fermentación. El yogurt aflanado se caracteriza por ser un gel homogéneo semi-sólido que se obtiene de la fermentación luego del envasado y de la ausencia de cualquier tratamiento mecánico. Los otros dos presentan una fermentación en tanques para luego ser sometidos a un proceso de batido o mezclado, el cual rompe el gel y le atribuye al producto menor viscosidad. La diferencia entre estos dos radica en que el yogurt líquido experimenta un mayor tratamiento mecánico y puede contener una menor cantidad de sólidos totales (Tamime & Robinson, 2007).

4. Materias primas utilizadas en la elaboración del yogurt

Para la elaboración de yogurt es indispensable el uso de ingredientes como leche, crema o grasa, sólidos lácteos no grasos, estabilizantes y cultivos lácteos iniciadores. También se puede hacer uso de endulzantes, saborizantes y colorantes naturales y sintéticos que mejoren la apariencia y sabor del producto (Yildiz, 2009).

4.1 Leche

La leche puede provenir de diferentes animales, sin embargo la leche de vaca es la más utilizada industrialmente para la elaboración del yogurt (Yildiz, 2009). Esta varía en su composición debido a factores como raza, variabilidad, alimentación, edad, condiciones fisiológicas, tiempo de ordeño y fase de lactancia del animal (Keating & Rodríguez, 1999). Sin embargo, la leche entera debe presentar, a nivel general, la siguiente composición química: 87,1 % de agua, 4,0% de grasa, 3,3 % de proteínas, 4,6 % de lactosa y 0,7 % de cenizas; es decir un 8,9 % de sólidos totales (Walstra *et al.*, 2005). Dependiendo del tipo de yogurt que se desee elaborar la cantidad de grasa en la leche utilizada como materia prima varía. Así se puede utilizar leche descremada, leche entera o leche semidescremada (Nauth, 2005).

La leche se encuentra formando una emulsión aceite/agua estabilizada por monoglicéridos, diglicéridos y fosfolípidos. La grasa láctea está conformada por triglicéridos, donde un 62,8 % se encuentran saturados, lo que la hace de alta aterogenicidad (Keating & Rodríguez, 1999). Entre las

proteínas lácteas se tienen las caseínas y las seroproteínas o proteínas del suero. Estas últimas se distinguen como α -lactoalbúminas, β -lactoglobulina y globulinas, poseen la característica de ser termosensibles y se encuentran disueltas en el suero. Por otro lado, las caseínas conforman las micelas suspendidas en el suero, poseen un punto isoeléctrico a pH de 4,6 y coagulan por acción de la renina (Belitz & Grosch, 1997). El carbohidrato de la leche se conoce como lactosa o D-gal- β -(1,4)-D-glucosa y es hidrolizado en presencia de lactasa o β -galactopiranosidasas. Esta hidrólisis genera un aumento en la concentración de azúcares reductores que incrementa el dulzor de la leche y disminuye su vida útil por la aceleración de reacción de Maillard (Keating & Rodríguez, 1999).

Entre los requisitos indispensables para la utilización de una leche de vaca como materia prima para elaborar yogurt están el tener una baja acidez (pH entre 6,6 y 6,7 y una acidez de 0,16 % a 0,19 % ácido láctico), estar limpia, provenir de un animal sano, tener una microbiología adecuada, presentar un sabor y olor normal, no contener residuos de antibióticos, neutralizadores, detergentes ni bacteriófagos, y presentar una composición química normal (Özer, 2009; Yildiz, 2009).

4.2 Sólidos lácteos no grasos

El contenido de sólidos lácteos no grasos como proteínas, lactosa y minerales presentes en la mixtura del yogurt es de importancia para el desarrollo del cultivo lácteo y la obtención de las características deseadas en el producto final. Para aumentar su cantidad total en la mezcla se utilizan productos como leche en polvo descremada, suero en polvo o proteínas del suero, concentrado de suero lácteo, caseína en polvo y/o proteínas no lácteas (Nauth, 2005; Tamime & Robinson, 2004; Yildiz, 2009).

La más utilizada en la elaboración de yogurt es la leche en polvo descremada, la cual se obtiene luego del descremado y la eliminación del agua de la leche sin afectar la proporción de caseínas y suero de la leche entera. Se utiliza más que todo para ajustar el contenido proteico del yogurt por lo que debe presentar un contenido mínimo de 34 % m/m de material proteico en el extracto magro seco, un máximo de 1,5 % m/m de materia grasa láctea y un máximo de 5 % m/m de agua (Codex, 1999).

4.3 Cultivo lácteo

Cultivo iniciador

El cultivo lácteo iniciador debe estar compuesto por dos microorganismos que interactúan en una simbiosis, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subesp. bulgaricus*. El primero se distingue como una bacteria inmóvil, gram positiva, anaerobia aerotolerante, con forma esférica u ovalada, con un diámetro entre 0,7-0,9 μm , la cual crece de manera óptima a temperaturas entre los 40- 45 °C y pH entre los 5-7. Este microorganismo no crece a temperaturas menores o iguales a 10 °C ni mayores o iguales a 50 °C, y no resiste pH inferiores a 4,4. La segunda, es un bacilo inmóvil, gram positivo, anaerobio facultativo, con una longitud entre 1,0-6,0 μm , cuyo crecimiento óptimo se da a una temperatura entre los 40- 43 °C y un pH de 5-7, no tolerando valores de pH inferior a 3,8 (Chandan & Nauth, 2012 ; Sáenz, 1984; Ramírez, 2010).

La asociación de los dos microorganismos permite la disminución del tiempo de fermentación, al producir ácido láctico de manera más eficiente, y un mayor desarrollo del sabor, que si las dos bacterias se encontraran por separado. Para conseguir el crecimiento y completar el ciclo de vida, las bacterias requieren de energía, la cual la obtienen de la lactosa y del nitrógeno por medio de la proteólisis de la caseína. Durante el proceso metabólico del cultivo se da la producción de ácido benzoico en cantidades mayores a 50 ppm, el acetaldehído alcanza cerca de 40 ppm lo que le da el sabor diferente al del resto de leches fermentadas y se genera dióxido de carbono, péptidos y numerosos aminoácidos provenientes de la caseína (Özer, 2009; Chandan & Nauth, 2012).

La eficiencia del cultivo se basa en la sinergia de los dos microorganismos: mientras *Lactobacillus* se encarga de la proteólisis de la caseína por acción de las proteasas, lo que resulta en la liberación de pequeños péptidos y aminoácidos, como la valina; *Streptococcus* utiliza estos residuos y por medio de las peptidasas los hidroliza a purina, pirimidina, ácido oxaloacético, ácido fumárico, y dióxido de carbono y ácido fórmico necesarios para el crecimiento de *Lactobacillus*. Al iniciar la incubación, *Streptococcus* es el que crece rápidamente y elimina el exceso de oxígeno, sin embargo, en el momento en que la acidez aumenta en el medio por la producción de ácido láctico, su crecimiento disminuye y *Lactobacillus* al ser ácido tolerante, aumenta en cantidad (Özer, 2009; Chandan & Nauth, 2012).

Cultivo complementario (probiótico)

Otros microorganismos se combinan con el cultivo iniciador y se inoculan en la mezcla de yogurt para darle un valor agregado al producto al otorgarle beneficios en la salud del consumidor. Estos microorganismos se reconocen como probióticos, dentro de los cuales se encuentran las especies de *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus*) y *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium animalis* y *Bifidobacterium bifidum*) (Yildiz, 2009).

4.4 Ingredientes no lácteos

Estabilizante

Los estabilizantes son macromoléculas hidrosolubles conocidos como hidrocoloides, los cuales tienen la capacidad de absorber agua del medio y aumentar la viscosidad, en ciertos casos hasta formar un gel. Estos integran una red tridimensional enlazada por puentes de hidrógeno como consecuencia de la hidratación, lo que favorece la inmovilidad de los compuestos. De esta manera, son utilizados industrialmente para mejorar las características reológicas de los alimentos al impartir una mayor consistencia (Molina, 2009). En el caso particular del yogurt, los estabilizantes son utilizados para mantener la viscosidad y textura del yogurt, al estabilizar las proteínas moleculares y absorber el agua libre, es decir conservan el cuerpo del yogurt evitando la separación del suero del gel o efecto de sinéresis (Nauth, 2005; Özer, 2009).

Entre los estabilizantes más utilizados para la elaboración del yogurt están, gelatina, goma de algarrobo, garrofin, carregeninas, alginatos, agar pectinas, goma arábica, guar, xantan, tagacanto, karaya, celulosa y derivados carboximetil celulosa de sodio (CMC), almidones modificados o nativos, gelatina, colágeno, proteínas del suero lácteo (Molina, 2009). La cantidad de estabilizante agregado depende de la cantidad de sólidos totales presentes en la mezcla de yogurt y de las características finales que se le deseen impartir al producto (Nauth, 2005).

Comúnmente se utilizan mezclas de estabilizantes para conseguir las características sensoriales deseadas, además para evitar defectos que se originan por la adición de estos de manera individual. Con estas mezclas se busca lograr la estabilidad de las proteínas durante el tratamiento térmico, aumentar la homogeneidad de los ingredientes, modificar la textura, evitar la separación

del suero y reducir la cantidad de sólidos en la formulación al mismo tiempo que se imparten las mismas características del producto original (Molina, 2009; Nauth, 2005).

Agentes endulzantes

El dulzor del yogurt aromatizado es el producto de la adición de agentes endulzantes naturales o sustitutos del azúcar, que tienen como objetivo principal disminuir el sabor ácido en el yogurt. Normalmente estos se agregan de manera conjunta con la salsa de fruta preparada. Sin embargo, también se pueden adicionar de manera directa en la mezcla (Tamime & Robinson, 2004).

El yogurt aromatizado contiene un 20 % m/m de carbohidratos provenientes de residuos de azúcares de la leche como lactosa, galactosa y glucosa, azúcares naturales de la fruta (sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa) y el azúcar agregado durante el proceso del yogurt o en el procesamiento de la fruta (Tamime & Robinson, 2004).

La cantidad de agente endulzante que se agregue depende del agente utilizado, las preferencias del consumidor, el tipo de fruta que se utiliza, los aspectos legales, el costo y el posible efecto de inhibición que se tenga sobre el cultivo iniciador (Tamime & Robinson, 2004). Se dice que al utilizar una cantidad mayor al 5 % de azúcar en mezclas de yogurt de 16 % a 20 % de sólidos totales provoca la inhibición del microorganismo iniciador y por lo tanto una carencia del desarrollo del sabor generado durante la fermentación (Nauth, 2005).

Entre los agentes endulzantes más utilizados se tienen la sacarosa, sucralosa, sirope de maíz, azúcar invertido, fructosa, glucosa, sirope de glucosa y galactosa, sorbitol, xilitol, aspartame, acesulfame K, solos o combinados. El utilizar azúcar o sustitutos del azúcar dependerá del tipo de yogurt que se elabore, si se desea producir un yogurt light se hace uso de los edulcorantes (Nath, 2005; Tamime & Robinson, 2004).

Mezcla de fruta preparada

La adición de mezclas de frutas preparadas se puede dar utilizando fruta mezclada con agentes endulzantes o mezclas únicamente con fruta. Las más comúnmente utilizadas son las mezclas endulzadas, las cuales se adicionan al yogurt natural. La preparación de la mezcla de fruta depende del tipo de fruta con el que trabaje, debido a que la cantidad de carbohidratos naturales presentes en éstas, como lo son la sacarosa, fructosa, glucosa y maltosa, varía entre el 1,6 % (limón) al 65 % (pasas). La fruta más utilizada es la fresa que contiene un 6,2 % de carbohidratos.

Sin embargo el dulzor de cada fruta recae en el tipo y cantidad de azúcares que contenga (Tamime & Robinson, 2004).

La diferencia entre los sólidos solubles naturales de las frutas hace que para la preparación de ciertas mezclas se adicione más o menos azúcar. Sin embargo, todas las mezclas de frutas preparadas se llevan a una cantidad de sólidos solubles entre los 65 % y los 68 % mediante la adición de azúcar y la cocción. Es importante mencionar que durante este proceso se debe ajustar el pH entre 3,0 y 3,5 con ácido cítrico o ácido málico (Nauth, 2005).

La mezcla de fruta preparada comúnmente contiene sacarosa en forma sólida o en jarabe, jarabes de glucosa, fructosa o azúcar invertido, o miel. Los jarabes se utilizan en la elaboración de salsas de frutas de baja acidez o en procesos de cocción al vacío, ya que el utilizarlos con frutas de mayor acidez favorece la cristalización de la salsa (Broomfield, 1997; Víquez, 2009). El utilizar sacarosa confiere una mejor apariencia y color debido a que le da brillo a la salsa (Víquez, 2006).

Para el yogurt light se utilizan mezclas de frutas preparadas con edulcorantes artificiales que le propician al producto un bajo contenido calórico. Sin embargo, la textura de la mezcla de frutas se ve afectada, por lo que para mejorarla es necesario incluir agentes gelificantes a parte de la pectina, como alginatos, gomas, almidón modificado, carboximetilcelulosa o carragenatos (Vibhakara & Bawa, 2006; Alemán *et al.*, 2011; Acosta *et al.*, 2006).

Colorante, saborizante y preservantes

Para mejorar las características físicas y sensoriales del yogurt terminado, como color y sabor, se adicionan compuestos naturales o sintéticos, de acuerdo a lo estipulado en la Norma General de Aditivos (Codex, 1995). Los saborizantes se adicionan al yogurt luego de la fermentación con la finalidad de aumentar el sabor a fruta que se pierde durante el tratamiento térmico al que es sometida la mezcla de fruta, o simplemente para darle un sabor diferente y más agradable al yogurt terminado. El colorante se agrega en el mismo momento, y con el objetivo de darle una apariencia atractiva al producto, ya que durante el tratamiento térmico y la fermentación se da el blanqueamiento de la mezcla de yogurt (Tamime & Robinson, 2004).

Los preservantes usualmente se adicionan a las mezclas de fruta utilizadas para elaborar el yogurt aromatizado. El motivo de su adición es evitar el crecimiento de microorganismos indeseables que pudieron haber contaminado el yogurt luego de la fermentación. Las mezclas de frutas pueden contener levaduras como *Candida famata* y *Kluyweromyces*, las cuales pueden crecer a

temperaturas bajas y descomponer el yogurt. El conteo de mohos y levaduras para estas mezclas debe ser menor a 1 UFC/g (Özer, 2009).

La FAO/WHO permite en el yogurt el uso de preservantes como las sales del ácido sórbico y benzoico (de sodio, potasio y calcio) y el dióxido de sulfuro. Todos estos en cantidades finales no mayores a 50 ppm en el producto terminado, en forma combinada o individual. Las sales del ácido sórbico presentan un mejor efecto micostático a valores de pH iguales o inferiores a 6,5. Sin embargo, el sorbato de potasio no solo causa este efecto, sino que desacelera el efecto metabólico del cultivo iniciador del yogurt, prolongando la fermentación (Özer, 2009).

También se pueden utilizar preservantes no sintéticos como nisina y natamicina, los cuales presentan un efecto antibacterial y son muy efectivos contra mohos y levaduras. El primero tiene la limitante de que el cultivo iniciador del yogurt es sensible a éste, mientras que el segundo no es permitido legalmente en algunos países (Özer, 2009).

5. *Proceso de elaboración del yogurt líquido aromatizado*

El proceso general de producción de yogurt líquido consiste básicamente en una serie de operaciones unitarias tales como descremado, estandarización, homogenización, pasteurización, inoculación, fermentación, batido, enfriamiento, empaque y almacenamiento (Nauth, 2005). La secuencia de algunas de las operaciones como las características de cada operación varían de acuerdo a las propiedades físico-químicas que se le deseen impartir al producto final.

5.1 *Estandarización*

La operación de estandarización consiste en ajustar la cantidad de grasa láctea de la leche que se va a utilizar en la elaboración del yogurt. Para lograr esto se puede separar de manera mecánica una parte de la cantidad total de grasa de la leche, adicionar grasa a leche descremada, parcialmente descremada o entera, mezclar leche entera con leche descremada, o bien utilizar una combinación de estos métodos. La cantidad de grasa final en la leche dependerá del tipo de yogurt que se produzca, ya sea entero, reducido en grasa, libre de grasa o descremado, por lo que puede variar de 0,1 % a 10 % (Özer, 2009).

En esta etapa también se ajusta la cantidad de sólidos no grasos (lactosa, proteína y minerales) presentes en la leche a valores entre los 8,2 y 8,6 %. Para lo cual se puede concentrar la mezcla

láctea o agregar leche en polvo descremada, suero en polvo o proteínas del suero, concentrado de suero lácteo, caseína en polvo y/o proteínas no lácteas (Nauth, 2005; Tamime & Robinson, 2004).

La adición de la grasa y de los sólidos no grasos se realiza mediante la agitación constante de la leche a 50 °C hasta alcanzar una cantidad final de sólidos totales entre el 10 % y el 12 % (Ramesh *et al.*, 2012). El ajustar los sólidos totales en la leche se realiza no solo con la finalidad de estandarizar el producto sino también para darle una mejor consistencia y mayor viscosidad al producto. Además, el aumentar la cantidad de sólidos no grasos optimizan el tiempo de fermentación por parte del cultivo iniciador (Tamime & Robinson, 2004).

5.2 Homogenización- pasteurización

La operación de pasteurización se lleva a cabo en conjunto con la homogenización, de forma tal, que se dé un precalentamiento de la mezcla antes de ingresar al homogeneizador para lograr una mayor eficiencia del proceso y así conseguir estabilidad, consistencia y cuerpo en el yogurt (Yildiz, 2009; Özer, 2009).

La mezcla láctea se debe someter a un tratamiento mecánico conocido como homogeneización, el cual consiste en hacerla pasar por pequeños orificios a altas presiones, provocando la disminución del tamaño de los glóbulos de grasa, de un diámetro entre 2,0 µm y 20,0 µm (en leche cruda) a tamaños entre los 0,1 µm y 3µm (Plotka & Clark, 2004; Nauth, 2005). Este tratamiento evita la coalescencia o separación de fases, aumenta la interacción de las proteínas y genera una emulsión homogénea y estable (Özer, 2009).

La homogenización se lleva a cabo en dos etapas, la primera a una presión de 10 a 20 MPa y la segunda a 3,5 MPa (Nauth, 2005). En la primera etapa se da la disminución del tamaño de los glóbulos de la grasa, mientras que en la segunda se da la separación de los mismos. La temperatura óptima a la cual se realiza el tratamiento es de 65 a 70 °C, donde se asegure el estado líquido de la grasa que favorezca el proceso de ruptura de los glóbulos (Özer, 2009).

La pasteurización de la mezcla consiste en el calentamiento a 65 °C por 30 min o a 72 °C por 15 s, donde se asegura la eliminación de microorganismos patógenos y se inactivan algunas de las enzimas endógenas. También existe la alta pasteurización donde se calienta la mezcla a 95 °C por 5 min, para lograr aparte de lo conseguido en la pasteurización, la eliminación de las células vegetativas con la modificación de las proteínas del suero (Tamime & Robinson, 2004). El someter la mezcla a este tratamiento térmico favorece, en primera instancia, a la obtención de un

producto inocuo y a la creación de un ambiente adecuado para el inóculo, el cual se encuentre libre de competencia. También contribuye a aumentar la capacidad de retención de agua y la viscosidad del yogurt, por medio de la desnaturalización de las seroproteínas, especialmente las β -lactoglobulinas, en un 99 %. La formación adecuada de un gel que favorezca la consistencia final del producto depende del porcentaje de desnaturalización de estas proteínas (Özer, 2009).

5.3 Fermentación

Para conseguir la fermentación, la mezcla pasteurizada y homogeneizada es inoculada con el cultivo iniciador, en cantidades que van de los 0,5 % a al 6 %, dependiendo del tipo de yogurt que se desee producir (Ramesh *et al.*, 2012). Tanto en la inoculación como el proceso de fermentación se debe mantener la temperatura de la mezcla entre 40 °C y 45 °C, valor que se describe como óptimo para el crecimiento y desarrollo de las dos bacterias que conforman el cultivo iniciador.

En el momento en que se inocula la mezcla, se debe agitar suavemente para asegurar una distribución homogénea del cultivo. Luego de esto, la fermentación se lleva a cabo en absoluto reposo por un lapso de 4 h a 6 h, hasta alcanzar un pH de 4,7 ó 4,6 (Yildiz, 2009; Chandan & Nauth, 2012).

El proceso de fermentación inicia con el consumo de la lactosa por parte de las bacterias ácido-lácticas y la obtención de ácido láctico como producto principal debido a su actividad metabólica. La producción de este ácido provoca la reducción del pH del medio, lo que ocasiona la desestabilización del complejo formado entre las proteínas del suero y las micelas de caseína. Cuando el pH del medio alcanza el punto isoeléctrico de las β -caseínas (5,2-5,1) las micelas empiezan a agregarse e incrementa la viscosidad, comportamiento que se completa al alcanzar un pH de 4,6-4,7. Por último, se da la formación de un gel debido a la presencia de puentes tiol-disulfuro entre las proteínas α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina con la κ -caseína, el cual genera un aumento en la viscosidad y le otorga al producto la consistencia adecuada (Özer, 2009).

Esta operación es de suma importancia para el proceso de elaboración del yogurt debido a que en ésta se da la generación de la consistencia, aromas y sabores típicos. La consistencia del yogurt es impartida principalmente por la acción de *Streptococcus thermophilus* ya que consigue el descenso del pH a 5, mientras que *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus* lleva el yogurt a un pH de 4, generando durante el proceso el sabor y textura típica del yogurt (Yildiz, 2009). Ambos presentan una relación simbiótica logrando la fermentación en un menor tiempo, y obteniendo compuestos

como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido isovalérico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico y acetoína, además, de acetaldehído, acetona, butanona y etanol, y en algunos casos, diacetileno (Sáenz, 1984).

La cantidad de inóculo y temperatura de incubación influyen en el tiempo de fermentación y características del yogurt terminado. Si la cantidad de inóculo es baja o la temperatura no se mantiene en el nivel óptimo de crecimiento del microorganismo, el desarrollo de la acidez durante la fermentación resulta lenta y se da la formación de un gel débil propenso a la sinéresis (Özer, 2009).

5.4 Enfriamiento

El enfriar el yogurt luego de la fermentación es un método que se realiza para controlar al microorganismo y su actividad metabólica. Esta operación se realiza inmediatamente después de que se alcanza el pH y la acidez deseada, bajando la temperatura de 30-45 °C a 10 °C o menos, de manera que se inhíba al cultivo. La temperatura ideal para lograr el control de la fermentación es a 5 °C, sin embargo alrededor de los 10 °C se consigue la inhibición de las bacterias involucradas (Tamime & Robinson, 2004).

El enfriamiento del yogurt se puede realizar en una o dos fases. En una fase se lleva al yogurt recién fermentado antes de adicionarle la fruta, saborizantes y colorantes, y de envasar, a una temperatura menor a 10 °C, lo que resulta en un yogurt más viscoso. Mientras que en dos fases, primero se enfría el coágulo a 20 °C, luego se agrega el resto de aditivos, se empaca y por último se almacena a una temperatura menor a 10 °C. Para este último yogurt la viscosidad se mejora de 1 a 2 días en el almacenamiento (Tamime & Robinson, 2004).

5.5 Batido

Una vez que se obtiene la base del yogurt se da la ruptura del coágulo, por medio de la agitación para obtener la consistencia típica del yogurt batido o líquido, y se adiciona la fruta preparada. Generalmente se utiliza una salsa de fruta preparada, la cual se ha sometido a un proceso previo donde se asegure la ausencia de mohos y levaduras. El agregar fruta preparada permite el ajuste del nivel color y sabor, y la obtención de un producto final con apariencia y sabor uniforme (Özer, 2009).

La adición de la fruta al yogurt batido o líquido se puede realizar de dos formas. La primera se basa en la dosificación de base de yogurt y fruta en proporciones adecuadas y en la agitación

constante hasta alcanzar la distribución homogénea de la fruta en el yogurt. La segunda consiste en el bombeo de porciones de fruta y de base de yogurt a una cámara mezcladora, donde se da la agitación y el envío directo de la mezcla a la llenadora (Özer, 2009).

Para cualquiera de los dos tipos de mezclado es importante tomar en cuenta la velocidad de la agitación y la temperatura de la base del yogurt y de la fruta, debido a que éstas afectan la textura del producto terminado. Una agitación ineficiente no rompería el coágulo de manera adecuada y una agitación en exceso podría provocar problemas mecánicos en el yogurt. Por otro lado, si la base del yogurt se encuentra a temperaturas altas el yogurt terminado tendrá poca consistencia y una textura arenosa; así que una temperatura óptima para adicionar la fruta es al alcanzar los 10 °C o menos (Özer, 2009).

5.6 Empaque

Industrialmente el llenado y envasado del yogurt se realiza consecutivamente, de manera aséptica y automática. Las máquinas llenadoras que se utilizan tienen una capacidad de envasar que va desde las 5000 unidades por hora hasta las 70000 unidades por hora (Özer, 2009).

Para el envasado de yogurt comúnmente se utilizan envases preformados o termoformados de polipropileno (PP). Además se usan otros materiales como cartón, poliestireno (PS), polietileno (PE), y más recientemente polilactato (Özer, 2009).

5.7 Almacenamiento

El producto terminado se debe almacenar a temperaturas entre los 0 °C y los 10 °C, con un valor óptimo de refrigeración de 5 °C, con el objetivo de disminuir la degradación física, química y microbiológica (Yildiz, 2009). El mantener el yogurt a una adecuada temperatura de almacenamiento ayuda a disminuir la actividad metabólica del cultivo iniciador y la velocidad de las reacciones bioquímicas, y por ende evitar una reducción en la vida útil del producto. Además, se inhibe el crecimiento de posibles microorganismos, como mohos y levaduras, que pudieran recontaminar el producto y/o sobrevivir al tratamiento térmico y a la fermentación (Tamime & Robinson, 2004).

El almacenamiento del yogurt de 24 a 48 horas a bajas temperaturas antes de su venta y distribución es de importancia para el mejoramiento de las características físicas, ya que durante este tiempo y a estas temperaturas se da la hidratación y se estabilizan las caseínas, lo que mejora la textura del coágulo (Tamime & Robinson, 2004).

6. Post-acidificación y vida útil del yogurt

La post-acidificación en el yogurt es la tendencia que tiene el producto a acidificar durante su almacenamiento, distribución y venta, aún al encontrarse a temperaturas de refrigeración. La razón de esto, es la extensa actividad metabólica de las bacterias presentes en el cultivo, las cuales continúan metabolizando la lactosa a ácido láctico a temperaturas inferiores a 10 °C (Özer, 2010). Esto resulta en un problema importante, ya que el yogurt podría encontrarse muy ácido en el momento en el que es consumido (Walstra *et al.*, 2005).

Aunque el yogurt se enfría luego de la fermentación con la finalidad de inhibir el cultivo láctico iniciador, la producción de ácido continúa lentamente durante las etapas posteriores (Walstra *et al.*, 2005). Un aumento en la temperatura de almacenamiento, distribución y venta contribuiría a un incremento en la acidez del producto. Por lo que el control de la temperatura, a un valor aproximado de 4 °C, resulta clave para evitar un exceso de acidez en el yogurt (Özer & Avni, 2010).

El efecto de la post-acidificación del yogurt se ve relacionado con la vida útil del producto, la cual se puede establecer a partir de un cambio en algún atributo sensorial como el aumento de la intensidad de la acidez, o con la disminución de la flora microbiana viable de los cultivos probióticos y cultivo iniciador, u oxidación lipídica (MacBean, 2009).

La vida útil de cualquier producto se reconoce como la cantidad de días en que se conservan los atributos, ya sean físicos, químicos, microbiológicos o sensoriales, y a partir de ésta se dicta el tiempo en que éste no es apto para la venta y consumo. Los atributos relacionados con la vida útil de los productos lácteos fermentados son sinéresis, sabor, pH y apariencia evaluada por consumidores (Özer & Avni, 2010).

En el caso del yogurt, la vida útil según el Codex (2003) se establece en el momento en que el cultivo iniciador y probiótico de forma viable, abundante y activa, se encuentra en cantidades inferiores a 10^7 y 10^6 UFC/g, respectivamente. También, se toma en cuenta la cantidad de mohos y levaduras presentes en el producto, de tal forma que, en el momento en el que el yogurt contenga más de 100 UFC/g, su vida útil concluye (MEIC-MAG, 2009). Este último parámetro se relaciona con las buenas prácticas de manufactura durante la elaboración del alimento, donde según MacBean (2009) si el producto no se trata de una manera aséptica, incluyendo el llenado aséptico, ni se almacena a temperaturas menores a los 10 °C, la vida útil del yogurt no será mayor a dos semanas. Pero, si el yogurt se elabora de una manera ultrahigiénica con un llenado aséptico, el producto se conservará aproximadamente por 6 semanas.

La producción de ácido láctico durante el almacenamiento del yogurt no sólo afecta la composición química del producto terminado, sino que genera cambios en sus propiedades físicas, microbiológicas y principalmente cambios sensoriales que provocan el rechazo del producto (MacBean, 2009; Özer & Avni, 2010). Por tal motivo se establece un máximo de ácido láctico de 1,5 % (m/m) en el yogurt según el MEIC-MAG (2009), si se presenta un valor mayor, su vida útil se da por concluida.

Así, la acidificación descontrolada del yogurt luego de su producción no es recomendada debido a que acorta la vida útil. De tal manera que, se debe procurar un adecuado manejo del producto manteniendo la cadena de frío durante el almacenamiento, distribución y venta, logrando la preservación de las características propias del yogurt terminado durante el tiempo de vida útil estimado.

7. *Análisis sensorial*

La evaluación sensorial es utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a las características de los alimentos y materiales que son percibidos por los sentidos de vista, gusto, tacto, olfato y oído. En ésta se establece una relación cuantitativa entre las características del producto y la percepción humana (Coggins & Chamul, 2004). En función de la información que se desea obtener existen tres diferentes métodos utilizados: pruebas de discriminación, pruebas con consumidores y el análisis descriptivo. En el presente estudio se utilizaron únicamente la prueba de discriminación y la de consumidores.

7.1 Pruebas de diferenciación o discriminación

Las pruebas de discriminación o de diferenciación se aplican cuando existen pequeñas diferencias entre dos muestras, por lo que se utilizan para conocer si dos productos son percibidos como similares o diferentes, como por ejemplo, en el caso de que exista una variante en alguno de sus ingredientes. Entre estas pruebas se encuentran: escogencia forzada alternativa o n-AFC (2-AFC y 3-AFC), dúo trío y triángulo (Stone & Sidel, 2004).

Estas pruebas no dan información sobre el agrado del consumidor, sino que únicamente determinan si se percibe la diferencia entre dos productos, por lo que su resultado depende de la sensibilidad de las personas. La industria utiliza estas pruebas para el desarrollo de productos, especificación de ingredientes, estudios de almacenamiento o vida útil, entre otros (O'Mahony & Rousseau, 2002).

Las pruebas nAFC consisten en la presentación “n” (dos o tres) muestras de manera simultánea y en su diferenciación al indicar el atributo que las hace distintas (Stone & Sidel, 2004; O’ Mahony, 1995). Estas aluden al atributo de diferenciación por lo que utilizan un criterio de límite, resultando más fácil de identificar, el cual se escoge por intensidad (Stone & Sidel, 2004; O’ Mahony, 1995).

Como estos métodos se basan en la escogencia forzada de alguna de las muestras existe cierta probabilidad de escoger la muestra correcta o de equivocarse por el azar. La estrategia de respuesta que utilice el panelista para responder de manera correcta ante las pruebas de discriminación debe depender únicamente de la información sensorial, de manera contraria se obtiene una respuesta sesgada (Stone & Sidel, 2004).

Para conocer si las respuestas de los jueces son el resultado del azar o si realmente se deben a la percepción de la diferencia se utilizan las tablas de Roessler et al. (1978), las cuales se basan el cálculo binomial para determinar el número de juicios realmente correctos y conocer el desempeño de los jueces (Angulo & O`Mahony, 2009).

7.2 Pruebas con consumidores

Los estudios con consumidores son pruebas afectivas relacionadas con aspectos como preferencia, agrado o aceptación de un producto, en donde se utiliza un panel no entrenado. Al estar implicado el afecto de los consumidores, las pruebas presentan carácter subjetivo. Es decir los hábitos del consumidor, el nivel social, el precio, la marca, el nombre, el empaque, la publicidad influyen en la preferencia, agrado y aceptación del producto (Alvarado, 1992; Helgesen *et al.*, 1997).

Estas pruebas se basan en el diagnóstico del grado de aceptación, preferencia en términos de calidad sensorial y en el reconocimiento de disconformidades en el producto por medio de la percepción sensorial de los potenciales consumidores (Alvarado, 1992). Por lo que generalmente se utilizan para el desarrollo de nuevos productos, mantenimiento de un producto, búsqueda de un mercado potencial, mejoramiento u optimización y disminución del costo de un producto (Stone & Sidel, 2004; Meilgaard *et al.*, 1987).

Las pruebas de aceptación tienen como objetivo determinar el grado de aceptación de un producto por parte de los consumidores mediante el uso de escalas categorizadas, pruebas de ordenamiento o pruebas de comparación pareada. En estas pruebas se evalúa la intensidad de

algunos atributos como alta, baja o “apenas ideal” con la escala justo correcto o apenas ideal, la cual únicamente se encuentra rotulada en los extremos y en el centro. Su análisis permite determinar los niveles óptimos de los atributos evaluados en el producto, de manera que se aplica para la reformulación u optimización (Lawless & Heymann, 1998).

Para evaluar el agrado o aceptación de los consumidores por un producto se utilizan escalas, como la escala hedónica de nueve puntos, escalas lineales no estructurales y escalas de estimación de magnitud afectiva (LAM) (Lawless & Heymann, 1999). La escala hedónica de nueve puntos es la más utilizada en estudios con consumidores.

La escala hedónica se basa en la suposición de que las preferencias del consumidor existen en un “continuum” por lo que se pueden categorizar en respuestas fundamentadas en gustos y disgustos. Esta utiliza nueve frases dispuestas con distancias psicológicas iguales que posteriormente se transforman en números para ser analizadas, o bien tres frases dispuestas a lo largo de la línea, dos en los extremos “me gusta extremadamente” y “me disgusta extremadamente” y en el centro “ni me gusta ni me disgusta” (Lawless & Heymann, 1999).

Entre las desventajas que presenta la escala hedónica de nueve puntos está el número limitado de categorías de respuesta que hace que los panelistas tengan poca libertad para expresar sus percepciones sensoriales. Además, aunque los intervalos numéricos o distancias entre categorías sean iguales estos no se perciben de esta manera. Los errores al usar la escala por efectos numéricos y contextuales por parte de los consumidores son más propensos a ocurrir en esta escala (Villanueva *et al.*, 2005). El método de análisis estadístico aplicado a esta escala es paramétrico y se trata de una escala bipolar. La categoría del centro o neutral hace a la escala menos eficiente (Stone & Sidel, 2004; Lawless & Heymann, 1999).

Existe otro tipo de escala utilizada en pruebas con consumidores, la escala híbrida lineal, que consiste en la combinación de las escalas estructurada y no estructurada. Esta se encuentra anclada en el medio y en los extremos con frases afectivas y las porciones restantes son marcadas con puntos equidistantes, lo que la hace una escala mejor para definir el agrado y la orientación del “continuum” hedónico (Villanueva *et al.*, 2005).

La escala híbrida lineal presenta superioridad sobre la hedónica de nueve puntos en cuanto a que no es restringida a un número limitado de categorías, lo que permite al panelista utilizar cualquier parte de la escala al evaluar. Además, la híbrida lineal reduce el error psicológico de habituación

eliminando efectos numéricos y contextuales, y utiliza datos continuos que pueden ser analizados con la estadística paramétrica y no paramétrica (Villanueva *et al.*, 2005). Otro aspecto de la superioridad de la escala híbrida se relaciona con un mayor poder de discriminación y la adecuación de los datos a supuestos estadísticos de normalidad y homocedasticidad asociados a modelos ANDEVA (Villanueva *et al.*, 2005).

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Localización del proyecto

El presente proyecto de investigación se realizó en la planta procesadora de lácteos de la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L, ubicada en El Coyol, provincia de Alajuela.

La preparación, muestreo, almacenamiento y análisis químico del yogurt se realizaron en la empresa. Las pruebas químicas se realizaron específicamente en el Laboratorio de Química y siguiendo los procedimientos descritos en el apéndice H.

Para la realización del panel sensorial se trabajó en el área de Investigación y Desarrollo de la empresa, donde se realizó una prueba discriminatoria, la cual se describe en el apéndice B. Posteriormente, la prueba con consumidores se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis Sensorial de la Escuela de Tecnología de Alimentos de Universidad de Costa Rica, Sede Rodrigo Facio, San Pedro Montes de Oca.

2. Muestra

El producto evaluado fue el yogurt líquido de fresa marca Dos Pinos, en la presentación de 200 mL. En su etiqueta se reporta un contenido total de grasa de 6,5 g, 30 g de carbohidratos, 6,5 g (14 %) de proteína y 223 mg (27 %) de calcio. Además contiene probióticos como *L.casei* y *L. acidophilus*.

Para llevar a cabo la metodología propuesta se facilitó el yogurt de los lotes producidos por la empresa. La formulación y el proceso de elaboración del yogurt se realizaron entonces según lo estipulado por la empresa, aspectos que no se describen por razones de confidencialidad.

3. Pruebas preliminares

3.1 Cambio de la acidez en el yogurt a través del tiempo de almacenamiento a 6 °C

Se evaluó el comportamiento del yogurt líquido a través del tiempo de almacenamiento a una temperatura de 6 °C. Para esto se tomaron 36 muestras de yogurt terminado de un mismo lote inmediatamente después de su producción, y se almacenaron en una cámara de refrigeración a una temperatura controlada de 6 °C. A partir del día cero de almacenamiento y hasta el día 45, cada tres a cinco días, se tomaron tres envases de yogurt y se enviaron al Laboratorio de Química de la empresa, donde se les determinó el porcentaje de ácido láctico, pH, sólidos totales y sólidos solubles. Es decir, se tomaron 12 puntos de muestreo durante 45 días de almacenamiento en refrigeración a 6 °C. Este ensayo se realizó para dos lotes diferentes de yogurt. La frecuencia de muestreo se basó en que en cinco días de almacenamiento, a estas condiciones indicadas, no se observaron cambios en la acidez del yogurt en los datos de control de calidad de los registros de la empresa.

Paralelamente a esto, se almacenó la base del yogurt sin fresa luego de la operación de enfriamiento. Además se utilizó el mismo lote de yogurt, es decir, las muestras de yogurt con fresa provenían del mismo lote que las muestras del yogurt sin fresa, por lo que la única variante entre estos dos tratamientos fue la fruta. Este proceso se realizó únicamente para el primer lote con el objetivo de determinar si existían variaciones en las propiedades del yogurt por la adición de la fruta.

Se muestrearon del tanque de envasado 36 unidades de yogurt en bolsas plásticas estériles y se almacenaron en una caja de estereofón, la cual se ubicó en la misma cámara de refrigeración utilizada anteriormente. Las pruebas realizadas fueron las mismas que las anteriores y se aplicaron al mismo tiempo. Al observar los resultados de la primera corrida se determinó que el yogurt terminado con fresa no varía con relación al yogurt sin fresa en cuanto a pH, sólidos solubles, sólidos totales y porcentaje de acidez.

Con los datos de cada una de las propiedades químicas de los dos lotes de yogurt terminado (acidez, pH, %SS y %ST) se calculó un promedio para los diferentes periodos de almacenamiento a 6 °C durante los 45 días de vida útil. Cada una de las propiedades químicas se graficó contra el tiempo de almacenamiento a 6 °C (ver apéndice A). El comportamiento del porcentaje de acidez durante el almacenamiento se utilizó para planear la prueba de agrado del consumidor y el estudio del efecto de la temperatura sobre la acidez del yogurt.

3.2 Porcentaje mínimo de ácido láctico percibido como diferente (Prueba Discriminatoria 2 AFC)

Se realizó el método de estímulo constante utilizando una prueba de discriminación 2 AFC con muestras de yogurt con diferente cantidad de ácido láctico. Con esto se estableció la cantidad mínima de ácido láctico que generaba un cambio en la acidez percibida por el consumidor, y así se aseguró que las muestras que se iban a tomar en los diversos tiempos del almacenamiento pudieran ser captadas como diferentes por el consumidor durante el panel de agrado.

El método de estímulo constante es un técnica de comparación con una referencia constante, donde se presentan muestras con niveles por encima y por debajo del estándar (Lawless & Heymann, 2010). La prueba consistió en presentar cinco muestras de yogurt que se compararon contra un estándar, y que presentaban diferencias pequeñas de acidez respecto a este estándar, obteniéndose cinco pares que se evaluaron mediante la prueba 2AFC con el objetivo de determinar qué valor de acidez se percibía diferente respecto al estándar. Se utilizó la prueba 2 AFC debido a su mayor sensibilidad por su mayor potencia de prueba y porque se necesita un menor número de panelistas para obtener un error estadístico pequeño (Angulo & O'Mahony, 2009).

Para realizar la prueba 2 AFC y presentar muestras de yogurt con diferente porcentaje de acidez en un mismo momento, se fermentó el yogurt de manera acelerada utilizando una temperatura de 40 a 42 °C. Para conseguir el tiempo correcto de fermentación acelerada para la obtención de las diferentes muestras y el equipo adecuado que brindara una temperatura estable se debió realizar una serie de curvas de porcentaje de ácido láctico de acuerdo al tiempo de calentamiento, como se describe a continuación.

En primera instancia se escogió el equipo que se ajustara de la mejor forma al estudio en cuanto a capacidad y estabilidad de la temperatura. Para ello se realizaron pruebas en un baño de agua caliente y en la estufa de aire caliente. Al finalizar, el método de calentamiento de las muestras consistió en llevar las muestras a 42 °C con ayuda del baño de agua caliente y luego trasladarlas a la estufa donde permanecían a temperatura constante por diferente tiempo.

Para escoger los tiempos de muestreo del yogurt en la estufa a 42 °C, primero se obtuvo la muestra más ácida o la que presentaba igual porcentaje de acidez al yogurt con 45 días de almacenamiento a 6 °C, que resultó a las 72 horas. Una vez que se conoció este tiempo se realizó un nuevo ensayo donde se retiraba el yogurt de la estufa cada 4 horas a partir del tiempo cero

hasta completar las 12 horas de almacenamiento, es decir, en el tiempo 4 horas, 8 horas y 12 horas. Luego de completar las 12 horas, se retiraron las muestras a las 24 horas, 32 horas, 48 horas y 72 horas.

Todas las muestras obtenidas del almacenamiento a 42 °C se probaron de manera informal entre tres personas y se eligieron las que fácilmente se podían confundir en cuanto a acidez percibida, las muestras muy fáciles de diferenciar se descartaron. Con esto se escogieron los 5 pares que se le presentarían a los panelistas para la prueba 2AFC: 0h vs 4h; 0h vs 8h; 0h vs 12 h; 0h vs 24 h y 0h vs 32 h de almacenamiento a 42 °C.

Las muestras obtenidas luego del almacenamiento a 48 horas y 72 horas a 42 °C (con la mayor acidez) no se incluyeron en ésta prueba ya que presentaban grandes diferencias de acidez con respecto a la muestra con 0 horas de almacenamiento o muestra de estímulo constante. Se escogieron muestras de yogurt hasta las 32 horas de almacenamiento debido a que se buscaban pequeñas diferencias que fueran fácilmente confundibles, para con esto determinar la diferencia mínima de ácido láctico percibido como diferente por el consumidor.

La preparación de las muestras para la prueba de 2AFC consistió en el almacenamiento de una parte de las muestras recién producidas o una vez envasadas en la cámara de refrigeración a 6 °C, las cuales se nombraron como “muestras A o estímulo constante”. Las demás se calentaron hasta 42 °C y se colocaron en la estufa hasta las 32 h, muestreando a las 4, 8, 12, 24 y 32 h (muestras B, C, D, E y F respectivamente). En cada muestreo se retiraban las muestras de la estufa y se almacenaban a 6 °C aproximadamente hasta el día del panel sensorial. Una vez que se obtuvieron las 5 muestras acidificadas de manera acelerada se enviaron 2 réplicas de cada muestra al laboratorio de química de la empresa, donde se les determinó la acidez y el pH. Al mismo tiempo que se realizó el panel con 40 jueces no entrenados en la empresa.

Durante la prueba de discriminación, se le presentó a cada panelista 5 pares de muestras. En cada par se ubicaba la “muestra de estímulo constante” que correspondía a la muestra con cero horas de calentamiento y cualquiera de las otras cinco muestras acidificadas de manera acelerada. Las muestras se encontraban codificadas con tres dígitos, balanceadas y aleatorizadas. Se le pedía al juez que escogiera la muestra “más ácida” entre cada uno de los pares, además entre cada par debía enjuagarse con bastante agua.

Con los datos obtenidos del panel, se analizó la existencia de diferencias significativas en cada par por medio de las tablas propuestas por Roessler et al. (1978) y se calculó la diferencia mínima de

acidez que percibe el consumidor en el yogurt. El valor del porcentaje de acidez mínimo en el yogurt a partir del cual se percibió la diferencia se utilizó para establecer la frecuencia de muestreo durante la fermentación acelerada para realizar el panel de agrado.

3.3 Determinación del número de repeticiones

Para conocer el número de repeticiones o lotes que se debían evaluar en las pruebas experimentales se determinó la variabilidad existente entre los lotes de yogurt producido. Se recolectaron los datos de pH y sólidos totales de 289 lotes de yogurt envasado de los registros de Control de Calidad de la empresa, con los que se calculó la desviación estándar (σ) para cada parámetro.

Además, se calculó la diferencia entre el valor máximo y mínimo (Δ) de los tratamientos (r) o muestras utilizadas para la prueba de agrado. Con estos datos y aplicando una potencia del 90 % y un α del 5 %, de las tablas de Neter et al. (1996) se obtuvo el número de lotes que se debían evaluar en las pruebas experimentales (ver apéndice C).

4. Pruebas experimentales

4.1 Prueba de agrado del consumidor por la acidez del yogurt líquido de fresa

Preparación de las muestras

Se prepararon seis muestras de yogurt con diferente acidez, todas provenían del mismo lote y diferían únicamente en la cantidad de ácido láctico. Para preparar las muestras de yogurt con diferente acidez, se calentaron 133 envases de 200 mL en un baño de agua caliente a 42 °C, inmediatamente después del envasado.

Las muestras del baño se retiraron una vez que la muestra ubicada en el centro alcanzaba los 40 °C, para luego ser introducidas inmediatamente a la estufa de aire caliente a 42 °C, donde se mantuvieron a temperatura constante. Los diferentes valores de acidez se lograron retirando 19 envases de yogurt en los tiempos 7 h, 24 h, 32 h, 48 h y 72 h. Los tiempos de muestreo correspondían a valores de acidez que presentaban la diferencia mínima de acidez percibida por las personas (sección anterior) con base en la curva acelerada (cuadro D1).

La muestra control o fresca no fue sometida a ningún proceso de almacenamiento a 42 °C luego de su producción, sino que se almacenó a 6 °C hasta el día del panel. Este proceso de almacenamiento a 42 °C se debía realizar 4 días antes de realizar el panel con consumidores.

Panel sensorial

Para determinar el agrado del consumidor por el yogurt se realizó un panel de agrado con 100 consumidores de yogurt (39 hombres y 61 mujeres) con edades entre los 17 y 40 años. A éstos se les presentaron las seis muestras de yogurt con diferente acidez, las cuales debían calificar individualmente y de manera digital mediante el programa Fizz. Al juez se le presentó la escala híbrida lineal descrita por Villanueva et al. (2005).

Las muestras se encontraban codificadas con tres dígitos, balanceadas y acomodadas de manera aleatoria en una sola hilera en la bandeja. A cada panelista se le indicó que probara suficiente yogurt y que tomara dos sorbos emitiendo su calificación de agrado en la segunda toma de la misma muestra, y enjuagándose con suficiente agua entre la degustación de cada muestra. A éstos no se les mencionó que las muestras de yogurt diferían en acidez (Lawless & Heymann, 1999).

Al mismo tiempo que se realizaba el panel de agrado, dos réplicas de cada muestra se enviaron al laboratorio de química de la empresa, donde se les analizó la cantidad de ácido láctico, pH, sólidos solubles y sólidos totales. De esta manera se conoció la cantidad de ácido láctico de cada una de las seis muestras de yogurt.

Este ensayo se realizó únicamente con un lote de producto pues el proceso de acelerar la fermentación inicia con yogurt recién producido con un valor fijo de acidez, del cual se parte para obtener los valores de acidez en los tiempos escogidos a partir de la prueba preliminar (sección 3.2). Al partir de un lote con diferente acidez inicial se obtenían valores de acidez diferentes. Estas diferencias en los valores de acidez en el yogurt recién producido se observan en el cuadro F4 y G1 (apéndice F y G respectivamente).

Análisis de resultados

Con los datos de acidez y pH de las seis muestras de yogurt obtenidos del laboratorio se realizó un análisis de variancia (ANDEVA) utilizando un α del 5 %. Esto con la finalidad de determinar la existencia de diferencias significativas entre las muestras de yogurt presentadas al panel, en

cuanto a estas dos propiedades químicas. Si se encontraban diferencias significativas entre las muestras de yogurt para los dos atributos se realizó una comparación de medias por medio de Tukey para determinar entre cuáles muestras existían diferencias significativas.

Se realizó un análisis de conglomerados o “clusters”, utilizando distancias euclidianas y el método Ward, el cual generó dendogramas que mostraron la agrupación de los consumidores por similitudes en cuanto al agrado. Se reconoció la existencia de segmentos dentro del panel de consumidores debido a diferentes gustos y preferencias. El no analizar los datos por conglomerados podría llevar a un error en los resultados, pues el promedio de todos los segmentos posiblemente sea distinto al de los segmentos por separado (Sahmer *et al.*, 2005).

Al encontrar conglomerados se aplicó un análisis de variancia (ANDEVA) a cada uno de estos utilizando un α del 5 %, para determinar si los panelistas presentaban diferencias significativas en la aceptación por las muestras. Para cada “cluster” se determinó la correlación existente con la acidez, con la finalidad de reconocer si el agrado por cada muestra se relacionaba con la acidez percibida por el consumidor. También se realizó, con los datos de cada uno de los conglomerados, una comparación de medias de Fischer LSD, para determinar entre cuáles muestras existía diferencias significativas y entre cuáles no.

El diseño experimental de la prueba de agrado fue un modelo irrestricto aleatorio de un factor con seis niveles que corresponden a los diferentes porcentajes de acidez de las muestras de yogurt, el cual no presentó repeticiones de muestras.

4.2 Variación de la acidez en el yogurt de fresa durante el tiempo de almacenamiento a dos diferentes temperaturas

Para determinar la influencia de la temperatura de almacenamiento en la acidez del yogurt, se realizaron dos ensayos de manera simultánea y utilizando el mismo lote. El primero consistió en el almacenamiento a 6 °C, debido a que este valor corresponde a la temperatura superior recomendada por la empresa; y el segundo consistió en el almacenamiento a la temperatura real.

Para conseguir la temperatura real, se colocaron sensores de temperatura en una cámara de refrigeración de 4 supermercados diferentes ubicados en la provincia de Alajuela, donde se almacenaba el producto de interés. Estas cámaras tenían en común su diseño, el cual debía ser abierto o no presentar puerta. Se escogió este tipo de cámaras ya que se creyó que era donde iba a existir un mayor aumento en la temperatura de almacenamiento por la pérdida de frío. Los

sensores colocados en cada una de las cámaras se mantuvieron por siete días, registrando la temperatura interna de la misma con una frecuencia de 10 minutos.

Según las mediciones de los sensores colocados en las cuatro cámaras se obtuvo que todas alcanzaron valores superiores a los 6 °C. Esto se registró en gráficas de temperatura versus tiempo (ver apéndice E). Basándose en estas gráficas se escogió reproducir el escenario a 10 °C debido que se intentaba asemejar las condiciones drásticas que pueden ocurrir en el punto de venta y/o manejo del producto por parte del cliente.

Ambos ensayos se iniciaron el mismo día y concluyeron al día 45 de almacenamiento, para lo que se tomaron 48 envases de yogurt de un mismo lote, de las cuales se introdujeron 18 muestras en la cámara a 6 °C, 27 en la cámara a 10 °C y 3 fueron enviadas al laboratorio donde se les midió la cantidad de sólidos solubles, sólidos totales, pH y acidez, estas correspondían a las muestras del día cero de almacenamiento.

Se almacenó un mayor número de muestras a 10 °C porque se esperaba que el yogurt almacenado a esta temperatura se acidificara más rápido que a 6 °C, por lo que se debía muestrear con mayor frecuencia. Sin embargo, para lograr la comparación del efecto de la temperatura en la acidez del yogurt se escogió un muestreo a igual frecuencia para ambos almacenamientos.

El muestreo se realizó los días: 0, 6, 12, 20, 28, 35 y 45, a ambas temperaturas de almacenamiento, la cual se definió con base en los resultados obtenidos en la prueba preliminar (sección 3.1) y de manera que se pudiera observar diferencias importantes en la acidez a través del tiempo de almacenamiento a estas dos temperaturas. En cada muestreo se retiraron tres envases y se enviaron al laboratorio, donde se les determinó la cantidad de sólidos totales, sólidos solubles, pH y acidez. Este procedimiento se llevó a cabo para tres diferentes lotes de yogurt.

Análisis de resultados

Para observar el efecto de la temperatura de almacenamiento en la acidez de yogurt se elaboró a cada temperatura de almacenamiento una gráfica de acidez en función del tiempo de almacenamiento.

Además, se realizó un análisis de variancia (ANDEVA), con un 95 % de confianza, para los factores lote y temperatura. Se utilizó un diseño experimental irrestricto aleatorio de dos factores:

temperatura con 2 niveles (6 °C y 10 °C) y lote con 3 niveles (lote 1, 2 y 3), para dos variables respuesta: acidez y pH.

4.3 Factores que influyen en la post-acidificación del yogurt líquido de fresa

Se muestreó la materia prima, producto en proceso y yogurt terminado durante el proceso de elaboración y trasiego, según se describe en la figura 1. En cada uno de los puntos indicados en este diagrama se tomaron tres envases, y se realizó para dos lotes de yogurt. Se utilizaron únicamente dos lotes en esta sección debido a que el proceso de seguimiento del producto terminado resultó demasiado complejo y se dificultaba la obtención de muestras luego del envasado.

A las muestras de leche, producto en proceso y yogurt terminado se les determinó la cantidad de sólidos totales, sólidos solubles, acidez potenciométrica y pH. Mientras que a las muestras de fresa se les midió únicamente los sólidos solubles y el pH.

Las muestras correspondientes a la operación de distribución se tomaron luego del envasado y se almacenaron, en primera instancia, dentro de la planta en un cuarto frío a una temperatura de 6 °C por un tiempo de 2 días. Luego se enviaron a la ruta de distribución junto con el resto de yogurt. Se utilizaron dos rutas extensas como Turrialba y San Carlos, para observar si existía un cambio en la acidez por la larga permanencia del yogurt en el camión de distribución. Al terminar la ruta, se regresaron las muestras de yogurt a la planta para enviarlas al laboratorio y realizarles el análisis químico.

Las muestras correspondían a yogurt de un mismo lote, a excepción de las tomadas en los puntos de venta. En este punto se dificultó el seguimiento del lote, por lo que se muestreó yogurt de diferentes lotes y con periodos de estadía en el punto de venta aproximadamente entre 5 a 10 días. El producto muestreado debía tener este tiempo de estadía en la cámara de refrigeración del punto de venta para que se encontrara a la temperatura real a la cual es sometido durante el almacenamiento.

Análisis de resultados

Los datos se analizaron de la siguiente manera: se graficó cada una de las 2 variables respuesta (pH y ácido láctico) en función de la operación involucrada, para luego determinar la variación de cada una de éstas por medio de un análisis de varianza (ANDEVA) utilizando un α del 5 %.

Si se encontraban diferencias significativas, se realizó una comparación de medias con la prueba de Tukey para identificar las operaciones que generaron un cambio en mayor medida sobre la acidez del yogurt y relacionarlas con el valor obtenido en la prueba de agrado del consumidor para determinar en qué parte de la producción y trasiego del yogurt el producto se considera inaceptable por su acidez o se ve afectado en mayor grado la acidez.

Para esta prueba el diseño experimental utilizado fue un modelo irrestricto aleatorio de dos factores: lote con dos niveles (1 y 2) y operación con 9 niveles (leche, mezcla, inoculación, fermentado, enfriamiento, envasado, cuarentena, en el vehículo y punto de venta) para cuatro variables respuesta: acidez, pH, sólidos totales y sólidos solubles.

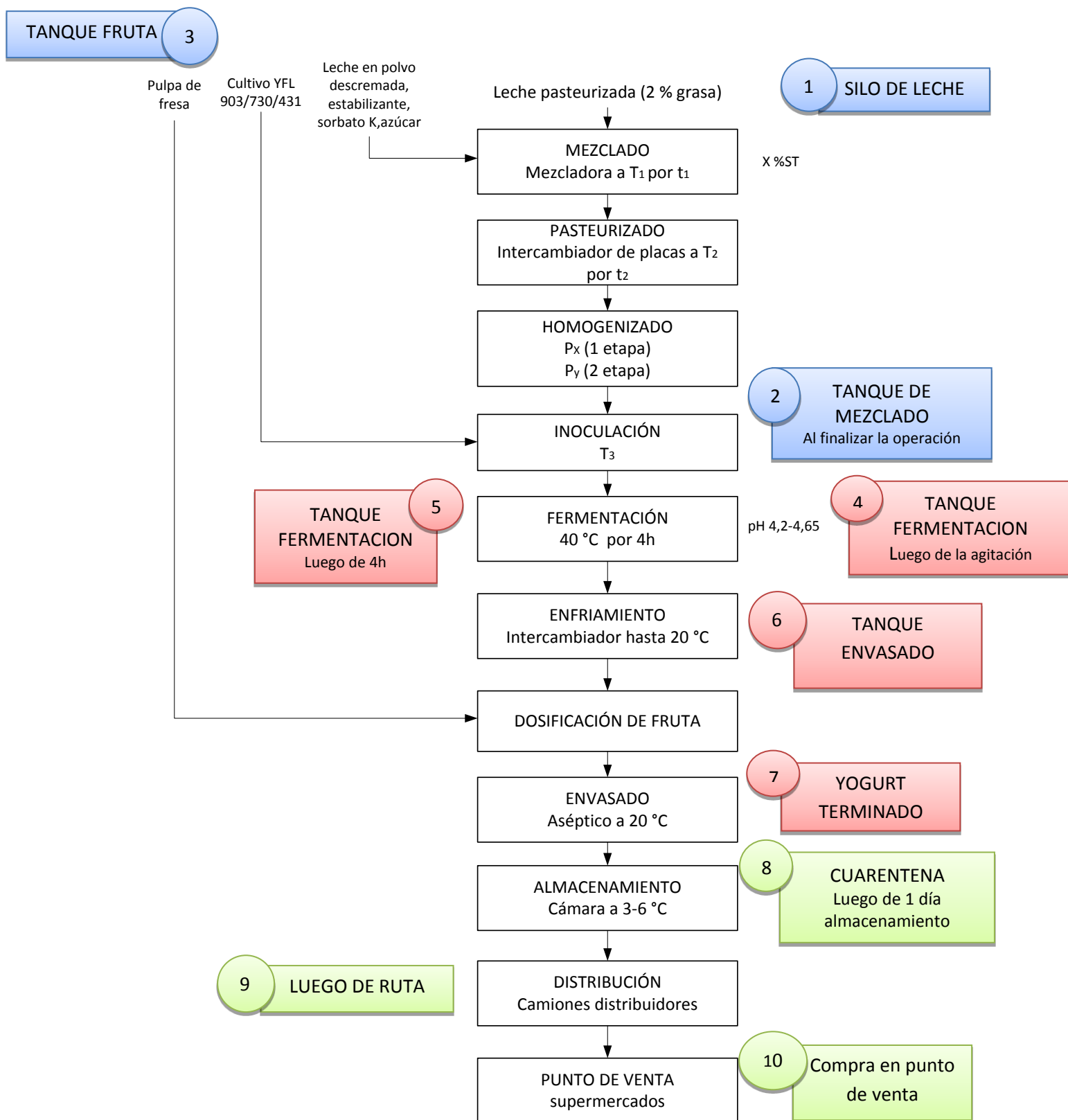


Figura 1. Puntos de muestreo durante el proceso de elaboración del yogurt de fresa y su trasiego

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Prueba de agrado del consumidor por la acidez del yogurt líquido de fresa

1.1 Estudio de la acidez y pH del yogurt durante 45 días a 6 °C

El comportamiento del yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días se ilustra en las figura 2. En ésta se observa un incremento en el porcentaje de ácido láctico el cual produjo la disminución en el pH, conforme aumenta el tiempo de almacenamiento. Las variaciones en el contenido de ácido láctico del yogurt resultaron más detalladas que los cambios de pH. Por lo que se consideró utilizar para este estudio, el contenido de ácido láctico para caracterizar los cambios en el tiempo de almacenamiento. Además, éste parámetro se relaciona estrechamente con las pruebas sensoriales, no así el valor de pH.

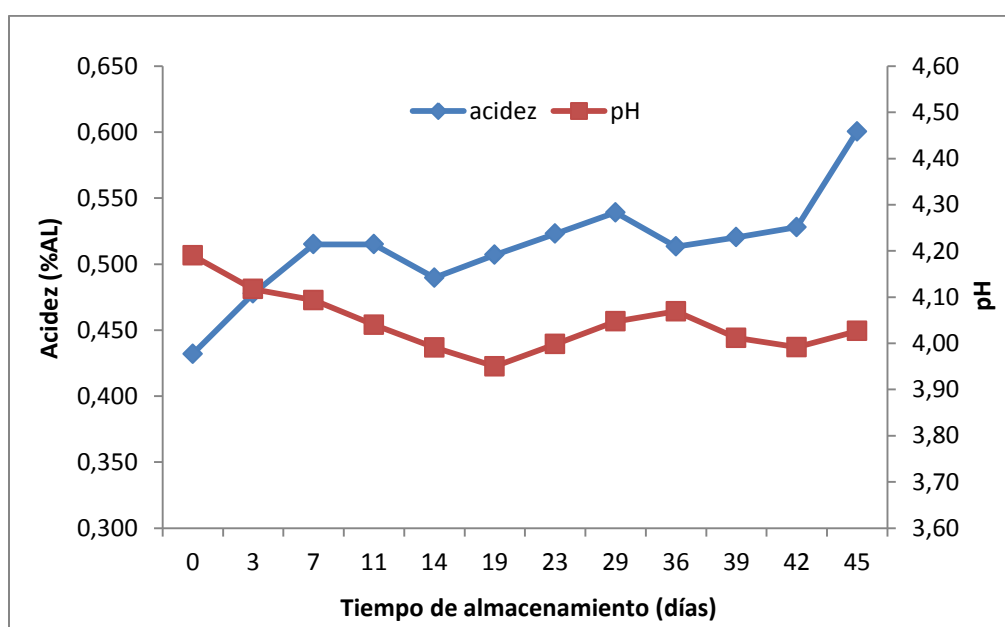


Figura 2. Acidez y pH promedio de dos lotes de yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días

Entre el día cero y 11 de almacenamiento a 6 °C, se observó un aumento en la acidez de 0,4 % AL hasta 0,5 % AL y una disminución en el pH de 4,20 a 4,00 (ver figura 2). Esto se debe a que en un inicio los microorganismos del cultivo láctico (*Lactobacillus delbrueckii subesp. bulgaricus*) continúan alimentándose con la lactosa presente en el medio y generando ácido láctico, aun

encontrándose a una temperatura menor a la ideal de fermentación (42 °C), sólo que de una manera más lenta (Özer, 2010).

Después del día 11, la acidez incrementó lentamente hasta alcanzar un valor de 0,6 % de AL y pH disminuyó hasta 4,0, en el día 45 (ver figura 2). Este comportamiento se debe a que los microorganismos del cultivo llegan a producir tal cantidad de ácido láctico que consiguen acidificar el medio a valores de pH cercanos a 3,9 y 3,8 donde se inhibe su crecimiento, por lo que el consumo de lactosa y velocidad de producción de ácido disminuye, y la acidez se comienza a mantener constante en el yogurt (Chandan & Nauth, 2012; Ramírez, 2010).

La inhibición del crecimiento celular de los microorganismos y de su metabolismo se da principalmente por la cantidad de ácido láctico que se concentra en el medio, el cual produce un aumento en la presión osmótica. Además, la presencia de subproductos de la fermentación tales como ácido fórmico, ácido acético y formato de sodio producen un efecto inhibitor en el microorganismo (Castillo *et al.*, 2013).

Un producto con una alta acidez puede limitar el crecimiento y/o disminuir la cantidad del cultivo iniciador a cantidades menores a las definidas por ley según el Codex (2003), resultando en una disminución de su vida útil. Así, luego del día 11 de almacenamiento se tuvo una alta acidez en el yogurt, por lo que el cultivo podría no encontrarse en las cantidades suficientes. De manera que se recomienda realizar un estudio de la viabilidad del cultivo iniciador durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días.

Es importante mencionar que durante el almacenamiento en refrigeración a 6 °C el único microorganismo fermentativo activo presente en el yogurt es *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* debido a las condiciones del medio. El producto se encuentra a un pH inferior a 4,4 y a una temperatura menor a 10 °C, condiciones no tolerables para *Streptococcus thermophilus* (Chandan & Nauth, 2012; Sáenz, 1984; Ramírez, 2010).

El porcentaje de acidez de la figura 2, se obtiene del promedio de dos lotes de yogurt líquido de fresa. De éstos se tiene que, sí se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en por lo menos alguna de las muestras de yogurt analizadas en los 45 días de almacenamiento, según se muestra en el Cuadro A2 (apéndice A). Por otro lado, se tiene que los lotes no presentaron diferencias muy marcadas entre ellos, según la desviación estándar calculada para los datos de calidad del yogurt envasado (apéndice C).

1.2 Elaboración de la curva acelerada de yogurt

El comportamiento de la acidez en el yogurt de fresa obtenido durante los 45 días de almacenamiento a 6 °C se emuló en un menor tiempo por medio del almacenamiento a 42 °C. Esto se realizó con el fin de obtener muestras con diferente acidez en un mismo momento y poder evaluar la aceptación por parte del consumidor en una única sesión. Las muestras que se iban a presentar debían simular la acidez obtenida en ciertos días durante los 45 días de almacenamiento a 6 °C y debían presentar una diferencia mínima de acidez entre ellas de 0,046 % de AL, según la prueba 2 AFC realizada (ver apéndice B).

Las muestras debían ser servidas al mismo tiempo y presentar diferente concentración de ácido láctico ya que lo que se buscaba era que el consumidor pudiera detectar la existencia de cierta diferencia entre éstas, como la intensidad de la acidez, las pudiera comparar y por último expresar su agrado o desagrado por cada una de ellas. La presentación de todas las muestras a la vez es aplicable en el momento en que el panelista prueba cada una de ellas y considera las calificaciones anteriores, realizando un juicio relativo basado en la comparación de las muestras, así se conoce cuál muestra es más gustada o si todas son igual de aceptadas (Lawless & Heymann, 2010).

El método de almacenamiento a 42 °C fue necesario aplicarlo debido a que el yogurt, al presentar viabilidad en cultivo fermentativo, continúa produciendo ácido láctico aún después de finalizar su procesamiento, inclusive a bajas temperaturas (Tamime & Robinson, 2004). Por lo que almacenar el producto a una temperatura menor a 6 °C luego de que se obtiene la acidez deseada para cada muestra, hasta obtener todas las muestras no resulta la mejor práctica ya que en realidad la acidez continuaría modificándose durante el almacenamiento hasta completar los 45 días. Además, se tardaría demasiado tiempo en recolectar todas las muestras, 45 días.

Por otra parte, congelar las muestras luego de obtener la acidez deseada durante la refrigeración para inactivar los microorganismos produciría un cambio en la textura del gel del yogurt, rompiéndolo durante el proceso de descongelación. El cambio en la textura del yogurt podría afectar el agrado a la hora de realizar el panel sensorial ya que la apariencia es uno de los principales criterios de aceptación que utilizan los consumidores para calificar el yogurt (Özer & Avni, 2010).

De acuerdo con la prueba de almacenamiento acelerado, la muestra con menor acidez que se le presentó a los consumidores era de aproximadamente 0,4 % AL, al igual que la muestra recién

producida o con cero días de almacenamiento. La muestra con 8 horas de almacenamiento a 42 °C presentaba una acidez similar a la que se obtuvo entre los días 3 y 5, la de 24 horas fue similar a la acidez que se presentó dentro de los 6 y 8 días, la de 32 horas emuló la acidez que hubo entre los días 15 y 20 días. Mientras que la muestra con 48 horas simuló la acidez que se dio a los 33 y 34 días, y la de 72 horas representó la muestra a los 45 días de almacenamiento.

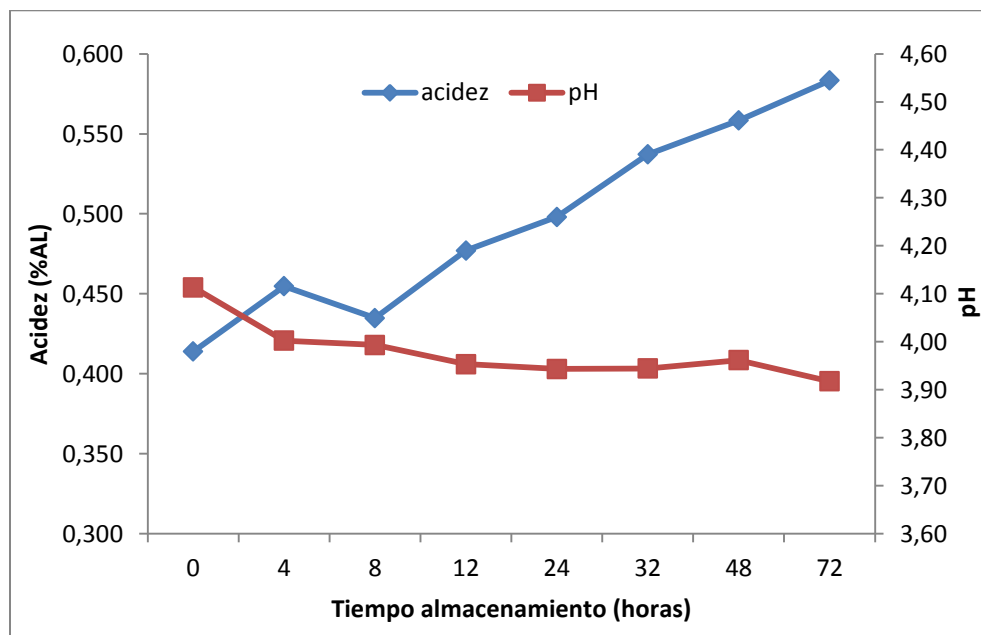


Figura 3. Acidez y pH promedio de tres lotes de yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 42 °C por 72 horas

La curva de acidez obtenida al acelerar la fermentación del yogurt se muestra en la figura 3, donde se puede apreciar como al inicio del proceso el yogurt presentó una acidez de 0,4 % AL y concluyó con una acidez de 0,6% AL. Para estas muestras se tiene que existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en cuanto a su acidez (ver Cuadro A2), lo que indicó que al menos una de las muestras fue diferente respecto a su contenido de ácido.

Es importante mencionar que ésta curva de acidificación parte de un yogurt con una acidez de 0,4 % AL, valor inicial que no se consiguió en algunos de los lotes utilizados en los ensayos realizados en el presente trabajo. Es decir, algunos de los lotes utilizados presentan grandes diferencias en la acidez inicial del yogurt recién envasado, como se puede observar en los cuadros A1 y F1.

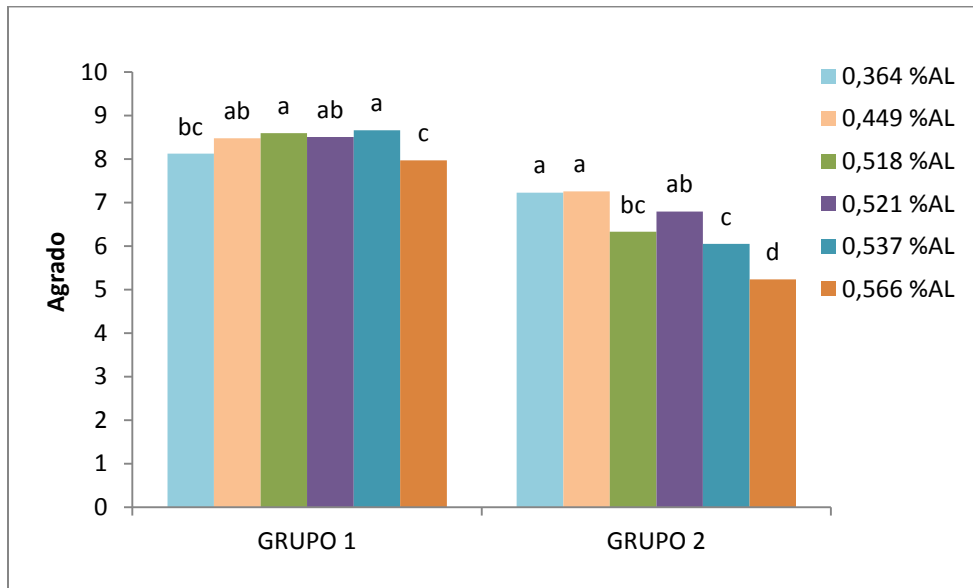
En cuanto al pH, se tiene que el yogurt inició el proceso de fermentación con un pH de 4,20, que se redujo a 4,00 y se mantuvo constante posiblemente por la inhibición del microorganismo, tal

como se indicó anteriormente. Con estos datos se puede decir que se logró emular en un menor tiempo, el comportamiento real de la acidez del yogurt durante los 45 días de almacenamiento a 6 °C.

1.3 Prueba de agrado por el yogurt

El grupo de consumidores fue segmentado en dos grupos o conglomerados “clusters”, donde la agrupación se basó en la uniformidad de criterios de preferencia (Bayarri *et al.*, 2011). El grupo 1 estaba conformado por un 40 % de la población y grupo 2 por un 60 %. Según Young *et al.* (2004) en la población de consumidores existen grupos de personas que presentan un patrón específico de preferencias sensoriales que se reflejan en las variaciones en la aceptación por el producto dentro del mercado. La formación de estos grupos se consigue medir gracias a la capacidad de la escala utilizada, la cual puede identificar o descubrir segmentos de consumidores con diferentes gustos y preferencias (Villanueva & Da Silva, 2009).

Los valores de agrado con los que los consumidores calificaron las diferentes muestras de yogurt se observan en la figura 4. Con la prueba de aceptación se reconocieron dos diferentes tipos de consumidor de yogurt líquido de fresa, el primero conformado por el 40 % de la población que no se vio afectado por los cambios de acidez, y el segundo por el 60 % que se vio afectado por el aumento en la acidez. En el primero se observa como los consumidores no presentaron diferencias significativas en los valores de agrado que asignaron a los yogurts con una acidez entre 0,449 % AL y 0,537 %AL ($p>0,05$). Además, la muestra más ácida fue la menos gustada por los panelistas del grupo uno, al igual que la muestra menos ácida. Por lo que se puede decir que las personas de este conglomerado prefirieron el yogurt con una acidez intermedia.



*Las letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras en cada grupo ($p < 0,05$).

Figura 4. Agrado de los consumidores por muestras de yogurt con diferente acidez, utilizando 100 jueces sin entrenamiento (grupo 1 con 40 % de consumidores y grupo 2 con 60 % de consumidores)

Por otro lado, se observa como en el conglomerado 2 se dio una mayor diferenciación entre las muestras de yogurt, además de puntuaciones menores en relación con el grupo uno, lo que indicó que este grupo fue más susceptible a la acidez que el primero. En este, existían diferencias significativas entre las muestras más ácidas (0,537 %AL y 0,566 %AL), y entre ellas en comparación con las demás. Además, las muestras menos ácidas presentaron mayor agrado por el consumidor y las más ácidas menor agrado, con cierto desagrado por la muestra con la mayor acidez (0,566 %AL). Estos consumidores posiblemente no mostraron preferencia por las muestras con 28 días o más de almacenamiento a 6 °C, pues en este día aproximadamente se consigue un aumento en la acidez a valores de 0,537 % (ver figura 1).

No se puede decir que existiera desagrado por alguna de las muestras de yogurt de acuerdo a su acidez o que un grupo mostrara mayor agrado por el yogurt en general que el otro, al darle calificaciones más altas. Esto debido a que el método de escala utilizado para la evaluación no tiene significado absoluto, sino que sus valores son únicamente índices convenientes de las intensidades relativas de agrado de las diferentes muestras. Con este método, lo que interesa es

medir qué tanto agrada el producto al consumidor, realizar una comparación y determinar si el agrado es estadísticamente significativo (Lawless & Heymann, 2010).

El agrado del consumidor por los yogurts menos ácidos se relaciona con el agrado por los productos lácteos más frescos. Según Bouteille (2013) menciona que los consumidores prefieren los yogurts y productos similares que desencadenan la mayor frescura, la cual se define como una disminución de la temperatura de la boca, percepción de una ligera acidez, ausencia de amargura, una baja intensidad relativa del sabor en general y una textura no espesa. Con esto se tiene que el descriptor ácido se correlaciona negativamente con la sensación de frescura, al igual que la astringencia, ya que los consumidores lo relacionan con la vida útil del yogurt.

Por otra parte, según un estudio del efecto de las diferencias sensoriales en la aceptación del consumidor por el yogurt y productos similares, donde se encontraron conglomerados, existe un grupo amplio de consumidores que muestran un mayor agrado por productos dulces que por los ácidos. Este estudio da a conocer como la población se segmenta en tres grupos, donde el de mayor tamaño está conformado por estos consumidores a los que no les agrada tanto los productos ácidos, seguido por los que no les afecta la acidez y por último, el grupo de menor tamaño, conformado por los que muestran mayor agrado por los productos ácidos (Bayarri *et al.*, 2011).

De esta manera, se tiene que un mayor porcentaje de la población prefirió un yogurt menos ácido porque existió una mayor influencia de la acidez que el dulzor en el agrado por este producto. Sabores muy ácidos influyen de manera negativa en el consumidor mientras que los muy dulces no afectan de gran manera el agrado (Vickers *et al.*, 2001; Bolling *et al.*, 2010). Además, se reconoce que a las personas jóvenes y adultas les agradan las concentraciones altas de azúcar o sabores dulces en los productos procesados como es el caso del yogurt con azúcar de sabor a fresa (Mojet *et al.*, 2005).

La formación de dos grupos con diferentes preferencias de acidez del yogurt de fresa tiene su explicación en que las personas basan su criterio de agrado en las experiencias y la dieta que acostumbran llevar (Lawless & Heymann, 2010). Es decir, la reacción afectiva por los diferentes sabores se ve afectada por la experiencia de las personas, como por ejemplo, la intensidad de acidez a la que ha sido expuesto con mayor frecuencia influye en la escogencia del agrado de la muestra de yogurt (Capaldi & Privitera, 2008).

La manera en que los consumidores perciben las muestras de yogurt e indican si les agrada o desagrada depende del atributo que tomen en cuenta para emitir su calificación. De tal modo, es importante conocer si los dos “clusters” de consumidores basan su calificación de agrado por las muestras en la acidez del yogurt o utilizan algún otro atributo. Para esto se obtiene la correlación existente entre la acidez y el agrado por el yogurt de fresa, una correlación positiva afirma que el agrado percibido por el consumidor está asociado con la acidez de las muestras, mientras que una correlación negativa asocia la influencia de otros atributos en la toma de decisión del consumidor al indicar su agrado.

Según se aprecia en el Cuadro D4 (apéndice D), existió una correlación positiva entre la acidez y el agrado mostrado por los consumidores en el “cluster” dos, no así en el “cluster” uno. Esto indica que los consumidores del grupo uno podrían estar empleando un criterio diferente al de acidez para determinar el agrado por el yogurt. Posiblemente a la hora de evaluar el yogurt utilicen atributos como consistencia, color, aroma y otros sabores que se pudieron desarrollar durante el tratamiento en la estufa a 42 °C y que pudieron haber sido percibidos como diferentes entre las muestras.

El tratamiento que se les dio a las muestras pretendía continuar la fermentación del yogurt para obtener diferentes valores de acidez, sin embargo al hablar de una fermentación el microorganismo no sólo genera ácido láctico sino que una serie de aldehídos que se traducen en sabores y olores, además en cambios de consistencia (Gürakanand & Altay, 2009; Castillo *et al.*, 2013). Por lo que estos cambios físico-químicos se dieron en todas las muestras que se sometieron al almacenamiento a 42 °C ya que experimentaron un proceso de fermentación que emula al real en el almacenamiento a 6 °C, y fueron los que probablemente influyeron en el agrado de los consumidores del grupo dos.

En síntesis, se puede decir que el agrado por el yogurt de fresa en un 40 % de la población no se vio afectado por las modificaciones de la acidez debido a que cambios en la intensidad de esta propiedad no generaron diferencias significativas en el agrado del consumidor; mientras que en el otro 60 % de la población se presentó una influencia de la acidez en el agrado por el yogurt, observándose una tendencia de disminución en el agrado conforme aumentó la acidez. Además, en este último grupo, se tiene que los consumidores basaron su criterio de agrado entorno a la acidez del yogurt, por lo que evaluaron las muestras de manera más exigente que el primer grupo, quienes posiblemente utilizaron otro criterio de evaluación.

2. Variación de la acidez en el yogurt de fresa durante el tiempo de almacenamiento a dos diferentes temperaturas

Al almacenar el yogurt a dos diferentes temperaturas, 6 °C y 10 °C, por un periodo de 45 días, se obtuvo una diferencia en la cantidad de ácido láctico y en el pH. El yogurt almacenado a 10 °C fue significativamente diferente, a lo largo del tiempo, ($p < 0,05$) al yogurt almacenado a 6 °C, según se muestra en el ANDEVA del Cuadro F3 (apéndice F). Esa diferencia también se puede apreciar en la figura 5 y 6, donde la curva del yogurt almacenado a 10 °C se encontró por encima de la del yogurt almacenado a 6 °C, indicando una mayor post-acidificación en un tiempo igual de almacenamiento.

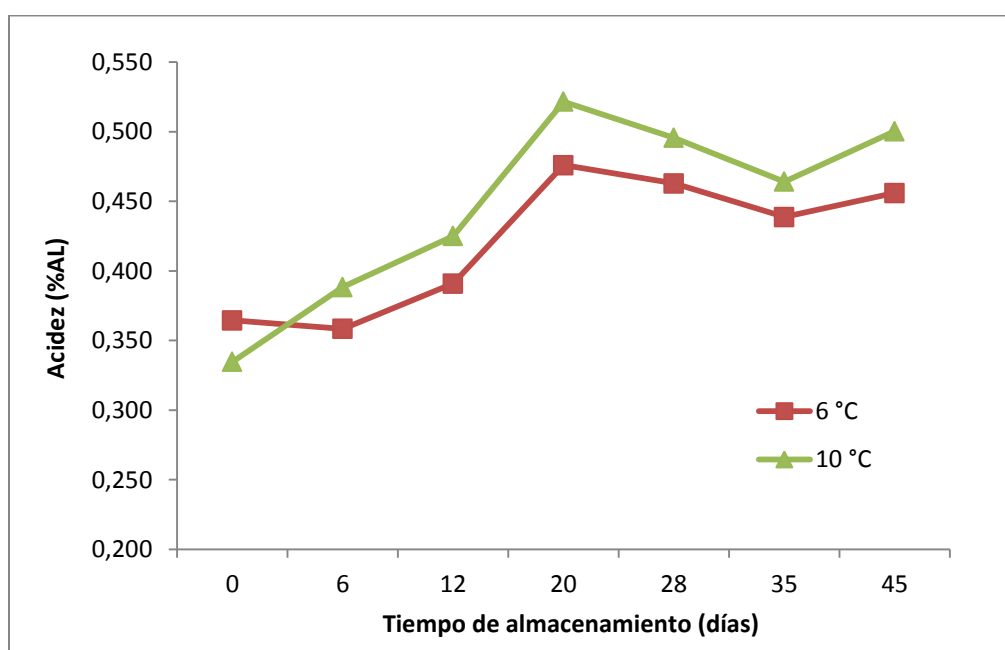


Figura 5. Efecto de la temperatura de almacenamiento en la acidez del yogurt líquido de fresa durante 45 días de almacenamiento

El aumento en la post-acidificación del yogurt almacenado a 10 °C con respecto al de 6 °C, fue producto de la diferencia en la actividad de los microorganismos experimentada en función de la temperatura, los cuales aumentaron o disminuyeron el metabolismo de producción de ácido láctico a partir de lactosa (Walstra *et al.*, 2005). Al incrementar la temperatura de almacenamiento aumentó el consumo de lactosa y por ende la producción de ácido láctico, la cual acidifica al producto terminado (Haque *et al.*, 2001). Así, el yogurt almacenado a 10 °C fue significativamente más ácido que el yogurt a 6 °C, en cualquier tiempo de almacenamiento.

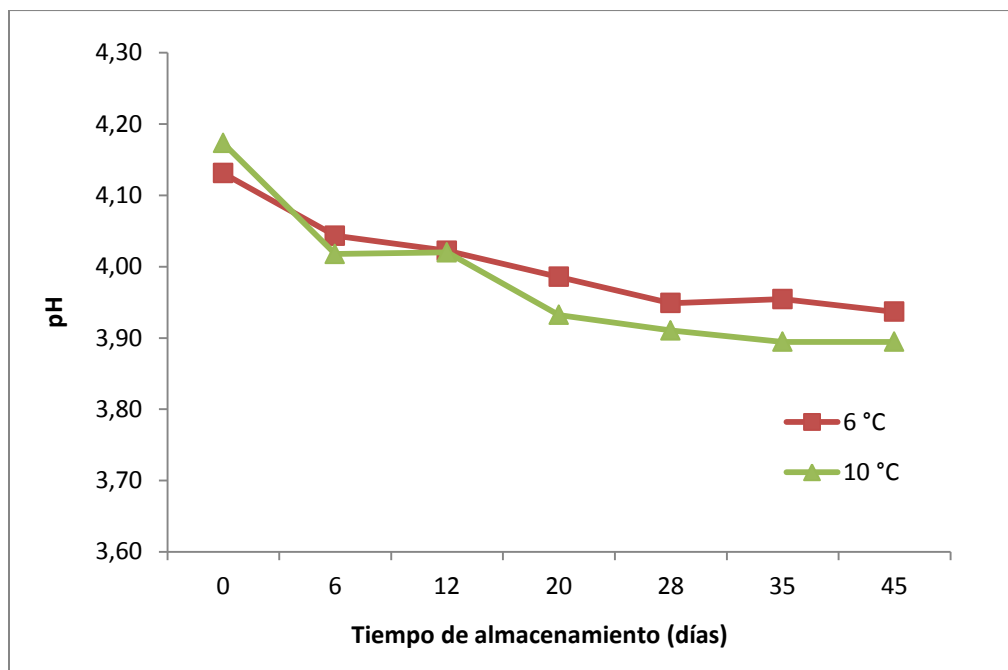


Figura 6. Efecto de la temperatura de almacenamiento en el pH del yogurt líquido de fresa durante 45 días de almacenamiento

La post-acidificación del yogurt durante el almacenamiento a temperaturas inferiores a 10 °C fue el resultado de la acción metabólica de *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus*, que se esperaba se encontrara viable en el producto terminado (Antunes *et al.*, 2005). Este microorganismo específicamente se encarga de producir ácido láctico luego de finalizada la fermentación, ya que es ácido tolerante, al igual que los probióticos. La interferencia de estos últimos en la acidificación es mínima, de manera que no contribuyen en el perfil de fermentación y únicamente son utilizados como aditivos alimentarios que otorgan propiedades funcionales al alimento (Walstra *et al.*, 2005; Yildiz, 2009). Los cambios en la acidez del yogurt afectan las propiedades químicas, físicas, microbiológicas y principalmente las sensoriales que pueden generar el rechazo por el producto y llegar a acortar la vida útil. La post-acidificación puede generar cambios en la intensidad de la acidez, disminución de cultivo iniciador y probiótico y oxidación lipídica (Mac Bean, 2009; Özer & Avni, 2010).

Con respecto al agrado del consumidor por el yogurt, el grupo compuesto por un 40 % de la población podría mostrar el mismo agrado entre el yogurt almacenado a 6 °C y el de 10 °C, sin verse alterada la vida útil, debido a que no presentaron un efecto de la acidez sobre el agrado por el yogurt. Mientras que el grupo compuesto por el 60 % podría percibir un menor agrado por el

yogurt almacenado a 10 °C que el de 6 °C, debido a que el aumento en la acidez influyó de manera negativa en el agrado por el producto.

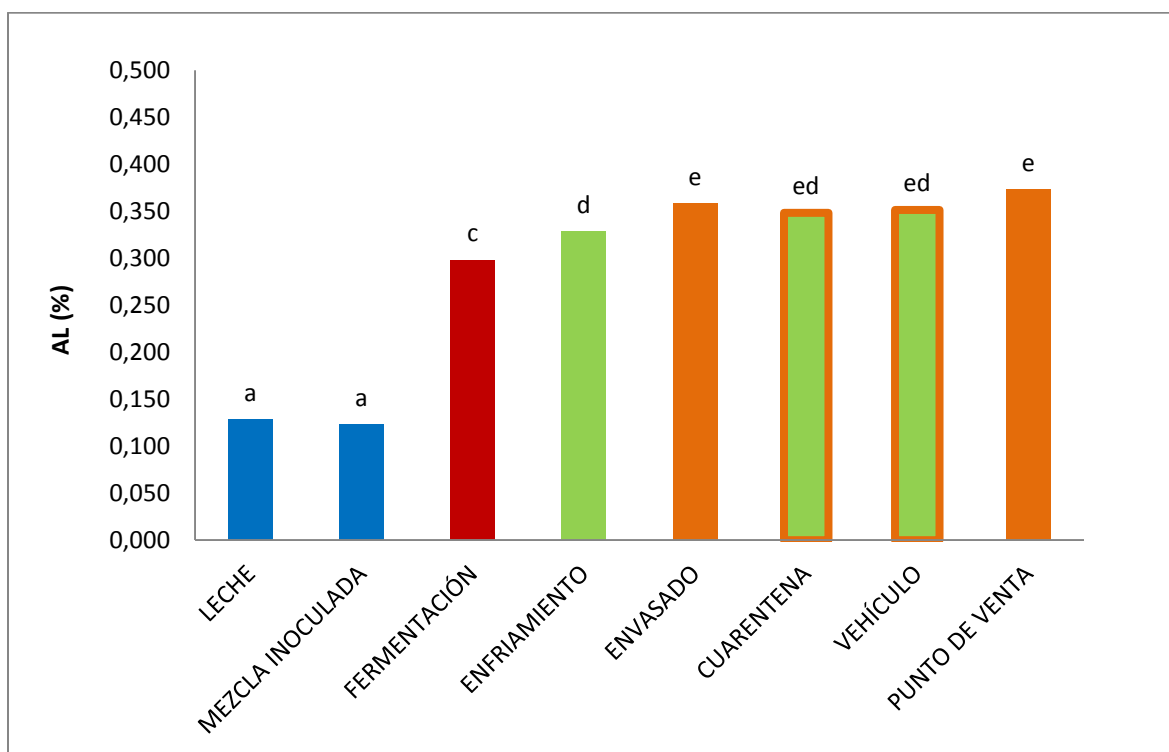
Como se mencionó anteriormente, el 60 % de los consumidores mostraron un rechazo por el yogurt con 28 días de almacenamiento a 6 °C. Este mismo grupo podría rechazar el yogurt almacenado a 10 °C antes del día 28 de almacenamiento ya que se acidificaría con mayor rapidez, alcanzando la acidez no deseada en un menor tiempo, al día 18 de almacenamiento (ver cuadro F4 del apéndice F).

También se encontró que no hubo diferencias significativas en la acidez de los tres lotes analizados durante el almacenamiento a las dos temperaturas ($p > 0,05$), ver Cuadro F3 (apéndice F). Esto indica que los datos de acidez del yogurt se vieron influenciados únicamente por el factor de temperatura de almacenamiento y no así, por el factor del lote.

De esta manera se tiene que el almacenamiento del yogurt a 10 °C resultó inapropiado al aumentar la post-acidificación y acortar la vida útil real de 28 días (6 °C) a 18 días, esto basándose en el agrado del 60 % de los consumidores por la acidez del producto.

3. Caracterización del proceso de elaboración de yogurt de fresa

Las operaciones unitarias de fermentación, enfriamiento y envasado generaron cambios significativos en la acidez del producto durante su proceso ($p < 0,05$) según el ANDEVA (cuadro G3, apéndice G). La figura 7 mostró que durante la cuarentena, distribución (vehículo) y punto de venta del yogurt no se observaron diferencias significativas en la acidez. Esto indica que la post-acidificación del yogurt se vio influenciada por el enfriamiento y envasado, y no así por las operaciones de trasiego.

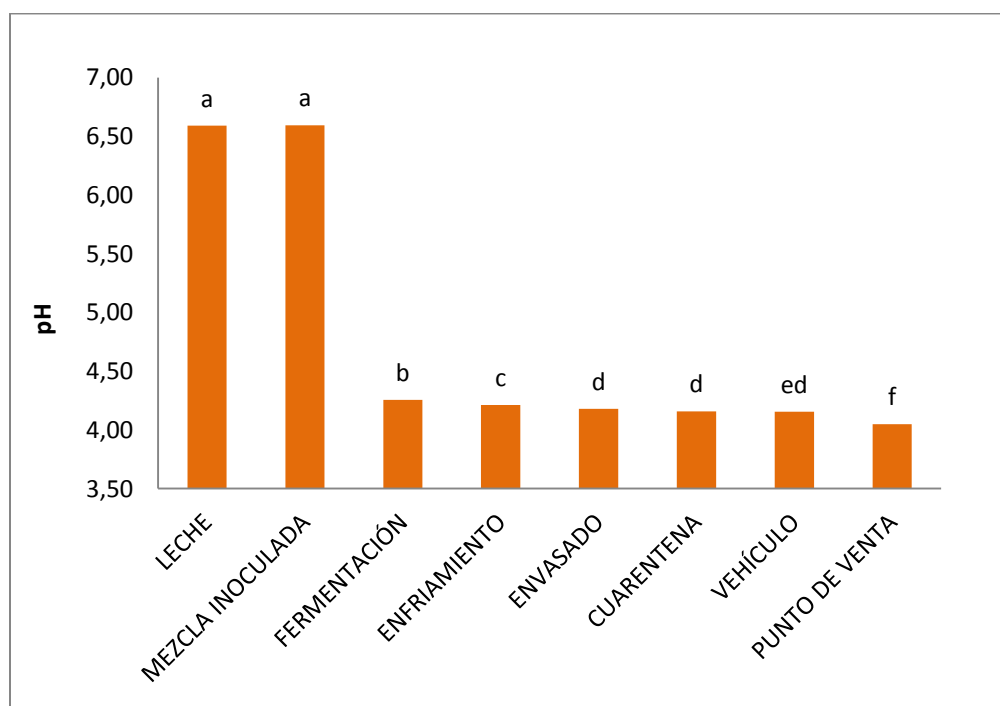


*Las letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras en cada grupo ($p < 0,05$).

Figura 7. Concentración del ácido láctico en cada operación del proceso de elaboración y trasiego del yogurt líquido de fresa

La leche utilizada para la elaboración del yogurt presentó una acidez de 0,12 % AL y un pH de 6,59 (ver figura 7 y 8), lo que resultó con las condiciones adecuadas que describen una leche fresca (Özer, 2010). Esta no mostró diferencias significativas en la acidez con respecto a la mezcla inoculada, la cual se encontraba a un pH de 7 y a una temperatura de 40 °C, resultando óptima para el inicio del proceso de fermentación.

Es de esperarse que durante la etapa de inoculación el cultivo aún no haya actuado sobre la mezcla a pesar de que se encontraba a la temperatura óptima de crecimiento debido a que es necesario el reposo por un tiempo prolongado en lo que se denomina periodo de latencia para que se dé posteriormente la etapa de crecimiento logarítmico, donde se da el consumo de lactosa para la producción de ácido láctico, la cual ocurre aproximadamente entre 4 y 5 horas. Es posible que durante la agitación de la mezcla, luego de agregar el cultivo lácteo, los microorganismos del cultivo iniciador se encontraran en la etapa de adaptación por lo que aún no se dio el consumo de lactosa y por ende el aumento en la acidez (Walstra *et al.*, 2005; Yildiz, 2009; Chandan & Nauth, 2012).



*Las letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras en cada grupo ($p < 0,05$).

Figura 8. Valores de pH en cada operación del proceso de elaboración y trasiego del yogurt líquido de fresa

Durante la operación de fermentación se esperaba un cambio significativo en la acidez debido a la transformación de la mezcla láctea a yogurt por medio de la activación del cultivo fermentativo al mantenerlo a 40 °C por 4 horas (ver figura 1, página 32). Según la figura 8, esto se consiguió al observarse una caída del pH de 6,2 a 4,2 durante la fermentación, además de un incremento significativo en la acidez (ver figura 7).

Usualmente la operación de enfriamiento se lleva a cabo por medio de un intercambiador de calor que funciona con ayuda de una bomba que actúa a 45000 L/h, que hace pasar en 30 minutos el yogurt del tanque de fermentación (a 40 °C) al intercambiador para luego recibirlo al tanque de envasado donde se mantiene a 20 °C. Como segunda opción y en caso de que el tanque de envasado se encuentre con algún otro producto o la fermentación del yogurt de fresa haya concluido y el tanque se encuentre en proceso de limpieza, se hace pasar agua fría por la chaqueta del tanque de fermentación hasta que el yogurt alcance una temperatura de 20 °C, lo que implica un mayor tiempo de operación. El principal objetivo de esta operación es inhibir el crecimiento del microorganismo fermentativo por medio del cambio de temperatura de 40 °C a 20 °C, para evitar así un exceso de ácido láctico, manteniendo a la vez el cultivo fermentativo viable y con la carga mínima de 10^7 UFC/g (Tamime & Robinson, 2004; Fadela *et al.*, 2009).

En el caso del yogurt analizado, el enfriamiento se realizó en el tanque de fermentación y con agua fría tardando 6 horas. Esto hizo que el yogurt al encontrarse en el tanque de fermentación a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo fermentativo continuara fermentando por un mayor tiempo, por lo que se dio la acidificación del yogurt y aumento significativo en la acidez entre la operación de fermentación y enfriamiento. Así, la post-acidificación en esta etapa se traduce en un problema del equipo utilizado durante el procesamiento, que debería evitarse por medio del uso del intercambiador de calor para lograr el enfriamiento del yogurt en un menor tiempo, de 30 minutos a 1 hora.

El envasado del yogurt se realizó luego del enfriamiento y de manera conjunta con la dosificación de la fruta. Se adicionó de un 3 % a 7 % de pulpa de fresa con un pH de 3,5 a 4,0, a cierta cantidad de yogurt, se mezcló y se vertió en el envase el cual se selló inmediatamente de manera aséptica. Todo este proceso se dio a una temperatura de 20 °C mientras el yogurt se encontraba en el tanque de envasado a esta misma temperatura.

Al observar un incremento significativo en la acidez del yogurt luego de la operación de envasado y conocer previamente que la adición de la fruta no influyó en este aumento (apéndice A), se tuvo que el yogurt se post-acidificó en el tanque de envasado debido al tiempo que se tardó en envasar. Este tanque mantuvo al yogurt a 20 °C por un tiempo de 15 horas mientras se envasaba todo el producto generando el aumento en la acidez. De tal forma, que esta operación resultó en un problema de proceso donde es necesario controlar los tiempos de envasado, acortándolos, y/o

enfriar más el yogurt para mantenerlo a una temperatura menor a 20 °C en el tanque de envasado.

El yogurt recién envasado presentó una acidez de 0,35 % AL, según se muestra en la figura 7, sin embargo éste porcentaje de ácido láctico no se consiguió para todos los lotes recién producidos utilizados en el presente trabajo, tal como se puede observar en los cuadros F4 y G1 (ver apéndice F y G). La causa de esta diferencia se debió a que la operación de fermentación concluyó a valores de pH distintos para algunos de los lotes utilizados, resultando en variaciones en la acidez inicial.

Establecer un valor de pH y no un rango (ver figura 1 página 35) que dé por terminada la operación de fermentación daría como resultado la obtención de lotes de yogurt con una acidez homogénea. Este valor de pH no debe ser menor a 4,6 para obtener un yogurt más fresco, con una acidez menor a 0,35 %AL. Al tener un yogurt más fresco antes del enfriamiento y envasado, se obtendría, aún después de la post-acidificación causada por estas operaciones, un producto terminado con una acidez adecuada para lograr una aceptación del producto por un mayor tiempo durante el almacenamiento a 6 °C.

Una vez que el yogurt fue envasado se trasladó al cuarto frío a 6 °C donde se mantuvo por un tiempo de cuarentena de un día mientras se realizaba el análisis microbiológico pertinente que aseguraba la inocuidad del alimento. Luego de este periodo se esperaba que la acidez del yogurt no se modificara ya que éste se encontraba a la temperatura ideal de almacenamiento donde el microorganismo se inhibe y no continúa acidificando. Esto se puede apreciar en la figura 7 (ver página 47), donde no se obtuvieron diferencias significativas en la acidez luego del envasado, entre el yogurt luego de la cuarentena, distribución y en el punto de venta.

De esta manera se tiene que, la operación de cuarentena y el trasiego no influyeron en el cambio de la acidez del producto terminado al almacenarlo a 6 °C y lograr mantener la cadena de frío, lo que permitió la conservación del alimento al mantener las características del producto recién producido, como por ejemplo la acidez.

Aunque las operaciones unitarias posteriores al envasado resultaron óptimas al evitar la post-acidificación del yogurt, el enfriamiento y el envasado provocaron un aumento no deseado en la acidez luego de la fermentación. Esta acidificación podría resultar en la disminución de la vida útil del alimento ya que el alimento alcanzaría la acidez no deseada por el 60 % de los consumidores (0,537 %AL) en un menor tiempo, provocando el rechazo del producto antes de alcanzar los 45 días de vida útil estipulados por la empresa.

Así se tiene que el control de las operaciones unitarias de enfriamiento y envasado durante el procesamiento del yogurt y el almacenamiento adecuado a 6 °C conseguiría un producto menos ácido, el cuál tardaría mayor tiempo en alcanzar la acidez donde el 60 % de los consumidores lo rechaza, prolongando su vida útil real de 28 días.

CONCLUSIONES

- Se identifica un grupo importante de consumidores (60%) que relaciona el agrado por yogurt con su acidez, mostrando menor agrado por los valores de acidez más altos (0,537 %AL y 0,566 %AL). En un proceso estándar partiendo de un pH 4,11 y una acidez de 0,36 %AL, a 6°C de almacenamiento, estos valores de acidez se alcanzan a los 28 días.
- Al 40 % de los consumidores no les afecta la acidez en su criterio de agrado por el yogurt, por lo que la vida útil estipulada por la empresa no se ve influenciada.
- Es necesario controlar la temperatura de almacenamiento del yogurt y mantenerla a 6 °C, pues ésta afecta la vida útil del yogurt. El almacenar el producto a una temperatura de 10 °C aumenta la post-acidificación y acorta la vida útil a 18 días, según el agrado del 60 % de los consumidores.
- El mantener el yogurt a temperaturas por encima de 10 °C por largos tiempos luego de la operación de fermentación, durante las operaciones de enfriamiento y envasado, aumenta la acidez del producto. Esto resulta en un proceso no deseado ya que la post-acidificación se ve favorecida y la vida útil del alimento se podría disminuir.

RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio sensorial donde se involucren otros factores, diferentes a la acidez, que puedan influir en el agrado del 40% de los consumidores a los que no les afectó la acidez en su criterio de agrado por el yogurt líquido de fresa.
- Realizar un estudio de la viabilidad del cultivo iniciador durante los 45 días de almacenamiento a 6 °C y a 10 °C, para conocer la disminución de la vida útil estipulada por la empresa al aumentar la temperatura de almacenamiento a 10 °C.
- Reducir el tiempo de la operación de enfriamiento (menor a 6 horas) por medio de la utilización del intercambiador de placas para evitar problemas de post-acidificación en el yogurt y/o enfriar el yogurt a temperaturas menores a 20 °C.
- Evaluar la post-acidificación del yogurt durante el almacenamiento a temperaturas entre los 6°C y los 10 °C, para conocer a partir de cuál temperatura hay un efecto significativo en el aumento de la acidez que genere cierto rechazo por el consumidor.
- Realizar un estudio de los tiempos máximos de envasado del producto y su influencia en la acidez del yogurt. De manera que se identifique el tiempo ideal que pueda tardar la operación de envasado y donde la acidez no se incremente de manera significativa.
- Disminuir la temperatura del yogurt durante el tiempo de estadía en el tanque de envasado (operación de envasado) idealmente a valores menores a 10 °C. Sin embargo es necesario realizar un estudio de la viabilidad de enfriar tanto el producto pues esto influye en el trasiego del producto al aumentar su viscosidad.
- Controlar la operación de fermentación para evitar diferencias en la acidez entre los lotes de yogurt al finalizar dicha operación. Se debe establecer un valor de pH final no menor a 4,6 para obtener un yogurt menos ácido (menor a 0,35 % AL) el cual no se vea afectado de gran manera por

la post-acidificación que se consigue durante las operaciones de enfriamiento y envasado, al mantenerlo por encima de 10 °C por largos tiempos, y donde la vida útil del alimento se podría disminuir.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGULO & O'MAHONY. 2009. Aplicación del modelo de Thurstone a las pruebas sensoriales. Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz. Méjico.
- ANTUNES, A; CAZETTO, T; BOLINI, H. 2005. Viability of probiotic micro-organisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. *International Journal of Dairy Technology* 58 (3): 169-173.
- ARES, G; GIMÉNEZ, A, GÁMBARO, A.2008.Understanding consumers' perception of conventional and functional yogurts using word association and hard laddering. *Food Quality and Preference* 19: 636–643
- BAYARRI, S; CARBONELL, E; BARRIOS, E; COSTELL, E. 2011.Impact of sensory differences on consumer acceptability of yogurt and yoghurt-like products. *International Dairy Journal* 21: 111-118
- BØLLING, S; NAES, T; ØYAAS, J; HERSLETH, M. 2010. Acceptance of calorie-reduced yoghurt: Effects of sensory characteristics and product information. *Food Quality and Preference* 21: 13–21.
- BOUTEILLE, R; CORDELLE, S; LAVAL, C; TOURNIER,C; LECANU, B; THIS, H; SCHLICH, P. 2013. Sensory exploration of the freshness sensation in plain yoghurts and yoghurt-like products. *Food Quality and Preference* 30: 282–292
- CAPALDI, E & PRIVITERA, G. 2008. Decreasing dislike for sour and bitter in children and adults. *Appetite* 50: 139–145.
- CASTILLO, F; BALCIUNAS, E; SALGADO, J; DOMÍNGUEZ; CONVERTI, A; DE SOUZA, R. 2013. Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends in Food Science & Technology* 30: 70-83.
- CHAVERRI, M. 2012. El agrado por el yogurt de fresa y su relación con la vida útil. Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. Comunicación personal.

- CEPAL. 2003. América Latina: el comercio internacional de productos lácteos. Naciones Unidas. Santiago de Chile.
- CHANDAN, R & NAUTH, K. 2012. Yogurt. Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology. USA, CRC Press.
- CHRYSSANTHOPOULOS, C & MARIDAKI, M. 2009. Nutritional Aspects of Yogurt and Functional Dairy Products. Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional. USA, CRC Press.
- CODEX ALIMENTARIUS. 1999. Norma del Codex para las leches y natas en polvo (CODEX STAN207-1999).
- CODEX ALIMENTARIUS. 2003. Norma del Codex para leches fermentadas (CODEX STAN 243-2003).
- DEUEL, C; PLOTTO, A.2005. Strawberries and Raspberries. CRC Press LLC
- FADELA, C; ABDERRAHIM, C; AHMED, B. 2009. Sensorial and Physico-Chemical Characteristics of Yoghurt Manufactured with Ewe's and Skim Milk. World Journal of Dairy & Food Sciences 4 (2): 136-140.
- GÜRAKANAND, G & ALTAY, N. 2009. Development and Manufacture of yogurt and other Functional Dairy products. Fatih Yildiz. CRC Press. USA, 97-121.
- HAQUE, A; RICHARDSON, R; MORRIS, E. 2001. Effect of fermentation temperatura on rheology of set and stirred yogurt. Food Hydrocolloids 15: 593-602.
- HORST, A.; WITTIG, E.; HARPE, R.; LÓPEZ, L. 1995. Empleo de cultivos de acidificación suave en la elaboración de yogurt. Tecnología Láctea Latinoamericana 136: 42-45
- KARAGÜL, Y & KEMAL, Y. 2010. Health Attributes of Yogurt and Functional Dairy Products. Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products.
- LA NACIÓN. 2011. La exportación de productos lácteos atraviesa por 10 años de bonanza, especialmente por la fuerte demanda en mercados emergentes, como India y China. San José, Costa Rica.

- LABUZA, T. 1982. Shelf Life dating of foods. Food and Nutrition, INC. Westport, Connecticut USA.
- LAWLESS, H & HEYMANN, H. 2010. Sensory Evaluation of Food. Second Edition. Springer. USA.
- LEE, W; LUCEY, A. 2010. Formation and Physical Properties of Yogurt. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 23(9):1127-1136.
- MACBEAN, R. 2009. Packaging and the Shelf Life of Yogurt Food Packaging and Shelf Life. Parmalat Australia Ltd. South Brisbane, Australia.
- MEIC-MAG. 2009. RTCR-414:2008 Yogurt para Consumo Directo. DECRETO N° 35084 emitido en la Gaceta 48. San José, Costa Rica.
- MOJET, J; CHRIST-HAZELHOF, E; HEIDEMA, J. 2005. Taste perception with age: pleasantness and its relationships with threshold sensitivity and supra-threshold intensity of five taste qualities. Food Quality and Preference 16: 413–423.
- NAUTH, K. 2004. Yogurt. Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology. CRC Press, USA.
- NETER, J; KUTNER, M; NACHTSHEIM, C & WASSERMAN, W. 1996. Applied Linear Statistical Models, Fourth Edition. Times Mirror Higher Education Group, USA.
- OMC. 2007. Acuerdo de Asociación entre Centroamérica y la Unión Europea: Lácteos. Consultado el 3 de agosto del 2012 en: <http://www.aacue.go.cr>
- ÖZER, B & AVNI, 2010. Quality Attributes of Yogurt and Functional Dairy Products. Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products. CRC Press, USA.
- ÖZER, B. 2010. Strategies for yogurt manufacturing. In Vildiz, F. Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products. CRC Press, USA.
- PROMOTORA DEL COMERCIO EXTERIOR DE COSTA RICA. 2012. Estadísticas del Comercio Exterior de Costa Rica 2011 (ISSN: 2215-2342).
- RAMÍREZ, J. 2010. EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD SEGÚN ISO 7889/IDF 117 DE LOS CULTIVOS INICIADORES *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* EN YOGURT Y HELADO EN ALMACENAMIENTO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA ENUMERACIÓN DEL

- PROBIÓTICO *Bifidobacterium lactis*. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Informe del Trabajo Final de Graduación. Cartago.
- RAMESH, C; CHANDAN, N & NAUTH, R. 2012. Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology, Second Edition. CRC Press, USA.
- RASIC, J & KURMANN, J. 1978. Yogurth, scientific grounds, technology, manufacture and preparations. Yugoslavia.
- ROESSLER, E.B.; PANGBORN,R.M.; SIDEL,J.L. & STONE. H. 1978. Expanded Statistical Tables for estimating Significance in Paired-Preference, Paired-Difference, Duo-Trio and Triangle Tests. Journal of Food Science 43: 940-944.
- ROJAS, W; CHACÓN, A & PINEDA, M. 2007. Características del yogurt batido de fresa derivadas de diferentes proporciones de leche de vaca y cabra. Agronomía Mesoamericana 18(2): 221-237.
- SAÉNZ, G. 1984. Proyecto presentado para la carrera interdisciplinaria de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Tecnología de Alimentos: Procesamiento de frutas para yogurt. Universidad de Costa Rica. San José.
- SAHMER, K., VIGNEAU, E., QANNARI, E.M., 2005. A cluster approach to analyze preference data: Choice of the number of clusters. Food Quality and Preference 17: 257–265.
- TAMIME, A & ROBINSON, R. 2004. Yogurt Science and Technology. Segunda Edición. CRC Press, USA.
- VELIOGLU, Y. 2009. Advances in Food Biochemistry. CRC Press. Ankara, Turkey.
- VICKERS, Z; HOLTON, E; WANG, J. 2001. Effect of ideal–relative sweetness on yogurt consumption. Food Quality and Preference 12: 521–526
- VILLANUEVA, N; PETENATE, A & DA SILVA, M.2005. Comparative performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. Food Quality and Preference 16: 691-703.
- WALSTRA, P; WOUTERS,J; GEURTS, T. 2005. Dairy Science and Technology, Second Edition: Microbiology of milk. CRC Press.

- WITTIG, W; CURIA, A; CALDERÓN, S; LÓPEZ, L, FUENZALIDA, R & HOUGH, G. 2005. Un estudio transcultural de yogurt batido de fresa: aceptabilidad con consumidores versus calidad sensorial con paneles entrenados. Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN), 55: 1.
- YILDIZ, F. 2009. Overview of Yogurt and Other Fermented Dairy Products. Development and Manufacture of Yogurt and other Functional Products. Taylor and Francis Group LLC. CRC Press, USA.
- YOUNG, N; DRAKE, M; LOPETCHARAT, K; MCDANIEL, M. 2004. Preference mapping of cheddar cheese with varying maturity levels. Journal of Dairy Science 87:11-19.

APÉNDICE

APENDICE A. Cambio de la acidez y pH a través del tiempo de almacenamiento a 6 °C por 45 días (preliminar 1)

Cuadro A 1. Datos experimentales de acidez y pH de las muestras de yogurt almacenadas a 6 °C por 45 días

DÍA	Acidez (%AL)	pH	Sólidos totales (%)	Sólidos solubles (°Brix)
0	0,423	4,23	19,70	15,46
	0,338	4,13	20,56	16,32
	0,490	4,15	21,30	16,85
	0,495	4,15	20,30	17,12
3	0,536	4,12	19,58	16,18
	0,456	4,13	20,13	16,22
	0,466	4,11	20,07	15,65
	0,440	4,11	19,91	14,83
	0,472	4,11	19,80	13,34
7	0,543	4,07	19,94	16,26
	0,544	4,06	20,26	16,16
	0,564	4,07	19,27	16,18
	0,490	4,11	20,91	17,09
	0,474	4,12	20,81	16,50
	0,475	4,13	20,68	16,46
11	0,494	4,04	19,38	14,99
	0,500	4,08	19,45	15,20
	0,494	4,05	18,90	15,53
	0,546	4,02	20,60	16,15
	0,516	4,04	20,39	16,42
	0,540	4,01	20,92	17,25
14	0,489	4,01	19,74	16,11
	0,460	3,96	19,58	15,89
	0,444	3,96	19,81	16,11
	0,520	4,01	20,12	15,95
	0,510	4,00	19,68	16,40
19	0,524	3,92	20,46	16,19
	0,521	3,98	18,42	16,46
	0,544	4,00	20,23	16,09
	0,482	3,91	19,15	16,16
	0,486	3,96	20,1	15,3

Continuación del Cuadro A1

DÍA	Acidez (%AL)	pH	Sólidos totales (%)	Sólidos solubles (°Brix)
23	0,511	3,91	19,96	16,12
	0,494	4,03	19,99	16,18
	0,492	4,02	19,91	16,51
	0,516	4,01	19,32	15,33
	0,561	4,03	19,35	15,93
	0,564	3,99	19,41	15,38
29	0,478	4,02	19,76	16,88
	0,489	4,01	19,00	16,43
	0,495	4,03	20,28	16,20
	0,602	4,07	19,26	15,68
	0,580	4,08	19,70	15,89
36	0,531	4,01	20,52	16,87
	0,520	4,04	20,97	17,53
	0,526	4,05	20,75	16,24
	0,494	4,11	19,81	16,07
	0,508	4,10	19,30	15,65
39	0,539	3,99	19,07	15,74
	0,503	3,98	20,35	15,46
	0,504	4,00	18,71	15,82
	0,532	4,04	21,13	16,48
	0,525	4,02	20,41	15,83
	0,519	4,04	19,80	16,04
42	0,508	4,00	19,98	16,09
	0,500	3,99	18,96	15,26
	0,511	4,00	18,58	15,47
	0,545	3,98	21,13	17,41
	0,555	3,98	20,41	17,11
	0,549	4,00	20,82	17,55
	0,610	4,01	20,55	16,89
45	0,606	4,03	20,55	16,89
	0,594	4,02	20,04	16,31
	0,591	4,05	19,90	16,38
	0,594	4,03	21,35	16,08

Cuadro A 2. Análisis de varianza (ANDEVA) para la acidez del yogurt durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días y a 42 °C por 72 horas, utilizando un 95 % de confianza

Origen	gl	F	Significancia
Días	11	10,565	< 0,001
Horas	7	5,687	0,002

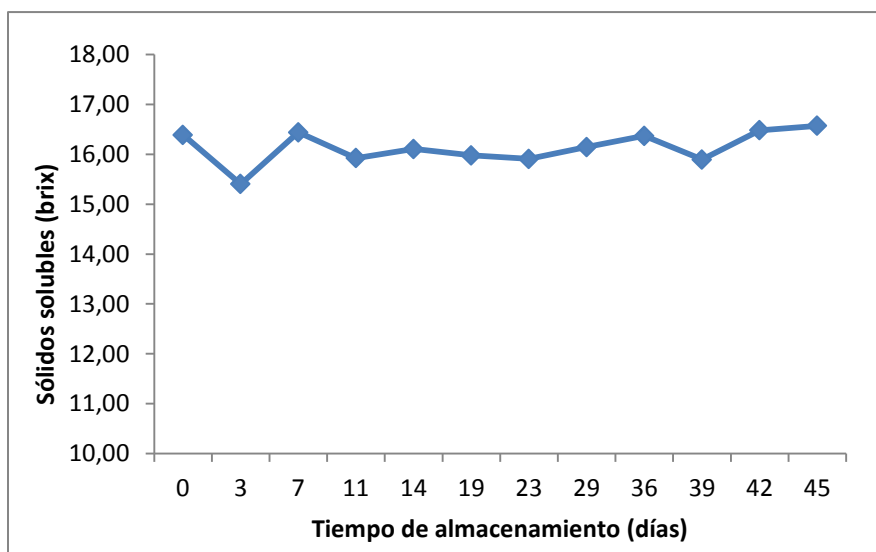


Figura A 1. Valor promedio de sólidos solubles de 2 lotes de yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días

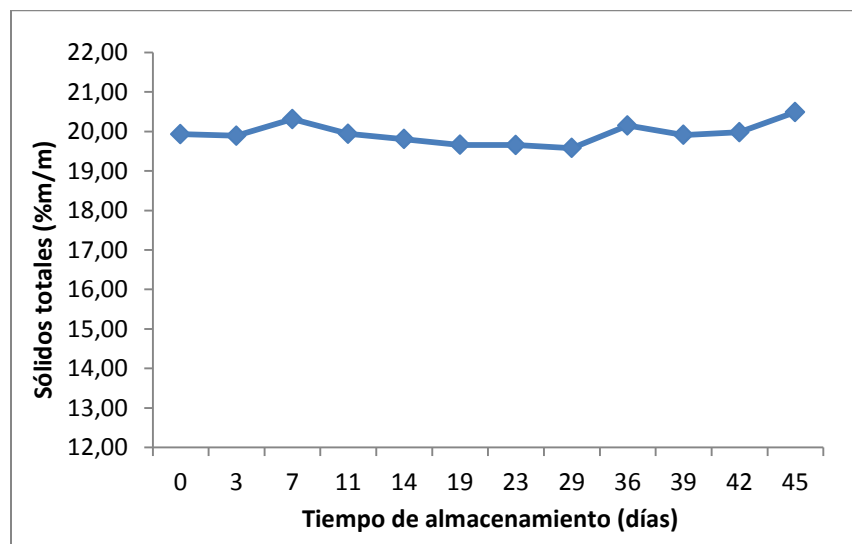


Figura A 2. Valor promedio de sólidos totales de 2 lotes de yogurt líquido de fresa durante el almacenamiento a 6 °C por 45 días

APENDICE B. Porcentaje mínimo de ácido láctico percibido como diferente (Prueba Discriminatoria 2 AFC) (preliminar 2)

Cuadro B 1. Datos experimentales de acidez y pH de las muestras de yogurt almacenadas a 42 °C por 72 horas

Tiempo (h)	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3	
	% AL	pH	% AL	pH	% AL	pH
0	0,450	4,12	0,427	4,09	0,364	4,13
4	0,439	4,01	0,471	4,00	0,455	4,00
8	0,378	3,98	0,477	3,98	0,449	4,02
12	0,423	3,92	0,506	3,93	0,502	4,01
24	0,462	3,95	0,515	3,93	0,518	3,95
32	0,542	3,96	0,548	3,92	0,521	3,95
48	0,580	3,97	0,558	3,96	0,537	3,95
72	0,601	3,93	0,583	3,90	0,566	3,92

Cuadro B 2. Aciertos obtenidos y requeridos, su proporción y la probabilidad de cometer error tipo I

Muestra	Acidez (% AL)	Aciertos	Aciertos requeridos	Proporción de aciertos	Probabilidad cometer error tipo I
B	0,471	32	27	0,821	< 0,001
C	0,477	31	27	0,795	< 0,001
D	0,506	36	27	0,923	< 0,001
E	0,515	38	27	0,974	< 0,001
F	0,548	35	27	0,897	< 0,001

*se utilizó un 95 % de confianza

Cuadro B 3. Acidez de las muestras de yogurt líquido utilizadas en el panel 2 AFC

Muestra	Tiempo de fermentación a 42 °C (h)	Acidez (% AL)	Diferencia de acidez con el Control (A)
A	0	0,425	-
B	4	0,471	0,046
C	8	0,477	0,052
D	16	0,506	0,081
E	24	0,515	0,090
F	32	0,548	0,123

PRUEBA 2-AFC EN YOGURT DE FRESA

A continuación se le presentan cinco pares de muestras de yogurt. En cada par escoja la muestra **MÁS ÁCIDA**, señalando con una equis (X) o un círculo. Si tiene dudas, adivine. Enjuáguese con suficiente agua luego de probar cada par.

351	279
934	789
432	256
567	154
653	498

Figura B 1. Ejemplo de la hoja entregada al juez durante la prueba comparativa 2 AFC

APENDICE C. Determinación del número de repeticiones o lotes a evaluar

Cuadro C 1. Datos necesarios para calcular el número de repeticiones

Desviación estándar entre lotes (σ)		Tratamientos (r)			
De acuerdo al pH	De acuerdo a ST	Acidez mayor	Acidez menor	Δ^*	n
0,064	2,092	0,650	0,400	0,250	6

*Diferencia entre el valor máximo y mínimo de tratamientos

Cuadro C 2. Datos necesarios para determinar el número de repeticiones utilizando las Tablas Neter et al. (1996)

Dato	Valor
(1- β)	90%
α	0,05
Δ/σ	3,9
	0,1
Repeticiones	2

APENDICE D. Características de las muestras de yogurt utilizadas para el panel de agrado al consumidor

Cuadro D 1. Tiempo de fermentación (42°C) y concentración de ácido láctico de las muestras de yogurt presentadas al panel del consumidor

Muestra	Tiempo de fermentación (h)	Acidez (%AL)
Y1	0	0,364
Y2	7	0,449
Y3	24	0,518
Y4	32	0,521
Y5	48	0,537
Y6	72	0,566

Cuadro D 2. Análisis de varianza del agrado por las muestras de yogurt en dos grupos de consumidores, utilizando un 95 % de confianza

Grupo	Fuente	g.l	F	Pr > F
1	Juez	39	1,957	0,002
	Muestra	5	3,200	0,008
2	Juez	59	1,635	0,005
	muestra	5	11,138	< 0,0001

Cuadro D 3. Valores de probabilidad a un 95 % de confianza y coeficientes de correlación entre el agrado y acidez por conglomerado

Conglomerado	Significancia	Probabilidad	R ²
1	No	0,708	0,039
2	Sí	0,046	0,672

Cuadro D 4. Valores promedio de agrado de cada muestra de yogurt líquido y análisis de diferencias significativas utilizando la comparación múltiple de Fisher (LSD)

Tiempo en la estufa a 42 °C (h)	Acidez (%AL)	CONGLOMERADO 1	CONGLOMERADO 2
0	0,364	8,120 ^{bc}	7,227 ^a
8	0,449	8,475 ^{ab}	7,252 ^a
24	0,518	8,592 ^a	6,327 ^{bc}
32	0,521	8,508 ^{ab}	6,792 ^{ab}
48	0,537	8,660 ^a	6,047 ^c
72	0,566	7,965 ^c	5,233 ^d

*Las letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas entre las muestras con un 95 %de confianza.

APÉNDICE E. Temperatura real de los puntos de venta

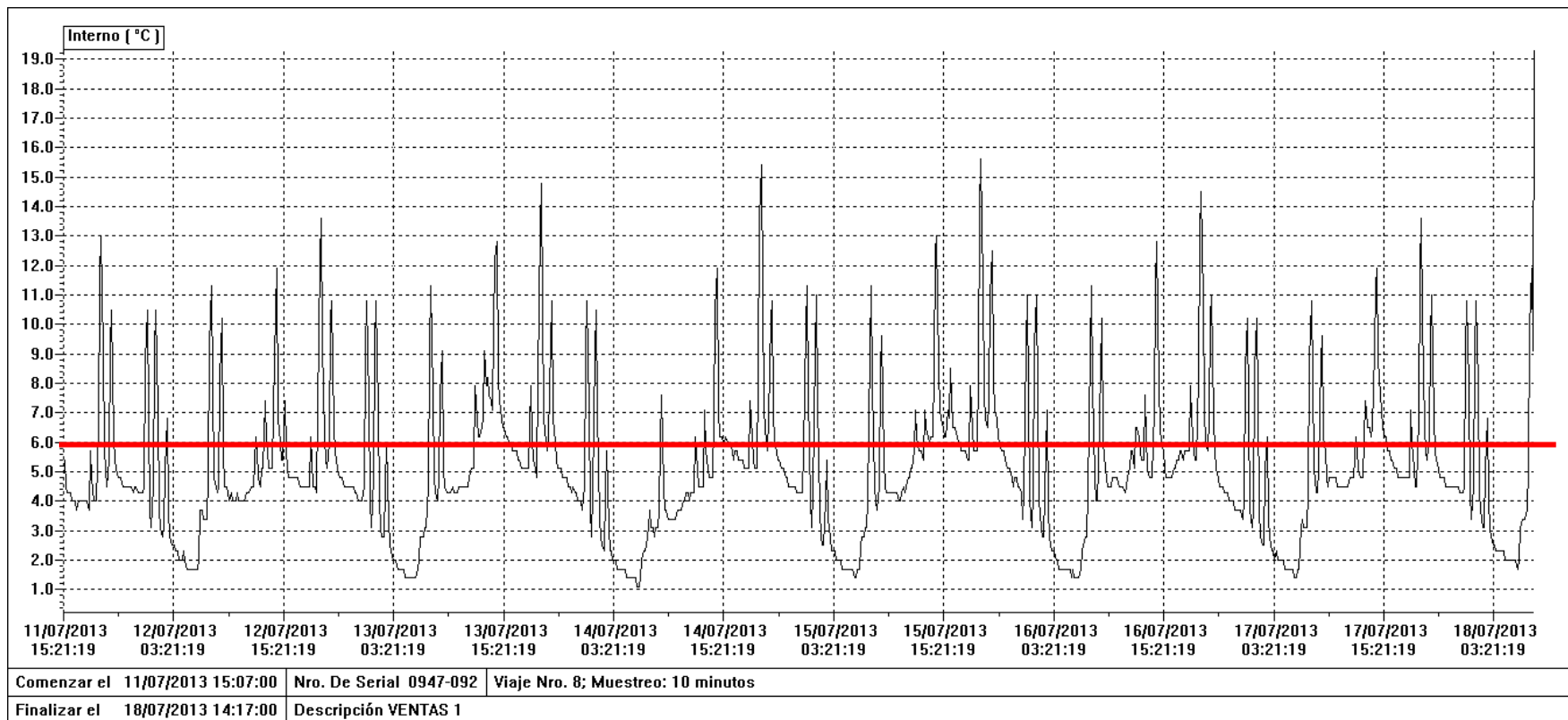


Figura E 1. Control semanal de la temperatura interna de la cámara abierta del supermercado A

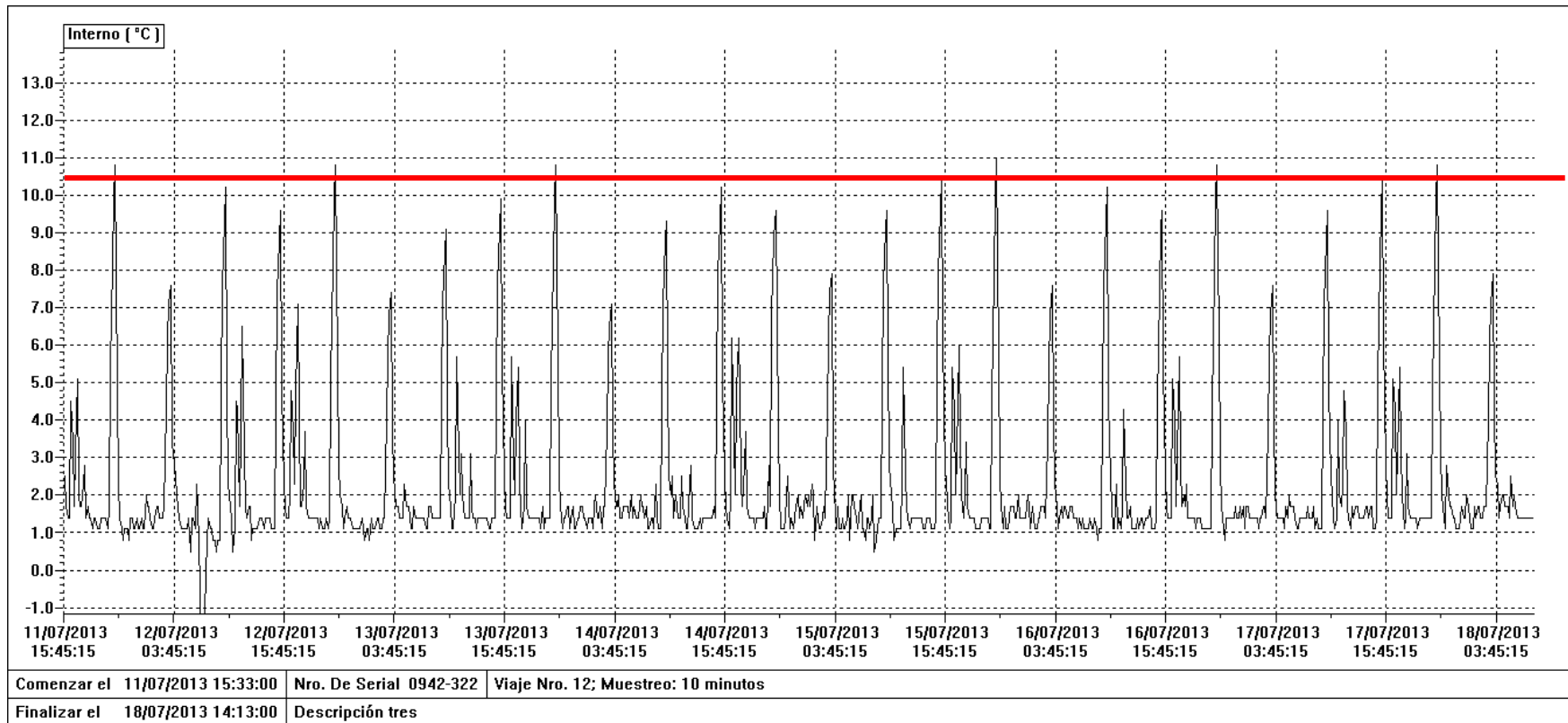


Figura E 2. Control semanal de la temperatura interna de la cámara abierta del supermercado B

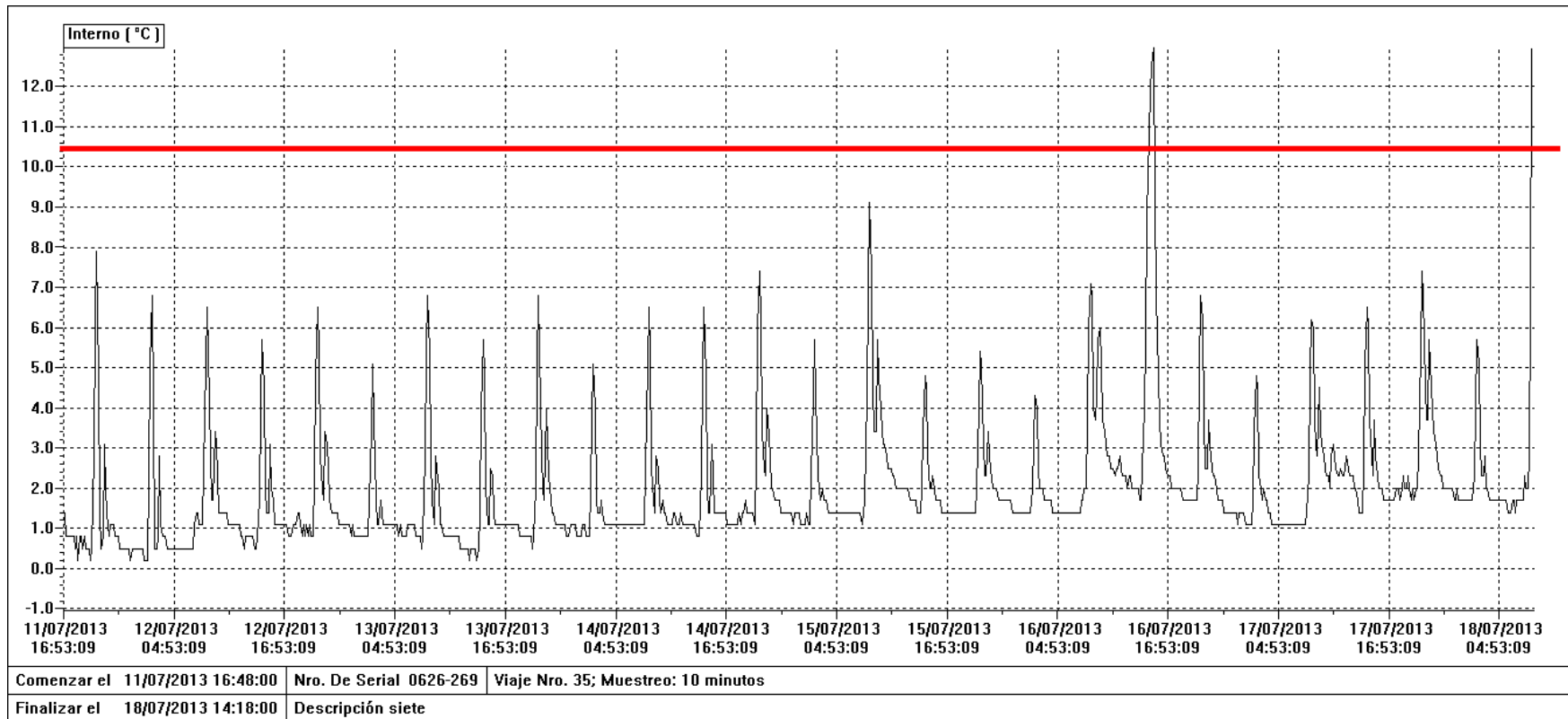


Figura E 3. Control semanal de la temperatura interna de la cámara abierta del supermercado C

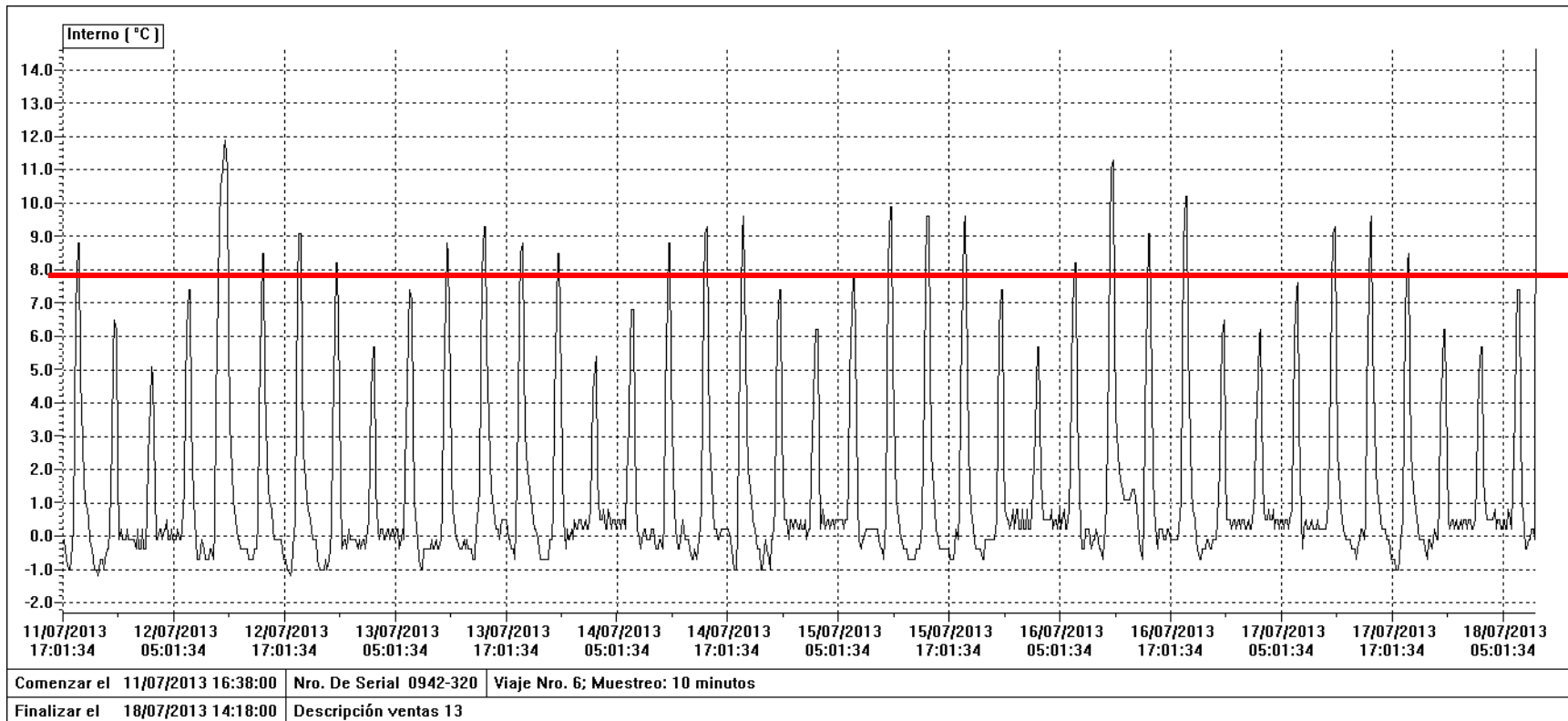


Figura E 4. Control semanal de la temperatura interna de la cámara abierta del supermercado D

APENDICE F. Características de las muestras de yogurt almacenado a 6 °C y 10 °C

Cuadro F 1. Datos experimentales de las muestras de yogurt almacenadas a 6 °C por 45 días

Día	AL%			pH			°Brix			ST %		
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3
0	0,351	0,415	0,323	4,20	4,01	4,19	16,63	16,03	16,30	20,60	19,04	19,49
	0,351	0,433	0,307	4,17	4,03	4,19	16,19	15,83	16,03	20,36	18,29	19,86
	0,352	0,432	0,315	4,20	3,99	4,20	16,87	15,64	16,32	20,60	18,92	19,99
6	0,347	0,372	0,313	4,06	4,04	4,06	16,88	15,72	16,45	20,20	19,71	20,46
	0,372	0,382	0,372	4,06	4,02	4,04	16,64	15,84	15,72	20,64	19,48	19,71
	0,313	0,378	0,378	4,06	4,02	4,02	16,45	15,62	15,62	20,46	19,54	19,54
12	0,416	0,418	0,431	4,04	4,01	3,97	16,78	15,64	16,05	20,24	19,53	19,39
	0,426	0,410	0,134	4,04	4,04	4,01	16,48	16,05	16,07	19,85	18,04	20,11
	0,400	0,379	0,505	4,03	4,07	3,98	16,52	15,97	15,91	19,83	19,31	19,59
20	0,430	0,539	0,484	3,97	3,96	3,98	20,45	16,03	16,13	16,56	19,23	19,67
	0,423	0,479	0,506	3,97	3,98	4,03	16,72	16,04	20,00	19,11	19,18	20,00
	0,422	0,509	0,491	3,96	3,97	4,04	16,40	16,04	16,14	19,02	19,21	19,91
28	0,417	0,504	0,434	3,97	3,98	3,94	15,79	16,10	16,18	20,57	19,74	10,25
	0,435	0,509	0,408	3,93	3,98	3,95	16,57	15,98	15,73	19,88	19,98	19,02
	0,453	0,528	0,477	4,00	3,84	3,95	16,09	16,02	16,25	20,39	20,02	19,93
35	0,450	0,423	0,421	4,00	3,92	3,97	16,77	16,20	15,86	20,72	20,11	19,72
		0,442	0,401		3,92	3,99		15,81	16,16		19,70	19,61
		0,457	0,420		3,91	3,96		15,93	16,11		19,71	19,08
45	0,470	0,432	0,478	3,92	3,91	3,92	20,15	16,27	16,17	16,32	19,49	19,67
	0,478	0,447	0,450	3,93	3,93	3,97	19,39	16,21	16,24	16,19	19,89	19,89
	0,480	0,437	0,431	3,96	3,92	3,95	19,98	16,00	16,03	16,47	19,89	19,78

Cuadro F 2. Datos experimentales de las muestras de yogurt almacenadas a 10 °C por 45 días

Día	AL%			pH			°Brix			ST %		
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3
0	0,351	0,349	0,323	4,20	4,14	4,19	16,63	15,40	16,30	20,60	20,05	19,49
	0,351	0,339	0,307	4,17	4,14	4,19	16,19	16,12	16,03	20,36	19,09	19,86
	0,352	0,326	0,315	4,20	4,13	4,20	16,87	16,12	16,32	20,60	19,86	19,99
6	0,454	0,406	0,388	4,01	3,99	4,05	17,08	15,99	15,09	20,42	19,82	19,12
	0,432	0,402	0,343	4,01	4,00	4,04	16,92	15,97	15,09	20,56	19,95	19,20
	0,307	0,395	0,368	4,00	3,99	4,07	16,42	15,66	19,42	20,37	19,55	19,42
12	0,453	0,415	0,420	4,00	4,01	4,03	16,28	16,03	16,29	20,34	19,04	20,02
	0,449	0,433	0,358	4,00	4,03	4,07	16,53	15,83	16,20	20,43	18,29	19,98
	0,476	0,432	0,389	4,00	3,99	4,05	16,60	15,64	16,25	20,40	18,92	20,00
20	0,490	0,482	0,536	3,92	3,91	3,95	16,60	16,16	19,51	19,96	19,15	19,51
	0,479	0,486	0,538	3,92	3,96	3,97	16,61	15,30	16,05	20,73	20,10	19,92
	0,474	0,680	0,529	3,90	3,91	3,95	16,63	15,95	16,09	20,58	19,25	19,92
28	0,469	0,491	0,477	3,94	3,92	3,91	16,27	15,94	16,14	19,71	19,92	19,69
	0,469	0,604	0,440	3,93	3,93	3,84	16,37	19,86	15,70	19,54	15,24	19,44
	0,523	0,529	0,459	3,95	3,90	3,88	16,40	16,45	15,92	19,69	19,71	19,57
35	0,428	0,497	0,444	4,02	3,86	3,81	16,47	16,05	15,93	20,18	19,91	19,05
	0,428	0,474	0,464	3,96	3,86	3,93	16,24	15,79	15,95	20,33	19,74	19,87
	0,482	0,487	0,473	3,93	3,85	3,83	16,38	15,93	16,16	19,92	19,69	19,46
45	0,516	0,482	0,501	3,88	3,92	3,91	19,29	16,01	16,08	17,60	19,70	19,87
	0,527	0,485	0,479	3,86	3,89	3,92	20,23	15,92	16,17	16,26	19,55	19,86
	0,532	0,492	0,489	3,85	3,89	3,94	19,69	15,68	15,96	15,83	18,79	19,65

Cuadro F 3. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos factores, lote y temperatura, para la acidez del yogurt utilizando un 95 % de confianza

Origen	gl	F	Significancia
Tratamiento	1	4,596	0,034
Lote	2	2,766	0,067
Tratamiento * lote	2	0,192	0,825

Cuadro F4. Acidez calculada del yogurt de fresa almacenado a 10 °C por 45 días para la obtención de la vida útil a esta temperatura.

DÍA	Temperatura de almacenamiento	
	6 °C*	10 °C**
0	0,432	0,467
3	0,478	0,512
7	0,515	0,550
11	0,515	0,550
14	0,490	0,524
19	0,507	0,542
23	0,523	0,558
29	0,539	0,574
36	0,513	0,548
39	0,520	0,555
42	0,528	0,563
45	0,601	0,635

*Valores promedio de acidez del Cuadro A1.

**Se suma 0,035 %AL a los valores de la segunda columna. El valor de 0,035 % es el promedio de la diferencia entre los puntos de la curva de la figura 4.

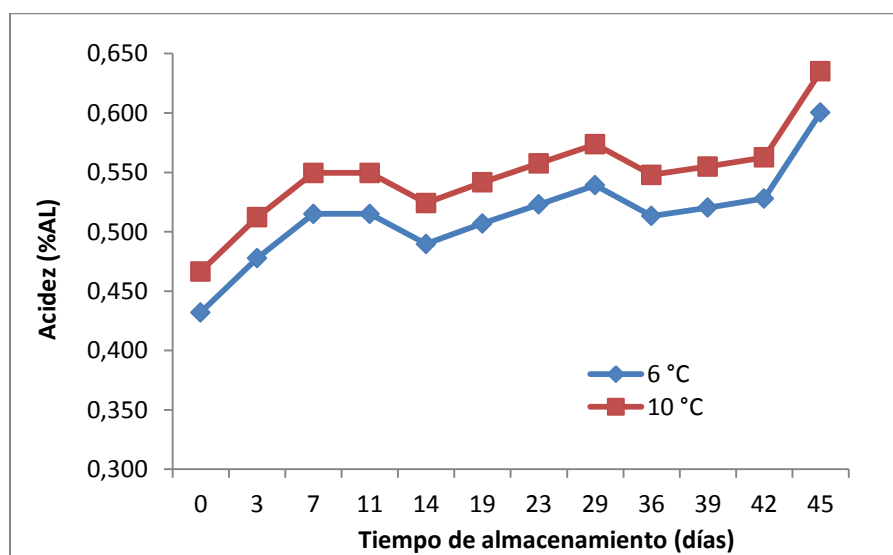


Figura F 1. Acidez del yogurt a 6 °C y 10 °C (calculada), durante 45 días de almacenamiento

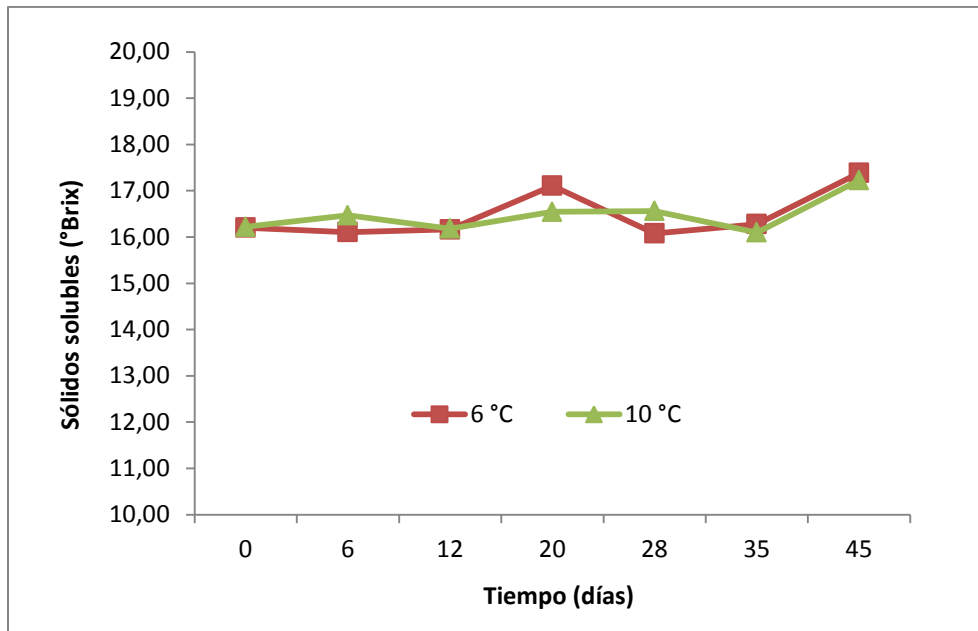


Figura F 2. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los sólidos solubles del yogurt líquido de fresa durante 45 días de almacenamiento

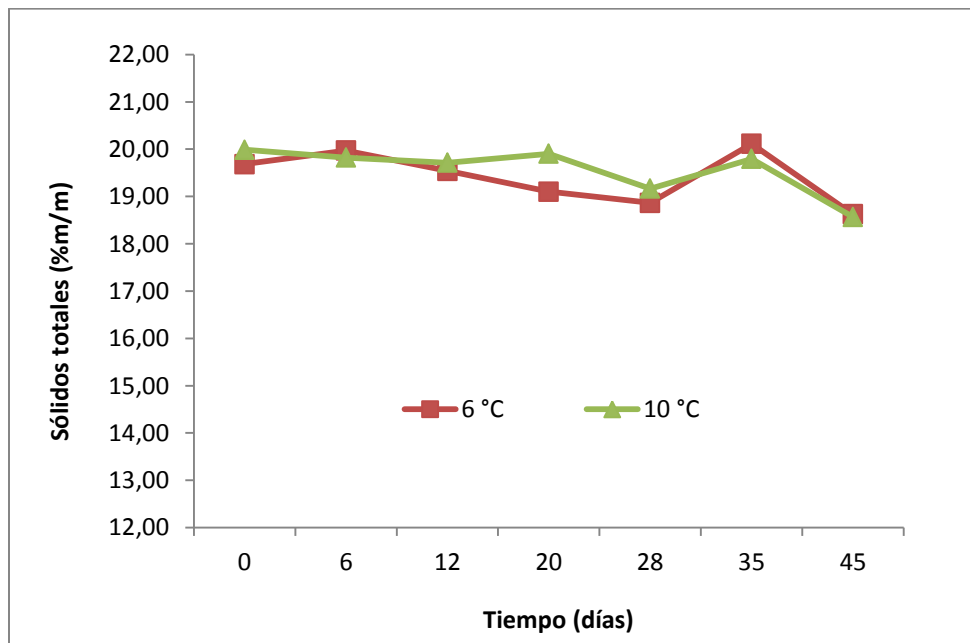


Figura F 3. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los sólidos totales del yogurt líquido de fresa durante 45 días de almacenamiento

APENDICE G. Características del yogurt durante el procesamiento y trasiego

Cuadro G 1. Datos experimentales de acidez, pH, sólidos totales y solubles medidos en tres diferentes lotes de yogurt líquido de fresa durante cada una de las operaciones del proceso de elaboración

OPERACIÓN	AL (%)		pH		ST (%)		SS (°Brix)	
	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 1	LOTE 2
LECHE	0,123	0,148	6,68	6,50	10,99	11,45	11,50	18,76
	0,127	0,127	6,68	6,52	11,51	11,86	11,51	18,88
	0,124	0,122	6,69	6,48	11,04	11,05	11,76	18,45
MEZCLA	0,087	0,092	6,62	6,58	17,51	17,93	16,87	17,81
	0,103	0,092	6,61	6,56	17,63	17,45	17,59	17,76
	0,079	0,095	6,62	6,57	17,66	17,82	17,44	17,78
INOCULACIÓN	0,129	0,121	6,35	6,17	17,57	18,24	17,89	18,25
	0,123	0,124	6,36	6,19	17,66	18,06	17,89	18,26
	0,119	0,122	6,35	6,17	17,58	17,90	17,86	18,28
FERMENTACIÓN	0,260	0,333	4,27	4,24	17,81	17,73	13,64	13,81
	0,261	0,335	4,30	4,22	17,79	18,06	13,66	13,75
	0,250	0,348	4,28	4,22	17,87	18,03	14,02	13,79
ENFRIAMIENTO	0,300	0,363	4,22	4,22	17,29	17,93	13,47	13,89
	0,293	0,350	4,23	4,19	17,18	17,88	13,12	13,89
	0,295	0,368	4,24	4,18	17,20	17,90	13,44	13,83
YOGURT ENVASADO	0,311	0,418	4,20	4,15	19,50	20,08	15,38	16,20
	0,312	0,381	4,22	4,16	19,60	20,18	15,89	16,28
	0,332	0,395	4,20	4,15	19,75	20,18	16,73	16,33
CUARENTENA	0,315	0,376	4,14	4,18	19,56	20,39	19,44	16,33
	0,291	0,385	4,14	4,18	19,58	20,30	19,44	16,23
	0,339	0,384	4,13	4,18	19,28	20,10	19,44	16,21
VEHÍCULO	0,311	0,389	4,16	4,15	19,31	20,07	15,48	16,12
	0,312	0,374	4,17	4,14	19,28	20,35	15,74	16,34
	0,320	0,402	4,16	4,15	19,47	20,11	15,88	16,29
PUNTO DE VENTA	0,418	0,347	4,01	4,06	19,53	20,20	15,64	16,88
	0,410	0,372	4,04	4,06	18,04	20,64	16,05	16,64
	0,379	0,313	4,07	4,06	19,31	20,46	15,97	16,45

Cuadro G 2. Análisis de varianza (ANDEVA) de dos factores, lote y operación, para el promedio de la acidez del yogurt durante el proceso de elaboración, utilizando un 95 % de confianza

Origen	gl	F	Significancia
Proceso	8	460,490	< 0,001
Lote	1	94,931	< 0,001
Proceso * Lote	8	20,465	< 0,001

Cuadro G 3. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para la acidez del yogurt en las operaciones involucradas en el proceso de elaboración

OPERACIÓN I	OPERACIÓN II	Significancia
LECHE	Mezcla inoculada	0,998
	Fermentación	< 0,001
	Enfriamiento	< 0,001
	yogurt envasado	< 0,001
	Cuarentena	< 0,001
	Vehículo	< 0,001
	punto de venta	< 0,001
MEZCLA INOCULADA	Leche	0,998
	Fermentación	< 0,001
	Enfriamiento	< 0,001
	yogurt envasado	< 0,001
	Cuarentena	< 0,001
	Vehículo	< 0,001
	punto de venta	< 0,001
FERMENTACIÓN	Leche	< 0,001
	Mezcla inoculada	< 0,001
	Enfriamiento	0,009
	yogurt envasado	< 0,001
	Cuarentena	< 0,001
	Vehículo	< 0,001
	punto de venta	< 0,001
ENFRIAMIENTO	Leche	< 0,001
	Mezcla inoculada	< 0,001
	Fermentación	0,009
	yogurt envasado	0,011
	Cuarentena	0,998
	Vehículo	0,096
	punto de venta	< 0,001
YOGURT ENVASADO	Leche	< 0,001
	Mezcla inoculada	< 0,001
	Fermentación	< 0,001
	Enfriamiento	0,011
	Cuarentena	0,998
	Vehículo	0,998
	punto de venta	0,998

Continuación del Cuadro G3

OPERACIÓN I	OPERACIÓN II	Significancia
CUARENTENA	Leche	< 0,001
	Mezcla inoculada	< 0,001
	Fermentación	< 0,001
	Enfriamiento	0,998
	yogurt envasado	0,998
	Vehículo	0,998
	punto de venta	0,058
VEHÍCULO	Leche	< 0,001
	Mezcla inoculada	< 0,001
	Fermentación	< 0,001
	Enfriamiento	0,998
	yogurt envasado	0,998
	Cuarentena	0,998
	punto de venta	0,998
PUNTO DE VENTA	Leche	< 0,001
	Mezcla inoculada	< 0,001
	Fermentación	< 0,001
	Enfriamiento	< 0,001
	yogurt envasado	0,998
	Cuarentena	0,058
	Vehículo	0,998

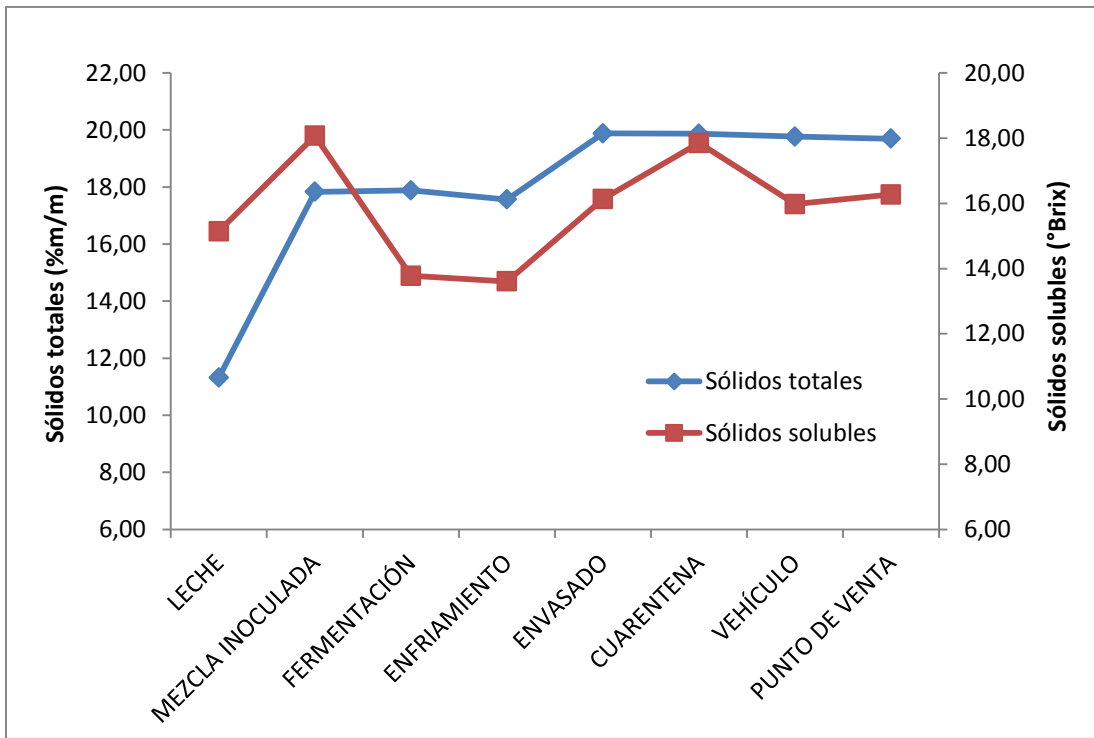


Figura G 1. Efecto de la operación unitaria sobre los sólidos totales y sólidos solubles del yogurt líquido de fresa durante el proceso de elaboración y trasiego

APENDICE H. Descripción de las pruebas químicas realizadas al yogurt

a. Análisis del porcentaje de acidez en las muestras de yogurt de fresa

La acidez en el yogurt de fresa se lleva a cabo por medio de una valoración potenciométrica o método potenciométrico descrito por la AOAC 981.12 y su medición se reporta como porcentaje de ácido láctico.

b. Análisis del porcentaje de sólidos totales en las muestras de yogurt de fresa

Esta prueba química se realiza siguiendo el procedimiento de la AOAC 925.105/90 y se reporta en términos de porcentaje.

c. Análisis del porcentaje de sólidos solubles en las muestras

Los sólidos solubles en el yogurt se determinan por medio del método de la AOAC 932.12/90 y se reportan como ° Brix.

d. Análisis del pH en las muestras

Para determinar el pH en las muestras se sigue el método de la AOAC 981.12/90.