

**Evaluación de la temperatura de  
pasteurización y acidez final en la estabilidad  
de calcio y vitamina D en yogur de fresa**

**Luis Fernando Maldonado Mejía**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

ZAMORANO  
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

# **Evaluación de la temperatura de pasteurización y acidez final en la estabilidad de calcio y vitamina D en yogur de fresa**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Luis Fernando Maldonado Mejía**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

# **Evaluación de la temperatura de pasteurización y acidez final en la estabilidad de calcio y vitamina D en yogur de fresa**

Presentado por:

Luis Fernando Maldonado Mejía

Aprobado:

---

Luis Fernando Osorio, Ph.D.  
Asesor Principal

---

Luis Fernando Osorio, Ph.D.  
Director  
Carrera de Agroindustria Alimentaria

---

Adela Acosta Marchetti, D.C.T.A.  
Asesor

---

Raúl Espinal, Ph.D.  
Decano Académico

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.  
Rector

## RESUMEN

Maldonado, L. 2009. Evaluación de la temperatura de pasteurización y acidez final en la estabilidad de calcio y vitamina D en yogur de fresa. Proyecto de graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 35 p.

La insuficiencia de calcio y vitamina D causan osteoporosis en adultos y raquitismo en niños. Este estudio evaluó el efecto de dos temperaturas de pasteurización (80 y 85°C × 30 min) y dos % de ATECAL final sobre la viscosidad, color, calcio y vitamina D<sub>3</sub> en el yogur de fresa Zamorano. Para ello se implementó el método y validó las curvas estándares para cuantificación de vitamina D<sub>3</sub> por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), basado en el método AOAC 2002.05. El rango de concentración detectable que cubrió la curva de calibración de colecalciferol fue de 2 a 1000 µg/100 g de muestra. El tiempo promedio de elución de la vitamina D<sub>3</sub> fue 12.85 ± 0.093 minutos (%CV=0.07). Se determinó que el yogur de fresa no contiene vitamina D<sub>3</sub> en concentraciones por encima de 2 µg/100 g. Se realizaron pruebas con leche pasteurizada y sin pasteurizar y tampoco se encontró vitamina D<sub>3</sub>. Además, se determinó que la acidez tiene efecto positivo sobre la viscosidad del yogur, ya que a medida aumenta la acidez, aumenta la viscosidad del mismo. La acidez también tiene efecto sobre el color del yogur; la estabilidad de la intensidad es mayor con una acidez alta. Se determinó que cambios leves de temperatura (5°C) no afectan las concentraciones de calcio en el yogur de fresa. La estabilidad del calcio a través del tiempo es influenciada por la acidez, ya que a mayor acidez en el yogur, mayor es la concentración de calcio.

**Palabras clave:** A.O.A.C., ATECAL, colecalciferol, ergocalciferol, HPLC, pH, saponificación.

## CONTENIDO

Portadilla .....	i
Página de Firmas .....	ii
Resumen .....	iii
Contenido .....	iv
Índice De Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>6</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>15</b>
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>24</b>
<b>6. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>25</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>26</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>28</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

### Cuadro

1. BCA con arreglo $2 \times 2$ factorial. ....	14
2. Diseño experimental.....	14
3. Cambios en viscosidad de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C. ....	17
4. Cambios en valor L* de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C. ....	17
5. Cambios en valor a* de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C. ....	18
6. Cambios en valor b* de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C.....	19
7. Cambios en concentración de calcio de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C. ....	21

### Figura

1. Flujo del proceso de elaboración de yogur de fresa en la Escuela Agrícola Panamericana.....	8
2. Cambios en viscosidad del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C. ....	16
3. Cambios en pH del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C. ....	18
4. Cambios en el valor L* del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C.....	18
5. Cambios en el valor a* del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C.. ....	19
6. Cambios en el valor b* del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C. ....	20
7. Cambios en el contenido de calcio del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C. ....	21
8. Cromatograma de la determinación de vitamina D <sub>3</sub> .....	22

### Anexo

1. Diagrama esquemático del efecto de la acidez en las propiedades químicas del calcio en la leche. ....	28
2. Condiciones cromatográficas para determinar y cuantifica vitamina D. ....	28
3. Curva de calibración del Ergocalciferol. ....	29
4. Curva de calibración del Colecalciferol. ....	29

# 1. INTRODUCCIÓN

El yogur es un producto lácteo fermentado por cepas de bacterias de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, las cuales tienen como función añadirle aroma, sabor, textura y acidez; características propias del producto. Durante la fermentación de la leche se desarrolla la acidez, ciertas propiedades y características del producto, las cuales determinan su calidad (Chandan 2006).

El yogur es el más conocido y popular de todos los productos lácteos acidificados en casi todo el mundo. El mayor consumo se da en los países ribereños del Mediterráneo, Asia y Europa Central (Bylund 1996). El aumento del consumo de yogur puede atribuirse a su percepción de ser natural y beneficioso para la salud, su conveniencia, diversidad de sabores y texturas, innovación en empaques y que puede consumirse en cualquier ocasión (Chandan 2006).

El yogur es significativamente más digerible que la leche de la cual es elaborado, con un alto valor nutritivo que provee proteína parcialmente desdoblada en péptidos y aminoácidos, lactosa desdoblada en ácido láctico y además es una excelente fuente de calcio, fósforo, potasio y significativas cantidades de vitaminas (Farnworth 2008).

Durante el procesamiento de la leche, muchos de sus componentes son afectados por las temperaturas que se le aplican. El procesamiento térmico puede afectar el estado de las sales minerales de la leche, particularmente el calcio, fosfato, citrato y magnesio. Estas sales se pueden encontrar en la leche como iones solubles o en la fase coloidal como parte de la compleja micela de la caseína. Calentar la leche a 85°C por 30 min puede cambiar hasta un 16% del calcio soluble en fase coloidal (Tamime y Robinson 2000).

Las vitaminas de la leche se subdividen en dos grupos principales, las llamadas vitaminas liposolubles (A, D, E y K), las cuales se encuentran asociadas con los componentes grasos de la leche y las vitaminas hidrosolubles (Complejo B y C). Las vitaminas liposolubles son moderadamente estables al procesamiento térmico aplicado a la leche, mientras las vitaminas B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y C no son termoestables. Aunque el procesamiento térmico aplicado a la leche que se emplea para elaborar el yogur puede destruir algunas vitaminas y adversariamente afectar las propiedades nutricionales del mismo, la digestibilidad de las proteínas en el tracto intestinal puede mejorar en comparación con las proteínas de la leche entera sin procesar (Tamime y Robinson 2000).

El objetivo general de presente estudio fue determinar el efecto del procesamiento térmico y la acidez en la estabilidad de la vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) y calcio en el yogur batido sabor a fresa producido por la Planta de Lácteos de Zamorano.

## **1.1 ANTECEDENTES**

Actualmente en la Escuela Agrícola Panamericana (E.A.P.) no se ha realizado un estudio con características similares al presente. En un estudio realizado por Ilic y Ashoor (1988) en yogur fortificado, se evaluó la estabilidad de las vitaminas A y C durante el almacenamiento a una temperatura de 3°C por 6 semanas.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo General**

- Determinar el efecto de la temperatura de pasteurización y acidez final sobre la estabilidad del calcio y vitamina D en yogur de fresa.

### **1.1.2 Objetivos Específicos**

- Evaluar la estabilidad del calcio y vitamina D en yogur de fresa almacenado a 4°C durante 30 días.
- Evaluar cambios en color, viscosidad y acidez del yogur de fresa en cada tratamiento almacenado a 4°C durante 30 días.
- Desarrollar el método oficial de la A.O.A.C. (2002.05) para determinar y cuantificar la presencia de vitamina D<sub>3</sub>.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 DEFINICIÓN**

El yogur es un producto lácteo fermentado por cepas de bacterias como *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, las cuales tienen como función añadirle aroma, sabor y acidez, características propias del producto (Chandan 2006). Durante la fermentación de la leche, se convierte parte de la lactosa en ácido láctico; también se producen otras sustancias como dióxido de carbono, ácido acético, diacetilo, acetaldehído y algunas otras que proveen su característico sabor a fresco y aroma (Bylund 1996).

### **2.2 TENDENCIAS DE CONSUMO**

Las dos últimas décadas han sido testigo de un espectacular aumento en el consumo per cápita de yogur en los Estados Unidos, de casi 2.5 a 7.4 libras. El aumento en el consumo de yogur puede atribuirse a la percepción natural del yogur e imagen saludable junto con el suministro al consumidor de conveniencia y sabor. En el año 2003, las ventas de yogur en los Estados Unidos superaron los US \$ 2.7 mil millones. El volumen total de ventas fue de 2,387 millones de libras (Chandan 2006).

Para el año 2008, el volumen total de ventas fue de 3,599, lo cual significa un aumento del 3.5 por ciento sobre los años anteriores (NASS 2009). De 1995 a 2002, como una merienda y almuerzo, el consumo de yogur creció en un 60%. Como desayuno, el consumo del yogur aumentó en un 75% durante el mismo período (Chandan 2006).

### **2.3 COMPOSICIÓN Y ASPECTOS NUTRICIONALES**

Nutricionalmente, el yogur natural tiene una composición similar a la de la leche de la que se hace y así es una excelente fuente de proteínas de alta calidad, calcio, fósforo, magnesio y zinc (Buttriss 1997). Las vitaminas presentes en el yogur se subdividen en dos grupos principales, las llamadas vitaminas liposolubles (A, D, E y K), las cuales se encuentran asociadas con los componentes grasos de la leche y las vitaminas hidrosolubles (Complejo B y C) (Tamime y Robinson 2000). La composición del yogur puede ser modificada por cambios provocados por los microorganismos durante el proceso de fermentación, por síntesis o liberación de los nutrientes o de otras sustancias por las bacterias en el cultivo iniciador, mediante la adición de otros ingredientes durante

la fabricación, por ejemplo, la leche descremada en polvo, frutas o jugo de frutas, y por las condiciones de almacenamiento (Buttriss 1997).

## **2.4 FUNCIONALIDAD DE INGREDIENTES**

### **2.4.1 Proteínas**

Las proteínas de la leche pueden dividirse en dos grupos bien definidos: las caseínas, que representan el 80% de las proteínas en la leche de vaca y que se precipitan en una solución cuando la acidez alcanza un pH de 4.6 (pH isoelectrico) a 30°C. El otro grupo que representa el 20% restante, son las proteínas del suero o proteínas séricas, las cuales se mantienen solubles a un pH de 4.6. Las caseínas son fosfoproteínas y contienen, en promedio, 0.85% de fósforo, mientras tanto, las proteínas del suero no contienen fósforo. Los grupos fosfato son responsables de muchas características importantes de la caseína, en especial de su habilidad de unir grandes cantidades de calcio, relativamente, haciéndola una proteína nutricionalmente valiosa (Fox y McSweeney 1998).

### **2.4.2 Carbohidratos**

La lactosa es el principal carbohidrato presente en la leche. La leche también contiene pequeñas cantidades de otros azúcares como glucosa (50mg/L), fructosa, glucosamina, galactosamina y oligo-sacáridos (Fox y McSweeney 1998). En el yogur natural, la lactosa es el azúcar dominante, pero incluso después de la fermentación puede contener 4-5 g de lactosa por cada 100 g de yogur. La razón de este residuo es que la leche es fortificada con 14-16 g /100g de sólidos totales, así, el contenido de lactosa del producto final es diferente de la leche normal (Tamime y Robinson 2000).

### **2.4.3 Lípidos**

Los lípidos de la leche son una fuente importante de energía y de ácidos grasos esenciales (por ejemplo, ácido linoleico), y de vitaminas liposolubles (A, D, E y K). El sabor y las propiedades reológicas de los productos lácteos dependen del contenido de lípidos. Por su variado rango de ácidos grasos, el sabor de la grasa láctea es superior a otras grasas (Fox y McSweeney 1998). Los ácidos grasos en la leche varían en tamaño (de 2 a 20 átomos de carbono) y en saturación (de 0 a 4 dobles enlaces) (Walstra *et al.* 2006).

### **2.4.4 Vitaminas**

Las vitaminas son compuestos químicos orgánicos requeridos en pequeñas cantidades por el cuerpo humano, pero que no pueden ser sintetizados por el mismo. Las vitaminas son requeridas para el crecimiento y mantenimiento de la salud. La principal clasificación de las vitaminas se basa en su solubilidad con el agua. Las vitaminas hidrosolubles son las

del complejo B (tiamina, riboflavina, niacina, biotina, ácido pantoténico, ácido fólico y piridoxina) y el ácido ascórbico (vitamina C), mientras las vitaminas liposolubles son el retinol (vitamina A), calciferoles (vitamina D), tocoferoles (vitamina E) y filoquinona (vitamina K). Las vitaminas hidrosolubles y la vitamina K actúan como co-enzimas mientras la vitamina A es importante en el proceso de visión, la vitamina D funciona como hormona y la vitamina E es primordialmente un antioxidante (Fox y McSweeney 1998). Todas las vitaminas conocidas se encuentran presentes en la leche. La leche es una buena fuente de la mayoría de las vitaminas, especialmente vitamina A y la mayoría de las vitaminas del complejo B. No es una buena fuente de las vitaminas C y E. El contenido de vitamina D tampoco es tan alto (Walstra *et al.* 2006).

El contenido de vitaminas en el yogur varía con el tipo de leche empleada (particularmente por el contenido graso de la leche, el cual influencia las cantidades de vitaminas liposolubles), con los tipos de bacteria y las condiciones de fermentación. Cuando la leche es procesada, existe cierto efecto en la concentración de las vitaminas hidrosolubles, dichas concentraciones son influenciadas por el calor y la luz (Buttriss 1997). En el yogur, los niveles de las vitaminas es algo reducido; el contenido de ácido fólico puede incrementar. El contenido de vitaminas en los productos fermentados es también afectado por la condiciones de almacenamiento y especialmente por el tratamiento térmico de la leche (Walstra *et al.* 2006).

#### **2.4.5 Minerales**

Los minerales en la leche se encuentran normalmente como sales minerales. La leche contiene sales orgánicas e inorgánicas; el concepto de “sales” no es equivalente “sustancia mineral”. Las sales no son equivalentes a cenizas, ya que las cenizas no incluyen los ácidos orgánicos como citratos y acetatos, ya que el fósforo orgánico y el sulfuro se convierten en sales inorgánicas durante la incineración (Walstra *et al.* 2006). Las principales sales minerales de la leche son los fosfatos, citratos, cloruros, sulfatos, carbonatos, bicarbonatos de sodio, potasio, calcio y magnesio (Fox y McSweeney 1998).

Las micelas de caseína contienen las sales no disueltas, además de los compensadores de su carga negativa (principalmente Ca, Mg, K y Na). Las micelas también contienen el denominado fosfato de calcio coloidal. Las sales disueltas pueden afectar varias propiedades de la leche como por ejemplo, la estabilidad de las proteínas (Walstra *et al.* 2006). El procesamiento térmico puede afectar el estado de las sales minerales de la leche, particularmente el calcio, fosfato, citrato y magnesio. Calentar la leche a 85°C por 30 minutos puede cambiar hasta un 16% del calcio soluble en fase coloidal (Tamime y Robinson 2000). En el yogur, otro factor que puede afectar el estado de las sales minerales es la producción de ácido láctico durante el proceso de fermentación. A medida disminuye el pH debido a la producción de ácido, hay una remoción gradual de calcio y fósforo (unidos a la caseína como fosfato tricalcico) de las partículas de caseína. A un pH de 5.2 - 5.3 las partículas de caseinato se desestabilizan e inicia la precipitación. La precipitación completa ocurre a un pH de 4.6 - 4.7 que representa el punto isoeléctrico de la caseína. En este punto la caseína se encuentra libre de fosfato de calcio y las partículas no tienen carga para mantenerlas repelidas unas de otras lo cual conlleva a su precipitación (Chandan 2006).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 LOCALIZACIÓN**

La elaboración del yogur de fresa para todas las unidades experimentales se realizó en la Planta de Industrias Lácteas de la Escuela Agrícola Panamericana, “El Zamorano”, ubicada en el departamento de Francisco Morazán a 30 Km. de Tegucigalpa, Honduras. Los análisis físico-químicos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ). Los análisis de acidez titulable expresada como ácido láctico (ATECAL) se realizaron en el laboratorio de la planta de lácteos Zamorano.

#### **3.2 MATERIALES Y EQUIPO**

##### **3.2.1 Ingredientes para la elaboración de yogur de fresa**

Para 200 Kg. de yogur:

- 160 Kg. de leche de vaca pasteurizada y estandarizada al 2.5% de grasa
- 15 Kg. de azúcar
- 10.8 Kg de leche descremada en polvo
- Cultivo láctico; *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*; (YC -180, Chr. Hansen,®)
- 0.1 Kg. de estabilizador para yogur
- 0.1 Kg. de sorbato de potasio
- 7 Kg. de pulpa de fresa (Natural Strawberry by Sensient)
- 125 ml. de colorante rojo (Cosco 8816)
- 250 ml. de saborizante artificial

##### **3.2.2 Maquinaria y equipo utilizado para elaboración de las muestras**

- Pasteurizador por tandas de 200 litros de capacidad
- Mezclador de sólidos
- Homogeneizador
- Enfriador de placas
- Yogos de aluminio
- Tina de baño maría
- Balanza analítica
- Termómetro > 49°C

- Envases para yogur de 190 g. de capacidad
- Cuarto Frío (4°C)

### **3.3 METODOLOGÍA**

#### **3.3.1 Manufactura del yogur de fresa**

Cuatro tratamientos diferentes fueron aplicados a las muestras de yogur de fresa, variando las temperaturas de pasteurización (80 y 85°C por 30 minutos) y la acidez inicial (0.9 y 1.1% ATECAL) de la misma. El proceso de elaboración de los tratamientos se detalla en la figura 1.

##### **3.3.1.1 Preparación del cultivo láctico**

Se preparó 1 litro de cultivo láctico un día antes de la elaboración de la mezcla para yogur. Primero se tomó 1 litro de leche descremada a 0.05 % de grasa y se colocó en un Erlenmeyer de 1000 ml, luego se tapó con papel aluminio y se esterilizó en el autoclave durante 15 minutos a una temperatura de 121°C y una presión de 0.5 kg/cm<sup>2</sup>. Después se sacó del autoclave, se dejó enfriar a 45°C y se le agregó en forma aséptica 1 g de cultivo láctico, mezclando hasta disolver completamente el cultivo. Posteriormente se incubó a una temperatura de 32°C durante 2 horas y se refrigeró a una temperatura de 7°C.

##### **3.3.1.2 Estandarización de la leche**

Se estandarizaron 200 litros de leche a 2.5% de grasa, para ello se empleó leche entera con 3.8% de grasa y leche descremada con 0.05% de grasa. A la cantidad total de leche se le restó la cantidad de sólidos no grasos (SNG) a incorporarse para obtener la cantidad de leche total a utilizar en la producción de yogur.

##### **3.3.1.3 Pasteurización y homogeneización**

La leche anteriormente estandarizada se colocó en el pasteurizador por tandas y se calentó a 32°C. Luego se agregó la mezcla de sólidos no grasos (SNG) con el objetivo de aumentar los sólidos totales de la leche y con el fin de mejorar características de consistencia y viscosidad. Los SNG agregados fueron el azúcar, leche descremada en polvo y estabilizador para yogur a través del equipo mezclador de ingredientes sólidos, luego de mezclados estos ingredientes en la leche, se procedió a pasteurizar la mezcla a 80 y 85°C respectivamente durante 30 minutos. Al finalizar la pasteurización, inmediatamente se homogeneizó la mezcla a una presión de 140 kg/cm<sup>2</sup> y se enfrió a 45°C.

### 3.3.1.4 Adición del cultivo e incubación

Se agregó en forma aséptica 2% de cultivo para yogur y se incubó a 43°C. Para lograr la acidez de 0.9% ATECAL. Se incubó la mezcla hasta alcanzar una acidez inicial de 0.35% ATECAL, luego se almacenó en un cuarto frío con una temperatura de 8°C durante 90 minutos y luego se pasó a otro cuarto frío a 4°C durante 24 horas, periodo de maduración. La acidez de 1.1% ATECAL se logró incubando la mezcla hasta alcanzar una acidez inicial de 0.36% ATECAL, luego se almacenó en un cuarto frío con una temperatura de 8°C durante 24 horas.

### 3.3.1.5 Adición sorbato de potasio y fruta

Al yogur madurado se le agregó 0.52% de sorbato de potasio, para ello, se disolvió con agua destilada completamente. Además, se le añadió el colorante, saborizante y puré de fruta. El yogur fue almacenado en envases de 190 g. de capacidad.

## 3.4 PROCESO DE ELABORACIÓN DE YOGUR DE FRESA

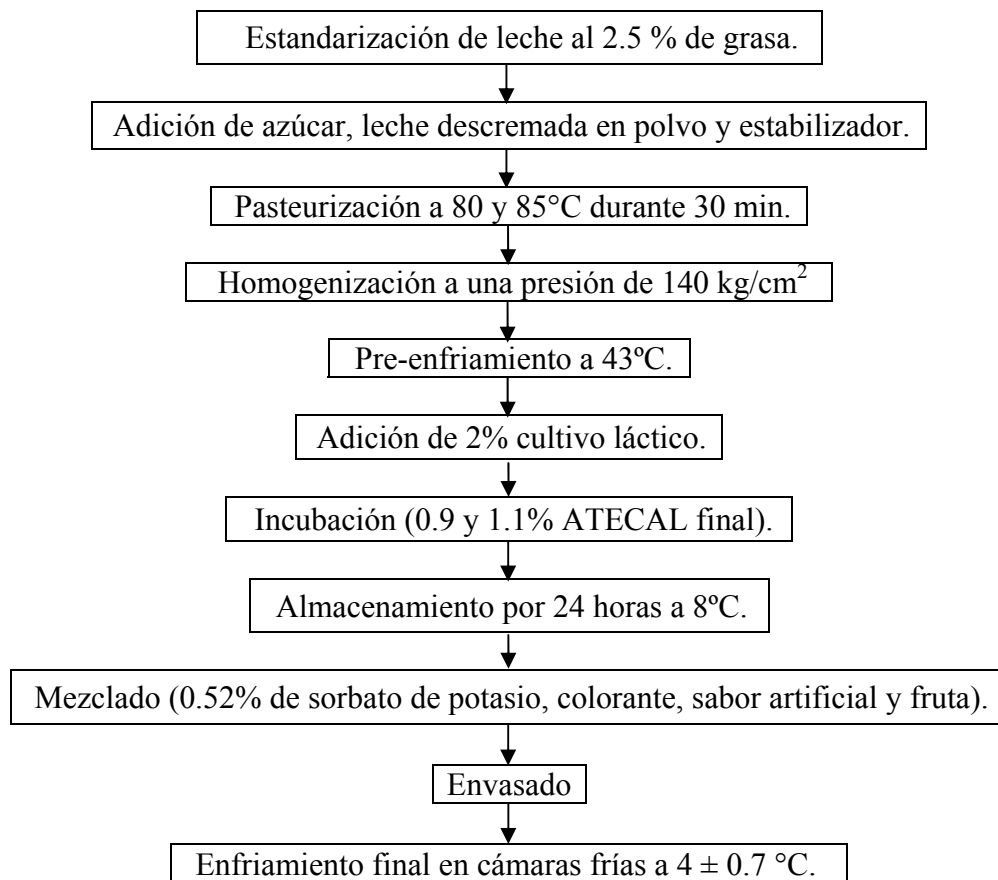


Figura 1. Flujo del proceso de elaboración de yogur de fresa en la Escuela Agrícola Panamericana.

### **3.5 MEDICIONES DURANTE EL PROCESO**

#### **3.5.1 Temperatura**

Las temperaturas de pasteurización (80 y 85°C) e incubación (43°C) fueron monitoreadas cada 15 minutos durante los procesos con termómetro láser.

#### **3.5.2 Tiempo**

Se registró la hora de inicio y de finalización de la pasteurización para asegurar que se cumplieran los 30 minutos requeridos. Igualmente se registró la hora de inicio y finalización de la incubación y maduración.

#### **3.5.3 Acidez Titulable (AOAC, 947.05)**

La acidez de la mezcla de yogur se midió cada 30 minutos durante la incubación hasta alcanzar una ATECAL de 0.35-0.36%. Se hizo la medición siguiendo el procedimiento de medición de acidez titulable descrito por Revilla (1995). El procedimiento se detalla a continuación:

##### **3.5.3.1 Materiales**

- Mezcla para yogur
- Fenolftaleína
- Hidróxido de Sodio (NaOH) al 0.1 N

##### **3.5.3.2 Equipos**

- Taza de color blanco
- Pipeta de 10 ml
- Bulbo

##### **3.5.3.3 Procedimiento**

- Poner 9 ml. de muestra en la taza blanca
- Añadir tres gotas de fenolftaleína
- Titular con solución de 0.1 N de hidróxido de sodio (NaOH)
- El volumen de NaOH indicado en el titulador es la acidez titulable de la muestra
- Cuando se está añadiendo la solución alcalina se debe agitar constantemente. La adición de NaOH debe ser poco a poco para evitar que pase inadvertido el primer

cambio de color y se obtenga un rosado muy intenso, en este caso hay que repetir la prueba

### **3.6 ANÁLISIS FÍSICOS**

Color y viscosidad fueron evaluados en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ), haciendo uso del Colorflex Hunter L\*a\*b\* ® y Brookfield modelo RVPV II +, respectivamente.

#### **3.6.1 Análisis de viscosidad**

Los análisis de viscosidad se efectuaron al día 0, 15 y 30 respectivamente después de la elaboración de cada tratamiento y se emplearon los vasos de yogur de 190g. Para medir la viscosidad se empleó el viscosímetro de Brookfield modelo RVDV- II+, el cual aplica cizalla mediante la rotación de un acople de geometría definida, midiendo la torsión necesaria para hacer girar el acople a las rpm (revoluciones por minuto) especificadas (BYK 2009).

#### **3.6.2 Análisis de color**

Se midieron los valores de L\*, a\*, b\* por medio del colorímetro Colorflex Hunter Lab ®, que describe los colores de acuerdo a su posición en un eje de tres coordenadas, tercera dimensión; donde el valor L es la claridad y el brillo, es una medida de cuan blanco o negro es el producto, en una en una escala de 0-100. El valor de a\* mide el espectro visible del rojo al verde, siendo a (+) rojo y a (-) verde. El valor de b\* indica los colores amarillo y azul, siendo b (-) azul y b (+) amarillo, tanto a\* como b\* utilizan una escala de -60 a 60 (Technical Resources 2005).

### **3.7 ANÁLISIS QUÍMICOS**

#### **3.7.1 Calcio**

El análisis de calcio se realizó de acuerdo al método oficial de la AOAC 968.08, a través de absorción atómica, como se detalla a continuación:

##### **3.7.1.1 Materiales**

- Yogur de fresa
- Ácido Clorhídrico (HCl) a 12N
- Agua destilada

- Filtros WHATMAN 42
- Solución de Lantano

### 3.7.1.2 Equipo

- Crisoles
- Balones para aforar de 100 ml
- Balanza analítica
- Mufla de 580°C
- Hornilla eléctrica
- Tubos de ensayo
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA)

### 3.7.1.3 Procedimiento

- Pesar 1 g de yogur en un crisol de limpio
- Colocar el crisol en la mufla a 580°C durante 4 horas
- Dejar enfriar y luego agregar 1.5 ml. de HCl a 12N
- Evaporar lentamente el HCl, pero no completamente
- Diluir la mezcla con agua destilada hasta 100 ml y filtrarla
- Diluir 1 ml de la mezcla en 10 ml de solución de Lantano
- Determinar la cantidad de calcio con el EAA

## 3.7.2 Vitamina D<sub>3</sub> – Colecalciferol

El análisis de vitamina D<sub>3</sub> (Colecalciferol) se realizó mediante el método oficial de la AOAC 2002.05, haciendo uso del HPLC, el cual se detalla a continuación:

### 3.7.2.1 Reactivos

- **Solventes:** metanol (Fisher Scientific), etanol (99.9%, Merck), Ciclohexano grado HPLC (95%, Fisher Scientific) y n-heptano grado HPLC (99.9%, Fisher Scientific), metil-*tert*-butil éter (MTBE) (Fisher Scientific), Isopropanol (Fisher Scientific) y acetonitrilo (Fisher Scientific)
- Agua destilada
- Estándar Colecalciferol, vitamina D<sub>3</sub> (Sigma Aldrich)
- Hidróxido de potasio (Sigma Aldrich), 50%: disolver 500 g de KOH en 500 ml de agua destilada
- Hidróxido de potasio 1M: disolver 56g de KOH en 1 litro de agua destilada.
- L-ácido ascórbico, vitamina C (Sigma Aldrich)
- Fenolftaleína (Sigma Aldrich), 1%: disolver 1 g de fenolftaleína en 100 ml de etanol

- BHT – 2,6- Di-*tert*-butil-4-metilfenol (Sigma Aldrich)
- **Fase móvil 1:** 0.5% isopropanol y 2% MTBE en Ciclohexano-n-heptano. Mezclar 5ml de isopropanol y 20 ml de MTBE con 1 litro de ciclohexano-n-heptano (50:50)
- **Fase móvil 2:** Isopropanol-n-heptano (20:80). Diluir 200 ml de Isopropanol a un litro con n-heptano
- **Fase móvil 3:** metanol-acetonitrilo (20:80). Diluir 200 ml de metanol a un litro con acetonitrilo

### 3.7.2.2 Equipo

- Beakers de 300ml
- Erlenmeyer de 300ml
- Balones de vidrio de 250ml
- Pipetas de 1, 5 y 10 ml
- Hornillas con agitador magnético
- Reflux condensador
- Jeringas de 3ml
- Filtros 0.45 $\mu$ m
- Decantador de 250ml
- Viales Agilent de 1.5ml
- Rotavapor BUSHI R-3000
- Columna ZORBAX ODS-C18 (250 mm x 4.6 mm x 5 $\mu$ m) con precolumna C<sub>18</sub>
- High Performance Liquid Chromatography (HPLC) con auto-muestreador, marca (AGILENT serie 1100)
  - Desgasificador G1379A JP40724067
  - Bomba cuaternaria G1311A DE43633284
  - Detector de arreglo de diodo G1315B DE43626255

### 3.7.2.3 Saponificación

- Pesar  $50 \pm 0.01$ g de yogur en un Erlenmeyer de 300 ml, agregar 0.5 g de ácido ascórbico, 100 ml de etanol, 2.0 ml de solución estándar (0.8 $\mu$ g/ml) de vitamina D<sub>2</sub> (Ergocalciferol) y 25 ml de hidróxido de potasio a 50%
- Colocar el Erlenmeyer en un reflux condensador y sumergirlo en agua a 95°C durante 30 minutos
- Remover el Erlenmeyer del baño con agua a 95°C, agregar 25 ml de agua destilada y dejar enfriar a temperatura ambiente

### 3.7.2.4 Extracción

- Transferir el hidrolizado a un decantador de 250 ml con 50 ml de de etanol al 40%, agregar 50 ml de n-heptano y mezclar el decantador durante 1 minuto

vigorosamente. Dejar que se separen las fases, y transferir la fase de n-heptano a otro decantador de 250 ml. Repetir el procedimiento de extracción 2 veces a la misma muestra y combinar las fases de heptano extraídas

- Lavar las fases combinadas de heptano una vez con 50 ml de 1M hidróxido de potasio, dos veces con 50 ml de etanol a 40% y finalmente con porciones de agua de 50 ml
- Verificar la alcalinidad de la fase acuosa con solución de fenolftaleína al 1%, la fase acuosa no debe presentar ningún cambio en color
- Transferir la fase de heptano a un balón de vidrio de 250 ml. Agregar 0.1 g de BHT, 15 ml de etanol, y evaporar estos solventes en el rotavapor a 45°C. Detener una vez la fase se encuentre seca y disolver el residuo con 2 ml de Ciclohexano-n-heptano (50:50)
- Transferir el extracto a un vial Agilent de 1.5 ml

**Nota.** El rotavapor no logró evaporar el heptano a menos de 45°C como lo recomienda la metodología. Esto se debió a escapes del vacío y poca potencia de la bomba.

### 3.7.2.5 Condiciones del HPLC para determinación y cuantificación

- Utilizar la fase móvil 3 para análisis cuantitativo y equilibrar el sistema
- Flujo: 1.3ml/min
- Volumen de inyección: 100  $\mu$ l
- Detección U.V.: 265 nm
- Tiempo de retención: 12.85 min

### 3.7.2.6 Cálculos

Para calcular el contenido de vitamina D<sub>3</sub> (Cs) en el producto, se debe realizar empleando la siguiente ecuación:

$$C_s, \mu\text{g}/100 \text{ g} = \frac{AD_3 \times mD_2 \times 100}{AD_2 \times ms \times F} \quad [1]$$

Donde:

AD<sub>3</sub>= área bajo la curva de vitamina D<sub>3</sub>; AD<sub>2</sub>= área bajo la curva de vitamina D<sub>2</sub>; mD<sub>2</sub>= peso de vitamina D<sub>2</sub> agregada a la muestra ( $\mu$ g); ms= peso de la muestra (g); F= factor de respuesta (D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub>) a 265 nm. El factor *F* se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$F = (\text{área bajo la curva } D_3 / \text{área bajo la curva } D_2) \times (cD_2 / cD_3) \quad [2]$$

Donde:

cD<sub>2</sub>= concentración de vitamina D<sub>2</sub> en la solución estándar y cD<sub>3</sub>= concentración de vitamina D<sub>3</sub> en la solución estándar.

### 3.8 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental usado fue de Bloques Completos al Azar (BCA), con un arreglo de tratamientos de  $2 \times 2$  factorial y medidas repetidas en el tiempo (Cuadro 1), donde cada repetición constituyó un bloque y cada una de las combinaciones de temperatura (80 y 85°C) y acidez (0.9 y 1.1% ATECAL) en el procedimiento, un tratamiento diferente (Cuadro 2).

Las muestras de este experimento se analizaron de la siguiente manera:

- Medición al día cero (día de elaboración)
- Medición al día quince
- Medición al día 30 después de su elaboración

Cuadro 1. BCA\* con arreglo  $2 \times 2$  factorial.

TRATAMIENTO TÉRMICO	ATECAL	
	0.9%	1.1%
85°C × 30min	TRT 1	TRT 2
80°C × 30min	TRT 3	TRT 4

\* BCA: Bloques Completos al Azar.

Cuadro 2. Diseño experimental

BLK	TRT 1	TRT 2	TRT 3	TRT 4
	85°C × 30min, 0.9 ATECAL	85°C × 30min, 1.1 ATECAL	80°C × 30min, 1.1 ATECAL	80°C × 30min, 0.9ATECAL
1	R1	R1	R1	R1
2	R2	R2	R2	R2
3	R3	R3	R3	R3

Las muestras se analizaron haciendo uso del Software “Statistical Analysis System” (SAS®) v. 9.1. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANDEVA) con una separación de medias a través de la prueba TUKEY y un nivel de significancia de  $P < 0.05$ . Las variables evaluadas fueron: color, acidez, viscosidad, miligramos (mg) de calcio en 100 g de yogur y microgramos ( $\mu\text{g}$ ) de colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>) en 100 g de yogur.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1 ESTUDIOS PRELIMINARES**

Se realizaron diferentes pruebas con el fin de determinar cual era la temperatura y acidez con la cual se debía almacenar el yogur después del proceso de incubación y así obtener la acidez deseada (0.9 y 1.1 % ATECAL). Se determinó que para obtener una acidez de 0.9% ATECAL, la mezcla debe alcanzar una acidez inicial de 0.35% ATECAL durante el proceso de incubación y ser almacenada en un cuarto frío con una temperatura de 8°C durante 90 minutos y luego dejar madurar en otro cuarto frío a una temperatura de 4°C durante 24 horas. Para obtener una acidez final de 1.1% ATECAL, se debe lograr una acidez de 0.36% ATECAL durante el proceso de incubación y almacenar la mezcla en un cuarto frío con una temperatura de 8°C durante 24 horas.

### **4.2 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO**

#### **4.2.1 Viscosidad**

Los tratamientos con 1.1% ATECAL mostraron mayor viscosidad al día cero comparados con los tratamientos de 0.9% ATECAL ( $P < 0.0001$ ). Sin embargo, la viscosidad de los tratamientos con 0.9% ATECAL inicial presentó un incremento significativo al día 15 y 30 respectivamente, alcanzando niveles similares al de los tratamientos con 1.1% ATECAL (Cuadro 3 y figura 2). Dichos incrementos en viscosidad están relacionados inversamente con el pH, ya que a medida disminuye el pH, incrementa la viscosidad del yogur.

Las propiedades reológicas del yogur batido están influenciadas por los valores de pH presentes en la matriz; de manera que si disminuye en pH, la viscosidad del yogur incrementa (Renan *et al.* 2009). En la figura 3 se pueden observar los cambios en pH que presentaron los tratamientos a través del tiempo.

Cuadro 3. Cambios en viscosidad de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C.

Tratamiento	Día 0	Día 15	Día 30
	Pa.s* + D.E.&	Pa.s* + D.E.&	Pa.s* + D.E.&
<b>85°C × 0.9 ATECAL</b>	1.39 ± 0.05 <sup>b(y)</sup>	2.18 ± 0.003 <sup>b(x)</sup>	2.22 ± 0.005 <sup>ab(x)</sup>
<b>85°C × 1.1 ATECAL</b>	2.05 ± 0.13 <sup>a(x)</sup>	2.12 ± 0.03 <sup>c(x)</sup>	2.13 ± 0.004 <sup>ab(x)</sup>
<b>80°C × 0.9 ATECAL</b>	1.43 ± 0.04 <sup>b(y)</sup>	2.05 ± 0.009 <sup>d(x)</sup>	2.07 ± 0.007 <sup>b(x)</sup>
<b>80°C × 1.1 ATECAL</b>	2.12 ± 0.03 <sup>a(x)</sup>	2.43 ± 0.01 <sup>a(x)</sup>	2.59 ± 0.34 <sup>a(x)</sup>

\* a-d: Medidas entre columnas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes (P<0.05).

\* x-y: Medidas entre filas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes (P<0.05).

& D.E.: Desviación estándar.

Los tratamientos con mayor pH inicial (0.9% ATECAL) presentaron una disminución mayor, en proporción, de la acidez durante los 30 días de almacenamiento a 4°C, comparados con los tratamientos de menor pH inicial (1.1 ATECAL). Esto indica que a mayor es el pH inicial del yogur, mayor será la disminución de éste a través de un periodo de 28 días almacenado a 4°C (Renan *et al.* 2009).

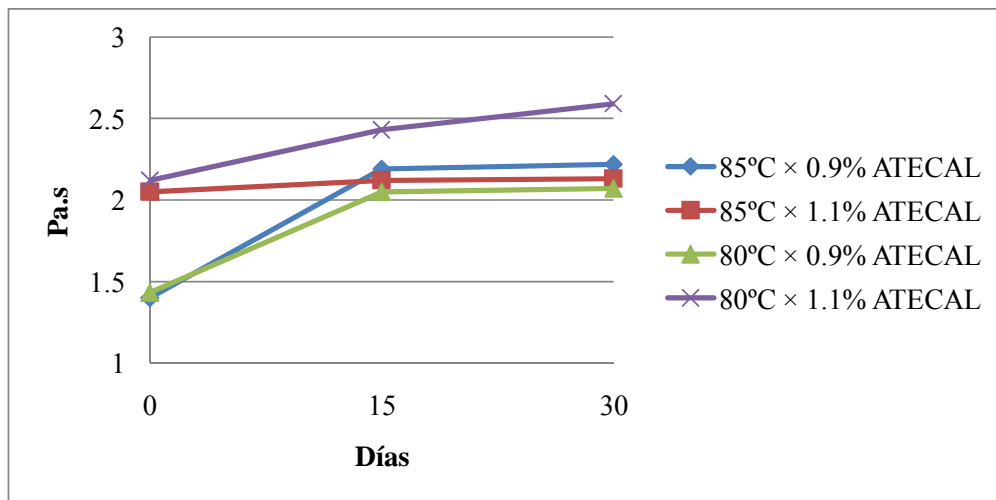


Figura 2. Cambios en viscosidad del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C.

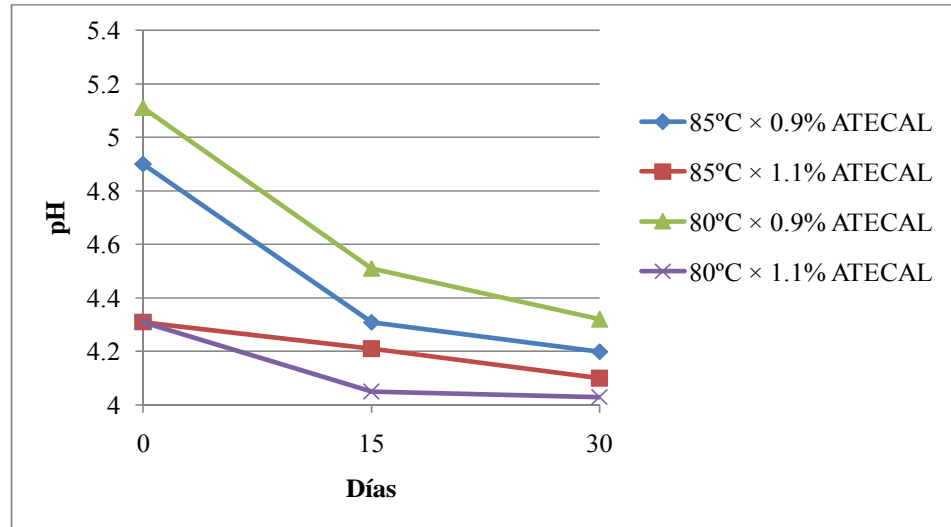


Figura 3. Cambios en pH del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C.

## 4.2.2 Color

### 4.2.2.1 Valor L\*

Los resultados del análisis del color muestran que el valor L\* en todos los tratamientos presentó un incremento durante los 30 días de almacenamiento (cuadro 3 y figura 4), lo cual indica que hubo pérdida de luminosidad del color rosado ( $P < 0.0001$ ). Las diferencias de los resultados en el día cero se pueden deber a las cantidades de colorante empleadas al momento de la preparación de cada uno de los tratamientos.

Cuadro 4. Cambios en valor L\* de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C.

Tratamiento	Día 0	Día 15	Día 30
	L* + D.E. &	L* + D.E. &	L* + D.E. &
<b>85°C × 0.9 ATECAL</b>	68.98 ± 0.01 <sup>c(z)</sup>	72.95 ± 0.26 <sup>a(y)</sup>	77.88 ± 0.05 <sup>b(x)</sup>
<b>85°C × 1.1 ATECAL</b>	68.33 ± 0.14 <sup>d(z)</sup>	71.48 ± 0.07 <sup>c(y)</sup>	74.97 ± 0.03 <sup>c(x)</sup>
<b>80°C × 0.9 ATECAL</b>	70.19 ± 0.01 <sup>b(z)</sup>	73.22 ± 0.03 <sup>a(y)</sup>	79.16 ± 0.02 <sup>a(x)</sup>
<b>80°C × 1.1 ATECAL</b>	71.26 ± 0.01 <sup>a(z)</sup>	71.87 ± 0.08 <sup>b(y)</sup>	74.96 ± 0.04 <sup>c(x)</sup>

\* a-d: Medidas entre columnas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

\* x-z: Medidas entre filas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

& D.E.: Desviación estándar.

En este caso, el tratamiento térmico no tiene influencia en los cambios de luminosidad de los tratamientos a través del tiempo, ya que el colorante se agrega después de dicho proceso. Los tratamientos con 0.9% ATECAL inicial mostraron una mayor pérdida de luminosidad a través del tiempo en comparación con los tratamientos de 1.1% ATECAL inicial (cuadro 3 y figura 4). Esto indica que la acidez inicial y los cambios de la misma

durante los 30 días de almacenamiento a 4°C, tienen influencia sobre la pérdida de luminosidad del color rosado del yogur de fresa.

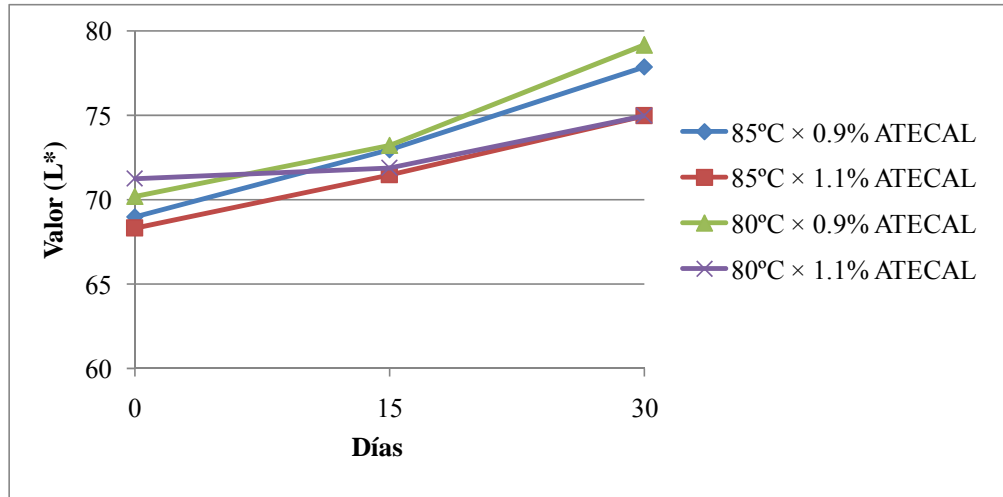


Figura 4. Cambios en el valor L\* del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C.

#### 4.2.2.2 Valor a\*

Los resultados del análisis del color para el valor a\* muestran que todos los tratamientos presentaron una disminución del color rosado durante los 30 días de almacenamiento (cuadro 4 y figura 5). El tratamiento de 80°C × 1.1% ATECAL presentó el color rosado más intenso y el tratamiento de 85°C × 1.1% ATECAL presentó el color rosado más tenue en el día cero; dichos resultados tienen la misma tendencia que el valor L\* en el día cero, y esto se debe a las cantidades de colorante empleadas al momento de la preparación de cada uno de los tratamientos. La acidez inicial de los 4 tratamientos y su cambio durante los 30 días de almacenamiento tuvo influencia sobre los cambios en el color rosado del yogur de fresa. Al momento de agregarle el colorante al yogur, resultaba más difícil homogeneizarlo en los tratamientos con 1.1% ATECAL, por consiguiente con mayor viscosidad; esto debido a la estructura de la matriz.

Cuadro 5. Cambios en valor a\* de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C.

Tratamiento	Día 0	Día 15	Día 30
	a* + D.E. &	a* + D.E. &	a* + D.E. &
<b>85°C × 0.9 ATECAL</b>	31.69 ± 0.13 <sup>b(x)</sup>	28.71 ± 0.38 <sup>a(y)</sup>	28.54 ± 0.09 <sup>b(y)</sup>
<b>85°C × 1.1 ATECAL</b>	29.80 ± 0.09 <sup>d(x)</sup>	26.87 ± 0.11 <sup>c(y)</sup>	25.14 ± 0.16 <sup>d(z)</sup>
<b>80°C × 0.9 ATECAL</b>	30.02 ± 0.05 <sup>c(x)</sup>	27.94 ± 0.04 <sup>b(y)</sup>	26.93 ± 0.04 <sup>c(z)</sup>
<b>80°C × 1.1 ATECAL</b>	32.14 ± 0.03 <sup>a(x)</sup>	28.31 ± 0.14 <sup>ab(z)</sup>	30.14 ± 0.04 <sup>a(y)</sup>

\* a-d: Medidas entre columnas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes (P<0.05).

\* x-y: Medidas entre filas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes (P<0.05).

& D.E.: Desviación estándar.

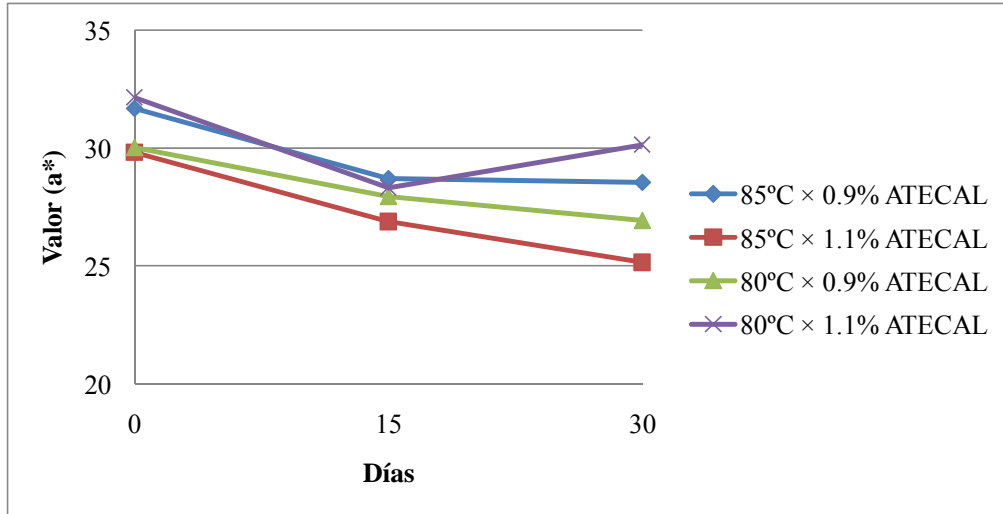


Figura 5. Cambios en el valor a\* del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C.

#### 4.2.2.3 Valor b\*

Los resultados del análisis del color para el valor b\* muestran que todos los tratamientos presentaron una disminución del color amarillo hacia el color azul ( $P < 0.001$ ), principalmente los tratamientos de 85°C × 0.9% ATECAL y 80°C × 0.9% ATECAL, respectivamente. El tratamiento de 85°C × 1.1% ATECAL presentó la intensidad de amarillo más alta en el día cero (cuadro 5 y figura 6). La acidez inicial de los 4 tratamientos y su cambio durante los 30 días de almacenamiento tuvo influencia sobre los cambios en el valor b\* del color del yogur de fresa.

Cuadro 6. Cambios en valor b\* de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C.

Tratamiento	Día 0	Día 15	Día 30
	b* + D.E. &	b* + D.E. &	b* + D.E. &
85°C × 0.9 ATECAL	0.74 ± 0.03 <sup>b(x)</sup>	0.44 ± 0.18 <sup>gbc(y)</sup>	- 0.57 ± 0.12 <sup>c(y)</sup>
85°C × 1.1 ATECAL	1.45 ± 0.005 <sup>a(x)</sup>	1.19 ± 0.12 <sup>a(y)</sup>	0.54 ± 0.05 <sup>a(z)</sup>
80°C × 0.9 ATECAL	0.51 ± 0.005 <sup>c(x)</sup>	0.22 ± 0.02 <sup>c(y)</sup>	- 0.35 ± 0.005 <sup>b(z)</sup>
80°C × 1.1 ATECAL	1.42 ± 0.03 <sup>a(x)</sup>	0.75 ± 0.13 <sup>b(y)</sup>	0.61 ± 0.05 <sup>a(y)</sup>

\* a-c: Medidas entre columnas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

\* x-z: Medidas entre filas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

& D.E.: Desviación estándar.

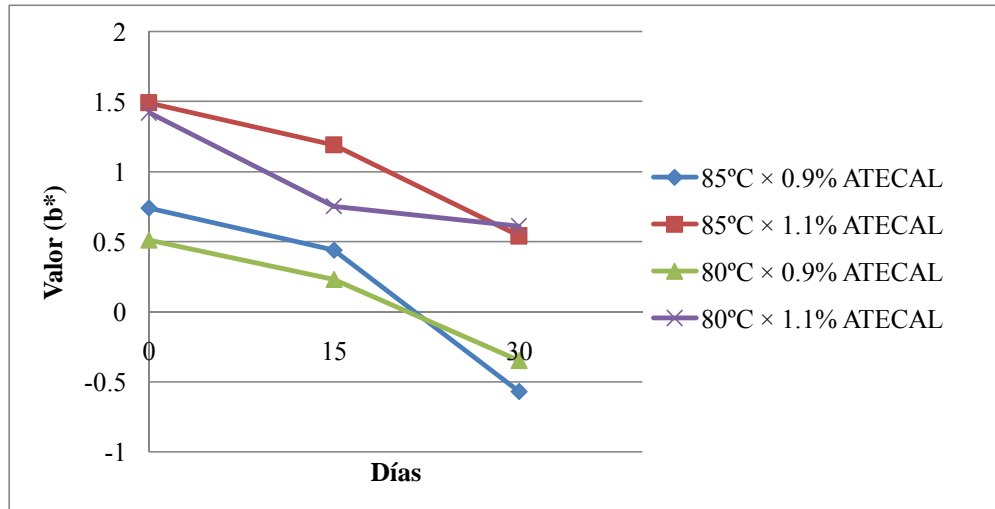


Figura 6. Cambios en el valor  $b^*$  del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C.

### 4.2.3 Calcio

El análisis de calcio se realizó de acuerdo al método oficial de la AOAC 968.08. Se determinó que los cambios en la temperatura de pasteurización afectan la concentración de calcio en los tratamientos evaluados, ya que a una temperatura de pasteurización de 80°C, las concentraciones de calcio son mayores que a una temperatura de 85°C. Los tratamientos con mayor acidez inicial, 85°C × 1.1% ATECAL y 80°C × 1.1% ATECAL, presentaron la mayor concentración de calcio al día cero ( $P < 0.0001$ ), esto debido a la forma química en que se encuentra el calcio a alta acidez [ $\text{Ca}^{2+}$ ]. Los tratamientos con menor acidez 85°C × 0.9% ATECAL y 80°C × 0.9%, en cambio, presentaron concentraciones menores en el día cero; dichas concentraciones incrementaron levemente a medida la acidez aumentó (cuadro 6 y figura 7). Los cambios de acidez en la matriz del yogur afectan la estabilidad de las sales minerales (Anexo 1), en este caso, el citrato de calcio en estado coloidal pasa a estado libre [ $\text{Ca}^{2+}$ ] a medida incrementa la acidez (Walstra *et al.* 2006). La temperatura empleada usualmente para la obtención de cenizas puede volatilizar ciertos óxidos de elementos presentes en alimentos; mientras iones orgánicos como el citrato, se pierden durante la incineración (Fox y McSweeney 1998).

El calcio y magnesio, fosfatos y citratos se encuentran parcialmente en solución y en suspensión coloidal, dependiendo del pH de la leche. Aproximadamente 20-30% del Ca y Mg se encuentran como iones libres y el restante como sales de citratos o fosfatos. A medida el pH de la leche disminuye durante la fermentación del yogur, la forma coloidal es convertida progresivamente a forma iónica o libre. A un pH de 4.4 la mayoría de los minerales se encuentran en forma iónica y libre (Chandan 2006).

Cuadro 7. Cambios en concentración de calcio de los tratamientos almacenados 30 días a 4°C.

Tratamiento	Día 0	Día 30
	mg Ca/100g $\pm$ D.E. &	mg Ca/100g $\pm$ D.E. &
85°C $\times$ 0.9 ATECAL	145.52 $\pm$ 3.86 <sup>c(x)</sup>	154.41 $\pm$ 4.72 <sup>b(x)</sup>
85°C $\times$ 1.1 ATECAL	197.42 $\pm$ 6.60 <sup>a(x)</sup>	194.73 $\pm$ 5.15 <sup>a(x)</sup>
80°C $\times$ 0.9 ATECAL	141.44 $\pm$ 1.75 <sup>c(y)</sup>	155.01 $\pm$ 4.65 <sup>b(x)</sup>
80°C $\times$ 1.1 ATECAL	185.92 $\pm$ 2.22 <sup>b(x)</sup>	186.83 $\pm$ 5.75 <sup>a(x)</sup>

\* a-c: Medidas entre columnas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes (P<0.05).

\* x-y: Medidas entre filas seguidas de diferente letra son significativamente diferentes (P<0.05).

& D.E.: Desviación estándar.

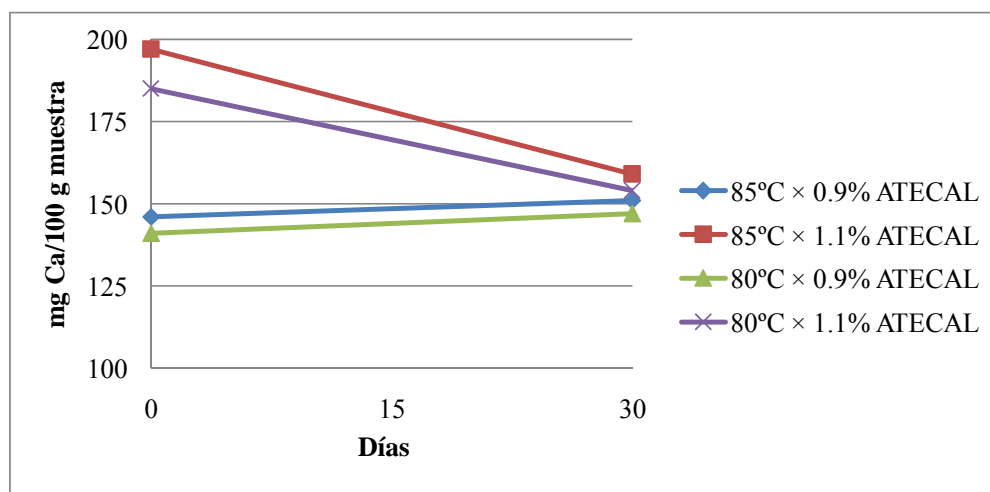


Figura 7. Cambios en el contenido de calcio del yogur de fresa almacenado 30 días a 4°C.

#### 4.2.4 Vitamina D<sub>3</sub>

Los resultados del análisis de la vitamina D<sub>3</sub> muestran que no existe la presencia de dicha vitamina en ninguno de los tratamientos evaluados, ya que los cromatogramas sólo mostraron la presencia del estándar interno (vitamina D<sub>2</sub>) agregado antes del proceso de extracción (figura 8).



### **4.3.2 Temperatura – Concentración de calcio**

Se encontró una correlación negativa de  $-0.75231$  entre la temperatura de pasteurización (80 y 85°C) y las concentraciones de calcio en el yogur de fresa; esto significa que al aumentar la temperatura de pasteurización, las concentraciones de calcio se afectan a manera que disminuyen. Esta correlación se pudo observar desde el inicio del estudio, cuando se realizó la diferenciación por temperatura de los tratamientos.

### **4.3.3 Acidez – Color**

Existe una correlación negativa alta de  $-0.72155$  entre la acidez del yogur y el valor  $L^*$  del color, lo cual indica que a medida disminuye la acidez, el valor  $L^*$  aumenta; desarrollando así una pérdida de la intensidad del color. Se encontró una correlación de  $0.53262$  entre la acidez del yogur y el valor  $a^*$  del color, esto indica que la acidez tiene cierta influencia sobre el cambio de color rosado del yogur de fresa.

## 5. CONCLUSIONES

- Se desarrolló el método oficial de la AOAC 2002.05 para poder determinar y cuantificar la presencia de vitamina D<sub>3</sub> (Colecalciferol), en un rango de concentración de 2 a 1000 µg/100 g de muestra.
- La acidez del yogur influyó las propiedades reológicas del mismo, ya que a medida aumenta el acidez, aumenta la viscosidad del yogur.
- El acidez del yogur, asimismo, influyó la intensidad del color, ya que entre mayor es la acidez, menor es el impacto en la pérdida de la intensidad del color durante 30 días almacenado a 4°C.
- No se encontró la presencia de vitamina D en el yogur de fresa Zamorano, esto debido a que las concentraciones de la misma son muy bajas en productos lácteos no fortificados.
- El acidez del yogur influyó la estabilidad del calcio, ya que entre mayor es la acidez, mayor es la concentración de calcio en el yogur de fresa almacenado durante 30 días almacenado a 4°C.

## **6. RECOMENDACIONES**

- Realizar análisis de vitaminas liposolubles a productos lácteos con alto contenido graso.
- Desarrollar en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ) un método con el cual se pueda determinar y cuantificar la presencia de vitaminas liposolubles de manera simultánea.
- Enfocar estudios en las características químicas de los diversos productos lácteos que se producen en la Planta de Industrias Lácteas de la Escuela Agrícola Panamericana.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Buttriss, J .1997. Nutritional properties of fermented milk products. International Journal of Dairy Technology, Volume 50, Issue 1, p 21-27.

BYK. 2009. Brookfield Rotational Viscometers (en línea). Consultado 18 de Agosto de 2009. Disponible en: [http://www.byk.com/instruments/products/259\\_1\\_US.php](http://www.byk.com/instruments/products/259_1_US.php)

Bylund, G. 1996. Manual de Industrias Lácteas. Trad. A. López. Madrid, España. Ediciones Madrid Vicente. p 241-248.

Chandan, R. 2006. Manufacturing Yogurt and Fermented Milks: History and Consumption Trends. 1 ed. 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA. Blackwell Publishing. p 8-201.

Farnworth, E. 2008. Handbook of Fermented Functional Foods: Yogurt and Immunity. 2ed. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300, Boca Raton, Florida, USA. CRC Press. p 131-133.

Fox, P; McSweeney, P. 1998. Dairy Chemistry and Biochemistry. 1ed. 115 Fifth Avenue, New York NY 10003, USA. Thomson Science. p 21 - 265.

Ilic, D.; Ashoor, S. 1988. Stability of Vitamins A and C in Fortified Yogurt. Journal of dairy science. Volume 71, Issue 6, p 1492-1498.

Renan, M; Guyomarc'h, F; Arnoult-Delest, V; Pâquet, D; Brulé, G; Famelart, M. 2009. Rheological properties of stirred yoghurt as affected by gel pH on stirring, storage temperature and pH changes after stirring. International Dairy Journal, Volume 19, Issue 3, p 142–148.

Revilla, A. 1995. Tecnología de la leche. 2 ed. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. p 293.

Tamime, A. 2006. Fermented Milks. 1 ed. 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA. Blackwell Publishing. p 53-62.

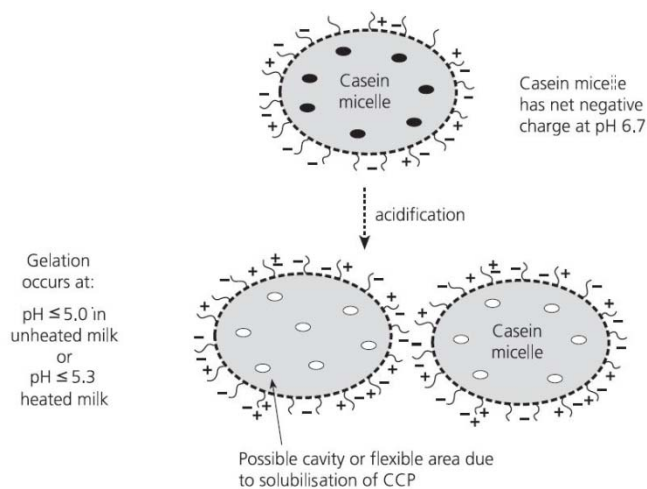
Tamime, A. y Robinson R. 2000. YOGHURT: Science and Technology. 2 ed. Abington Hall, Abington Cambridge CB1 6AH England. Woodhead Publishing Limited. p 5-516.

Technical Resources. Color Management L\*, a \*, b \* and ICC Profiles. En línea Consultado el 10 de Agosto del 2009. Disponible en: <http://www.wasatchinc.com/lab.html>

Walstra, P; Wouters, J; Geurts, T. 2006. Dairy Science and Technology. 2ed. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300, Boca Raton, Florida, USA. CRC Press. p 3-570.

## 8. ANEXOS

Anexo 1. Diagrama esquemático del efecto de la acidez en las propiedades químicas del calcio en la leche.



Schematic diagram of some of the physical changes occurring to the casein micelles during acidification of milk.

Fuente: Tamime (2006), adaptado por el autor.

Anexo 2. Condiciones cromatográficas para determinar y cuantifica vitamina D.

- **Fase estacionaria:**

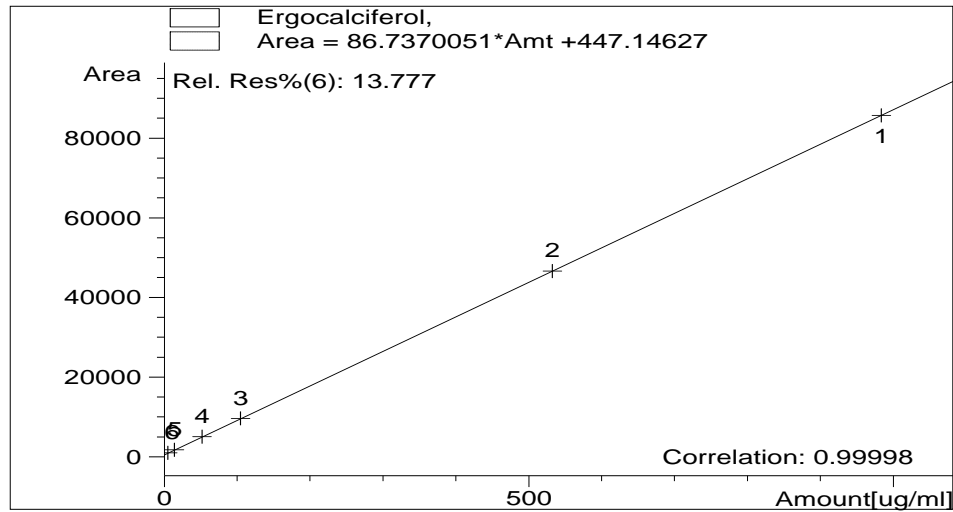
- Columna analítica Zorbax ODS-C<sub>18</sub> (250mm×46 mm×5  $\mu$ m).
- Precolumna C<sub>18</sub> con el objetivo de incrementar la vida útil de la columna.
- Detector de arreglo de diodo (DAD).

- **Fase móvil:**

- 0.5% isopropanol y 2% MTBE en Ciclohexano-n-heptano (50:50) (v/v) como fase (**A**).
- Isopropanol-n-heptano (20:80) (v/v) como fase (**B**).
- Metanol-acetonitrilo (20:80) (v/v) como fase (**C**).

- **Volumen de inyección:**
  - 100 µL.
- **Flujo:**
  - 1.3 ml/min.
- **Longitud de onda usada para todas las antocianinas:**
  - 265 nm.
- **Temperatura:**
  - 35°C.

Anexo 3. Curva de calibración del Ergocalciferol.



Anexo 4. Curva de calibración del Colecalciferol.

