
Universidad Nacional de La Plata

**Desarrollo de un Alimento Funcional. “Estudio
de las Propiedades fisicoquímicas y
aceptabilidad microbiológica y sensorial en
yogures adicionados con fibra dietética
alimentaria”.**

Tesis de Maestría - 2003

Marina Dello Staffolo

**Director: Dra. Alicia E. Bevilaqqua
Codirector: Dra. Miriam N. Martino**

El presente trabajo de Tesis de Maestría, para optar por el Grado Académico de Maestría en Tecnología e Higiene de los Alimentos (Fac. de Ciencias Exactas, Fac. de Ingeniería, Fac. de Ciencias Veterinarias, Fac. de Ciencias Agrarias y Forestales), UNLP; fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos -CIDCA- bajo la dirección de la Dra. Alicia E. Bevilaqqua y codirección de la Dra. Miriam N. Martino.



MAESTRIA EN TECNOLOGIA E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
Calle 47 y 116, La Plata (CP 1900). Buenos Aires. Argentina
Te (0221) 4254853 / 4249287 / 4890741
Correo electrónico: mtha@dalton.quimica.unlp.edu.ar

A mi mamá, Bqca. M. Esparza.

Agradezco a mi familia que siempre está cuando los necesito, a mi directora, a mi codirectora y a todos mis compañeros del CIDCA, quienes me ayudaron a llevar a cabo este trabajo.

Abreviaturas

- $\dot{\gamma}$ gradiente de velocidad o de deformación
- γ deformación que sufre el cuerpo
- ω es la frecuencia como velocidad angular
- σ esfuerzo de corte o tensión de cizalla sobre el cuerpo
- η viscosidad del sistema en Pa. s
- σ_{∞} esfuerzo de corte del equilibrio
- η^* es la viscosidad dinámica
- η_{ap} viscosidad aparente
- γ_0 amplitud máxima de deformación
- σ_0 máxima amplitud del esfuerzo
- Δx incremento de deformación
- A área del cuerpo
- a** componente rojo-verde
- a y b parámetros que caracterizan el comportamiento reológico de la ecuación $G' = a\omega^b$
- a_w actividad acuosa
- b** componente amarillo-azul
- c número de unidades defectuosas que se acepta en la muestra
- c y d parámetros que caracterizan el comportamiento reológico de la ecuación $G'' = c\omega^d$
- dt diferencial de tiempo
- F fuerza aplicada al cuerpo
- G^* módulo complejo, relación entre el modulo elástico y el módulo viscoso
- G' módulo elástico dinámico
- G'' módulo viscoso dinámico o de pérdida
- h altura aplicada al cuerpo
- L claridad
- m índice de consistencia del producto
- M** máximo recuento del microorganismo en estudio que se acepta

Abreviaturas

m mínimo recuento del microorganismo en estudio

n factor de la ley de la potencia

n tamaño de la muestra

*n** es el factor de la ley de la potencia dinámica

NMP número más probable

P color problema

R, V y A colores primarios

R_0 radio del rotor externo

R_a radio promedio entre R_i y R_0

R_i radio interno del rotor

S torque medido por el viscosímetro

$\tan \delta$ desfase entre el esfuerzo de corte de respuesta y la deformación aplicada

UFC/ml unidades formadoras de colonias por mililitro

UI Unidades Internacionales

X, Y y Z colores primarios ideales

x, y, y z coordenadas de cromaticidad

<u>Indice</u>	
Capítulo 1: Introducción	1
1.1- Alimentos Funcionales	1
1.1.1- Los Alimentos Funcionales en el Mercado Mundial	2
1.1.2- Efectos de los Alimentos Funcionales	3
1.2- Fibra Dietaria	5
1.2.1- Interés Histórico	5
1.2.2- Composición Química	6
1.2.3- Propiedades Físicas	9
1.2.4- Oligosacáridos	11
1.2.5- Fibra Dietaria: prevención de enfermedades y promoción de la salud	12
1.2.6- Fibras y Nutrición	18
1.2.7- Potenciales peligros de la fibra dietaria	19
1.2.8- Fibras en la niñez	19
1.3- Yogur	20
1.3.1- Rol Probiótico de las Bacterias Lácticas	22
1.3.2- Elaboración del yogur	26
1.3.3- Productos lácteos en la Argentina	27
1.4- Control de Calidad en la producción de yogur	29
1.4.1- Monitoreo de planta	29
1.4.2- Control de las Materias Primas	30
1.4.3- Estudio del Producto Final	31
Capítulo 2: Materiales y Métodos	36
2.1- Características de las materias primas empleadas para desarrollar el producto	36
2.2- Modo de preparación del yogur	42
2.3- Estudio del producto desarrollado	44
2.3.1- Caracterización Fisicoquímica	44
2.3.1.1- Comportamiento reológico	44
2.3.1.1.1- Ensayos transientes en función de la velocidad	48
2.3.1.1.2- Ensayos de deformación oscilatoria sinusoidal	51
2.3.1.1.3- Ensayos de compresión-extrusión	59

	Indice
2.3.1.2- Color	62
2.3.1.3- pH	65
2.3.1.4- Actividad Acuosa	65
2.3.1.5- Exudado	66
2.3.1.6- Observación de la estructura	66
2.3.2- Análisis Microbiológico	68
2.3.2.1- Vida Util	68
2.3.2.2- Calidad Sanitaria	69
2.3.3- Análisis Sensorial	74
2.3.3.1- Análisis discriminativos para determinar diferencias	74
2.3.3.2- Análisis de aceptabilidad	75
Capítulo 3: Resultados y Discusión	77
3.1- Caracterización Fisicoquímica	77
3.1.1- Comportamiento Reológico	77
3.1.1.1- Ensayos transientes en función de la velocidad	77
3.1.1.2- Ensayos de deformación oscilatoria sinusoidal	80
3.1.1.3- Ensayos de compresión-extrusión	86
3.1.2- Color	87
3.1.3- pH y Actividad Acuosa	88
3.1.4- Exudado	89
3.1.5- Observación de la estructura	90
3.2- Análisis Microbiológico	91
3.2.1- Vida Util	91
3.2.1- Calidad Sanitaria	92
3.3- Análisis Sensorial	94
Capítulo 4: Conclusiones	97
Bibliografía	99

Capítulo 1

Introducción



Aunque la conexión entre la dieta y la salud no es nueva, la investigación nutricional se centra actualmente en la prevención de enfermedades debido a deficiencias nutricionales. El concepto tradicional que dice que para el mantenimiento de una salud óptima la dieta diaria debe proveer cantidades adecuadas de nutrientes esenciales se ha ampliado, por la evidencia, cada vez más fuerte, de que los alimentos contienen también, sustancias fisiológicamente activas que cumplen una función que contribuye a reducir la incidencia de ciertas enfermedades crónicas y por tanto, son necesarias para una vida saludable (Vasconcellos, J.A., 2001).

Además, durante los últimos años, los consumidores han mostrado una preocupación cada vez más acentuada por las posibles relaciones entre alimentación y salud, con claras preferencias por aquellos alimentos que consideran beneficiosos para su salud, por lo tanto, la industria se vio obligada, debido a la gran demanda, a generar nuevos productos que cumplan con estos requisitos.

1.1- Alimentos Funcionales

Se considera que fue en Japón donde se desarrolló la idea de los “alimentos funcionales” durante la década del 80. Esto surgió por la necesidad de reducir el alto costo de los seguros de salud, que debían brindar cobertura a una población cada vez más longeva gracias a los avances en el cuidado y a una buena nutrición.

La normativa japonesa define los alimentos funcionales como: **alimentos procesados que contienen ingredientes que ayudan a funciones corporales específicas, además de ser nutritivos.** Pueden clasificarse en tres categorías:

- 1) Alimentos a base de ingredientes naturales (no es una cápsula, polvo o tableta).
- 2) Alimentos que deben consumirse como parte de la dieta diaria.
- 3) Alimentos que cumplen un papel específico en las funciones del ser humano, incluyendo:
 - # mejoramiento de los mecanismos de defensa biológica.
 - # prevención o recuperación de alguna enfermedad específica.
 - # control de las condiciones físicas y mentales.
 - # retardo en el proceso de envejecimiento.

Como los beneficios para la salud que ofrecen los alimentos funcionales se determinan por los ingredientes usados en su formulación, la legislación alimentaria japonesa reconoce 12 clases diferentes de ingredientes que favorecen la salud: 1) Fibra

dietética; 2) Oligosacáridos; 3) Polioles; 4) Péptidos y proteínas; 5) Glúcidos; 6) Alcoholes; 7) Isoprenoides y vitaminas; 8) Colinas; 9) Bacterias Lácticas; 10) Minerales; 11) Acidos grasos poliinsaturados; 12) otros. El concepto, se ha esparcido desde entonces, a través de todo el mundo (Vasconcellos, J.A., 2001).

1.1.1- Los Alimentos Funcionales en el Mercado Mundial

En Estados Unidos, hay un alto consumo de alimentos funcionales, particularmente como bocadillos y suplementos deportivos. Asimismo, los alimentos sanos, naturales y mínimamente tratados continúan creciendo en popularidad, como reacción contra los alimentos producidos en cadena y muy elaborados que hasta hace poco constituían la base de su dieta típica. Las principales industrias alimentarias, respondieron añadiendo nutrientes como niacina y rivo flavina a los cereales para el desayuno. Sin embargo, los productos naturales, los basados en hierbas, las bebidas obtenidas a partir de hongos, los alimentos orgánicos y los productos homeopáticos han conseguido una popularidad significativa en la dieta americana.

En Europa, los consumidores son conscientes de las deficiencias en su alimentación y están buscando fuentes alternativas de valor nutritivo. Algunos de los ejemplos más representativos son ciertos tipos de yogur o de leche fermentada. Estos presentan bacterias específicas cuyas propiedades resultan beneficiosas para el intestino del hombre. Además, cierto tipo de margarinas y otros productos para untar han sobresalido recientemente por su capacidad de reducir los niveles de colesterol. Las bebidas energéticas reciben también una gran acogida en el mercado europeo (Vasconcellos, J.A., 2001).

En Japón, la dieta ha mejorado enormemente desde el final de la Segunda Guerra Mundial, y con ello ha surgido una creciente conciencia que se puede hacer aún más para compensar las deficiencias nutritivas de la dieta japonesa tradicional. Con la reciente occidentalización, se están comercializando muchas comidas preparadas, productos tales como: chicles con vitamina C, el chocolate enriquecido con calcio y una multitud de bebidas que o bien contienen sales iónicas o pretenden proporcionar al usuario una mayor energía, vigor y vitalidad.

En Latinoamérica, el consumo de alimentos funcionales se ha incrementado y países como Brasil han engrosado las líneas de este mercado como respuesta a las deficiencias nutricionales que sufre la población debido a una mala alimentación. Los

productos funcionales más populares en este país son los probióticos (ver pág. 23). En fechas recientes ha aparecido la leche omega 3 y otras bebidas fortificadas dirigidas a la población deportista (Vasconcellos, J.A., 2001).

En nuestro país, la industria alimentaria no se ha quedado atrás en esta materia. De hecho, en los últimos seis años se realizaron gran cantidad de nuevos desarrollos y en la actualidad se encuentran en el mercado una gran variedad de alimentos funcionales tales como: leches adicionadas con fibra, calcio, hierro, vitaminas A y D, ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y 6, fitoesteroles, fructooligosacáridos; alimento bebible a base de jugo natural de frutas y leche entera deslactosada, yogures fortificados con vitaminas, yogures con probióticos que contienen microorganismos como: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus GG*, *Bifidobacterium sp.*; quesos con probióticos que contienen: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidóphilus*, *Bifidobacterium sp.*, con fibras y vitaminas; bebida láctica fermentada con *Lactobacillus casei shirota*, alimentos lácteos infantiles adicionados con zinc, vitamina A, vitamina D, y ácido fólico; galletitas con glúcidos de liberación progresiva; galletitas, panes, tapas para empanadas y pascualina, pastas adicionados con fibra dietética; pastas adicionadas con minerales; milanesas de soja; arroz integral fortificado con vitaminas y minerales, alimentos para desayuno adicionados con vitaminas y minerales; barritas de cereales dulces; chocolate de soja; bebidas sin gas a base de jugo de naranja, con agregado de vitaminas A, B, C, ácido fólico, calcio, y potasio; alimento líquido a base de soja con vitaminas y minerales, etc. (Rinaldi, V. y Mingo Arechederra, T., 2001).

1.1.2- Efectos de los Alimentos Funcionales

Es importante remarcar que los efectos de estos alimentos funcionales pueden ser divididos en efectos funcionales y efectos sobre la salud.

Los efectos funcionales, como la modulación metabólica, la atenuación del colesterol, el equilibrio de la flora intestinal, la modulación inmunológica, la acción antioxidante, la activación de la citocromo oxidasa, etc., son acciones metabólicas más fáciles de demostrar, y muchos ya son aceptados como afirmaciones científicas.

Los efectos sobre la salud, relacionados con prevención y cura de enfermedades o reducción de riesgo de dolencias, son más difíciles de probar. Todavía es necesario un mayor trabajo de investigación pues no hay suficientes antecedentes que permitan hacer afirmaciones científicas aunque es cada vez más amplio el conocimiento científico que

correlaciona en forma benéfica las funciones de varios componentes alimenticios (nutrientes y no nutrientes) con la prevención y el tratamiento de enfermedades específicas (Rinaldi, V. y Mingo Arechederra, T., 2001).

Puede concluirse que existen áreas que deben ser exploradas. Tales áreas podrían incluir:

- ❖ El estudio y la revisión completa de los avances en el área de alimentos funcionales.

- ❖ Determinación de la naturaleza y del tipo de las interacciones entre los nutrientes y los componentes no nutritivos de los alimentos y el organismo humano, a fin de establecer su valor.

- ❖ Estudio del mercado mundial para alimentos funcionales haciendo hincapié en el impacto económico de los productos que se desarrollen, en función del consumidor.

- ❖ Estudio de las tecnologías relacionadas para el desarrollo de nuevos productos de beneficio y aceptabilidad por parte del consumidor.

- ❖ Caracterización científica de la interrelación entre los componentes funcionales y las enfermedades; y del mecanismo de acción de esos componentes en los procesos patológicos.

- ❖ Estudio de los límites impuestos por los conceptos científicos y por las regulaciones (Vasconcellos, J. A., 2001).

1.2- Fibra Dietaria

Las fibras dietarias consisten en una gran variedad de sustancias. Es importante destacar que las fibras sólo se obtienen de alimentos derivados de las plantas. Los alimentos de origen animal no contienen fibras de este tipo.

Cuando hablamos de Fibra Dietética nos referimos principalmente a los polisacáridos de la pared celular de las plantas que no son digeridos por secreciones endógenas del aparato digestivo humano.

Existen dos tipos de fibras: soluble e insoluble. Ambas generan diferentes efectos en el organismo del hombre. La mayoría de las plantas contienen los dos tipos de fibra, aunque sea, en general, la fibra insoluble la que se encuentra en mayor proporción.

Entre las fibras solubles encontramos gomas, mucílagos, algunas pectinas y algunas hemicelulosas. Entre los alimentos que contienen alto contenido en fibra soluble se pueden mencionar avena, cebada, legumbres y algunos vegetales tales como papa y batata. Los demás cereales, frutas y vegetales contienen pequeñas cantidades de fibra soluble.

Las fibras insolubles incluyen lignina, celulosa, y algunas hemicelulosas y pectinas (Meister, 1996).

1.2.1- Interés Histórico

Dos generaciones atrás, este tipo de alimento era conocido, principalmente, por su papel en la prevención de la constipación, pero no era considerado para ningún otro propósito.

Sin embargo, por los años 70', los científicos Denis Burkitt y Hugh Trowell sugirieron que la fibra podría llegar a tener mayores beneficios. Ambos médicos británicos, pasaron gran parte de sus carreras profesionales investigando en África. Estos notaron que un grupo de enfermedades -incluyendo enfermedades coronarias, diabetes, cálculos renales, divertículos, apendicitis, hernia de hiato, hemorroides, varices, constipación crónica y cáncer de colon- eran comunes entre las poblaciones de países occidentales técnicamente avanzados, y poco comunes en poblaciones rurales africanas. Estos médicos advirtieron que el alto contenido de fibra en las dietas de sus

pacientes africanos era la causa del bajo índice de estas enfermedades encontrado, con respecto al que se observaba en países occidentales (Selvendran y Verne, 1990).

Burkitt y Trowell, en 1975, recopilaron toda la información disponible en un texto donde se encuentra el primer postulado de la hipótesis de la fibra dietética:

“dietas ricas en alimentos que contengan constituyentes de la pared celular de las plantas previenen muchas enfermedades que muestran predominancia en las culturas occidentales tales como obesidad, diabetes, enfermedades coronarias, cálculos renales, diverticulosis y cáncer de colon” (Johnson y Southgate, 1994)

Las hipótesis de Fibra Dietética propuesta por estos médicos casi tres décadas atrás es de gran interés para los científicos de hoy. A medida que los conocimientos en fibras fueron creciendo, sin embargo, se hizo más claro que la relación entre salud y fibra no es tan directa, como ellos creyeron en un principio.

Una de las razones por las cuales es tan difícil descifrar cuales son los efectos de la fibra dietética es que ésta es una mezcla compleja de sustancias, no una entidad química simple. Además, ésta no se consume aislada, y los alimentos ricos en ella contienen una gran variedad de otras sustancias, algunas de las cuales podrían prevenir enfermedades.

1.2.2- Composición Química

Los compuestos identificados como fibra se encuentran en mayor cantidad en la pared celular. Algunos de los compuestos son parte del cemento intracelular (Olds Schneeman, B., 1986). Otros son secretados por las plantas en respuesta a injuria, y otros previenen degradación por desecación. Si nos basamos en sus funciones dentro de la planta, la fibra dietaria puede dividirse en tres fracciones principales:

Polisacáridos Estructurales: están asociados con la pared celular e incluyen polisacáridos no celulósicos (hemicelulosa y algunas pectinas) y celulosa.

Sustancias no polisacáridos pero que cumplen función estructural: incluyen predominantemente lignina.

Polisacáridos no estructurales: incluye las gomas y mucílagos, secretados por las células, y polisacáridos, tales como carragenano y agar de algas (Southgate, 1976, 1982).

La distribución promedio de las tres fracciones encontradas en cereales, vegetales y frutas está dada en la tabla 1.1. De todos los alimentos, los polisacáridos no

Contenido de fibra dietaria (%)			
Alimento	Polisacárido		
	No celulósico	Celulosa	Lignina
Cereales, 8 muestras			
Promedio	75,7	17,4	6,7
Rango	71-82	12-22	Tr-15
Vegetales crudos, 11 muestras			
Promedio	65,6	31,5	2,98
Rango	52-76	23-42	Tr-13
Frutas, 10 muestras			
Promedio	62,9	19,7	17,4
Rango	46-78	9- 33	1-38

Tabla 1.1- Porcentaje de fibra dietaria aportada por los cereales, vegetales crudos y frutas (Southgate, 1976).

celulósicos se presentan en mayor proporción que la celulosa y la lignina. Frutas y vegetales tienden a tener niveles más altos de celulosa que los cereales. Algunas frutas, las cuales se consumen en estado maduro, como por ejemplo las frutillas, tienen una gran proporción de lignina. La composición de fibras de las plantas varían con las distintas especies, con la parte de la planta, y con el estado de madurez. Los contenidos de lignina y celulosa, por ejemplo, generalmente aumentan significativamente cuando el fruto está maduro.

La tabla 1.2 describe los compuestos químicos encontrados en varias fibras. El más simple es el polisacárido CELULOSA que es un polímero de glucosa sin ramificaciones con uniones beta 1-4. Es el principal componente de las paredes celulares de las plantas.

Los polisacáridos no celulósicos están basados en una variedad de carbohidratos, y pueden contener un alto grado de ramificaciones. Las estructuras de los principales polisacáridos se muestran en la figura 1.

Compuestos químicos	Cadena Principal	Cadenas laterales
Polisacáridos		
<u>Celulosa</u>	Glucosa	No Posee
<u>No Celulósicos:</u>		
Hemicelulosa	Xilosa Manosa Galactosa Glucosa	Arabinosa Galactosa Ac. Glucurónico
Sustancias Pécicas	Ac. Galacturónico	Ramnosa Arabinosa Xilosa Fucosa
Mucílagos	Galactosa-manosa Glucosa- manosa Arabinosa- xilosa Ac. Galacturónico-ramnosa	Galactosa
Gomas	Galactosa Ac. Glucurónico- manosa Ac. Galacturónico- ramnosa	Xilosa Fucosa Galactosa
Polisacáridos de algas	Manosa Xilosa Ac. Glucurónico Glucosa	Galactosa
Sustancias No Polisacáridos		
Lignina	Sinapil alcohol Coniferil alcohol p- cumaril alcohol	

Tabla 1.2- Clasificación de los compuestos químicos de la fibra dietaria (Olds Schneeman, B., 1986).

La PECTINA, está compuesta primariamente por ácido galacturónico, sin embargo puede tener otros carbohidratos unidos a él. La metilación parcial de los grupos carboxilos sobre el ácido galacturónico le confiere importantes propiedades a las sustancias pécticas. Las pectinas son encontradas como parte de la pared celular y como cemento intercelular.

La HEMICELULOSA, es un grupo heterogéneo que contiene varios azúcares distintos en su cadena principal y otros en sus cadenas laterales. Es soluble en álcali diluído, la hemicelulosa exhibe una gran solubilidad, que está asociada, con un alto grado de ramificaciones (Olds Schneeman, B., 1986).

La LIGNINA PURIFICADA, es un polímero complejo el cual contiene unidades de fenilpropano derivadas de sinapil, coniferil, cinamil y cumaril alcoholes, no se muestra en la figura 1

1.2.3- Propiedades Físicas

La fibra dietaria posee varias propiedades físicas que son muy importantes porque determinan ciertas respuestas fisiológicas. Algunas de estas propiedades son:

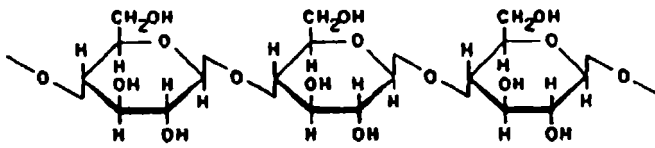
Degradación Bacteriana: La fibra dietaria no puede ser enzimáticamente degradada por el intestino delgado de los mamíferos. Sin embargo, es fermentable en distinto grado en el intestino grueso. Por ejemplo, pectinas, mucílagos, y gomas parecen ser completamente degradados, mientras que la celulosa es solamente parcialmente degradada.

Hay que tener en cuenta que el grado de ruptura puede estar relacionado con la estructura física de la planta: fibras de frutas y vegetales parecen ser más fermentables que la de los cereales y granos.

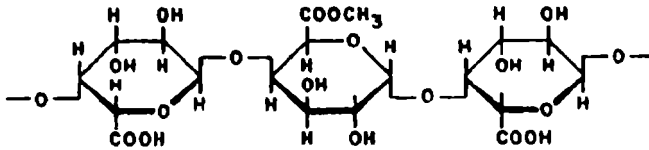
El grado de degradación bacteriana tiene varias consecuencias importantes:

- 1) Las cadenas cortas de ácidos grasos producidas pueden influenciar las respuestas fisiológicas a la fibra (Pomare y col., 1985).
- 2) Los procesos de fermentación pueden bajar el pH del intestino grueso y pueden afectar el metabolismo microbiano
- 4) Las células bacterianas pueden contribuir significativamente al peso de la materia fecal y por consiguiente al volumen de la materia fecal.

CELLULOSE

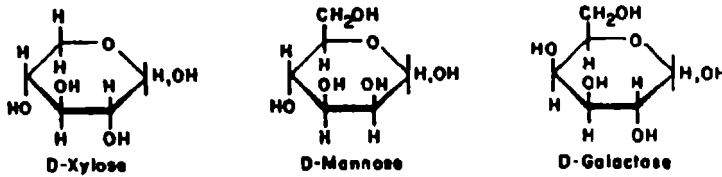


PECTIN



HEMICELLULOSE (major component sugars)

a) Backbone Chain



b) Side Chains

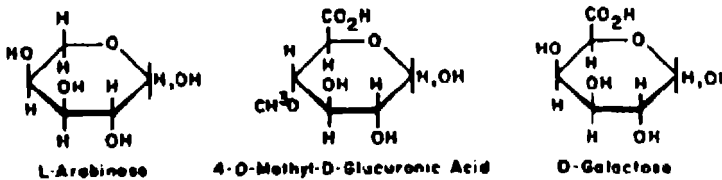


Fig. 1.1- Estructuras Químicas de los Polisacáridos de las Fibras Dietéticas (Olds Schneeman, B., 1986).

Capacidad de Retención de agua: Se pone de manifiesto en aquellos polisacáridos que tienen restos glucídicos con grupos polares libres. Las pectinas, mucílagos y algunas hemicelulosas poseen una gran capacidad de retención de agua. La hidratación de las fibras resulta en la formación de un gel. Esto puede ocasionar una alta viscosidad en el contenido del intestino delgado y tener efectos importantes sobre la absorción del intestino delgado. Presumiblemente, la difusión de nutrientes para su absorción puede disminuir porque hay partición de los mismos entre el gel y el medio acuoso del intestino, y por el aumento de la viscosidad del contenido intestinal. También, la capacidad de retención de agua está relacionada con el aumento del volumen fecal, pero esta asociación no es tan fuerte debido a la degradación bacteriana de fibra dentro del colon.

Absorción de moléculas orgánicas: Se refiere a ácidos biliares, colesterol y compuestos tóxicos. Estudios in vitro han demostrado que la lignina absorbe ácidos biliares. Pectinas y polisacáridos ácidos también parecen secuestrar ácidos biliares. La celulosa tiene, en contraste, pequeña habilidad de unión de ácidos biliares. La absorción de ácidos biliares se mide in vivo como la habilidad para incrementar los ácidos biliares en la materia fecal y la excreción de esteroides. La habilidad de incrementar la excreción de ácidos biliares en materia fecal ha sido correlacionada con la disminución de colesterol en plasma, por efecto de ciertos polisacáridos no celulósicos solubles, tales como pectina y goma guar. Sin embargo, la capacidad de algunas fibras de unir compuestos tóxicos, no ha sido extensamente estudiada.

Intercambio de cationes: La reducción de la disponibilidad de minerales y la absorción de electrolitos asociadas con algunas dietas ricas en fibras, son indudables debido a la unión de minerales y electrolitos a la matriz de fibra. El número de grupos carboxilo libres en los residuos de azúcar y el contenido de ac. urónico de los polisacáridos parecen estar relacionados con las propiedades de intercambio de cationes de las fibras (Olds Schneeman, B., 1986).

Se han realizado estudios en humanos adicionando fibra a la dieta para estudiar la biodisponibilidad de hierro, zinc y calcio. Los resultados son dispares y dependen de la cantidad de fibra incorporada a la dieta. En lo que respecta al balance de hierro, cuando se adiciona fibra en baja proporción, tanto como 7 g/día no se observan cambios, sin embargo se ha encontrado que ha a niveles de 16 g/día aparentemente se incrementa la absorción de hierro, en cambio a niveles mayores como 22 g/día disminuye el balance de hierro. En cuanto al balance de zinc, a niveles de 7 g/día, los niveles en suero fueron normales, sin embargo a mayores niveles, los balances de zinc fueron negativos. Con respecto al balance de calcio, cuando se adicionaron a la dieta 7 g/día de fibra, no se alteraron los niveles de calcio en suero; en cambio con un mayor contenido de fibra de 22 g/día se produjo un balance negativo del calcio (Toma R. B. y Curtis D. J., 1986).

1.2.4- Oligosacáridos

Los oligosacáridos son un grupo de sustancias importantes utilizadas en los alimentos funcionales. Existen tres grupos específicos: los fructo-oligosacáridos (FOS),

los galacto-oligosacáridos (GOS) y la inulina. En los últimos tiempos el interés en estas sustancias ha aumentado considerablemente.

El objeto principal de las investigaciones que se están llevando a cabo sobre estas sustancias se centra en la caracterización y producción de oligosacáridos no digeribles (NDO's) y el efecto de éstos en la salud.

Los NDO's pueden ser considerados como fibra dietética debido a la total correspondencia con la definición de fibra dietética tanto desde un punto de vista bioquímico como del nutricional y fisiológico.

A partir de esto podemos formular una nueva definición de fibra dietética:

“la fibra es la parte de los oligo y polisacáridos y de sus derivados que no pueden ser descompuestos por las enzimas digestivas humanas para que sus componentes puedan ser absorbidos en el tracto intestinal superior. Incluye la lignina.”

Diferentes estudios han revelado el efecto de los oligosacáridos sobre la microflora intestinal. La ingestión de éstos promueve el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos (ver pag. 21 a 27), por lo tanto compiten con las bacterias menos favorables llevando a un cambio en la composición de la flora (Tomamatsu, H., 1994).

1.2.5- Fibra Dietética: prevención de enfermedades y promoción de la salud

Constipación

El efecto beneficioso más ampliamente aceptado es el de aliviar la constipación. En conjunto con otras terapias, la fibra es también usada para tratar la constipación crónica en la niñez.

La fibra actúa absorbiendo agua mientras transita por el aparato digestivo, aumentando la masa de las heces. El uso de fibra es seguro siempre que el paciente aumente el consumo de líquidos. La fibra, especialmente la insoluble, actúa como una esponja, absorbiendo grandes cantidades de agua. Si la ingesta de líquidos es baja, la fibra puede aumentar la constipación e incluso producir una obstrucción del colon. Por esta razón se sugiere a la gente que desea aumentar su ingesta de fibra que deben tomar al menos medio litro de agua adicional diariamente (Meister, 1996).

Para que el tránsito intestinal sea el correcto es necesario un adecuado consumo de agua y un colon lubricado (adecuada producción de mucus). Bajo condiciones

normales, el colon gradualmente se deshace del agua remanente y forma la masa fecal, la cual se mueve hacia el recto como el resultado de una onda de presión suave. Si alguno de los dos factores no se encuentra adecuadamente y en personas que ingieren fibra en baja proporción, se genera una masa fecal dura, seca y pequeña, la cual se pega a la pared seca del colon, requiriendo que se desarrolle una onda de alta presión para ser removida. Esto puede pasar durante años, hasta que el colon no pueda generar tanta fuerza y requiera ayuda para poder hacerlo, y los músculos abdominales comienzan a dar esa fuerza necesaria. Esto es lo que comúnmente se conoce como estreñimiento, lo cual origina una presión en las paredes abdominales, ayudando el desarrollo de hernias, várices (debido a la presión a lo largo de las venas de las piernas), hernia de hiato (debido a una presión ascendente que fuerza al estómago dentro del pecho), diverticulitis, diverticulosis y hemorroides (Meister, 1996).

Cuando el consumo de fibras es el adecuado, éstas, comportándose como millones de pequeñas partículas que atraen al agua, se mezclan con la masa fecal. Cada una de ellas absorbe líquido, dándole a las heces la forma y la humedad requerida para que puedan ser removidas fácilmente por el colon.

Diverticulosis

Los divertículos son pequeñas proyecciones con forma de dedo en la pared del colon. Se ha estimado que un tercio de los norteamericanos mayores de 45 años y dos tercios de todas las personas mayores a 85 años tienen divertículos en su colon. En la mayoría de los casos no presentan síntomas.

La diverticulosis no presenta serios problemas. En algunos individuos, sin embargo, los divertículos se inflaman provocando diverticulitis acompañado de fuertes dolores. Su tratamiento puede llegar a necesitar hospitalización, antibióticos y hasta intervención quirúrgica (Meister, 1996).

Los médicos les recomiendan a sus pacientes que aumenten el consumo de fibra, porque puede aliviar la constipación y otros síntomas padecidos por personas con diverticulosis. Algunas evidencias científicas indican que una dieta con alto contenido en fibra puede prevenir el desarrollo de la diverticulosis.

Los resultados de un largo estudio hecho en Estados Unidos sostienen la idea que la fibra tiene un efecto preventivo en contra de esta enfermedad. Este estudio, el cual involucró más de 40.000 personas de edad media a ancianos, demostró que

aquellos con una alta ingesta diaria de fibra tenían menores riesgos de padecer diverticulosis sintomática (Meister, 1996).

Cáncer de Colon

Se supone que altos consumos de fibra reducen el riesgo de contraer cáncer de colon, uno de los tipos de cáncer más comunes en sociedades occidentales.

Desde 1970, un gran número de estudios se han estado llevando a cabo para descifrar el rol de la fibra dietética en el cáncer de colon, con resultados consistentes sugiriendo una reducción del riesgo con un aumento en el consumo.

En la actualidad aún no se sabe cuál es el verdadero rol de las fibras en la prevención de este tipo de cáncer y existen varias hipótesis al respecto. Una de ellas, es que el consumo de fibras genera un aumento de la masa de las heces, permitiendo, de esa manera diluir sustancias cancerígenas presentes en estas. Otra posibilidad es reduciendo el tiempo de residencia en el aparato digestivo, minimizando por lo tanto el tiempo de contacto de agentes cancerígenos con las paredes del colon. Por último existe otro mecanismo más complejo que involucra cambios metabólicos de ácidos biliares potencialmente peligrosos o la producción de sustancias protectoras generadas por la fermentación bacteriana de las fibras (Meister, 1996).

Cáncer de Mamas

La mayoría de los estudios científicos en fibras y cáncer están orientados al cáncer de colon, pero existe también un gran interés en la posibilidad de que un alto consumo de fibras tenga influencia en el cáncer de mamas. Se ha sugerido que altas ingestas podrían reducir el riesgo de cáncer de mamas por la reducción del nivel de hormonas femeninas, estrógeno, pero es simplemente una hipótesis, ya que la investigación se encuentra en los primeros pasos.

Se han llevado a cabo varios estudios con pacientes bajo control en diversas poblaciones alrededor de todo el mundo, concluyendo en una disminución del riesgo de cáncer de mamas asociada con un aumento de fibra dietética en la ingesta diaria. Se han sugerido numerosos posibles mecanismos de acción, todos incluyendo una reducción del nivel de estrógeno bioactivo en la sangre (Stoll, 1996).

Para conocer la relación entre la fibra dietética y el cáncer de mamas, De Stefani y col. (1997), realizaron un estudio involucrando 351 pacientes recientemente diagnosticados con cáncer de mamas y otros 356 pacientes hospitalizados. Les fueron proporcionadas unas dietas estrictamente controladas con largos cuestionarios, permitiendo así el cálculo de la energía total consumida por éstos. Los nutrientes residuales fueron analizados.

Después de tener a todos los pacientes bajo condiciones controladas (edad, vivienda, antecedentes familiares de cáncer y de enfermedades benignas de mamas, maternidad, energía total, carnes rojas, y menopausia), se determinó que las fibras dietéticas estaban asociadas con un fuerte descenso en el riesgo de cáncer de mamas. El resultado se observó en mujeres tanto pre como pos-menopáusicas, y era similar para fibras solubles e insolubles.

Nivel de Colesterol en sangre

El efecto de la fibra dietética en el nivel de colesterol en sangre ha sido motivo de discusión durante los últimos años. En un principio se creyó que ciertas fuentes de fibra, especialmente la avena, tenían efectos milagrosos. Pero este entusiasmo inicial fue seguido por una fuerte desilusión cuando estudios científicos probaron que el efecto de la fibra no cumplía con las expectativas puestas en ella. Las investigaciones en este tema, sin embargo, continuaron hasta que a mediados de los 90' s se acumuló suficiente información como para que los científicos concluyeran que el rol de la fibra en este tema caía en algún punto intermedio entre estos extremos.

Diversos estudios realizados demostraron que algunos tipos de fibras sí tenían como consecuencia una disminución en el nivel de colesterol. Este efecto es específico a ciertos alimentos y suplementos ricos en fibras solubles, tales como salvado y harina de avena, pectinas, goma guar, psyllium (fibra natural extraída de la cáscara de la semilla de una planta del género *Plantago* que crece principalmente en el borde del mediterráneo y en la India) y legumbres (Ripsin y col., 1992; Cerda y col., 1988; Glore y col., 1994). Salvado de trigo y celulosa no reducen el nivel de colesterol.

La acción de la fibra en este problema es imperceptible, por lo que se requiere grandes dosis basadas en dietas diarias para obtener la respuesta deseada. Un plato ocasional de avena no será la solución, en cambio una ingesta diaria regular de

productos con avena o psyllium producirá una disminución del nivel de colesterol del 2 ó 3 % (con considerable variación según la persona).

Pero este tipo de productos no debe ser visto como una opción de dieta reductora de colesterol, ya que su efecto no es lo suficientemente poderoso como para ser usado de ese modo. Sin embargo, pueden ser efectivamente utilizados como suplemento de una dieta convencional para el tratamiento del colesterol. Investigaciones recientes señalan que un refuerzo en el consumo de las fibras apropiadas puede guiar a una disminución del colesterol en adición a la provocada por la dieta baja en grasas. Y esta reducción no es un fenómeno temporal sino que éste persiste en pacientes que consumen suplementos dietarios. En tal sentido Anderson y col. (1988) advirtieron que esta fibra, psyllium, funcionaba mejor en pacientes con un alto nivel de colesterol, con descensos de hasta el 25%.

En un principio se creía que el efecto beneficioso se debía meramente al reemplazo de carbohidratos ricos en fibra por alimentos saturados en grasas y colesterol. Pero la evidencia de numerosos estudios indicó que este no era el único factor, ya que en ese caso cualquier tipo de fibra debería tener el mismo efecto, y esto no es así.

La fibra actúa uniendo el colesterol y la bilis en el aparato digestivo, previniendo su reabsorción y su recirculación. Si el colesterol absorbido es menor, su nivel en sangre disminuye. El hígado produce bilis del colesterol y si más de esta se pierde en el intestino, mayor será la cantidad de colesterol que utilice el hígado para reemplazarla, resultando nuevamente en un menor nivel de colesterol. Al mismo tiempo, la fermentación de las fibras solubles en el intestino produce ácidos grasos de cadena corta, los cuales bloquean la síntesis de colesterol.

Enfermedades coronarias

Numerosos estudios han sido realizados acerca de este tema. En general las conexiones entre el consumo de dietas altas en fibra y la disminución de riesgos de enfermedades coronarias son importantes. Sin embargo, están basadas en el funcionamiento de las fibras a través de distintas respuestas: obesidad, coagulación de la sangre, nivel de colesterol en sangre, nivel de insulina, o por efecto directo en el desarrollo de la aterosclerosis.

Marckmann P. y col. (1994), realizaron un estudio en Inglaterra. Suministraron a un conjunto de 21 individuos de edad media dos dietas diferentes: una baja en grasas y

alta en fibras (28 % energía) y otra alta en grasas (39 % energía). Después de dos semanas los resultados revelaron que la primer dieta tenía efectos reductores sobre el LDL (*low density lipoprotein*), sobre el HDL (*high density lipoprotein*), y sobre los triglicéridos de tránsito rápido por el sistema digestivo. Además se pudo comprobar que esta dieta disminuía la actividad coagulante y aumentaba la actividad del plasma fibrinolítico.

Diabetes

Durante los 80's se sospechó que el nivel de glucosa en sangre podría ser disminuido incluyendo fibras, especialmente solubles, en la dieta. La Asociación Americana de Diabetes (ADA), recomendaba el consumo de 40 g por día a personas con diabetes. Sin embargo, con el tiempo se hizo evidente que la ingesta de fibras en este tipo de pacientes debía ser aún mayor. Asimismo sólo unos pocos tipos de fibra viscosa soluble (como la goma guar) eran efectivos.

Numerosos estudios se han realizado acerca de este tema. Cameron-Smith y col. (1997) realizaron un estudio en ratas, comparando el resultado obtenido en éstas, usando fibras solubles (goma guar) e insolubles (salvado de trigo). El experimento manifestó la efectividad de la goma guar sobre la fibra insoluble.

Al mismo tiempo se efectuaron otros estudios (Pick y col., 1996; Gatenby y col., 1996; Chandalia y col., 2000), esta vez sobre personas, todos ellos indicando una mejora en las respuestas glucémicas, insulinémicas y lipidémicas, como descensos del nivel de glucosa e insulina en el plasma.

Un estudio realizado por Ludwing (1999) durante 10 años y concluido en 1999 revela que la ingesta de fibra dietética reduce la secreción de insulina retardando la velocidad de absorción de nutrientes después de cada comida. Esta experiencia se efectuó sobre 2909 pacientes tanto blancos como negros, de entre 18 y 30 años. Los pacientes fueron llevados a condiciones controladas (nivel de insulina, peso corporal, lípidos en sangre, etc.) y se adquirieron muestras a los 2, 5, 7 y 10 años. Los investigadores postularon que la fibra dietética podría prevenir hiperinsulinemia reduciendo los niveles de insulina y previniendo la obesidad asociada con la resistencia a la insulina.

Está confirmado que altos niveles de insulina se hallan relacionados con el aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Por lo tanto, podemos concluir que dietas bajas en fibras incrementan el riesgo de individuos con diabetes, ya que son energicamente más densas y promueven la obesidad. La fibra retarda el proceso por el cual los alimentos (glucosa) transitan por el intestino delgado siendo absorbidos en la corriente sanguínea.

Control de peso

Normalmente los alimentos ricos en fibra son de bajo contenido calórico y de bajo contenido en grasas también, los cuales producen una sensación de saciedad en el estómago, al menos provisoriamente. Por estas razones, cuando una persona se encuentra haciendo dieta para bajar de peso se le aconseja incluir en ésta alimentos de alto contenido en fibras (Meister, 1996).

Las fibras estimulan la secreción de ciertas hormonas, las cuales advierten al cerebro que ya hemos comido demasiado, brindándonos una sensación de saciedad.

De todos modos, el control de peso es algo que concierne a nuestro estilo de vida. Existen diversas formas de bajar de peso, distintos tipos de dietas, generalmente cortas; pero el verdadero desafío es el de mantenernos estables por un largo tiempo. Desafortunadamente, no existen estudios que demuestren que la fibra es también eficaz en el mantenimiento de nuestro peso durante largos períodos de tiempo.

1.2.6- Fibras y Nutrición

Para la mayoría de las enfermedades y problemas antes mencionados, se ha demostrado que los efectos beneficiosos provienen de las dietas altas en fibra, más que de las fibras solas. Por esta razón es que es aconsejable aumentar el consumo de fibra aumentando el consumo de cereales, legumbres, vegetales y frutas.

El valor recomendado de consumo de fibra es de 25 g por día por persona, consumiendo 2000 Kcal diarias, o 30 g con 2500 Kcal. En las dietas occidentales lograr ese objetivo implica un cambio sustancial en sus hábitos, ya que el consumo promedio es de 13 g por día (Meister, 1996).

1.2.7- Potenciales peligros de la Fibra Dietética

El consumo de cantidades moderadas de fibra es generalmente seguro. Sin embargo, existe la posibilidad de que excesivas cantidades de fibra repercutan de un modo adverso en nuestra salud.

Mucha gente ha advertido trastornos gastrointestinales, tales como gases, flatulencias y diarrea. Sin embargo, estos síntomas desaparecen a medida que el cuerpo se adapta a elevados consumos de fibra. Como ya fue mencionado, aquellos que quieran incrementar la cantidad de fibra en su dieta diaria deberán reforzar su consumo de agua para evitar constipación y obstrucción intestinal.

Existen casos poco usuales de reacciones alérgicas y obstrucciones de esófago en algunos individuos (Meister, 1996).

1.2.8- Fibras en la niñez

Recientes informes científicos han sugerido modificar las dietas de los niños incrementando las cantidades de fibra (Williams, 1995). Estas son valiosas, ya que ayudan a prevenir la constipación, un problema muy común en la niñez (Dwyer, 1995). Asimismo lograría acostumbrar a los niños a ciertos hábitos que podrían reducir el riesgo de enfermedades crónicas en la adultez.

Es importante, sin embargo, ser muy cauteloso en las modificaciones de sus dietas. A diferencia de los adultos, los niños precisan crecer y desarrollarse. Sus necesidades esenciales de calorías y nutrientes para poder llevar un normal crecimiento deben estar por encima de la posibilidad de prevenir enfermedades varias décadas más tarde.

Diversos estudios se han realizado respecto a este tema (Williams, 1995). La recomendación de la ingesta de fibras fue desarrollada en base a la edad y peso corporal: 0,5 g de fibra dietética por kg ó para niños mayores de tres años, la edad más 5 g por día.

1.3- Yogur

Aún hoy, no hay datos definitivos acerca del origen del yogur, sin embargo se cree que fue en el oriente medio, como forma de conservar la producción de leche estacional de los pueblos nómades. Por cerca de 4000 años en varias partes del mundo el hombre ha producido y consumido yogur. Sin profundizar en los orígenes históricos del yogur, se desea poner aquí en evidencia cuales son los parámetros que han determinado que en nuestros tiempos se consuma y se lo aprecie como alimento.

El yogur es una fuente de proteínas de alta calidad biológica, calcio, fósforo, magnesio, niacina y vitamina B12. Desde que los productores agregan leche en polvo descremada a sus formulaciones, este alimento contiene más calcio y proteínas que la leche (K. J. Decker, 2001), sin embargo, la característica nutricional principal del yogur se relaciona con la presencia de las bacterias lácticas específicas, *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*. Estas bacterias lácticas desarrollan una función tecnológica en cuanto transforman, a través de la acidificación, la leche en yogur, y una función nutricional influyendo en modo favorable sobre el organismo (Biachi Salvadori B.y col, 1994).

Función Tecnológica: El *Lactobacillus bulgaricus* es una bacteria láctica homofermentativa que se desarrolla bien entre unos 45 y 50 °C, acidificando fuertemente el medio. Puede formar hasta un 2,7 % de ácido láctico en la leche. El *Streptococcus termophilus* se multiplica bien entre 37 y 40 °C, pero también se desarrolla a 50 °C. Es una especie homofermentativa termorresistente que sobrevive a un calentamiento a 65 °C durante 30 minutos. Es mucho menos acidificante que la especie precedente.

Ambos gérmenes son microaerófilos y soportan muy bien los medios ácidos (pH de 4 a 4,5). En el yogur viven en estrecha simbiosis. En efecto, cuando se cultivan conjuntamente, producen más ácido láctico que cuando crecen en forma aislada. El *L. bulgaricus* favorece el desarrollo del *S. termophilus* (Biachi Salvadori B.y col, 1994).

Al comienzo de la fabricación, el pH de la leche es favorable a los estreptococos y éstos predominan y ponen en marcha la fermentación láctica. Al progresar la acidificación, el pH de la leche se vuelve poco favorable para los estreptococos, que progresivamente son reemplazados por los lactobacilos.

De la recíproca estimulación en el crecimiento, se obtiene una fermentación más veloz de la lactosa hacia la formación de ácido láctico, que modifica la concentración

hidrogeniónica y desestabiliza las micelas de caseína, las cuales precipitan en forma completa a pH 4.6, formando el característico gel láctico del yogur. El proceso de preparación industrial prevé el tratamiento mediante calor de la leche para eliminar los microorganismos indeseados, para reducir el potencial de óxido-reducción y para preparar las proteínas en una forma que permita ser atacada por las proteasas de las bacterias lácticas. La incubación se lleva a cabo a 42 – 45°C por un tiempo de aproximadamente 6 a 7 horas, durante las cuales la población láctica se multiplica alcanzando valores superiores a $5 \cdot 10^8$ bacterias/g (Biachi Salvadori B.y col, 1994).

Luego de la fermentación se procede a un enfriamiento hasta 4°C, temperatura que garantiza la conservación del yogur y la supervivencia de las bacterias lácticas por un mes.

El aroma característico del yogur fue atribuido, al principio, exclusivamente al desarrollo de los estreptococos. Sin embargo se ha insistido en la importancia de los lactobacilos a este respecto. El *acetaldehído* sería uno de los principales componentes del aroma del yogur (Veisseyre, 1972).

Función Nutricional: Las bacterias lácticas del yogur, a través de su actividad metabólica, además de ácido láctico forman complejos vitamínicos del grupo B y elaboran una serie de compuestos como péptidos, aminoácidos, ácidos grasos libres, acetaldehído, acetoína y ácido fórmico, que junto al ácido láctico confieren al yogur el característico aroma y gusto refrescante.

El ácido láctico que asimila el organismo prepara un ambiente intestinal favorable para el desarrollo de la microflora entérica y la actividad de las vitaminas B y C. También mejora la asimilación de elementos como el calcio que, presentándose en forma iónica, está disponible más fácilmente.

El ácido láctico, disociando los grupos de fosfato de calcio ligados a la caseína hace precipitar la proteína bajo la forma de un coágulo suave con una estructura “predigerida”, que puede ser fácilmente atacada por los jugos gástricos y, por lo tanto, volverse más digerible. Dado que la velocidad de tránsito del coágulo a través del tracto intestinal es baja, la absorción de las sustancias nutritivas, como por ejemplo los aminoácidos, se desarrolla de un modo mejor respecto a lo que ocurre cuando son asimilados directamente a partir de la leche (Biachi Salvadori B.y col, 1994).

El coágulo a nivel del estómago es muy similar al de la leche materna, por la digestibilidad y biodisponibilidad de muchos de sus constituyentes nutritivos.

La materia grasa se vuelve más digerible, sea por una homogeneización previa de la leche, como por la discreta lipólisis debida a las bacterias lácticas.

Ambas bacterias lácticas producen polisacáridos extracelulares que otorgan al coágulo mayor viscosidad, y que en el organismo son activos hacia ciertos tumores y en la reducción de la hipertensión.

La **acción equilibrante** del yogur a nivel intestinal es un hecho muy importante a los fines nutricionales. La ingesta de yogur en los adultos determina un aumento de la flora láctica acidificante, y en niños la flora láctica, con mayor presencia de *L. acidophilus*, *L. casei*, y de la flora bifida (Biachi Salvadori B.y col, 1994).

Las bacterias lácticas se encuentran naturalmente presentes en el tracto intestinal del hombre y los animales, en elevada concentración ($10^6 - 10^8/g$) formando parte de la microflora “indígena” del mismo. En particular, las especies de bacterias lácticas predominantes en este hábitat son:

Género *Lactobacillus*: *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius*.

Género *Enterococcus*: *E. faecium*.

Sin embargo, la composición completa de la microflora intestinal resulta poco conocida, ya que, al margen de las diferencias de especie a especie, existen muchas dificultades para identificar y clasificar el elevado número de cepas que la integran.

1.3.1- Rol Probiótico de las Bacterias Lácticas:

La inmensa reserva de bacterias lácticas y de otros géneros relacionados (*Bifidobacterium*), en el tracto intestinal, no puede sino ejercer un efecto notable sobre la salud del individuo huésped, conocido como **rol probiótico**. Según la definición aprobada recientemente (2002) por la National Yogur Association (NYA) y por el International Life Science Institute (ILSI) en USA se denomina probióticos a microorganismos vivos, los cuales al ser ingeridos en suficiente número, ejercen beneficios para la salud humana más allá de la nutrición básica.

Si bien el hombre convive desde siempre con estos microorganismos, sólo recientemente se han obtenido evidencias científicas (y otras en curso de demostrarse) sobre el mecanismo de sus acciones probióticas.

Se debe tener en cuenta la diferencia con los prebióticos los cuales son sustancias químicas específicas que activan a las bacterias endógenas benéficas del

cuerpo humano. Por ejemplo, los oligosacáridos actúan como *prebióticos*, es decir como sustancias que actúan específicamente sobre bacterias endógenas. Combinándolos con la administración de *probióticos* (bacterias exógenas) se produce un efecto sinérgico sobre una gran variedad de procesos metabólicos (Tomomatsu, H., 1994).

En los comienzos del presente siglo, se dio a conocer, por primera vez, una sugestiva teoría tendiente a demostrar la existencia de una correlación entre la longevidad de los pueblos balcánicos y orientales, y el constante consumo de leches fermentadas. De acuerdo a esto, se sugirió que la implantación de ciertas bacterias lácticas en el intestino debe disminuir las reacciones patológicas en el organismo y prolongar, así, la expectativa de vida.

El yogur fue siempre considerado un alimento con efectos benéficos sobre la salud del consumidor, pero sus propiedades resultan fuertemente exaltadas si la microflora es integrada con otras especies de bacterias intestinales. La preparación de productos con leche adicionada y/o parcialmente fermentada por bacterias intestinales lácticas y no lácticas (*Bifidobacterium*) constituye, sin duda, en el sector de los alimentos frescos de consumo rápido, el mayor fenómeno de la última década.

En la actualidad, los organismos probióticos más utilizados con destino a humanos son los siguientes:

Lactobacillus acidophilus

L. casei

L. bulgaricus

Streptococcus thermophilus

Bifidobacterium bifidum

Todas las cepas de estas especies, utilizadas comercialmente son aislamientos intestinales, a excepción de *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, cuyo hábitat típico no es intestinal.

Los principales efectos que las bacterias lácticas vivas pueden ejercer sobre la salud del huésped, a partir de su presencia en el tracto intestinal son:

Protección frente a infecciones intestinales

La solución de casos de diarrea ligada al suministro de bacterias lácticas vivas (vehiculizadas, por ejemplo, en leches fermentadas), o la prevención de las mismas, se ha relacionado directamente con la capacidad de estas bacterias para resistir la colonización intestinal por bacterias entéricas patógenas (*Salmonella*, *E. coli*, etc). Esta acción se atribuye a uno, o más, de los siguientes mecanismos:

- competición por los sitios receptores de adhesión al epitelio intestinal
- producción de sustancias antibacterianas (ácidos orgánicos y antibióticos)
- estimulación del sistema inmune.

Efecto hipocolesterolémico.

Estudios realizados entre 1985 y 1990 con animales confirmaron algunas observaciones anteriores que señalaban una influencia directa de cierta microflora intestinal sobre el contenido de colesterol en la sangre. La especulación es que éstas bacterias consumen colesterol (de la dieta y endógeno) en el intestino, reduciendo su absorción. La actividad anticolesterolémica es principalmente debida a *L. bulgáricus*.

Propiedades anticancerígenas.

Existe suficiente evidencia de que cepas de lactobacilos, o los productos lácteos fermentados con éstas, inhiben líneas tumorales transplantadas en animales (ratas). Las propiedades antitumorales de estas bacterias específicas se suponen basadas en:

- Inactivación o inhibición de compuestos carcinogénicos en el tracto intestinal.
- Estimulación de la respuesta inmune.
- Reducción de la actividad de enzimas de bacterias intestinales que transforman sustancias pro-carcinogénicas en carcinogénicas.

Estas propiedades antitumorales serían útiles, ya sea para prevenir la iniciación del cáncer como para la supresión del cáncer iniciado (Reinheimer, 1994).

Más datos acerca de las Bifidobacterias

La bifidobacterias es el género bacteriano principal de la flora intestinal de los pequeños lactantes. Esta aporta la protección que provee la leche humana frenando las

infecciones intestinales. Como es resistente a la bilis, posee mayor viabilidad para colonizar el intestino y sacar las enzimas que metabolizan la lactosa de su sitio de acción por un período largo de tiempo. Los adultos también tienen bifidobacterias en sus intestinos, pero en cantidades relativamente menores. Debido a sus potenciales propiedades beneficiosas existen numerosos intentos de aumentar la proporción de bifidobacteria en el colon de la población adulta por medio del desarrollo de nuevos productos valiosos como pro y prebióticos.

Efectos benéficos de la bifidobacterias

Estos efectos han sido recientemente estudiados (Tomomatsu, H., 1994; Yaeshima T., 1996). Estos van más allá de una exclusión de las bacterias patógenas, como son:

- mejoramiento de la microflora intestinal: ya fue mencionado que el consumo de estos productos aumenta la bifidobacteria reduciendo las bacterias patógenas y haciendo así un balance más sano de la flora intestinal
- protección contra infecciones intestinales por distintos mecanismos. Las bifidobacterias obstaculizan el crecimiento de potenciales bacterias patógenas vía diferentes caminos:
 - producción de ácidos grasos de cadenas cortas
 - producción de ácido láctico
 - reducción del pH del colon
 - producción de sustancias antibióticas
 - disminución de la formación de sustancias que llevan a la descomposición factores y toxinas (amoníaco, fenoles, indoles y ácidos biliares secundarios).
- prevención de la constipación, a través de la producción de altos niveles de ácidos grasos de cadenas cortas. Así, las bifidobacterias previenen la constipación estimulando la movilidad intestinal.
- reducción del colesterol: la relación entre acetato y propionato es lo importante. El acetato es conocido como promotor de colesterol, mientras que el propionato ha sido encontrado como inhibidor de éste. La relación acetato/propionato, resultado del crecimiento de estas bacterias, parece ser favorable en la reducción del colesterol.

- absorción de minerales: estudios sobre humanos y sobre animales han demostrado un aumento en la absorción de calcio y magnesio. La reducción del pH en el colon, causada por un aumento en la actividad bifidogénica, resulta en una solubilización de los elementos calcio y magnesio.
- prevención de cáncer de colon: esto se debe a las mejoras inmunológicas de las células, los componentes de la pared celular y componentes extracelulares que producen las bifidobacterias.
- producción de vitaminas B: las bifidobacterias producen y excretan las vitaminas B1, B2, B6, B12, ácido nicotínico y ácido fólico (Tomomatsu H., 1994 y Yaeshima T., 1996).

1.3.2- Elaboración del yogur

El proceso básico de manufactura del yogur ha permanecido inalterado a través de los siglos, sin embargo, la nueva tecnología incluye nuevos ingredientes como estabilizadores y mejoradores de textura, endulzantes, saborizantes y aromatizantes, y particularmente el desarrollo en bacterias lácticas.

El proceso más usado actualmente en la fabricación de yogur (Tamine y Robinson, 1985) consta de las siguientes etapas:

- * Tratamiento preliminar de la leche en el cual se realiza la estandarización de la materia grasa de la leche, fortificación con sólidos de leche y adición de aditivos como por ejemplo azúcar, estabilizadores, etc.

- * Precalentamiento de la leche a 50-60 °C.

- * Homogeneización a 2000 psi. Previene la sinéresis durante la fermentación y el almacenamiento y, en general promueve la estabilidad.

- * Tratamiento térmico de la leche que puede llevarse a cabo a 85 °C por 30 min, 90-95 °C por 5-10 min a 120 °C por 3-5 seg

- * Enfriamiento a temperatura de incubación que es para incubación corta a 42-45 °C y para incubación larga a 30 °C.

- * Inoculación con el cultivo starter. En este punto, el proceso puede ir por dos caminos, según se quiera fabricar yogur batido o yogur set (con fruta en el fondo del envase). En el primer caso, la incubación se lleva cabo en tanques, que luego de completado el tiempo requerido se enfría a 10 grados y por medio de una bomba se envía a un tanque de almacenamiento. El producto puede quedar así (yogur natural) o

puede agregársele trozos de frutas (yogur con frutas), o saborizantes y colorantes (yogur saborizado). Por último es envasado y despachado. En el caso del yogur set, primero se envasa la leche inoculada sin otro ingrediente (yogur natural) o se le agrega al envase trozos de frutas (yogur con fruta) o saborizantes y colorantes (yogur saborizado) y luego se incuba, se enfría y se despacha.

La cantidad de tiempo requerido para la fermentación varía con el cultivo usado. Usualmente se monitorea el proceso mediante la medición del pH que finaliza cuando éste llega a 4,5- 4,7. También se pueden realizar medidas de viscosidad para constatar que se ha alcanzado la textura deseada.

La principal diferencia entre yogur batido y yogur set es la textura (Foss, J. W., 2002). Luego del enfriamiento, el yogur set es firme, debido a la gelificación de la caseína en el sistema. Esta forma de fabricar el yogur es la tradicional. Debido a la firmeza del gel, frecuentemente no se usan estabilizadores, pero, también frecuentemente hay sinéresis o desprendimiento de suero cuando llega al consumidor, que además de no ser atractivo, puede ser mal interpretado como signo de deterioro. Sin embargo, el suero contiene proteínas y es nutritivo, y puede ser incorporado a la masa de yogur mezclándolo. Pueden usarse estabilizadores, pero en pequeños niveles (típicamente menos del 1%). Otra característica es que queda con una textura arenosa una vez que es mezclado.

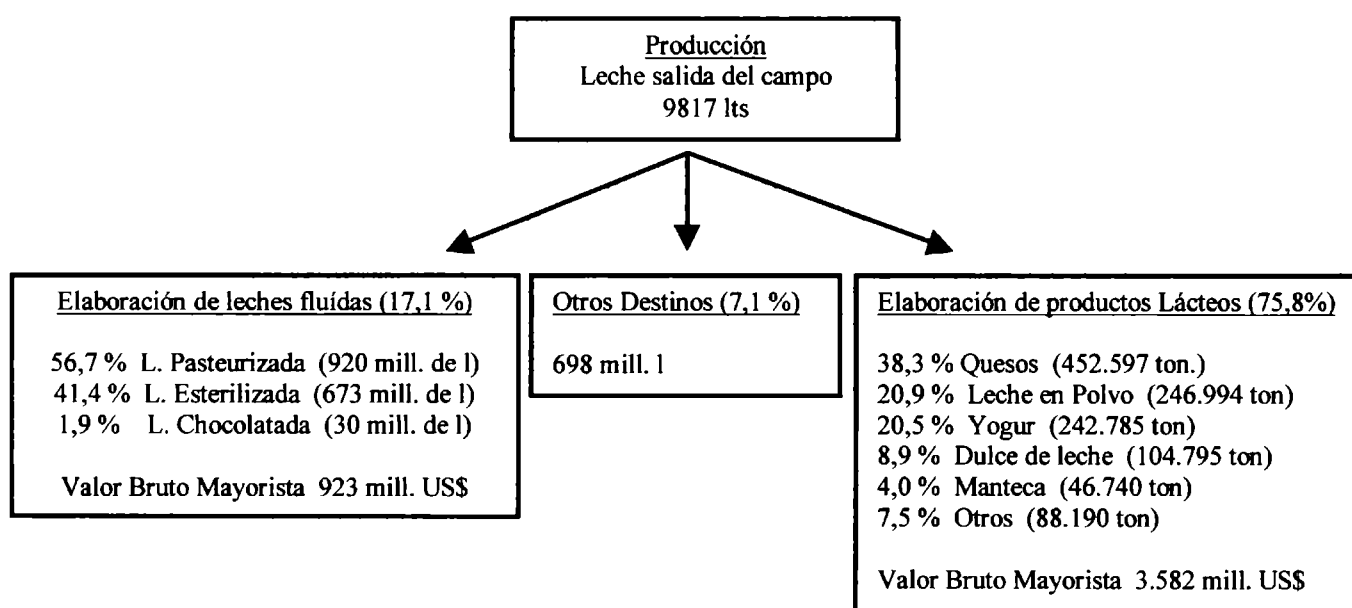
En contraste, el yogur batido es más suave y menos firme. Esto es debido a que luego de la fermentación en los tanques, el producto es bombeado hacia tanques de almacenamiento o envasado. La acción de la bomba rompe el gel proteico, lo cual resulta en un producto fluido si no se le agregan estabilizadores como almidones o gelatina. El almidón absorbe el agua y previene la separación de suero del yogur.

1.3.3- Productos lácteos en la Argentina

La Argentina exhibe una larga tradición en el consumo de productos lácteos y un nivel de ingesta por habitante (230 litros equivalentes de leche por año) comparable con el de países desarrollados. En los últimos años, la industria nacional se orientó hacia la fabricación de productos de mayor valor agregado. En la década '91/00 la fabricación de productos lácteos (también conocida como 'leche industria', en cuyo caso la leche sufre un mayor proceso de transformación) creció a una tasa del 5%, en tanto que la correspondiente a las leches fluidas (leche consumo, que se ofrecen en forma líquida al

consumidor y que incluyen las pasteurizadas, esterilizadas y chocolatadas) lo hizo a una tasa del 4,5%.

En el año 2000, la Argentina fue el quinto productor mundial de leche en polvo entera, el séptimo de quesos y el decimoséptimo de manteca y leche en polvo descremada. En el mismo año, se elaboraron 1.182.000 toneladas de productos lácteos y 1624 millones de litros de leches fluidas, incluyendo pasteurizadas, esterilizadas y chocolateras. En el rubro de leches fluidas se destaca el constante crecimiento de la participación la leche esterilizada en detrimento de la pasteurizada. La elaboración de aquella aumentó a una tasa del 31% en el decenio '91/00. En el ámbito mayorista se estima que el valor de la producción total en el 2000 fue de \$ 4.500 millones (sin IVA), de los cuales \$ 920 millones correspondieron a las leches fluidas y \$ 3580 millones a productos lácteos. Los quesos suman \$ 1.700 millones, las leches en polvo \$ 830 millones y los yogures \$ 520 millones. La leche salida del tambo totaliza 9.817 millones de litros de los cuales el 17,15 % se destina a la elaboración de leches fluidas y el 75,8% a la elaboración de productos lácteos, de los cuales el 20,5 % corresponde al yogur con 242.785 toneladas (Schaller A., 2001). Ver cuadro 1.1.



Cuadro 1.1- Elaboración de Leche y productos Lácteos en Argentina en el año 2000 (Schaller, A., 2001).

1.4- Control de Calidad en la producción de yogur

La calidad de un producto terminado puede ser definida con un amplio criterio, teniendo en cuenta características químicas, físicas, microbiológicas, o simplemente la aceptación por parte del consumidor. Por lo tanto, la calidad tiene que ser evaluada por numerosos tests de grado variable de objetividad, que en conjunto deben reunir las siguientes características:

- a) el producto debe ser sano para el consumo humano, y cumplir con las reglamentaciones vigentes en materia de salud;
- b) debe ser capaz de alcanzar su vida útil especificada sin deterioro;
- c) debe tener las características organolépticas tan altas como el productor pueda lograr.

El examen de estos puntos implica numerosos ensayos de laboratorio, pero no hay que perder de vista que, la calidad del producto final depende de la calidad de las materias primas a las buenas prácticas de manufactura de la planta de producción (Tamine y Robinson, 1985).

1.4.1- Monitoreo de Planta

Hay algunas características especiales del yogur que lo separan de los demás productos lácteos, y como consecuencia, hay que tenerlas en cuenta a la hora de evaluar la calidad. La acidez del yogur hace pensar que el deterioro está usualmente asociado con mohos y levaduras, y el primero usualmente tiene su origen en la microflora del aire. Por lo tanto, si es factible, es muy beneficioso que haya sistema de filtración de aire en la planta y se haga un diseño que minimice el movimiento de personal dentro de la misma.

Debe haber un estricto control de higiene de todos los equipos de la planta con toma de muestra regulares en el tiempo para el conteo de microorganismos. Este seguimiento es útil para indicar cualquier disminución en el estándar de higiene. Naturalmente diferentes plantas, alcanzarán distintos niveles de higiene con respecto a las condiciones ideales, pero los productores de yogur son afortunados, ya que el producto es bastante resistente al deterioro sobre todo por bacterias. Su reacción a las levaduras y mohos es un poco diferente, y si las levaduras son la contaminación

principal, luego tienen numerosos problemas durante la venta (Tamine y Robinson, 1985).

1.4.2- Control de Materias Primas

(A) Leche Líquida:

El ingrediente básico del yogur es la leche entera o descremada, y por lo tanto su calidad es fundamental. Como mínimo, se deben analizar los siguientes ítems: contenido total de sólidos, contenido de materia grasa, antibióticos, test de fosfatasa alcalina, conteo de microorganismos, test para olores (Tamine y Robinson, 1985).

(B) Leche en polvo:

La incorporación de leche en polvo para llevar al contenido de sólidos totales deseado, es ampliamente utilizada. Se utilizan métodos estandarizados para monitorear la solubilidad, la producción de sedimentos, la humedad y el contenido de materia grasa.

También es de interés, el test para determinar residuos de antibióticos, y el conteo de microorganismos viables, coliformes, mohos, levaduras y estafilococos.

La producción de yogur tiene el beneficio de que en el proceso, la leche recibe un severo tratamiento de temperatura, por ejemplo, 85 grados durante 30 min o equivalente, y por lo tanto, puede ser tolerada una menor calidad microbiológica de la leche en polvo, aunque no es lo más conveniente. El mismo margen de libertad puede ser aplicado a estabilizadores u otros ingredientes añadidos antes del tratamiento térmico, pero los ingredientes incorporados al yogur terminado, por ejemplo frutas, sabores, colorantes, tienen que ser examinados estrictamente. En particular, las frutas, tienen que ser monitoreadas para mohos y levaduras (Tamine y Robinson, 1985).

(C) Cultivo Iniciador:

El más popular de los cultivos utilizados en la industria es una mezcla con una relación 1:1 de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* y *Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus*. Es muy importante saber el número de microorganismos y si están bien balanceado y para ello se puede realizar un conteo microscópico previa dilución. También se pueden agregar sustancias colorantes en la dilución que permitan hacer una diferenciación en la observación microscópica. La otra forma de obtener información del número y de la relación entre los dos microorganismos es realizando un conteo en

placa. Obviamente el recuento de viables consume mayor tiempo que el microcópico, pero de esta manera se cuentan solo los microorganismos formadores de colonias. El procedimiento normal involucra el uso de diferentes medios capaces de proveer una separación visual de las colonias sobre la base de su color o morfología. También se pueden emplear dos medios, cada uno selectivo para uno solo de los microorganismos.

La característica esencial de un buen cultivo iniciador para yogur es aquel capaz de producir un nivel deseado de ácido en un determinado tiempo, para ello, se incuba una dilución del cultivo en leche por un cierto tiempo, finalizado el cual, el contenido de ácido láctico debe estar dentro de un cierto rango.

Es de fundamental importancia chequear la ausencia de contaminación del starter, para ello se investiga mohos, levaduras y coliformes. Los primeros dan idea del deterioro durante la vida útil del producto terminado y los coliformes solamente como un indicador de higiene (Tamine y Robinson, 1985).

1.4.3- Estudio del Producto Final

Si los controles de higiene de la planta y de las materias primas se cumplen satisfactoriamente, solo queda el estudio del producto final que debe tener en cuenta:

- a) análisis de la composición química
- b) ensayos de las características físicas
- c) ensayos microbiológicos
- d) ensayos sensoriales

a) Análisis de la composición química

Muchos países tienen normas legales, o al menos regulaciones provisionales, en cuanto a la composición del yogur. El requerimiento de sólidos no grasos es en realidad más decorativo que esencial, porque se ajusta a las necesidades del mercado. Sin embargo una medida de los sólidos totales puede ser de interés como chequeo de la concentración o fortificación que se realizó en la planta. Es muy importante el contenido de materia grasa y sobre todo para los yogures naturales que no tienen frutas o aditivos en su formulación.

La producción de ácido láctico, más allá del punto de coagulación es monitoreada en relación con la preferencia de los consumidores, y porque la selección del punto final no solo varía según el país sino según el tipo de yogur. Así, en los países

bajos, por ejemplo, el yogur búlgaro puede tener una acidez láctica por encima de 1,48 %, en cambio, otros tipos de yogur contienen un máximo de 1,17 %. Las regulaciones sugieren un mínimo de 0,7g de ac. láctico de por 100g de producto, y la medida de acidez es una característica importante de producción.

Sin embargo, la relación entre la acidez titulable y pH no es tan fuerte en un sistema tan estabilizado como el yogur. La determinación electrónica de pH como monitoreo de rutina durante la manufactura del yogur es una práctica normal. Sin embargo para tener un chequeo estricto del pH, es conveniente tomar muestras estadísticamente significativas para realizar una medida por el método químico. Se puede establecer una correlación entre el pH y las características deseadas de cada tipo de yogur.

El monitoreo de otros componentes como estabilizantes, saborizantes, cada día se vuelve más importante (Tamine y Robinson, 1985).

b) Ensayos para determinar las características físicas

Para estudiar la textura y la consistencia podemos utilizar los ensayos reológicos. Para investigar el color, podemos emplear colorímetros triestímulos. En el caso del flavor, podemos realizar cromatografía, tanto gaseosa como líquida y la actividad acuosa podemos estudiarla mediante medidores de última generación. Estos métodos instrumentales tienen algunas ventajas sobre los sensoriales ya que resulta más fácil su realización y estandarización. Sin embargo las respuestas no están siempre claramente definidas y los resultados dependen de distintas variables (Bertola, 1992).

c) Ensayos microbiológicos

El examen microbiológico del producto terminado incluye chequeos de los organismos vivos del starter, así como también la presencia de microorganismos de deterioro o patógenos.

Es interesante tener en cuenta que si la población de los dos microorganismos del starter es baja, puede ocurrir que haya tiempos de incubación largos y pobre desarrollo de flavor. Si los niveles de microorganismos son demasiado altos, resulta en: rápida acidificación, sinéresis, desbalance de los componentes del flavor y deterioro por continua producción, durante el almacenamiento.

La investigación de organismos contaminantes está indicada para proteger al consumidor de especies potencialmente patógenas, y asegurar que el yogur no sufra

deterioro microbiológico anticipadamente a que se cumpla el plazo estipulado de vida útil y estas características son muy importantes para cualquier compañía.

El yogur con una acidez del 1% de ácido láctico, es un medio inhóspito para patógenos como *Salmonella spp.* y, por lo tanto son incapaces de crecer. Los coliformes son también inactivados por el bajo pH y son susceptibles a los antibióticos liberados por los microorganismos del cultivo iniciador. *Staphylococcus spp.* coagulasa-positivo puede sobrevivir en medio ácido, pero no ha habido casos de intoxicación alimentaria por este microorganismo, por lo tanto, no es normalmente investigado para yogur, en cambio, el test para coliformes es más valioso como indicador de la higiene de la planta que como riesgo para la salud humana.

Más significativa para los productores es la investigación de mohos y levaduras. Estos microorganismos son capaces de deteriorar al yogur antes de que finalice su vida útil. Debido a que los hongos son poco afectados por el bajo pH, y con una gran cantidad de glucosa o lactosa disponible como fuente de energía, el deterioro puede ser muy rápido. Levaduras tales como *Saccharomyces cerevisiae*, *K. fragilis* y *K. lactis* son las más importantes. Se acepta que el producto puede contener hasta 100 células viables de levaduras/ml. Los mohos, desarrollan más lentamente que las levaduras, y como consecuencia, raramente se encuentran en los productos para la venta, por esta razón puede contener hasta 10 UFC/ml.

La fruta añadida que puede ser la principal fuente de contaminación de hongos, es previamente tratada térmicamente antes de su uso. Las esporas del aire o células de levaduras pueden ser más difíciles de controlar sobre todo en ciertas épocas del año pero con buenas prácticas de manufactura se puede minimizar este efecto (Tamine y Robinson, 1985).

Otro de los estudios microbiológicos de interés es determinar la *vida útil* del producto. La *vida útil* de un alimento es el período de tiempo para el cual el producto comienza a ser inaceptable desde el punto de vista sensorial, nutritivo o sanitario. El criterio correspondiente al final de la *vida útil* está determinado por requerimientos legales, por atributos de aceptabilidad del consumidor (color, sabor, aroma, etc.), por requerimientos de distribución en el mercado y por costos. Una definición universal de vida útil es virtualmente imposible de establecer debido a los complejos mecanismos de deterioro de un alimento y a la imposibilidad de generalizar el grado de aceptación de distintos consumidores, en consecuencia se define una vida útil para cada tipo de producto (Fu, B. y Labuza, 1993).

d) Ensayos Sensoriales

En estos métodos, el instrumento analítico es el panel de degustación. El resultado obtenido depende de la objetividad, precisión y reproducibilidad del juicio de los panelistas. Por lo tanto es importante la selección y entrenamiento de las personas que forman el panel entrenado. También se puede emplear un panel de consumidores. Además, se deben controlar las condiciones del ensayo, la preparación y la presentación de las muestras para poder así minimizar su influencia sobre los jurados.

Entre las distintas propiedades que se pueden juzgar en un análisis sensorial podemos mencionar: aceptabilidad global, sabor, aroma, color, textura, consistencia, etc. (Ureña P. y col., 1999).

Objetivos:

Durante este trabajo de investigación los objetivos fueron:

- Concientizar a la gente, con el alcance de este trabajo, de adquirir una buena alimentación, pero sobre todo como parte de un conjunto, vinculada a un estilo de vida que promueva la salud y prevenga enfermedades.
- Incrementar el número de productos del mercado que contengan fibra dietética, para que de esta manera sea más fácil acercarnos al objetivo de consumir entre 25-35 g por día de fibra, y así generar todos los efectos positivos antes vistos en nuestro organismo.
- Desarrollar un producto a base de yogur y fibras dietéticas, que se acerque lo más posible en lo que a propiedades organolépticas se refiere, a los ya existentes en el mercado que no contienen fibra. Es decir obtener un yogur prácticamente con la misma textura, color, sabor y aroma que el que no la posee. De esta manera resultaría muy sencillo conseguir sustituirlo en nuestra dieta diaria.

Capítulo 2

Materiales y Métodos



2.1- Características de las materias primas empleadas para desarrollar el producto.

El yogur fue preparado con leche entera en polvo cuya información nutricional la podemos encontrar en la tabla 2.1.

El agua utilizada para el yogur es agua corriente, y el azúcar es común de tipo A. Las bacterias lácticas empleadas son *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* (Cp2, CIDCA 321) y *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* (Lbp, CIDCA 332) pertenecientes a la colección de cepas del CIDCA (Moreira, M. y col., 2000).

Composición Aprox.	Por 100g de Nido
Energía	495 Kcal
Proteínas	26.4 g
Lactosa	38.6 g
Grasas (contenido mínimo)	26.0 g
Lecitina	0.2 g
Fibra Alimentaria	0 g
Minerales	5.8 g
Agua (contenido máximo)	3.0 g
Principales Vitaminas y Minerales	
Vitamina A	1900 UI
Vitamina D	300 UI
Vitamina B2	1.4 mg
Vitamina B12	1.8 µg
Fósforo	750 mg
Calcio	930 mg

Tabla 2.1- Composición de la leche entera en polvo

2.1.1 Fibras Dietéticas

Las fibras que fueron agregadas al yogur son:

Inulina (Frutafit-inulin, Imperial Sensus, Holanda),

Fibra Dietética de Caña de Bambú (Qualicel, CFF, Alemania)

Fibra Dietética de Trigo (Wheatcel, CFF, Alemania)

Fibra Dietética de Manzana (Vitacel, JRS, Alemania)

2.1.1.1 Inulina

La inulina puede ser extraída de distintos vegetales (tabla 2.2). Se obtiene a partir de la materia seca del vegetal, que contiene, en promedio, 90 % de inulina; el 10 % restante corresponde a mono y disacáridos.

Vegetales que contienen inulina	Salsifi	Achicoria	Alcaucil	Corazón de Alcaucil
Contenido de materia seca	87	84	85	85

Tabla 2.2- Fuentes de Inulina.

La utilizada en este trabajo, Frutafit®-inulin, es producida por una empresa azucarera de Holanda. Es inulina natural extraída de raíces frescas de la achicoria. Está constituida por unidades de fructosa (entre 2 y 60 unidas por enlaces β 2-1) con dos moléculas de glucosa en los extremos (fig. 2.1)

El bajo peso molecular de las fracciones de inulina hacen que ésta pertenezca al grupo de los oligosacáridos. La inulina además entra en la clasificación de las fibras dietéticas solubles. Tiene una amplia aplicación en la industria alimenticia gracias a su gran versatilidad, especialmente porque difícilmente influye en el sabor o en la apariencia visual del producto. Además es muy resistente al calor, es inodora e hipoalergénica.

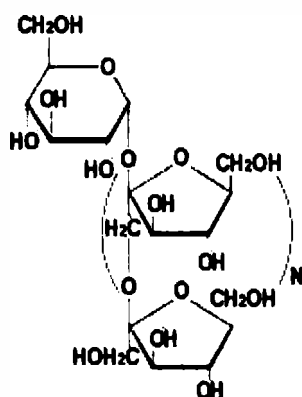


Fig. 2.1- Molécula de inulina.

2.1.1.2 Fibra de caña de bambú

La fibra dietética de caña de bambú utilizada en este trabajo pertenece a CFF, una empresa alemana dedicada a la extracción de fibras de diversas plantas.

Esta fibra corresponde a la línea QUALICEL®. Se extrae de las partes con alto contenido de fibra de la planta de bambú. Las partes vegetales son físicamente limpiadas, purificadas y molidas en varios pasos. Consiste en más de un 90 % de fibra dietética insoluble.

El componente principal de esta fibra es la celulosa. La estructura básica está constituida por dos moléculas de glucosa unidas con enlace β 1-4 glucopiranosil-glucopiranososa. (fig. 2.2)

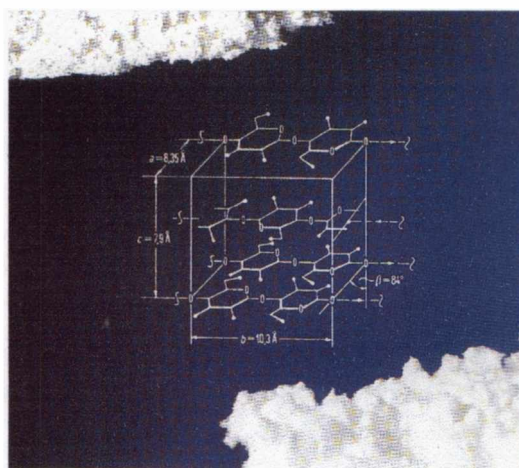


Fig. 2.2- Estructura básica de la celulosa: dos moléculas de glucosa unidas con enlace α -1-4 glucopiranosil-glucopiranososa.

La celulosa sólida forma una estructura tridimensional polimórfica. Áreas cristalinas se alternan con áreas amorfas (fig. 2.3), dependiendo de la materia prima la proporción en que éstas se encuentren. Las áreas amorfas son más fácilmente hidrolizables, debido a que las áreas cristalinas tienen menos grupos hidroxilos disponibles.

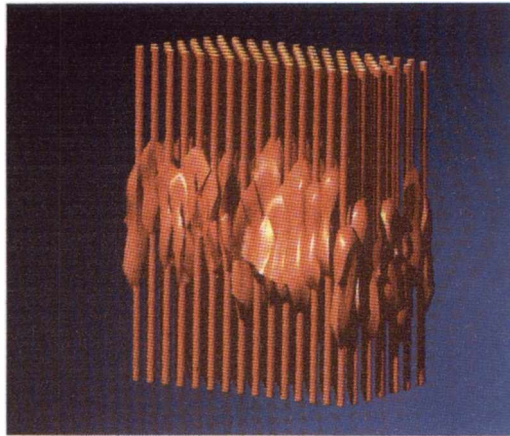


Fig. 2.3- Regiones amorfas (rugoso) alternadas con regiones cristalinas (suave).

Las características funcionales de estas fibras dependen de la relación entre componentes amorfos y cristalinos, y por tanto de la materia prima.

2.1.1.3 Fibra de trigo

La fibra utilizada proviene también de la empresa CFF. La línea de este producto es WHEATCEL®. Es extraída de las partes más ricas en fibra de la planta de trigo.

El vegetal sin procesar es purificado en varias etapas, separado de productos intermedios y finalmente molido y cribado para diversas especificaciones.

Como QUALICEL®, esta fibra consiste en más del 90 % de fibra insoluble, tanto en agua como en aceite, y como las otras fibras, no es digerible por las enzimas del sistema digestivo humano.

1.1.1.4 Fibra Dietética de Manzana

La fibra dietética de manzana empleada en este trabajo pertenece a otra empresa alemana llamada JRS. Este producto corresponde a la línea VITACEL®

Esta fibra parcialmente soluble (dependiendo del tipo, hasta un 25 %), tiene al igual que las otras, gran aplicación en la industria alimenticia.

VITACEL® son fibras dietéticas extraídas de manzanas secas previamente prensadas, cuidadosamente procesadas. Únicamente son utilizadas manzanas orgánicamente maduras.

2.1.2 Caracterización de las fibras

Cada producto posee especificaciones tanto fisicoquímicas como microbiológicas que se presentan en la tabla 2.3.

Tipo de Fibra	Inulina	Manzana	Trigo	Bambú	
Apariencia	Polvo Libre de Puntos Negros	Micropolvo	Polvo	Polvo	
Color	Blanco	Marrón	Blanco	Blanco	
Olor	Inodora	Manzana	Inodora	Inodora	
Sabor	Neutro Ligeram. Dulce	Frutal	Neutro	Neutro	
Cont. de Fibra Soluble	> 90 %	25%	< 2 %	< 2 %	
Contenido de Fibra Insoluble	≤ 10 %	75 %	> 95 %	> 95 %	
PH (en susp. ac. al 10 %)	Neutro	3.7	4.0 - 6.0	4.0 - 6.0	
Retención de Agua	≤ 5 g H ₂ O/g de materia seca	5.1 g H ₂ O/g de materia seca	3.5 g H ₂ O/g de materia seca	3.5 g H ₂ O/g de materia seca	
Tamaño de Partícula	< 85μ entre el 10 y 80 % de las partículas	< 30μ el 90 % de las partículas	< 32μ el 80 % de las partículas	< 32μ más del 80 % de las partículas	
Metales Pesados	No Contiene	Pb = 0.28 ppm Cd < 0.01 ppm Hg < 0.02 ppm	Pb < 10 ppm	Pb < 10 ppm	
Análisis Microbiológico	Recuento total	Max. 10 ³ cfu/ g	Max. 10 ³ cfu/ g	< 50 cfu / g	< 50 cfu / g
	Hongos y levaduras	Max. 20 cfu/ g	Max. 20 cfu/ g	Negativo	Negativo
	Coliformes			Negativo	Negativo
	<i>E. coli</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	Salmonella sp. en 25 g	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tabla 2.3- Especificaciones de las distintas fibras.

2.2- Modo de preparación del yogur

El yogur fue preparado en recipientes individuales de vidrio de 250 ml con tapa a rosca. El método para prepararlo durante todo el trabajo fue el siguiente (para 100 g):

Primer Día

1) Mezclado de los sólidos:

15 g de leche en polvo

5 g de azúcar

1.3 g de fibra dietética (1,3 % p/p, según regulaciones de USA para productos fortificados, Fernández-García y McGregor, 1997)

2) Dilución de los sólidos en agua corriente, llevando a 100 g

3) Pasteurización en estufa (Dhacel HD22) a 85 °C durante 30 minutos

4) Enfriamiento hasta 4 °C, y almacenamiento en heladera

Segundo Día

Atemperado de las muestras a 42 – 43 °C en baño termostático (Heto Birkeröd).

Inoculación con 30 µl de *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* y 30µl de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*.

Incubación a 43 °C hasta una acidez de 85 °Dornic y pH 4.5 – 4.6 (aprox. 5 – 6 horas).

Conservación en cámara de refrigeración a 4 °C, por 8 h.

Tercer Día

Homogeneización del contenido de fibra durante 20 s en cada recipiente con mucho cuidado para minimizar la ruptura de estructura antes de las medidas.

Para realizar los distintos ensayos se hicieron repiques en leche pasteurizada de los cultivos de los microorganismos almacenados a – 85 ° C en las cámaras de refrigeración del instituto. En cada uno de los repiques se hizo el examen microscópico previa coloración de Gram para descartar cualquier tipo de contaminación.

Coloración de Gram:

Reactivos:

Cristal Violeta: 10g/l en agua destilada

Safranina (Solución madre): 25g/l de etanol

Safranina (Solución de trabajo): Solución madre diluida 1:10

Lugol: 10g I₂ + 20g KI en 1l. de A. D.

Decolorante: etanol: acetona (4:1)

Las soluciones se filtraban antes de utilizarlas.

Técnica:

Se realizó un extendido de la colonia aislada, fue fijado por calor, y se siguió el protocolo de tiempo de exposición que se detalla a continuación:

Cristal Violeta 120 s

Lugol: 30 s

Lavar con agua

Lugol: 30 s

Lavar con agua

Decolorante: 10 s

Lavar con agua

Safranina: 120 s

Observación al microscopio por inmersión a 1000x.

2.3- Estudio del producto desarrollado.

Todos los ensayos llevados a cabo se realizaron en función del tiempo y para cada una de las siguientes muestras:

Yogur sin fibra

Yogur con fibra de manzana

Yogur con fibra de trigo

Yogur con fibra de caña de bambú

Yogur con inulina

Las medidas se hicieron a las 24 h, a los 7, 14 y 21 días.

2.3.1- Caracterización Fisicoquímica

2.3.1.1- Comportamiento Reológico

La reología se define como el estudio del flujo y la deformación de la materia. Podría describirse al líquido por la fluidez, que es su habilidad para fluir y tomar la forma del contenedor. Sin embargo se usa con más frecuencia la inversa de esta característica llamada viscosidad. Esta propiedad es definida como la relación entre el esfuerzo y la velocidad de deformación de la muestra producida. Si la muestra es un líquido newtoniano la viscosidad será invariable para el material.

En contraste, la característica que define a un sólido es la rigidez, que es su posibilidad para mantener indefinidamente su forma particular. La rigidez es una medida de la relación entre el esfuerzo aplicado a un cuerpo sólido y la deformación resultante. Si el material es un sólido elástico, su relación será invariable para el material y la muestra se recobrará espontáneamente una vez que la fuente del esfuerzo sea eliminada.

Un material que exhibe ambas propiedades, elásticas y viscosas, es conocido como viscoelástico (Steffe, 1996). El yogur, como la mayoría de los alimentos, pertenece a esta categoría.

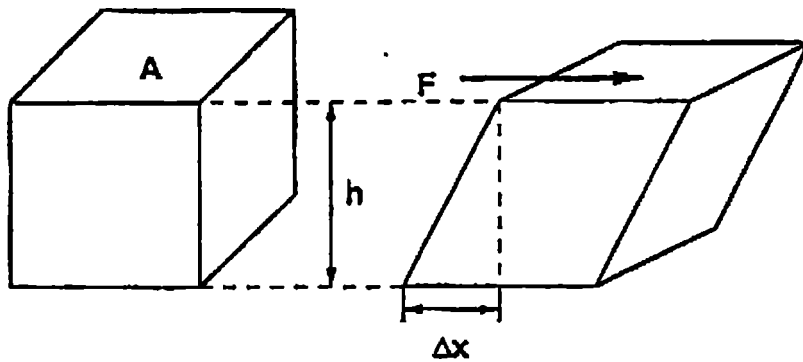


Fig. 2.4- Esquema de la deformación sufrida por un cuerpo ante la aplicación de una fuerza.

La figura 2.4 ejemplifica las definiciones de los parámetros básicos para el estudio de la reología. Uno de ellos es el esfuerzo de corte (σ), también llamado tensión de cizalla, que relaciona la fuerza aplicada F y el área A de la superficie sobre la cual se aplica dicha fuerza.

$$\text{Esfuerzo de corte} = F / A = \sigma \quad [\text{N} / \text{m}^2 = \text{Pa}] \quad (\text{Eq. 2.1})$$

La deformación que sufre el sistema ante la aplicación del esfuerzo de corte se representa por γ y se define como:

$$\text{Deformación} = \Delta x / h = \gamma \quad [\text{cm} / \text{cm} = \text{adim.}] \quad (\text{Eq. 2.2})$$

Otro concepto a tener en cuenta es el gradiente de velocidad o de deformación, el cual se define como la velocidad de un elemento de fluido con respecto a la distancia:

$$\frac{dx}{dt} \cdot \frac{1}{h} = \dot{\gamma} \quad [\text{s}^{-1}] \quad (\text{Eq. 2.3})$$

Para un fluido newtoniano existe una proporcionalidad entre el esfuerzo de corte y la deformación, dada por:

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \quad (\text{Eq. 2.4})$$

donde η es la viscosidad del sistema en Pa.s. Sólo tiene sentido hablar de viscosidad cuando se trata de fluidos newtonianos. Para aplicar un concepto similar para los no-newtonianos, es decir para aquellos que no guardan una relación lineal entre esfuerzo y deformación, se ha definido una viscosidad aparente de la siguiente forma:

$$\eta_{ap} = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} \quad (\text{Eq. 2.5})$$

Para fluidos no-newtonianos se debe expresar el valor de la velocidad de deformación a la cual fue medida. Dentro de este tipo de fluidos se clasifican:

- Los fluidos pseudoplásticos: aquellos para los cuales la viscosidad aparente disminuye al incrementarse el gradiente de velocidad. Son los que oponen cada vez menor resistencia al movimiento.
- Los fluidos dilatantes: son aquellos que para los cuales la viscosidad aparente aumenta al incrementarse el gradiente de velocidad. Son los que oponen cada vez mayor resistencia al movimiento.
- Fluido plástico de Bingham: hasta que no supera un determinado valor de esfuerzo de corte, no se comporta como fluido. Hasta ese determinado valor que se denomina umbral de fluencia, se comporta como sólido.

En la figura 2.5 puede observarse el comportamiento de flujo de los fluidos no-newtonianos, comparado con el correspondiente fluido newtoniano.

Otra característica de los fluidos no-newtonianos es que sus propiedades reológicas pueden cambiar con el tiempo durante el cual se aplica un gradiente de velocidad o una deformación relativa constante. De esta forma, se puede decir que un material exhibe tixotropía cuando el esfuerzo de corte y también la viscosidad aparente disminuyen con el tiempo. Este fenómeno involucra cambios en la estructura original. En el caso de que estos cambios sean irreversibles, ya no se puede hablar de tixotropía sino de reomalaxis, reodestrucción o ruptura estructural.

Los sistemas denominados viscoelásticos también presentan efectos con el tiempo de aplicación del esfuerzo o deformación. Sin embargo en contraposición con los fluidos tixotrópicos, la respuesta de los materiales viscoelásticos a deformaciones o esfuerzos no es

instantánea y tampoco está asociada con cambios en la estructura del material. Ello se debe a que la respuesta de un sistema viscoelástico resulta de la conducta en parte elástica, típica de los sólidos y en parte viscosa, característica de los fluidos.

Muchos sistemas alimenticios tienen un comportamiento complejo ya que presentan características viscoelásticas pero además sufren una ruptura estructural durante la aplicación del esfuerzo o deformación (Cheng, D. C. H. y Evans, F.; 1965; Harris, J. A., 1972).

Por lo tanto, el análisis matemático del comportamiento reológico de estos sistemas se hace más complicado.

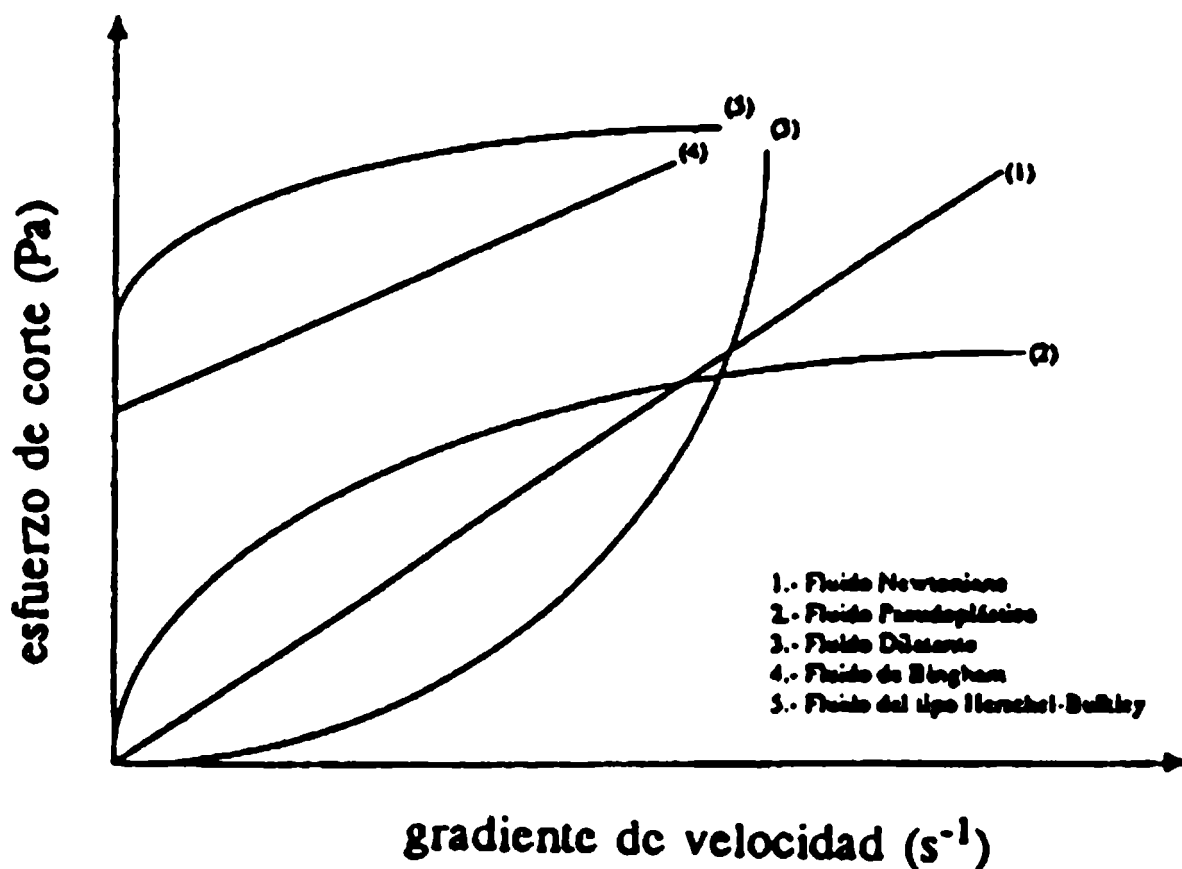


Fig. 2.5- Comportamiento de flujo típicos de distintos sistemas alimenticios.

En la producción de yogur, un cultivo de bacterias lácticas es usado para acidificar la leche que causa la agregación de las micelas de caseína seguida de la formación de un gel. En el caso de un yogur batido, es mezclado finalmente.

La consistencia del yogur está muy influenciada por factores tales como la composición y el tratamiento de la leche, el tipo de cultivo y los tratamientos tecnológicos del producto, por ejemplo: enfriado y bombeado.

Comúnmente se mide la viscosidad aparente para caracterizar el comportamiento de flujo. El yogur batido es altamente no-newtoniano: es pseudoplástico, dependiente del tiempo. Los modelos matemáticos empleados describen la forma de las curvas experimentales razonablemente bien, pero no dan una respuesta acerca de los cambios en la estructura del yogur batido que ocurren durante la cizalla.

Recientemente, como parte de un estudio sistemático de las propiedades de flujo, el yogur puede ser considerado como una dispersión concentrada de partículas de gel (van Marle y col, 1999).

Los métodos utilizados para medir el comportamiento reológico difirieron en el tipo de deformación a la cual se sometió la muestra, utilizándose para ello dos equipos diferentes. A continuación se describe el fundamento de cada método y los equipos respectivos en detalle.

2.3.1.1.1- Ensayos transientes en función de la velocidad.

Los equipos más ampliamente utilizados en las mediciones reológicas de alimentos son los viscosímetros rotacionales, los cuales pueden presentar diferentes geometrías como las de cono-plato, la de cilindros concéntricos o de platos paralelos. Cada diseño tiene sus ventajas y desventajas y de una elección apropiada de ellos dependerán las propiedades de la muestra.

Para realizar las medidas reológicas en el presente estudio se utilizó un viscosímetro Haake Rotovisco RV2 (Alemania), provisto de un sistema termostático. Este equipo presenta ventajas con respecto al viscosímetro Brookfield, comúnmente utilizado para alimentos, como poseer un dispositivo para barrer gradientes de velocidad programados y dar los valores de viscosidad en unidades absolutas.

Como sistema de medición se eligió un sensor de tipo MVIP que consiste de cilindros coaxiales con superficies perfiladas. Ver figura 2.6.

Este tipo de geometría es la más ampliamente utilizada en el estudio del flujo de alimentos de media y baja viscosidad (Shoemaker, C. F. y 1987). Como se muestra en la figura, se coloca el material entre dos cilindros concéntricos, uno de los cuales rota a una velocidad angular constante ω y el otro permanece estacionario. En nuestro sistema el cilindro que rota es el interno, siendo el esfuerzo de corte medido sobre la superficie del cilindro externo:

$$\sigma = \frac{S}{2\pi R_o^2 h} \quad (\text{Eq. 2.6})$$

donde S es el torque medido por el instrumento, R_o es el radio del cilindro externo y h su altura. Debido a la diferencia entre el radio interno y externo, el esfuerzo de corte y el gradiente de velocidad no son constantes en el espacio ocupado por la muestra. La solución práctica a este problema es haciendo mínima esa área a través de los cilindros interno y externo de radios similares. De esta forma el gradiente de velocidad estará dado por:

$$\dot{\gamma} = \frac{R_a \omega}{R_o - R_i} \quad (\text{Eq. 2.7})$$

donde R_a es un promedio entre R_i y R_o y ω es la velocidad angular.

El sistema de sensor de cilindros concéntricos con superficies perfiladas se utiliza con sustancias que tienden a deslizarse sobre superficies lisas o para aquellas que pueden mostrar separación de fases, siendo apropiado para el sistema en estudio. Las ranuras paralelas a los ejes de los cilindros mejoran la adherencia entre la sustancia a testear y las superficies del sistema sensor.

En cuanto a la exactitud en la medida, el sistema de cilindros coaxiales supera al sistema de medición cono-placa ya que el error en el primer sistema es +/- 1-2 %, mientras que para el segundo es de alrededor de +/- 3% debido en general a su pequeña superficie de cizalla.

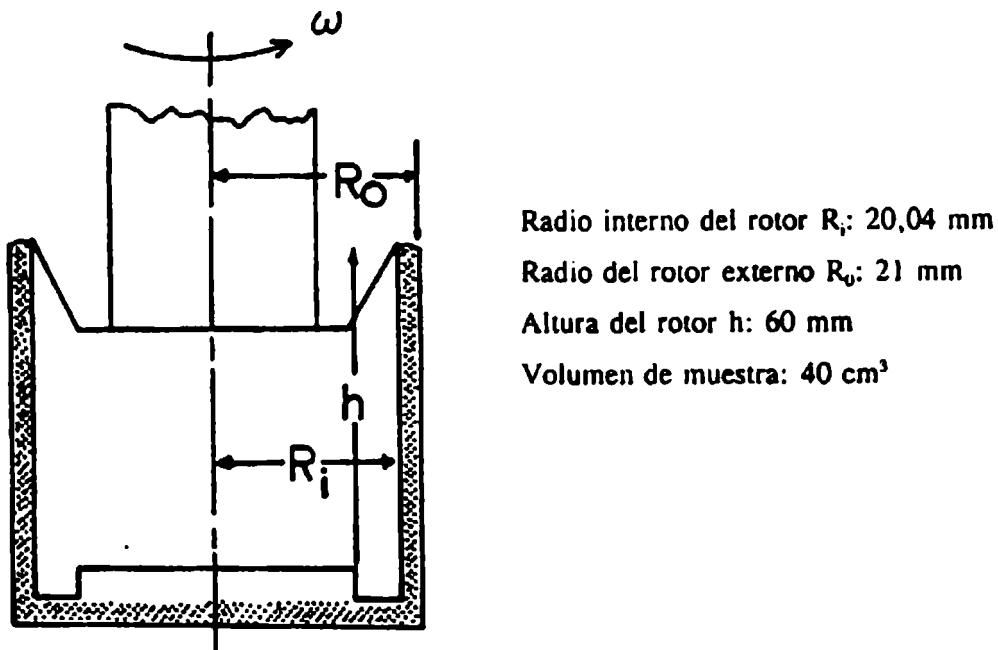


Fig. 2.6- Esquema del sistema de medición de cilindros concéntricos tipo Searle con las especificaciones correspondientes.

Se eligió como temperatura de medición 20°C, ya que es la temperatura ambiente.

Las propiedades reológicas se estudiaron en un viscosímetro rotacional registrándose el torque obtenido a velocidad de rotación constante en función del tiempo. En una serie de ensayos la muestra se sometió a gradientes de velocidad crecientes con un minuto de pausa entre ellas, para hallar el esfuerzo de corte del equilibrio (σ_ω) y viscosidad aparente (Navarro, A, y col., 1997).

Los gradientes de velocidad utilizados fueron: 32, 64, 126, 256 y 512 s⁻¹. Los datos obtenidos se registraron mediante un adquisidor de datos. Cada corrida se efectuó por triplicado y los valores de esfuerzo de corte y gradiente de velocidad fueron obtenidos a través de los correspondientes factores geométricos del viscosímetro:

$$\sigma \text{ [Pa]} = 3.22 \times S \quad (\text{Eq. 2.8})$$

$$\dot{\gamma} \text{ [s}^{-1}\text{]} = 2.00 \times n \quad (\text{Eq. 2.9})$$

Para hallar los valores de equilibrio del esfuerzo de corte (σ_∞) se continuó la medición hasta tiempos mayores de 120 s a cada una de las velocidades de rotación desde 32 hasta 512 s^{-1} para estimar los parámetros del modelo de la Ley de la Potencia (Navarro, A, y col., 1997). En todos los casos los parámetros del modelo utilizado se obtuvieron mediante regresiones no lineales (Systat versión 5.0, Systat, Inc. USA). Las viscosidades aparentes fueron evaluadas a velocidad de deformación = 32 s^{-1} .

2.3.1.1.2- Ensayos de deformación oscilatoria sinusoidal

En este tipo de ensayos la respuesta de la muestra a la deformación sinusoidal aplicada depende de las características elásticas, viscosas o viscoelásticas del sistema. Las dos variables a controlar son la frecuencia de oscilación ω (rad/s) y la amplitud máxima γ_0 de la deformación impuesta (Steffe, 1996). Se registra la respuesta del material en base a la máxima amplitud del esfuerzo σ_0 (τ_0 en el gráfico) y la diferencia de fase ϕ entre las ondas de la deformación aplicada y el esfuerzo de respuesta (fig. 2.7).

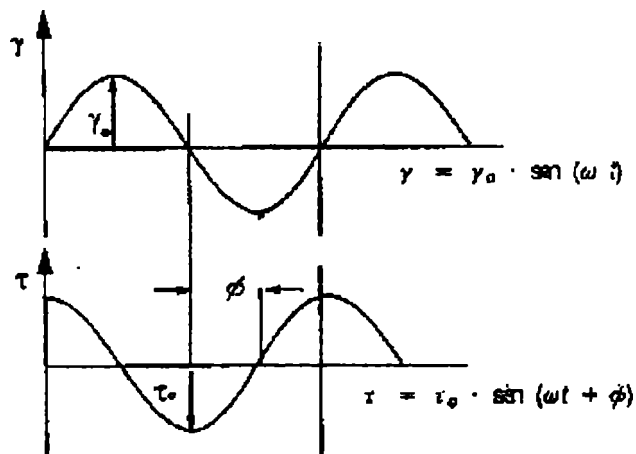


Fig.2.7- Esquema de un ensayo dinámico a una determinada frecuencia de oscilación ω . Se aplica una deformación γ_0 y se mide el esfuerzo respuesta σ (τ_0 en el gráfico).

La figura 2.8 muestra las diferentes respuestas de esfuerzo de corte correspondientes a un sólido elástico y a un fluido viscoso durante un ensayo bajo una deformación oscilatoria.

Como se observa en la figura 2.8 la respuesta del material sólido elástico puro no presenta desfase ($\phi=0$) respecto a la deformación sinusoidal impuesta, por lo tanto la relación entre el esfuerzo y la deformación a la máxima amplitud es:

$$\sigma_0 = G'(\omega)\gamma_0 \quad (\text{Eq. 2.10})$$

donde G' representa el módulo elástico dinámico, también denominado módulo de almacenamiento ya que representa la energía almacenada durante la deformación.

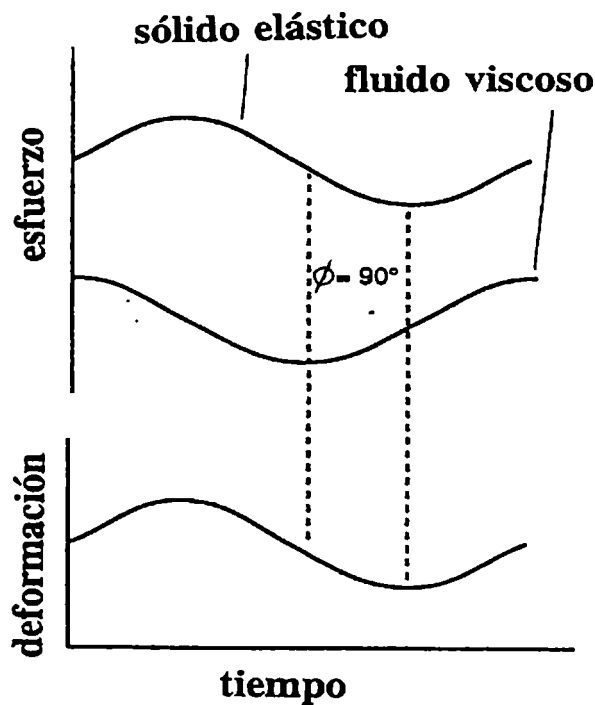


Fig. 2.8- Respuestas de esfuerzo de corte bajo una deformación oscilatoria (γ) a frecuencia (ω) constante para un material sólido elástico y un fluido viscoso.

Por otro lado para un fluido puramente viscoso, el esfuerzo respuesta σ a la deformación impuesta muestra un desfase de 90° , siendo la relación entre el esfuerzo y la deformación a la máxima amplitud γ_0 :

$$\sigma_0 = G''(\omega)\gamma_0 \quad (\text{Eq. 2.11})$$

donde G'' representa el módulo viscoso dinámico o de pérdida ya que representa la energía disipada en el elemento viscoso. Este módulo al igual que el elástico depende de la frecuencia de la deformación aplicada. Debido a que los materiales viscoelásticos poseen ambas contribuciones, elástica y viscosa, los ángulos de defasaje ϕ observados estarán comprendidos entre 0° y 90° . Para estos materiales se puede escribir una relación general entre esfuerzo y deformación de la siguiente forma:

$$\sigma = G'\gamma_0 \sin(\omega t) + G''\gamma_0 \cos(\omega t) \quad (\text{Eq. 2.12})$$

De esta ecuación es posible obtener la siguiente relación:

$$\tan\delta = \frac{G''}{G'} \quad (\text{Eq. 2.13})$$

la cual, indica que el desfase entre el esfuerzo de respuesta y la deformación aplicada es una medida de la relación entre las propiedades viscosas y elásticas de un material viscoelástico.

Otro parámetro a definir es el módulo G^* , el cual relaciona ambos módulos G' y G'' :

$$G^* = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad (\text{Eq. 2.14})$$

En las zonas de pequeñas deformaciones es posible definir el rango de viscoelasticidad lineal, en la cual la muestra es sometida a deformación sin destrucción de su estructura (Steffe, J. F., 1996). Se considera la región viscoelástica lineal hasta la deformación correspondiente a la caída del módulo complejo G^* que corresponde a su vez, con la caída de G' (módulo de almacenamiento) y G'' (módulo de pérdida). Para poder

determinar la región de viscoelasticidad lineal, se realiza un barrido de deformación o esfuerzo, por variación de la amplitud de la señal impuesta a una frecuencia constante (fig. 2.9). En la región de esta región las propiedades reológicas no dependen del esfuerzo o de la deformación.

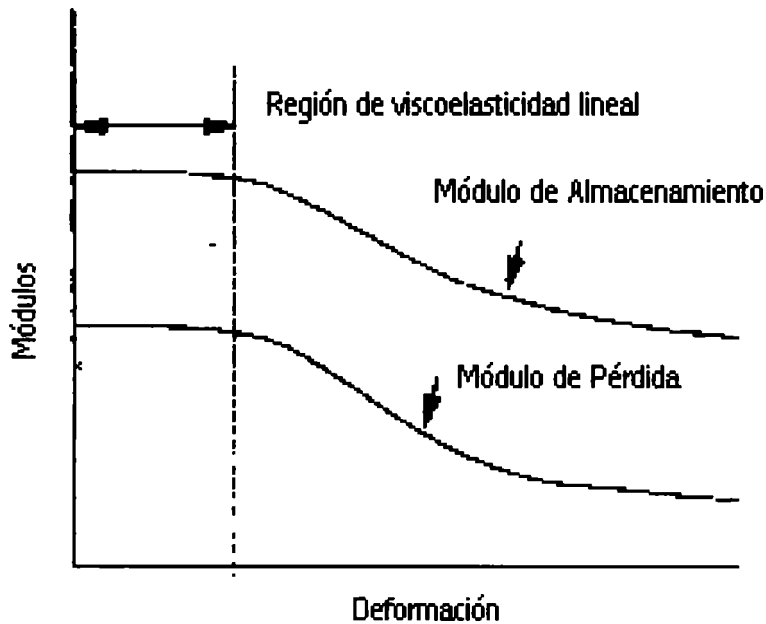


Fig. 2.9- Respuesta característica de una barrida de deformación, mostrando la región de viscoelasticidad lineal.

La deformación relativa puede ser generada utilizando distintos sensores con distintas geometrías: platos paralelos, cono-plato o cilindros concéntricos (fig.2.10 a, 2.10 b y 2.10 c respectivamente).

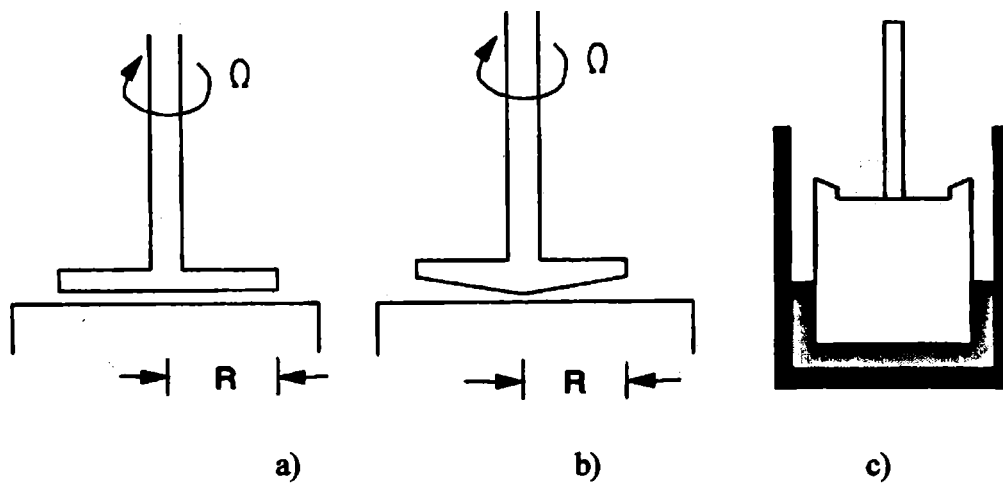


Fig. 2.10- Esquema de las distintas geometrías utilizadas en ensayos de deformación sinusoidal:
 a) plato-plato; b) cono-plato; c) cilindros concéntricos

Los ensayos dinámicos pueden ser divididos en dos grandes categorías:

- Deformación controlada, en el cual se fija la velocidad y se mide el esfuerzo (fig. 2.11a)
- Velocidad controlada, en la cual se fija la deformación y se mide el esfuerzo (fig. 2.11 b).

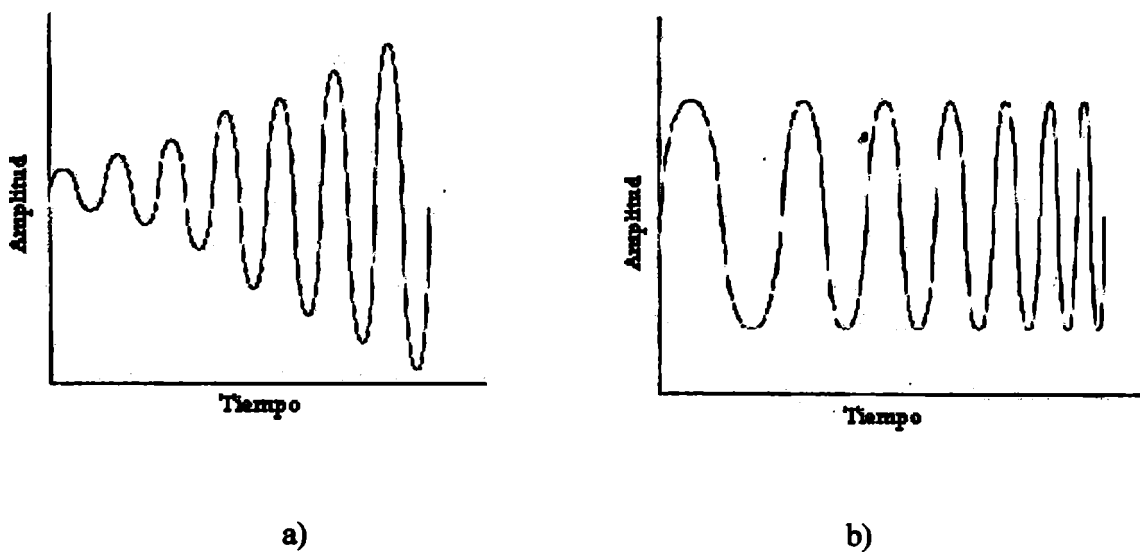


Fig. 2.11- Barrida en ensayos oscilatorios de: a) deformación; b) frecuencia en función del tiempo.

En los ensayos oscilatorios los materiales están sujetos a una deformación o a un esfuerzo los cuales varían armónicamente con el tiempo.

Como se puede observar en la fig. 2.12, al duplicar la amplitud desde 0.1 (curva 2) a 0.2 (curva 1 o curva 3) se duplica la altura de la curva. En cambio, al duplicar la frecuencia desde 1 rad/s (curva 1) hasta 2 rad/s (curva 2 o curva 3), el tiempo entre los máximos de la curva se acorta a la mitad (Steffe, J. F., 1996).

Es común realizar en estos ensayos un barrido de frecuencia, en el cual la frecuencia es incrementada y el esfuerzo o la deformación permanecen constantes. Los barridos de frecuencia son muy utilizados para comparar diferentes productos alimenticios o para comparar los efectos de distintos ingredientes o de tratamientos. Los materiales usualmente exhiben características más similares a sólidos a altas frecuencias.

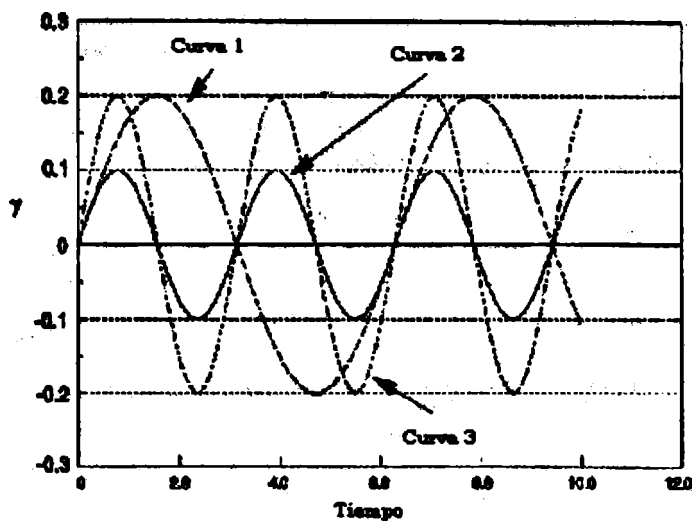


Fig. 2.12- Efecto del cambio de amplitud y de frecuencia sobre la deformación.

Cuando se somete a una solución diluida, una solución concentrada o un gel a un barrido de frecuencia (ω en la figura), se observa un comportamiento distinto. Con una solución diluida G'' es mayor que G' para todo rango de frecuencia, pero se aproximan a altas frecuencias (fig. 2.13).

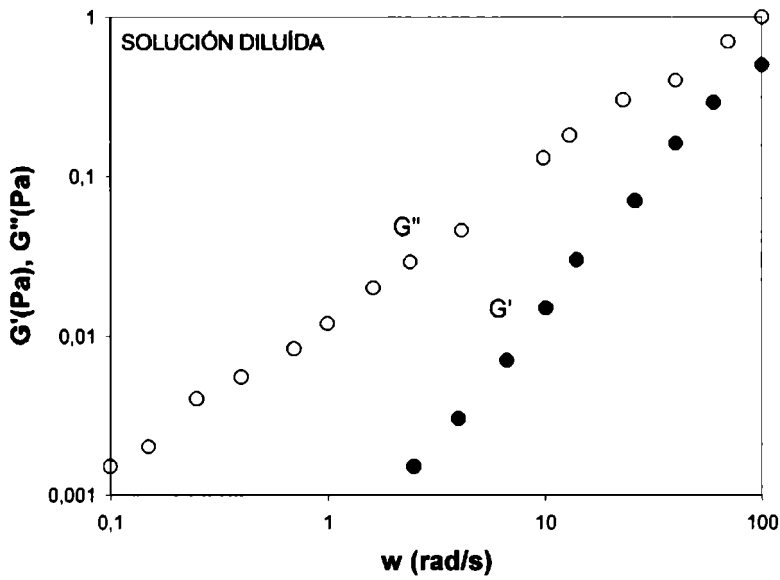


Fig. 2.13- Variación de los módulos de almacenamiento y pérdida en función de la frecuencia para una Solución Diluída.

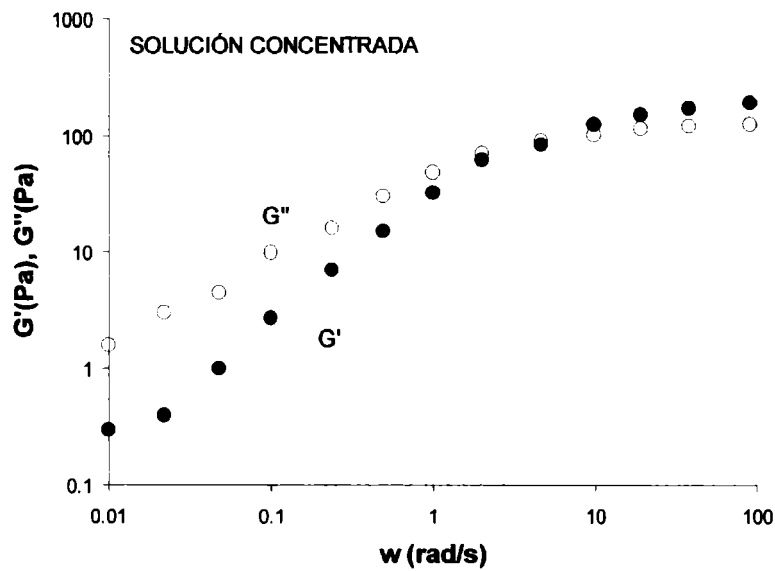


Fig. 2.14- Variación de los módulos de almacenamiento y pérdida en función de la frecuencia para una Solución Concentrada.

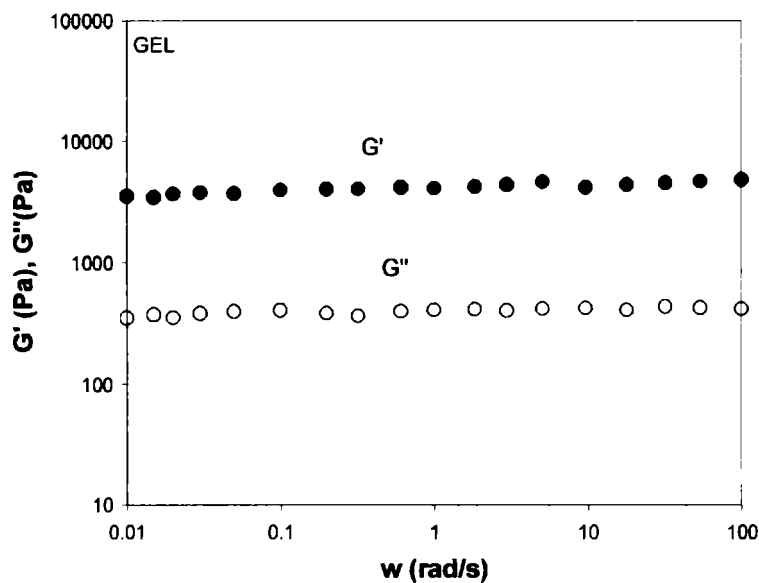


Fig. 2.15- Variación de los módulos de almacenamiento y pérdida en función de la frecuencia para un Gel.

Para una solución concentrada las curvas de G' y G'' se interceptan mostrando un comportamiento más sólido a altas frecuencias ($G' > G''$, fig. 2.14). La frecuencia a la cual se cruzan las curvas es a veces un criterio para el producto evaluado, esto ocurre cuando $G' = G''$ ($\tan\phi = 1$, $\phi = 90^\circ$). Para un gel G' es mayor que G'' para todo el rango de frecuencia (w en la figura) (fig. 2.15) (Steffe, 1996).

El equipo utilizado para este tipo de ensayos en el presente trabajo fue un Reómetro Haake RV20 con sensor plato – plato (con una luz de 1 mm). El plato inferior oscila a una frecuencia determinada aplicando a la muestra un porcentaje de deformación dado, mientras el plato superior sensa el esfuerzo de respuesta de la muestra. El reómetro registra la respuesta del sistema a variaciones de deformación (γ) a velocidad angular constante o bien a variaciones de velocidad angular (ω) a una determinada deformación dentro del rango de viscoelasticidad lineal. Dicho rango se determinó en las muestras a una velocidad angular (ω) constante de 6.28 rad/s y con deformación entre 0 y 50 %, siendo el valor de deformación máxima, de 6% en nuestro caso, el límite superior del rango de viscoelasticidad lineal. Los ensayos en función de la velocidad angular (ω) se realizaron a

una deformación constante de 5 %. El rango de velocidad angular utilizado fue de 0.63 a 13.57 rad/s. Los ensayos se realizaron a una temperatura de 20 °C. Luego de colocada la muestra, se hizo bajar el plato superior a una velocidad de 5 mm/min.

Los parámetros analizados fueron: el módulo de almacenamiento G' , el módulo de pérdida G'' y la tangente del ángulo de desfase $\tan \delta$. Se realizaron tres ensayos para todas las muestras y las medidas para cada tiempo de almacenamiento se determinaron por cuadruplicado (yogures control y con el agregado de las fibras utilizadas).

2.3.1.1.3-Ensayos de compresión-extrusión.

El ensayo de compresión-extrusión consiste en aplicar una fuerza al alimento hasta que fluya a través de la superficie restante (la cual puede ser un anillo, agujeros, etc.). El alimento es comprimido hasta que su estructura se rompe y fluye (extruda) (fig. 2.16).

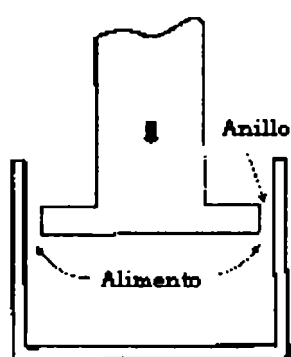


Fig. 2.16- Diagrama esquemático de una celda de compresión – extrusión.

La fuerza máxima de compresión necesaria para llevar a cabo la extrusión se mide y generalmente es usada como índice de calidad de textura. Este tipo de ensayo es utilizado para líquidos viscosos, geles, grasas y frutas y vegetales procesados o frescos. En la figura 2.17 se ve un típico ensayo de compresión-extrusión, donde el alimento (arvejas) se ponen en un recipiente abierto. Un émbolo es entonces bajado dentro del recipiente hasta que el alimento fluya por el anillo que queda entre el recipiente y el émbolo.

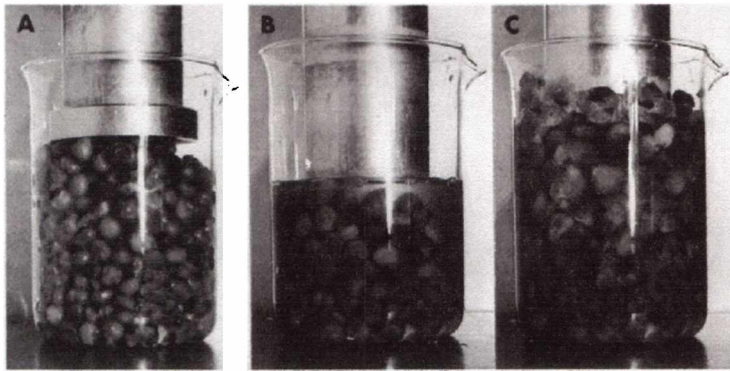


Fig. 2.17- Ensayo de compresión – extrusión en arvejas.

En un primer paso el émbolo solo se encuentra en contacto con la superficie del alimento. En un segundo paso el alimento es comprimido solo hasta que el aire entre las partículas es removido. En un tercer paso el alimento es extrudado, y fluye por el anillo (Bourne, 1982).

La curva respuesta se puede observar en la figura 2.18. En el caso de las arvejas tenemos:

- De A a B: las arvejas son deformadas y comprimidas, pero sin rompimiento
- En B: los espacios intersticiales se empiezan a llenar del líquido contenido en las arvejas.
- A partir de B: el empaque es sólido excepto por pequeñas cantidades de aire atrapado y la fuerza crece en forma de escalón de B a C extrayendo más jugo de las arvejas. De B a C representa el aumento de fuerza aplicado a una muestra casi incompresible.
- En C: las arvejas se empiezan a romper y fluir a través del anillo y el proceso continúa hasta D (donde el émbolo sube y la fuerza cae a cero). El punto C muestra la fuerza necesaria para comenzar el proceso de extrusión y el plateau CD da idea de la fuerza necesaria para continuar con la extrusión.

La forma y magnitud de la curva de compresión-extrusión está influenciada por la elasticidad, viscoelasticidad, viscosidad y comportamiento de ruptura del material, tamaño de la muestra, velocidad de deformación, temperatura de la muestra, tipo de celda utilizada y homogeneidad de la muestra (Voised P. W., 1972). Muchos productos muestran un plateau CD horizontal o aproximadamente horizontal. La irregularidad del plateau es causada por variaciones en la firmeza de las partículas que pasan a través del anillo.

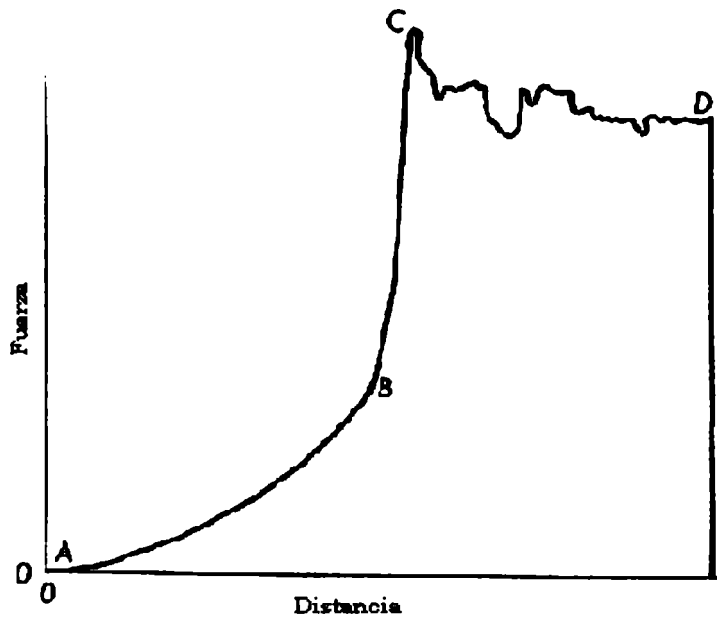


Fig. 2.18 Respuesta característica fuerza-distancia obtenida de un ensayo de compresión-extrusión.

En general, la pendiente de la curva durante el proceso de extrusión es aproximadamente horizontal, pero algunas veces puede aumentar o disminuir la pendiente. Según Voisey P. W., 1972; la pendiente de la parte de extrusión de la curva puede indicar cuatro patrones de comportamiento diferente.

1. La fuerza se reduce rápidamente con la posterior compresión. Esto representa que la muestra fue comprimida hasta que hay un quiebre indicando que la resistencia a la cizalla es el mecanismo dominante de este ensayo.
2. La fuerza decrece lentamente, indicando una combinación entre las fuerzas de cizalla y de extrusión y una posible adhesión de la muestra al recipiente.
3. Un plateau aproximadamente horizontal representa una cizalla de sucesivas capas de la muestra o una combinación de cizalla, extrusión y adhesión que ocurren simultáneamente.
4. La fuerza aumenta. Esto indica que hay más compresión de la muestra junto con adhesión, extrusión y cizalla.

La *máxima fuerza de compresión* definida como la fuerza necesaria para extrudar el alimento se obtiene a partir de la curva de compresión-extrusión como la fuerza en Newton a la cual la pendiente de la curva cambia cuando la muestra es extrudada (Perry y Carroad, 1980).

Las muestras fueron sometidas al ensayo de compresión – extrusión usando un texturómetro Instron Universal Machine 1011 con una celda de carga de 50 N con una velocidad del cabezal de 1 cm/min Se utilizaron frascos de 10 cm de alto, 4 cm de diámetro en la boca y 5 cm de diámetro en el cuerpo. La muestra de yogur ocupaba 4 cm del alto del frasco. El plato compresor tenía 3.5 cm de diámetro. Las respuestas se registraron con una velocidad del papel de 10 cm/s, y la velocidad del cabezal de 10 mm/s.

De las curvas fuerza–tiempo se obtuvo la fuerza máxima midiendo la fuerza a la cual cambia la pendiente de la curva fuerza-tiempo. También se observó el plateau de la curva (Bourne, 1982). Todas las determinaciones fueron hechas por triplicado.

2.3.1.2- Color

En sentido físico, las propiedades ópticas de los alimentos, como de cualquier otro material, son las que derivan de los fenómenos de transformación de la luz que incide sobre ellos: transparencia, turbidez, color y brillo.

En el aspecto sensorial y en sentido amplio se pueden considerar como propiedades ópticas todas aquellas que se perciben con el sentido de la vista. A las ya enunciadas pueden añadirse la forma, el tamaño y las características de superficie (rugosidad, manchas, defectos).

Sin duda, el color es una de las propiedades más importantes. La transparencia y la opacidad, están relacionadas con la cantidad de luz que el material deja pasar a su través o que se refleja en él. La turbidez, está relacionada con el fenómeno de difusión en el seno del material. Estas propiedades anteriores, se aprecian junto con el color. Estas propiedades conforman mayoritariamente el aspecto visual de los alimentos.

Cuando decimos que un objeto es, por ejemplo, verde nos referimos a la sensación visual que percibimos al observarlo cuando se ilumina con luz blanca. El tipo de sensación depende de la iluminación (existen distintos tipos de iluminantes normalizados), de la

capacidad del objeto para transformar la luz incidente (función de la estructura y composición química del objeto) y de la percepción humana (de los distintos tipos de receptores, conos y bastones).

Con el fin de normalizar la medida del color, la Comisión Internationale de l'Eclairage (CIE) reunida en París en 1931 definió un espacio físico de colores fundado en la teoría de la percepción tricromática. Este espacio se desarrolló basándose en la igualación de colores mediante mezcla de cantidades apropiadas de tres estímulos fundamentales: rojo, verde y azul. Concretamente se basaron en cuatro puntos.

Fuentes estándar de iluminación

Condiciones exactas de observación

Unidades matemáticas apropiadas

Curvas del observador patrón

Siendo P el color problema y R, V y A los colores primarios, se consigue igualar el color de acuerdo con:

$$P = R + V + A \quad (\text{Eq. 2.15})$$

Pero como existían casos, en los que solo se conseguía igualar con la resta de alguno de los componentes primarios reales, se crearon los colores primarios ideales X, Y, Z, deducidos matemáticamente de R, V y A.

De los tres valores, el parámetro Y fue elegido por la CIE de tal manera que corresponde exactamente con la curva de visibilidad del ojo humano. De esta forma los valores de Y dan directamente la claridad. Pero, como a su vez, el uso de los valores triestímulo X, Y, Z era de difícil representación gráfica, y muy poco intuitivos, se crearon las coordenadas de cromaticidad: x, y, z, las cuales se obtienen al expresar los valores triestímulo (X, Y, Z) como fracciones de su suma total (Francis, F. J., 1987; Kent, M. y Smith, G. L., 1987; Instruction Manual, Chroma Meter, CR 300, Minolta).

$$x = \frac{X}{X+Y+Z} \quad y = \frac{Y}{X+Y+Z} \quad z = \frac{Z}{X+Y+Z} \quad (\text{Eq. 2.16})$$

De esta manera, para especificar un color según el sistema CIE basta con el parámetro Y y las coordenadas de cromaticidad x, y. El valor de Y da el porcentaje de claridad y los de x, y dan la cromaticidad. Juntos forman un diagrama de tres dimensiones. Este diagrama da una amplia información acerca del color así especificado, como la longitud de onda predominante, la pureza colorimétrica, la luminosidad, etc.

Paralelamente al desarrollo de los colorímetros triestímulo se desarrolló el sistema **L, a, b** de Hunter.

Con estas nuevas coordenadas se define un espacio cartesiano en el que **L** corresponde a la claridad y **a** y **b** a la cromaticidad. Concretamente **a** define el componente rojo-verde; rojo para valores positivos y verde para los negativos. El parámetro **b** define el componente amarillo-azul; amarillo para los valores positivos y azul para los valores negativos. Los colores son tanto más saturados cuanto más alejados se encuentran del centro del gráfico los puntos que los definen.

La relación entre los valores **L, a, b** y los triestímulo X, Y, Z viene dada por las siguientes ecuaciones:

$$L = 10Y^{1/2} \quad a = \frac{17.5(1.02X - Y)}{Y^{1/2}} \quad b = \frac{7.0(Y - 0.847Z)}{Y^{1/2}} \quad (\text{Eq. 2.17})$$

Se determinó el color de los yogures con un colorímetro triestímulo Minolta, CR 300 (Japón).

Se colocaron las muestras en pequeñas cápsulas de 5 cm de diámetro y 1 cm de alto. Para apoyar el cabezal del colorímetro se interponía un vidrio transparente de 6 cm x 6 cm entre la muestra y el aparato. El espesor del vidrio era de 2 mm.

Los parámetros procedentes de este ensayo son **L, a** y **b**. Todas las medidas se realizaron por cuadruplicado.

Para la calibración se utilizó un plato de calibración Minolta Nro. 17733097, color blanco. Sus parámetros son $Y=93.2$, $x=0.3133$, $y=0.3192$ (Francis, F. J., 1987; Kent, M. y Smith, G. L., 1987; Instruction manual, Chroma meter, CR 300, Minolta).

2.3.1.3- pH

Para medir el pH de las muestras se utilizó un peachimetro Hach, modelo EC-30 (USA). El electrodo empleado fue de punta de vidrio, de Broadley James Corporation (USA). Todas las medidas se realizaron por cuadruplicado.

Primeramente, se midió el pH de las fibras en solución acuosa al 1.3 % p/p, con el fin de corroborar las especificaciones de los fabricantes. Es de destacar el bajo pH de la fibra de manzana, por lo cual se realizó en segundo lugar, un seguimiento del mismo, durante el proceso de preparación del yogur, con el objeto de estudiar si esta característica puede alterar en alguna medida el comportamiento fisicoquímico o microbiológico del yogur. Por último, se midió este parámetro durante el tiempo de almacenamiento.

2.3.1.4- Actividad Acuosa

La actividad acuosa se midió con un medidor de a_w Aqualab Serie 3TE (USA).

Para la medición se utilizó la técnica de punto de rocío con espejo refrigerado. La muestra se deja equilibrar en una cámara. Esta cámara contiene el espejo y un sistema para detectar la condensación del vapor de agua sobre el espejo. En el equilibrio la humedad relativa en la cámara es igual a la actividad acuosa de la muestra (Operator's Manual Aqualab Water Activity Meter. Version 1.5, 2000).

Este equipo controla la temperatura del espejo por un sistema termoelectrónico (Peltier). Un haz de luz es dirigido al espejo y su reflexión es captada por un fotodetector, el cual registra los cambios de reflexión cuando ocurre la condensación. La temperatura a la que esto ocurre es registrada por una termocupla adosada al espejo.

El aparato cuenta con un ventilador interno que favorece el establecimiento del equilibrio rápidamente. La calibración se realizó con soluciones de sales de humedad conocida.

2.3.1.5-Exudado

Se determinó el exudado sobre 100 ml de yogur en probetas (de 100 ml), como se puede observar en la figura 2.19. Se midió la cantidad de suero como volumen exudado en función del tiempo.

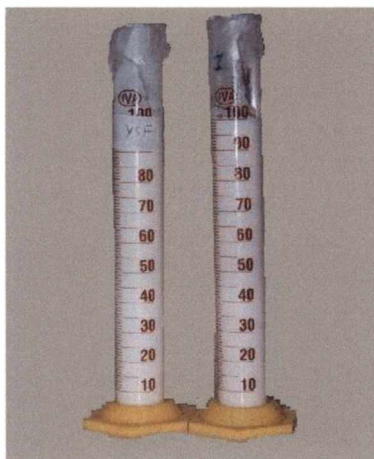


Fig. 2.19- Probetas de 100 ml utilizadas para la medición de volumen de exudado en función del tiempo.

2.3.1.6- Observación de la estructura.

Se realizaron observaciones microscópicas, tanto de las fibras solas como en el yogur. Las muestras fueron teñidas con azul de toluidina. Todas las fibras contienen grupos ácidos que pueden fijar el colorante metacromático básico del azul de toluidina, pero las distintas fibras poseen propiedades de fijación diferentes. Cuando se tiñen con azul de toluidina, las partículas de fibra hidratadas se colorean con diferentes tonos de azul, púrpura y rosa, según la densidad de las moléculas de colorante fijadas.

En el yogur, la identificación de las fibras es muy difícil, ya que la cantidad de éstas, suele ser pequeña (< 2 %) y normalmente está bien dispersa.

El método utilizado fue el siguiente:

1. Se prepara una fina extensión del material. El producto está de por sí hidratado, de manera que no es necesario agregar más agua a no ser que sea realmente necesario.

2. Se añade a la extensión 1 gota de azul de toluidina al 0.1 % en agua y se espera un minuto.
3. Se observa en el microscopio.

2.3.2- Análisis Microbiológico

2.3.2.1- Vida útil

Para predecir la vida útil se sigue el crecimiento del microorganismo de interés a diferentes temperaturas. En nuestro caso, se siguió el crecimiento de mohos y levaduras que son los responsables del deterioro del yogur. Las muestras fueron almacenadas a 4 y a 20°C. Se eligieron estas temperaturas para estudiar el comportamiento en una cadena de frío adecuada y cuando por algún motivo se interrumpe la misma. En el ensayo a 4°C las muestras se tomaron a 1, 7, 14 y 21 días. Para el ensayo a 20°C las muestras fueron obtenidas cada 24 h.

En ambos casos se recolectaron 20 g de muestra de cada recipiente de 100 ml de yogur en forma aséptica y se homogeneizaron por un minuto con 80ml de agua peptonada al 0.1 % estéril. Se realizaron diluciones seriadas de las diferentes muestras en peptona 0.1 % y 1 ml de cada dilución apropiada fue sembrada en placas con agar YGC (Levadura, glucosa, cloranfenicol) como medio de cultivo, en profundidad (técnica de agar volcado). Las placas fueron incubadas a 20°C por 5 días (Giannuzzi, L., 1998).

- Agar YGC (Merck). Este medio contiene:

Extracto de levadura: 5g/l

Glucosa: 20 g/l

Cloranfenicol: 0.1 g/l

Agar: 14.9 g/l

Se autoclava a 121°C durante 15 minutos.

Antes de comenzar a desarrollar el estudio microbiológico del producto, se verificaron las especificaciones microbiológicas de los proveedores de las fibras añadidas a la formulación. Se tomaron 10 g de cada fibra y se homogeneizaron por un minuto en agua peptonada al 0.1 % estéril y se estudió la presencia de mohos, levaduras y enterobacterias.

Se define como **vida útil** del producto al tiempo de almacenamiento al cual los recuentos de mohos y levaduras son de 200 UFC/g Este límite esta basado en las exigencias del Código Alimentario Argentino como se puede observar en la tabla 2.4, donde *n* es el

tamaño de la muestra, c es el número de unidades defectuosas que se acepta en la muestra, m es el mínimo recuento del microorganismo en estudio, M es el máximo recuento del microorganismo en estudio que se acepta.

Microorganismo	Criterio de Aceptación	Categoría	Norma
Coliformes/g a 30 °C	$n = 5$ $m=10$ $c=2$ $M=100$	4	FIL 73 A 1985
Coliformes/g a 45 °C	$n=5$ $m < 3$ $c=2$ $M=10$	4	APHA 1992c 24 (1)
Hongos y Levaduras/g	$n = 5$ $m=50$ $c=2$ $M=200$	4	Fil 94 B 1990

Tabla 2.4 - Disposiciones del Código Alimentario Argentino.

2.3.2.2- Calidad sanitaria

La calidad sanitaria del producto final se determinó mediante el recuento de enterobacterias que se realizó siguiendo la técnica del Número Más Probable (NMP) (Andrés, S. C. y col., 2001). Este recuento está basado en la distribución de Poisson que se practica en muestras con baja concentración. Se han elaborado tablas para series de 3 y 5 tubos con los correspondientes límites de confianza de 95%.

En este caso se han utilizado series de 3 tubos con caldo Lauril Sulfato con campanilla de Durham para visualizar la producción de gas, inoculados con 1, 0.1 y 0.01ml de la dilución inicial de muestra, para el conteo de enterobacterias. Se incubaron los tubos a 37°C por 24-48 h. Se consideran positivos los tubos que presentaron crecimiento y formación de gas.

Con el mismo fin se realizó recuento en placa de enterobacterias. Para esto se utilizó como medio cultivo el Agar bilis rojo violeta. Las placas fueron crecidas a 37°C por 24-48 h.

- Agar glucosa bilis rojo violeta (Merck). Este medio contiene:

Peptona de carne: 7 g/l

Extracto de levadura: 3 g/l

NaCl: 5 g/l

D(+)- Glucosa: 10 g/l

Sales Biliares: 1.5 g/l

Rojo Neutro: 0.03 g/l

Cristal violeta: 0.002 g/l

Agar: 13 g/l.

pH: 7.3 ± 0.1

Se esteriliza a vapor fluente (B.M.) media hora.

A las colonias rojas con borde fucsia desarrolladas en las placas con Agar glucosa bilis rojo violeta y a los tubos positivos de caldo se les realizaron repiques en caldo Brila con campanilla de Durham en el interior del tubo y se incubaron por 48 h a 37 °C respectivamente, para investigar si se trata de coliformes fecales. Se consideran positivos los tubos que presentan crecimiento y formación de gas (Andrés, S. C., 2001).

- Caldo Brila (Caldo Verde Brillante – Bilis- Lactosa). Este medio contiene:

Peptona de carne: 10,0 g/l

Lactosa: 10,0 g/l

Bilis de buey: 20,0 g/l

Verde Brillante: 0.0133 g/l

PH: 7.2

Se autoclava a 121°C durante 15 minutos.

Los tubos positivos se repican en caldo E. C. con campanilla de Durham y se incuban por 24 h a 44,5 °C para descartar o confirmar la presencia de *E coli*. Se consideran positivos los tubos que presentan crecimiento y formación de gas.

- Caldo E C. Este medio contiene:

Triptona: 20 g/l

Lactosa: 5 g/l

Sales biliares: 1.3 g/l

Fosfato Dipotásico: 4g/l

Fosfato monopotásico: 1.5 g/l

Cloruro Sódico: 5g/l

pH: 6.9

Se distribuye en tubos, se colocan sendas campanillas de Durham y se esteriliza en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

En caso de obtener resultados positivos se debe proseguir con la investigación de *Escherichia coli*. Para ello se repican con ansa por agotamiento en superficie, en placas de Petri con agar EMB como medio de cultivo selectivo para *Escherichia coli*.

- Agar EMB. Este medio contiene:

Peptona: 10 g/l

Hidrógeno fosfato dipotásico: 2 g/l

Lactosa: 10 g/l

Eosina amarillenta: 0.4 g/l

Azul de metileno: 0.065 g/l

Agar: 13.5 g/l

pH: 7

Se incuba durante 24 – 48 h a 37 °C, y se observa la aparición de colonias típicas de *E. coli*: verdes con brillo metálico.

Luego sobre dichas colonias se realizan las siguientes pruebas bioquímicas: Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer, Citrato (IMViC), (AOAC, 1984):

Prueba del Indol:

Se inoculan tubos con caldo triptono o agua peptonada, a partir de cultivos puros y se incuban a 37 °C por 24-48 h Se añade a cada tubo 0.2-0.3 ml de Reactivo de Kovacs o Erlich y luego de unos minutos se realiza la lectura.

Indol positivo (+): anillo rosado en la superficie

Indol negativo (-): no hay cambio de color

Reactivo de Kovacs:

p- dimetilaminobenzaldehido: 5 g/l

alcohol amílico: 75 ml

HCl (conc.): 25 ml

El reactivo debe ser color amarillo.

Prueba del Rojo de Metilo:

Se inoculan tubos de caldo glucosa tamponada a partir de cultivos puros y se incuban a 35-37 °C por 24-48 h Se añaden 5 gotas de la solución acuosa de Rojo de metilo al 0.04 % y se agita.

Rojo de Metilo (+): coloración, indica fermentación de la glucosa con acidificación del medio.

Rojo de Metilo (-): coloración amarilla

Prueba de Voges- Proskauer:

Se inoculan tubos con caldo glucosado tamponado a partir de cultivos puros y se incuban a 35- 37 °C por 24- 48 h se añaden 0.6 ml de solución de α - naftol al 6 % en etanol 60° y 0.2 ml de Koh, se agita y se deja reposar no menos de 10 min Luego se observa.

Voges- Proskauer (+): disco rosado en superficie.

Voges- Proskauer (-): no se observa disco rosado en superficie

Prueba del Citrato: se inocula un tubo con agar Citrato de Simmons usando una ansa recta.

Se incuba a 35-37 °C por 24-48 h

Citrato (+): viraje del medio al azul

Citrato (-): medio verde (color original)

- Agar Citrato de Simons:

Sulfato de magnesio: 0.2 g/l

Fosfato monoamónico: 1 g/l

Fosfato bipotásico: 1 g/l

Citrato sódico: 2 g/l

Cloruro Sódico: 5g/l

Azul de Bromotimol: 0.08 g/l

Agar: 15 g/l

pH: 6.9

Luego de finalizar el tiempo de incubación se observan los resultados de las pruebas y se analizan.

El análisis estadístico de los recuentos se realizó mediante el test de ANAVA del programa Systat.

2.3.3- Análisis sensorial

Existen numerosos métodos de análisis sensoriales con diversos propósitos: discriminativos para determinar diferencias (de comparación, triángulo, etc.), para determinar grados de percepción (umbral y resolución de percepción), descriptivos para determinar perfiles sensoriales (perfil del sabor, de la textura, etc.) y análisis de aceptabilidad (de preferencia, grado de satisfacción, etc.) (Ureña P. y col., 1999).

En nuestro caso, se realizaron análisis para determinar diferencias y de aceptabilidad.

2.3.3.1- Análisis discriminativos para determinar diferencias

Dentro de los análisis para determinar diferencias encontramos:

Comparación pareada: en esta prueba dos muestras codificadas son analizadas simultáneamente o secuencialmente en un orden que puede variar para cada juez. Según el criterio de discriminación, este análisis presenta dos variantes: de Diferencia Simple y de Diferencia Direccionada. En el primero, los jueces indicaran si hay diferencia entre las muestras de cada prueba sin considerar un criterio específico de discriminación. Las muestras pueden ser presentadas siendo estas idénticas o diferentes, buscando siempre la forma de lograr una randomización que permita la total independencia entre pruebas y con ello la justificación estadística de seleccionar la muestra con una probabilidad de un medio (1/2). En el análisis de Diferencia Direccionada, los jueces seleccionan una de las dos muestras presentadas por encontrar en ella, más acentuadamente el criterio de discriminación objeto de análisis. Es una selección forzada, y al igual que en la diferencia simple, el número de pares presentados en una sesión está limitado por fatiga o por adaptación de los jueces al producto.

Dúo-Trío: se emplean tres muestras codificadas, dos idénticas y una diferente. Una de las idénticas es la muestra patrón, que se presentará primero para que el juez la memorice y proceda luego a compararla con las otras dos. Se le pide al juez que forzosamente seleccione la muestra que es igual a la muestra patrón. La muestra usada como patrón puede ser del mismo producto para todas las pruebas o ser alternada con la otra muestra.

Triángulo: se emplean tres muestras codificadas, dos idénticas y una diferente, que son presentadas simultáneamente. Ninguna de las muestras debe ser mostrada como patrón. Las muestras de control y la experimental son sistemáticamente variadas de tal forma que se presenten como muestras causales e idénticas en igual número de veces. El juez debe determinar forzosamente cual de las tres muestras presentadas difiere de las otras dos, siendo la probabilidad de seleccionar al azar la muestra diferente de un tercio (1/3) (Ureña P. y col., 1999).

Dentro de estos, el empleado fue el de Triángulo ya que, es estadísticamente más eficiente que la comparación por pares y que la prueba del duo-trio debido a que la probabilidad de seleccionar al azar la muestra es menor que en las anteriores. También es particularmente útil en situaciones donde el efecto tratamiento puede producir cambios del producto, y que no puede ser caracterizado simplemente por uno o dos atributos. Sin embargo, la prueba tiene un uso limitado en aquellos productos que produzcan fatiga, persistencia o adaptación sensorial, y con evaluadores que encuentran a esta prueba muy confusa y difícil.

Se realizaron tres ensayos:

Muestra A: yogur sin fibra vs. yogur con inulina

Muestra B: yogur sin fibra vs. yogur con fibra de trigo

Muestra C: yogur sin fibra vs. yogur con fibra de caña de bambú

Cada muestra se le dio a 25 personas, quienes constituyen un panel no entrenado de evaluadores. En general, ninguno conocía el tipo de diferencias entre los yogures, lo que brindaba mayor objetividad al juzgar.

La fibra de manzana no fue incluida en este análisis debido a su color. El yogur producido con esta fibra es de color marrón claro, por lo que las diferencias respecto al control serían obvias, por lo tanto no puede formar parte de un análisis discriminativo para determinar diferencias.

2.3.3.2- Análisis de aceptabilidad

El análisis de aceptabilidad se emplea para conocer grado de satisfacción del producto por parte del consumidor así como también sus preferencias de consumo. Para determinar el grado de aceptabilidad de los consumidores en respuesta a la medida de cómo

cumple el alimento evaluado con sus requerimientos o expectativas, se hace uso de escalas de categorización adimensionadas, que miden a que nivel de placer se es capaz de llegar y manifestar al consumir un determinado alimento, lo que se determina a partir de la apreciación de cómo agrada o desagrada éste a una muestra de la población de potenciales consumidores.

En nuestro caso se analizó el color, textura, flavor y aroma. La escala hedónica utilizada fue la siguiente:

- 1- Me disgusta
- 2- No me gusta
- 3- Ni me gusta, ni me disgusta
- 4- Me gusta
- 5- Me gusta mucho

La fibra de manzana tampoco fue incluida en este análisis debido a su color. Cada tipo de muestra se le dio a los miembros del panel.

Para el análisis estadístico se utilizó la tabla que da el número de respuestas correctas requeridas, para diferentes niveles de significación, empleando el valor mínimo de respuestas acertadas para un número determinado de evaluadores en la prueba del triángulo (Ureña P. y col., 1999). Con esta tabla se puede determinar directamente si existen o no diferencias entre las muestras analizadas con sólo identificar el valor mínimo de respuestas acertadas (17) para el total de personas que forman el panel (25) al nivel de significación de 0.01.

Capítulo 3

Resultados y Discusión



3.1- Caracterización Físicoquímica

3.1.1- Comportamiento Reológico

3.1.1.1- Ensayos transientes en función de la velocidad.

Las curvas de esfuerzo de corte a una velocidad de deformación constante obtenidas en función del tiempo muestran un pico que corresponde a un comportamiento viscoelástico típico del sistema. En estos casos, el modelo de la ley de la potencia (Eq. 3.1) puede ser aplicado a tiempos largos de deformación cuando el sistema se comporta como líquido viscoso usando el esfuerzo de corte del equilibrio (σ_{∞}) (Navarro y col, 1996; van Marle y col., 1999).

$$\sigma_{\infty} = m\dot{\gamma}^n \quad (\text{Eq. 3.1})$$

donde:

σ_{∞} es el esfuerzo de corte de equilibrio a cada gradiente de velocidad de deformación

$\dot{\gamma}$ gradiente de velocidad con que el material es deformado

m es el índice de consistencia del producto

n es el factor de la Ley de la Potencia o índice de flujo que representa la desviación del comportamiento respecto a fluidos newtonianos, para los cuales $n=1$.

Las curvas obtenidas experimentalmente para cada tipo de tratamiento, se ajustaron satisfactoriamente al modelo propuesto, obteniéndose un coeficiente de correlación cuadrático (R^2) mínimo de 0.987. La figura 3.1 muestra el esfuerzo de corte en el equilibrio con las estimas del modelo para el yogur con fibra de trigo y el control.

Cabe aclarar que, el error de los datos experimentales de la figura 3.1 pueden atribuirse a la falta de estabilizador y/o espesante de la formulación (presente en los yogures industriales), que hace más inestable al sistema desarrollado en este trabajo ya que se observó, ni bien finalizado el tiempo de fermentación, un precipitado de fibra insolubilizado en el fondo de los recipientes, que nos llevó a tener que realizar una homogenización previa a los ensayos, que está descrito en la literatura (van Marle y col, 1999). Este comportamiento se menciona en una de las patentes encontradas, y está

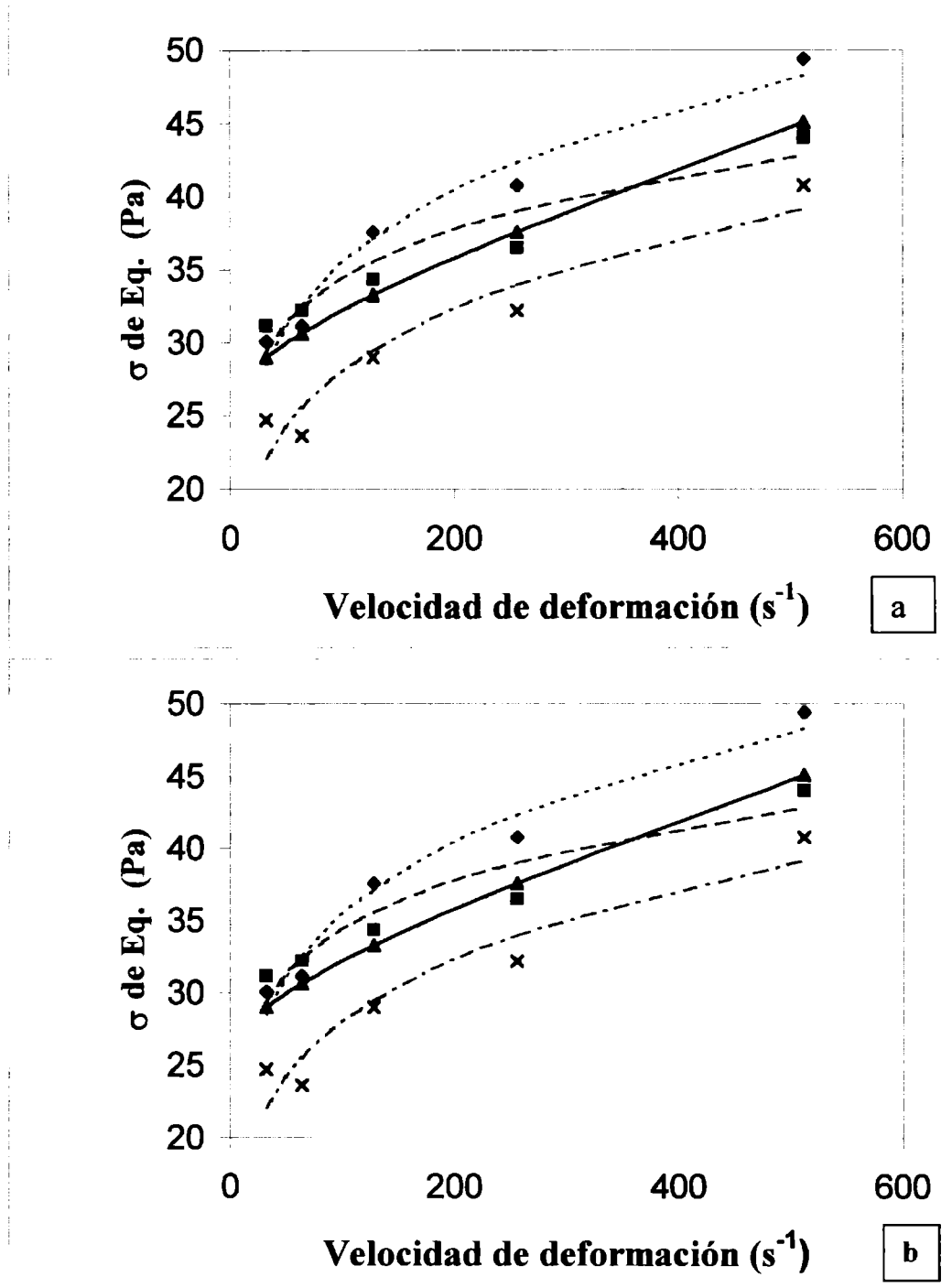


Fig. 3.1- Comportamiento reológico de los yogures. Esfuerzo de corte en el equilibrio vs. velocidad de deformación. a) Yogurt fibra de trigo b) Yogurt control.

◆, (····) 1 día; ■, (----) 7 días; ▲, (—) 14 días; ×, (-·-·-) 21 días de almacenamiento. Las líneas corresponden a la regresión de la Ley de la potencia. Máxima desviación standard del esfuerzo de corte en el equilibrio = 4.92 Pa.

relacionado con el porcentaje de fibra agregado en la formulación del producto, ya que cuando la concentración de fibra excede el 0.5% hay una tendencia a que se deposite en el fondo del recipiente que lo contiene como se observa en la figura 3.2 (Malireddy S., 1989).



Fig. 3.2- Yogur recién preparado, donde se aprecia el precipitado de fibra insoluble de manzana (izquierda) en comparación con el yogur sin fibra (derecha).

La tabla 3.1 muestra los valores de m , n y η_{app} para el yogurt fortificado con las distintas fibras y el control al tiempo inicial y final de almacenamiento. Los valores de n indican un comportamiento pseudoplástico.

El ANAVA indicó que el tiempo de almacenamiento fue un factor significativo ($P < 0.05$) tanto para el índice de consistencia como para el factor de la ley de la potencia.

El índice de consistencia disminuyó con el tiempo de almacenamiento y sus valores concuerdan con los de la literatura (Ramaswamy y Basak, 1991; Keogh y O’Kennedy, 1998).

Tipo de yogur	m [*] [Pa.s ⁻ⁿ]	m ^{**} [Pa.s ⁻ⁿ]	n [*]	n ^{**}	η_{ap} [*] [Pa.s ⁻¹]	η_{ap} ^{**} [Pa.s ⁻¹]
Bambú	15.204 ^a	8.945 ^c	0.181 ^a	0.264 ^d	0.941 ^a	0.703 ^c
Inulina	17.767 ^a	12.281 ^c	0.154 ^a	0.210 ^c	0.939 ^a	0.838 ^c
Manzana	30.262 ^b	16.619 ^d	0.096 ^b	0.195 ^c	1.308 ^b	1.039 ^d
Trigo	14.798 ^a	10.796 ^c	0.190 ^a	0.207 ^c	0.939 ^a	0.772 ^c
Control	19.543 ^a	12.215 ^c	0.140 ^a	0.202 ^c	1.006 ^a	0.805 ^c

Tabla 3.1- Índice de Consistencia (m), Factor de la Ley de la Potencia (n) y la Viscosidad aparente (η_{ap}) a 32 s⁻¹, de los diferentes yogures al tiempo inicial y final de almacenamiento. * recién preparado, ** 21 días de almacenamiento. Medias con diferentes superíndices difieren significativamente en comparación vertical (p< 0.05).

Las viscosidades aparentes (η_{ap}) fueron calculadas a 32 s⁻¹ y se pueden observar en la tabla 3.1. El ANAVA indica que el tipo de fibra y el tiempo de almacenamiento fueron factores significativos para la viscosidad aparente. El test de Fisher para la comparación de medias indica que el yogurt fortificado con fibra de manzana tenía una diferencia significativa (P<0.05) en la viscosidad aparente (η_{ap}) comparado con los otros yogures. Este comportamiento puede ser atribuido a la formación de agregados cuando la fibra es añadida a la leche, que tienen alta probabilidad de interferir con la estructura del yogurt. Estos agregados no se observaron con las otras fibras. Por lo tanto, el tipo de fibra juega un papel importante en el comportamiento reológico.

3.1.1.2- Ensayos de deformación oscilatoria sinusoidal

Se determinó la zona de viscoelasticidad lineal con un barrido de deformación, desde 0 hasta 50 %, a una velocidad angular (ω) constante de 6.23 rad/seg. Se registró la respuesta del sistema a variaciones de deformación (γ) a velocidad angular constante. El valor de deformación máxima para el rango de viscoelasticidad lineal obtenido fue del 6 % y se va a trabajar a 5% para asegurar que se trabaja en el rango de viscoelasticidad lineal (figura 3.3).

De los ensayos realizados con variaciones de frecuencia oscilatoria (desde 0.63 hasta 13.57 rad.seg⁻¹) y a deformación constante (5 %) se obtuvieron los parámetros G' y G'' para los yogures sin fibra y con el agregado de las fibras utilizadas (inulina, fibra de caña de bambú, fibra de manzana y fibra de trigo).

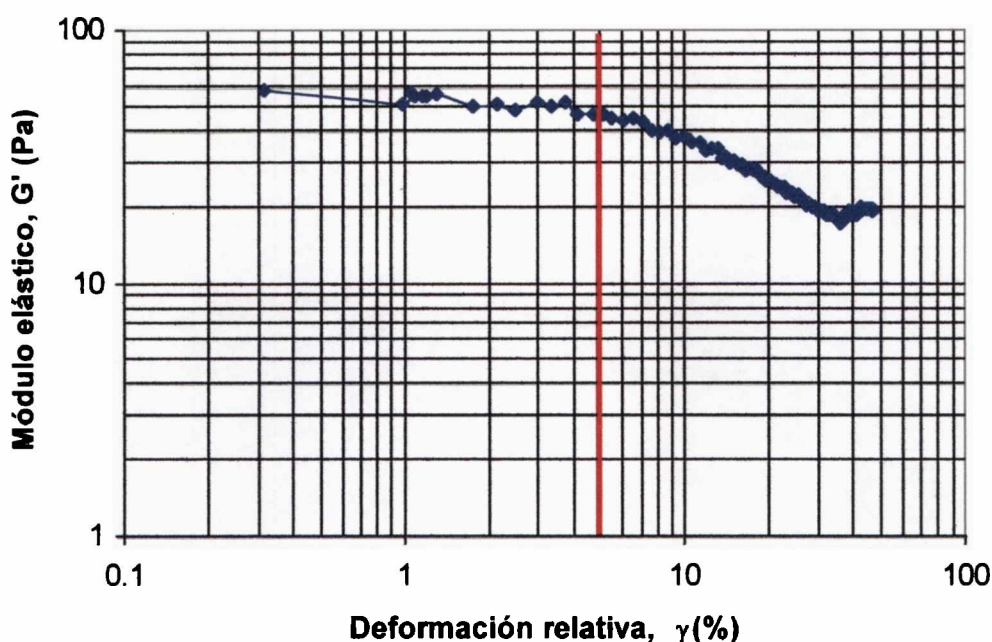


Fig. 3.3- Variación del módulo elástico (G') en función de la deformación relativa (γ) durante un ensayo oscilatorio sinusoidal con velocidad angular constante ($\omega = 6.23$ rad/s) en yogur con adición de inulina.

La figura 3.4 muestra las curvas típicas de G' , G'' y $\tan \delta$ en función de la frecuencia (ω , en la figura) para yogur con fibra de trigo y sin fibra, iniciales y almacenados 21 días a 4° C. En general las muestras a tiempo inicial presentan características de solución concentrada; G' , G'' y $\tan \delta$ varían con la velocidad angular ω (ω , en la figura).

A mayores tiempos de almacenamiento los yogures con fibra de trigo, bambú e inulina presentan comportamiento más cercanos al de geles, donde G' , G'' y $\tan \delta$ varían poco con la velocidad angular (ω), mientras que el yogur control sin fibra y con fibra de manzana, mantienen similares características a las iniciales. Este comportamiento puede atribuirse a que la modificación del tipo de estructura que aportan algunas fibras podría contribuir al desarrollo de una estructura más rígida por efecto del tiempo. Una de las características de las fibras es el gran poder de hidratación que poseen.

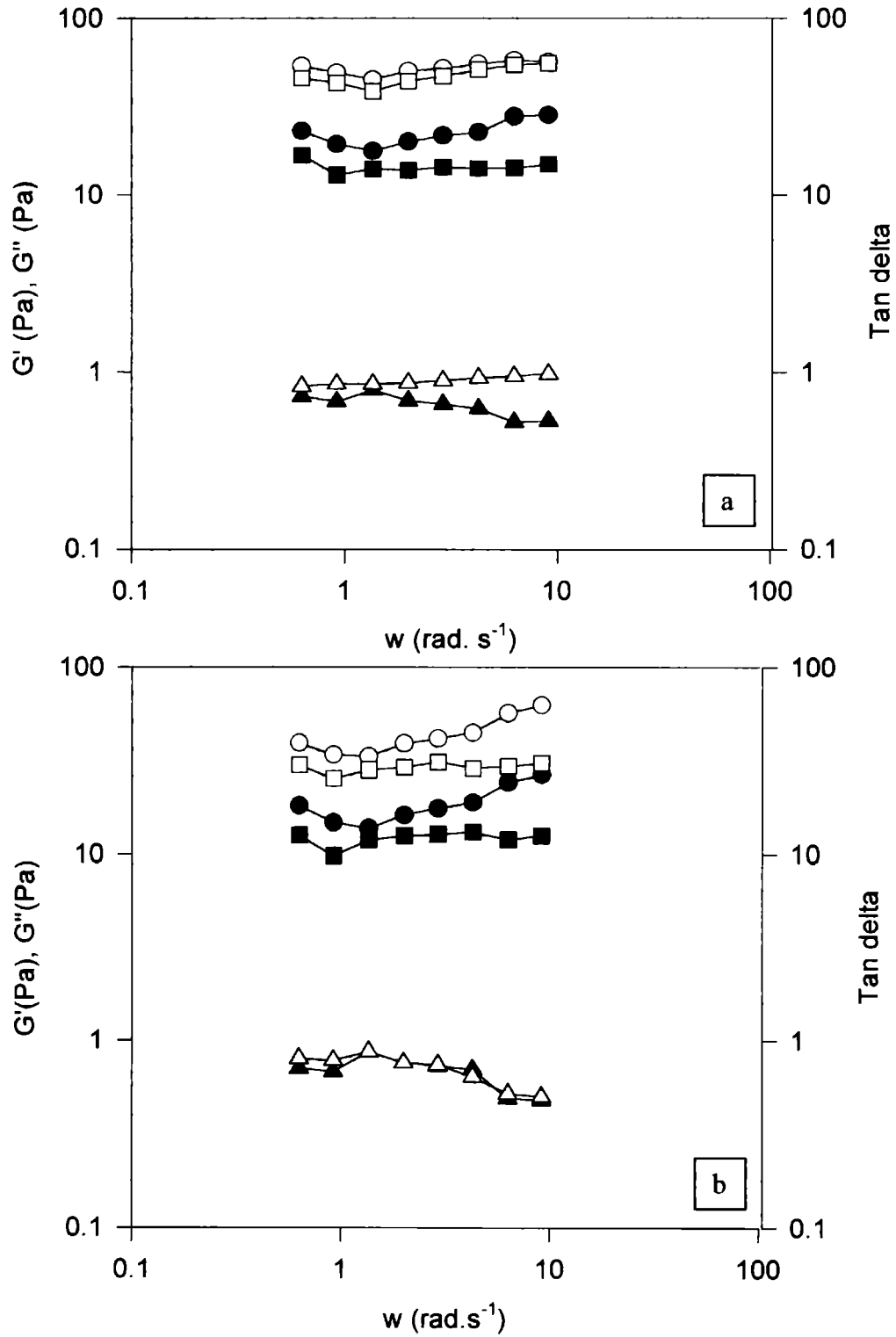


Fig. 3.4- Comportamiento reológico. Ensayos oscilatorios para yogures a distintos tiempos de almacenamiento. a) yogur con fibra de trigo b) yogur sin fibra.

● G' , ■ G'' , ▲ $\tan \delta$ (tan delta en la figura) recién preparado.

○ G' , □ G'' , △ $\tan \delta$ (tan delta en la figura) a 21 días de almacenamiento a 4°C.

Las curvas obtenidas con el reómetro se modelaron (Steffe, 1996) para todos los yogures estudiados según la siguientes ecuaciones:

$$G' = a\omega^b \quad (\text{Eq. 3.2})$$

$$G'' = c\omega^d \quad (\text{Eq. 3.3})$$

Siendo a , b , c , d parámetros que caracterizan el comportamiento reológico y ω la frecuencia oscilatoria.

Para cada tiempo de almacenamiento y para cada tratamiento se determinaron estos parámetros. Las curvas obtenidas experimentalmente se ajustaron satisfactoriamente al modelo escogido, obteniendo un coeficiente de correlación cuadrático (R^2) mínimo de 0.937 como se puede observar en la figura 3.5.

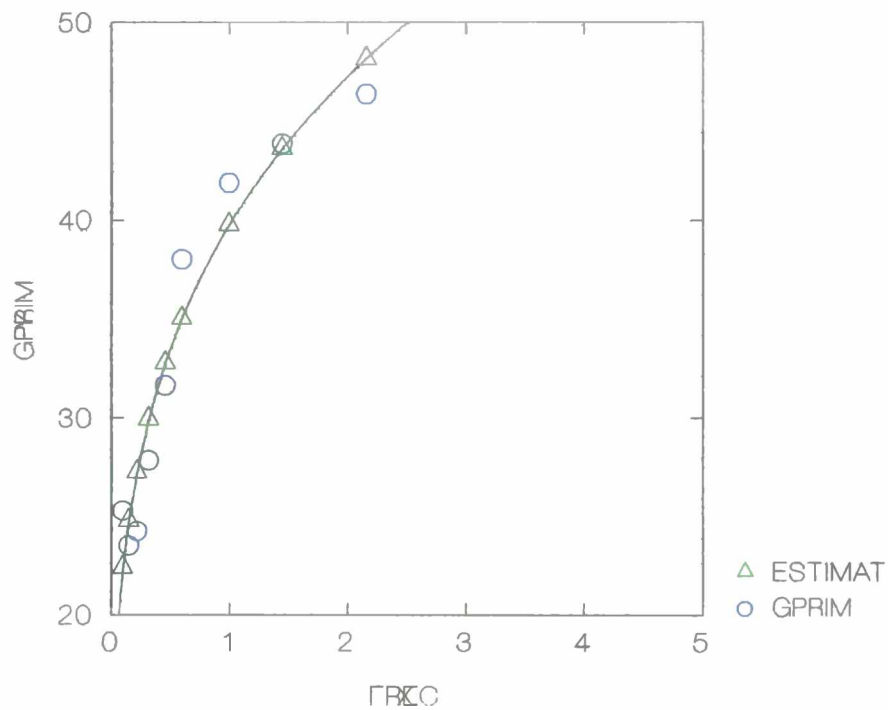


Fig. 3.5- Valores experimentales obtenidos para el módulo elástico G' (\square) y su estimación (\triangle) mediante el modelo aplicado para yogur con fibra de bambú.

En la tabla 3.2 se puede observar la variación de a , b , c y d con el tiempo para cada uno de los tratamientos, control y yogures fortificados con fibras. Los valores experimentales del parámetro b , los cuales varían entre 1.11 y 0.39, estaban entre los valores de una solución concentrada (0.840) y los geles (0.037) informados por Steffe

(1996). Los valores de **a** estaban entre los típicos de geles (5626 Pa s^b, Steffe, 1996) y las soluciones concentradas (16.260 Pa s^b, Steffe, 1996)

Tipo de yogur	Tiempo [días]	a [Pa.s ^b]	ds	b	ds	c [Pa.s ^d]	ds	d	ds
Bambú	1	26.29	1.70	0.23	0.04	24.31	1.18	-0.11	0.04
	7	34.58	1.80	0.24	0.03	26.05	1.21	-0.09	0.03
	14	59.14	1.13	0.15	0.02	36.22	1.11	-0.27	0.03
	21	70.01	1.83	0.12	0.02	36.22	1.26	-0.21	0.03
Inulina	1	21.04	0.78	0.22	0.02	14.32	0.52	-0.04	0.03
	7	25.39	1.12	0.32	0.02	27.09	1.18	-0.07	0.03
	14	29.35	1.15	0.34	0.02	31.57	1.01	-0.13	0.02
	21	54.37	1.70	0.12	0.02	43.10	1.52	-0.04	0.02
Manzana	1	12.02	0.47	0.26	0.02	12.86	0.35	-0.12	0.03
	7	18.58	1.48	0.39	0.04	25.17	1.21	-0.21	0.04
	14	33.61	1.66	0.20	0.03	30.91	1.72	-0.04	0.04
	21	36.71	1.81	0.22	0.05	35.68	1.41	-0.19	0.05
Trigo	1	18.92	0.53	0.20	0.02	14.96	0.41	-0.09	0.02
	7	17.40	0.86	0.40	0.02	23.18	0.96	-0.09	0.03
	14	28.98	0.94	0.36	0.02	35.56	1.23	-0.12	0.03
	21	49.88	1.31	0.06	0.02	42.86	1.91	-0.10	0.03
Sin Fibra	1	14.43	0.61	0.27	0.02	12.16	0.48	-0.07	0.03
	7	15.08	0.98	0.31	0.01	20.43	0.61	-0.18	0.02
	14	22.76	1.06	0.36	0.03	26.53	1.09	-0.13	0.03
	21	33.69	1.64	0.27	0.03	29.05	1.59	-0.06	0.04

Tabla 3.2- Parámetros dinámicos **a**, **b**, **c** y **d** a diferentes tiempos de almacenamiento para el control y yogures fortificados. Parámetros a, b, c, y d corresponden al siguiente modelo: $G' = a\omega^b$ and $G'' = c\omega^d$.

ds: desviación standar

Los valores del parámetro c fueron similares a los de las soluciones concentradas (Steffe, 1996). El análisis estadístico indicó que el tipo de tratamiento y el tiempo eran variables significativas ($P < 0.05$).

Keogh y O'Kennedy (1998) trabajaron con yogurt batido suplementado con grasa de leche, proteínas e hidrocoloides aplicando la ley de la potencia para viscosidad dinámica, con la siguiente expresión:

$$\eta^* = K^* \omega^{n^*-1} \quad (\text{Eq. 3.4})$$

donde η^* es la viscosidad dinámica (Pa.s ^{n^*-1})

ω es la frecuencia como velocidad angular (s⁻¹)

K^* es el índice de consistencia dinámica (Pa.s ^{n^*})

n^* es el factor de la ley de la potencia dinámica

Cuando $n^* = 0$ el sistema es elástico y η^* disminuye cuando aumentan los valores de ω

$n^* = 1$ el sistema es viscoso y η^* es constante.

Los sistemas viscoelásticos tienen n^* entre 0 y 1.

Si la viscosidad dinámica se calcula como:

$$\eta^* = \frac{G''}{\omega} \quad (\text{Eq. 3.5})$$

igualando las ecuaciones 3.4 y 3.5 se obtiene:

$$\frac{G''}{\omega} = K^* \omega^{n^*-1} \quad (\text{Eq. 3.6})$$

Así, por comparación de las ecuaciones 3.2 y 3.6, nuestros valores de c se corresponden con el índice de consistencia dinámica (K^*) de este modelo.

Se encontró un comportamiento diferente con el tiempo de almacenamiento, entre el índice de consistencia (m) y la viscosidad aparente (η_{ap}) obtenido a partir de los ensayos rotacionales y el parámetro c equivalente a la viscosidad dinámica. Keogh y O'Kennedy (1998), trabajando con yogures batidos adicionados con materia grasa, proteínas e hidrocoloides obtuvieron resultados equivalentes. Este comportamiento

podría atribuirse a que en los ensayos rotacionales la estructura del yogur se destruye totalmente, cosa que no sucede en los ensayos dinámicos.

Un ejemplo típico de la variación de los parámetros de la regresión puede observarse en la fig. 3.6 para fibra de inulina y el control; donde los parámetros *a* y *c* aumentan con el tiempo.

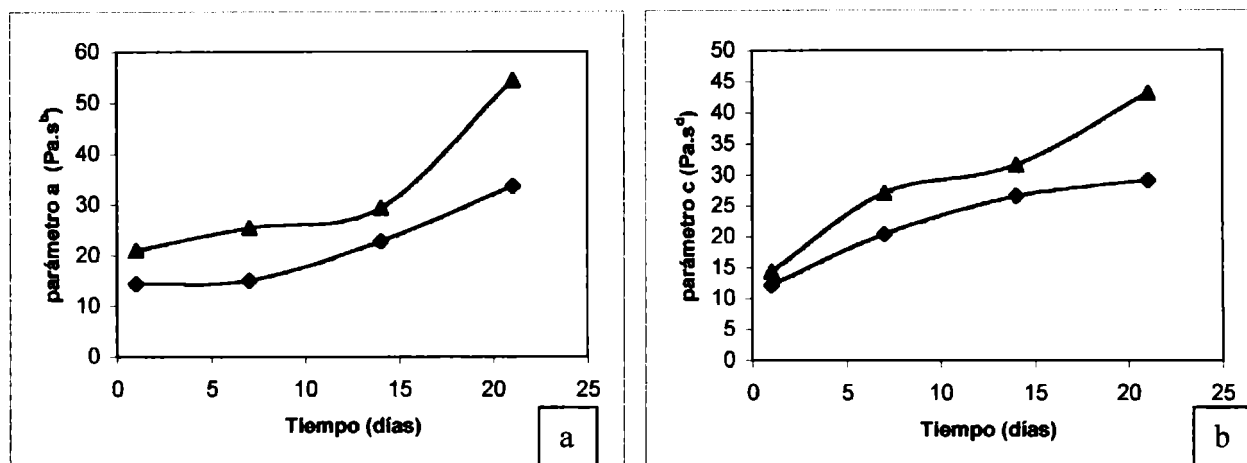


Fig 3.6- Efecto del tiempo de almacenamiento y la adición de fibra con respecto a los parámetros *a* and *c* del modelo.

a) parámetro *a* en función del tiempo de almacenamiento.

b) parámetro *c* en función del tiempo de almacenamiento.

◆ Control, ▲ Inulina

3.1.1.3- Ensayos de compresión-extrusión.

Los análisis estadísticos realizados con los ensayos de compresión-extrusión, muestran que el tiempo y el tipo de fibra son factores significativos ($P < 0.05$) para la fuerza máxima. El test de Fisher para la comparación de medias indica que el yogurt fortificado con fibra de manzana tenía una diferencia significativa ($P < 0.05$) en la fuerza máxima comparado con los otros yogures.

Dado que el valor de fuerza máxima obtenido para el yogurt fortificado con fibra de manzana resultó mucho menor (fig. 3.7) a los correspondientes a los demás tratamientos, se puede inferir que la fibra de manzana (insoluble) interfiere en la formación del coágulo, resultando éste más débil.

De acuerdo con Bourne (1982) el ligero incremento en el plateau de la curvas fuerza-tiempo obtenidas (no mostradas) indica que durante la extrusión, fuerzas de adhesión y de cizalla actúan simultáneamente.

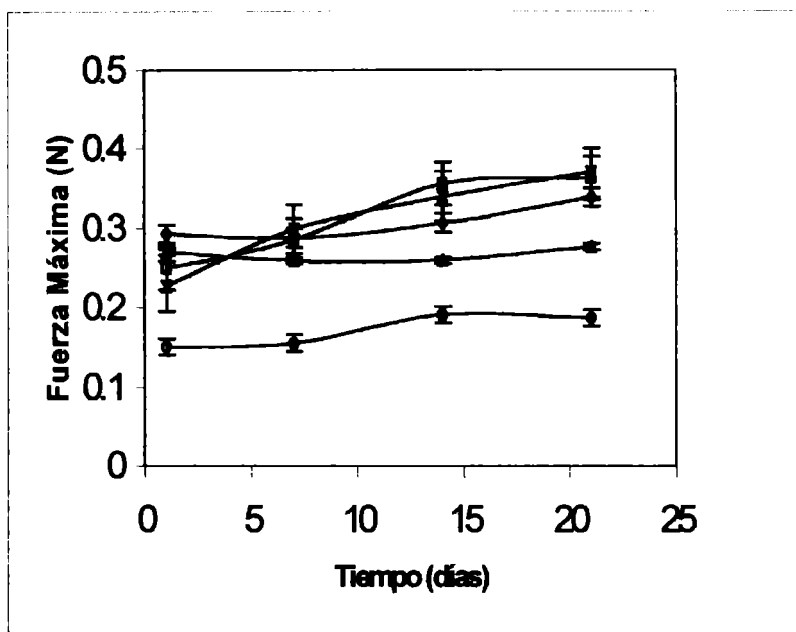


Fig. 3.7- Fuerzas Máximas medias de los diferentes yogures como función del tiempo de almacenamiento.

◇ Control, □ Bambú, Δ Inulina, 0 Manzana, *Trigo.

Las barras indican el error standar.

3.1.2- Color

La fibra de manzana es de color marrón, mientras que las otras fibras ensayadas son de color blanco. Por lo tanto, esta característica se visualiza en los parámetros **L**, **a** y **b** (fig. 3.8 a y b), siendo **L** siempre menor y **a/b** mayor que para los otros yogures estudiados. Estadísticamente, no hubo diferencias significativas entre los demás tratamientos y el yogur sin fibra. También, el tiempo de almacenamiento no fue un factor significativo respecto al color para ninguno de los tratamientos.

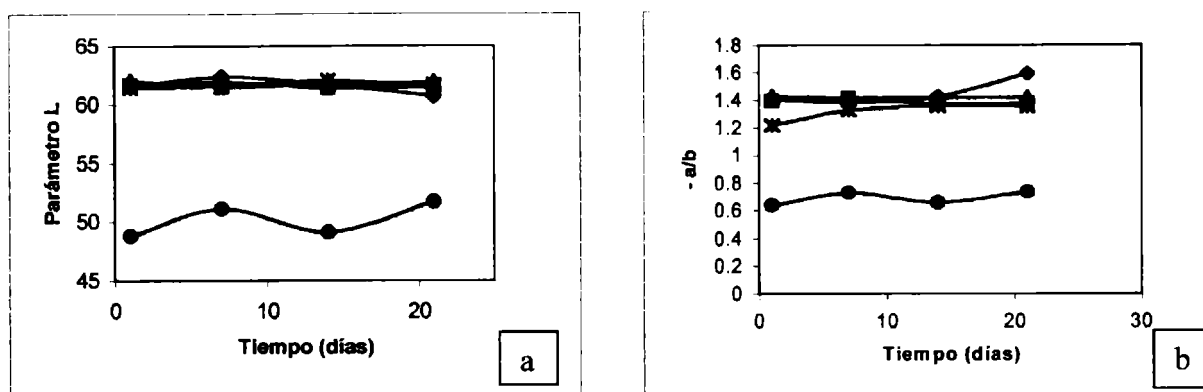


Fig. 3.8- Modificaciones de color con el tiempo de almacenamiento para el yogur control y para los yogures fortificados. a) parámetro L, b) parámetro a/b.

◆ Control, ■ Bambú, ▲ Inulina, ● Manzana, *Trigo.

3.1.3- pH y Actividad Acuosa

El pH de las fibras en solución acuosa al 1.3 % p/p, concuerdan con las especificaciones del producto. Es de destacar el bajo valor de pH de la fibra de manzana, por lo cual, era de interés estudiar si esta característica le impartiría alguna propiedad distinta al yogur con fibra de manzana como se ha observado en los resultados del comportamiento reológico. Se midió el pH antes y después de la pasteurización, y antes de la incubación con el fermento. Esta información se encuentra en la tabla 3.3. Se puede observar que no hubo alteración del pH del yogur con lo cual no se puede atribuir esto como causa de las variaciones observadas en la reología del producto y tampoco deberían causar modificaciones en la vida útil y en el comportamiento microbiológico del producto.

Durante el tiempo de almacenamiento, se observaron valores descendentes de pH entre el valor inicial y 4,2 en la primera semana de almacenamiento, luego se mantiene constante hasta finalizado el período de almacenamiento. Las curvas obtenidas son mostradas en la figura 3.9.

El análisis estadístico indicó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

Todos los yogures analizados presentaron un valor constante de a_w en el tiempo de almacenamiento de 0.98.

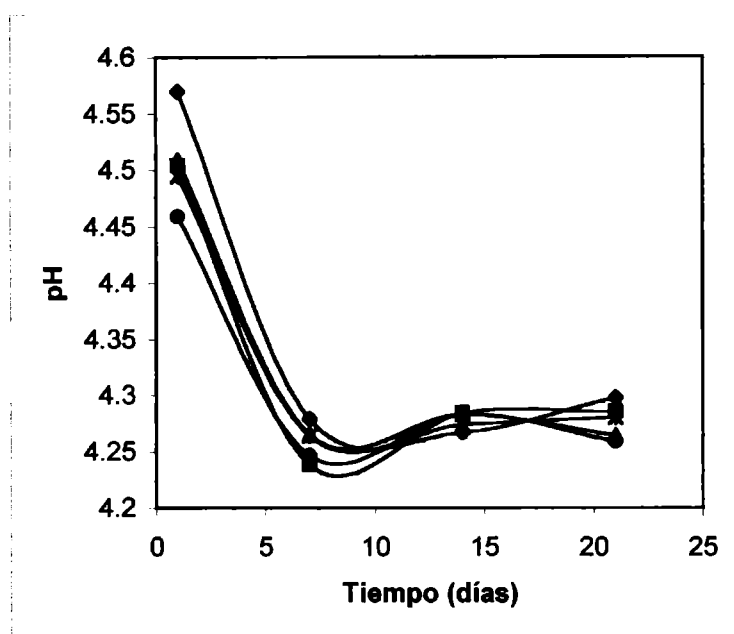


Fig. 3.9- Variación de pH con el tiempo de almacenamiento.

◆ Control, ▲ Inulina, * Trigo, ■ Bambú, ● Manzana.

Tipo de yogur	Antes de la pasteurización	Después de la pasteurización	Antes de la inoculación
Bambú	6.72	6.70	6.76
Inulina	6.90	6.91	6.92
Manzana	6.31	6.51	6.60
Trigo	6.78	6.79	6.77
Sin Fibra	6.91	6.91	6.92

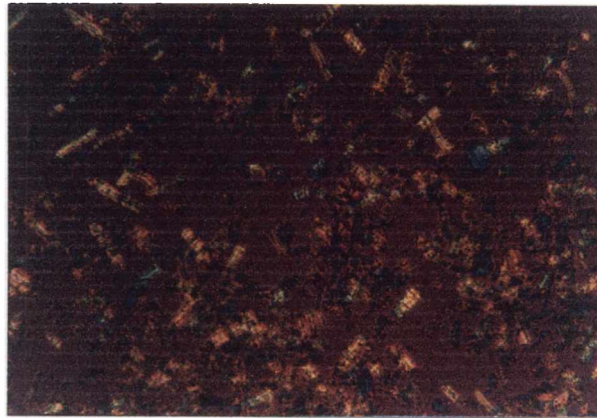
Tabla 3.3- pH de las muestras durante la preparación del yogur.

3.1.4- Exudado.

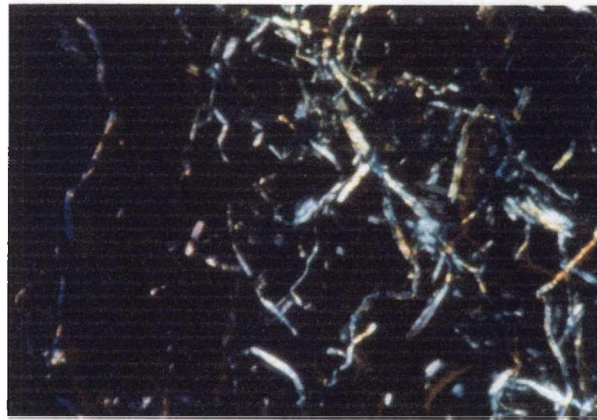
Durante el tiempo de almacenamiento ninguno de los yogures presentaron exudado. Trabajos similares (Fizman, S. M. y col., Keogh, M.K. y col.) informan la aparición de exudado. Las características en este sentido de los yogures del presente trabajo son positivas ya que la aparición de exudado provoca rechazo en el consumidor.

3.1.5- Observación de la estructura.

De las observaciones por microscopía óptica realizadas se puede inferir que las fibras se distribuyen uniformemente en todo el yogur, para todos los casos (fig.3.10).



a)



b)



c)

Fig. 3.10- Observaciones microscópicas de yogures con fibra de caña de bambú (a), de manzana (b) y de trigo (c), utilizando para la tinción azul de toluidina. La escala corresponde a 100 μm y es válida para las tres micrografías.

2- Análisis Microbiológico.

El estudio microbiológico previo de las fibras dió como resultado que estaban dentro de las especificaciones indicadas por el fabricante que se encuentran en la tabla 2.2 del capítulo 2. Como consecuencia cuando las fibras fueran incorporadas en la formulación no tendrían porque alterarla microbiológicamente.

3.2.1- Vida Util

Los resultados obtenidos en el estudio de mohos y levaduras en función del tiempo de almacenamiento tanto a 4 como a 20°C, se pueden observar en las tablas 3.4 y 3.5. Los recuentos están expresados como log UFC/g (UFC = unidades formadoras de colonias).

Mediante análisis estadístico de los recuentos de mohos y levaduras, se pudo inferir que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos y con respecto al control. Por lo tanto el agregado de fibra dietaria al yogur no altera microbiológicamente al producto en comparación con el yogur sin el agregado de fibra.

El tiempo de vida útil para el yogur almacenado a 4°C fue de 17 días y para el yogur almacenado a 20°C fue de 3 días según los requerimientos del Código Alimentario Argentino.

Los límites de confianza de la vida útil fueron calculados considerando el error experimental promedio en los recuentos microbianos, que fue de ± 0.2 log UFC/g.

Tipo de yogur	Tiempo de Almacenamiento (Días)						
	1	7	14	16	17	18	21
Bambú	1	1	1	1	1.82	2.27	3.02
Inulina	1	1	1	1	1.90	2.24	3.10
Manzana	1	1	1	1	1.73	2.36	3.13
Trigo	1	1	1	1	1.90	2.32	3.12
Sin Fibra	1	1	1	1	1.82	1.97	3.04

Tabla 3.4- Recuentos promedio de mohos y levaduras a 4°C. Recuentos expresados como log UFC/g.

Tipo de yogur	Tiempo de Almacenamiento (Días)			
	1	2	3	4
Bambú	1	1	2.17	3.27
Inulina	1	1	2.23	2.95
Manzana	1	1	2.38	3.10
Trigo	1	1	2.36	3.05
Sin Fibra	1	1	2.27	3.07

Tabla 3.5- Recuentos promedio de mohos y levaduras a 20°C. Recuentos expresados como log UFC/g.

3.2.1- Calidad Sanitaria

La evaluación de la calidad microbiana, realizada mediante el recuento en placa de enterobacterias y con la técnica de Número Más Probable a las dos temperaturas de almacenamiento se pueden observar en las tablas 3.6, 3.7, 3.8, 3.9. El análisis estadístico de los recuentos de enterobacterias y del NMP dieron como resultado que no existían diferencias significativas entre los tratamientos. Siguiendo con la serie de ensayos para las enterobacterias se pudo descartar la presencia de coliformes fecales y de *E. coli*, indicando las buenas condiciones sanitarias de producto.

Tipo de yogur	Tiempo de almacenamiento (Días)						
	1	7	14	16	17	18	21
Bambú	1	1	1	1	1	1	2.45
Inulina	1	1	1	1	1	1	2.36
Manzana	1	1	1	1	1	1	2.52
Trigo	1	1	1	1	1	1	2.47
Sin Fibra	1	1	1	1	1	1	2.20

Tabla 3.6- Recuentos promedio de enterobacterias a 4°C. Recuentos expresados como log UFC/g.

Tipo de yogur	Tiempo de Almacenamiento (Días)						
	1	7	14	16	17	18	21
Bambú	1	1	1	1	1	13.47	160
Inulina	1	1	1	1	1	10.40	122.67
Manzana	1	1	1	1	1	10.93	81.33
Trigo	1	1	1	1	1	8.13	160
Sin Fibra	1	1	1	1	1	11.47	120

Tabla 3.7- NMP/ g de enterobacterias.

Tipo de yogur	Tiempo de almacenamiento (Días)			
	1	2	3	4
Bambú	1	1	2.13	2.94
Inulina	1	1	2.27	3.07
Manzana	1	1	2.38	3.55
Trigo	1	1	2.43	3.70
Sin Fibra	1	1	2.13	3.01

Tabla 3.8- Recuentos promedios de enterobacterias a 20°C. Recuentos expresados como log UFC/g.

Tipo de yogur	Tiempo de Almacenamiento (Días)			
	1	2	3	4
YsF	0	0	20	73.33
YcfB	0	0	24	122.67
YcfI	0	0	24.4	73.3
YcfM	0	0	37.33	114.67
YcfT	0	0	24	121.33

Tabla 3.9- NMP/ g a 20 °C.

En síntesis, se pudo confirmar que el producto se deteriora primero por mohos y levaduras y luego desarrollan las bacterias y que cumple con las especificaciones del Código Alimentario Argentino.

3.3- Análisis sensorial

El análisis sensorial realizado estuvo dividido en dos ensayos. Uno tenía como objetivo la discriminación de las diferencias entre las muestras y el otro se realizó para determinar el grado de aceptación de los consumidores en respuesta a cómo cumple el alimentos sus requerimientos o expectativas. En el primero, se utilizó la prueba de triángulo; y en el segundo, se utilizó una escala de categorización sin dimensiones. El análisis fue realizado con las fibras de trigo, inulina, caña de bambú y con el yogur sin fibra. La fibra dietética de manzana no fue utilizada debido a su color.

En el primer ensayo se obtuvieron los siguientes resultados:

Inulina vs Sin fibra		Trigo vs Sin Fibra		Bambú vs Sin Fibra	
Acierto	Desacuerdo	Acierto	Desacuerdo	Acierto	Desacuerdo
5	20	11	14	10	15

Tabla 3.10- Análisis sensorial: respuestas del ensayo de triángulo de 25 evaluadores.

A partir de los resultados obtenidos se determinó directamente si existían o no diferencias entre las muestras analizadas utilizando una tabla que da el número de respuestas correctas requeridas, para diferentes niveles de significación, empleando el valor mínimo de respuestas acertadas para un número determinado de evaluadores en la prueba del triángulo (Ureña P. y col., 1999). De esta forma, se vio que no hay diferencias significativas entre los yogures a un nivel del 1 %.

En cuanto al ensayo de aceptabilidad y recordando la tabla de puntuación del análisis sensorial:

- 1- Me disgusta
- 2- No me gusta
- 3- Ni me gusta ni me disgusta
- 4- Me gusta
- 5- Me gusta mucho

se pueden apreciar, en la figura 3.11, los resultados respecto al grado de aceptación. Las frecuencias relativas se obtuvieron como el número de veces que se seleccionó un valor sobre el número total de muestras realizadas.

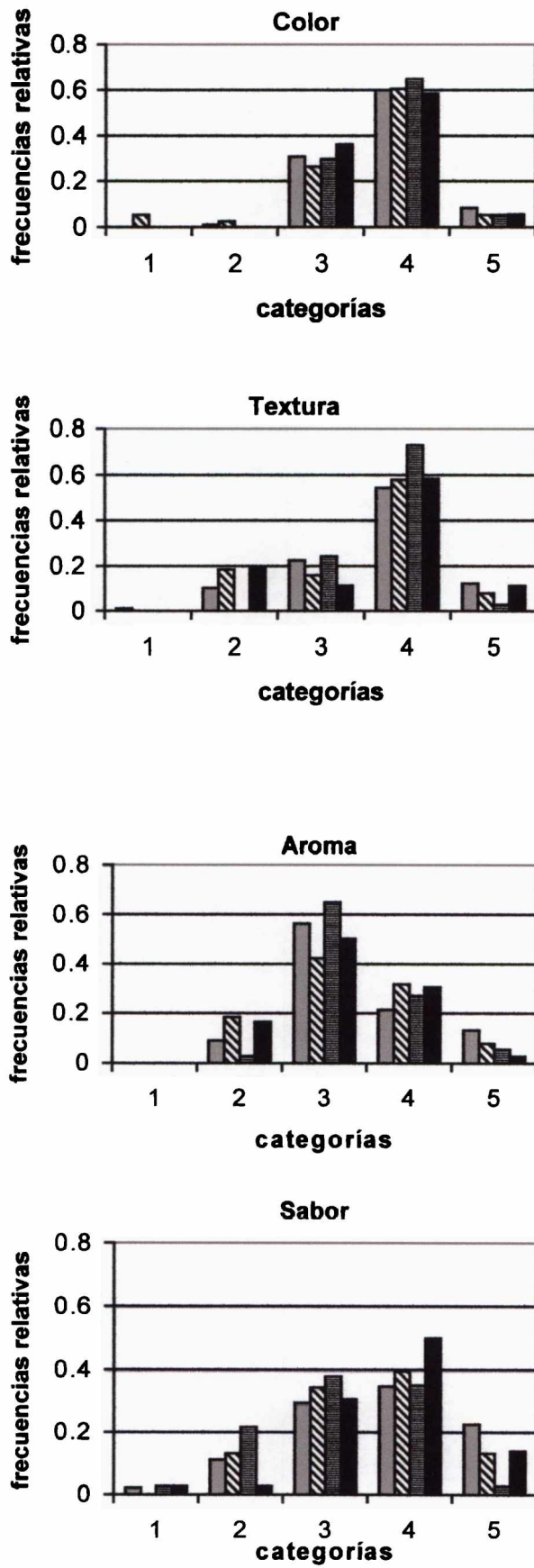


Fig. 3.11- Resultados del análisis sensorial Triángulo de los yogures con agregados de las distintas fibras y del yogur sin fibra.

▨ bambú, ■ inulina, □ trigo, ■ sin fibra

Para el color y la textura, se puede observar que el agregado de fibra tuvo buena aceptación. Respecto del sabor, el yogur con inulina fue el que obtuvo mayor grado de aprobación si bien, las frecuencias relativas de todos los tratamientos no fueron muy elevadas. El aroma, se puede decir que les fue indiferente a los consumidores.

Lo más destacable de este ensayo, es la gran aceptación de la textura del yogur, sobre las demás propiedades organolépticas. Se puede observar que la textura del yogur con fibra de trigo fue la más aprobada, de lo que se puede inferir que los consumidores prefieren un yogur más bien firme, dado que en los ensayos de compresión-extrusión, la fuerza máxima de compresión tuvo entre los valores más altos.

Los resultados de aceptabilidad son promisorios ya que en el estudio realizado por Fernandez-García y col. (1997), el análisis sensorial de yogures con el agregado de fibra de avena y otros endulzantes mediante un panel entrenado mostró que disminuyó la aceptabilidad de éstos frente a los yogures sin fibra.

Capítulo 4
Conclusiones



1) Caracterización Físicoquímica

En el estudio del comportamiento reológico, se observó que en los ensayos con el viscosímetro rotacional los yogures presentaron un comportamiento pseudoplástico y el agregado de fibra sólo causó diferencias significativas en la viscosidad aparente en el yogur con agregado de fibra de manzana. Los demás yogures no diferían respecto del control. El índice de consistencia disminuía con el tiempo de almacenamiento.

En el caso de los ensayos dinámicos, a tiempos iniciales de almacenamiento todos los tratamientos mostraron características de solución concentrada. En cambio a tiempos mayores de almacenamiento, los yogures con fibra de trigo, bambú e inulina presentaron un comportamiento más cercano al de geles, mientras que el yogur control sin fibra y con fibra de manzana mantienen similares características a las iniciales.

En el caso de los ensayos de compresión, la fuerza máxima de compresión aumentó con el tiempo de almacenamiento y el yogur con fibra de manzana era el que presentaba menor fuerza de compresión, bien diferenciaba del resto de los yogures.

El tiempo de almacenamiento tuvo una influencia significativa en la reología y la incorporación de la fibra de manzana era la que más afectaba la estructura del yogur.

Los yogures fueron estables frente al color, pH, actividad acuosa y no presentaron exudado y exhibieron una distribución uniforme de las fibras.

2- Análisis Microbiológico.

No hubo diferencias significativas entre el yogur sin fibra y los distintos tratamientos, por lo que puede decirse, que la fibra no altera microbiológicamente al producto. Se estimó la vida útil en 17 días para el almacenamiento 4°C y de 3 días para el almacenamiento a 20°C.

3- Análisis Sensorial

La fibra de manzana da una coloración que la diferencia notoriamente del yogur sin fibra, en cambio, las demás fibras no causan diferencias significativas con respecto al

control. Los yogures obtuvieron una respuesta satisfactoria con respecto al sabor, aroma, color, y en particular de su textura en el ensayo de aceptabilidad con consumidores.

De lo antes expuesto se puede concluir finalmente que:

No se recomienda el uso de fibra de manzana para un producto natural debido a que posee color marrón; sin embargo, hubo estabilidad de las demás características, por lo tanto podría ser usada en yogures con formulaciones más complejas en las que se podría incluir colorantes, frutos, cereales, etc para integrar el color aportado por la fibra.

Es altamente favorable el agregado de fibra dietética de inulina, trigo y bambú a yogures, ya que si bien las mismas producen algunas modificaciones sobre el comportamiento reológico de los yogures, no ocasionan el rechazo de los consumidores, quienes no detectan estos cambios en el producto logrado. Además, resulta muy interesante el desarrollo de este producto porque se conjugaría el efecto beneficioso para la salud de la fibra dietaria en la prevención de muchas enfermedades que muestran predominancia en las culturas occidentales tales como enfermedades coronarias y las relacionadas con el sistema gastrointestinal, y del yogur que tiene una acción equilibrante a nivel intestinal, protección frente a infecciones intestinales, efecto hipocolesterolémico, propiedades anticancerígenas, entre otras.

Bibliografía



- ☞ AOCC, Official methods of Analysis, 1994. Método 46016, pag 943.
- ☞ Anderson, J. W., Zettwoch, N., Felman, T., Tietyen-Clark, J., Oeltgen, P. y Bishop, C. W. (1988). Cholesterol lowering effects of psyllium hidrophilic mucilloid for hypercholesterolemic men. *Arch. Intern. Med.*, 148, pag. 292.
- ☞ Andrés, S. C. (2001). Estabilidad de manzanas refrigeradas en jugos de bajo pH. *Tesis doctoral*. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata.
- ☞ Andrés, S. C.; Giannuzzi, L. y Zaritzky, N. E. (2001). Mathematical Modeling of microbial growth in packaged refrigerated orange juice trated with chemical preservatives. *Journal of food science*, 66, Nº 5, pag. 724-728.
- ☞ Bertola, N. (1992) Vinculación entre modificaciones estructurales y microestructura durante la maduración de quesos en películas plásticas. *Tesis doctoral*, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de la Plata.
- ☞ Bianchi Salvadori, B., Camaschela, P, Cislighi, S, (1994) Capítulo Yogourt: Las bacterias lácticas en el yogur y la nutrición; Centro Sperimentale del Latte, Milán, Italia del libro *Ciencia y Tecnología de los productos Lácteos*, Editorial Diagrama, Santa Fe, pag. 288-302.
- ☞ Bourne, M.C. (1982). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. New York: Academic Press. pag. 44-106.
- ☞ Burkitt, D. P. y Trowell, H. (1975). *Refined Carbohydrated Foods and Disease*. Academic Press, New York.
- ☞ Cameron-Smith, D., Habito, R., Barnett, M., Coller, G.R. (1997). Dietary Guar Gum Improves Insulin Sensivity in Streptozotocin-induced Diabetic rats. *Journal of nutrition*, 127 (2), pag. 359-364.
- ☞ Cerda, J. J., Robbins, F. L., Burguin, C. W., Baungartner, T. G., Rice, R. W. (1988). The Effects of grapfruit pectin on patients at risk for Coronary Heart Diseases without altering diet or lifestyle. *Clin. Cardiol.*, 11, pag. 589-594.
- ☞ Chandalia, M., Garg, A., Lutjohann, D., Von Bergmann, K., Grundy, S. M., Brinkley, L. J. (2000) Beneficial Effects of High Dietary Fiber Intake in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *N. Engl. J. Med.* 342, pag. 1392-1398.

- ☞ Cheng, D. C. H. y Evans, (1965). F. Phenomenological characterization of the rheological behaviour of inelastic reversible thixotropic and antithixotropic fluids. *British Journal of Applied Physics*, 16, pag. 1599-1617 .
- ☞ Código Alimentario Argentino, 1996. Capítulo VII, Alimentos Lácteos. De la Canale Asociados.
- ☞ Decker, K. J. (2001). The dominant culture: yogurt for the masses, *Food Products Design*, on line magazine. WWW. Weeks Publishing Co.
- ☞ De Stefani, E., Correa, P., Ronco, A., Mendilaharsu, M., Guidobono, M., Deneo-Pelegri, H. (1997). Dietary Fiber and Risk of Breast Cancer: a case-control study in Uruguay. *Nutr. Cancer*, 28 (1), pag. 14-19.
- ☞ Dwyer, J. T. (1995). Dietary Fiber for Children: How much?. *Pediatrics*, 96, pag. 1019-1022.
- ☞ Fernández-García, E. & McGregor, J. U. (1997). Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 204, pag. 433-437.
- ☞ Fisman, S. M., Lluch, M. A., Salvador, A. (1999). Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. *International dairy Journal*, 9 pag. 895-901.
- ☞ Foss, J. W. (2002), How processing affects selections for yogurt, *National Starch and Chemical Company*, Bridgewater, New Jersey.
- ☞ Francis, F. J. (1987). Cap. 21: Food Colorimetry: Measurement and Interpretation, pag. 237-249, en *Physical Properties of Foods-2*. Editor: R. Jowitt y col. Londres. Elsevier Applied Science.
- ☞ Fu, B. y Labuza, T.P. 1993, Shelf Life Prediction, Theory and Application, *Food Control*, 4 (3), pag. 125.
- ☞ Gatenby, S. J., Ellis, P. R., Morgan, L. M. y Judd, P. A. (1996) Effect of Partially Depolymerized Guar Gum on Acute Metabolic Variables in Patients with non-insulin-dependent Diabetes. *Diabetic Medicine*, 13 (4), pag. 358-364.
- ☞ Giannuzzi, L. (1998). Shelf life of fresh filled pasta. Hazard analysis and critical control points of the manufacturing process and household practices. *J. of Food Processing Preservation*, 29, pag. 449-461.

- ☞ Glore, S. R., Van Treeck, D., Knehans, A. W. y Guild, M. (1994) Soluble Fiber and Serum Lipids: a literature review. *J. Am. Diet. Assoc.*, 94, pag. 425-436.
- ☞ Harris, J. A continuum Theory of estructural change (1972). *Rheological Acta*, 11, pag. 145-151.
- ☞ Instruction Manual, Chroma meter, CR-300/CR-310/CR321/CR-331/CR-331C, Minolta, Osaka, Japan.
- ☞ Johnson, I. T. y Southgate, D. A. T. (1994) *Dietary Fiber and Related Substances*, Chapman Hall, New York.
- ☞ Kent, M. y Smith, G. L. (1987). Cap. 22: Collaborative Experiments in Colour Measurement, pag. 251-276, en *Physical Properties of Foods-2*. Editor: R. Jowitt y col. Londres. Elsevier Applied Science.
- ☞ Keogh, M.K. y O’Kennedy, B. T. (1998). Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science*, 63, pag. 108-112.
- ☞ Ludwing, D. S. (1999) Dietary Fiber, Weight Gain, and Cardiovascular Disease Risk Factors in Young Adults. *JAMA*. 282, pag. 1539-1546.
- ☞ Malireddy S., 10 de enero de 1989. Enhancement of lactobacillus acidophilus growth and viability in yogurt and other cultured dairy products. Patente de los Estados Unidos nº 4,797,289. Current U. S. Class: 426/43.
- ☞ Marckmann P., Sandstrom, B. y Jespersen, J. (1994) Low fat high-fiber diet favorably Affect Several Independent Risk markers of ischemic heart disease: observations on blood lipids, coagulation, and fibrinolysis from a trial of middle- Aged danes. *Am. J. Clin. Nutr.*, 59 (4), pag. 935-939.
- ☞ Meister, M., S. (1996) Dietary Fiber. *Report by de American Council on Science and Health*.
- ☞ Moreira, M., Abraham, A. y De Antoni, G. (2000). Thechnological properties of milks fermented with thermophilic lactic acid bacteria at suboptimal temperature. *Journal of Dairy Science* 83, pag. 395-400.
- ☞ Navarro, A. S., Martino, M. N. y Zaritzky, N. E. (1997). Correlation between transient rotational viscometry and a dynamic oscillatory test for viscoelastic starch based systems. *Journal of Texture Studies*, 28, pag. 365-385.

-
- 📖 Olds Schneeman, B (1986). Dietary Fiber: Physical and Chemical Properties, Methods of Analysis, and Physiological Effects, *Food technology*, pag 104-110.
- 📖 Operator's Manual Aqualab Water Activity Meter. Version 1.5, 2000. Decagon Devices, Inc. 950 Ne. Nelson Court. Washington.
- 📖 Perry, C. A. y Carroad, P. A. (1980). Instrument for texture of small Curd Cottage Cheese and Comparison to sensory Evaluation. *J. Food Sci.*, 45, pag. 798-801.
- 📖 Pick, M. E., Hawrysh, Z. J., Gee, M. I., Toth, E., Garg, M. L. y Hardy, R. T. (1996) Oat Bran Concentrate Bread Products Improve Long-Term Control of Diabetes: a Pilot Study. *J. Am Diet. Assoc.* 96 (12), pag. 1254-1261.
- 📖 Pomare, E. W., Branch, W. J. y Cummings, J.H. (1985). Carbohydrate fermentation in the human colon and its relation to acetate concentrations in venous blood. *J. Clin. Invest.* 75, pag. 1448.
- 📖 Ramaswamy, H. S. y Basak S. (1991). Rheology of stirred yogurts. *Journal of Texture Studies*, 22, pag. 231-241.
- 📖 Reinheimer, J. A. (1994). Las bacterias Lácticas. *Ciencia y tecnología de los productos Lácteos*. pag. 64-113. Diagrama S.A., Santa Fe, Argentina.
- 📖 Rinaldi, V. y Mingo Arechederra, T. (2001). Alimentos funcionales II: La industria Nacional, *Enfasis Alimentación* n° 4, pag. 46-77.
- 📖 Ripsin, C. M., Keenan, J. N. y Jacobs, D. R. (1992) Oat products and lipids lowering. A meta-analysis. *JAMA*, 267, pag. 3317-3325.
- 📖 Selvendran, R. R. y Verne, A. V. F. V. (1990) The Chemistry and Properties of Plant Cell Walls and Dietary Fiber. En: *Dietary Fiber* (Editado por D. Kritchevsky, Ch. Bonfield y J. W. Andereson). Cap. 1, pag. 1-14. Plenum Press, New York.
- 📖 Schaller, Anibal, (2001). Productos Lácteos. *Alimentos Argentinos*, 3.
- 📖 Shoemaker, C. F., Lewis, J. I. y Tamura, M. S. (1987). Instrumentation for rheological measurements of food. *Food Technology*, 3, pag. 80-84.
- 📖 Southgate, D. A. T. (1976). Determination of Food Carbohydrates. *Applied Science Publishers*, London.
- 📖 Southgate, D. A. T. (1982). Definitions and terminology of dietary fiber. *Dietary Fiber in Health and Disease*. Plenum Press, N. Y.

-
- ☞ Stoll, B. A. (1996) Can Supplementary Dietary Fibre Suppress Breast Cancer Growth? *Br. J. Cancer*, 73 (5) pag 557-559.
- ☞ Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Michigan, East Lansing: Freeman Press. pag 295-349.
- ☞ Tamine, A.Y. y Robinson, R.K. (1985). *Yogurt Science and technology*. Oxford: Pergamon Press, pag. 365-373.
- ☞ Toma R. B. y Curtis D. J., (febrero 1986). Dietary Fiber: Effect on mineral bioavailability, *Food Technology*, pag 111-116.
- ☞ Tomomatsu H. (octubre, 1994). Health effects of oligosaccharides. *Food Technology*, pag. 61-65.
- ☞ Ureña, P., D'Arrigo, H. y Giron, M. (1999). *Evaluación Sensorial de los Alimentos: Aplicación didáctica*. Lima: Editorial Agraria. pag. 72.
- ☞ van Marle, M. E., van den Ende, D., de Kruif, C. G., y Mellema, J. (1999). Steady-shear viscosity of stirred yogurts with varying ropiness. *Journal Rheology* 43 (6), pag. 1643-1662.
- ☞ Vasconcellos, J. A (2001). Los Alimentos del futuro. La alimentación Latinoamericana, 231, pag 11-21.
- ☞ Veisseyre, R. (1972) *Lactología Técnica*, Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- ☞ Voised, P. W. (1972). Updating the shear press. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 5, pag. 6-12.
- ☞ Williams, C. L. (1995). Importance of dietary Fiber in Childhood. *J. Am. Diet. Assoc.*, 95, pag. 1140-1146.
- ☞ Yaeshima T. (1996). Benefits of bifidobacteria to human health. *Bulletin of the IDF: Oligosaccharides and probiotic bacteria*, pag. 36-42.