

# UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERÍA



*Excelencia que trasciende*

**DEL VALLE**  
GRUPO EDUCATIVO

EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD ANTIOXIDANTE DEL YOGURT EN  
POLVO CON ACAI (*Euterpe oleracea*) Y SAUCO (*Sambucus nigra* L.)

Trabajo de graduación presentado por ELMER ELIAB RUIZ COLOMA para optar al  
grado académico de Licenciado en Ingeniería en Ciencias de Alimentos.

Guatemala de la Asunción  
2013



EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD ANTIOXIDANTE DEL YOGURT EN  
POLVO CON ACAI (*Euterpe oleracea*) Y SAUCO (*Sambucus nigra* L.)

# UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERÍA

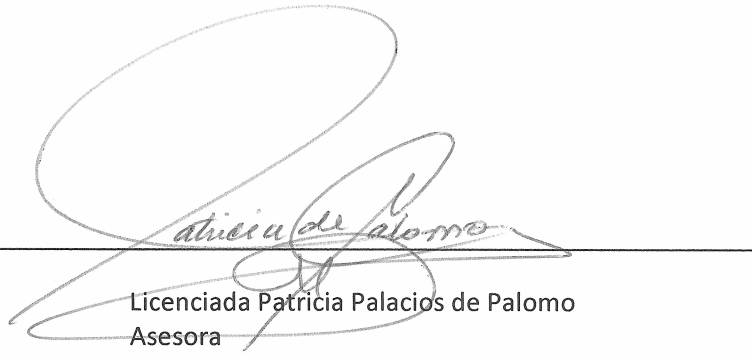
EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD ANTIOXIDANTE DEL YOGURT EN  
POLVO CON ACAI (*Euterpe oleracea*) Y SAUCO (*Sambucus nigra* L.)

Trabajo de graduación presentado por ELMER ELIAB RUIZ COLOMA para optar al  
grado académico de Licenciado en Ingeniería en Ciencias de Alimentos.

Guatemala de la Asunción  
2013

Vo. Bo.:

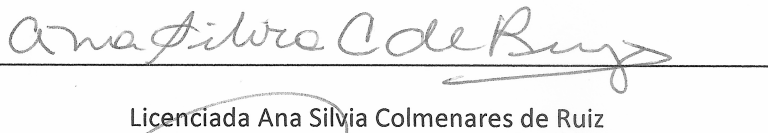
(f)



Licenciada Patricia Palacios de Palomo  
Asesora

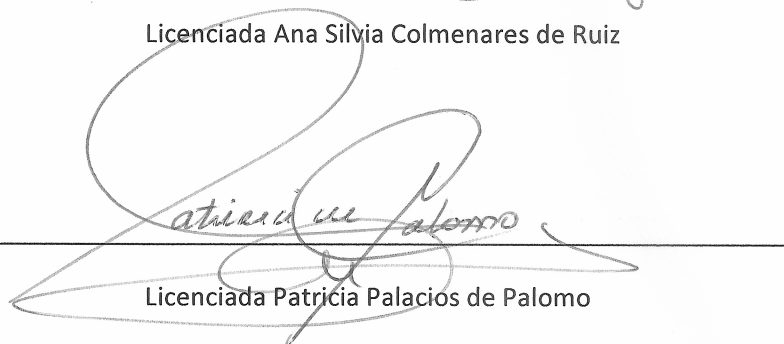
Tribunal Examinador:

(f)



Licenciada Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f)



Licenciada Patricia Palacios de Palomo

(f)



Ingeniera Elsa Georgina Gudiel Aguilar

Fecha de aprobación: Guatemala, 03 de Diciembre de 2013

## PREFACIO

El yogurt es un producto altamente nutritivo rico en proteína obtenido por la fermentación de la leche con *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*. Es un producto con alta aceptabilidad por el consumidor debido a su aroma y sabor, así como su textura. Sin embargo la vida de anaquel del yogurt es corta, alrededor de un día bajo condiciones de temperatura ambiente ( 25-30°C) y de 5 días a 7°C (Salji, *et al*, 1987), lo cual dificulta su comercialización. Entre las ventajas nutricionales se puede mencionar la alta digestibilidad de proteína y grasa en comparación con la leche (Hargrove and Alford, 1980; McDonough *et al.*, 1982), así como el potencial para mejorar la respuesta inmune, disminuir los niveles de colesterol en el plasma y mejorar la biodisponibilidad y solubilidad de los minerales. Los cultivos iniciadores del yogurt poseen una acción antagonista en microorganismos indeseables. El yogurt ha reportado tener efectos hipocolesterolémicos y antitumorales (Reddy *et al.*, 1983; Shahani *et al.*, 1983).

Actualmente en Guatemala, a pesar de que el sector lechero nacional tiene una capacidad instalada para producir más de tres millones de litros diarios, el país importa el 66% del producto, que representa una factura de Q1.300 millones al año. La producción actual se ubica en aproximadamente 1.8 millones de litros diarios, que alcanzan a cubrir el 34% del consumo nacional. La dependencia de las importaciones de leche no solo implica la salida de divisas del país, sino que redunda en un bajo nivel de consumo de la población, asociado con el alza de precios en el mercado internacional y una pobre ingesta de proteínas. Mientras que la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que el consumo per cápita anual de leche sea de 140 litros, en Guatemala la ingesta por habitante es de 53 litros, la más baja de Centroamérica (Ortiz, 2012).

Una forma de mejorar la vida de anaquel del yogurt es por medio de la reducción del contenido de agua, a través de diferentes métodos de deshidratación con el objetivo principal de preservar el producto en forma de polvo estable de alta calidad sin necesidad de refrigeración (Kumar, 2004). El propósito principal del presente trabajo es desarrollar un yogurt en polvo estable a temperatura ambiente con alta vida de anaquel y como valor agregado la capacidad antioxidante mediante la incorporación de frutas con alto contenido de antioxidantes como lo son el açai o el sauco, que provea beneficios a la nutrición y salud de la población guatemalteca. Además el yogurt en polvo requiere de menores costos de empaqueo y almacenamiento, debido a la reducción de bulto, y no necesita refrigeración. También se pretende proponer formas innovadoras de promover el consumo de productos lácteos dentro de la población guatemalteca, con el fin de mejorar la calidad de vida de la misma.

Quiero expresar mi agradecimiento a mis padres y mi familia por su apoyo incondicional, por sus oraciones, consejos y palabras de aliento que fueron fundamentales para lograr este triunfo, el cual también es de ustedes. Los amo mucho.

A la Lda. Patricia de Palomo por compartir su conocimiento, apoyo y tiempo. Por su orientación, consejos y observaciones realizadas, los cuales fueron una gran guía para poder completar este proyecto.

A Dios por su provisión y su fidelidad, que me han acompañado hasta este momento.

## ÍNDICE

PREFACIO	VI
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE GRÁFICAS	XI
LISTA DE FIGURAS	XII
RESUMEN	XIII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
A. GENERAL	2
B. ESPECÍFICOS	2
III. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO	3
A. YOGURT	3
B. AÇAÍ ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart).	4
C. SAUCO ( <i>Sambucus nigra</i> L.)	5
D. PROBIÓTICOS	6
E. MICROENCAPSULACIÓN	8
F. MÉTODOS DE DESHIDRATADO	13
IV. METODOLOGÍA	16
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21

VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	34
VIII. BIBLIOGRAFÍA	35
IX. ANEXOS	41

## LISTA DE TABLAS

Tabla # 1. Resultados de análisis proximal de yogurt antes y después del proceso de deshidratado por liofilización. ....	22
Tabla # 2. Resultados de reconstitución, viscosidad y consistencia de yogurt en base húmeda y deshidratado por liofilización.....	23
Tabla # 3. Resultados de proceso de deshidratación de yogurt por liofilización.....	24
Tabla # 4. Resultados de absorción de agua y grasa de yogurt deshidratado por liofilización. ....	25
Tabla # 5. Comentarios de panelistas en las evaluaciones sensoriales de aceptabilidad de yogurt. ....	26
Tabla # 6. Resultados de viabilidad de probióticos de yogurt deshidratado por liofilización .....	27
Tabla # 7. Resultados de capacidad antioxidante .....	28
Tabla # 8. Resultados de vida de anaquel de yogurt deshidratado por liofilización.....	32

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica # 1. Evaluación de aceptabilidad sensorial del yogurt simple y yogurt deshidratado por liofilización. ....	23
Gráfica # 2. Perfil de aroma del yogurt simple y yogurt con acai y sauco deshidratados por liofilización. ....	29
Gráfica # 3. Perfil de sabor del yogurt simple y yogurt con Acai y Sauco deshidratados por liofilización. ....	30
Gráfica # 4. Perfil de apariencia del yogurt simple y yogurt con acai y sauco deshidratados por liofilización. ....	31

## LISTA DE FIGURAS

Figura # 1. Ejemplo de diferentes tipos de encapsulación.....	9
Figura # 2. Rango de tamaño de partícula de los diferentes métodos de microencapsulación.....	10
Figura # 3. Diagrama de proceso de encapsulación por secado por aspersión. ....	12
Figura # 4. Diagrama de equipo de proceso de deshidratación por secado por aspersión. ....	14
Figura # 5. Diagrama de Flujo del proceso de elaboración de yogurt .....	16
Figura # 6. Muestras de yogurt liofilizado después de: a) 1 semana b)15 semanas c) 20 semanas. ....	41
Figura # 7. Equipo utilizado para el proceso de deshidratado por liofilización. ....	41
Figura # 8. Recipiente utilizado para colocar la muestra en el liofilizador. ....	41
Figura # 9. Microcápsulas de probióticos liofilizadas. ....	42
Figura # 10. Gráfico de tendencia antioxidante de yogurt con antioxidantes liofilizado. ....	42
Figura # 11. Gráfico de tendencia antioxidante de yogurt liofilizado con antioxidantes agregados. ....	42
Figura # 12. Gráfico de tendencias de parámetros de vida de anaquel.....	43
Figura # 13. Gráfico de tendencias de parámetros de vida de anaquel.....	43
Figura # 14. Gráfico de tendencias de parámetros de vida de anaquel.....	43

## RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue desarrollar un yogurt deshidratado con alta vida de anaquel, con propiedades antioxidantes, así como evaluar su funcionalidad. Además una presentación más estable como lo es el yogurt en polvo puede permitir una mayor facilidad en su comercialización y almacenamiento. El yogurt es actualmente uno de los alimentos funcionales con mayor éxito y mayor demanda en el mercado mundial, por lo que es una alternativa para mejorar la calidad nutricional y la salud de la población en Guatemala, tanto para personas adultas como para personas jóvenes. El Acai (*Euterpe oleracea*) ha recibido mucha atención en los años recientes debido a su extremadamente alta capacidad antioxidante y su rol como un “alimento funcional” o ingrediente. La pulpa deshidratada por congelado tuvo un valor antioxidante dramáticamente alto medido por ORAC (1027  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (Schauss *et al.*, 2006<sup>a</sup>), el cual es el más alto que se haya analizado y reportado por el USDA en cualquier fruta o verdura. El sauco negro o común (*Sambucus nigra* L.) es una especie de alta distribución, que crece en lugares expuestos a la luz solar en muchas partes de Europa, Asia, África del Norte y los Estados Unidos. El jugo extraído de los frutos de sauco negro contienen muchos metabolitos primarios incluyendo varios azúcares y ácidos orgánicos. Entre los metabolitos secundarios, el jugo de sauco es predominantemente caracterizado por altas cantidades de antocianinas (Veberic, 2008). Estos flavonoides polifenólicos son de interés particular por sus supuestas propiedades beneficiosas a la salud (anticarcinogénicos y antioxidantes) (Inami *et al.*, 1996).

Para esto se elaboró un yogurt natural con agregado de frutas con alto contenido de antioxidantes como el Açaí (*Euterpe oleracea*), el sauco (*Sambucus nigra* L.) y se utilizó el método de deshidratado con el cual se reduce la pérdida de nutrientes y propiedades funcionales, como el liofilizado. Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas

y funcionales después del proceso de deshidratado y reconstitución. El producto terminado puede utilizarse como parte de un tiempo de comida o como materia prima en la elaboración de otros productos, en el caso de productos de panificación o repostería.

Dentro de los resultados más relevantes se logró aumentar la vida de anaquel del yogurt por medio del proceso de liofilización, a un lapso de aproximadamente 11 semanas. También se determinó que el yogurt con acai y sauco posee mayor capacidad antioxidante que el aceite y los extractos de acai, además de que el proceso de liofilizado no afectó significativamente la capacidad antioxidante, comparado con los resultados obtenidos en estudios previos.

# I. INTRODUCCIÓN

Este trabajo de tesis busca estudiar el proceso de desarrollo de un alimento funcional, utilizando el yogurt natural como base e implementando tecnologías como el liofilizado para aumentar su vida de anaquel, además de añadir el beneficio funcional de propiedades antioxidantes mediante el uso de frutas tropicales con alta capacidad antioxidante como lo son el Acai (*Euterpe oleracea*) y el sauco negro o común (*Sambucus nigra* L.).

En el segundo capítulo de este trabajo se plantean los objetivos, los cuales delimitan el alcance de la investigación.

El tercer capítulo presenta el contexto y las bases científicas en las cuales se desarrolla este trabajo, explicando el fundamento de las tecnologías utilizadas para aumentar la vida de anaquel de los alimentos, así como las características de las materias primas utilizadas.

En el cuarto capítulo se presenta la metodología utilizada, entre ellos los análisis químicos, fisicoquímicos y sensoriales necesarios para caracterizar y determinar si el producto desarrollado cumple con las características de un alimento funcional.

El capítulo cinco muestra los resultados obtenidos junto con su análisis e interpretación basados en los principios de la química y bioquímica de alimentos que se observó que afectaron al producto.

En el capítulo siete se presentan los hallazgos, aportes y conclusiones más relevantes derivados de la investigación. Por último, en el séptimo capítulo se lista una serie de recomendaciones para futuras investigaciones acerca de tópicos similares o que pretendan seguir con la línea de investigación de este trabajo.

## II. OBJETIVOS

### A. GENERAL

1. Desarrollar un yogurt deshidratado con alta vida de anaquel y con propiedades antioxidantes.

### B. ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de incorporar frutas tropicales a un yogurt en polvo, en la capacidad antioxidante.

2. Determinar las condiciones del proceso de deshidratado para obtener un producto que sea aceptado por el consumidor.

3. Comparar características funcionales del yogurt dependiendo del proceso de deshidratación aplicado.

### III. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

#### A. YOGURT

El yogurt es un producto de la fermentación ácido láctica de la leche por la adición de un cultivo iniciador conteniendo *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* (McKinley, 2005). Es comúnmente consumido a nivel mundial, es considerado por nutricionistas como un producto de alto nivel nutricional, principalmente por su ausencia de lactosa y por tener una concentración significativa de  $\text{Ca}^{++}$ , y sus efectos bio-activos en productos añadidos con ingredientes prebióticos y bacterias probióticas. (Coïsson, Travaglia, Piana, Capasso, & Arlorio, 2005).

Entre las formas más comunes de yogurt se encuentran el tipo afluado, batido y bebible; el primer tipo es incubado y enfriado en el empaque final y se caracteriza por tener una estructura firme, semejante a un gel, mientras que en los otros dos tipos, la cuajada es rota mediante el batido o por homogenización hasta tener una bebida de baja viscosidad antes del enfriado y empacado. También se encuentra una forma de polvo de yogurt deshidratado, la cual tiene diferentes aplicaciones como en la industria de panificación y de repostería (Hill & Kethireddipalli, 2012).

Existe evidencia que los probióticos tienen el potencial de ser beneficiosos para la salud. Se ha reportado que juegan un rol terapéutico por la modulación de la inmunidad, reducción del colesterol, mayor tolerancia a la lactosa y previniendo algunos tipos de cáncer (Burgain, Gaiani, Linder, & Scher, 2011).

Respecto a participación en el mercado de Alimentos Funcionales, la categoría principal son los productos lácteos, con 40%, debido a su importancia en Japón y Europa. La segunda categoría son los productos de panadería y cereales, con un 35% de representación en las ventas y que están principalmente concentrados en los Estados

Unidos donde ha ocurrido un importante fortalecimiento del mercado de los cereales para el desayuno. (Avello, 2009).

## B. AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart).

El Acai (*Euterpe oleracea*) pertenece a la familia Arecaceae (palmeras). Es autóctono de Sur América. La palmera crece a una densidad de 2500-3500 árboles por hectárea, siendo la principal planta dentro del delta del Río Amazonas en los estados de Pará y Amapá, Brasil, cubriendo un rango cerca de tres millones de hectáreas (Brondizio, Safar, & Siqueira, 2002). La pulpa densa en nutrientes y rica en polifenoles del fruto de acai se consume como jugo de fruta (Rodrigues *et al.*, 2006). La única semilla, que constituye el 87% del fruto, se extrae, mientras que la cáscara es removida durante el despulpado. Un jugo popular en Brasil preparado de la pulpa de acai es consumido en una variedad de bebidas y preparaciones alimenticias (Schauss, 2010; Schauss *et al.*, 2006a). La pulpa de acai ha recibido mucha atención en los años recientes debido a su extremadamente alta capacidad antioxidante y su rol como un “alimento funcional” o ingrediente. La pulpa deshidratada por congelado tuvo un valor antioxidante dramáticamente alto medido por ORAC (1027  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (Schauss *et al.*, 2006<sup>a</sup>), el cual es el más alto que se haya analizado y reportado por el USDA en cualquier fruta o verdura. Se han estudiado la capacidad antioxidante y otras en modelos humanos, animales y celulares (Wu *et al.*, 2004).

Debido a que se ha revelado su alta capacidad antioxidante, muchas investigaciones se han enfocado en análisis asociados con las capacidades antioxidantes de la pulpa de acai, jugo o extractos (Honzel *et al.*, 2008). Los componentes polifenólicos mayormente encontrados en el acai incluyen antocianinas, proantocianidinas, otros flavonoides y lignanos, etc (Gallori, Bilia, Bergonzi, Barbosa, & Vincieri, 2004; Schauss *et al.*, 2006b). Las antocianinas y proantocianidinas son considerados los mayores antioxidantes en frutas, pero sus concentraciones en acai son relativamente bajas. La contribución de antocianinas en la capacidad antioxidante del acai fue estimada en aproximadamente 10% (Lichtenthäler *et al.*, 2005). Los flavonoides fueron hallados como la mayoría de polifenoles en el acai (Gallori *et al.*, 2004; Schauss *et al.*, 2006b).

Varios estudios han demostrado que los flavonoides tienen actividades antioxidantes y anti inflamatorias bastante fuertes. Sin embargo, pocos estudios han determinado la capacidad individual de los polifenoles encontrados en la pulpa de acai. (Chin, Chai, Keller, & Kinghorn, 2008).

Algunos ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinámicos han sido detectados en el jugo de *Euterpe*; el principal ácido fenólico fue el ácido vainillínico. También ácidos clorogénicos y *p*-hidroxibenzóicos fueron detectados en el jugo fresco. (Coisson, Capasso, Piana, Travaglia, & Arlorio, 2002).

### C. SAUCO (*Sambucus nigra* L.)

El sauco negro o común (*Sambucus nigra* L.) es una especie de alta distribución, que crece en lugares expuestos a la luz solar en muchas partes de Europa, Asia, África del Norte y los Estados Unidos. Es un arbusto caducifolio que alcanza hasta 6 metros de alto, desarrolla flores hermafroditas pequeñas y blancas, y florea en verano. Las umbelas consisten de bayas individuales de color morado oscuro, con un diámetro de hasta 6 milímetros; el fruto madura al finalizar el verano. Los cultivares de sauco son plantados con fines decorativos, sin embargo los extractos de las flores se usan como bebidas y en saborizantes alimenticios (Christensen, Knaack, & Frette, 2007), y las bayas de sauco se han utilizado globalmente como medicina o como fuente de suplementos dietéticos (Dawidowicz, Wianowska, & Baraniak, 2006). El jugo extraído de los frutos de sauco negro contienen muchos metabolitos primarios incluyendo varios azúcares y ácidos orgánicos. Entre los metabolitos secundarios, el jugo de sauco es predominantemente caracterizado por altas cantidades de antocianinas (Veberic, 2008). Las cuatro antocianinas primarias en *S. Nigra* se han identificado como cianidina-3-*O*-sambubiósido-5-*O*-glucósido, cianidina-3-*O*-sambubiósido, cianidina-3-*O*-glucósido, y cianidina-3,5-*O*-diglucósido. También están presentes la cianidina-3-*O*-ramnoglucósido y cianidina-3-*O*-xiloglucósido. Otros flavonoides reportados en los frutos de *S. Nigra* incluyen hiperósido, isoquercetina, y rutósido. Estos flavonoides polifenólicos son de interés particular por sus supuestas propiedades beneficiosas a la salud (anticarcinogénicos y antioxidantes) (Inami *et al*, 1996).

Los frutos de *S. Nigra* tienen mayor capacidad antioxidante que las vitaminas C o E, son capaces de mejorar la respuesta del sistema inmune a través de una elevada producción de citosinas. La especie nativa americana de sauco, *Sambucus canadensis*, no se ha cultivado, criado y promocionado como una planta medicinal, a diferencia de la especie europea. Sin embargo los frutos de *S. Canadensis* contienen siete antocianinas. Además de las cuatro presentes en la *S. Nigra*, también acumula 3-*O*-(6-*O*-*E*-*p*-cumaroil-2-*O*- $\beta$ -D-xilopiranosil)- $\beta$ -D-glucopiranosido-5-*O*- $\beta$ -D-glucopiranosido, cianidina-3-*O*-(6-*O*-*Z*-*p*-cumaroil-2-*O*- $\beta$ -D-xilopiranosil)- $\beta$ -D-glucopiranosido-5-*O*- $\beta$ -D-glucopiranosido, y cianidina-3-*O*-(6-*O*-*E*-*p*-cumaroil-2-*O*- $\beta$ -D-xilopiranosil)- $\beta$ -D-glucopiranosido. Aunque las antocianinas son sólo uno de los grupos fitoquímicos supuestos de participar en la bioactividad fitomedicinal, la presencia de una gama más amplia en la baya nativa americana introduce la posibilidad que se lleve a cabo un potencial nutracéutico diferente en estas especies (Holetz *et al*, 2002).

#### D. PROBIÓTICOS

Los probióticos son microorganismos vivos, los cuales son beneficiosos para la salud humana cuando se administran en cantidades adecuadas (FAO/OMS, 2002). Las especies de Lactobacilos y bifidobacterias han demostrado ser beneficiosas en la inmunomodulación y también en la reducción y prevención de varias enfermedades intestinales. (Servin & Coconnier, 2003). Sin embargo, para que los probióticos puedan ejercer dichos beneficios, deben ser capaces de tolerar las condiciones ácidas del entorno en el estómago, así como la bilis en el intestino delgado. (Sultana *et al.*, 2000).

Dentro de los efectos beneficiosos de los probióticos en la flora intestinal humana incluyen efectos antagónicos e inmunes. El uso de cultivos probióticos estimula el crecimiento de microorganismos preferidos, eliminando bacterias potencialmente dañinas y reforzando los mecanismos naturales de defensa del cuerpo (Dunne. 2001). El mecanismo de efecto anti patógeno puede ser mediante el descenso del pH luminal por la producción de ácidos grasos de cadena corta como el ácido acético, láctico o propiónico, haciendo que los nutrientes vitales no estén disponibles para patógenos, alterando el

potencial redox del ambiente, produciendo peróxido de hidrógeno u otras bacteriocinas, o por medio de otras sustancias inhibitorias (Kailaspathy & Chin, 2000).

Las bacterias ácido lácticas (LAB por sus siglas en inglés) son los microorganismos probióticos más importantes típicamente asociados con el tracto gastrointestinal humano. Estas bacterias son Gram positivas, en forma de bacilos, no formadoras de esporas, catalasa negativos que no poseen citocromos, no aerobios pero son aero tolerantes, ácido-tolerantes y estrictamente fermentativos. El ácido láctico es el producto predominante de la fermentación de azúcar (Axelsson, 1993). Algunas de las LAB conocidas que se utilizan como probióticos son: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonoo*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* etc. (Mäkinen & Bigret, 1993).

Otros microorganismos probióticos comunes son las bifidobacterias. También son Gram positivas y en forma de bacilos, pero son estrictamente anaerobias. Estas bacterias pueden crecer en un rango de pH de 4.5-8.5. Las bifidobacterias fermentan los carbohidratos activamente, produciendo principalmente ácido acético y ácido láctico en una fracción molar de 3:2 (v/v), pero no producen dióxido de carbono, ácido butírico o propiónico. Las especies de bifidobacteria que se utilizan como organismos probióticos son : *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis* y *Bifidobacterium longum* (Holzapfel, Haberer, Geisen, Bjorkroth, & Schillinger, 2001).

El yogurt está entre los alimentos más populares que son utilizados como vehículos para el transporte de microorganismos probióticos (Adolfsson, Meydany, & Russel, 2004), y deben contener por lo menos  $1 \times 10^6$  células viables de *Lactobacillus* y/o *Bifidobacterium*  $g^{-1}$  (FAO/OMS, 2003). Estos deben sobrevivir al procesamiento y almacenamiento durante la maduración del producto (como en el caso de productos fermentados) y durante la vida útil. Por otra parte el producto debe ser consumido

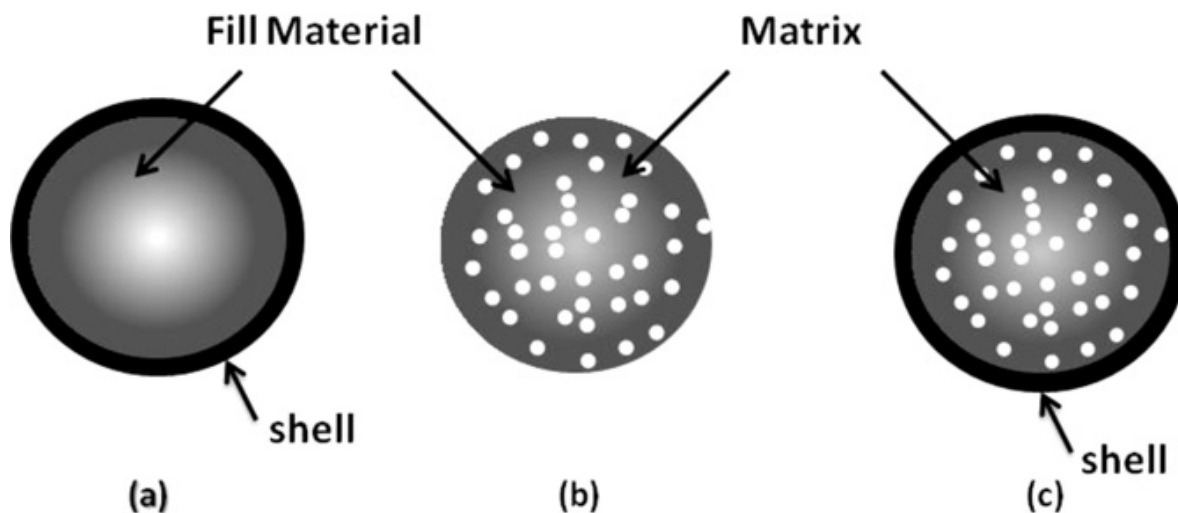
regularmente para ofrecer la “dosis” pertinente de bacterias vivas al tracto gastrointestinal, dado que las condiciones adversas encontradas en este ambiente causan una reducción en la viabilidad de las células. (Ross, Desmond, Fitzgerald, & Stanton, 2005). El *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 es considerado como una cepa “robusta” con una distintiva tolerancia al calor (Gardiner *et al*, 2000).

## E. MICROENCAPSULACIÓN

La encapsulación es un proceso fisicoquímico o mecánico para entrapar una sustancia en un material, a manera de producir partículas con diámetros de unos cuantos nanómetros a milímetros (Chen and Chen, 2007). La encapsulación de componentes bioactivos puede ser utilizada en muchas aplicaciones de la industria de alimentos como: controlar reacciones oxidativas, enmascarar sabores, colores y olores, proveer una liberación controlada y sostenida, extender vida de anaquel, etc. La encapsulación de probióticos se utiliza para proteger a las células ante ambientes adversos más que para una liberación controlada. (Champagne and Kailaspathy, 2008). La sustancia encapsulada, también llamada material del núcleo se dispersa en una matriz también llamada recubrimiento o concha. Este material acarreador debe ser de grado alimenticio si se utiliza en la industria de alimentos, y debe ser capaz de formar una barrera para proteger la sustancia encapsulada (Burgain, Gaiani, Linder, & Scher, 2011).

Se pueden encontrar diferentes tipos de encapsulados, tales como el tipo depósito y el de tipo matriz. El de tipo depósito tiene un revestimiento o capa alrededor del material del núcleo y es por ello que también puede ser llamado cápsula. En el caso del encapsulado tipo matriz, el agente activo se encuentra disperso en el material acarreador y también puede estar en la superficie. La combinación de Estos dos tipos da lugar a un tercer tipo, en donde el agente activo se encuentra en una matriz y es recubierto por una capa o revestimiento (Zudiam & Shimoni, 2009).

Figura # 1. Ejemplo de diferentes tipos de encapsulación.

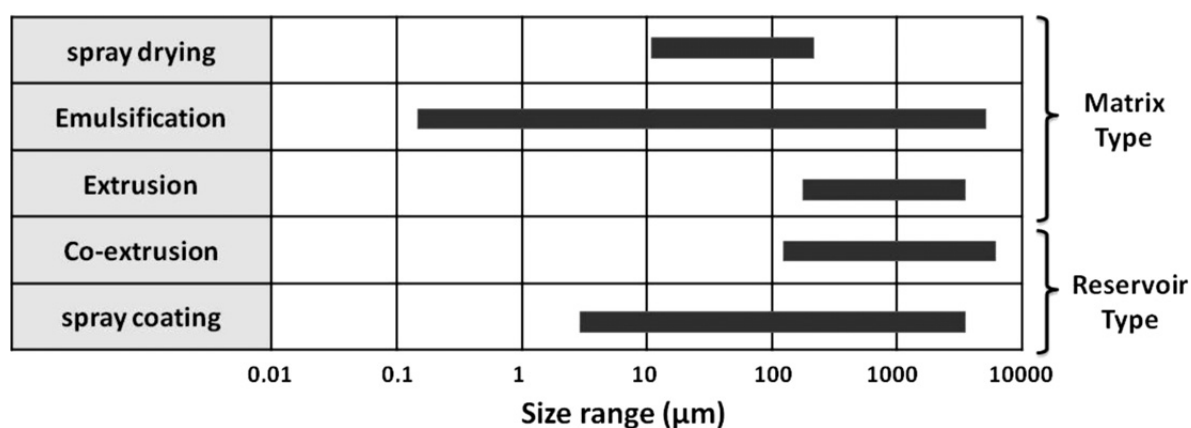


1. Métodos de microencapsulación. La presencia de condiciones tan diversas en el tracto digestivo humano hace que el diseño de un sistema de liberación de probióticos sea difícil, pero también presenta la posibilidad de producir un sistema altamente adaptable que se dirige específicamente a la ubicación deseada. En la mayor parte, tales consideraciones están relacionadas con el material usado para hacer el producto. Sin embargo, la viabilidad de un producto dado también va a depender en si los probióticos son capaces de sobrevivir al proceso de encapsulación. Las bacterias a ser encapsuladas generalmente tienen dimensiones del orden de micras hacia arriba, por lo que la nanotecnología no es una opción. A pesar de ser denominadas “microcápsulas” Estas tienen tamaños entre décimas de micrómetros (Ding & Shah, 2009) y milímetros (Sun & Griffiths, 2000), y su habilidad para mejorar la supervivencia de los probióticos muchas veces depende del tamaño. El producto ideal de probióticos microencapsulados sería un polvo seco, con un almacenamiento fácil y larga vida de anaquel, o un gel húmedo con una estabilidad a largo plazo en el alimento. (Cook, Tzortzis, Charalampopoulos & Khutoryanskiy, 2012)

La producción de microcápsulas conteniendo probióticos se puede dividir en tres categorías principales: extrusión, emulsión y secado por aspersión, siendo la extrusión o

emulsión las de mayor estudio. La producción por extrusión se realiza usualmente con una jeringa o aguja, sin embargo se han utilizado también sistemas atomizadores tales como los de vibración (Chandramouli, Kailasapathy, Peiris, & Jones, 2004), aire y de discos giratorios (Cui, Goh, Kim, Choi, & Lee, 2000), los cuales reducen el tamaño de las microcápsulas de milímetros a pocos cientos de micras. Otro método popular de microencapsulación como la emulsión tiene el beneficio de producir microcápsulas muy pequeñas ( $<100\mu\text{m}$ ) (Mokarram, Mortazvi, Najafi, & Shahidi, 2009).

Figura # 2. Rango de tamaño de partícula de los diferentes métodos de microencapsulación.



(Fuente: Krasaekoopt, Bhandary, & Deeth, 2003)

## 2. Materiales utilizados para microencapsulación de probióticos.

a. *Alginatos*. Los alginatos son polisacáridos de origen natural extraídos de varias especies de algas y está compuesto por ácidos  $\beta$ -D-manurónico y  $\alpha$ -L-gulurónico. La composición de la cadena de polímero varía en la distribución secuencial y cantidad, de acuerdo a la fuente del alginato y esto influye en las propiedades funcionales. Las hidrogeles de alginato son ampliamente utilizadas en la encapsulación de células (Rowley, Madlambayan, & Moonley, 1999) y el alginato de calcio es preferido para encapsular probióticos debido a su simplicidad, no toxicidad, biocompatibilidad y bajo costo (Krasaekoopt, Bhandary, & Deeth, 2003). Sin embargo, se atribuyen algunas desventajas al uso de alginato. Por ejemplo, los lechos de alginato son sensibles al ambiente ácido (Moratzavian, Azizi, Ehsani, Razavi, & Mousavi, 2008), el cual no es compatible para la resistencia de micropartículas en las condiciones del estómago. Otras desventajas se deben al llevar el proceso a gran escala, el cual resulta muy difícil.

Además, las microcápsulas obtenidas son altamente porosas, lo cual es un inconveniente cuando el objetivo es proteger las células de su entorno (Gouin, 2004).

b. *Goma Gellan y Goma Xanthan*. La goma Gellan es un polisacárido de origen microbiano derivado de *Pseudomonas elodea* la cual está constituida por unidades repetidas de cuatro monómeros, los cuales son glucosa, ácido glucurónico, glucosa y ramnosa. Una mezcla de goma xanthan-gellan se ha utilizado para encapsular células de probióticos y contrariamente al alginato, la mezcla presenta alta resistencia hacia condiciones ácidas (Sultana et al, 2000).

c. *κ-Carragenina*. La κ-Carragenina es un polímero natural, el cual es usado comúnmente en la industria de alimentos. La tecnología que emplea el compuesto requiere una temperatura comprendida entre 40 y 50 °C a la cual se agrega las células en la solución del polímero. Al enfriar la mezcla a temperatura ambiente, se lleva a cabo la solidificación y entonces las micropartículas son estabilizadas con la adición de iones de potasio (Krasaekoopt, Bhandary, & Deeth, 2003). La encapsulación de células de probióticos en κ-Carragenina mantiene a las bacterias en estado viable pero las geles producidas son frágiles y no soportan estrés (Chen & Chen, 2007).

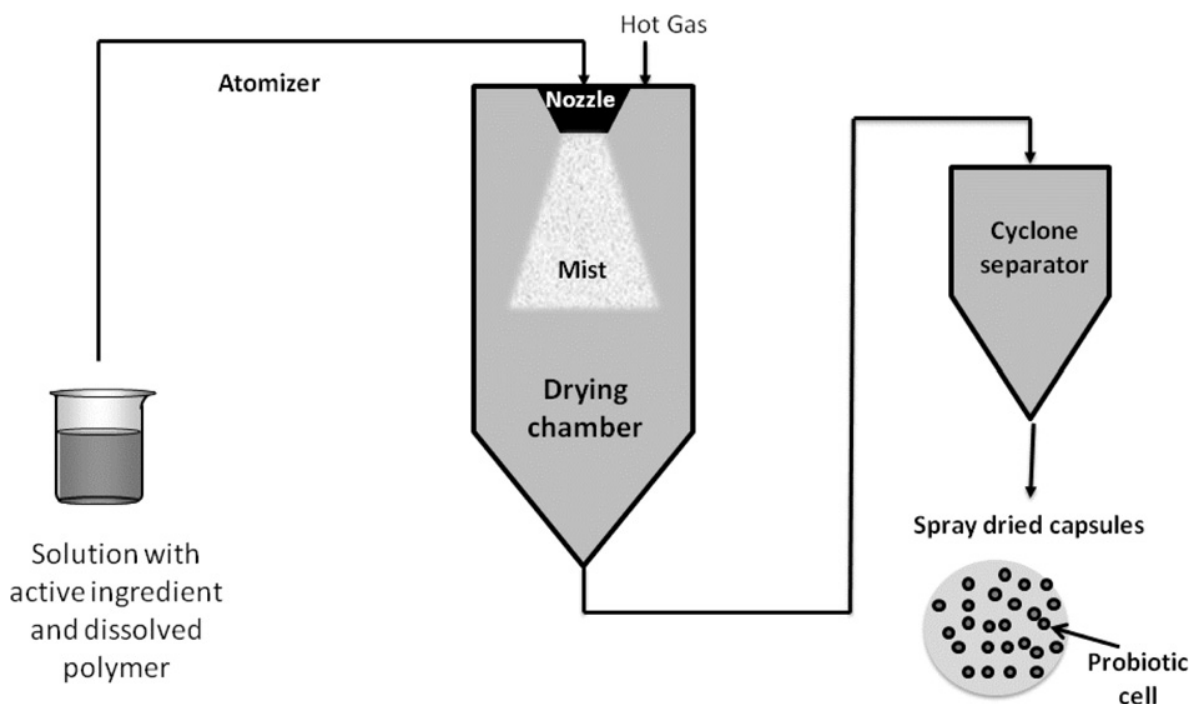
d. *Almidón*. El almidón es un polisacárido que consta de grandes números de unidades de glucosa unidas entre sí por enlaces glucosídicos. El almidón consiste principalmente de amilosa y amilopectina. El almidón resistente es aquel que no es digerido por enzimas pancreáticas (amilasas) en el intestino delgado. El almidón resistente puede alcanzar el colon en donde es fermentado. Esta especificidad provee buenas características de liberación con lo cual se puede tener una mejor descarga de las células bacterianas en el intestino grueso. Finalmente, el almidón resistente es una superficie ideal para la adherencia de células probióticas a los gránulos de almidón y esto puede mejorar la liberación de probióticos en un estado viable y metabólicamente activo en el intestino (Crittenden, 2001).

### 3. Métodos de dispersión

#### a. Atomización

1) Secado por aspersión. Se prepara una solución conteniendo las células vivas de probióticos y prepara la matriz del polímero. Generalmente se usan goma arábigo y almidones ya que tienden a formar micropartículas esféricas durante el secado. Las ventajas de este método son su rapidez y relativo bajo costo de operación. Sin embargo tiene un pequeño campo de aplicación y el uso de altas temperaturas, lo cual no es compatible con la supervivencia de las bacterias (Semyonov *et al*, 2010).

Figura # 3. Diagrama de proceso de encapsulación por secado por aspersión.



2) Secado por aspersión en congelación. Este método combina los pasos comunes de procesamiento entre el liofilizado y el secado por aspersión. Las células de probióticos se encuentran en una solución, la cual es atomizada en una fase de vapor frío de un líquido criogénico tal como el nitrógeno líquido. Este paso genera una dispersión de gotas congeladas. Estas gotas son deshidratadas en un liofilizador (Wang *et al.*, 2006). Este método presenta varias ventajas, tales como proveer cápsulas con mayor control de tamaño, área superficial específica, que las cápsulas deshidratadas por

atomización. Sin embargo tiene alto consumo de energía y tiempos prolongados de operación, lo cual hace que sea un proceso más caro (Zudiam & Shimoni, 2009).

## F. MÉTODOS DE DESHIDRATADO

1. Liofilización. El secado por liofilización o “freeze drying” se lleva a cabo mediante la reducción de la temperatura del producto, de manera que la mayor parte de la humedad de éste se encuentre en estado sólido, y al disminuir la presión alrededor del producto, se logra la sublimación del hielo. Cuando la calidad del producto es un factor importante en la aceptación del consumidor, el “freeze drying” provee una alternativa para la eliminación de humedad. (Singh, 2009)

Los procesos de transferencia de calor y masa durante el “*freeze drying*” son únicos. Dependiendo de la configuración del sistema de secado, la transferencia de calor puede ocurrir a través de una capa de producto congelado, o a través de una capa seca. Obviamente, la transferencia de calor en la capa congelada será rápida y no limitará la velocidad. Mientras que la transferencia de calor en una capa de producto seco se dará a una razón lenta debido a la baja conductividad térmica de la estructura altamente porosa. En ambos casos la transferencia de masa ocurre en la capa de producto seco. La difusión del vapor de agua podría ser un factor limitante del proceso debido a las bajas relaciones de difusión molecular en el vacío (Singh, 2009).

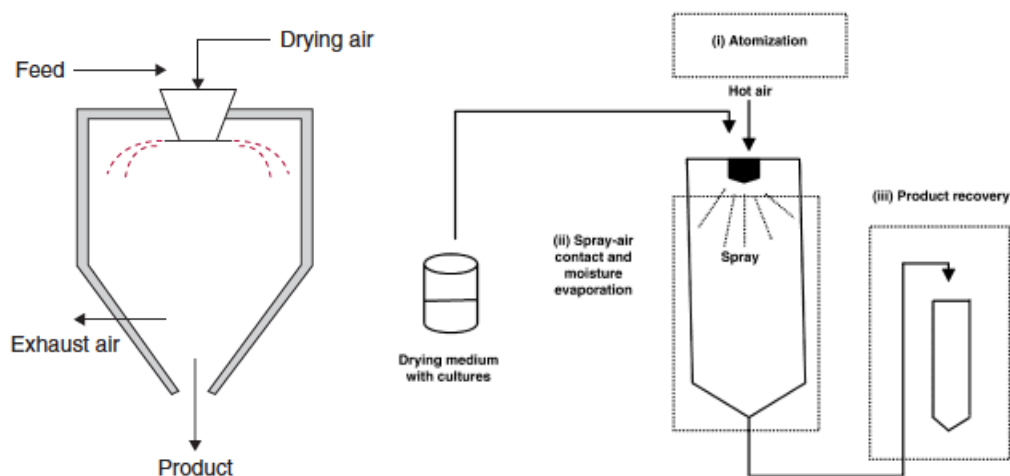
Las ventajas del proceso de “*freeze drying*” son la calidad superior del producto, resultante de la baja temperatura durante la sublimación y el mantenimiento de la estructura del producto. Estas ventajas se compensan contra los aspectos de alto consumo de energía del congelamiento y requerimiento de vacío. Sin embargo en este proceso no se reduce la partícula del producto como en otros métodos de secado, ya que se conserva la estructura hidratada del mismo (Singh, 2009).

Se ha visto mejores resultados de viabilidad de los cultivos lácticos en comparación con otro tipo de procesos de deshidratado como el secado por aspersión. Durante el proceso de “*freeze drying*”, se ha visto que la cantidad de microorganismos

en yogurts comerciales disminuye. Se ha indicado que el *L. Bulgaricus* muestra una mortalidad mayor durante el proceso (alrededor de 400 veces el recuento inicial), mientras que el *S. thermophilus* solo se redujo el doble del recuento inicial. La supervivencia de las bacterias ácido lácticas fue de 10-14% a una temperatura de congelamiento de  $-15^{\circ}\text{C}$  y de 50-60% durante el congelamiento a  $-25$  ó  $-40^{\circ}\text{C}$ . En general se obtuvieron mejores resultados a una temperatura de congelado de  $-25^{\circ}\text{C}$ . (Kumar, 2004).

2. Secado por aspersión. La deshidratación de un alimento líquido se realiza generalmente en un “spray dryer”. La remoción de humedad del alimento líquido ocurre después de que es atomizado o rociado en aire caliente dentro de una cámara de secado. Aunque se utilizan varias configuraciones de la cámara, el arreglo mostrado a continuación ilustra la introducción de las gotas líquidas a una corriente de aire caliente (Singh, 2009).

Figura # 4. Diagrama de equipo de proceso de deshidratación por secado por aspersión.



Mientras las gotas del alimento líquido se mueven junto con el aire caliente, el agua se evapora y es llevada por el aire. La mayor parte del secado se produce durante un período de velocidad constante y está limitado por la transferencia de masa en la superficie de la gota. Después de alcanzar el contenido de humedad crítico, la estructura de la partícula del alimento seco influye en la velocidad de caída del período de secado.

Durante esta parte del proceso, la difusión de la humedad dentro de la partícula se convierte en un parámetro limitante (Singh, 2009).

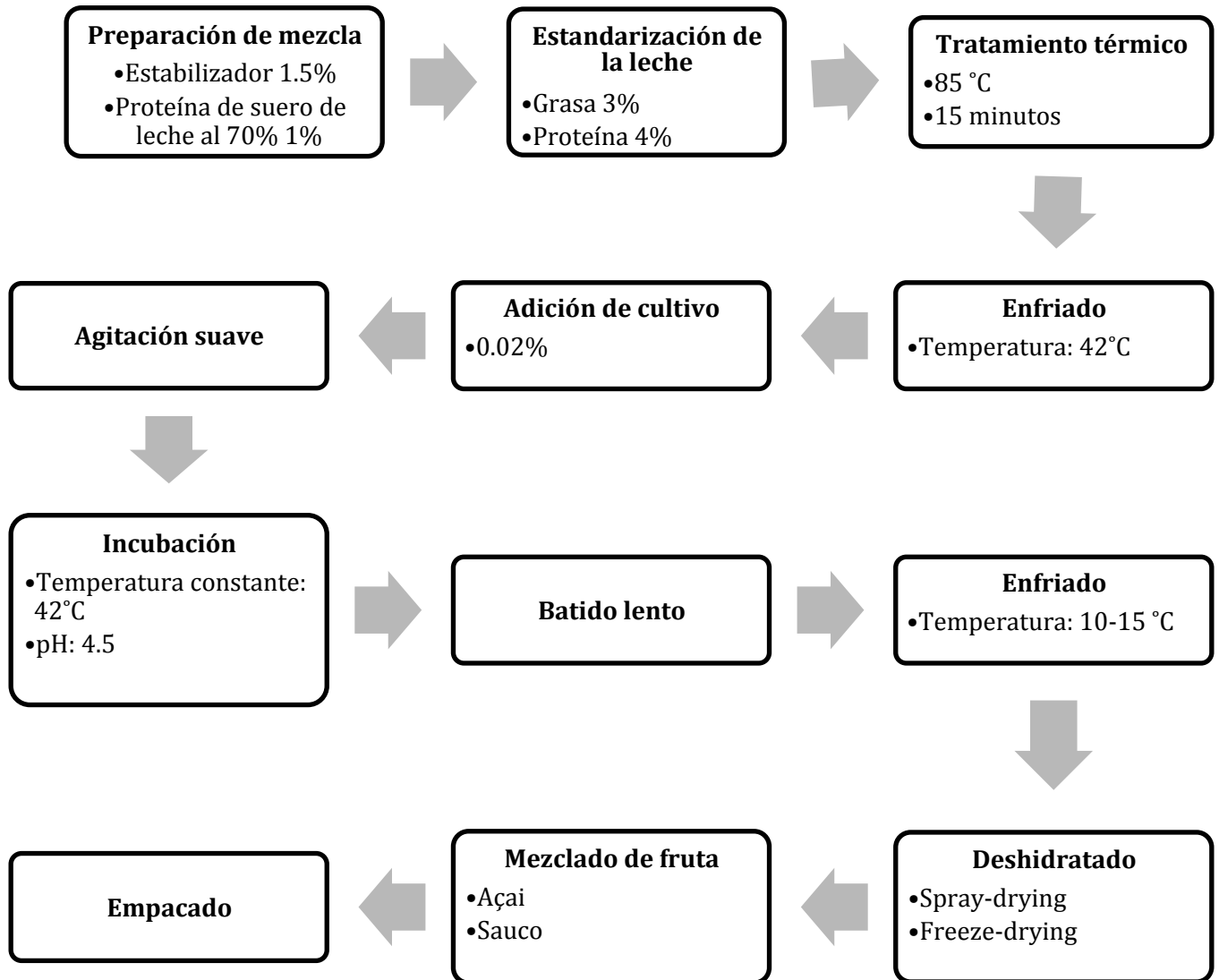
Después de que la partícula de alimento seco deja la cámara de secado, el producto es separado del aire en un ciclón. El producto deshidratado se coloca en un contenedor sellado a un contenido de humedad que generalmente está por debajo del 5%. La calidad del producto se considera excelente debido a la protección de los sólidos por enfriamiento evaporativo en el secador. El pequeño tamaño de partícula de los sólidos promueve una reconstitución fácil cuando se mezcla con agua (Singh, 2009).

La información publicada en relación a la supervivencia de cultivos secados por aspersión en yogurt, y su posterior supervivencia durante el almacenamiento, es limitada. El deshidratado por spray de yogurt simple con un pH de 4.2 a una temperatura de salida de 60 °C resultó en una proporción de supervivencia de 3% y 0.7% para *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, respectivamente (Kim & Bhowmik, 1990). A una temperatura de salida de 70-75 °C, se obtuvo una supervivencia de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (15.8%) y *S. thermophilus* (51.6-54.7%) y el yogurt deshidratado mantuvo buenas propiedades sensoriales y un contenido de humedad de 5.1-6.3%. Sin embargo, deshidratar el fermentado a una temperatura de salida de 80 °C produjo una reducción considerable en la supervivencia de los microorganismos (Bielecka & Majkowska, 2008).

La viabilidad de los cultivos de yogurt se ve afectada por las condiciones de almacenamiento, particularmente por la temperatura. Las bacterias del yogurt sobreviven mejor durante almacenamiento prolongado a 5-10°C que a temperatura ambiente. Adicionalmente, la actividad de agua del yogurt en polvo debería ser aproximadamente 0.2 para una supervivencia óptima durante el almacenamiento (Ding & Shah, 2009).

## IV. METODOLOGÍA

Figura # 5. Diagrama de Flujo del proceso de elaboración de yogurt



(Fuente Hui, 1993).

#### A. Análisis químicos:

1. Actividad de agua (aw): Se midió la actividad de agua de las muestras de yogurt deshidratado utilizando el AquaLab CX-2, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. (Kearney, 2009).

2. Determinación de Actividad Antioxidante: Se evaluaron dos tipos de procedimientos para las muestras; En la primera muestra se elaboró el yogurt y se le agregó jugo de acai y bayas sauco procesado en una proporción de 10 y 5% respectivamente, y luego se deshidrató por liofilización. En la segunda muestra primeramente se deshidrató el yogurt y luego se agregaron el acai en polvo y el sauco deshidratado, en las mismas proporciones que la primera muestra. Las propiedades antirradicales se evaluaron por la medición del barrido del radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) como se describe por Brand-Williams et al (1995). Se prepararon soluciones acuosas de yogurt en polvo con antioxidantes a diferente concentración. Se ajustó el blanco con metanol y se tomaron alícuotas de 0.1 mL de muestra en 3.9 mL de solución metanólica de DPPH·  $6 \times 10^{-5}$  M homogenizadas por vortexeo. Se midió la absorbancia a 515 nm. El parámetro EC50, el cual refleja el 50% de reducción de DPPH·, fue expresado en términos de yogurt con antioxidante por gramo de DPPH· en el medio de reacción. Un valor pequeño de EC50 indicó una mayor capacidad antioxidante

#### 3. Caracterización de yogurt en polvo según métodos AOAC:

- a. Humedad, método 925.10, horno de aire
- b. Cenizas, método 923.03, método directo
- c. Grasa, método 9222.06, extracto etéreo
- d. Proteína, método 920.87, Kjeldahl
- e. Fibra dietética, método 985.29
- f. Carbohidratos por diferencia
- g. Absorción de grasa
- h. Absorción de agua

B. Análisis fisicoquímicos:

1. Determinación de pH: Se utilizó un potenciómetro previamente calibrado para medir el pH del yogurt durante la fermentación hasta llegar al nivel de pH deseado. También se midió el pH de las muestras antes del proceso de deshidratado y también del yogurt en polvo reconstituido con agua destilada estéril durante una hora a temperatura ambiente (Kearney, 2009).

2. Viscosidad aparente: La viscosidad aparente del yogurt reconstituido se midió con un viscosímetro digital Brookfield (modelo DV-II+; Brookfield Engineering Laboratories Inc) utilizando una aguja 5 a 10 rpm en 150 mL de yogurt. La aguja se dejó rotar en la muestra por 1 minuto a 10 °C. La viscosidad aparente se midió en centipoises (cP) directamente de la lectura del viscosímetro. Las mediciones se realizaron en duplicado (Ramasubramanian, 2008).

3. Consistencia Bostwick: Se agitaron las muestras de yogurt por un minuto a 10°C, con un agitador magnético. La consistencia se determinó midiendo la distancia (en cm.) sobre la cual la muestra fluyó en un consistómetro Bostwick, a 10°C por 30 s (González-Martínez, 2002).

4. Microencapsulación de Probióticos: Se utilizaron dos métodos diferentes de microencapsulación, el método de extrusión y el método de emulsión. Para el método de extrusión se prepararon 200 mL de una solución de alginato de sodio al 1, 1.5 y 2%, dispersando primero el alginato en 100 mL de agua destilada y aforar a 200 mL. Se agitó constantemente para evitar la formación de grumos. Se prepararon 200 mL de una solución de lactato de calcio al 1.5% de la misma forma. Luego se agregó el cultivo de probióticos a la solución de alginato bajo constante agitación hasta su dispersión total. Una vez dispersado se inició el goteo de la solución de alginato sobre la solución de lactato utilizando una jeringa. Por último se extrajeron las microcápsulas por filtración (Burgain, J, *et al.*, 2011). Para el método de emulsión se prepararon las mismas

soluciones anteriormente descritas de alginato de sodio y lactato de calcio. Se dispersaron 50 mL de la solución de alginato con probióticos utilizando una pipeta en un beaker conteniendo 200 mL de mezcla de 0.4 mL de ácido acético glacial por cada 90 mL de aceite vegetal, con agitación a 200 rpm con un agitador magnético. Se agregó lentamente el Lactato de Calcio (0.1M) por la pared del beaker hasta que se rompió la emulsión. Se agitó durante 10 minutos para asegurar que se rompiera completamente la emulsión. Posteriormente se dejó reposar por 30 minutos y se extrajeron las microcápsulas por decantación. (Chen, K, *et al.*, 2005).

C. Análisis de viabilidad de probióticos:

Para comprobar la viabilidad de microorganismos después del proceso de deshidratado se realizó una prueba cualitativa de fermentación de leche. Para esto se tomaron porciones de 2 g de yogurt en polvo como cultivo iniciador y se agregaron a 100 mL de leche. Se incubaron a 42 °C para verificar que se haya producido la fermentación de la leche en un lapso aproximado de 2-6 horas, siendo esto un resultado positivo. Así mismo se realizó una medición de pH al inicio y al final de la prueba. (Cook, 2012).

D. Análisis de vida de anaquel:

Se tomaron tres muestras homogéneas de 10 g de yogurt deshidratado por liofilización, almacenadas a temperatura ambiente (25 °C) en bolsas transparentes selladas, durante 30 semanas. En el caso de los parámetros de color y textura se estableció una escala de 0 a 100, donde 100 fue el valor máximo del parámetro en el tiempo inicial y se calificó conforme el atributo se fue degradando. La evaluación se realizó una vez por semana. Para calcular el tiempo de vida de anaquel se utilizó la ecuación de Arrhenius.

$$\ln(k) = \ln(k_{ref}) - E_A/R (1/T - 1/T_{ref})$$

k: constante de velocidad de reacción a la temperatura T.

$k_{ref}$ : constante de velocidad de reacción a la temperatura de referencia.

$E_A$ : energía de activación en cal/mol.

R: constante general de los gases en cal/(mol °K) igual a 1,98.

T: temperatura en °K.

$T_{ref}$ : temperatura de referencia en °K.

E. Análisis Sensorial:

1. Prueba de aceptabilidad: Se evaluó con 10 panelistas la aceptabilidad del yogurt simple y deshidratado por liofilización reconstituido por medio de una escala hedónica. Los puntajes se convirtieron a valores numéricos de 1 a 9 siendo 1 el menor puntaje y 9 el mayor. Se obtuvo las medias de los atributos evaluados. Valores iguales o mayores a 6 se considera aceptada la muestra.

2. Perfil sensorial: Se evaluó con 10 panelistas entrenados el perfil de sabor, aroma y apariencia del yogurt simple y yogurt con acai y sauco deshidratado por liofilización reconstituido. Los panelistas calificaron la intensidad con que se detectó cada uno de los descriptores de aroma, sabor y apariencia que percibieron utilizando una escala de 0 a 7, donde 0 fue un atributo no percibido y 7 la máxima intensidad.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo principal de este trabajo fue desarrollar un yogurt deshidratado con alta vida de anaquel, con propiedades antioxidantes, así como evaluar su funcionalidad nutricional. Para esto se elaboró un yogurt natural con agregado de frutas con alto contenido de antioxidantes como el Açaí, el sauco y se utilizó el método de deshidratado por liofilización con el cual se evita la pérdida significativa de nutrientes y propiedades funcionales.

El yogurt es un producto de la fermentación ácido láctica de la leche por la adición de un cultivo iniciador conteniendo *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* (McKinley, 2005). Una de las características químicas del yogurt es que al momento de que la fermentación alcanza un pH de 4.5 se genera la agregación de partículas de caseína de la leche, formando una gel. Sin embargo hay diferentes factores que pueden modificar la estabilidad de la gel formada y por tanto modifican directamente la textura y estabilidad del producto final. Por esto es importante la estandarización de la leche a un porcentaje de proteína a 4% para favorecer la formación de una mayor interacción entre estas y que la gel sea más firme. Además para evitar que haya una mayor cantidad de agua libre se utilizan estabilizantes formados por hidrocoloides, los cuales evitan la migración del agua, y en algunas ocasiones de la grasa, hacia la superficie generando sinéresis. En el caso de este estudio se deseaba obtener un yogurt batido, por lo que hubo que ajustar el porcentaje de estabilizante y proteína para asegurar que la consistencia y la textura del yogurt no fuera demasiado líquida, ya que esto influye directamente en el tiempo de deshidratación. Una vez obtenida la consistencia y viscosidad deseada se procedió a realizar los análisis que se muestran a continuación.

Se realizaron diversos análisis químicos para poder comparar la composición del yogurt antes y después del proceso de deshidratado. Los análisis que se realizaron fueron humedad, proteína, grasa, cenizas, fibra y carbohidratos. Los resultados obtenidos se utilizaron para calcular los carbohidratos por diferencia.

El análisis de la humedad sirvió para comparar la humedad final obtenida luego del proceso de deshidratación. Además el contenido de humedad juega un papel importante en el desarrollo y crecimiento de microorganismos no deseados tales como hongos y mohos, u otros microorganismos que pueden ser patógenos y que degradan la calidad del producto final. En cuanto a los otros macronutrientes como la grasa y proteína, se observó que hubo una reducción tal como se muestra en la Tabla #1, sin embargo ésta no fue significativa, por lo que el proceso de liofilizado no tuvo un efecto marcado en la composición del yogurt, logrando así evitar la pérdida significativa de nutrientes después del procesamiento.

Tabla # 1. Resultados de análisis proximal de yogurt antes y después del proceso de deshidratado por liofilización.

<b>Constituyente (por cada 100 g)</b>	<b>Yogurt simple</b>	<b>Yogurt deshidratado por liofilización reconstituido</b>	<b>Yogurt deshidratado por liofilización base seca</b>
Agua (g)	83.45±0.05	7.32±0.74	7.32±0.74
Sólidos Totales (g)	16.55±0.05	92.68±0.26	92.68±1.6
Grasa (g)	3.17±0.12	3.06±0.24	18.5±2.9
Proteína (g)	4.23±0.19	3.98±0.39	24.1±5.3
Carbohidratos (g)	7.58±0.26	8.72±0.15	49.4±3.5
Fibra (g)	0.0	0.0	0.0
Cenizas (g)	0.131±0.129	0.121±0.027	0.73±0.03

Como se mencionó anteriormente, debido a la infinidad de tipos de yogurt que existen actualmente en el mercado, la viscosidad y consistencia del producto varían ampliamente dependiendo del gusto del consumidor, ya que algunos lo prefieren como una bebida casi líquida, mientras que otros prefieren un producto más espeso tipo flan, sin embargo el tipo de yogurt que se deseaba obtener en el presente estudio era un yogurt batido en un punto intermedio de consistencia líquida y tipo flan. Como se puede observar en la Tabla #2 y en la Gráfica #1, se logró obtener una consistencia bastante aceptable, la cual no fue completamente líquida, pero tampoco se formó una gel que fuera

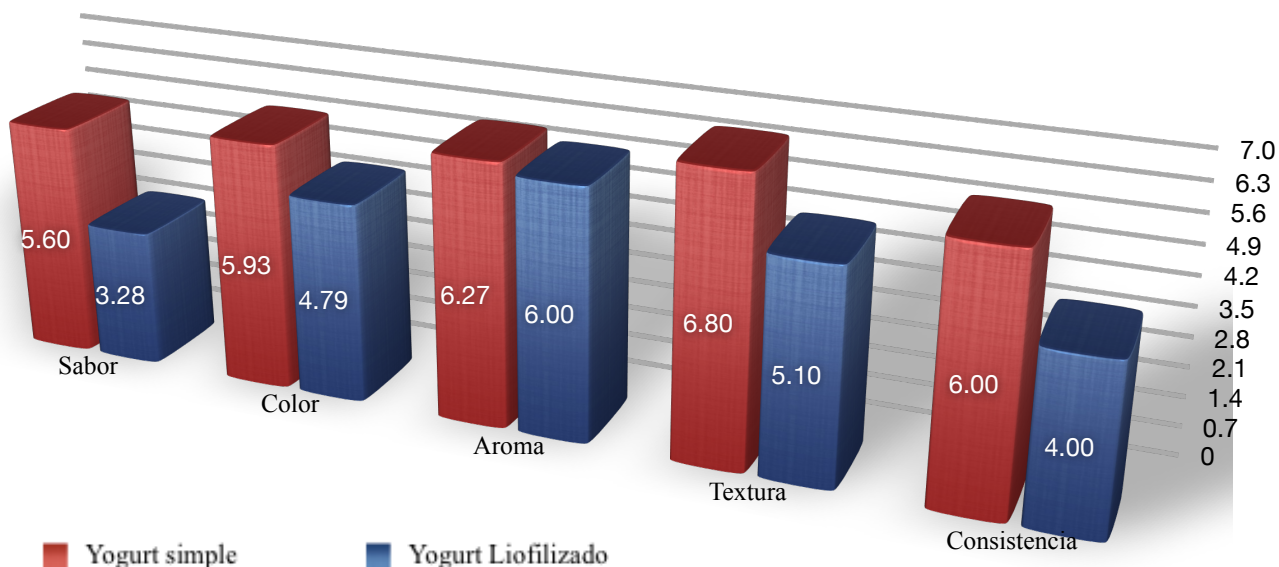
completamente firme. Se utilizó este dato como referencia para comparar con las muestras de yogurt deshidratado y reconstituido.

Tabla # 2. Resultados de reconstitución, viscosidad y consistencia de yogurt en base húmeda y deshidratado por liofilización

Muestra	Viscosidad (cP)	Consistencia (cm por cada 30 segundos)	Reconstitución*
Yogurt Simple	986±10	4.15±0.38	N/A
Yogurt liofilizado reconstituido	886±10	8.75±1.52	66%

\* Con base al porcentaje de humedad original descrito en la Tabla #1

Gráfica # 1. Evaluación de aceptabilidad sensorial del yogurt simple y yogurt deshidratado por liofilización.



El proceso de deshidratado que se utilizó principalmente en este estudio fue el proceso de liofilización. Éste se llevó a cabo por medio del congelamiento previo de la muestra durante 30 minutos y posteriormente se trasladó a los envases especiales para el proceso. El equipo se operó a una temperatura de  $-45^{\circ}\text{C}$  y 0.250 mBar de presión durante intervalos de tiempo de aproximadamente 5 horas por día, manteniendo congelada la

muestra entre cada intervalo. Se pudo observar que al igual que en otros estudios (Karadimov and Yurkov, 1975), el espesor de la capa de muestra en el recipiente influyó en el tiempo necesario para llevar a cabo el proceso de deshidratado, y debido a que se utilizaron frascos, el área superficial de contacto era reducida, obteniendo así una capa de muestra demasiado gruesa. Además por el hecho de tener que mantener la muestra en congelamiento de un intervalo de deshidratado a otro, se pudo haber favorecido la formación de cristales de agua grandes que pudieran afectar la estructura del producto final. Se puede observar en la Tabla #3 que el tiempo de deshidratado es demasiado largo para un proceso de producción industrial, sin embargo puede acortarse si se utilizaran bandejas en vez de frascos, ya que así se logra reducir el grosor de la capa de muestra, aumentando así el área superficial de contacto, al mismo tiempo que se puede deshidratar una mayor cantidad de muestra. Por otra parte, el rendimiento es relativamente bajo, lo cual estuvo relacionado con el contenido de agua del producto que es de 83%. El rendimiento podría mejorarse si se lleva a cabo un proceso de concentración previo al proceso de deshidratado, tal y como mencionan otros estudios. (Kumar, 2004) por medio de una filtración semejante al proceso utilizado para la elaboración del kéfir, sin embargo esto no se llevó a cabo ya que habría pérdida de proteína soluble en agua, y la comparación de procesos no sería válida al no haber igualdad de condiciones. A pesar de esto se logró obtener un producto con un contenido de humedad dentro de los rangos reportados previamente en otros estudios (menor al 10%) (Munk, 1981) tal y como se puede observar en la Tabla # 1.

Tabla # 3. Resultados de proceso de deshidratación de yogurt por liofilización.

<b>Muestra</b>	<b>Temperatura de operación</b>	<b>Presión de operación</b>	<b>Tiempo de operación*</b>	<b>Rendimiento</b>
Yogurt simple	-45±5°C	0.250 mBar	35±5 horas	17.06±0.92%

\*El tiempo de operación del proceso fue discontinuo. El tiempo total se expresó como la suma de intervalos trabajados de 5 horas.

El índice de absorción de agua fue otro parámetro de importancia ya que éste influye en la textura, así como la funcionalidad de la capacidad de incorporación de agua de un producto al momento que el yogurt en polvo fuera agregado como un ingrediente

así como en la reconstitución del yogurt en polvo en sí. Como se puede observar en la Tabla #4 el índice de absorción de agua es relativamente alto, lo cual también puede favorecer a mantener por mayor tiempo la humedad en productos de panificación, y darles una textura más suave y esponjosa evitando así la retrogradación. Así mismo se puede ver que el índice de absorción de aceite es muy similar al índice de absorción de agua, lo cual es de importancia ya que puede existir una mayor exposición a la oxidación de lípidos. Esto puede resultar en un nivel mayor de rancidez, por lo cual se reduce la vida de anaquel del producto. Al igual que con el índice de absorción de agua, la cantidad de grasa que pueda retener el producto afecta directamente en la textura del mismo.

Tabla # 4. Resultados de absorción de agua y grasa de yogurt deshidratado por liofilización.

<b>Muestra</b>	<b>Absorción de agua (g) (por cada 100 g)</b>	<b>Absorción de grasa (g) (por cada 100 g)</b>
Yogurt liofilizado	190±14	180±85

Uno de los objetivos del presente estudio fue evaluar el efecto del proceso de deshidratación en las propiedades reológicas del yogurt deshidratado al momento de ser reconstituido. El proceso de reconstitución del yogurt deshidratado se llevó a cabo mediante la adición de agua a temperatura ambiente (25°C) hasta llevarlo al contenido de humedad original. Como se puede observar en la Tabla #2 hubo variación en la viscosidad y la consistencia del yogurt, siendo más marcada en la consistencia. Estadísticamente no hubo diferencia significativa entre ambas muestras. Sin embargo al momento de hacer una evaluación sensorial sí se pudo observar una diferencia marcada entre ambas muestras, ya que la muestra de yogurt reconstituida presentó una consistencia más líquida que la muestra original, según los resultados observados en la Gráfica #1 y Tabla #5. Esto concuerda con otros estudios realizados a las propiedades reológicas (Rybka, S., Kailasapathy, K, 1997) . Esto pudo deberse al proceso de deshidratación, que pudo haber marcado una pérdida de la consistencia global, indicando un debilitamiento irreversible de la estructura de la gel. También cabe señalar que la energía mecánica necesaria para reducir el tamaño de la partícula del proceso trituración

manual y agitación para la reconstitución pudo derivar en el daño a la estructura del producto.

Tabla # 5. Comentarios de panelistas en las evaluaciones sensoriales de aceptabilidad de yogurt.

Comentario	Muestra	
	Yogurt simple en base húmeda	Yogurt deshidratado por liofilización y reconstituído
	Está muy líquido	Muy líquido
	Falta dulzor	Sabor residual no agradable
	Buena apariencia	Alta cantidad de grumos
	Buen color	Color muy oscuro
	Consistencia de gel	Ácido
	Muy espeso	Astringente
	Muy opaco	Color debería ser más claro
	Intensificar sabor	Sabor leve a leche

De igual manera se pudo observar que la reconstitución del yogurt no fue instantánea, habiendo formación de pequeños grumos sin disolverse completamente, lo cual dio una sensación de arenosidad. El sabor también se vio afectado ya que aumentó la acidez del yogurt. Esto también afectó la aceptabilidad general del producto, como se puede observar en la Gráfica #1, habiendo mayor diferencia en la textura, consistencia y sabor.

La microencapsulación de los microorganismos probióticos es una manera de protección contra condiciones adversas del entorno. Otros estudios (Chandramouli, *et al.* 2004) han demostrado que el proceso de liofilización reduce considerablemente la viabilidad de los probióticos, debido a su poca resistencia a muy bajas temperaturas, por lo que la microencapsulación puede ser una forma de aumentar la viabilidad no solamente durante el período de almacenamiento sino durante el proceso de digestión. En este estudio se utilizaron dos métodos diferentes de microencapsulación, el método de extrusión y el método de emulsión, los cuales son los más comúnmente utilizados. El método con mejores resultados fue el método de extrusión, ya que con el de emulsión no

fue posible separar las microcápsulas. Sin embargo con el método de extrusión las microcápsulas obtenidas tuvieron un tamaño relativamente grande, entre 0.3 y 1 mm de diámetro. Otros estudios (Chandramouli, *et al.* 2004) han reportado una viabilidad de los probióticos sin encapsular de 2 semanas a temperatura ambiente (21°C), y de hasta 6 meses a temperatura ambiente con la microencapsulación. Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los mencionados anteriormente en cuanto a la viabilidad de los probióticos después de 2 semanas de almacenamiento bajo condiciones ambientales (25 °C). En cuanto a la prueba de viabilidad de los probióticos microencapsulados según el método propuesto en este estudio, se observó que el tamaño de las microcápsulas evitó que se formara la gel característica al momento de producir el yogurt, y además no se vio un cambio significativo en el pH de la muestra, por lo que pudo haberse tomado como un resultado negativo, no obstante pudo ser que se necesitara una liberación de las microcápsulas, por lo que se modificó el procedimiento y se utilizaron condiciones ácidas para favorecer el rompimiento de las microcápsulas y la posterior liberación de los microorganismos probióticos, sin embargo el resultado de la prueba no fue positivo al no haber formación de la gel característica. Esto pudo deberse a que la población inicial de probióticos no se hubiera microencapsulado completamente y por lo tanto no hubiera alcanzado la población recomendada de  $1 \times 10^6$  células viables de *Lactobacillus* y/o *Bifidobacterium*  $g^{-1}$  (FAO/OMS, 2003), además que Estas son las más susceptibles a las bajas temperaturas utilizadas en el liofilizado.

Tabla # 6. Resultados de viabilidad de probióticos de yogurt deshidratado por liofilización

<b>Muestra</b>	<b>Tiempo en semanas</b>	<b>pH inicial</b>	<b>pH final</b>	<b>Prueba de viabilidad</b>
Yogurt liofilizado	3	6.87±0.05	4.52±0.05	Positiva
Yogurt liofilizado con probióticos microencapsulados	1	6.85 ±0.05	6.80 ±0.05	Negativa

Otro de los objetivos del presente estudio fue evaluar la funcionalidad antioxidante del yogurt al momento de agregarle frutas tropicales como el Acai y el sauco, las cuales han demostrado ser bayas con alto contenido de antioxidantes (Veberic,

2008) . En la actualidad los antioxidantes han tomado mucha relevancia en el tema de un estilo de vida y una dieta saludable, así como el tema de los alimentos funcionales y los nutracéuticos, por lo que alimentos como las bayas, entre ellas la mora, los arándanos rojos, el sauco y el acai, han llegado a ser parte importante de la dieta de los consumidores; además el yogurt se ha convertido en uno de los vehículos más utilizados para incorporar este tipo de frutas, por lo que se le ha dado un valor agregado, no solamente nutricional sino funcional. En este estudio también evaluó el efecto del procesamiento sobre los antioxidantes agregados al yogurt, por medio de la capacidad antioxidante. Para esto se evaluaron dos muestras; En la primera muestra se elaboró el yogurt y se le agregó jugo de acai y bayas sauco procesado en una proporción de 10 y 5% respectivamente, y luego se deshidrató por liofilización. En la segunda muestra primeramente se deshidrató el yogurt y luego se agregaron el acai en polvo y el sauco deshidratado, en las mismas proporciones que la primera muestra. Como se puede observar en la Tabla # 7 hubo variación en la capacidad antioxidante de ambas muestras. Sin embargo esta variación no fue estadísticamente significativa, por lo que el proceso de liofilizado no afectó significativamente la capacidad antioxidante. Así mismo se puede observar que otros estudios realizados de capacidad antioxidante de extracto de Acai (Gonçalves, *et al.*, 2011) y del aceite de Acai (Socorro, *et al.*, 2011) muestran una menor capacidad antioxidante que el yogurt de Acai y sauco, al tener valores más altos de EC<sub>50</sub>, lo cual significa que es necesario utilizar mayor cantidad de muestra para atrapar la misma cantidad de radicales libres. Esto sugiere que la combinación del Acai y el sauco en conjunto posean una mayor capacidad antioxidante y exista un grado de sinergia entre ambos.

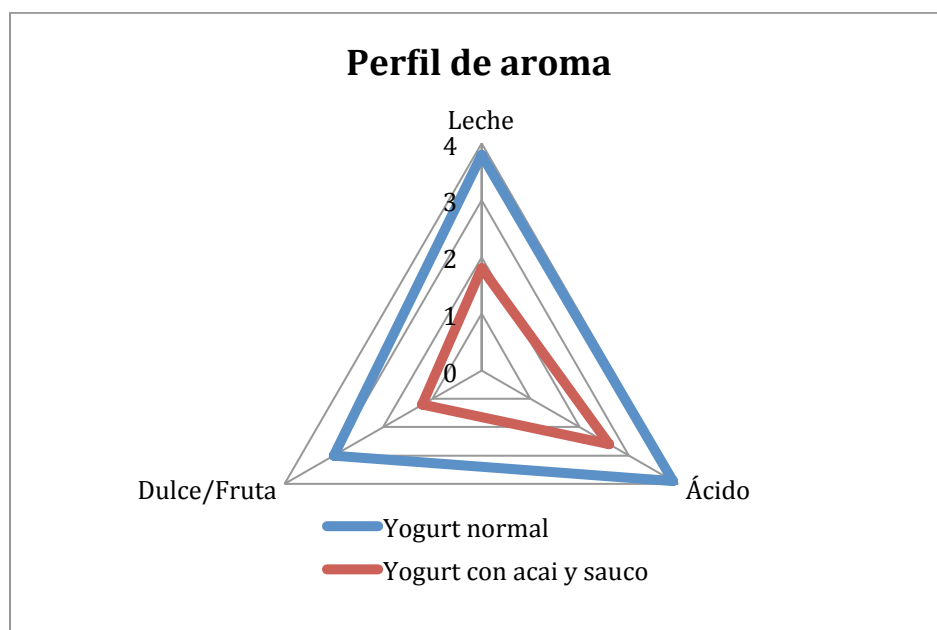
Tabla # 7. Resultados de capacidad antioxidante

<b>Muestra</b>	<b>EC50 (g muestra/g DPPH·)</b>
Yogurt con Açaí (10%) y sauco (5%) agregados previo al liofilizado	40±2
Yogurt en polvo con Açaí en polvo (10%) y sauco deshidratado (5%) agregados posteriormente al liofilizado del yogurt	44±2
Extracto de Acai	127.61 (Gonçalves, <i>et al.</i> , 2011)
Aceite de Acai	646±38 (Socorro, <i>et al.</i> , 2011)

Cabe mencionar que se observó que en la reconstitución de la segunda muestra se dio la separación de la grasa del yogurt, dando una apariencia poco agradable, la cual podría afectar la aceptabilidad del consumidor. Esto pudo ser causado por la falta de homogenización del yogurt previo al liofilizado, para evitar que los glóbulos de grasa se separaran, sin embargo en el caso de la primera muestra no se observó este problema. Otro factor que pudo afectar fue la solubilidad del acai en polvo que pudiera causar interferencia al momento de la reconstitución. También pudo afectar que la mezcla de los polvos no fuera correcta y que no quedara una mezcla homogénea.

Se llevó a cabo una evaluación del perfil sensorial tanto del yogurt simple como del yogurt reconstituido con acai y sauco con el fin de establecer las diferencias sensoriales que proveen las frutas antioxidantes al producto. Se pudo observar que el perfil del aroma tuvo una variación considerable, siendo el yogurt con acai y sauco la muestra con menor aroma, tal y como se muestra en la Gráfica #2.

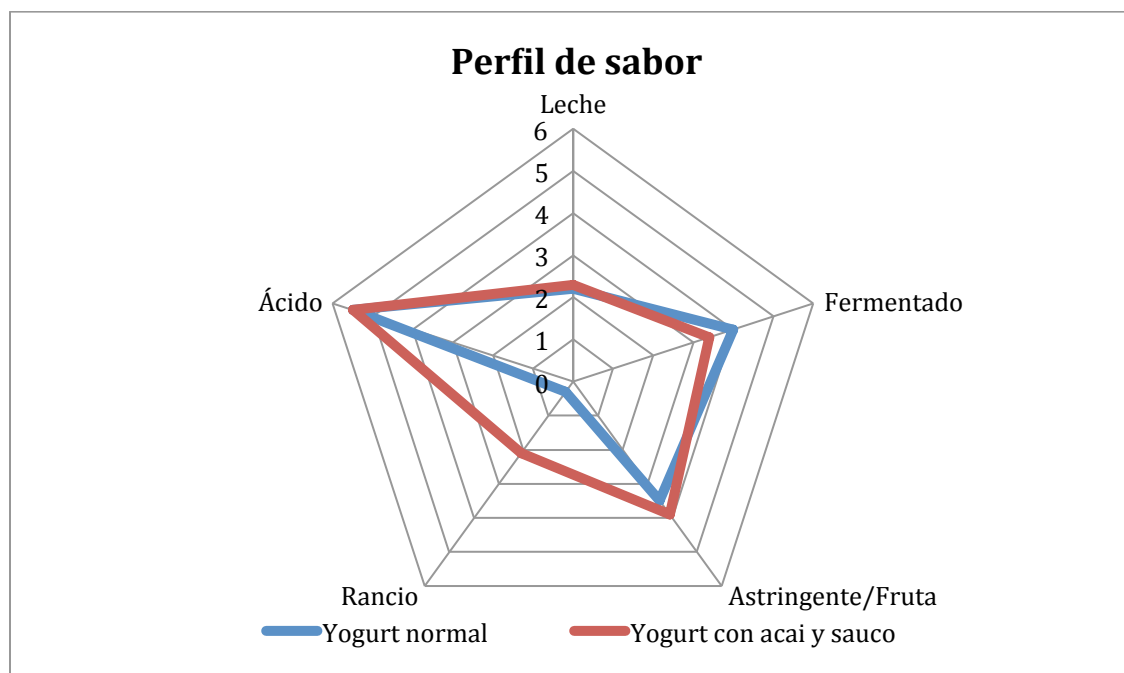
Gráfica # 2. Perfil de aroma del yogurt simple y yogurt con acai y sauco deshidratados por liofilización.



Esto pudo deberse a que el aroma del acai y del sauco no son muy comunes, resultando para los panelistas difícil de detectarlo o identificarlo. En cuanto al perfil de sabor, observado en la Gráfica #3, ambas muestras tuvieron un perfil muy similar, sin

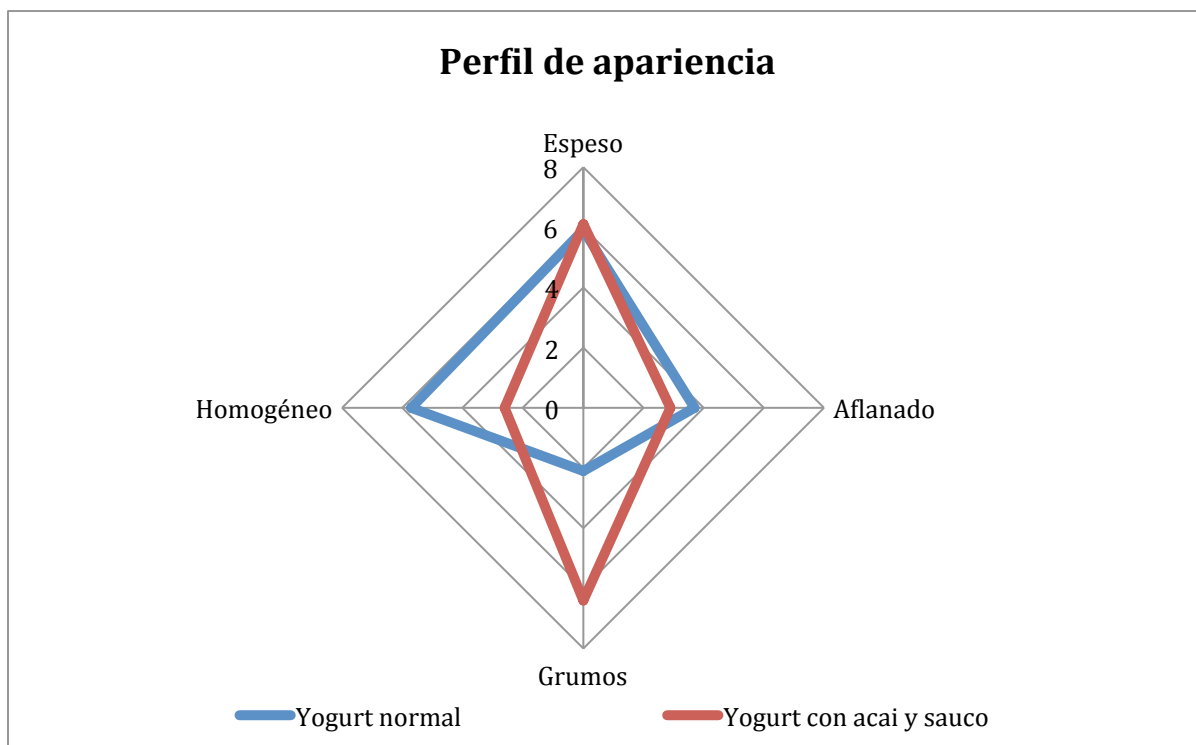
embargo el atributo de rancidez tuvo una diferencia significativa en la muestra de yogurt con acai y sauco.

Gráfica # 3. Perfil de sabor del yogurt simple y yogurt con acai y sauco deshidratados por liofilización.



Esto se pudo deber a factores como el proceso de deshidratado, ya que como se mencionó anteriormente hubo un cambio en el sabor del yogurt debido al liofilizado, además que la muestra pudo haber sufrido de oxidación durante el almacenamiento. El perfil de apariencia también tuvo una variación considerable entre ambas muestras tal y como se muestra en la Gráfica #4. Especialmente en la formación de grumos de la muestra deshidratada y en el atributo de homogéneo afectado directamente por los grumos, de igual manera como se mencionó, esto fue debido al proceso de reconstitución.

Gráfica # 4. Perfil de apariencia del yogurt simple y yogurt con acai y sauco deshidratados por liofilización.



La vida de anaquel es importante ya que con ésta se determina el tiempo que dura un producto bajo condiciones adecuadas. En este caso no se pudo utilizar el método acelerado ya que se afectaría a la población de microorganismos presentes a lo largo del tiempo. En la Tabla #8 se pueden observar las distintas semanas de vida según cada parámetro. En el caso de los parámetros de color y textura, la información obtenida fue muy subjetiva y proporcionó información con bastante error, por lo que los parámetros más exactos fueron la humedad y la actividad de agua. Estos últimos parámetros son de importancia ya que indican la posibilidad de crecimiento de microorganismos no deseados como hongos y levaduras. Como se puede observar el tiempo aproximado de vida de anaquel es de alrededor de 11 semanas, lo que equivale a cerca de 3 meses de vida. Sin embargo este valor pudo variar si se hubiera utilizado un empaque con menor permeabilidad a las condiciones ambientales y con menor intercambio de oxígeno y a la humedad. Se pudo observar un cambio en el color del producto a lo largo del tiempo, como se muestra en la Figura #6 en donde a partir de la semana 15 éste se tornó más oscuro. Esto pudo ser debido a la oxidación de lípidos, aunque no se presentó olor a

rancidez. No se encontró reportes de este efecto en estudios previos. La textura también sufrió cambios pero en menor grado. Se observó que hubo formación de aglutinamiento leve y se observó una reducción en la dispersabilidad.

Tabla # 8. Resultados de vida de anaquel de yogurt deshidratado por liofilización

<b>Parámetro</b>	<b>Tiempo de vida útil en semanas</b>
Textura	23
Color	22
Humedad	11
Actividad de agua	13

\*En la sección de Apéndice se muestran los gráficos de tendencia

## VI. CONCLUSIONES

A. Se logró obtener el yogurt deshidratado en polvo y aumentar la vida de anaquel de éste por medio del proceso de liofilización, a un lapso de aproximadamente 11 semanas.

B. El proceso de liofilizado fue una forma de evitar la pérdida de nutrientes como proteína, grasa y carbohidratos durante el deshidratado. Sin embargo se afectó significativamente las propiedades reológicas como la consistencia y la viscosidad.

C. Se determinó que el yogurt con acai y sauco posee mayor capacidad antioxidante que el aceite y los extractos de acai, además de que el proceso de liofilizado no afectó significativamente la capacidad antioxidante.

D. Se logró establecer que la aceptabilidad sensorial general del yogurt deshidratado por liofilización disminuyó en comparación del yogurt sin deshidratar.

E. Se logró determinar una viabilidad de los microorganismos probióticos en el yogurt deshidratado por liofilización durante el almacenamiento a temperatura ambiente de por lo menos dos semanas.

F. Se observó que la reconstitución del yogurt deshidratado por liofilización no es instantánea y se ve afectada por la energía mecánica utilizada en la agitación, formando grumos y afectando la aceptabilidad sensorial del producto.

## VII. RECOMENDACIONES

- A. Se recomienda realizar un método de deshidratado alternativo como el deshidratado al vacío, con microondas o el secado por aspersion para establecer si hay diferencia significativa entre ellos, así como la factibilidad de cada uno.
  
- B. En el caso del proceso de deshidratado por liofilización, se recomienda utilizar bandejas para reducir el espesor de la película de producto a deshidratar, y así hacer más eficiente el proceso.
  
- C. En próximos estudios, en la vida de anaquel, se recomienda realizar análisis microbiológicos para determinar cuantitativamente la viabilidad de los microorganismos probióticos antes y después del proceso de deshidratado y microencapsulación.
  
- D. Establecer si es necesario reducir el tamaño de partícula del yogurt deshidratado por liofilización y cómo esto afecta la solubilidad y reconstitución del mismo.
  
- E. Determinar el contenido óptimo de antioxidantes que no afecte la aceptabilidad y características sensoriales de consistencia, sabor, color y textura del yogurt deshidratado.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Adolfsson, O; Meydani, S. Rusell, R. 2004. *Yogurt and gut function*. American Journal of Clinical Nutrition. (80): 245-256.
2. Avello, C. 2009. Sector Alimentos Procesados. *Desafíos de la industria de alimentos procesados – alimentos funcionales*. ASVID Ltda. Chile. [http://www.bligoo.com/media/users/3/181209/files/18813/a\\_procesados\\_asvid\\_mayo09.pdf](http://www.bligoo.com/media/users/3/181209/files/18813/a_procesados_asvid_mayo09.pdf)
3. Axelsson, L. T. 1993. *Lactic acid bacteria: classification and physiology*. En *Lactic acid bacteria*. Eds. S. Salminen, & A. von Wright, Marcel Dekker Inc. New York, USA. 1-64.
4. Bielecka, M; Majkowska, A. 2008. *Effect of spray drying temperature of yoghurt on the survival of starter cultures, moisture content and sensoric properties of yoghurt powder*. *Nahrung*, (44): 257-260.
5. Brondizio, E, et al. 2002. *The urban market of acai fruit (Euterpe oleracea Mart.) and rural land use change: Ethnographic insights into the role of price and land tenure constraining agricultural choices in the Amazon estuary*. *Urban Ecosystems*, 6 (1): 67–97.
6. Burgain, J, et al. 2011. *Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications*. *Journal of Food Engineering*. 468-481.
7. Chandramouli, V, et al. 2004. *An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect Lactobacillus spp. in simulated gastric conditions*. *Journal of Microbiology Methods* (56); 27–35.
8. Chin, Y, et al. 2008. *Lignans and other constituents of the fruits of Euterpe oleraceae (acai) with antioxidant and cytoprotective activities*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56. (17): 7759–7764.
9. Christensen, L; Knaack, K, Frette, X. 2007. *Selection of elderberry (Sambucus nigra L.) genotypes best suited for the preparation of elderflower extracts rich in flavonoids and*

- phenolic acids*. European Food Research and Technology. 227. (1): 293–305.
10. Coïsson, J, *et al.* 2002. *Anthocyanins and other compounds from Euterpe oleracea: potential application as food functional pigment*. J. Empis Ed. Functionalities of pigments in food – conference proceedings. Lisbon: Sociedade Portuguesa de Quimica Publ. 337–340
  11. Coïsson, J, *et al.* 2005. *Euterpe oleracea juice as a functional pigment for yogurt*. *Food Research International*. (38): 893-897.
  12. Cook, M, *et al.* 2012. *The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice*. *Journal of Controlled Release*. (162): 56-67.
  13. Crittenden, R, *et al.* 2001. *Adhesion of bifidobacteria to granular starch and its implications in probiotic technologies*. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (8): 3469–3475
  14. Cui, J, *et al.* 2000. *Survival and stability of bifidobacteria loaded in alginate poly-l-lysine microparticles*. *International Journal of Pharmaceutics*. (210): 51–59.
  15. Dawidowicz, A; Wianowska, D, Baraniak, B. 2006. *The antioxidant properties of alcoholic extracts from Sambucus nigra L. (antioxidative properties of extracts)*. *Food Science Technology*. 39. (3): 308–315.
  16. Ding, W; Shah, N. 2009. *An improved method of microencapsulation of probiotic bacteria for their stability in acidic and bile conditions during storage*. *Journal of Food Science*. (74): M53–M61.
  17. Dunne, C. 2001. *Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder*. *Inflammatory Bowel Diseases*. (7): 136-145.
  18. FAO/OMS. 2002. *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. Food And Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. Working Group Report. Disponible en <http://www.fao.org/es/ESN/food/f>
  19. Gallori, S, *et al.* 2004. *Polyphenolic constituents of fruit pulp of Euterpe oleracea Mart. (acai palm)*. *Chromatographia*. 59. (11/12): 739–743
  20. Gardiner, G, *et al.* 2000. *Comparative survival rates of human-derived probiotic Lactobacillus paracasei and L. salivarius strains during heat treatment and spray drying*.

- Applied and Environmental Microbiology. (66): 2605–2612.
21. González-Martínez, C, *et al.* 2002. *Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality.* Trends in Food Science & Technology. (13): 334-340.
  22. Gouin, S., 2004. *Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends.* Trends in Food Science and Technology. 15 (7–8): 330–347.
  23. Hargrove, R; Alford, J. 1980. *Growth response of weaning rats to heated aged, fractionated and chemically treated yogurts.* Journal of Dairy Science. 63.(7): 1065–1072.
  24. Hill, A., Kethireddipalli, P. 2012. *Dairy Products: Cheese and Yogurt.* Biochemistry of Foods. 319-351.
  25. Holetz F, *et al.* 2002. *Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases.* Mem Inst Oswaldo Cruz.(97):1027–1031.
  26. Honzel, D, *et al.* 2008. *Comparison of chemical and cell-based antioxidant methods for evaluation of foods and natural products: Generating multifaceted data by parallel testing using erythrocytes and polymorphonuclear cells.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56. (18): 8319–8325.
  27. Hui, Y. 1993. “Yogurt”. *Dairy Science and Technology Handbook. Product Manufacturing.* Volume 2. Wiley-VCH Inc. USA. págs. 33-38.
  28. Inami O, *et al.* 1996. *Stability of anthocyanins of Sambucus canadensis and Sambucus nigra.* Journal of Agricultural Food Chemistry. (44):3090–3096.
  29. Kailasapathy, K; Chin, J. 2000. *Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp.* Immunology and Cell Biology. (78): 80-88.
  30. Kearney, N, *et al.* 2009. *Development of a spray dried probiotic yoghurt containing Lactobacillus paracasei NFBC 338.* International Dairy Journal. (19): 684-689
  31. Kim, S., Bhowmik,S. 1990. *Survival of lactic acid bacteria during spray drying of plain yogurt.* Journal of Food Science. (55): 1008.
  32. Krasaekoopt, W; Bhandari, B. y Deeth, H. 2003. *Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt.* International Dairy Journal. 13 (1): 3–13.
  33. Kumar, P., Mishra, H. 2004. *Yoghurt powder –a review of process technology, storage and utilization.* Food and Bioproducts Processing. (82): 133-142.

34. Lichtenthäler, R, *et al.* 2005. *Total oxidant scavenging capacities of Euterpe oleracea Mart. (Açaí) fruits*. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 56. (1): 53–64.
35. Mäkinen, A. M; Bigret, M. 1993. *Industrial use and production of LAB. En Lactic acid bacteria*. Eds. S. Salminen, & A. von Wright, Marcel Dekker Inc. New York, USA. 65-96.
36. McDonough, F, *et al.* 1982. *Effects of yogurt and freeze-dried yoghurt on growth stimulation of rats*. Journal of Food Science. (47): 1463–1465.
37. McKinley, M. 2005. *The nutrition and health benefits of yoghurt*. International Journal of Dairy Technology. 1-12.
38. Mokarram, R, *et al.* 2009. *The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice*. Food Research International (42): 1040–1045.
39. Mortazavian, A.M, *et al.* 2008. *Survival of encapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) after the product exposure to simulated gastrointestinal conditions*. Milchwissenschaft 63 (4): 427–429.
40. Ortiz, A. 2012. “El país importa 66% de lácteos”. Prensa Libre [Guatemala]. 1 de junio de 2012. [http://www.prensalibre.com/economia/pais-importa-lacteos\\_0\\_710928907.html](http://www.prensalibre.com/economia/pais-importa-lacteos_0_710928907.html)
41. Pinto, S, *et al.* 2012. *Effects of the addition of microencapsulated Bifidobacterium BB-12 on the properties of frozen yogurt*. Journal of Food Engineering. (111): 563-569.
42. Ramasubramanian, L; Restuccia, C†, Deeth, H. 2008. *Effect of Calcium on the Physical Properties of Stirred Probiotic Yogurt*. Journal of Dairy Science. (91): 4164–4175.
43. Reddy, G, *et al.* 1983. *Antitumor activity of yoghurt components*. Journal of Food Protection. (46): 8–11.
44. Rodriques, R, *et al.* (2006). *Total oxidant scavenging capacity of Euterpe oleracea Mart. (Acai) seeds and identification of their polyphenolic compounds*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54. (12): 4162–4167.
45. Ross, R, *et al.* 2005. *Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods*. Journal of Applied Microbiology. (98): 1410-1417
46. Rowley, J; Madlambayan, G. y Moonley D. 1999. *Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials*. Biomaterials. 20 (1): 45-53.
47. Rybka, S., Kailasapathy, K. (1997). Effect of freeze drying and storage on the

- microbiological and physical properties of AB-yoghurt. *Milchwissenschaft*. 52: 390–394.
48. Salji, J, *et al.* 1987, *Shelf life of plain liquid yogurt manufactured in Saudi Arabia*. *Journal of Food Protection*. 50. (2): 123–126.
49. Schauss, A, *et al.* 2006a. *Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, Euterpe oleracea Mart. (acai)*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54. (22): 8604–8610.
50. Schauss, A. 2010. *Acai (Euterpe oleracea Mart.): A macro and nutrient rich palm fruit from the Amazon rain forest with demonstrated bioactivities in vitro and in vivo*. *Bioactive foods in promoting health: Fruits and vegetables*. Oxford: Academic Press. 479–490.
51. Semyonov, D, *et al.* 2010. *Microencapsulation of Lactobacillus paracasei by spray freeze drying*. *Food Research International* 43 (1): 193–202.
52. Servin, A; Coconnier, M. 2003. *Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and the interaction with pathogens*. *Best practice & research. Clinical Gastroenterology* (17): 741-754.
53. Shahani, K, *et al.* 1983. *Antitumor activity of fermented colostrums and milk*. *Journal of Food Protection*. 46. (5): 385–386.
54. Singh, R; Heldman, D. 2009. “*Dehydration*”. *Introduction to food Engineering*. 4<sup>th</sup> Ed. Elsevier Inc. UK. págs. 663-664.
55. Sultana, K, *et al.* 2000. *Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yogurt*. *International Journal of Food Microbiology*. (62): 47-55.
56. Sun, W; Griffiths, M. 2000. *Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan-xanthan beads*. *International Journal of Food Microbiology*. (61): 17–25.
57. Veberic, R, *et al.* 2008. *European elderberry (Sambucus nigra L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols*. *Food Chemistry*. (114): 511-515.
58. Wang, Z, *et al.* 2006. *Powder formation by atmospheric spray-freeze-drying*. *Powder Technology* 170. (1): 45–52.
59. Wu, X, *et al.* 2004. *Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods*

- in the United States*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52. (12): 4026–4037.
60. Zudiam, N; Shimoni, E. 2009. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. Springer-Verlag, New York Inc. 3-29.

## IX. ANEXOS

Figura # 6. Muestras de yogurt liofilizado después de: a) 1 semana b) 15 semanas c) 20 semanas.

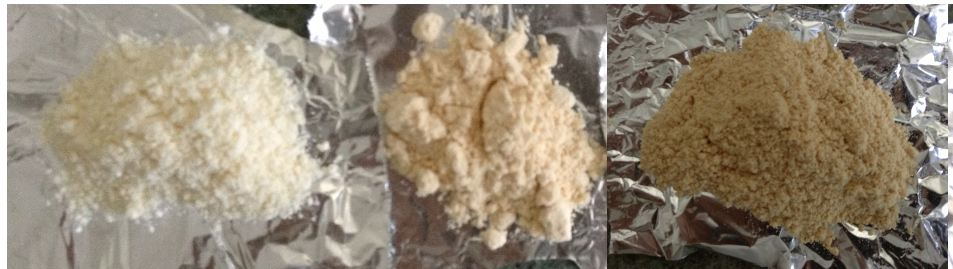


Figura # 7. Equipo utilizado para el proceso de deshidratado por liofilización.



Figura # 8. Recipiente utilizado para colocar la muestra en el liofilizador.



Figura # 9. Microcápsulas de probióticos liofilizadas.

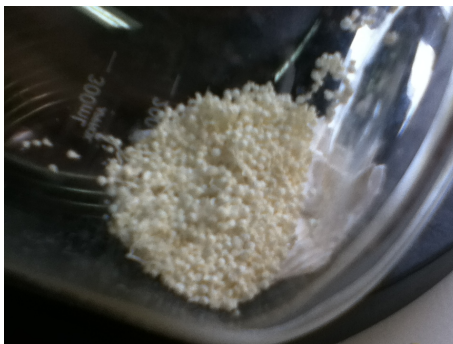


Figura # 10. Gráfico de tendencia antioxidante de yogurt con antioxidantes liofilizado.

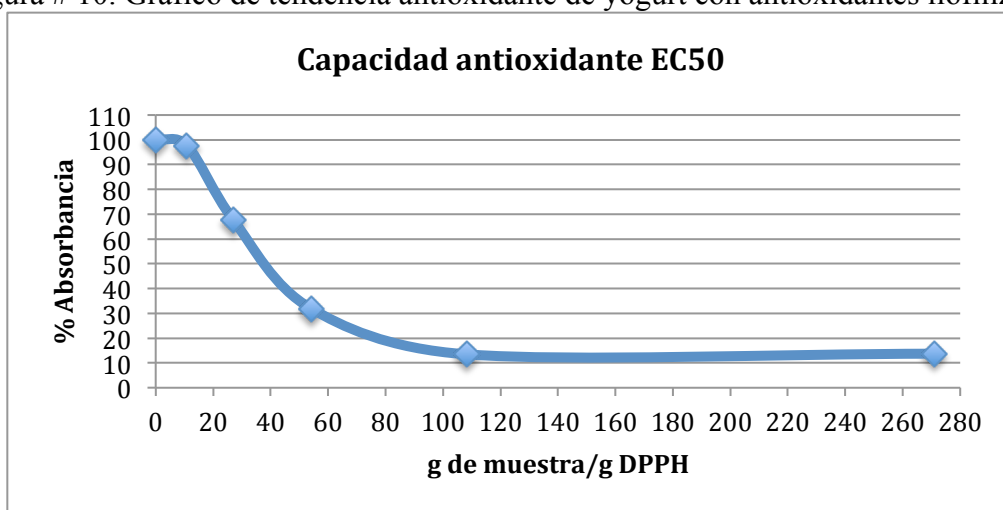


Figura # 11. Gráfico de tendencia antioxidante de yogurt liofilizado con antioxidantes agregados.

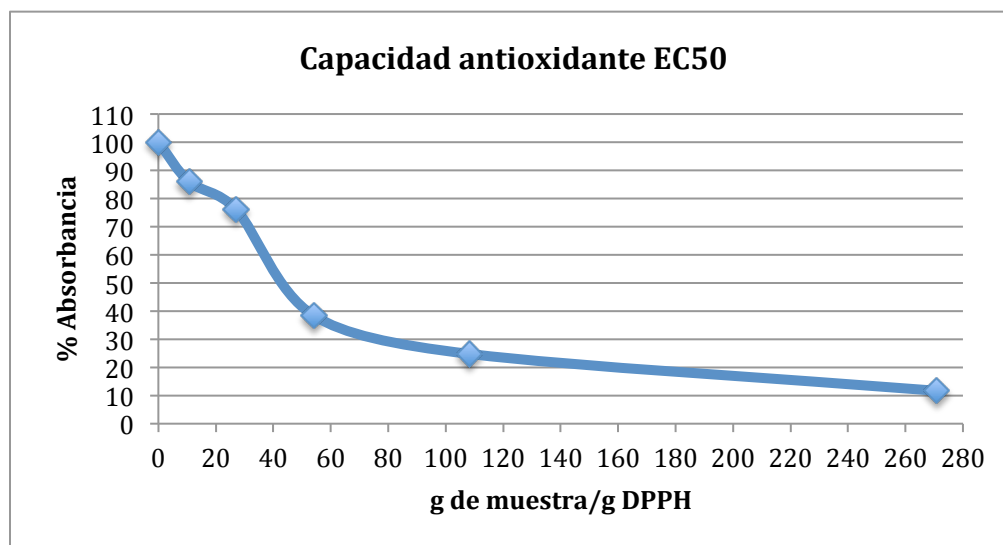


Figura # 12. Gráfico de tendencias de parámetros de vida de anaquel.

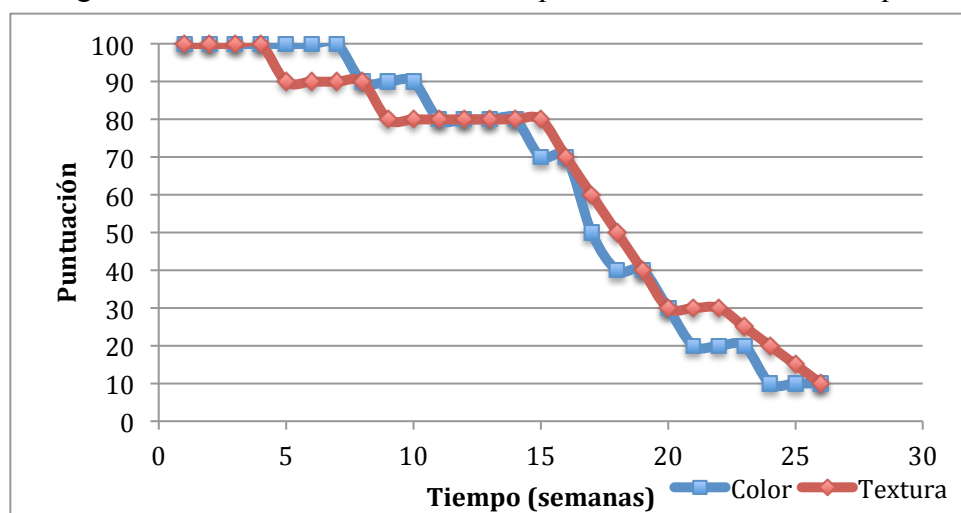


Figura # 13. Gráfico de tendencias de parámetros de vida de anaquel.

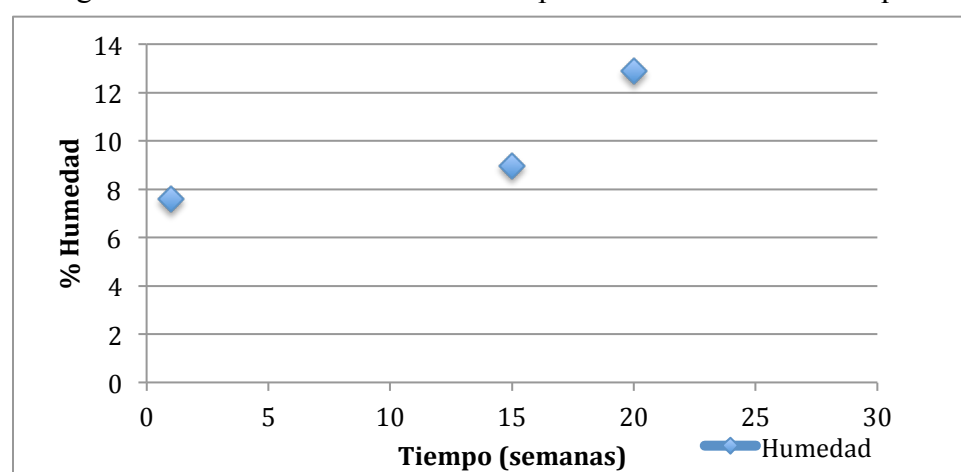
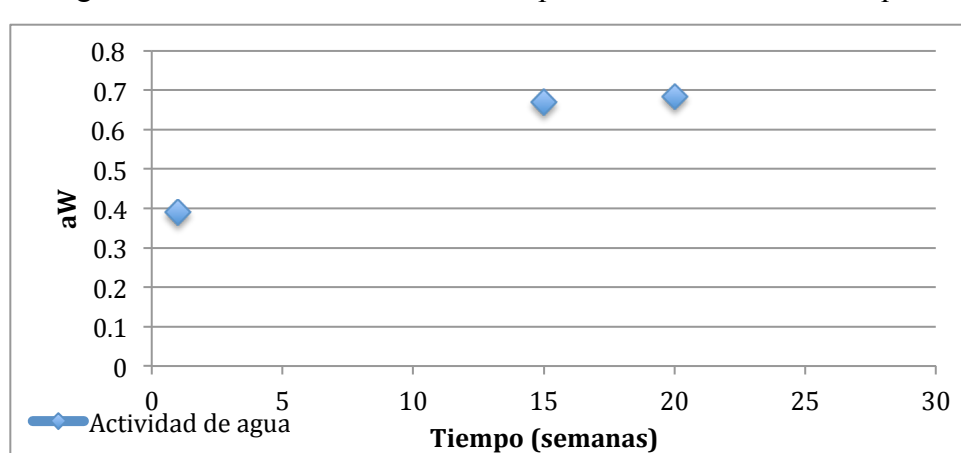


Figura # 14. Gráfico de tendencias de parámetros de vida de anaquel.





Fecha: \_\_\_\_\_

**BOLETA DE EVALUACIÓN  
ACEPTABILIDAD DE YOGURT**

A continuación se le presentará una muestra de yogurt. Por favor sírvase observar, oler y probar la muestra. Indique el grado en que le gusta o le disgusta la muestra seleccionando el puntaje en la Tabla No.1 y colocándolo en la Tabla No. 2 para cada una de las características indicadas.

**Tabla No. 1**

<b>Puntaje</b>	<b>Descripción</b>
9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta un poco
6	Me gusta levemente
5	Ni me gusta, ni me disgusta
4	Me disgusta levemente
3	Me disgusta un poco
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

**Tabla No. 2**

<b>Atributo</b>	<b>Código</b>
SABOR	
COLOR	
AROMA	
CONSISTENCIA	
APARIENCIA	

Comentarios:

---

---

¡Gracias por su participación!



Fecha: \_\_\_\_\_

**BOLETA DE EVALUACIÓN  
PERFIL DE SABOR, AROMA Y APARIENCIA  
DE YOGURT**

A continuación se le presentan 2 muestras de yogurt. Pruebe las muestras de izquierda a derecha. Califique la intensidad con que se detecta cada uno de los descriptores de aroma, sabor y apariencia que se perciben utilizando una escala de 0 a 7, donde 0 será un atributo no percibido y 7 la máxima intensidad.

Atributo de aroma

<b>Código</b>	<b>Leche</b>	<b>Ácido</b>	<b>Dulce/Fruta</b>

Atributo de sabor

<b>Código</b>	<b>Leche</b>	<b>Fermentado</b>	<b>Astringente/Fruta</b>	<b>Rancio</b>	<b>Ácido</b>

Atributo de apariencia

<b>Código</b>	<b>Espeso</b>	<b>Aflanado</b>	<b>Grumos</b>	<b>Homogéneo</b>

Por favor anote si encontró algún otro atributo que se pudiera usar de descriptor en cuanto a:

Aroma: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Sabor: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Apariencia: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¡Gracias por su colaboración!