

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Agroindustria Alimentaria
Ingeniería en Agroindustria Alimentaria



Proyecto Especial de Graduación

**Evaluación de la leche sabor chocolate Zamorano reducida en azúcares
añadidos y sustituidos por GREENESSE™ 60Stevia y OPTIMIZER STEVIA®**

2.10

Estudiante

Diego Alejandro García Corado

Asesores

Sandra Espinoza, M.Sc.

Adriana Hernández, D.Sc.

Rolando Choriego, B.Sc.

Honduras, julio 2021

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figura.....	7
Índice de Anexos.....	8
Resumen	9
Abstract.....	10
Introducción.....	11
Materiales y Métodos.....	14
Ubicación de Estudio.....	14
Fases del Estudio.....	14
Fase 1. Reformulación de Leche Sabor Chocolate con Reducciones en Sacarosa.....	14
Elaboración de Leche Sabor Chocolate.....	14
<i>Fase 2. Reformulación De Leche Sabor Chocolate Con Reducción De Sacarosa Y Sustitución De Sacarosa Utilizando Estevia Como Edulcorante No Calórico</i>	<i>17</i>
Análisis Físicoquímicos.....	19
Resultados y Discusión.....	26
Fase 1. Reformulación de Leche Sabor Chocolate con Reducciones en Sacarosa.....	26
Resultados del Análisis Sensorial	26
Fase 2. Reformulación de Leche Sabor Chocolate con Reducción de Sacarosa y Sustitución de Sacarosa Utilizando Estevia Como Edulcorante No Calórico y Elaboración de Su Etiqueta Nutricional	33
Resultados del Análisis Sensorial	33
Pruebas Físicoquímicas	39
Conclusiones	45
Recomendaciones.....	46

Referencias.....47

Anexos.....49

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Tratamientos de Fase 1.	16
Cuadro 2. Formulación de tratamientos de la Fase 1.	16
Cuadro 3. Porcentaje de sustitución de sacarosa por estevia en tratamientos Fase 2.	18
Cuadro 4. Formulación de tratamientos de fase 2.	18
Cuadro 5. Resultados del análisis sensorial de los tratamientos de la Fase 1 (reducción en sacarosa) para los atributos de apariencia, color, olor y viscosidad.	26
Cuadro 6. Resultados análisis sensorial Fase 1 (Reducción de sacarosa) en los atributos de sabor, dulzura y aceptación general en leche sabor chocolate.	29
Cuadro 7. Análisis de correlación de los atributos de análisis sensorial Fase 1.	31
Cuadro 8. Resultados fisicoquímicos: Sólidos solubles (°Brix) en tratamientos con reducción de azúcar.	32
Cuadro 9. Resultados análisis sensorial Fase 2 en los atributos apariencia, color, olor, viscosidad. ...	33
Cuadro 10. Resultados análisis sensorial Fase 2 en los atributos sabor, sabor chocolate y sabor residual, dulzura.	35
Cuadro 11. Resultados análisis sensorial Fase 2 el atributo de aceptación general.	38
Cuadro 12. Resultados de análisis de correlación de los atributos apariencia, color, olor, sabor, sabor chocolate, sabor residual, dulzura con la aceptación general.	39
Cuadro 13. Resultados análisis de color: parámetros L* a* b*.	39
Cuadro 14. Resultados fisicoquímicos: Sólidos solubles (°Brix) en tratamientos con reducción y sustitución de azúcar utilizando estevia.	40
Cuadro 15. Aporte nutricional de todos los tratamientos.	41
Cuadro 16. Porcentaje valor diario de todos los tratamientos.	42
Cuadro 17. Aportes nutriciones de diferentes leches sabor chocolate encontradas en el mercado. .	43

Cuadro 18. Porcentaje de valor diario de macronutrientes de diferentes leches sabor chocolate encontradas en el mercado.	43
Cuadro 19. Costos variables de producción de Leche sabor chocolate de Zamorano y Leche sabor chocolate endulzada con estevia.....	44

Índice de Figura

Figura 1. <i>Adaptación del flujo de proceso de la Planta de Lácteos utilizado en las pruebas a escala piloto.</i>	15
--	----

Índice de Anexos

Anexo A. Colorímetro Colorflex Hunter L*a*b (ASTM D6290).....	49
Anexo B. Etiqueta nutricional Leche sabor chocolate con sustitución parcial de 50% de sacarosa utilizando estevia.....	50
Anexo C. Hoja de análisis sensorial fase 1.	51
Anexo D. Hoja de análisis sensorial fase 2.	52
Anexo E. Horno de aire forzado (Fisher Scientific modelo 750 F).	53
Anexo F. Horno al vacío (NAPCO modelo 5831).	54
Anexo G. Olla de cocción lenta (InstantPot, modelo Duo-Nova) utilizado como pasteurizador por tandas.....	55
Anexo H. Refractómetro digital (marca Sper Scientific modelo 30053).....	56

Resumen

Se ha observado una asociación entre el aumento del consumo de bebidas azucaradas y enfermedades metabólicas como la hipertensión arterial, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2. Esta investigación evaluó la aceptación de diferentes formulaciones de leche sabor chocolate con reducciones y sustituciones de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia y OPTIMIZER STEVIA® 2.10 como edulcorantes no calóricos. La investigación se dividió en dos fases. En la Fase 1 se evaluó la aceptación del consumidor a tres niveles de reducción de sacarosa (20, 25, 30%) en leche sabor chocolate y un control. En la Fase 2 se midió °Brix, color y la aceptación de tres tratamientos con sustituciones de sacarosa (50, 75, 100%) utilizando GREENESSE™ 60Stevia para dos tratamientos y OPTIMIZER STEVIA® 2.10 para un tratamiento. Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar, una separación de medias DUNCAN y un análisis de correlación para ambas fases. Al tratamiento con mejor aceptación se le realizó una etiqueta nutricional a través de análisis químico. No se encontró diferencias significativas de color entre tratamientos de la Fase 2. El tratamiento con 50% de sustitución de sacarosa obtuvo una aceptación que corresponde a “Me gusta moderadamente”, la cual es estadísticamente igual que a la del control y mayor a los demás tratamientos. Con respecto al control, el tratamiento con 50% de sustitución de sacarosa tuvo un costo por litro menor en USD 0.01 y un 41% menos de azúcares totales por porción. Se recomienda evaluar GREENESSE™ 60Stevia en otros productos de la Planta de Lácteos de Zamorano.

Palabras clave: Aceptación general, evaluación sensorial, reducción, sustitución.

Abstract

There is an association between an increased consumption of sugary drinks and metabolic diseases such as high blood pressure, insulin resistance and type 2 diabetes. This research evaluated the acceptance of different formulations of chocolate-flavored milk with reductions and substitutions of sucrose using GREENESSE™ 60Stevia and OPTIMIZER STEVIA® 2.10 as non-caloric sweeteners. The investigation was divided into two phases. Phase 1 evaluated consumer acceptance of three levels of sucrose reduction (20, 25, 30%) in chocolate-flavored milk and a control. In Phase 2, ° Brix, color and acceptance of three treatments with substitutions of sucrose (50, 75, 100%) for stevia, the treatment with the best acceptance of phase 1 and the control, were evaluated. A Random Complete Blocks design, a DUNCAN test, and a correlation analysis were used for both phases. The treatment with the best acceptance was given a nutritional label through chemical analysis. No significant differences in color were found between Phase 2 treatments. The treatment with 50% sucrose substitution obtained an acceptance that corresponds to "I like it moderately", which is statistically the same as that of the control and higher than the other treatments. Regarding the control, the treatment with 50% sucrose substitution had a lower cost by USD 0.01 per liter and 41% less total sugars per serving. It is recommended to evaluate GREENESSE™ 60Stevia in other products from the Zamorano's Dairy Plant.

Keywords: General acceptance, reduction, sensory evaluation, substitution.

Introducción

El sabor dulce juega un rol muy importante en los seres humanos, ya que la mayoría de las personas responden positivamente a la sensación de dulzor y existe una preferencia al consumo de alimentos dulces que se remonta a la antigüedad (Quitral R et al. 2015). Sin embargo, el consumo de bebidas azucaradas se ha convertido en un riesgo para la salud puesto que se ha observado una asociación entre el aumento del consumo de estas bebidas y algunas enfermedades metabólicas. En estas enfermedades se incluyen: la hipertensión arterial, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, obesidad abdominal, hipertrigliceridemia, síndrome metabólico, entre otras (Gómez-Miranda et al. 2014).

Leche es la secreción mamaria de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o sus derivados (CODEX 1999). Dentro de los derivados más populares de la leche destacan las leches saborizadas, las cuales comprenden todas las mezclas de bebidas listas para el consumo a base de leche fermentada o sin fermentar, con aromatizantes y/o ingredientes alimentarios que aporten sabor (CODEX 2016). En Honduras, el 96% de las bebidas lácteas con azúcares añadidos poseen exceso de azúcar y el 12% contienen edulcorantes (Hernández et al. 2017).

Los azúcares son ingredientes que se utilizan para endulzar y realzar el sabor de los alimentos. Debido a que la mayoría de los edulcorantes sintéticos son mucho más dulces que la sacarosa, se necesitan en cantidades más pequeñas para lograr el mismo nivel de dulzura en el producto final (FDA 2014). Los edulcorantes no nutritivos permiten proveer dulzor a los alimentos y bebidas con un muy bajo o nulo aporte energético. Se discute que los edulcorantes no calóricos no producen saciedad, a diferencia de la sacarosa, e inclusive podrían causar sensación de hambre estimulando a comer en exceso; además, podrían estimular los receptores del gusto, creando adicción al sabor dulce (Quitral R et al. 2015).

La alternativa de un producto con bajo porcentaje de azúcares añadidos ofrece al consumidor un valor agregado al ser considerado un producto saludable en comparación con un producto convencional, además de plantear oportunidades de nuevos negocios y mercados (Mejía-Portillo et al. 2019). Por esto existe un interés creciente en alternativas bajas en calorías y se ha mostrado un fuerte aumento en la atención a los extractos de la planta *Stevia rebaudiana* por sus cualidades edulcorantes y su origen natural. Además, esta planta posee cualidades anticancerígenas y reduce el nivel de glucosa en sangre hasta un 35% (Salvador-Reyes et al. 2014).

De la *E. rebaudiana* se obtiene el componente rebaudiósido, que tiene una mayor dulzura y un menor sabor residual desagradable en comparación a otros edulcorantes como la sacarina, ciclamato y sucralosa. Comúnmente se denomina estevia a este edulcorante y se utiliza en la industria alimentaria como un edulcorante natural, sin calorías y es entre 200 y 300 veces más potente que la sacarosa (Verruma-Bernardi et al. 2014).

En la región de las Américas, el 58% de los habitantes (360 millones) vive con sobrepeso y obesidad, siendo Chile (63%), México (64%) y Bahamas (69%) los países que presentan las tasas más elevadas (OPS 2017). Según datos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en Honduras, alrededor del 34% de los adultos mayores de 20 años tienen sobrepeso y el 21% de ellos presentan algún grado de obesidad (OPS 2017). Dentro de este rango de edad se encuentran los estudiantes de la Escuela Agrícola Panamericana, consumidores de la leche sabor chocolate de Zamorano. En el año 2019, se consumió un total de 15,610 L de leche sabor chocolate en el Comedor Estudiantil Doris Stone, con un consumo promedio aproximado de 13.17 L de esta leche por estudiante durante el año 2019.

De acuerdo con el perfil de nutrientes recomendado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el porcentaje de calorías provenientes de azúcares libres no debería ser mayor al 10% en una porción de un alimento (OPS 2016) . En el caso de la leche sabor chocolate de Zamorano, una porción de 250 mL contiene 24 g de azúcar, lo cual corresponde a un 41% de exceso de azúcar según

el perfil de nutrientes de la OPS 2016 . Con el propósito de ayudar a la reducción de ingesta de azúcares añadidos en la población estudiantil, se reformuló la leche sabor chocolate de Zamorano para realizar un producto con menos azúcares añadidas. Para esto se evaluó la reducción de sacarosa, el uso de GREENESSE™ 60Stevia y OPTIMIZER STEVIA® 2.10 como edulcorantes no calóricos y se plantearon los siguientes objetivos:

Evaluar la aceptación por el consumidor de diferentes formulaciones de leche sabor chocolate reducidas y sustituidas en azúcares añadidas utilizando edulcorantes no calóricos a base de estevia.

Determinar las características fisicoquímicas de las formulaciones de leche sabor chocolate reducidas y sustituidas en azúcares añadidas.

Determinar los costos variables de formulación de la reformulación de leche sabor chocolate de mayor aceptación.

Materiales y Métodos

Ubicación de Estudio

El estudio se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. La leche sabor chocolate se elaboró en la Planta de Innovación de Alimentos (PIA), los análisis fisicoquímicos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ) y el análisis sensorial se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis Sensorial de Zamorano.

Fases del Estudio

La investigación se dividió en dos fases.

- Fase 1. Reformulación de leche sabor chocolate con reducciones en sacarosa.
- Fase 2. Reformulación de leche sabor chocolate con reducción de sacarosa y sustitución de sacarosa utilizando edulcorantes no calóricos a base de estevia.

Fase 1. Reformulación de Leche Sabor Chocolate con Reducciones en Sacarosa

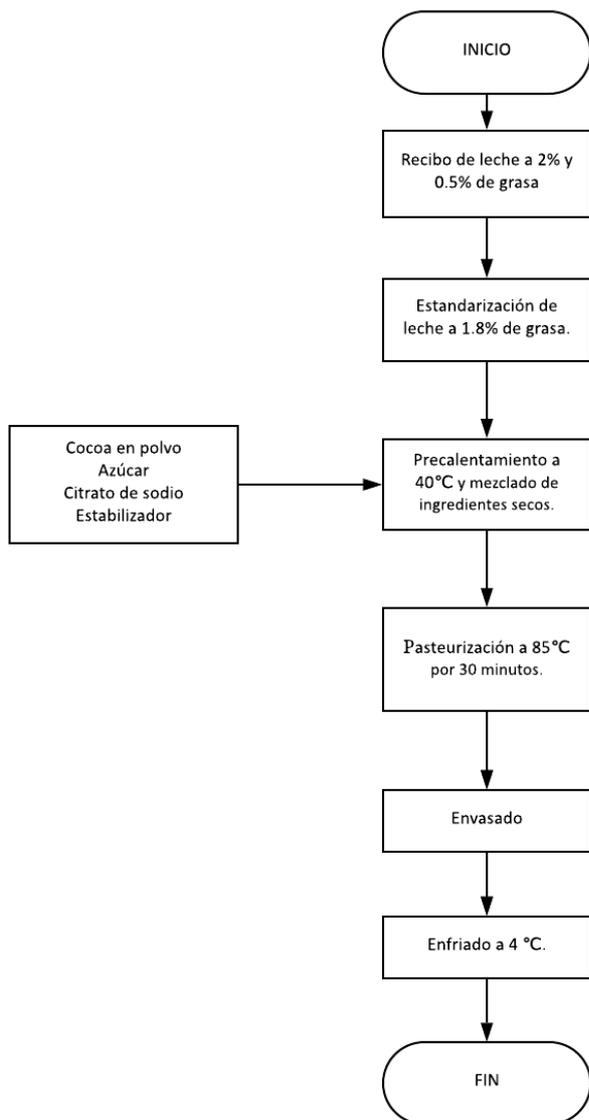
En esta fase se evaluaron tres niveles de reducción de sacarosa en la formulación, se realizó un análisis sensorial de aceptación y la medición de °Brix.

Elaboración de Leche Sabor Chocolate.

Para esta fase se adaptó el procedimiento establecido en la Planta de Lácteos de Zamorano para elaborar el producto a escala piloto. El flujo de proceso del producto se puede observar en la Figura 1. Para el desarrollo de los tratamientos se utilizó ollas de cocción lenta marca InstantPot, modelo Duo-Nova (Anexo G) como pasteurizadores por tandas. Posteriormente, se mezclaron todos los ingredientes secos (Cocoa en polvo, azúcar, estabilizador y citrato de sodio), la leche estandarizada a 1.8% de grasa se precalentó hasta llegar a 40 °C para incorporar y mezclar los ingredientes secos. Después se llevó el producto a 85 °C por 30 minutos para su pasteurización. Transcurrido el tiempo de pasteurización, la leche se envasó y se puso en un baño de hielo para enfriarla y se almacenó a 4 °C.

Figura 1

Adaptación del flujo de proceso de la Planta de Lácteos utilizado en las pruebas a escala piloto.



Según el Anexo E del Reglamento Técnico Centroamericano 67.01.60:10 (RTCA) “Etiquetado nutricional de productos alimenticios preenvasados para consumo humano para la población a partir de 3 años de edad”, para que un producto sea considerado como light, liviano o ligero, este “contiene al menos un 25% menos de azúcar por porción o por 100 g o 100 mL, con respecto al alimento de referencia”. La leche sabor chocolate Zamorano contiene un 5.6% de azúcares añadidos, para considerarla Light según el RTCA se debe reducir en 1.4% de sacarosa, que corresponde a un 25% de

reducción. Para esta investigación se tomó como base una reducción del 25% y se elaboraron reducciones del 20 y 30% de azúcares añadidos (Cuadro 1). En el Cuadro 2 se puede observar la formulación utilizada para elaborar cada tratamiento.

Cuadro 1

Tratamientos de Fase 1. Porcentajes de reducción de sacarosa en leche Zamorano sabor chocolate.

Tratamiento	CONTROL	RED-20	RED-25	RED-30
Porcentaje de sacarosa	5.6	4.48	4.2	3.92
Porcentaje de reducción	0	20	25	30

Nota. RED-20: Reducción en 20% de sacarosa.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

RED-30: Reducción en 30% de sacarosa.

Cuadro 2

Formulación de tratamientos de la Fase 1.

Ingredientes (%)	Tratamientos			
	CONTROL	RED-20	RED-25	RED-30
Leche estandarizada	93.2	94.25	94.52	94.79
Sacarosa	5.59	4.52	4.25	3.98
Cocoa en polvo	0.93	0.94	0.95	0.95
Citrato de sodio	0.19	0.19	0.19	0.19
Estabilizador	0.09	0.09	0.09	0.09
Total	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%

Nota. RED-20: Reducción en 20% de sacarosa.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

RED-30: Reducción en 30% de sacarosa.

Análisis Sensorial.

Se realizó un análisis sensorial afectivo utilizando una prueba de aceptación con 100 panelistas no entrenados, con el objetivo de determinar el grado de aceptación del producto por parte de los consumidores. Los parámetros sensoriales evaluados fueron: Apariencia, color, olor, viscosidad, sabor, dulzura y aceptación general. Se utilizó una escala de nueve puntos, donde 1 significa "Me Disgusta Extremadamente", 5 significa "Ni me gusta/ni me disgusta" y 9 significa "Me Gusta Extremadamente" (Anexo C).

Grados Brix.

Para su medición se utilizó un refractómetro digital marca Sper Scientific modelo 30053 (Anexo H). Se midió los grados Brix colocando una muestra de cada tratamiento en el refractómetro.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico.

Se usó un diseño de Bloques Completos al Azar, con tres tratamientos (reducción de sacarosa del 20, 25 y 30%) y un control. Para esto se realizaron tres repeticiones con un total de 12 unidades experimentales. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) determinando la significancia del modelo ($P < 0.05$) y una separación de medias por medio de una prueba Duncan para identificar las diferencias entre tratamientos. Además, se realizó un análisis de correlación entre atributos para determinar si existe relación entre los atributos sensoriales y la aceptación general de los panelistas, utilizando el programa "Statistical Analysis System" (SAS) versión 9.6.

Fase 2. Reformulación De Leche Sabor Chocolate Con Reducción De Sacarosa Y Sustitución De Sacarosa Utilizando Estevia Como Edulcorante No Calórico

La Fase 2 consistió en realizar diferentes tratamientos con sustitución de sacarosa utilizando edulcorantes no calóricos a base de estevia, tomando como base para sustituciones la leche sabor chocolate Zamorano. Para esta fase se utilizó dos tipos de estevia fabricados por la empresa Tate & Lyle y facilitados por ASEAL de Honduras. Se utilizó GREENESSE™ 60Stevia para las sustituciones parciales de 50 y 75% de sacarosa y OPTIMIZER STEVIA® 2.10 para la sustitución total de 100% de sacarosa; debido a las recomendaciones de uso de cada ingrediente por su perfil de esteviosidos y rebaudiosos. Además, se incluyó en la evaluación sensorial al mejor tratamiento de la Fase 1 (Cuadro 3). En el Cuadro 4 se puede observar la formulación utilizada para cada tratamiento.

Cuadro 3

Porcentaje de sustitución de sacarosa por estevia en tratamientos Fase 2.

Tratamiento	Control	RED-25	S50-GRE	S75-GRE	S100-OPT
Porcentaje de sustitución	0%	0%	50%	75%	100%

Nota. S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

Cuadro 4

Formulación de tratamientos de fase 2.

Ingredientes (%)	Tratamientos				
	Control	RED-25	S50-GRE	S75-GRE	S100-OPT
Leche estandarizada	93.2	94.52	96.56	97.62	98.69
Sacarosa	5.59	4.25	2.17	1.1	0
Cocoa en polvo	0.93	0.95	0.97	0.98	0.99
Citrato de sodio	0.19	0.19	0.19	0.2	0.2
Estabilizador	0.09	0.09	0.1	0.1	0.1
Edulcorante	0	0	0.01	0.015	0.03
Total	100	100	100	100	100

Nota. S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

Análisis Sensorial.

Se realizó una evaluación sensorial afectiva con una prueba de aceptación. Los parámetros que se evaluaron fueron: Apariencia, color, olor, sabor, viscosidad, dulzura, sabor chocolate, sabor residual y aceptación general (Anexo D). A partir de las evaluaciones sensoriales de la Fase 1, se consideró incluir el parámetro “sabor a chocolate” debido a que se cree que existe una relación entre la dulzura aportada por la estevia estevia, la sacarosa y el sabor a chocolate. Participaron 100 panelistas no entrenados y los tratamientos se presentaron a los panelistas de manera aleatoria y balanceada. Se utilizó una escala hedónica de nueve puntos donde 1 significa “Me Disgusta Extremadamente” y 9, “Me Gusta Extremadamente”.

Análisis Físicoquímicos.

Prueba de Color. Esta prueba se realizó a todos los tratamientos de la Fase 2. Se utilizó el colorímetro Colorflex Hunter L*a*b modelo ASTM D6290 (Anexo A). Se midió el valor L* (luminosidad) donde 0 es el negro y 100 es el blanco, a* (rojo-verde); los valores positivos para escala rojo, negativos para escala verde y 0 el neutro y b* (eje amarillo-azul) valores positivos para escala amarillo, negativos para escala azul y 0 el neutro. Para la medición del color se calibró el equipo con los discos estándar negro y blanco. Posteriormente, se colocó cada muestra en el acople porta objetos y se procedió a utilizar el Colorflex para la medición.

Grados Brix. Para su medición se utilizó un refractómetro digital marca Sper Scientific modelo 30053. Se midió los grados Brix colocando una gota de cada tratamiento en el refractómetro.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico.

Se implementó un diseño de Bloques Completos al Azar, con cuatro tratamientos (Sustitución parcial del 50%, sustitución parcial de 75%, sustitución total y el tratamiento con reducción de sacarosa de mayor aceptación de la fase 1) y la leche sabor chocolate de Zamorano (control), con tres repeticiones para un total de 15 unidades experimentales. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) determinando la significancia del modelo ($P < 0.05$) y una separación de medias a través de una prueba Duncan para identificar las diferencias entre tratamientos. Además, se realizó un análisis de correlación entre atributos para determinar si existe relación entre los atributos sensoriales y la aceptación general de los panelistas, utilizando el programa Statistical Analysis System" (SAS) versión 9.6.

Elaboración de Etiqueta Nutricional.

Al tratamiento con la mayor aceptación de la fase 2 se le calculó su aporte nutricional a partir de una tabla nutricional basados en el paquete analítico NLEA 90, proporcionado por el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano. Para el resto de los tratamientos del estudio se elaboró una etiqueta nutricional basada en la tabla de composición de alimentos del INCAP 2018.

Análisis Químicos Para la Etiqueta Nutricional.

Perfil de Ácidos Grasos. Para el análisis de ácidos grasos el procedimiento se dividió en tres partes: Extracción de grasa, preparación de metil ésteres de ácidos grasos e inyección en el cromatógrafo de gases.

Extracción de Ácidos Grasos. Para extraer los ácidos grasos de la muestra se utilizaron las normas y procedimientos del método AOAC 2003.06, a través de hidrólisis ácida. Se pesaron dos muestras de 3 ± 0.005 g en dos Erlenmeyer y se agregó 5 g de Celite®. Se agregó 150 mL de ácido clorhídrico (HCl) a cada muestra, se colocó cada muestra en una plancha con agitador magnético por 45 minutos. Posteriormente, se filtró cada solución y el residuo sólido restante se secó a 105 °C por 30 minutos en un horno de aire forzado (Anexo E) marca Fisher Scientific modelo 750 F. La materia seca se trasladó a dos balones de vidrio y se le adicionó 100 mL de hexano. Posteriormente, se roto-evaporó la muestra hasta quedar seca.

Preparación de Metil Ésteres de Ácidos Grasos. Para esta prueba se utilizó el método oficial AOCS Ce 2-66. A cada balón de vidrio se le adicionó 0.8 mL de isooctano y 0.5 mL de hidróxido de potasio (KOH) metanólico. Cada solución se trasladó a un tubo de ensayo, se agitó por 8 minutos y se dejó reposar la solución por 10 minutos. Se agregó 1 g de sulfato de sodio y se repitió el tiempo de agitación y reposo. Por último, se inyectó 1 mL de cada solución en dos viales.

Inyección de Ácidos Grasos. Para la inyección de los ácidos grasos se siguieron las normas del método oficial AOCS Ce 1j-07. Se inyectó 1 µL de cada vial en el cromatógrafo de gases. Posteriormente se identificó el área bajo la de curva de cada pico para la identificación de cada ácido graso. Para la determinación del porcentaje total de grasa se utilizó la Ecuación 1.

$$\%G = \frac{(PB + PM) - PB}{PM} \quad [1]$$

Donde:

%G=Porcentaje total de grasa.

PB= Peso de balón de cristal.

PM= Peso de la muestra.

Perfil de Azúcares. Se utilizó el método oficial AOAC 982.14. Se pesaron dos muestras de 2 ± 0.005 g en dos matraces volumétricos. Se agregó 100 mL de etanol a cada muestra para colocar cada matraz en baño maría a 80°C por 25 minutos. Posteriormente, se aforó el matraz con etanol. Se filtró 1.5 mL de cada solución con filtros de nylon y se colocó la sustancia filtrada en un vial. Se colocaron los viales en el Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC por sus siglas en inglés) para su análisis.

Proteína Cruda. Se utilizó el método AOAC 2001.11, este procedimiento está basado en el método Kjeldahl, el cual determina el nitrógeno orgánico presente en las proteínas a través de un proceso de digestión con ácido sulfúrico (H_2SO_4), destilación con amoníaco (NH_3), y titulación con ácido clorhídrico (HCl).

Digestión. Se pesó dos muestras de 1 ± 0.005 g y cada muestra se colocó en un tubo para digestión. A cada tubo se le agregó dos tabletas catalizadoras (Kjeltabs Cu-3.5, Foss®). Se adicionó 15 mL de H_2SO_4 y se colocó cada tubo en el digestor. Se realizó la digestión durante 60 minutos. Posteriormente, se dejó enfriar cada tubo a temperatura ambiente.

Destilación. Se colocó cada tubo de digestión en el destilador Kjeltec™ 8200. El proceso de destilación duró 4 minutos, posteriormente se recuperó el amonio en un matraz Erlenmeyer el cual contenía una solución de ácido bórico (H_3BO_3).

Titulación. Se colocó ácido clorhídrico (HCl 0.1N) en una bureta 50 mL. Sobre un agitador magnético se colocó el matraz Erlenmeyer y se tituló la muestra con HCl hasta que la solución se tornara en un color violeta. Se registró el volumen utilizado de HCl. Para calcular el porcentaje de proteína se utilizaron las Ecuaciones 2 y 3.

$$\%N = \frac{\text{Volumen de HCl}}{\text{g de muestra}} \times 100 \quad [2]$$

$$\%Proteína = \%N \times 6.25 \quad [3]$$

Humedad. Para la determinación de la humedad total de la muestra, se emplearon los parámetros del método oficial AOAC 952.08. Se utilizó un horno al vacío marca NAPCO modelo 5831 (Anexo F) para la reducción de humedad, colocando dos muestras de 2 ± 0.005 g en dos capsulas de aluminio. Se dejaron en el horno por 2 horas a 85 °C a una presión de 25 psi. Se registró el peso final de las muestras y se calculó la humedad total de la muestra utilizando la Ecuación 4.

$$\%H = \frac{(C+MH)-(C+MS)}{(C+MH)-(C)} \quad [4]$$

Donde:

%H= Porcentaje de humedad total.

C=Peso de capsula de aluminio.

MH= Peso de muestra húmeda.

MS= Peso de muestra seca.

Cenizas. Para el cálculo de cenizas totales se trabajó bajo las normas del método oficial AOAC 923.03 por incineración en seco. Se tomó el peso de dos muestras de 3 ± 0.005 g en dos crisoles de porcelana vacíos previamente pesados. Las muestras fueron colocadas en un horno por aire forzado a 105 °C por 3 horas para un presecado. Posteriormente, se colocaron en un incinerador Sybron a 550 °C por 4 horas. Por último, se retiraron las muestras del incinerador, se dejaron enfriar por 20 minutos y se registró el peso final. Para el cálculo del porcentaje de cenizas totales se utilizó la siguiente Ecuación 5.

$$\%CZ = \frac{(CZ)X100}{(MH)} \quad [5]$$

Donde:

%CZ= Porcentaje de cenizas totales.

CZ= Peso de cenizas.

MH= Peso de materia húmeda

Minerales. Para el análisis de minerales se analizó la muestra obtenida de la prueba de cenizas. Se implementó el método oficial AOAC 985.35. A la ceniza obtenida en los crisoles se le agregó 5 mL de ácido nítrico (HNO_3) a 1 M. Se calentó la solución en un baño de vapor a $95\text{ }^\circ\text{C}$ por 2-3 minutos hasta disolver. Se colocó la solución en un matraz volumétrico, se lavó el crisol con HNO_3 a 1 M hasta aforar el matraz volumétrico. Se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica para calcular el contenido de cada mineral, los minerales analizados fueron calcio, hierro, fósforo, sodio y potasio.

Colesterol. El contenido de colesterol fue determinado bajo las normas del método oficial AOAC 994.10. Esta prueba se dividió en cuatro etapas saponificación, extracción, derivatización y análisis en cromatógrafo de gases.

Saponificación. Se pesó dos muestras de $10 \pm 0.005\text{ g}$ y se colocaron en un matraz Erlenmeyer, se agregó 40 mL de etanol y 8 mL de hidróxido de potasio (KOH). Cada matraz Erlenmeyer fue colocado en un condensador con reflujo siendo calentado por una estufa con agitador magnético por 70 minutos. Transcurrido los 70 minutos se apagó la estufa y se agregó 60 mL de etanol y se dejó agitando por 15 minutos. Finalizado el tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Extracción. Se agregó 100 mL de tolueno a cada muestra y se agitó por 30 segundos. Se vertió cada muestra en un embudo de separación, se agregó 110 mL de KOH a cada muestra y se mezcló por 10 segundos. Se descartó la solución acuosa y se repitió el proceso tres veces lavando el embudo con agua desionizada. Cada muestra fue filtrada utilizando fibra de vidrio con 10 g de sulfato de sodio (Na_2SO_4) en dos balones de cristal y se dejó reposar por 15 minutos. Posteriormente, se evaporó el contenido de los balones en un roto-evaporador por 15 minutos. A la solución seca se le agregó 3 mL de acetona y se volvió a evaporar completamente. Se disolvió el material resultante en 3 mL de dimetilformamida (DMF).

Derivatización. Con una pipeta se extrajo 1 mL de cada muestra y se colocó en un tubo de centrifugación. Se agregó a cada tubo 0.2 mL de hexametildisilano (HMDS) y 0.1 mL de trimetilclorosilano (TMCS). Cada tubo fue colocado en el vortex por 30 segundos y se dejaron reposar

por 15 minutos. Posteriormente, a cada tubo se le colocó 1 mL de 5- α -colestano y 10 mL de agua desionizada. Los tubos se centrifugaron por 2 minutos a 3000 rpm y se transfirió 900 μ L de cada solución a dos viales.

Análisis en Cromatógrafo de Gases. Al cromatógrafo de gases se le inyectó 1 μ L de cada muestra. Se determinó el área bajo la curva de 5- α -colestano y el colesterol para su determinación. Para calcular el colesterol en la muestra se utilizó la Ecuación 6.

$$\frac{\text{mg Colesterol}}{100 \text{ g de muestra}} = \frac{\text{mg/mL colesterol en muestra de curva estándar} \times 100}{\text{g muestra/mL derivatizado}} \quad [6]$$

Vitamina A. Para el análisis de vitamina A se siguieron las normas del método oficial AOAC 2001.13. El procedimiento se dividió en tres partes: preparación de la muestra, saponificación y determinación.

Preparación de la Muestra. Se pasaron dos muestras de 5 g en dos matraces Erlenmeyer de bajo actinio. A cada Erlenmeyer se agregaron 3 mL de agua, 40 mL de etanol y 50 mg de ácido pirogálico.

Saponificación. A cada Erlenmeyer se le agregó un agitador magnético y 10 mL de KOH, se colocaron sobre una plancha caliente, se comenzaron a agitar y se sometieron a un condensador de reflujo por 45 minutos. Posteriormente los matraces se enfriaron y se agregó a cada uno 10 mL de ácido acético glacial. Cada solución fue transferida a otro matraz Erlenmeyer de bajo actinio y se agregó THF-etanol al 95% hasta aforar. Cada muestra fue transferida a un dial ámbar por medio de una jeringa con acrodisco.

Determinación. Se inyectó las muestras en el cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) para su respectivo análisis y se determinó el área bajo la curva de cada muestra.

Para la elaboración de la etiqueta nutricional, todos los datos obtenidos de las pruebas químicas se introdujeron en el software "Genesis R&D Foods". Se realizó una comparación de la etiqueta nutricional del tratamiento con mayor aceptación de la fase 2 con la etiqueta nutricional

reportada por la leche sabor chocolate de Zamorano (control) y otras tres leches sabor chocolate encontradas en el mercado hondureño.

Análisis de Costos. Se realizó un análisis de costos variables de la formulación del tratamiento con mejor aceptación de la fase 2 y se comparó con los costos de ingredientes de la actual leche sabor chocolate producida en la Planta de Lácteos de Zamorano. Los costos de cada insumo fueron proporcionados por la Planta de Lácteos de Zamorano. Se calculó el costo de formulación por litro de leche producida.

Resultados y Discusión

Fase 1. Reformulación de Leche Sabor Chocolate con Reducciones en Sacarosa

Resultados del Análisis Sensorial

Apariencia.

La apariencia es la combinación de las propiedades ópticas y las formas físicas que definen la calidad e identidad de un alimento. La apariencia representa todos los atributos visibles de un alimento, se puede afirmar que constituye un elemento fundamental para la selección de un alimento (Picallo 2009). En el Cuadro 5, se puede observar que hubo diferencias estadísticas entre tratamientos. Siendo el control el que obtuvo una mayor aceptación, seguido de la reducción de 20% de sacarosa ubicado en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente”, mientras que la reducción de 25 y 30% mostraron la menor aceptación por los panelistas.

Cuadro 5

Resultados del análisis sensorial de los tratamientos de la Fase 1 (reducción en sacarosa) para los atributos de apariencia, color, olor y viscosidad.

Tratamientos	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad
	Media \pm D.E	Media \pm D.E	Media \pm D.E	Media \pm D.E
Control	7.69 \pm 1.12 ^A	7.69 \pm 1.16 ^A	7.43 \pm 1.52 ^A	7.36 \pm 1.40 ^A
RED-20	7.08 \pm 1.49 ^B	7.00 \pm 1.53 ^B	6.87 \pm 1.41 ^B	7.07 \pm 1.36 ^{AB}
RED-25	6.55 \pm 1.85 ^C	6.77 \pm 1.67 ^{BC}	6.80 \pm 1.56 ^B	6.76 \pm 1.61 ^{BC}
RED-30	6.07 \pm 1.96 ^D	6.64 \pm 1.80 ^C	6.67 \pm 1.59 ^B	6.66 \pm 1.62 ^C
C.V%	19.44	17.33	17.21	17.03

Nota. Media con letras mayúsculas diferentes (A-D) en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Escala hedónica de 9 puntos donde 1: Me disgusta extremadamente; 5: Ni me gusta/ Ni me disgusta; 9: Me gusta extremadamente.

RED-20: Reducción en 20% de sacarosa.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

RED-30: Reducción en 30% de sacarosa.

C.V: Coeficiente de Variación.

D.E: Desviación Estándar.

Según Mahato *et al.* (2020), el azúcar normalmente es utilizada en la industria alimenticia para aumentar la aceptación y mejorar la apariencia en los alimentos. Esto explica los resultados obtenidos

en esta investigación, donde a un mayor porcentaje de reducción de sacarosa en la leche sabor chocolate hubo una menor aceptación por parte del consumidor en el atributo de apariencia.

Color.

El color se convierte en un índice de calidad e informa sobre el deterioro del alimento, también alerta sobre el estado higiénico-sanitario, el valor nutricional de los alimentos, y además anticipa y proporciona sensaciones de otras propiedades sensoriales, como el olor y el sabor (Arribas 2017). De acuerdo con lo mostrado en el Cuadro 5, existen diferencias significativas entre tratamientos y el control. El control mostró la mayor aceptación, ubicándose en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente”. Se identificó que se necesita una reducción de al menos un 20% de sacarosa con respecto al control para poder identificar un cambio significativo en el atributo de color.

Los resultados de la investigación para el atributo color pueden deberse según Mahato *et al.* (2020) a la caramelización de la azúcar en el tratamiento térmico de la leche. Así, al aumentar el porcentaje de reducción de azúcar se reduce la cantidad disponible de azúcar para la caramelización, disminuyendo el color y con ello la aceptación de este. Lo cual podría deberse que al disminuir la caramelización disminuye el color marrón de la leche sabor chocolate.

Olor.

El olor da un alto valor sensorial al alimento. La calidad del olor a menudo determina la aceptabilidad del alimento. Ahora bien, el aroma típico de una bebida viene descrito por todas las sustancias volátiles presentes que son normalmente una mezcla de cientos de compuestos de un amplio espectro de estructuras moleculares, puntos de ebullición y solubilidades (Gómez 2008). En el Cuadro 5, se pudo determinar que existe diferencia estadística entre los tratamientos y el control. Sin embargo, no hubo diferencia estadística al reducir del 20 al 30% el contenido de sacarosa. El control obtuvo una aceptación más alta ubicándose en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente,”; mientras que las reducciones de 20, 25 y 30% se pueden ubicar en la escala como “Me gusta poco”.

De acuerdo con Hiroshi S *et al.* (2020), la reacción de Maillard puede producir cambios en la calidad del alimento, como el aroma, el sabor y el color. Esto podría explicar los resultados obtenidos, debido a la reducción de sacarosa en la leche con sabor a chocolate, las sustancias resultantes por la reacción de Maillard se redujeron, disminuyendo así las sustancias volátiles.

Viscosidad.

La viscosidad es una propiedad física de suma importancia en la caracterización de las bebidas lácteas, tanto para su manejo industrial como por su afecto sensorial. También, es una propiedad de gran importancia en etapas de control de calidad de ingredientes y producto terminado. Además, influye en el desarrollo de alimentos debido al impacto que tiene en la aceptabilidad del consumidor (Ramírez-Sucre y Vélez-Ruíz 2009).

En el Cuadro 5 se observó que existen diferencias significativas entre los tratamientos y el control. A medida que el contenido de sacarosa disminuyó, la aceptación en viscosidad tendió a disminuir. Para que exista una diferencia estadística en viscosidad fue necesario hacer una reducción de por lo menos un 25% de sacarosa.

Según Mahato *et al.* (2020), al usar bajas concentraciones de sacarosa, entre un 5 y 10%, pueden ocurrir cambios en la viscosidad de las bebidas. Esto debido a que la sacarosa posee grupos hidroxilos (OH) en su molécula lo cual la hace capaz de interactuar con el agua de la leche formando puentes de hidrógeno, aumentando la viscosidad de la bebida. De esta forma, se explican los resultados obtenidos en la investigación donde el porcentaje de azúcar de los tratamientos se encontraba entre 3.92 y 5.6%. Oliveira *et al.* (2015) encontraron diferencias significativas entre tratamientos evaluando diferentes porcentajes de reducción de sacarosa (20, 40 y 60%) en leche sabor chocolate con probióticos, afirmando que una reducción a partir de un 40% de azúcar en leche sabor chocolate con probióticos puede afectar la viscosidad de la bebida, refutando los datos obtenidos.

Sabor.

A la hora de decidir si los consumidores se quedan con un producto, el sabor es el factor más importante para ellos. Así, el sabor debe ser el aspecto clave durante el desarrollo del producto y un criterio principal en la decisión de lanzar el producto en el mercado (ITI 2019). El Cuadro 6 muestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control para el atributo de sabor. Los tratamientos fueron estadísticamente iguales. El control obtuvo la mayor aceptación ubicándose en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente”.

Cuadro 6

Resultados del análisis sensorial Fase 1 (Reducción de sacarosa) en los atributos de sabor, dulzura y aceptación general en leche sabor chocolate.

Tratamientos	Sabor	Dulzura	Aceptación General
	Media \pm DE	Media \pm DE	Media \pm DE
Control	7.65 \pm 1.65 ^A	7.55 \pm 1.65 ^A	7.74 \pm 1.21 ^A
RED-20	7.25 \pm 1.30 ^B	7.08 \pm 1.53 ^B	7.32 \pm 1.21 ^B
RED-25	7.06 \pm 1.47 ^B	7.05 \pm 1.51 ^B	6.97 \pm 1.36 ^C
RED-30	6.86 \pm 1.60 ^B	6.73 \pm 1.70 ^B	6.71 \pm 1.50 ^C
CV%	18.73	19.78	15.26

Nota. Media con letras mayúsculas diferentes (A-C) en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Escala hedónica de 9 puntos donde 1: Me disgusta extremadamente; 5: Ni me gusta/ Ni me disgusta; 9: Me gusta extremadamente.

RED-20: Reducción en 20% de sacarosa.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

RED-30: Reducción en 30% de sacarosa.

C.V: Coeficiente de Variación.

D.E: Desviación Estándar.

El sabor característico de la leche con chocolate se debe, según Mahato *et al.* (2020), a la reacción de Maillard. La reacción de Maillard ocurre cuando un grupo amino interactúa con un azúcar reductor; en el caso de la leche saborizada, esta es la lactosa. Esta reacción ocurre de la mano con la caramelización. Esto provoca la formación de polímeros de nitrógeno o metioninas que poseen sabores específicos. Dentro de los compuestos que se producen en la reacción de Maillard en la leche se pueden mencionar aldehídos Strecker, maltol y diacetil; cada uno con un sabor específico. Por ende,

una reducción en el contenido de sacarosa reduce la caramelización, reduciendo los sabores característicos que provoca esto en conjunto con la reacción de Maillard; lo que explica los resultados obtenidos en la investigación.

Dulzura.

Para el atributo de dulzura no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, pero sí entre los tratamientos y el control. El control obtuvo una mayor aceptación, ubicándose en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente”. Se puede observar que una reducción de sacarosa en un 20 a un 30% afectó la aceptación de la leche sabor chocolate por parte del consumidor.

Según Mahato *et al.* (2020), la función principal de la sacarosa es aportar dulzura a cualquier alimento. La intensidad del sabor dulce está directamente relacionada con la concentración de la sacarosa, ya que al usar otros edulcorantes puede variar la intensidad. Es decir, a medida que se disminuye el contenido de sacarosa, la sensación de dulzura disminuye; así se puede observar en el Cuadro 6, demostrando que fue necesaria una disminución del 20% de sacarosa para encontrar diferencias estadísticas.

Los resultados refutan los datos obtenidos por Li *et al.* (2015), en donde obtuvieron diferencias significativas entre cada tratamiento evaluando diferentes porcentajes de reducción de sacarosa en leche sabor chocolate. Esto se puede deber a que Li y colaboradores evaluaron porcentajes de reducción mucho más altos (30 al 90%). Oliveira *et al.* (2015), por su parte, encontraron diferencias significativas en leche sabor chocolate con probióticos a partir de una reducción de 20% en sacarosa para el atributo de dulzura. Esto puede deberse a que Oliveira y colaboradores utilizaron adultos para su evaluación sensorial.

Aceptación General.

Para el atributo de aceptación general se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control; sin embargo, no hubo diferencia entre los tratamientos con reducción de 25 y 30% de sacarosa. El control obtuvo una mayor aceptación

ubicándose en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente”, seguido por el tratamiento con 20% de reducción; mientras que los tratamientos con 25 y 30% de reducción se ubican como “Me gusta poco”.

Li *et al.* (2015), identificaron una mayor aceptación general en los tratamientos con mayor cantidad de sacarosa confirmando los datos reportados en esta investigación. Del mismo modo, Oliveira *et al.* (2015) obtuvieron una mayor aceptación general en su tratamiento con reducción de 20% de sacarosa, evaluando diferentes porcentajes de reducción en leche sabor chocolate con probióticos.

El análisis de correlación consiste en un procedimiento estadístico para determinar si dos variables están relacionadas o no. En el Cuadro 7 se puede encontrar el grado de relación de los atributos (Apariencia, color, olor, viscosidad, sabor y dulzura) evaluados en la fase 1 con respecto a la aceptación general. De manera general los atributos con los valores de correlación altos positivos fueron el sabor (0.83) y la dulzura (0.81). Es decir, estos atributos influenciaron en una mayor medida la decisión tomada en la aceptación general.

Cuadro 7

Análisis de correlación de los atributos de análisis sensorial Fase 1.

	Coeficientes de Pearson en Correlación					
	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad	Sabor	Dulzura
Aceptación General	0.65	0.59	0.54	0.59	0.83	0.81
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Según Li *et al.* (2015), una reducción de sacarosa es posible hasta un 30% en la leche sabor chocolate, sin percibir cambios en la aceptación del consumidor. Mientras que Oliveira *et al.* (2015), sugieren que una reducción de sacarosa es posible hasta un 40% en leche sabor chocolate con probióticos. Esto confirma los datos obtenidos, pues todos los tratamientos de esta investigación obtuvieron una buena aceptación sin ser rechazado ningún tratamiento por el consumidor.

Grados Brix.

Según el Reglamento técnico Centroamericano (RTCA 67.06.48:08), “ALIMENTOS Y BEBIDAS PROCESADOS. NÉCTARES DE FRUTAS. ESPECIFICACIONES”. °Brix es la unidad de medida de sólidos solubles presentes en una solución. Normalmente los °Brix se relacionan con el contenido de sacarosa en una solución. Un °Brix equivale a 1 gramo de sacarosa en 100 gramos de solución.

En el Cuadro 8 se presentan los resultados de °Brix para todos los tratamientos de la fase 1, la cual consistió en elaboración de leche con chocolate con diferentes porcentajes de reducción de sacarosa (20, 25 y 30%). Se identificó diferencias estadísticas entre tratamientos. A medida que los porcentajes de reducción aumentaron, los grados Brix disminuyeron. Esto se debe a que a medida que los porcentajes de reducción aumentaron, los sólidos disueltos en la leche disminuyeron haciendo que los grados Brix disminuyeran.

Cuadro 8

Resultados fisicoquímicos: Sólidos solubles (°Brix) en tratamientos con reducción de azúcar.

Tratamiento	Media±D.E
CONTROL	17.50±0.08 ^A
RED-20	16.43±0.05 ^B
RED-25	16.23±0.05 ^C
RED-30	16.07±0.05 ^D
C.V(%)	0.42

Nota. Media con letras mayúsculas diferentes (A-D) en la columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

RED-20: Reducción en 20% de sacarosa.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

RED-30: Reducción en 30% de sacarosa.

C.V: Coeficiente de Variación.

D.E: Desviación Estándar.

Fase 2. Reformulación de Leche Sabor Chocolate con Reducción de Sacarosa y Sustitución de Sacarosa Utilizando Estevia Como Edulcorante No Calórico y Elaboración de Su Etiqueta Nutricional

Resultados del Análisis Sensorial

Apariencia.

Existen diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. El tratamiento con sustitución de 50% obtuvo una mayor aceptación con respecto al tratamiento con sustitución de 100%, al control y al tratamiento con reducción de 25% de sacarosa. A medida que aumentó el porcentaje de sustitución, la aceptación para el atributo de apariencia disminuyó. Esto se debe a que una sustitución de sacarosa por estevia puede llegar a mejorar la aceptación en apariencia, incluso más que solo realizar una reducción de sacarosa como se puede observar en el Cuadro 9. Los datos obtenidos coinciden en la investigación realizada por Li *et al.* (2015), en donde no obtuvieron diferencias significativas para el atributo de apariencia evaluando diferentes porcentajes (25,50 75 y 100%) de sustitución de azúcar utilizando estevia en leche sabor chocolate.

Cuadro 9

Resultados del análisis sensorial Fase 2 en los atributos apariencia, color, olor, viscosidad.

Tratamientos	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad
	Media \pm D.E	Media \pm D.E	Media \pm D.E	Media \pm D.E
S50-GRE	7.38 \pm 1.09 ^A	7.34 \pm 1.16 ^A	6.97 \pm 1.26 ^A	6.97 \pm 1.34 ^A
S75-GRE	7.11 \pm 1.44 ^{AB}	7.01 \pm 1.55 ^{AB}	6.69 \pm 1.47 ^{AB}	6.75 \pm 1.43 ^{AB}
S100-OPT	7.02 \pm 1.09 ^B	7.18 \pm 1.41 ^{AB}	6.55 \pm 1.48 ^B	6.56 \pm 1.64 ^B
Control	6.82 \pm 1.66 ^{BC}	6.60 \pm 1.82 ^C	6.61 \pm 1.61 ^B	6.76 \pm 1.81 ^{AB}
REDC	6.66 \pm 1.62 ^C	6.87 \pm 1.51 ^{BC}	6.41 \pm 1.51 ^B	6.76 \pm 1.45 ^{AB}
C.V%	16.13	16.46	17.1	17.14

Nota. Media con letras mayúsculas diferentes (A-C) en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Escala hedónica de 9 puntos donde 1: Me disgusta extremadamente; 5: Ni me gusta/ Ni me disgusta; 9: Me gusta extremadamente.

S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

REDC: Reducción en 25% de sacarosa.

C.V: Coeficiente de Variación. D.E: Desviación Estándar.

Color.

Para el atributo de color se encontró diferencias significativas entre tratamientos. Los tratamientos con sustitución y reducción de sacarosa obtuvieron una mayor aceptación; ubicándose en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente”. El control se ubica como “Me gusta levemente”.

De esta forma, los resultados obtenidos concuerdan con la investigación realizada por Bordi *et al.* (2016), en donde no se encontró diferencias significativas para el atributo de color evaluando la aceptación diferentes sustituciones de sacarosa en leche sabor chocolate utilizando estevia en adultos debido a la falta de poder discriminatorio de estos.

Los datos reportados por Verruma-Bernardi *et al.* (2015). difieren de los resultados obtenidos en esta investigación, ya que se obtuvo diferencias significativas entre tratamientos evaluando diferentes porcentajes de sustitución en leche sabor chocolate utilizando estevia en niños con un mayor poder de discriminación. En el estudio de Verruma-Bernardi y colaboradores los tratamientos con sustitución de 28 y 35% de sacarosa obtuvieron una mayor aceptación para el atributo de color.

Olor.

Se identificó diferencias significativas entre tratamientos para el atributo de olor. Todos los tratamientos se pueden ubicar en la escala hedónica como “Me gusta levemente”. No se encontró diferencia entre la sustitución de 100% de estevia, la reducción de 25% de sacarosa y el control, pero sí con el tratamiento con 50% de sustitución. A medida que aumentó el porcentaje de sustitución, la aceptación en olor disminuyó.

Viscosidad.

Se encontró diferencia estadística entre tratamientos. A medida que aumentó el porcentaje de sustitución, disminuyó la aceptación de la viscosidad. Los tratamientos se pueden ubicar en la escala hedónica como “Me gusta levemente”. Li *et al.* (2015), no reportan diferencias significativas entre sus tratamientos evaluando diferentes porcentajes de sustitución (25, 50, 75, 100%) de sacarosa

en leche sabor chocolate utilizando estevia, refutando los datos obtenidos en esta investigación. Al igual, Bordi *et al.* (2016), evaluaron diferentes porcentajes de sustitución (35 y 45%) de sacarosa sin obtener diferencias entre sus tratamientos con porcentajes diferentes de sustitución de sacarosa utilizando estevia en leche sabor chocolate.

Sabor.

Se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos para el atributo de sabor como se puede observar en el Cuadro 10. Sin embargo, no hubo diferencia entre el control y la sustitución con 50% utilizando estevia. Los tratamientos se pueden ubicar en la escala hedónica como “me gusta moderadamente”. En cambio, en la sustitución de 75 y 100% con estevia, se reduce la aceptación del sabor. A mayor porcentaje de sustitución, menor aceptación en el atributo de sabor. Esto se debe a la relación de sinergia donde la estevia y la sacarosa, las cuales se complementan potenciado y mejorando el sabor de la bebida; es decir a mayor contenido de sacarosa, mayor sinergia existirá (Reis Rc. *et al.* 2011).

Cuadro 10

Resultados del análisis sensorial Fase 2 en los atributos sabor, sabor chocolate y sabor residual, dulzura.

Tratamientos	Sabor	Sabor chocolate	Sabor residual	Dulzura
	Media \pm D.E	Media \pm D.E	Media \pm D.E	Media \pm D.E
Control	7.16 \pm 1.66 ^A	6.99 \pm 1.72 ^A	6.78 \pm 1.79 ^A	7.10 \pm 1.67 ^A
S50-GRE	7.07 \pm 1.54 ^A	7.06 \pm 1.51 ^A	6.69 \pm 1.55 ^{AB}	7.02 \pm 1.55 ^A
S75-GRE	6.18 \pm 1.70 ^C	6.04 \pm 1.76 ^C	5.84 \pm 1.60 ^C	6.11 \pm 1.68 ^C
S100-OPT	5.89 \pm 1.97 ^C	5.76 \pm 2.00 ^C	4.98 \pm 2.08 ^D	5.51 \pm 2.08 ^D
REDC	6.65 \pm 1.54 ^B	6.45 \pm 1.70 ^B	6.33 \pm 1.47 ^B	6.57 \pm 1.48 ^B
C.V%	20.7	21.9	24.1	22.61

Nota. Media con letras mayúsculas diferentes (A-D) en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Escala hedónica de 9 puntos donde 1: Me disgusta extremadamente; 5: Ni me gusta/ Ni me disgusta; 9: Me gusta extremadamente

S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

REDC: Reducción en 25% de sacarosa.

C.V: Coeficiente de Variación. D.E: Desviación Estándar.

Los datos reportados por Bordi *et al.* (2016), confirman los datos obtenidos, ya que para el atributo de sabor el tratamiento endulzado con sacarosa y los tratamientos con sustitución de 28 y 35% de sacarosa con estevia no reportaron diferencias significativas; confirmando que existe una preferencia por bebidas con sustituciones parciales de sacarosa utilizando estevia.

También, los datos de Verruma-Bernardi *et al.* (2015), confirman los resultados obtenidos; identificando preferencia en el atributo de sabor en sus tratamientos con menores porcentajes de sustitución de sacarosa con estevia. Li *et al.* (2015) confirman los datos obtenidos, reportando una mayor aceptación en el atributo de sabor para su tratamiento endulzado totalmente con sacarosa y sus tratamientos con sustitución de 25 y 50% utilizando estevia; mientras que su sustitución con 75% y 100% de sacarosa fueron los menos aceptados.

Sabor a Chocolate.

Para el atributo de sabor a chocolate se identificó diferencias significativas entre tratamientos. No hubo diferencia entre el control y la sustitución de 50% de sacarosa, presentando estos la mayor aceptación. Esto se puede deber a que los estos tratamientos son los que contienen un mayor contenido de sacarosa.

Estos resultados podrían ser debido a una relación directamente proporcional entre la dulzura y la intensidad a sabor chocolate; a menor dulzura, menor sabor a chocolate. Los datos reportados por Li *et al.* (2015), confirman lo anteriormente dicho; ya que evaluando diferentes porcentajes de sustitución (25, 50, 75, 100%) de sacarosa en leche con chocolate, a medida que aumenta el porcentaje de sustitución disminuye la aceptación de los panelistas para el atributo de sabor a chocolate.

Sabor Residual.

El principal problema de la estevia como edulcorante es el sabor residual amargo que repercute en su aceptabilidad comercial. Rojas (2012), determinó que este sabor amargo se debe

principalmente al contenido de esteviósidos. Entre mayor sea el porcentaje de rebaudiósido A en el extracto final, mayor dulzor y mejor sabor tendrá reduciéndose el sabor residual.

Referente a esto, se identificó diferencias estadísticas entre los tratamientos para el atributo de sabor residual. Los tratamientos mejor evaluados fueron el control, la reducción de 25% y la sustitución de 50%; ubicándose en la escala hedónica como “Me gusta levemente”. A medida que se aumentó el porcentaje de sustitución, la aceptación con respecto al sabor residual disminuyó. Los datos reportados por Li *et al.* (2015), confirman los datos obtenidos, ya que ellos evaluaron diferentes porcentajes de sustitución (25, 50, 75 y 100%) y reportaron que a medida que aumentaron el contenido de estevia, la aceptación en sabor residual disminuyó.

Dulzura.

No se identificó diferencias entre el control y la sustitución de 50% de sacarosa. Los tratamientos mejor evaluados para la dulzura fueron el control y la sustitución de 50%, colocándose en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente”. Esto se puede deber a que la estevia y la sacarosa al combinarse producen una sinergia. Es decir, a medida que aumenta el porcentaje de sacarosa en combinación con estevia la aceptación en dulzura aumentará (Palacio Vasquez *et al.* 2017). Li *et al.* (2015), al evaluar diferentes porcentajes de sustitución de sacarosa con estevia (25, 50, 75 y 100%) en leche sabor chocolate, encontraron que los tratamientos con un menor porcentaje de sustitución de sacarosa obtuvieron una mayor aceptación por parte de los panelistas confirmando los datos obtenidos en esta investigación.

Aceptación General.

En el Cuadro 11 se presentan los resultados del atributo aceptación general, en el cual se encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos. No hubo diferencia entre el control endulzado con sacarosa en su totalidad y la sustitución de 50% de sacarosa utilizando estevia; siendo estos los tratamientos mejor evaluados, ubicándose en la escala hedónica como “Me gusta moderadamente”.

No obstante, Li *et al.* (2015), identificaron una mayor aceptación general en su tratamiento endulzado con sacarosa únicamente y su tratamiento con sustitución de 25% de sacarosa utilizando estevia en leche sabor chocolate. Esto confirma la aceptación del consumidor a bebidas con menores porcentajes de sustitución de sacarosa utilizando estevia.

Cuadro 11

Resultados análisis sensorial de la Fase 2 del atributo aceptación general.

Tratamientos	Acceptación general
	Media \pm D.E
S50-OPT	7.11 \pm 1.39 ^A
S75-OPT	6.37 \pm 1.40 ^B
S100-GRE	5.84 \pm 1.73 ^C
Control	7.08 \pm 1.55 ^A
REDC	6.66 \pm 1.28 ^B
C.V%	17.77

Nota. Media con letras mayúsculas diferentes (A-D) en la columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Escala hedónica de 9 puntos donde 1: Me disgusta extremadamente; 5: Ni me gusta/ Ni me disgusta; 9: Me gusta extremadamente

S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

RED: Reducción en 25% de sacarosa.

C.V: Coeficiente de Variación.

D.E: Desviación Estándar.

En el Cuadro 12 se pueden observar los resultados del análisis de correlación de los atributos de apariencia, color, olor, sabor, sabor a chocolate, sabor residual y dulzura con respecto a la aceptación general. Se observa que los atributos que tuvieron una correlación más alta positiva fueron dulzura (0.82), el sabor a chocolate (0.83) y el sabor (0.84); es decir que, estos atributos influenciaron en mayor medida la aceptación general del producto. En cambio, los atributos de color, apariencia, olor y sabor residual influenciaron en menor medida, puesto que su nivel de correlación con la aceptación general fue intermedio.

Cuadro 12

Resultados de análisis de correlación de los atributos apariencia, color, olor, sabor, sabor chocolate, sabor residual, dulzura con la aceptación general.

Coeficientes de Pearson en Correlación							
Prob > r bajo Ho: Rho=0							
Aceptación General	Apariencia	Color	Olor	Sabor	Sabor chocolate	Sabor residual	Dulzura
	0.45	0.43	0.49	0.84	0.83	0.78	0.82
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Pruebas Físicoquímicas**Color.**

En el Cuadro 13 se presentan los resultados del análisis de color realizado a todos los tratamientos de la fase 2. No se encontró diferencia estadística entre tratamientos para los parámetros de L, a*, b*. La sustitución y reducción de sacarosa por estevia en diferentes porcentajes no influyó en el color de las muestras. Esto se puede deber a que la cocoa es la principal fuente de color en la leche sabor chocolate, lo cual al ser un ingrediente que se modificó en la formulación los cambios no provocaron una diferencia significativa para el color.

Cuadro 13

Resultados análisis de color: parámetros L a* b*.*

Tratamiento	L*	a*	b*
	Media±DE	Media±DE	Media±DE
CONTROL	56.59±1.31 ^A	10.42±0.71 ^A	17.25±1.38 ^A
RED-25	56.54±2.47 ^A	9.66±0.28 ^A	17.18±0.21 ^A
S50-GR	58.63±0.21 ^A	9.53±0.19 ^A	16.67±0.36 ^A
S75-GR	57.15±1.20 ^A	10.03±0.46 ^A	18.05±0.67 ^A
S100-OPT	58.27±1.79 ^A	9.58±0.46 ^A	17.28±0.21 ^A
C.V(%)	3.32	4.3	2.85

Nota. Media con letras mayúsculas iguales (A) en la misma columna no son significativamente diferentes (P > 0.05).

S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

C.V: Coeficiente de Variación. D.E: Desviación Estándar.

Grados Brix.

En el Cuadro 14 se presentan los resultados de los grados brix para los tratamientos de la fase 2. Se encontró diferencia estadística entre tratamientos. No se encontró diferencia estadística entre la reducción de 25% de sacarosa y la sustitución de 50% de sacarosa con estevia. Se observó que a medida que aumenta el porcentaje de sustitución de sacarosa los grados Brix disminuyeron; esto debido a que a medida que la sacarosa disminuye los sólidos disueltos en la leche disminuyeron.

Cuadro 14

Resultados fisicoquímicos: Sólidos solubles (°Brix) en tratamientos con reducción y sustitución de azúcar utilizando estevia.

Tratamiento	Media±D.E
CONTROL	17.73±0.12 ^A
RED-25	16.47±0.12 ^B
S50-GR	16.52±0.05 ^B
S75-GR	14.98±0.29 ^C
S100-OPT	13.82±0.17 ^D
C.V(%)	0.43

Nota. Media con letras mayúsculas diferentes (A-D) en la columna son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

C.V: Coeficiente de Variación.

D.E: Desviación Estándar

Contenido Nutricional.

En el Cuadro 15 se presenta el aporte nutricional de cada tratamiento de las fases 1 y 2 de la investigación, calculados a partir de la tabla de composición de alimentos de INCAP versión 2018, exceptuando el tratamiento S50-GR al cual se le calculó el aporte nutricional por medio de análisis químicos (Anexo B) y el control donde se utilizó la etiqueta nutricional reportada por la planta de lácteos. Para su cálculo se utilizó un tamaño de porción de 250 mL. El único nutriente que cambió son los carbohidratos totales debido a que se modificó la cantidad de azúcar; mientras que los demás

nutrientes se mantuvieron similares en todos los tratamientos; exceptuando el tratamiento con 50% de sustitución debido que se utilizaron análisis químicos para determinar el contenido nutricional. Debido a que la cantidad de azúcar se modificó, el aporte calórico cambió, siendo el tratamiento con reducción de 20% el que mayor contenido calórico aporta (229 kcal) mientras que el tratamiento con menor aporte calórico es el tratamiento con 100% de sustitución de sacarosa con estevia (134 kcal).

Cuadro 15

Contenido nutricional de los tratamientos (porción 250 mL).

Nutriente	Tratamiento						
	RED-20	RED-25	RED-30	S50-GR	S75-GR	S100-OPT	Control
Energía (kcal)	229	223	217	180	156	134	170
Proteína (g)	9	9	9	8	9	9	11
Grasa total (g)	5	5	5	7	5	5	3
Colesterol (mg)	20	20	20	30	20	20	20
Azúcar (g)	12	11	10	14	3	0	24
Carbohidratos (g)	25	24	24	24	16	13	25
Sodio (mg)	127	127	127	190	127	127	220

Nota. RED-20: Reducción en 20% de sacarosa.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

RED-30: Reducción en 30% de sacarosa.

S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

El Cuadro 16 presenta el porcentaje de valor diario de cada micronutriente que aporta cada tratamiento de las fases 1 y 2. Estos porcentajes fueron calculados en base a una dieta de 2000 kcal recomendada por la FDA. Los únicos porcentajes que se modificaron fueron los carbohidratos y la energía aportada. Una reducción de 20, 25, 30% de sacarosa no representó un cambio en el porcentaje de aporte energético (11%). Mientras que la sustitución parcial de 75% de sacarosa con estevia representó un aporte calórico de 8%. El tratamiento con sustitución de 100% de sacarosa reportó un aporte calórico de 7%.

Cuadro 16

Porcentaje valor diario de todos los tratamientos.

Nutriente	Tratamiento						
	RED-20	RED-25	RED-30	S50-GR	S75-GR	S100-OPT	Control
Energía	11%	11%	11%	9%	8%	7%	9%
Proteína	18%	18%	18%	16%	18%	18%	22%
Grasa total	8%	8%	8%	11%	8%	8%	5%
Colesterol	7%	7%	7%	10%	7%	7%	7%
Carbohidratos	8%	8%	8%	8%	5%	4%	8%
Sodio	6%	6%	6%	8%	6%	6%	9%

Nota. RED-20: Reducción de 20% de sacarosa.

RED-25: Reducción en 25% de sacarosa.

RED-30: Reducción en 30% de sacarosa.

S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S75-GRE: Sustitución de 75% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

S100-OPT: Sustitución de 100% de sacarosa utilizando OPTIMIZER STEVIA® 2.10.

En el Cuadro 17 se presenta el aporte nutricional del tratamiento con 50% de sustitución de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia, la leche sabor chocolate Zamorano y otras tres leches sabor chocolate de diferentes marcas (LC-1, LC-2, LC-3). El aporte nutricional dependió de la composición de cada bebida. Se puede observar que la leche endulzada con GREENESSE™ 60Stevia posee un mayor contenido de grasa saturada y colesterol (1.6 g y 12 mg). Esto se debe a que, al bajar el contenido de sacarosa de la leche, todos los demás macro y micronutrientes se concentran.

La leche endulzada con GREENESSE™ 60Stevia presenta la menor cantidad de azúcares (5.6 g) mientras que la leche sabor chocolate LC-2 y el control presenta la mayor cantidad de azúcares 12 y 9.6 g respectivamente. El contenido de proteína fue similar en la leche con estevia, LC-1 y LC-2, 3 g, la leche de Zamorano presentó el mayor contenido de proteína (4.4 g) mientras que la leche endulzada con GREENESSE™ 60Stevia contiene 3.2 g de proteína.

La leche LC-1 presentó un mayor aporte calórico con 85 kcal mientras que la leche con GREENESSE™ 60Stevia presentó un aporte calórico de 72 kcal y el control 68 kcal. La leche de LC-3 presentó el menor aporte calórico con 63 kcal esto se debe a que esta leche presenta un bajo contenido de grasa.

El porcentaje de valor diario (%VD) por cada nutriente se presenta en el Cuadro 18. La leche endulzada con GREENESSE™ 60Stevia, la leche LC-1 y LC-2 reportan un 4% de aporte calórico. Mientras que el control y LC-3 reporta un 3%. La leche endulzada con GREENESSE™ 60Stevia reporta el porcentaje de VD más alto de grasa saturada y colesterol con 8 y 4% respectivamente. Los carbohidratos totales se reportan en porcentajes similares para todas las leches, siendo el control y la leche endulzada con GREENESSE™ 60Stevia las bebidas con un menor porcentaje de valor diario (4%). En el caso de azúcar la FDA sugiere un consumo máximo de 50 g, la leche endulzada con GREENESSE™ 60Stevia reporta el menor porcentaje de valor diario (11%). Mientras el control reporta 19% de valor diario para azúcar.

Cuadro 17

Contenido nutricional de diferentes leches sabor chocolate disponible en el mercado hondureño

(porción de 100 mL).

Nutriente	Control	S50-GRE	LC-1	LC-2	LC-3
Energía total (kcal)	68	72	85	76	63
Grasa total (g)	1.2	2.8	3	2	1
Grasa saturada (g)	0.6	1.6	1	1	0
Colesterol (mg)	8	12	6	4	0
Sodio (mg)	88	76	97	68	88
Carbohidratos totales (g)	10	9.6	12	12	12
Azúcares (g)	9.6	5.6	7	12	10
Proteína (g)	4.4	3.2	3	3	2

Nota. S50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

Cuadro 18

Porcentaje de valor diario de macronutrientes de diferentes leches sabor chocolate disponibles en el mercado hondureño.

Nutriente	Control	S50-GRE	LC-1	LC-2	LC-3
Energía	3%	4%	4%	4%	3%
Grasa total	2%	4%	4%	3%	1%
Grasa saturada	3%	8%	7%	5%	0%
Colesterol	3%	4%	2%	1%	0%
Sodio	4%	4%	5%	3%	4%
Carbohidratos totales	3%	3%	4%	4%	4%
Azúcares	19%	11%	14%	24%	20%
Proteína	9%	6%	7%	7%	4%

Nota. SUST50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

Análisis de Costos Variables de Formulación.

En el Cuadro 19 se puede observar un análisis de costos variables de formulación entre la leche sabor chocolate de Zamorano y la leche sabor chocolate con 50% de sustitución de sacarosa por GREENESSE™ 60Stevia. Producir 1 L de leche con chocolate tiene un costo de USD 0.65 para la planta de lácteos en Zamorano. En cambio, producir 1 L de leche sabor chocolate con una sustitución parcial de 50% de sacarosa por GREENESSE™ 60Stevia tiene un costo de USD 0.64; es decir, este tiene una disminución de USD 0.01 por litro con respecto al control. En el 2019, en la Planta de Lácteos de Zamorano se produjeron 15,610 litros de leche sabor chocolate con un costo de ingredientes equivalente a USD 10,146.50. El costo de producir la misma cantidad de leche sabor chocolate con una sustitución parcial de 50% de sacarosa por GREENESSE™ 60Stevia sería de USD 9,990.40. El resultado de los costos indica que producir la leche con una sustitución del 50% de sacarosa siendo un producto con menos porcentaje de azúcares es factible e inclusive menos costoso que producir el control.

Cuadro 19

Costos variables de producción en dólares estadounidenses (USD) de Leche sabor chocolate de Zamorano y Leche sabor chocolate endulzada con estevia.

Ingrediente	Costo Unitario USD	Control	S50-GRE
		Costo 1Litro (USD)	
Leche estandarizada (L)	0.49	0.49	0.49
Azúcar (Kg)	0.74	0.04	0.02
Cocoa (Kg)	9.9	0.1	0.1
Citrato de sodio (Kg)	1.48	0	0
Estabilizador (Kg)	21.36	0.02	0.02
Estevia (Kg)	72.01	0	0.01
Total		0.65	0.64

Nota. SUST50-GRE: Sustitución de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

Conclusiones

Realizar una sustitución parcial de sacarosa con estevia en leche sabor chocolate obtuvo una mayor aceptación con respecto a realizar solamente una reducción siendo el tratamiento con sustitución del 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia el que obtuvo una mayor aceptación.

El atributo del color no se vio afectado al realizar una sustitución parcial mientras que los °Brix se vieron afectados.

Los atributos que más influyeron en la aceptación general según el análisis de correlación fueron los atributos de sabor, sabor chocolate, sabor residual y dulzura.

Recomendaciones

Se recomienda que la Planta de Lácteos de Zamorano produzca leche sabor chocolate con una reducción de 50% de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

Evaluar la implementación de GREENESSE™ 60Stevia en otros productos de la Planta de Lácteos de Zamorano.

Concientizar a los estudiantes de Zamorano sobre el consumo de productos saludables con bajo contenido de grasa, sodio y azúcar.

Realizar análisis de viscosidad para evaluar el efecto de sustituciones parciales de sacarosa utilizando GREENESSE™ 60Stevia y OPTIMIZER STEVIA® en leche sabor chocolate.

Evaluar el uso otros tipos de edulcorantes no calóricos como la fruta del monje (*Siraitia grosvenorii*), sucralosa y aspartame.

Estandarizar la leche a un porcentaje menor de grasa para disminuir el aporte calórico de la leche sabor chocolate con sustitución de 50% utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

Referencias

- Alejandra Picallo. 2009. Análisis sensorial de los alimentos.: El imperio de los sentidos. Argentina: Universidad de Buenos Aires; [accessed 2021 Jan 12]. http://repositorioubasibbi.uba.ar/gsd/collect/encruci/index/assoc/HWA_257.dir/257.PDF.
- Bordi PL, Palchak T, Verruma-Bernardi MR, Cho HC. 2016. Adult Acceptance of Chocolate Milk Sweetened with Stevia. *Journal of Culinary Science & Technology*. 14(3):216–221. doi:10.1080/15428052.2015.1102786.
- CODEX. 1999. Norma general del CODEX para el uso de términos lecheros. [place unknown]: [publisher unknown]; [accessed 2018 May 29].
- CODEX. 2016. Anteproyecto de revisión de la categoría de alimentos 01.1 “Leche y bebidas lácteas” y sus subcategorías. Roma, Italia: FAO.
- FDA. 2014. High-Intensity Sweeteners. USA: FDA.
- Gómez N. 2008. SEPARACIÓN DE AROMAS EN ETAPAS DEL PROCESADO DE ZUMOS DE FRUTAS Y BEBIDAS [Doctoral]. Santander: Universidad de Cantabria; [accessed 2021 Mar 26]. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/10691/1de7.NDGcap1.pdf?se>.
- Gómez-Miranda LM, Bacardí-Gascón M, Caravali-Meza NY, Jiménez-Cruz A. 2014. consumo de bebidas energéticas, alcohólicas y azucaradas en jóvenes universitarios de la frontera México-USA [Consumption of sweetened, energy and alcoholic beverages among college students in the México-US border]. *Nutr Hosp*. 31(1):191–195. spa. doi:10.3305/nh.2015.31.1.8094.
- Hernández A, Di Iorio AB, Tejada OA. 2017. Contenido de azúcar, grasa y sodio en alimentos comercializados en Honduras, según el etiquetado nutricional: prueba para la regulación de alimentos procesados y ultraprocesados. *Rev Esp Nutr Hum Diet*. 22(2):108. doi:10.14306/renhyd.22.2.413.
- Hiroshi S H, Guemra S, Bosso A, Pádua A É de, Rodrigo Ito M L. 2020. Reducción de proteínas y glucosa por reacción de Maillard en leche con lactosa hidrolisada. *Rev. chil. nutr*. 47(1):14–21. doi:10.4067/S0717-75182020000100014.
- ITI. 2019. La importancia del sabor en el desarrollo de los productos. [place unknown]: Instituto internacional de sabor; [accessed 2021 Mar 3]. <https://www.taste-institute.com/es/resources/blog/importance-of-taste-in-product-development>.
- Li XE, Lopetcharat K, Qiu Y, Drake MA. 2015. Sugar reduction of skim chocolate milk and viability of alternative sweetening through lactose hydrolysis. *J Dairy Sci*. 98(3):1455–1466. eng. doi:10.3168/jds.2014-8490.
- Mahato DK, Keast R, Liem DG, Russell CG, Cicerale S, Gamlath S. 2020. Sugar Reduction in Dairy Food: An Overview with Flavoured Milk as an Example. *Foods*. 9(10). eng. doi:10.3390/foods9101400.
- Mejía-Portillo JM, Ventura-Villegas F-K, Alvarado-Martínez FJ. 2019. Evaluación y análisis sensorial en la reducción de porcentaje de azúcar en leches saborizadas de consumo popular, mediante la reformulación de las mismas. *PAYDS*. 8:25–34. doi:10.5377/payds.v8i0.8709.

- Oliveira D, Antúnez L, Giménez A, Castura JC, Deliza R, Ares G. 2015. Sugar reduction in probiotic chocolate-flavored milk: Impact on dynamic sensory profile and liking. *Food Res Int.* 75:148–156. eng. doi:10.1016/j.foodres.2015.05.050.
- OPS. 2016. Modelo de perfil de nutrientes de la Organización Panamericana de la Salud. Washington DC: Biblioteca OPS. ISBN: 978-92-75-11873-3; [accessed 2021 Mar 27].
- OPS. 2017. Sobrepeso afecta a casi la mitad de la población de todos los países de América Latina y el Caribe salvo por Haití; [accessed 2020 May 27]. https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=12911:overweight-affects-half-population-latin-american-caribbean-except-haiti&Itemid=1926&lang=es.
- PALACIO VASQUEZ E, HURTADO IBARBO JE, ARROYAVE ROA JD, CARDONA CAICEDO M, MARTINEZ GIRON J. 2017. EDULCORANTES NATURALES UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DE CHOCOLATES. *BSAA.* 15(2):142. doi:10.18684/BSAA(15)142-152.
- Quitral R V, Pinheiro F AC, Carrera P C, Gallo U G, Moyano S P, Salinas V J, Jimenez P P. 2015. Efecto de edulcorantes no calóricos en la calidad sensorial de jugo de naranja. *Rev. chil. nutr.* 42(1):77–82. doi:10.4067/S0717-75182015000100010.
- Ramírez-Sucre, Vélez-Ruíz. 2009. Efecto de la incorporación de estabilizantes en la viscosidad de bebidas lácteas no fermentadas. *Temas selectos de ingeniería en alimentos*; [accessed 2021 Mar 26]. 4–13. [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-2/TSIA-3\(2\)-Ramirez-Sucre-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-2/TSIA-3(2)-Ramirez-Sucre-et-al-2009.pdf).
- REIS RC, MINIM VPR, BOLINI HMA, DIAS BRP, MINIM LA, CERESINO EB. 2011. SWEETNESS EQUIVALENCE OF DIFFERENT SWEETENERS IN STRAWBERRY-FLAVORED YOGURT. *Journal of Food Quality.* 34(3):163–170. doi:10.1111/j.1745-4557.2011.00378.x.
- Rojas E. 2012. Extracción de un edulcorante a partir de plantas de Stevia rebaudiana cultivadas en Costa Rica. Costa Rica: Universidad de Costa Rica, Escuela de Tecnología de alimentos; [accessed 2021 Mar 3]. <http://www.kerwa.ucr.ac.cr/handle/10669/29572>.
- Salvador-Reyes R, Sotelo-Herrera M, Paucar-Menacho, L. 2014. Estudio de la Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. *Scienta Agropecuaria.* 5:157–163. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172014000300006.
- Verruma-Bernardi MR, Lee K, Liu SQ, Bordi Jr. PL. 2014. Chocolate Milk with Sucrose and Stevia Preference by Pre- and Post-Menopausal Women. *FNS.* 05(14):1352–1358. doi:10.4236/fns.2014.514147.
- Verruma-Bernardi MR, Lee K, Palchak T, Bordi PL. 2015. Chocolate Milk Sweetened With Stevia: Acceptance by Children. <http://www.annexpublishers.com/articles/JOO/1103-Chocolate-Milk-Sweetened-With-Stevia-Acceptance-by-Children.pdf>.
- Victoria Moreno Arribas. 2017. La importancia del color de los alimentos. Mexico: Instituto de investigación de ciencia de la alimentación; [accessed 2021 Jan 18]. 2 p. https://www.revistaalimentaria.es/fotos_noticias/PDF4752.pdf.

Anexos**Anexo A**

*Colorímetro Colorflex Hunter L*a*b (ASTM D6290).*



Anexo B

Etiqueta nutricional Leche Zamorano sabor chocolate con sustitución parcial de 50% de sacarosa

utilizando GREENESSE™ 60Stevia.

Nutrition Facts			
Datos de Nutrición			
Serving Size 1 Cup (250 mL) / Tamaño Por Ración 1 Taza (250 mL)			
Serving Per Container 7 approx. / Raciones Por Envase 7 approx.			
Amount Per Serving/Cantidad Por Ración			
Total Energy/Energía Total 400kJ (180kcal)			
Energy from Fat/Energía de la Grasa 150kJ (60kcal)			
	%Daily Value*/ % Valor Diario*		
Total Fat/Grasa Total 7g	11% **		
Saturated Fat/Grasa Saturada 4g	20%		
Trans Fat / Grasa Trans 0g			
Cholesterol/Colesterol 30mg	10%		
Sodium/Sodio 190mg	8% **		
Total Carbohydrate/Carbohidratos Totales 24g	8% **		
Dietary Fiber/Fibra Dietética 0g	0%		
Sugars/Azúcares 14g			
Protein/Proteínas 8g			
Vitamin A/Vitamina A	8%		
Vitamin C/Vitamina C	0%		
Calcium/Calcio	8%		
Iron/Hierro	0%		
*Percent Daily Values are based on a 2,000 calorie diet. Your daily values may be higher or lower depending on your calorie needs.			
*Los Porcentajes de los Valores Diarios están basados en una dieta de 2,000 calorías. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores, dependiendo de las calorías que usted necesite.			
** Reference from FDA / Referencia a la FDA			
*** Not a significant source of saturated fat/No es fuente significativa de grasa saturada			
**** Not a significant source of sodium/No es fuente significativa de sodio			
	Calories/Calorías	2,000	2,500
Total Fat/Grasa Total	Less than/Menos de	65g	80g
Sat Fat/Grasa Saturada	Less than/Menos de	20g	25g
Cholesterol/Colesterol	Less than/Menos de	300mg	300mg
Sodium/Sodio	Less than/Menos de	2400mg	2400mg
Total Carbohydrate/Carbohidratos Totales		300g	375g
Dietary Fiber/Fibra Dietética		25g	30g

Anexo C

Hoja de análisis sensorial Fase 1.

Evaluación sensorial de leche sabor chocolate

Fecha: _____

Instrucciones

Frente a usted se presentan cuatro muestras de leche sabor chocolate. Por favor, observe y pruebe cada una de ellas yendo de izquierda a derecha. Indique el grado en que le gusta o le disgusta cada atributo de cada muestra escribiendo el número correspondiente en la línea del código de la muestra. Antes y después de probar cada muestra tomar un trago de agua para limpiar el paladar.

Puntaje	Categoría
1	Me disgusta extremadamente
2	Me disgusta mucho
3	Me disgusta moderadamente
4	Me disgusta levemente
5	No me gusta ni me disgusta
6	Me gusta levemente
7	Me gusta moderadamente
8	Me gusta mucho
9	Me gusta extremadamente



Código	Clasificación por atributo						
	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad	Sabor	Dulzura	Aceptación general



Comentarios.

Anexo D

Hoja de análisis sensorial.

Evaluación sensorial de leche sabor chocolate

Fecha: _____ Edad: _____ Género: _____

Instrucciones

Frente a usted se presentan cinco muestras de leche sabor chocolate. Por favor, observe y pruebe cada una de ellas yendo de izquierda a derecha. Indique el grado en que le gusta o le disgusta cada atributo de cada muestra escribiendo el número correspondiente en la línea del código de la muestra. Antes y después de probar cada muestra tomar un trago de agua para limpiar el paladar. Favor llenar la parte de comentarios ya que serán muy valiosos para la investigación.

Puntaje	Categoría
1	Me disgusta extremadamente
2	Me disgusta mucho
3	Me disgusta moderadamente
4	Me disgusta levemente
5	No me gusta ni me disgusta
6	Me gusta levemente
7	Me gusta moderadamente
8	Me gusta mucho
9	Me gusta extremadamente

Código	Clasificación por atributo								
	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad	Sabor	Sabor a chocolate	Sabor residual	Dulzura	Aceptación general

Comentarios .

¡Muchas gracias!

fase 2.

Anexo E

Horno de aire forzado (Fisher Scientific modelo 750 F).



Anexo F

Horno al vacío (NAPCO modelo 5831).



Anexo G

Olla de cocción lenta (InstantPot, modelo Duo-Nova) utilizado como pasteurizador por tandas.



Anexo H

Refractómetro digital (marca Sper Scientific modelo 30053).

