



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Desarrollo de un yogur estilo griego reducido en azúcar,
utilizando glicomacropéptido como sustituto de grasa”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestría en Ciencia y Tecnología de alimentos

Presenta:

I.Q. Al. Liliana Godoy García

Dirigida por:

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano


Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Presidente

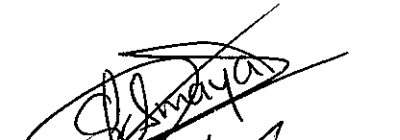


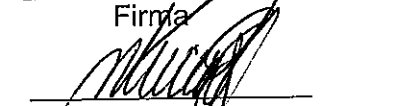
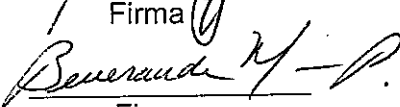
Dr. Eduardo Castaño Tostado
Secretario

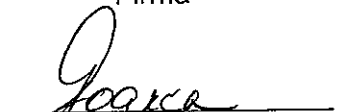
Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Vocal

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente

Dra. Beneranda Murúa Pagola
Suplente


MSP. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad


Firma

Firma

Firma

Firma

Firma


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación y Posgrado

RESUMEN

Actualmente el yogur estilo griego en México se ha convertido en un alimento popular, ocupando el 5^{to} lugar a nivel mundial en su consumo. Al ser el yogur estilo griego un yogur concentrado, su densidad calórica se ve aumentada, aditivos como los edulcorantes no calóricos y los miméticos de grasa son usados para disminuir las calorías aportadas por los alimentos. El glicomacropéptido (GMP) es obtenido principalmente por la precipitación con calor de las proteínas del suero quedando él en el sobrenadante, este péptido presenta algunas características de un mimético de grasa; sin embargo, no existen estudios reportados de su inclusión a un alimento con este propósito. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue el desarrollo de un yogur estilo griego reducido en azúcar, utilizando el glicomacropéptido como sustituto de grasa y cuantificar su impacto en las propiedades físicas, químicas y sensoriales del yogur. Primeramente se determinó el efecto de los tratamientos térmicos 70°C (150 y 200 min), 80° (150 y 200 min) y 90°(60 min) sobre soluciones de aislado de WPI al 10% en la recuperación del glicomacropéptido. La incorporación del GMP en polvo se hizo en tres niveles (0, 0.25, 0.5 y 0.75%) a tres diferentes yogures reducidos en azúcar (reducido en grasa, bajo en grasa y sin grasa) a los cuales se les midió la acidez titulable, sinéresis, firmeza, reología y gránulos en el yogur. El tratamiento térmico que resultó en una mayor pureza del glicomacropéptido fue 90°C/60 min, logrando obtener el GMP en polvo con valores nutricionales similares al GMP comercializado por empresas internacionales. La adición del GMP a los yogures griegos reducidos en azúcar tuvieron impacto en la disminución de los gránulos, la sinéresis y en geles más suaves, todo lo anterior sin afectar el pH del yogur. Los niveles de 0.5 y 0.75% fueron los que tuvieron un efecto significativo sobre las características de calidad mencionadas anteriormente del yogur. La vida de anaquel sensorial del yogur estilo griego reducido en azúcar, bajo en grasa y 0.75 % de GMP (YG_{RB}) sin conservadores y almacenado en refrigeración fue de 30 días y tuvo como indicador crítico la acidez titulable la cual tuvo una correlación de 0.9512 con respecto a la aceptación sensorial del yogur en el tiempo.

(Palabras claves: glicomacropéptido (GMP), mimético de grasa, yogur estilo griego).

ABSTRACT

The greek style yogurt consumption in Mexico is in 5th place, becoming in a popular product. Energy density in greek style yogurt is increased due to is a concentrated yogurt; additives like no-caloric sweeteners and fat mimetics are used to decrease amount of calories. The glycomacropeptide presents some characteristics of fat mimetic, however no studies have been reported in yogurt. Glycomacropeptide (GMP) isolation is achieved by heat precipitation of whey proteins. The objective of this work was development a greek style yogurt reduced in sugar with glycomacropeptide (GMP) as a fat substitute and its impact on the physical, chemical and sensory properties of the yogurt. The effect of heat treatments 70°C (150 and 200 min), 80° (150 and 200 min) and 90° (60 min) on 10% whey protein isolate solutions in the glycomacropeptide (GMP) recovery were determined. The GMP powder was incorporate at three different levels (0, 0.25, 0.5 and 0.75%) to three different reduced-fat yogurts (reduced fat, low fat and fat free) and titratable acidity, syneresis, firmness, rheology and grainy texture were measured in yogurt samples. Higher purity of the GMP was achieved at 90 °C/60 minutes. We obtained GMP powder with equal nutritional values to as those elaborated by international food companies. GMP in sugar-reduced yogurts no affect the yogurt pH. Since GMP reduced the grainy texture and syneresis, softer gels were obtained. GMP levels of 0.50 and 0.75% had better effect on the previous quality parameters. The sensory shelf life of greek style yogurt reduced in sugar, low fat and 0.75% of GMP (YG_{RB}) stored in refrigeration and without preservative was 30 days and with titratable acidity as critical indicator.

(Key words: glycomacropeptide (GMP), fat mimetic, greek style yogurt).

A mis padres y hermanos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca económica durante la realización del proyecto.

Al área de Ingeniería de Alimentos Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro por la disposición de equipos para la realización del proyecto.

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav) Querétaro por la siempre disposición de equipos para la realización del proyecto.

A la Dra. Silvia Lorena Amaya por su confianza, comprensión y su apoyo intelectual y emocional.

A los doctores que participan en mi comité por compartir sus conocimientos, experiencias, disciplina y pasión por lo que hacen.

A mis compañeros de laboratorio, amigas y amigos que al leer esto saben que les dedico este párrafo. Por lo mucho que me dan a cambio de mi cariño, me regresan un apoyo tan grande que no me alcanzan las palabras para agradecerles lo mucho que hacen por mí y porque sin ustedes no hubiera terminado este proyecto con la satisfacción que lo concluyo.

A Luis Landeros por tener siempre algo que aprender de ti y por demostrarme tantas veces tu cariño con tu apoyo.

A mis padres y hermanos que siempre están ahí para ver mis logros y derrotas por la fortaleza que me dan y por ser lo mejor que me regaló Dios.

Gracias a todos por enseñarme a ser mejor persona en la vida

ÍNDICE

	PÁGINA
1 INTRODUCCIÓN	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 PRODUCTOS LÁCTEOS	2
2.2 PROTEÍNAS LÁCTEAS SÉRICAS	2
2.3 LECHES FERMENTADAS	3
2.3.1 Yogur	5
2.3.2 Yogur estilo griego	6
2.3.2.1 Procesos de manufactura del yogur estilo griego	7
2.3.2.2 Parámetros de calidad del yogur estilo griego	8
2.4 ADITIVOS	9
2.4.1 Edulcorantes no calóricos	10
2.4.2 Sustitutos de grasa	10
2.5 GLICOMACROPÉPTIDO	11
2.5.1 Propiedades tecnológicas del glicomacropéptido	13
3 JUSTIFICACIÓN	16
4 OBJETIVOS	17
4.1 OBJETIVO GENERAL	17
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES	17
5 METODOLOGÍA	18
5.1 MATERIALES	18
5.1.1 Material lácteo	18
5.1.2 Material biológico	18
5.2 MÉTODOS	18
5.2.1 Evaluación de tratamientos térmicos en soluciones de WPI para la obtención del glicomacropéptido (GMP)	18
5.2.2 Identificación y cuantificación del glicomacropéptido por RP-HPLC en sobrenadantes de WPI (SWPI _T)	20

5.3	FORMULACIÓN DE LOS YOGURES ESTILO GRIEGO REDUCIDOS EN AZÚCAR	20
5.3.1	Análisis microbiológico de los yogures estilo griego con reducción de azúcar	21
5.3.2	Evaluación sensorial afectiva de sabor de los yogures estilo griego con reducción de azúcar	22
5.4	AJUSTE EN FIRMEZA DE LA FORMULACIÓN DEL YOGUR ESTILO GRIEGO REDUCIDO EN AZÚCAR (YG _R) A YOGURES COMERCIALES	23
5.5	EFEECTO DEL GLICOMACROPÉPTIDO COMO SUSTITUTO DE GRASA EN EL YOGUR ESTILO GRIEGO REDUCIDO EN AZÚCAR (YG _R)	23
5.6	DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL SENSORIAL DEL YOGUR ESTILO GRIEGO REDUCIDO EN AZÚCAR Y BAJO EN GRASA (YG _{RB})	24
5.7	PARÁMETROS DE CALIDAD Y ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS DEL YOGUR ESTILO GRIEGO.....	24
5.7.1	Sinéresis.....	24
5.7.2	Análisis de firmeza	26
5.7.3	Reología	26
5.7.4	Gránulos en el yogur	26
5.7.5	Acidez titulable y pH.....	27
5.7.6	Análisis bromatológicos.....	27
5.8	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
6.1	EFEECTO DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS DE SOLUCIONES DE WPI EN LA OBTENCIÓN DEL GLICOMACROPÉPTIDO	28
6.1.1	Identificación de los tiempos de retención del GMP y β -LG por HPLC-RP en sobrenadantes del WPI (SWPI _T).....	28
6.1.2	Cuantificación del glicomacropéptido y β -Lactoglobulina en sobrenadantes SWPI _{TD}	29
6.1	OBTENCIÓN DEL GLICOMACROPÉPTIDO (GMP) PARA LA PRODUCCIÓN DE YOGUR ESTILO GRIEGO.....	32
6.2	EVALUACIÓN DE SABOR DE LOS YOGURES ESTILO GRIEGO CON REDUCCIÓN DE AZÚCAR	35

6.2.1	Análisis microbiológico de los yogures estilo griego con reducción de azúcar	35
6.2.2	Evaluación sensorial afectiva de sabor de los yogures estilo griego con reducción en azúcar	35
6.3	AJUSTE DE TEXTURA DEL YOGUR YG _R A YOGURES ESTILO GRIEGO PRESENTES EN EL MERCADO	38
6.4	EFFECTO DEL GLICOMACROPÉPTIDO COMO SUSTITUTO DE GRASA SOBRE PARÁMETROS DE CALIDAD DEL YOGUR YG _R	40
6.4.1	Efecto del glicomacropéptido (GMP) sobre acidez, pH y sinéresis.....	40
6.4.2	Efecto del glicomacropéptido (GMP) sobre firmeza y reología	41
6.4.3	Efecto del glicomacropéptido (GMP) sobre gránulos del yogur	46
6.1	YOGUR ESTILO GRIEGO YG _R BAJO EN GRASA.....	51
6.1.1	Información nutrimental	51
6.1.2	Determinación de la vida de anaquel sensorial.....	52
6.1.2.1	Estudio de supervivencia	52
6.1.2.2	Metodología Cut-off-point (COP)	54
7	CONCLUSIONES	57
8	LITERATURA CITADA.....	59
9	ÁPENDICE.....	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Tipos de leches fermentadas según el microorganismo o grupo de microorganismos fermentadores utilizados	4
2	Especificaciones fisicoquímicas para yogur según NOM-181-SCFI	5
3	Especificaciones microbiológicas para yogur según NMX-F-444-1983	5
4	Recuperación del glicomacropéptido (GMP) del suero dulce de cabra	15
5	Propiedades gelificantes del glicomacropéptido (GMP)	15
6	Diseño de experimentos para la obtención del glicomacropéptido (GMP)	20
7	Ingredientes de la formulación original del yogur estilo griego (YG ₀)	21
8	Ajuste de ingredientes para formulaciones del yogur estilo griego con reducción de azúcar	21
9	Concentración del glicomacropéptido (GMP) y β -lactoglobulina (β -LG) en sobrenadantes de WPI tratado térmicamente (SWPI _{TD})	32
10	Valor nutrimental del glicomacropéptido (GMP) en polvo	35
11	Evaluación microbiológica de los yogures estilo griego con reducción de azúcar	36

Cuadro		Página
12	Tabla de contingencia de la evaluación sensorial de los yogures estilo griego con reducción de azúcar	38
13	Firmeza de yogures estilo griego variando el porcentaje de gretina y yogures estilo griego comerciales	39
14	Parámetros de calidad de la formulación reducida en azúcar y de yogures comerciales	40
15	Efecto del nivel de glicomacropéptido (GMP) sobre acidez, pH y sinéresis del yogur YG _R	41
16	Parámetros de calidad de la leche baja en grasa utilizada en la elaboración de los lotes de yogur estilo griego	51
17	Información nutrimental del yogur estilo griego YG _{RB} utilizando glicomacropéptido (GMP) como mimético de grasa y rangos de yogures estilo griego comerciales	52
18	Comparación de modelos probabilísticos para el comportamiento de la aceptación sensorial del yogur YG _{RB} con respecto al tiempo	53
A-1	Abreviaturas de empleo en español	66
A-2	Códigos usados para fines del presente trabajo	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Secuencia de aminoácidos del glicomacropéptido (GMP) variantes A y B	12
2	Proceso de obtención del glicomacropéptido (GMP)	19
3	Diagrama de flujo para la producción del yogur estilo griego	22
4	Formato para la evaluación sensorial de sabor de los yogures estilo griego con reducción de azúcar	23
5	Diseño reversa de la vida de anaquel sensorial del yogur YG _{RB}	25
6	Formato para evaluar la vida de anaquel sensorial del yogur YG _{RB}	25
7	Identificación de los tiempos de retención del GMP y β -LG por HPLC-RP a 214 nm en sobrenadantes SWPI _T	30
8	Glicomacropéptido (GMP) en sobrenadante de WPI sometido a 90°C/60 min a pH:5.07 y pH: 6.9 (de izquierda a derecha)	
9	Pureza del glicomacropéptido (GMP) en sobrenadantes de WPI sometido a diferentes tratamientos térmicos	33
10	Identificación de los tiempos de retención del GMP y β -LG por HPLC-RP a 214 nm en sobrenadante de WPI tratado a 90°C/60 min	34
11	Estructura química del ácido siálico	34

Figura		Página
12	Placas de coliformes totales y control negativo de yogures con reducción en azúcar	36
13	Placas de hongos y levaduras de yogures con reducción en azúcar y control negativo	36
14	Gráfico de mosaicos de la evaluación sensorial de las formulaciones de yogur estilo griego con reducción del 25 % y 50% en azúcar, utilizando una escala hedónica de 5 puntos	37
15	Firmeza de los yogures YG _R (reducidos en grasa, bajos en grasa y sin grasa) con diferentes porcentajes de glicomacropéptido (GMP)	43
16	Barrido de deformación para los yogures YG _R reducidos en grasa con 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75% de glicomacropéptido (GMP)	44
17	Barrido de deformación para los yogures YG _R bajos en grasa con 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75% de glicomacropéptido (GMP)	45
18	Yogur estilo griego YG _R bajo en grasa con 0.25 % y 0.75 % de glicomacropéptido (de izquierda a derecha)	45
19	Barrido de deformación para los yogures YG _R sin grasa con 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75% de glicomacropéptido (GMP)	46
20	Gránulos de 1mm o mayores por gramo en los yogures YG _R (reducidos en grasa, bajos en grasa y sin grasa) con 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75% de glicomacropéptido (GMP)	47
21	Gránulos de 1mm o mayores en los yogures YG _R estilo griego reducido en grasa con con 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75 % de glicomacropéptido (GMP)	48

Figura		Página
22	Gránulos de 1mm o mayores en los yogures YG _R bajo en grasa 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75 % de glicomacropéptido (GMP)	49
23	Gránulos de 1mm o mayores en los yogures YG _R sin grasa 0% (a), 0.25% (b), 0.50% (c) y 0.75% (d) de glicomacropéptido (GMP)	50
24	Ajuste a un modelo exponencial los datos sensoriales del yogur YG _{RB} almacenado a diferentes tiempos	54
25	Regresión lineal entre el % de rechazo de los consumidores y el % de acidez del yogur YG _{RB}	55
26	Perfilador de la probabilidad de rechazo en la distribución exponencial a los 30 días del yogur YG _{RB}	56

1 INTRODUCCIÓN

Un mayor conocimiento de las enfermedades no transmisibles en los últimos años ha hecho que las personas realicen diferentes actividades para cuidar su salud: realizar ejercicio, comer alimentos saludables y tener un menor consumo de alimentos ricos en azúcar y grasa, por lo anterior se ha desplegado la necesidad del desarrollo de alimentos saludables con buena aceptación sensorial. Cabe mencionar que una reducción del contenido de grasa y azúcar en la formulación de alimentos sigue siendo un reto en la industria alimentaria por sus consecuencias negativas en las propiedades mecánicas y sensoriales del producto, así que la elección de sustitutos de grasa y edulcorantes no calóricos debe ser estudiada para que éstos no comprometan la identidad y calidad del alimento.

Entre los alimentos que se han ganado la confianza del consumidor por sus beneficios a la salud se encuentran los cereales, frutas, verduras y los productos lácteos quienes han ocupado en México los primeros lugares en valor de ventas. Dentro de los productos lácteos con gran éxito en el mercado mexicano se encuentra el yogur griego que al ser un yogur concentrado su contenido nutricional es alto, incluyendo la cantidad de grasa.

Entre los edulcorantes artificiales no calóricos más importantes y más usados en la industria láctea por sus características tecnológicas se encuentra la sucralosa y en cuanto a los miméticos de grasa se encuentran los de naturaleza proteica como son los de origen lácteo los cuales tienen ventajas tecnológicas frente otras fuentes o bien cuando algunas regulaciones prohíben la adición de productos de origen no lácteo a diferentes alimentos lácteos.

Un compuesto proteico del suero lácteo es el glicomacropéptido (GMP) el que al igual que los miméticos comerciales derivados de suero lácteo tiene la capacidad para formar geles mediante fuertes interacciones hidrofóbicas entre los monómeros de la misma molécula, por lo que su uso como sustituto de grasa en un

alimento rico en grasa y que adicionalmente sea popular en la población mexicana como es el yogur griego, resulta de suma importancia para el presente trabajo de i

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Productos lácteos

Los productos lácteos definidos como un producto obtenido a partir de la leche con la sola adición de aditivos alimentarios, coadyuvantes de elaboración u otros ingredientes funcionalmente necesarios para el proceso de fabricación (FAO, 2017).

Los productos lácteos son en general fuentes importantes de micro-nutrientes como: calcio, magnesio, selenio, riboflavina, vitamina B12 y vitamina B5. Los productos lácteos no contiene sustancias que inhiben la bioavilidad de sus minerales y además son ricos en proteínas de alto valor biológico (Food and Agriculture Organization of the United Nations , 2013)

Además de ser alimentos que por su naturaleza son ricos en nutrientes y macronutrientes necesarios para una buena nutrición humana, pareciera ser que las las nuevas tendencias alimentarias y la preocupación por la salud han hecho que los lácteos se perfilen como alimentos con un crecimiento importante en su demanda a corto plazo (Yver et al., 2012).

2.2 Proteínas lácteas séricas

El contenido normal de proteínas en la leche bovina es en promedio 3.5 %, de las cuales se dividen en dos grandes grupos: las caseínas (80%) y las proteínas séricas (20 %).

Las proteínas séricas están compuestas de β -Lactoglobulina (β -LG), α -Lactolbumina (α -LA), glicomacropéptido (GMP), albúmina sérica bovina (BSA) e inmunoglobulinas, todas ellas con gran importancia en el mercado. Entre las principales formas de obtención de las proteínas séricas lácteas a escalas comerciales son ultrafiltración/diafiltración, cromatografía de intercambio iónico y mediante desnaturalización térmica (Yver et al., 2012).

El incremento de la importancia industrial de estas proteínas radica en sus características nutricionales (alto contenido de aminoácidos ramificados y esenciales), funcionalidad biológica (posibles beneficios en enfermedades metabólicas como hipertensión, obesidad y diabetes) y tecnológicamente (por sus propiedades superficiales como es espumado y/o gelificación) y su aplicación para biopelículas comestibles de liberación controlada (Krzeminski et al., 2014; Patel, 2015; Morales et al., 2016).

2.3 Leches fermentadas

Una leche fermentada la define el CODEX como “un producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, que puede haber sido elaborado a partir de productos obtenidos de ésta con o sin modificaciones, por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica)”. Estos cultivos de microorganismos deberán ser viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de duración mínima. En caso de que el producto fuese tratado térmicamente luego de la fermentación, no se debe aplicar el requisito de microorganismos viables.

Dentro de estas leches se encuentra la leche fermentada concentrada, que es una leche fermentada cuya proteína ha sido aumentada antes o luego de la fermentación a un mínimo del 5.6 %. Las leches fermentadas concentradas incluyen productos tradicionales tales como *stragisto* (yogur colado), *labneh* o bien el yogur estilo griego. Las leches fermentadas se pueden clasificar por el cultivo específico o cultivos utilizados para su fermentación como se observa en el Cuadro 1.

En las leches fermentadas podrán emplearse distintos tipos de aditivos alimentarios como son reguladores de acidez, gasificantes, colorantes, emulsionantes, acentuadores de sabor, estabilizantes, espesantes y edulcorantes (Codex Alimentarius, 2011).

En temas de bienestar, las leches fermentadas se han asociado con una serie de propiedades de salud intestinal al inhibir la supervivencia y crecimiento de

patógenos intestinales como la *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* y proteger las úlceras gastrointestinales, también su consumo se ha relacionado con reducción del colesterol principalmente la lipoproteína de baja densidad (LDL) y efectos antioxidantes (Ebringer et al., 2008).

Cuadro 1. Tipos de leches fermentadas según el microorganismo o grupo de microorganismos fermentadores utilizados (Modificado del Codex Alimentarius, 2011).

Yogur:	Cultivos simbióticos de <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subesp. <i>bulgaricus</i> .
Yogur en base a cultivos alternativos:	Cultivos de <i>Streptococcus thermophilus</i> y toda especie <i>Lactobacillus</i> .
Leche acidófila:	<i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Kefir:	Cultivo preparado a partir de gránulos de kefir, <i>Lactobacillus kefir</i> , especies del género <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> y <i>Acetobacter</i> que crecen en una estrecha relación específica. Los gránulos de kefir constituyen tanto levaduras fermentadoras de lactosa (<i>Kluyveromyces marxianus</i>) como levaduras fermentadoras sin lactosa (<i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Saccharomyces exiguus</i>).
Kumys:	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subesp. <i>bulgaricus</i> y <i>Kluyveromyces marxianus</i> .

Aunado a estos beneficios a la salud, los lácteos fermentados tienen ventajas contra los productos lácteos sin fermentar ya que son mejor tolerados por personas con intolerancia a la lactosa.

Cabe mencionar que ante una cultura cambiante en dietas, este tipo de alimentos ha demostrado tener una capacidad dinámica en términos de innovación para dar al consumidor lo que busca en cuestión de sabores y tendencias alimentarias, como son ingredientes naturales y funcionales incluso nuevos tamaños de presentaciones. Como perspectivas para estos productos en México la revista de Euromonitor (2016) prevé que las empresas seguirán invirtiendo en versiones de salud y bienestar, como las que contienen granos, súper futas, stevia y otros ingredientes funcionales.

2.3.1 Yogur

Según la norma mexicana NOM-181-SCFI-2010, el yogur es un producto obtenido de la fermentación de la leche estandarizada o no por medio de la acción de los microorganismos *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* teniendo como resultado la reducción del pH. El yogur cuenta con especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas (Cuadro 2 y Cuadro 3) plasmadas en las normas mexicanas NOM-181-SCFI y NMX-F-444-1983.

Cuadro 2. Especificaciones fisicoquímicas para yogur según NOM-181-SCFI.

Característica	Contenido
Proteína láctea (%)	Mínimo 2.9%
Grasa butírica (%)	Máximo 15%
Acidez titulable expresada como porcentaje de ácido láctico (%)	Mínimo 0.5%
Sólidos lácteos no grasos	Mínimo 8.25%

Cuadro 3. Especificaciones microbiológicas para yogur según NMX-F-444-1983.

	Especificaciones
Bacterias lácticas vivas	Mínimo 2,000 UFC/g
Organismos coliformes	Máximo 10 UFC/g
Hongos	Máximo 10 UFC/g
Levaduras	Máximo 10 UFC/g

UFC. Unidades formadoras de colonias

El proceso típico de la fabricación de un yogur consta primeramente de la estandarización de la leche con el contenido de grasa y sólidos totales según se desee. La estandarización es uno de los pasos más cruciales para las propiedades funcionales, nutricionales y de textura del producto final, se puede llevar a cabo por procesos de concentración o por la adición de ingredientes lácteos en polvo (Lange, 2013).

Posteriormente la homogenización de la mezcla anteriormente mencionada genera glóbulos de grasa con una capa de micelas de caseína y proteínas de suero, A continuación el tratamiento térmico causa la desnaturalización de las proteínas del suero y la formación de los complejos (proteína de suero-proteína de suero o proteínas de suero-micelas de caseína) a través de puentes disulfuro. Finalmente con la etapa de fermentación el pH disminuye y la carga neta de las micelas de caseína disminuye presentándose la solubilidad del fosfato de calcio coloidal (que se encontraba como una capa de la caseína), incrementando las interacciones caseína-caseína para formar una red tridimensional o el gel que caracteriza a un yogur (Karam et al., 2013).

Cabe mencionar que existen diferentes tipos de yogures, los cuales difieren por su composición química, método de producción, sabor y la naturaleza del proceso después de la incubación (Tamime y Robinson, 2007)

2.3.2 Yogur estilo griego

El yogur estilo griego es una leche fermentada semisólida producto de la separación del suero del yogur batido o de la adición de componentes lácteos para ajustar sus sólidos (Lange, 2013), tiene un cuerpo liso y suave, su color se encuentra entre crema/blanco con un sabor ligeramente ácido y poca sinéresis (suero en la superficie del gel); es conocido de diferentes nombres (concentrado, tenso, Labneh, Skyr entre otros) y se consume usualmente en el medio oriente (Al-Kadamany et al., 2003). Actualmente el yogur estilo griego se encuentra como sector de mayor crecimiento en la industria láctea (Desai et al., 2013).

La composición de este yogur dependerá del país, si es bajo en grasa incluso de la marca que lo comercialice. Nsabimana et al (2005) reporta los siguientes rangos de nutrientes en el yogur estilo griego: 6.42–10.70% grasa, 8.24–10.43% proteína, 2.86–4.91% lactosa, 14.12–16.47% sólidos de leche no grasos, 20.54–24.61% sólidos totales, 1.07–1.33% minerales y un pH de 3.67– 4.05. Para un yogur bajo en grasa su composición aproximada es 4.2 % grasa, 17.4 % sólidos no grasos, 0.9 % de estabilizador, sal 0.5 % y 23 % de sólidos totales (Tamime y Robinson 2007).

Cabe mencionar que la formulación del yogur estilo griego será uno de los factores principales en las características sensoriales del yogur, por ejemplo Atamer et al (1997) reporta que el *labneh* preparado de leche que contenía 14 % de sólidos totales (ST) presentaba los puntajes sensoriales más altos cuando estaba fresco y en el periodo de almacenamiento de 28 días, así mismo recomienda que un contenido de grasa del 4 % en leche y que se usen como microorganismos iniciadores a *L. acidophilus*, *B. bifidum* y *S. thermophilus* para obtener un buen producto.

En cuanto a su vida de anaquel del yogur estilo griego dependerá de diferentes factores como son la higiene en su manufactura, las operaciones unitarias que lleve a cabo su proceso, la calidad microbiológica de los ingredientes, adición de conservadores, de los materiales de empaque e incluso de su manejo post-producción, por lo que se tienen diferentes reportes de su vida de anaquel, que van desde 18 hasta 40 días en refrigeración (Al-Kadamany et. al., 2003; Tamime y Robinson, 2007)

2.3.2.1 Procesos de manufactura del yogur estilo griego

Entre los métodos que se han estudiado para la manufactura del yogur estilo griego se encuentran: por separador mecánico, por membranas y método tradicional.

En el proceso por separador mecánico, la leche descremada es calentada, enfriada a 42 °C e inoculada con microorganismos iniciadores (durante 4 horas

aproximadamente), una vez fermentada la leche es agitada vigorosamente, calentada a 60 °C por 15 min, enfriada a 15 °C y concentrada hasta 18 g/100 g mediante el separador mecánico, el concentrado puede mezclarse con crema o bien con fruta, para su posterior envasado (Al-Kadamany et al., 2003; Tamime y Robinson, 2007).

Dentro de los métodos basados en membranas se encuentran principalmente la ultrafiltración y osmosis inversa; sin embargo, los yogures concentrados por osmosis inversa no cuentan con las propiedades de gel similares a los hechos por el método tradicional (Tamime y Robinson, 2007).

El método tradicional es mediante la concentración de sólidos donde se usa una bolsa de tela, piel animal o vasija de barro; la separación del suero lácteo puede lograrse ya sea mediante drenaje por gravedad o por presión (apilando bolsas de 25 kg), el proceso es lento (15-20 horas a menos de 10 °C) y se lleva a cabo principalmente en pequeñas escalas o bien en hogares (Tamime y Robinson, 2007; Lange, 2013).

Todos los métodos anteriores consisten en el aumento de los sólidos lácteos separando el suero; sin embargo, la concentración de los sólidos también se puede realizar por la adición de ingredientes lácteos (leche descremada en polvo, aislados de proteína de leche, aislado de suero de leche, concentrados de suero de leche, concentrados de proteína de leche, caseína micelar y caseinatos) a la base láctea antes de ser fermentada y así alcanzar características de calidad muy similares a los anteriores con menor inversión de tiempo y tecnología (Karam et al., 2013; Lange, 2013).

2.3.2.2 Parámetros de calidad del yogur estilo griego

La aceptabilidad del yogur estilo griego está definida por diferentes características fisicoquímicas y sensoriales. Özer (2006) en su capítulo "Production of concentrated products" menciona que gran parte de la aceptabilidad del yogur concentrado es dependiente de sus características reológicas y/o texturales.

La sinéresis (suero lácteo en la superficie del gel) que eventualmente es un defecto en los productos lácteos (Magenis et al., 2006) está relacionada con la microestructura del yogur y también es una característica importante de calidad y vida de anaquel de este tipo de yogur.

La formación de agregados entran en la calidad de un yogur, estos agregados son producidos por parámetros de manufactura como: tratamientos térmicos severos, una relación alta de proteínas de suero/caseínas, altas temperaturas de incubación y el uso excesivo de microorganismos iniciadores o también a un incremento en el tamaño de las micelas de caseína por su interacción con las proteínas del suero desnaturalizadas (Lange, 2013).

Para la aceptación del yogur estilo griego las características sensoriales juegan un rol importante. Desai et al (2013) realizó un estudio sobre que atributos sensoriales de yogur griego conducen a la aceptación por consumidores, y como resultados reporta: una textura firme (fuerza requerida para comprimir el producto entre la lengua y el paladar) y densa (la compacidad de la sección transversal, la ausencia de aire percibido por la lengua al moverla a través de la muestra), aroma moderado dulce, sabores a grasa de leche y sabores agrios lácteos (asociados a los compuestos aromáticos de la fermentación), y un sabor amargo moderado (asociado a los ácidos). Entre los compuestos aromáticos más predominantes del yogur se encuentran: el etanol, diacetil, 2- butanona y el acetaldehído, siendo éste último el más predominante para el aroma típico del yogur (Gardini et al., 1999).

2.4 Aditivos

Según la norma mexicana NOM-184-SSA1-2002 los aditivos para alimentos son las sustancias que se adicionan directamente a los alimentos y/o bebidas en su elaboración para proporcionar o intensificar aroma, color o sabor; y así mejorar su estabilidad o bien para su conservación, entre otras funciones.

El tipo y cantidad de aditivos para productos lácteos son regulados por diferentes instituciones. En México las normas NOM-185-SSA1-2002 y NOM-243-

SSA1-2010 mencionan los conservadores, estabilizantes, colorantes entre otros aditivos permitidos para yogur y las cantidades permitidas.

2.4.1 Edulcorantes no calóricos

Entre los aditivos utilizados en alimentos se encuentran los edulcorantes no calóricos que se definen como las sustancias orgánico-sintéticas, que pueden sustituir parcial o totalmente el dulzor de los edulcorantes naturales (NOM-086-SSA1-1994).

La creciente demanda de alimentos saludables han hecho que exista una variedad importante de estos edulcorantes no calóricos; sin embargo, según sus características fisicoquímicas existen algunos más utilizados para la sustitución de sacarosa en los productos lácteos como son: el aspartame, el acesulfame- K, la sacarina, el ciclamato y la sucralosa. Al ser esta última un edulcorante que no presenta sabor amargo o un resabio metálico, que es altamente soluble, es estable en medios acuosos y ácidos y con alta estabilidad térmica en el procesamiento y en almacenamientos, la hacen una molécula con gran aplicabilidad en la industria del yogur (Pinheiro et al., 2005).

2.4.2 Sustitutos de grasa

Las grasas como componentes de los alimentos además de contribuir calóricamente al alimento, también le dan atributos sensoriales como es el sabor, aroma/olor y la textura; sin embargo, su alto consumo se ha asociado a enfermedades metabólicas no transmisibles. Cabe mencionar que las grasas pueden ser sustituidas por compuestos llamados sustitutos de grasa los cuales semejan en diferentes niveles las características sensoriales de la grasa en el alimento.

Los sustitutos de grasa se clasifican según su naturaleza en dos grupos: sustitutos de grasa y miméticos de grasa; estos últimos son definidos como sustancias que imitan propiedades físicas y organolépticas de los triglicéridos pero los cuales no pueden reemplazar grasas en base uno-a-uno o gramo-por-gramo y son de naturaleza proteíca o carbohidratos, ejemplos son el almidón y la celulosa (Institute of Food Technologists , 1998)

Entre los miméticos de grasa a base de proteína existen las vegetales y animales, dentro de estas últimas se encuentran el compendio de las proteínas de suero que actualmente ya son utilizadas de manera comercial en porcentajes de 0-0.75 %. (Yazici y Akgun, 2004) utilizaron en yogur proteínas de suero (WPI) y encontraron que estos yogures tenían mayor acidez titulable, cenizas y viscosidad.

Los miméticos de grasa se caracterizan por ser hidrocoloides que al dispersarse en agua forman geles. Los geles formados pueden ser caracterizados con diferentes métodos (Saha y Bhattacharya, 2010): imitativos, fundamentales y empíricos en este trabajo nos enfocaremos en los dos primeros.

Los fundamentales son métodos de deformación como la reometría oscilatoria dinámica, en donde la muestra se somete a un estrés y frecuencia oscilatorios. Los parámetros del gel que se miden son: módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdida (G''). El módulo de almacenamiento (G') es una medida de la energía que se almacena elásticamente en la estructura del gel durante una aplicación periódica de la tensión y el módulo de pérdida (G'') es una medida de la energía disipada o de la respuesta viscosa. Estos parámetros son muy importantes para la caracterización reológica de los geles. Esencialmente, las características sólidas se indican por G' mientras que G'' indica las características del líquido. Un gel débil se caracteriza por $G' > G''$ y un gel fuerte $G' \gg G''$.

Los métodos empíricos son de compresión o penetración y son usados para medir la fuerza del gel usando normalmente un texturoméetro.

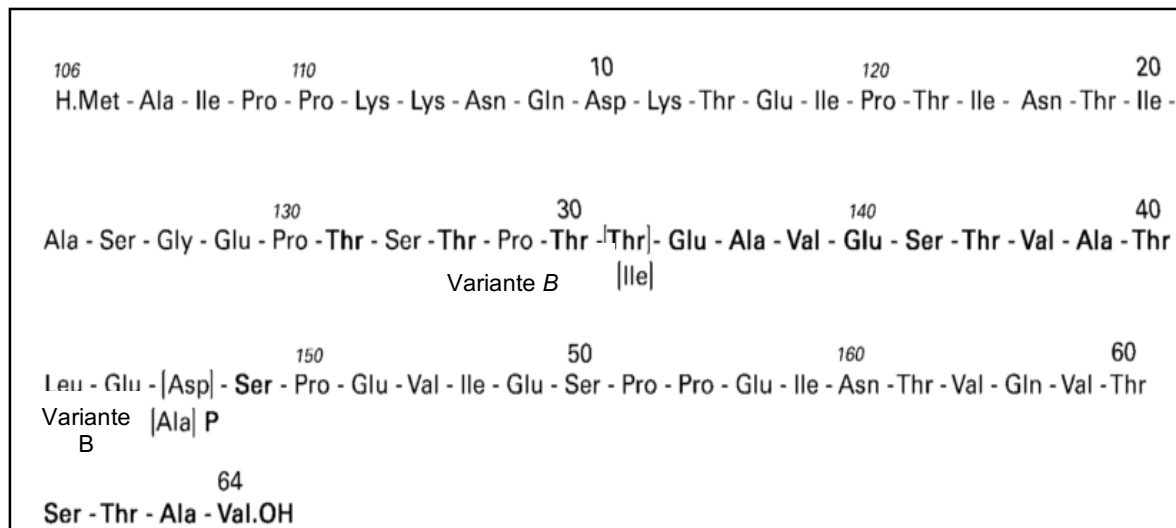
2.5 Glicomacropéptido

El glicomacropéptido es un péptido compuesto de 64 aminoácidos (Figura 1) que resulta de la acción enzimática de la renina sobre la *k*-caseína en la manufactura de queso y es soluble en el suero lácteo. Contiene diferentes cantidades de fosfato y azúcares (ácido siálico, lactosa y N-acetilgalactosamina) este grado de glicosilación dependerá de diferentes factores como: las variantes genéticas (A o B) y estado de lactancia del animal. Tiene un punto isoeléctrico (PI) entre 4.04 y 4.14, cuenta con un peso molecular de aproximadamente 7 kDa; sin

embargo, puede asociarse entre sí para formar polímeros hasta de 50 kDa (Land O'Lakes, 2000; Silva, 2004; Tolkach y Kulozik, 2005).

El glicomacropéptido es termoestable a 90°C, es rico en aminoácidos ramificados y tiene ausencia de aminoácidos aromáticos, incluso se ha planteado su adición en el desarrollo de alimentos como una opción para personas que sufran de fenilcetonuria, también funciona como prebiótico para bacterias como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, evita la adhesión de bacterias patógenas, así como algunas toxinas bacterianas al epitelio intestinal, induce saciedad asociado a cambios en hormonas gastrointestinales como la grelina, colecistoquinina y péptido similar al glucagón (Brody, 2000; Silva, 2004; Tome 2008; Hermes et al., 2013; Robitaille et al., 2013), y en combinación con proteínas de suero lácteo contribuye a la disminución de triacilglicéridos en torrente sanguíneo y grasa corporal en ratas (Royle et al., 2008).

Figura 1. Secuencia de aminoácidos del glicomacropéptido (GMP) variantes (A y B) (Modificado de Eigel et al., 1984).



El glicomacropéptido ha sido aislado del suero dulce o de concentrados de suero por diferentes técnicas incluyendo: ultrafiltración, cromatografía en filtración de gel, por precipitación de proteínas, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de interacción hidrofóbica; sin embargo, una alta purificación (sin aminoácidos aromáticos) es difícil conseguirlo en un solo paso y algunas veces es necesario el uso de técnicas como son la diálisis y cromatografía de intercambio

iónico (Silva, 2004). La recuperación del GMP según el tratamiento térmico al que se halla sometido la leche no cambia significativamente (Cuadro 4), ésto debido a la capacidad del GMP a la no-hidrólisis a altas temperaturas (Martín-Diana y Fontecha, 2002).

Como se mencionó anteriormente existen diferentes opciones para la recuperación del GMP y las técnicas de membrana parecen ser una opción factible a nivel industrial, ya que son relativamente fácil de escalar y tienen bajos costos de producción en comparación con técnicas cromatográficas.

En la actualidad existen dos métodos principales para separar el GMP por medio de ultrafiltración (Tolkach y Kulozik, 2005). El primer método es descrito por Kawasaki et al (1996) y se basa en la capacidad de GMP para formar polímeros mediante enlaces no covalentes con un peso molecular de hasta 50 kDa.

Algunos métodos utilizan la alta estabilidad térmica del GMP en comparación con la de las proteínas del suero (Martín-Diana y Fontecha, 2002). El retenido del suero se somete a 90 °C durante 1h lo cual conduce a una desnaturalización completa y la agregación de las proteínas de suero. Las proteínas desnaturalizadas se pueden eliminar por centrifugación a 5200 G y 4 °C durante 15 min, el sobrenadante que contiene el GMP se puede concentrar por ultrafiltración, este método garantiza un buen rendimiento del GMP.

2.5.1 Propiedades tecnológicas del glicomacropéptido

Además de que la inclusión del GMP en alimentos podría traer beneficios a la salud, también existirían interesantes beneficios tecnológicos ya que diferentes reportes mencionan propiedades emulsificantes y gelificantes del glicomacropéptido.

Cuadro 4. Recuperación del glicomacropéptido (GMP) del suero dulce de cabra (Modificado de Silva, 2004).

	Cruda	HTST	LTLT
Suero dulce (mL/ 100 mL de leche)	75	77	77
Fracción no dializable del suero dulce (g/mL de suero dulce)	0.60	0.52	0.57
GMP (g/100 mL de suero dulce)	0.14	0.16	0.19
GMP (g/100 g de suero dulce seco)	19	19	24
GMP (g / L de leche)	1.05	1.23	1.46

GMP: glicomacropéptido; HTST: High -Temperature, Short -Time; LTLT: Low-Temperature, Long-Time

De las características tecnológicas del glicomacropéptido ya mencionadas en este trabajo se enfocará en sus propiedades gelificantes (Cuadro 5), ya que como se mencionó anteriormente de las características más importantes de un mimético de grasa es su capacidad para formar geles.

Resumiendo el Cuadro 5 se puede decir que claramente existe evidencia de que el glicomacropéptido pudiera tener la capacidad de funcionar como un estabilizante (mimético de grasa), primeramente porque sus propiedades viscoelásticas son parecidas a las de concentrados de proteína de suero (que actualmente son utilizadas como sustitutos de grasa). Morales et al (2016) encuentran que el glicomacropéptido puede interactuar con proteínas como es la grenetina para la formación de geles más fuertes que el GMP por sí solo, cabe mencionar que la grenetina es un ingrediente que constantemente se encuentra en las formulaciones de yogur. Además se ha observado que el GMP a pH ácido como los que se manejan en un yogur favorecen la formación de agregados que finalmente forman la matriz gel.

Una propiedad tecnológica no menos importante del GMP para este trabajo es que su tamaño de partícula va desde 0.05 μ m - 0.14 μ m a pH: 4.5 (Farías et al., 2010) y está comprobado que tamaños de partícula como éstos (0.1 μ m - 3 μ m) pueden comportarse como los glóbulos de grasa al incluirse en las redes proteicas y dar sensaciones de cremosidad en la boca (Yañez y Biolley, 1999).

Cuadro 5. Propiedades gelificantes del glicomacropéptido.

Estudio	Propiedades tecnológicas
Martín-Diana et al., 2006	Propiedades viscoelásticas del GMP similares a concentrados de proteína (WPC)
Morales et al., 2016	Formación de geles del GMP al interaccionar con grenetina a pH: 3.5
Farías et al., 2010	La formación de geles se da a pH <4.5

3 JUSTIFICACIÓN

Entre los alimentos con mayor valor en ventas se encuentran los productos lácteos ocupando el tercer lugar tan sólo después de la comida procesada envasada y de los productos horneados. En particular México se posiciona en los primeros cinco países con mayor consumo de yogur estilo griego, el cual por su naturaleza cuenta con una mayor densidad calórica; sin embargo, esta energía puede ser disminuida con aditivos alimentarios como son los edulcorantes no calóricos y los sustitutos de grasa, y así no afectar drásticamente las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del yogur.

Entre los compuestos proteicos del suero lácteo (subproducto de la producción de queso) se encuentra el glicomacropéptido, un péptido de 64 aminoácidos usualmente consumido dentro de las proteínas lácteas y destacado por sus beneficios a la salud y propiedades tecnológicas. Su tamaño de partícula y actividades gelificantes similares a los de sustitutos de grasa lo hacen interesante para su evaluación como mimético de grasa en productos bien posicionados en el mercado como es el yogur estilo griego.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Desarrollar un yogur estilo griego reducido en azúcar utilizando el glicomacropéptido como sustituto de grasa y evaluar su impacto en las propiedades físicas, químicas y sensoriales del yogur.

4.2 Objetivos particulares

Evaluar el efecto de tratamientos térmicos sobre la separación de glicomacropéptido (GMP).

Obtener una formulación de yogur estilo griego reducido en azúcar con buena aceptación sensorial.

Evaluar el impacto del glicomacropéptido (GMP) como mimético de grasa en parámetros de calidad del yogur estilo griego.

Estimar la vida de anaquel sensorial del yogur estilo griego (reducido en azúcar y con glicomacropéptido) con las mejores características fisicoquímicas.

5 METODOLOGÍA

5.1 Materiales

5.1.1 Material lácteo

Leche fluida entera y descremada obtenida del Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro, aislado de proteína de suero lácteo Hilmar™ 9010 (WPI), concentrado de proteína de leche (MPC 70), leche en polvo descremada, mezcla rica en glicomacropéptido.

5.1.2 Material biológico

Bacterias lácticas marca YO-PROX 569 (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*)

5.2 Métodos

5.2.1 Evaluación de tratamientos térmicos en soluciones de WPI para la obtención del glicomacropéptido (GMP)

La obtención del GMP se llevó a cabo según la metodología descrita en la Figura 2 hasta el paso 3 con soluciones de 200 mL de aislado de proteína de suero (WPI). Se siguió un diseño de experimentos factorial 2^2 (Cuadro 6) con el propósito de tener una mayor eficiencia en la obtención del GMP; se midieron como variables respuesta la cantidad de glicomacropéptido en el supernadante y su pureza medida por HPLC.

La acidificación y la temperatura ayudaron a la precipitación de las proteínas de suero y caseínas, mientras que la ultrafiltración (UF) solo se utilizó para concentrar al GMP (Martín- Diana y Fontecha, 2002).

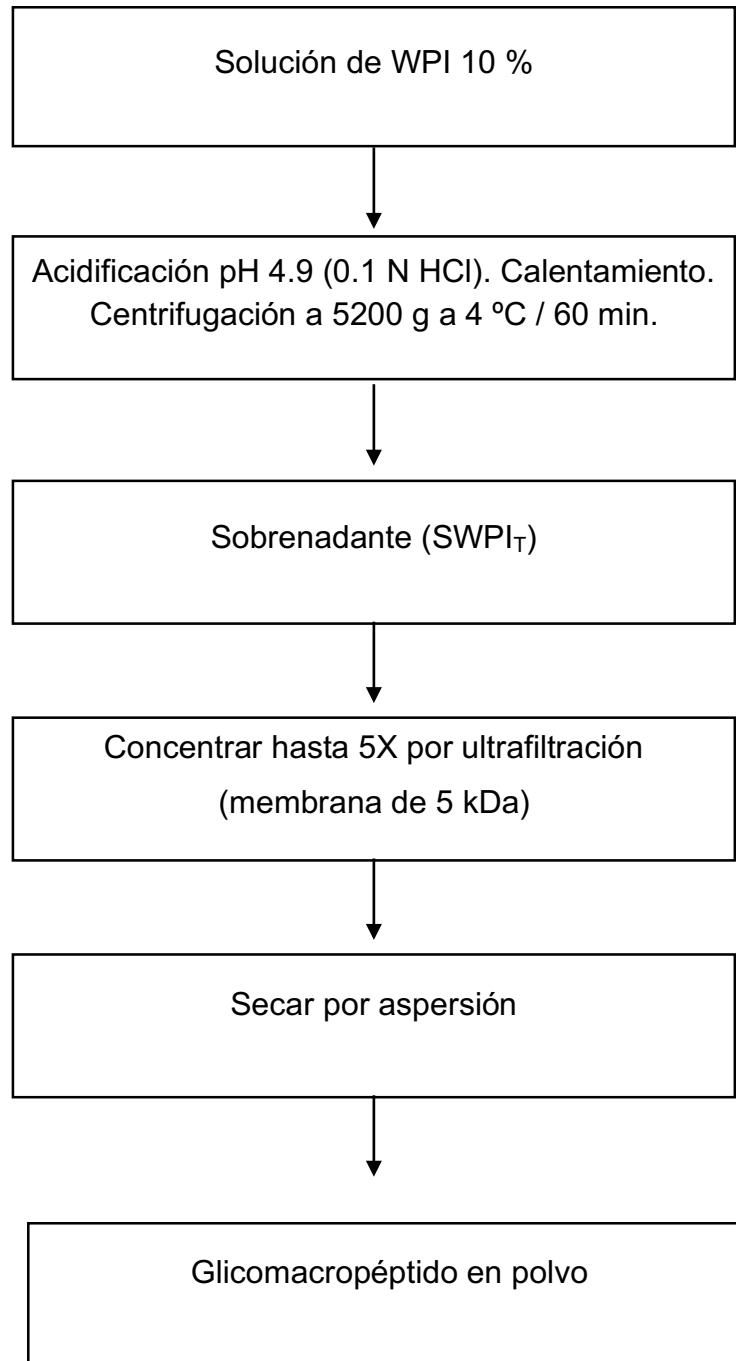


Figura 2. Proceso de obtención del glicomacropéptido (GMP)
(modificado de Martín- Diana y Fontecha, 2002).

Cuadro 6. Diseño de experimentos para obtención del glicomacropéptido (GMP).

Factores	Niveles
Temperatura	70, 80 (°C)
Tiempo	150, 200 min

5.2.2 Identificación y cuantificación del glicomacropéptido por RP-HPLC en sobrenadantes de WPI (SWPI_T)

La identificación del glicomacropéptido se llevó a cabo por RP-HPLC según la metodología de Bonnaillie et al (2014) modificada en sobrenadantes de WPI tratado térmicamente (SWPI_T). Los solventes fueron agua acidificada con 0.1 % (v/v) de ácido trifluoroacético (TFA) y acetonitrilo con 0.1 % (v/v) acidificado con TFA (solvente D). El gradiente de elución fue: 0 min: 20% D, 18 min: 40 %, 28 min: 60 % D, 30 min 100 %, 33-37 min 20 %. La columna se trabajó a 40 °C, con un flujo de 0.8 mL/min usando una columna C18, 5 µm, 4x6x150 mm. El pico de detección fue a una longitud de onda (λ) de 214 nm.

Para el grado de pureza se usó el factor respuesta masa/área de los picos del glicomacropéptido utilizando una curva de β -lactoglobulina (0.06-1.0 mg/mL) Sigma- Aldrich variante A (Bonnaillie et al., 2014).

5.3 Formulación de los yogures estilo griego reducidos en azúcar

Se partió de leche entera, con una composición de: 3.85% de grasa, 8.99 % de sólidos y 8.99 % de proteína.

El yogur se realizó según la Figura 3 y se partió de la formulación que se presenta en el Cuadro 5 la cual fue elaborada en un curso en el Centro de Estudios de la Leche (CEDELE) y presentó buenas características sensoriales, a esta formulación se le modificaron los porcentajes de azúcar, sucralosa y leche en polvo descremada (para ajustar sólidos). La reducción de azúcar fue como se indica en el Cuadro 7 y los cultivos usados para la fermentación fueron YO-PROX 569.

Cuadro 7. Ingredientes de la formulación del yogur estilo griego (YG₀).

Ingrediente	%
Leche entera	91.19
MPC 70 %	3.51
Almidón CONFLO	0.45
Azúcar	4.55
Grenetina	0.27

Se realizaron tres formulaciones con diferentes niveles de sustitución del azúcar (Cuadro 8) por el edulcorante sucralosa (splenda), tomando como mínimo una sustitución del 25% ya que el propósito de esta etapa era realizar una formulación reducida en azúcar según NOM-086-SSA1-1994.

Cuadro 8. Ajuste de ingredientes para formulaciones de yogures estilo griego con reducción de azúcar.

Formulación (reducción de azúcar*)	Azúcar (g/100 g yogur)	sucralosa (splenda) (g/100 g de yogur)	Ajuste de sólidos con leche descremada (g/100 g de yogur)
25 %	3.4	0.125	1.012
50 %	2.2	0.250	2.025
75 %	1.1	0.375	3.037

*Porcentaje de reducción de azúcar según formulación original.

5.3.1 Análisis microbiológico de los yogures estilo griego con reducción de azúcar

Un análisis microbiológico se hizo para cada formulación por duplicado para coliformes totales según la norma oficial mexicana NOM-113-SSA1-1994 y para hongos y levaduras según la norma mexicana NOM-111-SSA1-1994.

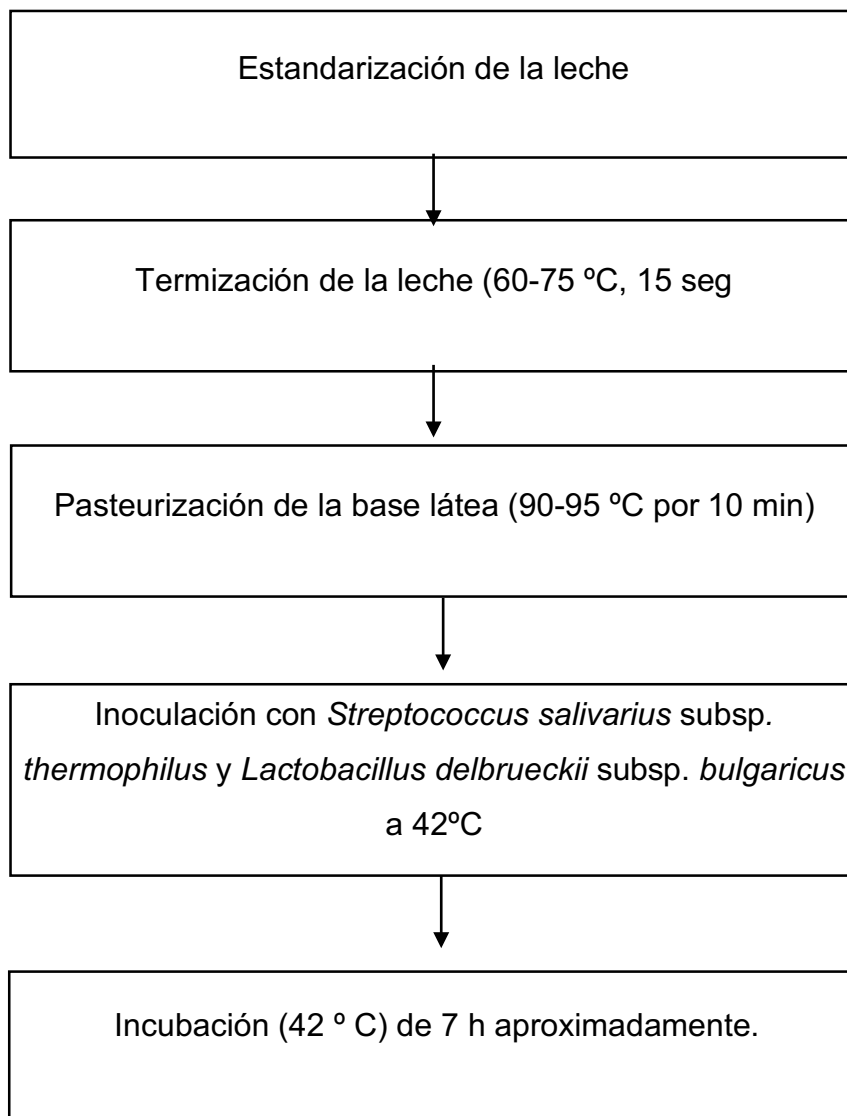


Figura 3. Diagrama de flujo para producción del yogur estilo griego.

5.3.2 Evaluación sensorial afectiva de sabor de los yogures estilo griego con reducción de azúcar

Una vez que se tuvieron los resultados microbiológicos de los yogures con reducción en azúcar se procedió a reclutar 50 consumidores de yogur.






Posteriormente las tres formulaciones reducidas en azúcar se evaluaron sensorialmente utilizando una escala hedónica de cinco puntos (Figura 4).

PRUEBA SENSORIAL DE SABOR DE YOGUR GRIEGO

Sexo: M F Fecha: _____

Edad: _____

Frente a usted se encuentran 3 muestras de yogur griego con diferentes niveles de edulcorante* codificadas aleatoriamente. Por favor pruébelas y califíquelas según el **sabor** de acuerdo a la escala, posteriormente escriba el número correspondiente de la muestra respecto a su nivel de agrado.

				
Me gusta mucho	Me gusta moderadamente	No me gusta ni me disgusta	Me disgusta moderadamente	No me gusta

Comentarios: _____

*Alimento inocuo según NOM-113-SSA1 y NOM-11-SSA1-1994

MUCHAS GRACIAS!!!




Figura 4. Formato para la evaluación sensorial de sabor de los yogures estilo griego con reducción de azúcar.

5.4 Ajuste en firmeza de la formulación del yogur estilo griego reducido en azúcar (YG_R) a yogures comerciales

De la evaluación sensorial se eligió la formulación con 25% menos azúcar (YG_R) a la cual se le ajustó la firmeza a yogures estilo griego que se encuentran en el mercado. Se trabajó con diferentes niveles de grenetina (0.07, 0.13, 0.20, 0.27 %) y a cada yogur se les midió firmeza, acidez y sinéresis (según el apartado 5.7) por duplicado, se compararon con yogures griegos comerciales con el objetivo que el yogur a desarrollar estuviera en los rangos de lo que se comercializa actualmente.

Al yogur que resulta de esta etapa se le codifica como YG_R para fines del presente estudio.

5.5 Efecto del glicomacropéptido como sustituto de grasa en el yogur estilo griego reducido en azúcar (YG_R)

Se partió de la formulación YG_R, leche entera (3.85 % de grasa) y glicomacropéptido en polvo obtenido con la metodología de la Figura 2 en lotes de 1 L de solución al 10% de WPI .

Primeramente la leche se descremó ajustando la grasa a tres niveles (2.5%, 2%, 0.5 %) los cuales dieron origen a yogures reducidos en grasa, bajos en grasa y sin grasa respectivamente, para cada nivel de grasa se tuvieron diferentes niveles de GMP (0%, 0.25%, 0.5% y 0.75%) y según sus parámetros de calidad (sinéresis, firmeza, reología, acidez titulable, pH y gránulos mayores a 1mm) se eligió un yogur estilo griego con GMP como mimético de grasa para determinar su vida de anaquel sensorial.

5.6 Determinación de la vida de anaquel sensorial del yogur estilo griego reducido en azúcar y bajo en grasa (YG_{RB})

La determinación de la vida de anaquel sensorial se llevó a cabo de la formulación que tenía una reducción del 25% en azúcar y baja en grasa con 0.75 % de GMP (YG_{RB}) siguiendo los lineamientos emitidos por el Comité de Bioética, Facultad de Química en la Universidad Autónoma de Querétaro.

La vida de anaquel sensorial del yogur se llevó a cabo con un diseño reversa (Figura 5) con diferentes lotes de producción almacenados a 4 °C en recipientes de polietileno de alta densidad (blancos) de capacidad de 1/2 kg. Al final de los 47 días a los lotes se les midió acidez titulable, hongos y levaduras según la norma mexicana NOM-111-SSA1-1994, y coliformes totales con la norma oficial mexicana NOM-113-SSA1-1994. Posteriormente se realizó una prueba sensorial utilizando el formato de la Figura 6, se reclutaron a 98 consumidores y cada uno probó y calificó una muestra de yogur de cada uno de los diferentes lotes de producción.

5.7 Parámetros de calidad y análisis bromatológicos del yogur estilo griego

5.7.1 Sinéresis

El grado de sinéresis se expresa en porcentaje de suero libre como lo menciona Al-Kadamany et al (2003), 20 gramos de la muestra se filtraron durante 10 minutos con ayuda de una bomba de vacío, un embudo Büchner y papel Whatman (#2). La proporción de suero lácteo libre se calculó con la siguiente fórmula:

5.7.2 Análisis de firmeza

La firmeza se determinó siguiendo la metodología de Domínguez-Soberanes et al (2002) con modificaciones, se calculó gracias a un estudio de perfil de textura (TPA) usando una sonda cilíndrica de diámetro 2.5 cm y 4 cm de profundidad, y un analizador de textura TAxT2i. Para el ensayo se utilizaron las siguiente velocidades: 2 mm s^{-1} de pre-ensayo, 1 mm s^{-1} de ensayo y 2 mm s^{-1} de post-ensayo a una distancia de 20 mm y 5 segundos entre ciclos de compresión. Para lo anterior se homogenizó la muestra y se transfieren 50 g de yogur a vasos de precipitados de 100 mL de vidrio y se refrigeran por 24 horas; la determinación se hace por duplicado para cada yogur a una temperatura de $12 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.7.3 Reología

El barrido de deformación de los yogures re llevó a cabo con un reómetro Ares (TA Instruments, New Castle DE) equipado con un recirculador para mantener la temperatura constante de la muestra (25°C) y una geometría de placas paralelas (50 mm de diámetro y 1 mm de espacio entre ellas). Se realizó una prueba dinámica oscilatoria, la deformación se incrementó de 0.01 a 1000% con una frecuencia constante de 1 Hz modificando la metodología utilizada por Ghorban et al (2012).

5.7.4 Gránulos en el yogur

Los gránulos en el yogur se midieron mediante un análisis de imagen como lo describe Remeuf et al (2003) con modificaciones.

Se dispersaron 0.1 g de yogur en 10 ml de agua destilada, luego se vertió en una caja petri colocándola sobre un fondo negro. Lo anterior se hizo cinco veces por tipo de yogur.

Las fotografías se tomaron con una cámara profesional a 1.7 X. Las imágenes fueron analizadas como imágenes de 8 bits con el software ImageJ (US National Institutes of Health, Bethesda, MD) y se enumeraron los gránulos con perímetro mayor a 1 mm en 1 g de yogur.

5.7.5 Acidez titulable y pH

La acidez titulable y pH se llevó a cabo pesando 10 g de muestra, se le adicionó 10 mL de agua destilada y homogeneizó. Para % acidez se utilizó 0.5 mL de fenolftaleína como indicador y NaOH 0.1 N para la titulación (NOM-185-SSAI-2002).

$$\% \text{ Acidez} = \frac{V \times N \times 9}{M \text{ (g)}}$$

V: Volumen gastado de hidróxido de sodio

N: Normalidad del hidróxido de sodio

M: Masa de la muestra (g)

5.7.6 Análisis bromatológicos

El total de sólidos, proteína, grasa y cenizas fueron determinados por los métodos de normas Mexicanas (NMX-F-083-1986, NMX-F-068-S-1980, NMX-F-387-1982 y NMX-F-066-S-1978) respectivamente.

5.8 Análisis estadístico

Se llevó a cabo pruebas de Tuckey y Dunnett con un nivel de confianza del 95 % para ver diferencia significativa entre todos los tratamientos y versus algún control, según las comparaciones de interés por realizar, respectivamente.

El gráfico de mosaicos se utilizó para observar diferencias sensoriales entre las formulaciones con diferentes niveles de azúcar y la metodología Cutt-off-point (COP) se usó para determinar la vida de anaquel sensorial del yogur estilo griego reducido en azúcar y bajo en grasa (0.75% de GMP).

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Efecto de los tratamientos térmicos de soluciones de WPI en la obtención del glicomacropéptido

6.1.1 Identificación de los tiempos de retención del GMP y β -LG por HPLC-RP en sobrenadantes del WPI (SWPI_T)

Para cuantificar la concentración del glicomacropéptido (GMP) en los sobrenadantes SWPI_T de los diferentes tratamientos térmicos, primeramente se identificaron los tiempos de retención de la β -lactoglobulina (β -LG) y del GMP en los cromatogramas de HPLC-RP.

Cabe mencionar que la única proteína que se cuantificó para calcular el rendimiento del GMP fue la β -LG, ya que es la proteína más abundantes del suero lácteo y, a diferencia de la α -LA (también abundante), se desnaturaliza a altas temperaturas (Dannenberg y Kessler, 1988).

En la Figura 7 (a) se puede observar el estándar de β -LG (0.5 mg/mL) variante A a un tiempo de retención de 22 min., igual al tiempo encontrado por O'Loughlin et al (2012). Cuando la solución de WPI se sometió a diferentes temperaturas la relación de los picos cambia, para principios de ejemplificar se muestran dos tratamientos: a 80 °C/200 min en la Figura 7 (b) y a 90 °C/60 min en la Figura 7(c). En los cromatogramas anteriores existen dos áreas diferentes: la primera que va de un tiempo de retención de 5-13 min y la segunda de 21-22 min. Cuando la temperatura se eleva de 80 a 90 °C, la segunda área (correspondiente a la β -LG) disminuye drásticamente y la primera queda intacta, por lo que se presume que el área de 5-13 minutos pertenece al GMP.

En la literatura es bien sabido que el glicomacropéptido es termoestable a 90 °C (Martín-Diana y Fontecha, 2002), temperatura que no es tolerable para las demás proteínas del suero. Los tiempos de retención de los picos en los cromatogramas presentados por O'Loughlin et al (2012) para el glicomacropéptido y β -LG son iguales a los que se presentan en este trabajo, el autor aclara que el

GMP no se presenta como un solo pico pues este péptido tiende a formar aglomerados poliméricos de diferentes pesos moleculares, principalmente a pH ácidos. En la Figura 8 se muestra como la turbidez de la muestra de GMP inyectada (pH:5.07) desaparece cuando la solución se ajusta a un pH: 6.9, siendo esta turbidez un indicio de que efectivamente teníamos al GMP en formas poliméricas.

6.1.2 Cuantificación del glicomacropéptido y β -Lactoglobulina en sobrenadantes SWPI_{TD}

Yver et al (2011) optimizó el fraccionamiento de las proteínas mayoritarias de un aislado de proteína de suero (WPI) a escala piloto a T= 60 a 65 °C, concentración de WPI= 5 o 10%, y P = 5.5, 8.3 o 31 MPa de CO₂ (correspondiendo a un de pH 5.0 a 4.4 según concentración de WPI) obteniendo una sola fracción compuesta por GMP y β -LG con 95.3 % y 63.6 % de recuperación respectivamente; entre sus conclusiones recomiendan temperaturas de 75 y 80 °C para un fraccionamiento entre GMP y β -LG.

Por lo anterior en el presente estudio después de que se realizó la identificación de los tiempos de retención del glicomacropéptido y la β -lactoglobulina, las soluciones de WPI se someten a diferentes tratamientos térmicos para evaluar la cantidad (Cadro 9) y pureza (Figura 9) del glicomacropéptido recuperado en los sobrenadantes de estas soluciones tratadas térmicamente (SWPI_{TD}).

En el Cuadro 9 se presentan los resultados de la cuantificación del GMP; el tratamiento térmico de 90°C/60 min se tomó como control ya que es el que se reporta usualmente en la literatura (Martín-Diana y Fontecha, 2002). El único tratamiento térmico (en comparación contra el control) con mayor recuperación del GMP (0.727 \pm 0.02 g/100 mL) fue el tratamiento térmico 70 °C por 200 min y la menor recuperación del GMP fue a 80 °C y 90 °C, estas diferencias estadísticas serían de importancia práctica solamente si la recuperación del GMP fuera a grandes escalas.

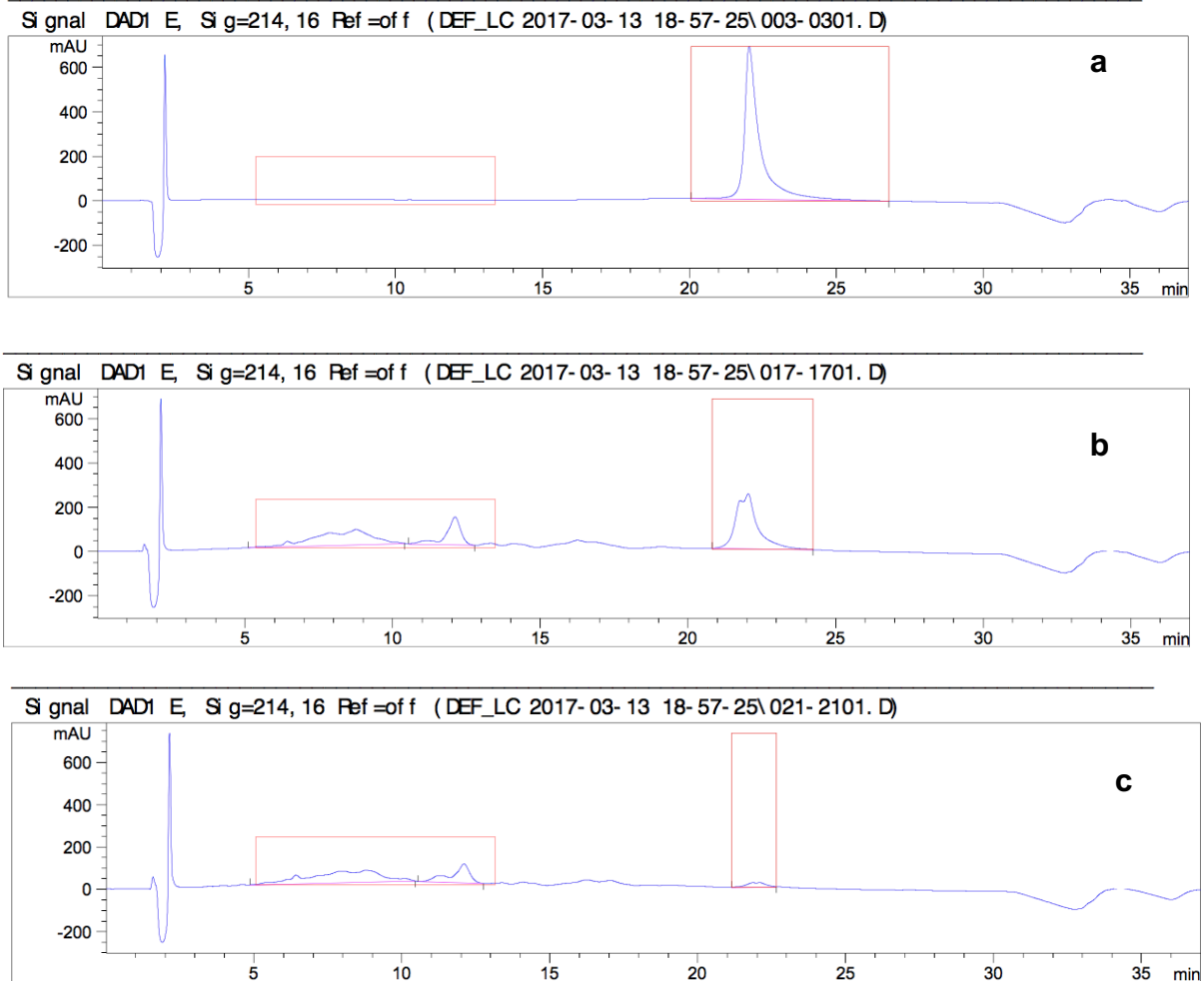


Figura 7. Identificación de los tiempos de retención del GMP y β -LG por HPLC-RP a 214 nm en sobrenadantes SWPI_T. a) Estándar de β -LG 0.5g/L; b) Tratamiento de WPI a 80 °C / 200 min; c) Tratamiento del WPI a 90 °C / 60 min. WPI: Aislado de proteína de suero al 90 %; GMP: Glicomacropéptido; β -LG: beta-lactoglobulina.



Figura 8. Glicomacropéptido (GMP) en sobrenadante de WPI sometido a 90°C/60 min a pH:5.07 y pH: 6.9 (de izquierda a derecha).

Lo anterior se puede deber a que en los sobrenadantes obtenidos a temperaturas altas existió una menor cantidad de proteína (Cuadro 9) y como consecuencia una mayor cantidad de agregados (material precipitado), los cuales fueron caracterizados por O’Loughlin et al (2012) y encontraron que estos agregados estaban formados por un complejo de proteínas (α -LA, β -LG y GMP) con diferentes resistencias térmicas asociadas mediante enlaces disulfuro. Por lo que podemos correlacionar que una menor recuperación de GMP se debió a su pérdida en los agregados que se mencionan anteriormente y con esto bajo su obtención en los sobrenadantes de WPI tratado térmicamente a temperaturas altas (80-90°).

Como ya se ha venido mencionado los componentes principales del aislado de proteína de suero (WPI) son α -LA, β -LG y GMP los cuales se diferencian por sus temperaturas de desnaturalización. El GMP es estable a 90 °C, en cuanto a β -LG y α -LA tienen una fuerte reducción a 90 °C y 80 °C respectivamente (Dannenberg y Kessler, 1988), por lo que los resultados de la Figura 9 concuerdan con la literatura, pues a mayores temperaturas de los tratamientos térmicos (80 y 90°C) la α -LA, β -LG se desnaturalizan dejando en el sobrenadante el GMP con mayor pureza (47-92 %).

Cuadro 9. Concentración del glicomacropéptido (GMP) y β -lactoglobulina (β -LG) en sobrenadantes de WPI tratado térmicamente (SWPI_{TD}).

Tratamiento	GMP total	β -LG	Proteína total
	(g/100 mL)	(g/100 mL)	(g/100 mL)
Control 90 °C/60 min	0.584 ± 0.05	0.0551 ± 0.07	0.670 ± 0.08
80 °C/200 min	0.625 ± 0.07	0.1262 ± 0.05	0.711 ± 0.04
80 °C/150 min	0.562 ± 0.06	0.6458 ± 0.08	1.241 ± 0.03
70 °C/200 min	0.727 ± 0.02*	3.6461 ± 0.04*	4.373 ± 0.08*
70 °C/150 min	0.689 ± 0.03	4.0711 ± 0.05*	4.760 ± 0.49*

Resultados expresados como los promedios de n=3 réplicas de la concentración de GMP \pm DE. * Indica diferencia significativa respecto al control (90°C/60 min) mediante la prueba de Dunnett con un nivel de confianza del 95 %.

6.1 Obtención del glicomacropéptido (GMP) para la producción de yogur estilo griego

De los tratamientos térmicos anteriores se tomó el de 90°C/60 min para la producción del GMP que se incorporó en el yogur. Se eligió este tratamiento ya que para fines de este estudio interesaba tener una buena recuperación del GMP; sin embargo, su pureza era más importante (se quería que las propiedades de mimético de grasa en el yogur se le atribuyeran al GMP y no a otras proteínas del suero), además este tratamiento fue en el que se ahorraba mayor cantidad de tiempo.

Antes de secar el GMP para su incorporación en el yogur se le determinó su perfil (Figura 10) y su cuantificó en HPLC-RP, lo anterior para comprobar que el rendimiento y pureza del GMP en el tratamiento térmico de 90°C/ 60 min fueran igual en ambas escalas de producción: la de 200 mL hecha en la primera etapa del trabajo y la de 1000 mL que se utilizó para obtener el GMP que se incorporó al yogur.

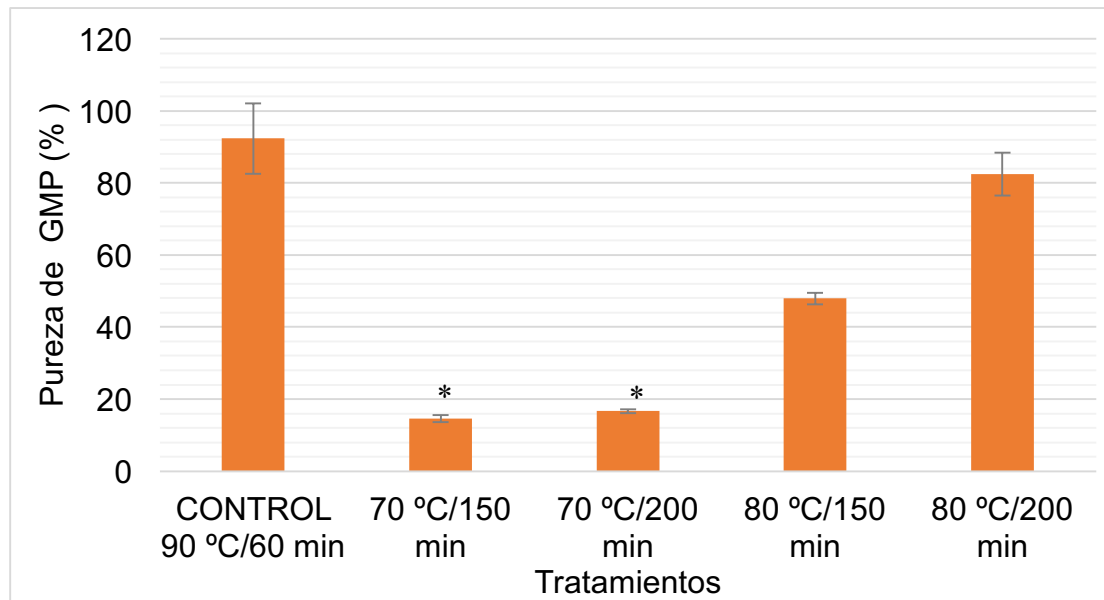


Figura 9. Pureza del glicomacropéptido (GMP) en sobrenadantes de WPI sometido a diferentes tratamientos térmicos (SWPI_{TD}). Resultados expresados como el promedio de n=3 replicaciones de la concentración de GMP ±DE. * indica diferencia significativa respecto al control (90°C/60 min) mediante la prueba de Dunnet con un nivel de confianza del 95 %.

La ecuación para cuantificar la concentración del GMP destinado para las formulaciones de yogur estilo griego como sustituto de grasa, tuvo un coeficiente de correlación (R^2) de 0.99846 y la ecuación fue la siguiente: Concentración de GMP = 37930 área de GMP+ 1007.70.

En la Figura 10 se ve claramente que se repite el patrón de los tiempos de retención (T_r) que se había descrito anteriormente: predomina el área correspondiente al GMP (T_r : 5-13 min) y el área de la β -LG (T_r : 21-22 min) es mínima. La pureza estuvo alrededor del 90 % y la obtención de GMP fue de 0.6558 g/100 mL de sobrenadante, estadísticamente iguales a los obtenidos a la escala menor.

Una vez que se concentró y secó el GMP en solución se le determinaron sus valores nutrimentales (Cuadro 10). Un punto a discutir en el cuadro mencionado es la cantidad de carbohidratos (11.85 ± 0.57) ya que fue mayor a la fuente de la

que se partió (WPI 90 marca Hilmar) pues tiene como máximo 3.0% de carbohidratos.

Para explicar lo anterior se debe recordar que el glicomacropéptido es un péptido glicosilado, el porcentaje de esta glicosilación no está bien definido ya que dependerá de diferentes factores como es el periodo de lactación y la alimentación del animal, además de los tratamientos térmicos al que fue sometido la fuente de partida (Silva, 2004).

Lo que es bien sabido es que entre los carbohidratos mayoritarios de la glicosilación del GMP es el ácido siálico (Figura 11). Neelima et al (2013) mencionan en su resumen que para el GMP disponible en el mercado (78-83.7% de proteína) el contenido de ácido siálico va de 7-9 % (Arla Food Ingredients y Davigo Foods International, Inc.) valores que concuerdan con el porcentaje de carbohidratos (9.35%) en el GMP en polvo que se obtuvo experimentalmente después de restarle el contenido de lactosa (Cuadro 10).

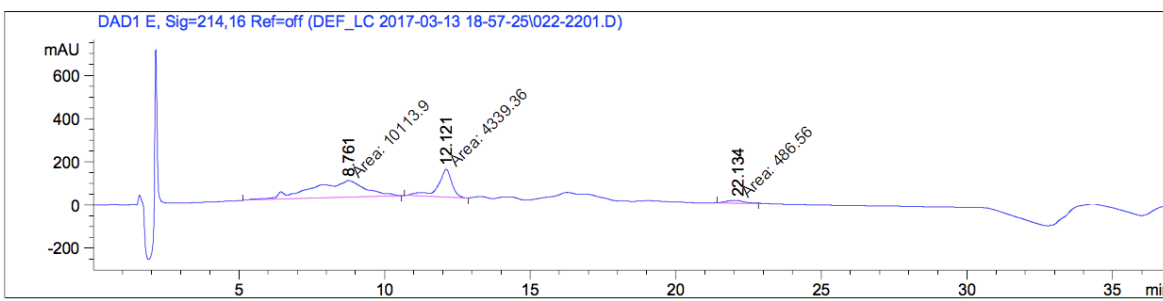


Figura 10. Identificación de los tiempos de retención del GMP y β -LG por HPLC-RP a 214 nm en sobrenadante del WPI tratado a 90°C/60 min.

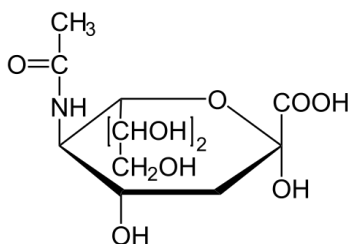


Figura 11. Estructura química del ácido siálico.

Respecto a la humedad del GMP en polvo, no existe una norma en México que describa el porcentaje de humedad para los estabilizantes o sustitutos de grasa;

sin embargo, existe la norma NMX-F-382-1986 para almidón o féculas que son utilizadas como estabilizantes, la especificación es de 13 % como máximo quedando dentro de este criterio el GMP en polvo producido en este trabajo (humedad de GMP= 10 %).

Cuadro 10. Valor nutrimental del glicomacropéptido (GMP) en polvo.

Proteína base húmeda (%)	Proteína base seca (%)	Humedad (%)	Carbohidratos (%)	Lactosa (%)	Minerales (%)
72.04±0.82	80.04±0.92	10.00±0.24	11.85±0.57	2.5±0.52	6.11±0.02

Resultados expresados como las medias (n=2) ±DE.

6.2 Evaluación de sabor de los yogures estilo griego con reducción de azúcar

6.2.1 Análisis microbiológico de los yogures estilo griego con reducción de azúcar

Para la evaluación del sabor de los yogures estilo griego con reducción en azúcar, primero se realizó la formulación según el diagrama de flujo de la figura 3 y su análisis microbiológico (Figura 12 y Figura 13).

En el Cuadro 11 se ve que el yogur es inocuo para el consumo humano según las normas mexicanas NOM-113-SSA1-1994 y NOM-111-SSA1-1994 para yogur (< 10 UFC/g de hongos y levaduras, y coliformes totales) por lo que se procedió al siguiente paso que fue el análisis sensorial de los formulaciones.

6.2.2 Evaluación sensorial afectiva de sabor de los yogures estilo griego con reducción en azúcar

En un estudio preliminar de las tres formulaciones se decidió no evaluar el yogur con 75 % de reducción de azúcar ya que el resabio del edulcorante era muy notable.

Cuadro 11. Evaluación microbiológica de los yogures estilo griego con reducción de azúcar.

Reducción de azúcar	Hongos y levaduras	Coliformes totales
25 %	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
50 %	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
75 %	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g

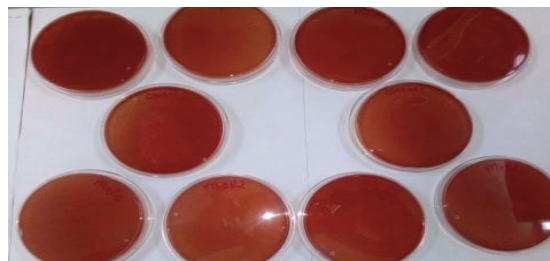


Figura 12. Placas de coliformes totales y control negativo de yogures con reducción en azúcar.

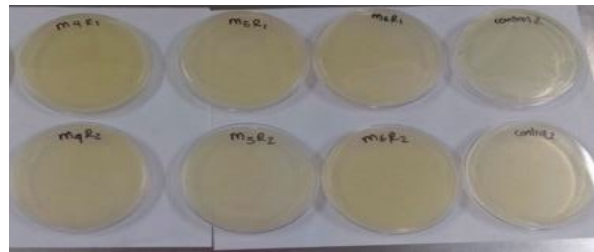


Figura 13. Placas de hongos y levaduras en yogures con reducción en azúcar y control negativo

Como resultado de la evaluación sensorial afectiva de las formulaciones (25 y 50 % de reducción de azúcar), ambas tuvieron una buena aceptación ya que más del 50 % de los consumidores calificaron el sabor de las formulaciones con un me “gusta demasiado” y “me gusta moderadamente”. Para los consumidores a los que les disgustaron los yogures (4%) se pudo deber a que no les gustaba el yogur estilo griego, pues la condición de inclusión a la prueba sensorial fue que les gustara el yogur en general.

Cuando los datos de la evaluación sensorial se presentan en un gráfico de mosaicos (Figura 14) se observa que, aunque ambas formulaciones gustaron, la que tiene una reducción de 50% de azúcar presenta mayor cantidad de consumidores que le son indiferentes (“no me gusta ni me disgusta”).

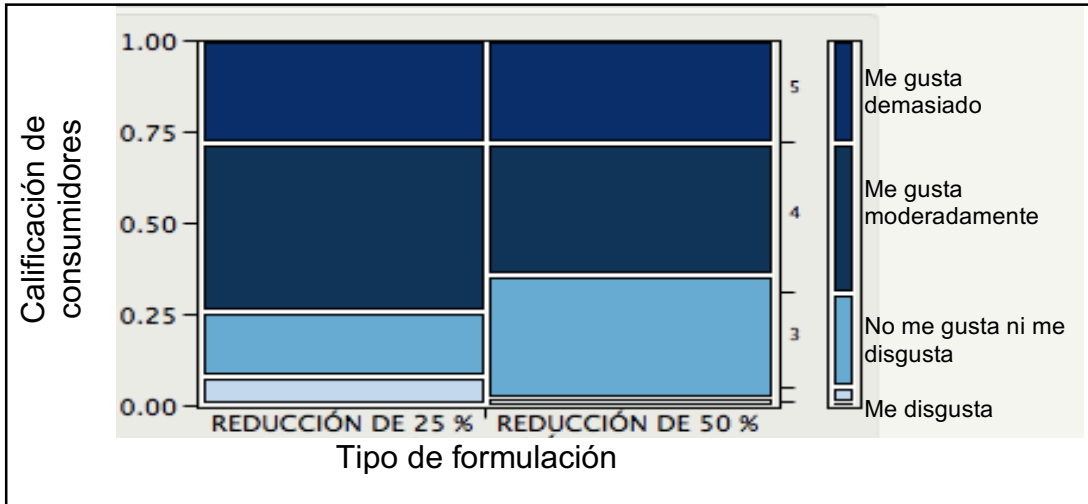


Figura 14. Gráfica de mosaicos de la evaluación sensorial de las formulaciones de yogur estilo griego con reducción del 25% y 50% en azúcar, utilizando una escala hedónica de 5 puntos.

Según la prueba estadística Chi cuadrada de mosaicos, las dos formulaciones (25 y 50 % menos azúcar) sí son diferentes estadísticamente ($p=0.0397$). Sin embargo de acuerdo a la tabla de contingencia (Cuadro 12) se puede ver en qué calificación fueron diferente para ambas formulaciones. La desviación en cada calificación (1-5) muestra la diferencia entre ambas formulaciones, cuanto más grandes los conteos más alejados de lo que deberían ser si fueran independientes de la formulación. En la calificación tres “No me gusta ni me disgusta” las dos formulaciones fueron diferentes pues el valor de la desviación es de cuatro, lo cual nos comprueba la indiferencia de los consumidores por la formulación con 50% menos azúcar. Por lo que para estudios posteriores se tomó como mejor yogur griego el que contiene 25 % menos azúcar (YGR).

Cabe mencionar que dentro de los comentarios más frecuentes entre los consumidores fue que la textura era más firme a los de un yogur estilo griego

comercial, por lo que se buscó igualar la textura del yogur formulado a yogures estilo griego disponibles en el mercado.

Cuadro 12. Tabla de contingencia de la evaluación sensorial de los yogures estilo griego con reducción de azúcar.

Cuenta Total (%) Columnas (%) Filas (%) Desviación	Calificación				
	1	2	3	4	5
Formulación 25 % menos azúcar	0 0.00 0.00 0.00 -0.5	4 4.00 100.00 8.00 2	9 9.00 34.62 18.00 -4	23 23.00 56.10 46.00 2.5	14 14.00 50.00 28.00 0
Formulación 50 % menos azúcar	1 1.00 100.00 2.00 0.5	0 0.00 0.00 0.00 -2	17 17.00 65.38 34.00 4	18 18.00 43.90 36.00 -2.5	14 14.00 50.00 28.00 0

6.3 Ajuste de textura del yogur YG_R a yogures estilo griego presentes en el mercado

Como se mencionó en la evaluación de sabor, el comentario más recurrente entre los consumidores fue una textura muy firme, por lo que se decidió ajustar la textura del yogur YG_R a los yogures que se comercializan en el mercado actualmente.

Dentro de los ingredientes yogur formulado en este trabajo, los que pueden contribuir a la firmeza son principalmente el concentrado de proteína de leche y la grenetina. Sin embargo la grenetina tiene un mejor poder gelificante, por lo que fue el ingrediente que se modificó en las formulaciones (Pang et al., 2014).

En el Cuadro 13 se compara la firmeza del yogur YG_R con cuatro niveles de grenetina (0.27 %, 0.20%, 0.13 y 0.07%) contra formulaciones de yogur estilo griego nacionales y de importación. Es de resaltar que la formulación hecha con

0.07% de grenetina tuvo una firmeza igual estadísticamente a formulaciones comerciales de importación.

Para explicar lo anterior, es necesario recordar que la grenetina es un biopolímero derivado del colágeno, y que al formar sus geles existe la re-naturalización de la proteína formando hélices triples estabilizadas mediante puentes de hidrógeno entre grupos funcionales del aminoácido (CO y NH) o entre el agua y grupos carboxilo (CO), así que al disminuir en el yogur el porcentaje de grenetina pudieron existir menor cantidad de hélices formadas y por consecuencia una red menos resistente a la penetración de la sonda del texturómetro (menor firmeza) hasta 207.0 ± 0.6 g con 0.07 % de grenetina (Tosh et al., 2003).

Cuadro 13. Firmeza de yogures estilo griego variando el porcentaje de grenetina y yogures estilo griego comerciales.

Nombre	Firmeza (g)	Prueba de Tukey
Grenetina 0.27%	275.2 ± 10.6	a
Grenetina 0.20%	223.9 ± 4.1	b
Grenetina 0.13%	231.0 ± 0.2	b, c
Grenetina 0.07%	207.0 ± 0.6	c, d
Fa-ge	192.1 ± 3.9	d
chobani	176.7 ± 10.0	d
Oixos	176.7 ± 10.0	e
vitalínea,	65.1 ± 0.0	f
Extra especial	72.0 ± 6.6	f
yoplait	61.0 ± 2.0	f

Resultados expresados como los promedios de dos réplicas \pm DE. Letras diferentes indican diferencia significativa estadísticamente mediante la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95 %.

En cuanto a la comparación de los parámetros fisicoquímicos de pH y sinéresis del yogur YG_R con 0.07 % de grenetina contra los yogures comerciales (Cuadro 14), fueron iguales por lo que no hubo necesidad de modificar algún otro ingrediente de la formulación.

Cuadro 14. Parámetros de calidad de la formulación reducida en azúcar y de yogures comerciales.

Tipo de yogur griego	Acidez (% ácido láctico)	Sinéresis (%)
YG _R (grenetina 0.07%)	1.31 ± 0.01 d	62.85 ± 0.56 bc
Chobani	1.68 ± 0.01 a	64.30 ± 0.21 b
Fage	1.68 ± 0.01 a	59.55 ± 0.49 c
Oixos	1.06 ± 0.01 f	30.05 ± 1.90 e
Vitalínea	1.20 ± 0.00 e	26.35 ± 0.49 f
Yoplait	1.52 ± 0.01 b	45.00 ± 0.56 d
Extra especial	1.36 ± 0.00 c	68.35 ± 0.21 a

Resultados expresados como los promedios de dos réplicas ±DE. Letras diferentes indican diferencia significativa estadísticamente mediante la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95 %.

6.4 Efecto del glicomacropéptido como sustituto de grasa sobre parámetros de calidad del yogur YG_R

6.4.1 Efecto del glicomacropéptido (GMP) sobre acidez, pH y sinéresis

En este apartado se estudió si el GMP afectaría en el pH, acidez y/o sinéresis en los yogures con diferentes niveles de grasa respecto al yogur hecho con leche entera y sin GMP (yogur con buena aceptación sensorialmente, evaluado anteriormente). La acidez y pH de los diferentes yogures fueron estadísticamente iguales (Cuadro 15). Para la sinéresis (cantidad de suero en la superficie del yogur) todos fueron iguales al control (yogur hecho con leche entera y sin GMP), el único que tuvo menor sinéresis ($59.66 \pm 0.48\%$) fue el yogur bajo en grasa con 0.75 % de GMP (Cuadro 15).

Una menor sinéresis en el yogur YG_R bajo en grasa con 0.75 % se debe a que el GMP es un macropéptido glicosilado (con grupos hidroxilos) característica que le ayudo para comportarse como un hidrocoloide (dispersarse en agua forman geles viscosos).

Cuadro 15. Efecto del nivel de glicomacropéptido (GMP) sobre acidez, pH y sinéresis del yogur YG_R.

Tipo de yogur	%GMP	PH	Acidez (%)	Sinéresis (%)
Leche entera	0	4.33 ± 0.00	12.40 ± 0.28	66.79 ± 2.53
Reducido en grasa	0	4.30 ± 0.03	11.65 ± 0.21	69.43 ± 0.77
	0.25	4.31 ± 0.01	11.65 ± 0.21	65.35 ± 0.28
	0.5	4.31 ± 0.01	12.60 ± 0.14	69.59 ± 2.60
	0.75	4.35 ± 0.01	12.15 ± 0.49	59.66 ± 0.48*
Bajo en grasa	0	4.30 ± 0.04	11.20 ± 0.00	65.00 ± 0.25
	0.25	4.29 ± 0.03	12.70 ± 0.14	67.10 ± 0.65
	0.5	4.37 ± 0.00	12.40 ± 0.28	66.99 ± 0.83
	0.75	4.37 ± 0.00	12.40 ± 0.28	56.84 ± 0.34*
Sin grasa	0	4.27 ± 0.02	12.25 ± 0.77	66.50 ± 3.18
	0.25	4.32 ± 0.02	12.40 ± 0.28	66.75 ± 0.13
	0.5	4.36 ± 0.00	12.25 ± 0.70	65.71 ± 1.00
	0.75	4.36 ± 0.04	12.35 ± 0.21	66.99 ± 0.46

Resultados expresados como los promedios ±DE. * indica diferencia significativa respecto al control (yogur hecho con leche entera) mediante la prueba de Dunnett con un nivel de confianza del 95 %.

La formación de los geles mencionados implica la asociación o reticulación de las cadenas de los polímeros (en este caso la asociación del GMP con él mismo o con otras proteínas lácteas) para formar una red tridimensional que atraparé e inmovilizará el agua dentro de la misma, traducándose este fenómeno en una menor sinéresis como se observó en el yogur estilo griego bajo en grasa con 0.75 % de GMP (Saha y Bhattacharya., 2010).

6.4.2 Efecto del glicomacropéptido (GMP) sobre firmeza y reología

Entre las razones más importantes para usar los miméticos de grasa en los alimentos se encuentra su habilidad para modificar la reología de los sistemas

alimentarios incluyendo las propiedades mecánicas (textura) y de flujo. Estas modificaciones ayudarán a las propiedades sensoriales de matrices alimentarias como en este caso el GMP al yogur estilo griego.

En la Figura 15 se mide la firmeza de tres grupos de yogures que difieren en su contenido de grasa, cada grupo tiene cuatro niveles de GMP (0, 0.25%, 0.5% y 0.75 %) a excepción del control (leche entera). En la misma figura se observa que el contenido de GMP no influencia en los valores de textura estadísticamente, pero en general sí existe una tendencia de los yogures con mayor contenido de GMP (0.5 y 0.75 %) a valores menores de firmeza independientemente del contenido de grasa, valores que siguen estando dentro del rango que se maneja actualmente para yogures estilo griego comerciales (61-192 g). Resultados similares fueron encontrados por Hadnadev et al (2011) al incrementar maltodextrina como mimético de grasa, ellos sugieren que la disminución en la firmeza se debe a que la red continua de grasa se ve interrumpida por la fase hidratada, cabe mencionar que las desviaciones estándar de este grupo de trabajo son iguales a las de esta investigación. Como dato adicional la firmeza del yogur con leche entera fue muy similar (123 g) a los yogures con menor contenido de grasa.

Para el estudio de reología el yogur estilo griego producido en este trabajo se estudia como una matriz tipo gel, con el propósito de estudiar más fácil su comportamiento. Saha y Bhattacharya (2010) definen a un gel como un sistema viscoelástico con un "módulo de almacenamiento" (G') mayor que el "módulo de pérdida" (G'').

En las Figuras 16, 17 y 19 se presentan curvas de deformación. En general todos los yogures presentan un comportamiento no-Newtoniano (cizallamiento) ya que G' es constante a velocidades bajas de cizallamiento ("strain") pero a velocidades altas disminuyen los valores del módulo de almacenamiento (G').

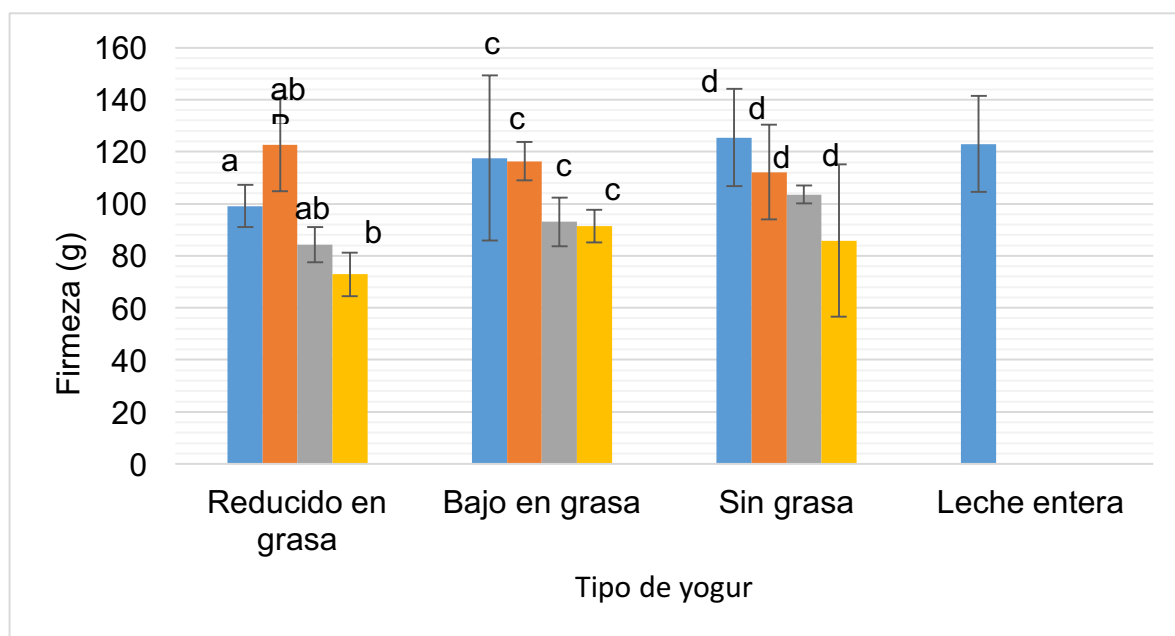


Figura 15. Firmeza de los yogures YG_R (reducidos en grasa, bajos en grasa y sin grasa) con diferentes porcentajes de glicomacropéptido (GMP). Azul (0% GMP), naranja (0.25% GMP), gris (0.50% GMP), amarillo (0.75% GMP). Resultados expresados como las medias (n=2) ± DE. Letras diferentes indican diferencia significativa según el nivel de GMP mediante la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95 %.

El comportamiento anterior es el resultado de rearrreglos microestructurales, ya que a velocidades bajas de cizallamiento existen interacciones partícula-molécula que dan como resultado la formación de la red que al tratar de romperlos dan una mayor resistencia (valores más altos de G'); sin embargo, a velocidades altas de cizallamiento pueden superar estos efectos y como consecuencia se tendrá que las moléculas se reorganicen en capas en forma de hilo, los polímeros se alinean al flujo y los agregados tiendan a descomponerse. Una consecuencia de estos reordenamientos será una disminución en la interacción molécula-partícula, que contribuyen a una disminución de G' (Malver, 2016).

Un comportamiento a discutir es que los yogures formulados con mayor cantidad de GMP (0.5% y 0.75%) tienden a valores más pequeños de G' , lo que se traduce como geles más suaves y por consecuencia menos rígidos característica que se pudo apreciar visualmente (Figura 18), este comportamiento también está reportado (Annable et al., 1994) en sistemas de inulina con una segregación

polimérica conduciendo a un sistema bifásico, situación que no ocurrió con el glicomacropéptido (pues se realiza vida de anaquel del yogur estilo griego con GMP).

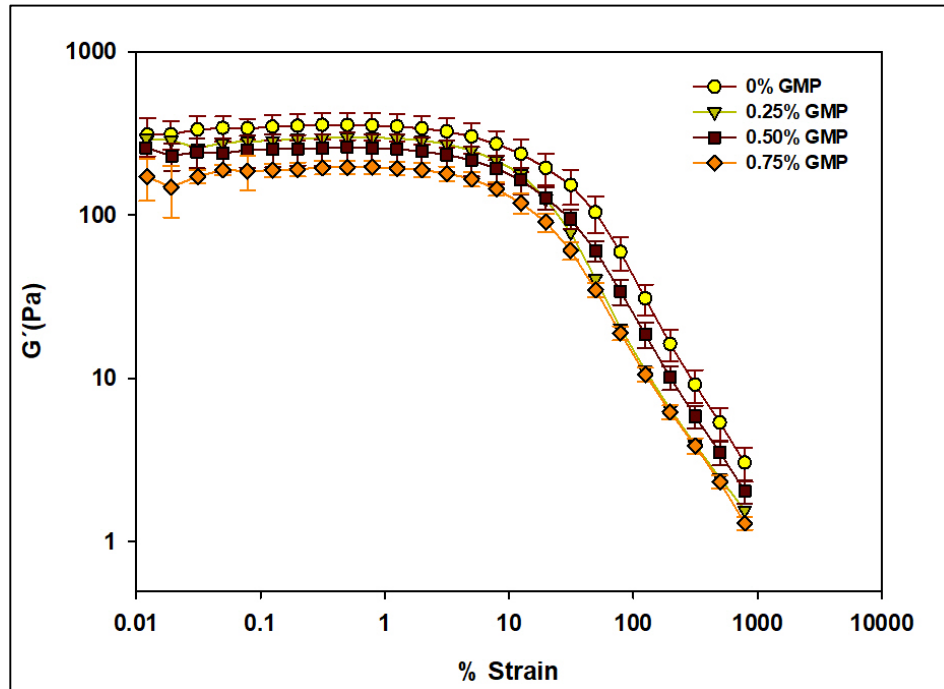


Figura 16. Barrido de deformación para los yogures YG_R reducidos en grasa con 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75% de glicomacropéptido (GMP). Resultados expresados como los promedios de dos réplicas \pm DE.

Una posible explicación para el comportamiento mencionado en el párrafo anterior, es que los yogures con niveles altos de GMP (0.5 y 0.75 % de GMP) se podían observar como una fase continua sin gránulos, y los de menor contenido de GMP (0 y 0.25 % de GMP) se les observaban gránulos los cuales al estar en contacto con las placas paralelas del reómetro pudieron presentar mayor resistencia al flujo lo que se vio reflejado en valores más altos del módulo de almacenamiento (G').

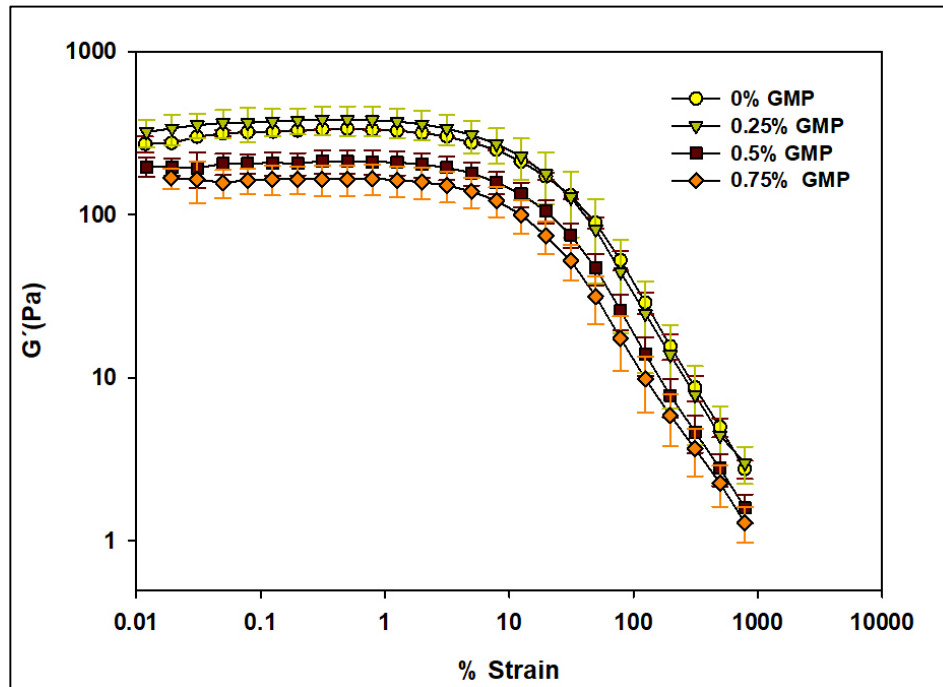


Figura 17. Barrido de deformación para los yogures YGR bajos en grasa con 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75% de glicomacropéptido (GMP). Resultados expresados como los promedios de dos réplicas \pm DE.



Figura 18. Yogur estilo griego YGR bajo en grasa con 0.25 % y 0.75 % de glicomacropéptido (de izquierda a derecha).

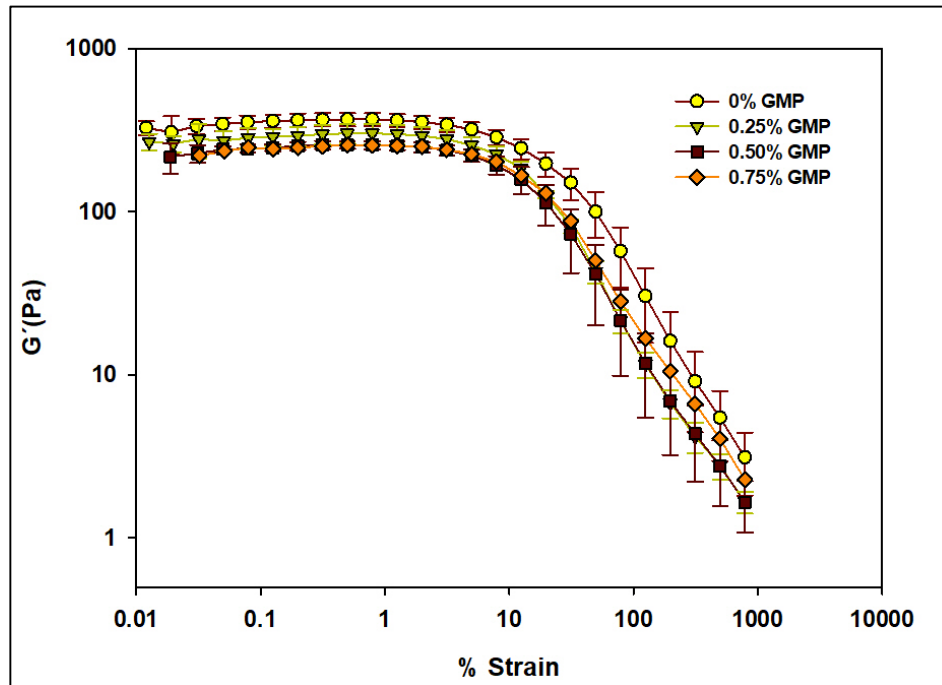


Figura 19. Barrido de deformación para los yogures YG_R sin grasa con 0%, 0.25%, 0.50% y 0.75% de glicomacropéptido (GMP). Resultados expresados como los promedios de dos réplicas \pm DE.

6.4.3 Efecto del glicomacropéptido (GMP) sobre gránulos del yogur

En la Figura 20 se grafican el número de gránulos (≥ 1 mm) por gramo en cada tipo de yogur (reducido en grasa, bajo en grasa y sin grasa) con sus cuatro niveles de GMP (0%, 0.25%, 0.5% y 0.75%). Sin importar el contenido de grasa en el yogur estilo griego existe una tendencia estadísticamente significativa: yogures con 0.5% y 0.75% de GMP presentan una menor cantidad de gránulos en comparación con yogures con 0.0% y 0.25 % de GMP, es importante recordar que estos gránulos en yogur están relacionados con una menor calidad sensorial. Los gránulos se pueden apreciar en las figuras 21, 22 y 23.

Dentro del diagrama de flujo para la formulación del yogur existe un tratamiento térmico de 90 °C/10 min que además de destruir microorganismos patógenos para la salud induce cambios en los componentes de la leche, como es la interacción entre α -lactoalbúmina con β -lactoglobulina y κ -caseína con β -lactoglobulina (que se encuentra alrededor de la caseína) (Tamime y Robinson, 2007). Remuf et al (2003) relaciona la interacción entre las proteínas de suero

desnaturalizadas-caseína con un incremento en el tamaño de las micelas de caseína y forma de estos gránulos; por otro lado Puvanenthiran et al (2002) asocia esta textura granulosa con la formación de agregados más grandes de las proteínas de suero desnaturalizadas (α -LA y β -LG).

La explicación que se propone para explicar el comportamiento mencionado en la Figura 20 con base a lo reportado por Remuf et al (2003) y Puvanenthiran et al (2002) es que con la adición de niveles altos de GMP (0.5% y 0.75 %) hubo una formación de una microestructura fibrilar conectando los aglomerados de micelas de caseína formando una red continua entre el solvente y las proteínas y así evitando aglomerados grandes, un comportamiento similar es reportado para la carragenina (Drohan et al., 1997) que es actualmente uno de los estabilizantes más usados en los productos lácteos. Cabe mencionar que lo anterior pudiera ser comprobado con un análisis microestructural del yogur.

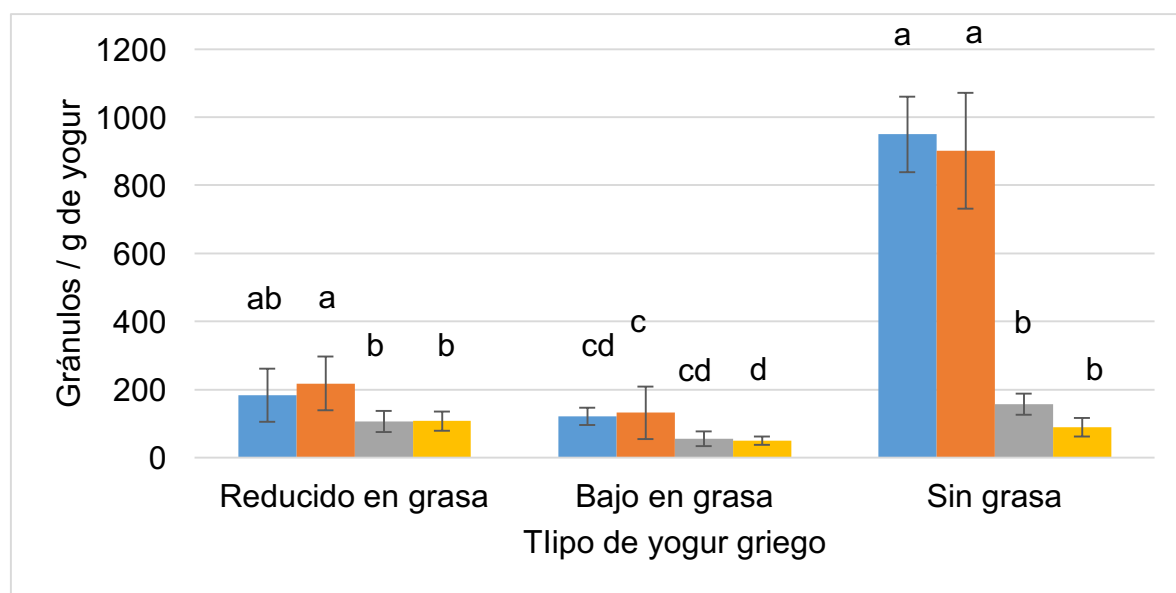


Figura 20. Gránulos de 1mm o mayores por gramo en los yogures YG_R (reducidos en grasa, bajos en grasa y sin grasa) con diferentes niveles de glicomacropéptido (GMP). Resultados expresados como las medias (n=5) del número de gránulos por gramo del yogur \pm DE. Letras diferentes indican diferencia significativa según el nivel de GMP mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95 %.

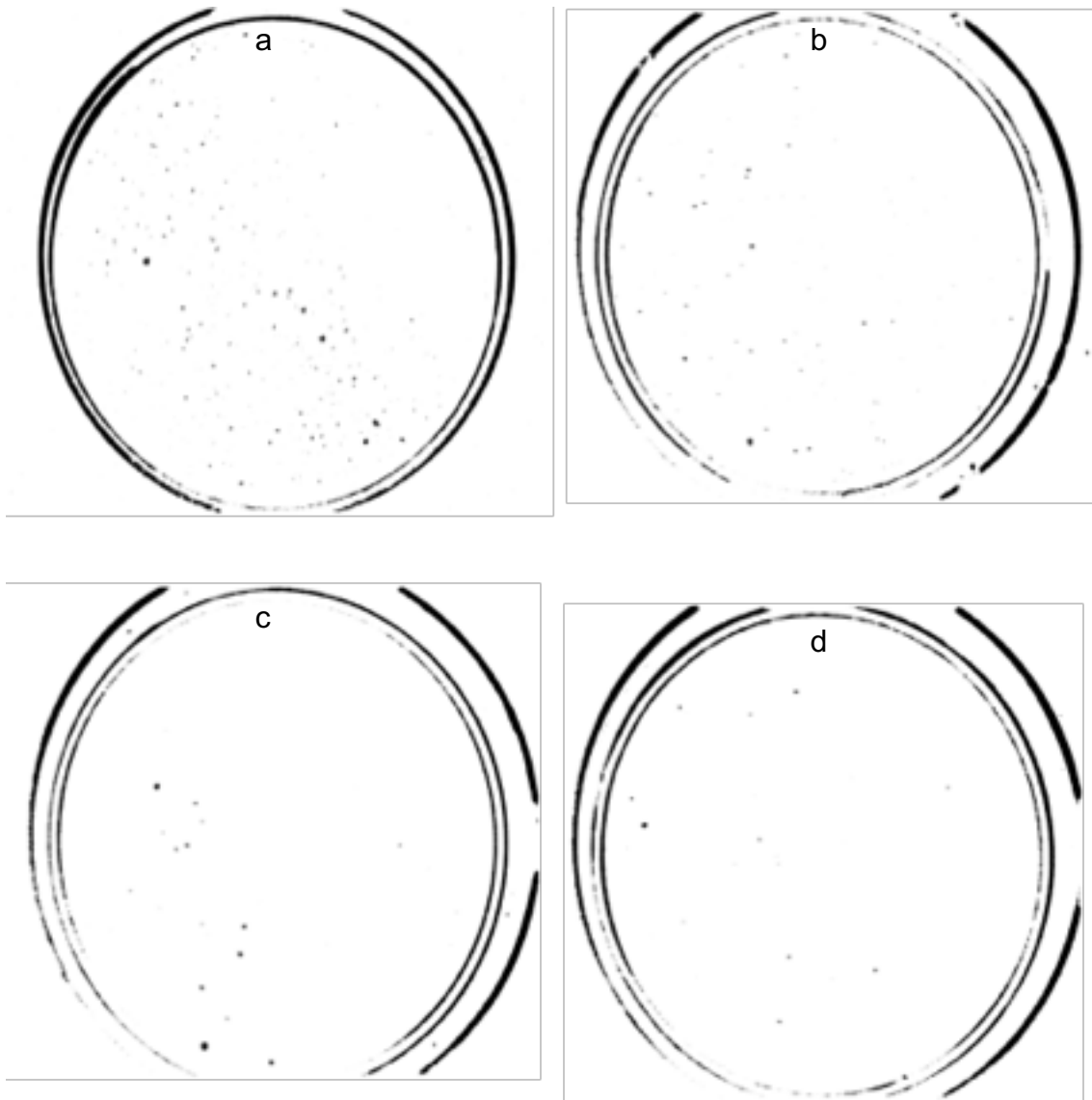


Figura 21. Gránulos de 1mm o mayores en el yogur YG_R reducido en grasa 0% (a), 0.25% (b), 0.50% (c) y 0.75% (d) de GMP.

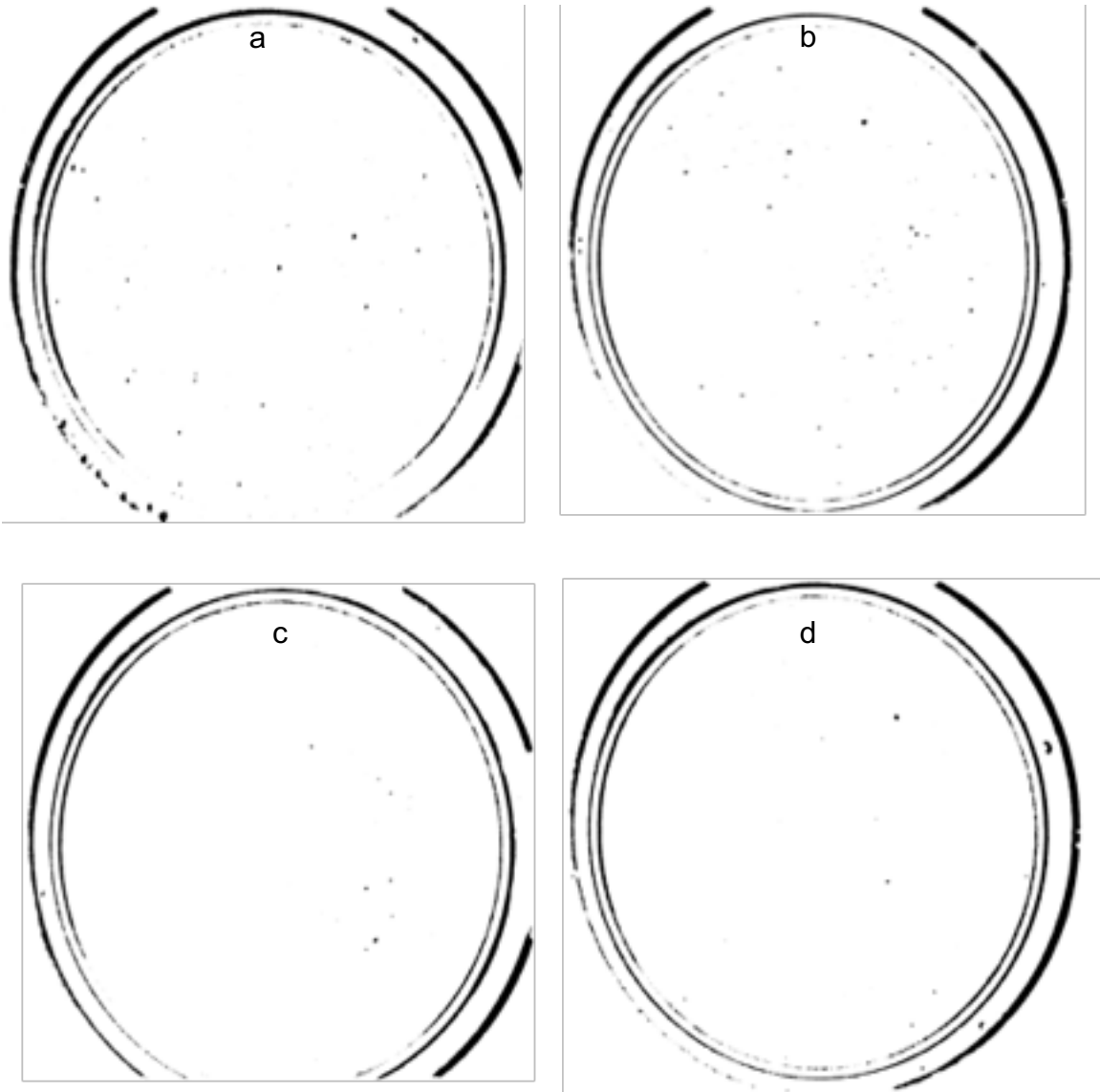


Figura 22. Gránulos de 1mm o mayores en el yogur YG_R bajo en grasa 0% (a), 0.25% (b), 0.50% (c) y 0.75% (d) de GMP.

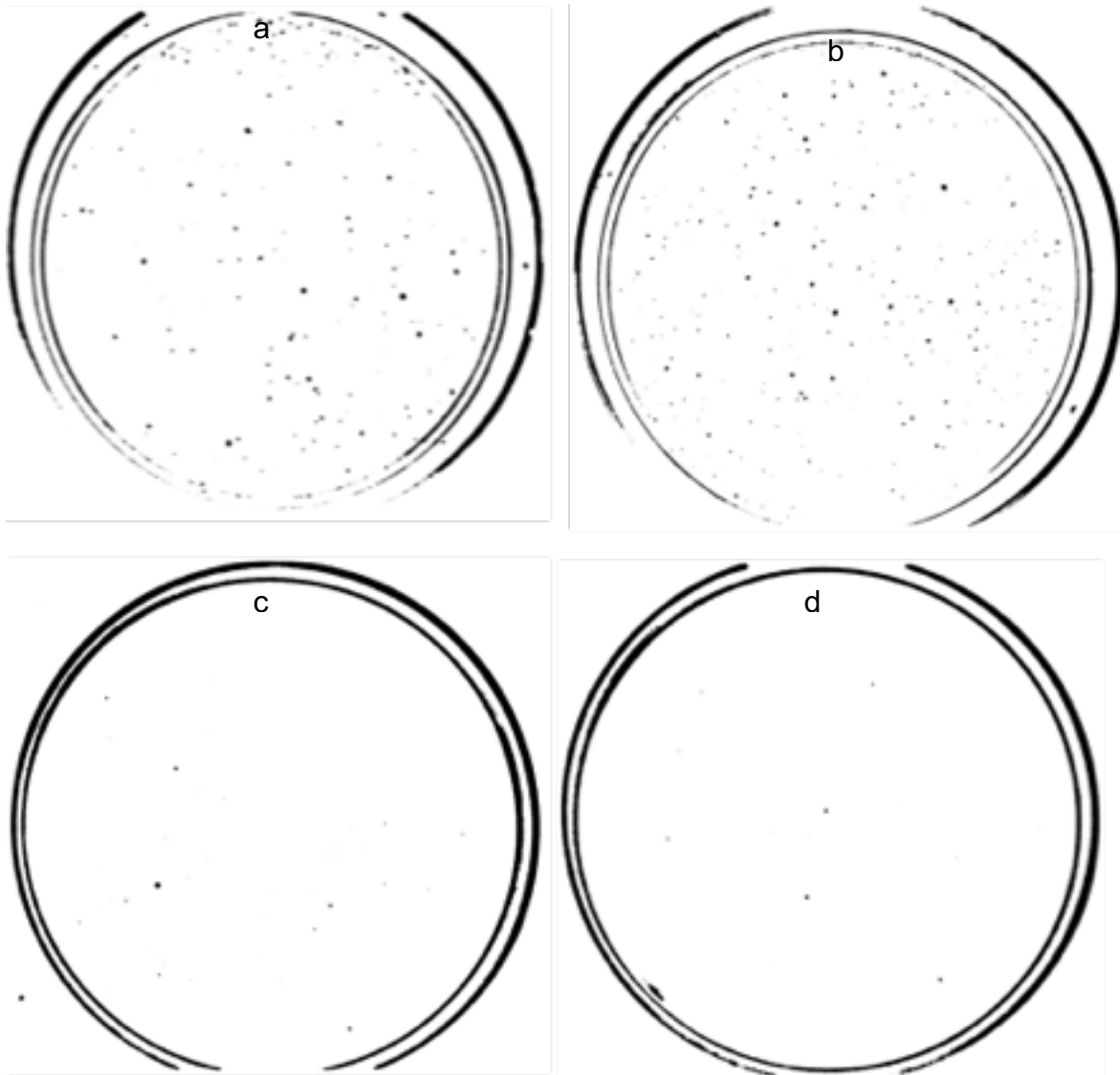


Figura 23. Gránulos de 1mm o mayores en el yogur YG_R sin grasa 0% (a), 0.25% (b), 0.50% (c) y 0.75 % (d) de GMP.

6.1 Yogur estilo griego YG_R bajo en grasa

El yogur que se eligió para la determinación de vida de anaquel fue el reducido en azúcar y bajo en grasa con 0.75 % de GMP (YG_{RB}) ya que fue el que presentó menor sinéresis y menor contenido de gránulos, características fisicoquímicas que definen una mayor aceptación sensorial, por lo que solo a este yogur se le determinó su composición nutrimental.

6.1.1 Información nutrimental

En el Cuadro 16 se puede apreciar que los diferentes lotes de leche fluida que se utilizaron para la elaboración del yogur estilo griego sometido a vida de anaquel tienen una desviación estándar pequeña, por lo que la diferencia en los parámetros de calidad finales de los yogures almacenados a diferentes tiempos no pueden atribuirse a la materia prima (los demás ingredientes utilizados en la fabricación del yogur son de un mismo lote).

Cuadro 16. Parámetros de calidad de la leche baja en grasa utilizada en la elaboración de los lotes del yogur estilo griego.

Grasa (%)	2.53 ± 0.02
Densidad(g/mL)	1.032 ± 0.001
Sólidos totales (%)	8.87 ± 0.49
Proteína (%)	3.05 ± 0.32

Resultados expresados como las medias (n=4) ± DE.

En el Cuadro 17 se plasma la información nutrimental del yogur reducido en azúcar y bajo en grasa con 0.75 % de GMP (YG_{RB}) se puede ver que la formulación desarrollada se encuentra dentro de los valores nutricionales ofrecidas en el mercado, no se compara con un yogur bajo en grasa y/o reducido en azúcar ya que en el mercado sólo se encuentran productos sin grasa o sin azúcar; sin embargo, estos productos no cuentan con buenas características sensoriales a diferencia de la formulación que se realizó en este trabajo.

En cuanto la cantidad de carbohidratos (10.52 %) contenidos en la formulación, este valor pudiera parecer alto, pero hay que recordar que no se refiere

únicamente al azúcar añadida (la formulación contiene solo 3.4 % de sacarosa), sino que se cuantifica los carbohidratos de la leche y el almidón añadido (0.45%).

En cuanto al contenido de grasa (2 ± 0.50 g/100 g de yogur) corresponde a un yogur bajo en grasa ya que según la Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSAI-1994 un producto bajo en grasa debe tener menor o igual a 3 g/porción.

Cuadro 17. Información nutrimental del yogur estilo griego YG_{RB} utilizando el glicomacropéptido (GMP) como mimético de grasa y rangos de yogures estilo griego comerciales.

Nutriente	YG _{RB}	Yogures estilo griego comerciales
Proteína (%)	6.21 \pm 0.22	4.6-10
Grasa (%)	2 \pm 0.50	0-5.3
Carbohidratos (%)	10.52	0-12.6
Minerales (%)	1.10 \pm 0.02	No especificado

6.1.2 Determinación de la vida de anaquel sensorial

6.1.2.1 Estudio de vida de anaquel

Para los datos de vida de anaquel se eliminaron aproximadamente la mitad de consumidores porque sus criterios no fueron congruentes (rechazaban la muestra fresca o su aceptación y rechazo de la muestra no obedecía ningún patrón); sin embargo, el número de consumidores utilizados en este estudio (50) entran en el intervalo recomendado para estudios de sobrevivencia según Calligaris et al (2012).

Los datos experimentales de rechazo por parte de los consumidores del yogur estilo griego reducido en azúcar y bajo en grasa con 0.75% de GMP presentan una distribución exponencial (Cuadro 18) al tener una menor pérdida de información (AIC más chico).

Cuadro 18. Comparación de modelos probabilísticos para el comportamiento de la aceptación sensorial del yogur YG_{RB} con respecto al tiempo.

Tipo de distribución	AICc
Exponencial	78.144392
Logístico	78.227604
SEV	78.228137
Normal	78.346691
LEV	78.507062
Weibull	78.944229
Log-logístico	79.030943
Log-normal	79.314082
Frechet	79.648761
Log-Generalizada	80.518631
Gama	

En la Figura 24 se observa como el rechazo por el consumidor en el tiempo se ajusta efectivamente a un modelo exponencial y que a pesar de que el yogur YG_{RB} no contenía algún conservador, las probabilidades de rechazo en el tiempo (hasta 50 días) son relativamente bajas (15-40 %). Esto habla de que el GMP funcionó como un buen estabilizante pues no hubo sinéresis a la vista del consumidor en los 47 días de almacenamiento.

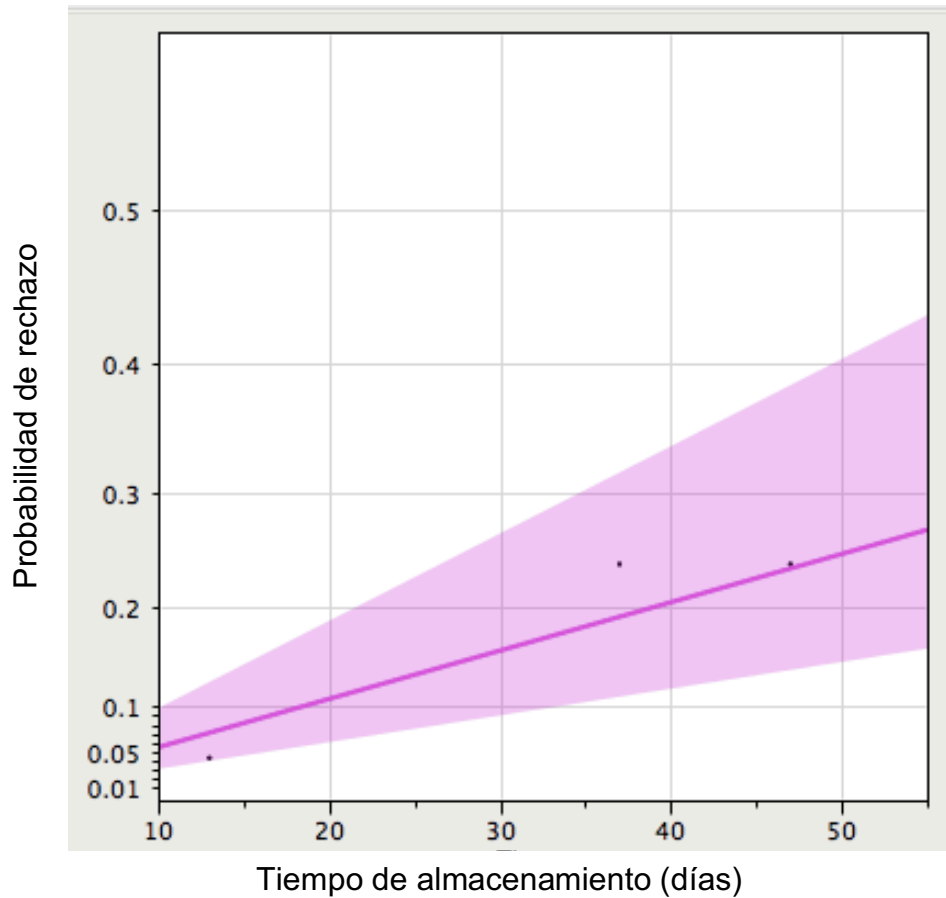


Figura 24. Ajuste a un modelo exponencial los datos sensoriales del yogur YG_{RB} almacenado a diferentes tiempos.

6.1.2.2 Metodología *Cut-of-point* (COP)

Para determinar la vida de anaquel primaria del yogur (almacenamiento antes de ser abierto) por la metodología COP se propuso primeramente el valor de acidez como indicador crítico, por lo que se correlacionó los valores de acidez con la probabilidad de rechazo por parte del consumidor (Figura 25) obteniendo la siguiente ecuación: % de rechazo = $-127.6081 + 99.72973 \cdot \text{Acidez}$ con un coeficiente de correlación del 0.9512. En esta etapa se toma la acidez como el indicador crítico para determinar el tiempo de falla (cuando termina la vida útil) del yogur estilo griego reducido en azúcar y bajo en grasa con 0.75% de GMP.

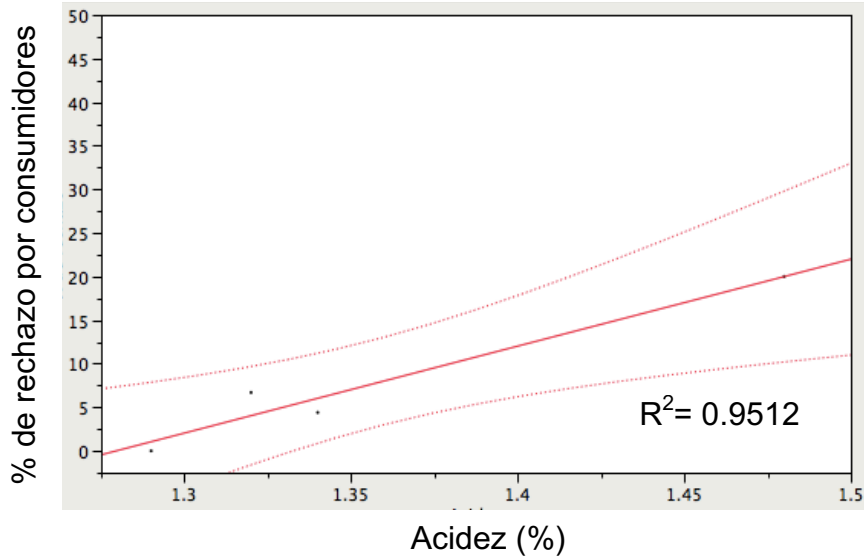


Figura 25. Regresión lineal entre el % de rechazo de los consumidores y el % de acidez del yogur YG_{RB}.

Para el límite de aceptabilidad I_{lim} (nivel de riesgo inaceptable dada de un producto) se determinó una probabilidad de falla del 15 %, por lo que en el perfilador de probabilidad (Figura 26) se aprecia que ese porcentaje de rechazo se tendrá a los 30 días de almacenamiento del yogur a 4°C. Al sustituirlo en la ecuación citada en la sección anterior se determina una acidez del 1.42% a los treinta días de almacenamiento y que mayor a este valor existirá una probabilidad mayor al 15 % de rechazo por parte del consumidor por el yogur estilo griego.

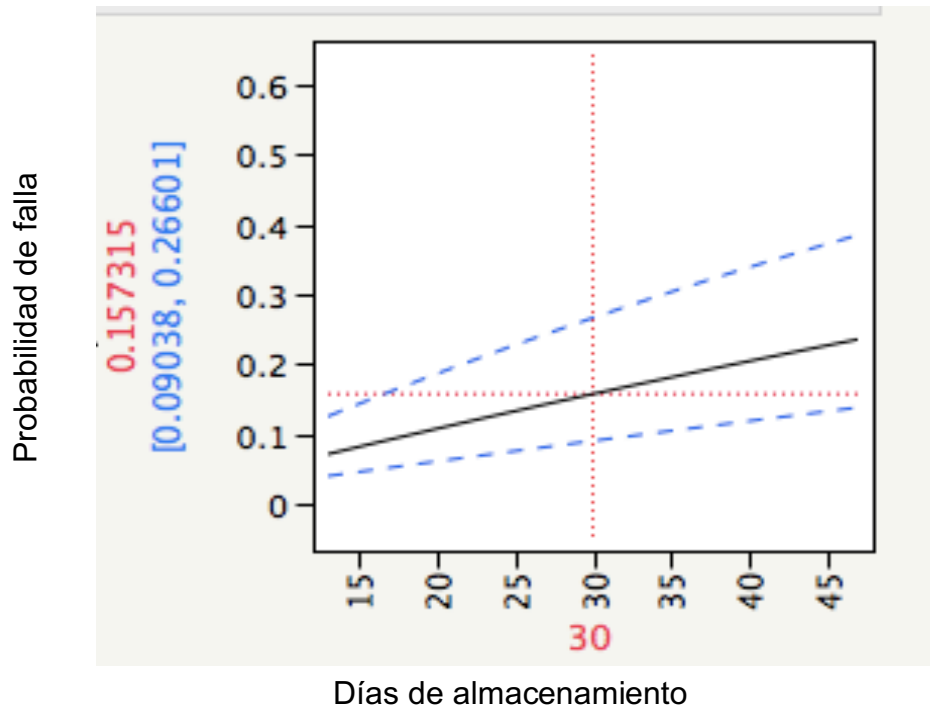


Figura 26. Perfilador de la probabilidad de rechazo para la distribución exponencial a los 30 días del yogur YG_{RB} .

7 CONCLUSIONES

El área correspondiente a los tiempos de 5-13 min le pertenecen al GMP. La mayor pureza (92 %) del GMP a partir de WPI (aislado de proteína de suero) se obtiene con el tratamiento térmico de 90 °C/60 min, su mayor recuperación se presenta a 70°C/150 min. Se obtuvo GMP en polvo con un contenido de proteína y glicosilación (cuantificación de carbohidratos por diferencia) igual al comercializado por Arla Food Ingredients y Davisco Foods International, Inc.

La formulación que tuvo un sabor desagradable fue la que se redujo en un 75% de azúcar, para las formulaciones con 50 % y 25 % menos azúcar tuvieron un porcentaje alto de aceptación por el consumidor.

La textura del yogur estilo griego fue igual a la de un yogur griego comercial por disminución del porcentaje de gretina en la formulación original (de 0.27 a 0.07 %) sin el aumento de la sinéresis.

En general, el comportamiento del GMP como sustituto de grasa en el yogur estilo griego (reducido en grasa, bajo en grasa y sin grasa) no se vieron afectadas características de calidad como son el pH y acidez del yogur como sucede cuando se utilizan otros sustitutos de grasa a base de proteínas de suero.

Se demostró que el GMP en porcentajes de 0.5% y 0.75 % se comportó como un sustituto de grasa: primeramente porque los yogures con estos porcentajes mostraron una menor firmeza comportamiento igual al que muestra la maltodextrina cuando se usa como estabilizante. Los valores menores del módulo de almacenamiento (G') hablan de yogures más suaves al paladar y finalmente porque estos yogures fabricados con porcentajes altos de GMP (0.5% y 0.75%) de GMP tuvieron menos gránulos.

Se formuló un yogur bajo en grasa y 0.75% de GMP con buenas características fisicoquímicas y sensoriales (iguales a las de un yogur estilo griego comercial). En la vida de anaquel sensorial que se definió para este yogur estilo griego sin conservadores y almacenado en refrigeración (4°C) fue de 30 días con

una probabilidad de rechazo del 15% a este tiempo, teniendo como indicador crítico la acidez titulable en un valor de 1.42 % (a los 30 días).

Como conclusión final se comprobó que el GMP tiene potencial comercial para ser un sustituto de grasa en yogur estilo griego ya que además de proporcionar al yogur buenas características sensoriales, sus porcentajes donde hace su función de estabilizante (0.5% y 0.75%) se encuentran dentro de las concentraciones que autores mencionan como óptimas para un estabilizante en lácteos (0.2-2%). Aunado a su utilización como sustituto de grasa se le pudiera dar auge comercial al poderlo utilizar como un sustituto de grasa y al mismo tiempo como prebiótico (característica ya reportada en trabajos internacionales).

8 LITERATURA CITADA

Al-Kadamany, E., Khattar, M., Haddad, T., & Toufeili, I. (2003). Estimation of shelf-life of concentrated yogurt by monitoring selected microbiological and physicochemical changes during storage. *LWT - Food Science and Technology*, 36(4), 407–414.

Annable, P., Fitton, M., Harris, B., Phillips, G., & Williams, P. (1994). Phase behaviour and rheology of mixed polymer systems containing starch. *Food Hydrocolloids*, 8(1), 351-359.

Association of Official Analytical Chemists., y Cunniff, P. (2005). Official methods of analysis of AOAC International (17th ed.). Gaithersburg, Maryland: AOAC International.

Atamer, M., Sezgin, E., y Yetismeyen, A. (1988). Some properties of Torba yoghurts. *Gida*, 13(4), 283–288.

Bonnaillie, L. M., Qi, P., Wickham, E., & Tomasula, P. M. (2014). Enrichment and purification of casein glycomacropeptide from whey protein insolate using supercritical carbon dioxide processing and membrane ultrafiltration. *Foods*, 3(1), 94-109.

Brody, E. P. (2000). Biological activities of bovine glycomacropeptide. *British Journal of Nutrition*, 84(2001), 39 – 46.

Codex Alimentarius. (2011). *Leche y Productos Lácteos*. Roma: FAO, OMS.

Dannenberg, F., & Kessler, G. H. (1988). Reaction kinetics on the denaturation of whey proteins in milk. *Journal of Food Science*, 53(1988), 258-263.

Desai, N. T., Shepard, L., & Drake, M. A. (2013). Sensory properties and drivers of liking for Greek yogurts. *Journal of Dairy Science*, 96(12), 7454–7466.

Dominguez Soberanes, J., Garcia Garibay, M., Casa Alencaster, N. B., & Martinez Padilla, L. P. (2001). Instrumental texture of set and stirred fermented milk. Effect of ropy strain of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and an enriched substrate. *Journal of Texture Studies*, 32(3), 205-217.

Ebringer, L., Ferencik, M., & Krajcovic, J. (2008). Benefical Health Effects of milk and fermented Dairy Products. *Review*, 53(5), 378-394.

Eigel, W., Butler, J., Ernstrom, C., Farrell, H., Harwalkar, V., Jenness, R., Whitney, R. M. L. (1984). Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. *Journal Dairy Science*, 87(1), 1599–1631.

Euromonitor Internacional. (Diciembre de 2016). *Dairy in Mexico*. Obtenido de <http://www.euromonitor.com/home>: <http://www.euromonitor.com/dairy-in-mexico/report>

Farías, Martínez, & Pilosof. (2010). Casein glycomacropptide pH-dependent self-assembly and cold gelation. *International Dairy Journal*, 20(210), 79-88.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2013). *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*. Roma: FAO.

Gardini, F., Lanciotti, R., Guerzoni, M. E., y Torriani, S., (1999). Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in fermented milks. *International Dairy Journal*, 9(2), 125-134.

Ghorban Shiroodi, S., Amin Mohammadifar, M., Ghorbani Gorji, E., Ezzatpanah, H., & Zohouri, N. (2012). Influence of gum tragacanth on the physicochemical and rheological properties of kashk. *Journal of Dairy Research*, 5(143), 93-101.

Hadnadev, M., Dokic, L., Hadnadev, T., Pajin, B., & Krstonosic, V. (2011). The impact of maltodextrin-based fat mimetics on rheological and textural

characteristics of edible vegetable fat. *Journal of Texture Studies*, 42(2011), 404-411.

Hermes, R. G., Molist, F., Pérez, J., Gómez de Segura, A., Ywazaki, M., Davin, R., & Martín-Orúe, S. M. (2013). Casein glycomacropeptide in the diet may reduce *Escherichia coli* attachment to the intestinal mucosa and increase the intestinal lactobacilli of early weaned piglets after an enterotoxigenic *E. coli* K88 challenge. *British Journal of Nutrition*, 109(2014), 1001-1012.

Institute of Food Technologists . (1998). Fat replacers. *Food Technology*, 1-14.

Kaaki, D., Kebbe-Baghdadi, O., Najm, N. E. O., y Olabi, A. (2012). Preference mapping of commercial Labneh (strained yogurt) products in the Lebanese market. *Journal Dairy Science*, 95(2), 521–532.

Karam, M. C., Gaiani, C., Hosri, C., Burgain, J., & Scher, J. (2013). Effect of dairy powders fortification on yogurt textural and sensorial properties: a review. *Journal of Dairy Research*, 80(2013), 400–409.

Kawasaki, Y., Kawakami, M., Tanimoto, M., Dosako, S., Tomizawa, A., Kotake, M. (1996). pH-Dependent molecular weight changes of j-casein glycomacropeptide and its preparation by ultrafiltration. *Milchwissenschaft*, 48(1), 191–196.

Krzeminski , A., Prell, K. A., Weiss, J., & Hinrichs, J. (2014). Environmental response of pectin-stabilized whey protein aggregates. *Food Hydrocolloids*, 35(2014), 332-340.

Lange, G. (2013). *Development of a yogurt powder formulation that can produce a recombined product with physicochemical and rheological properties similar to those found in commercial Greek-style yogurts*. Tesis de maestría. University of Alberta, Alberta, Canadá.

Magenis, R. B., Prudencio, E. S., Amboni, R. D. M. C., Cerqueira Junior, N. G., Oliveira, R. V. B., Soldi, V., & Benedet, H. D. (2006). Compositional and physical properties of yogurts manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(2006), 560–568.

Malvern. (2016). *A basic introduction to reology*. Worcestershire, UK: Malvern Instruments Limited.

Martín-Diana, A., Fraga, M., & Fontecha, J. (2002). Isolation and characterisation of caseinmacropeptide from bovine, ovine, and caprine cheese whey. *European Food Research and Technology*, 214(2002), 282–286.

Martín-Diana, Gómez-Guillén, P, M., & Fontecha. (2006). Viscoelastic properties of caseinmacropeptide isolated from cow, ewe and goat cheese whey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(2006), 1340-1349.

Morales, R., Martinez, M. J., & Pilosof, A. M. (2016). Dynamics of gelation, textural and microstructural properties of gelatin gels in the presence of casein glycomacropeptide. *Food Research International*, 84(2016), 102-107.

Neelima, Sharma, R., Rajput, & Mann, B. (2013). Chemical and functional properties of glycomacropeptide (GMP) and its role in the detection of cheese whey adulteration in milk: a review. *Dairy Science and Technology*, 93(2013), 21-43.

Norma Mexicana NMX-F-066-S-1978, Alimentos. Determinación de cenizas en alimentos.

Norma Mexicana NMX-F-068-S-1980, Alimentos. Determinación de proteínas.

Norma Mexicana NMX-F-083-1986, Alimentos. Determinación de humedad en productos alimenticios

Norma Mexicana NMX-F-382-1986, Alimentos. Almidón o fécula de maíz.

Norma Mexicana NMX-F-387-1982. Alimentos. leche fluida determinación de grasa butírica por el método de gerber.

Norma Mexicana NMX-F-444-1983, Alimentos. Yoghurt o leche búlgara.

Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales.

Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba.

Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.

Norma Oficial Mexicana NOM-185-SSA1-2002, Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias.

Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Nsabimana, C., Jiang, B. O., & Kossah, R. (2005). Manufacturing, properties and shelf life of labneh: a review. *International Journal of Dairy Technology*, 58(3), 129–137.

Özer, B. (2006). Production of concentrated products. In A. Tamime, *Fermented Milks* (pp. 60-88). Reino Unido: Blackwell Science Ltd.

O'Loughlin, I. B., Murray, B. A., Kelly, P. M., FitzGerald, R. J., & Brodtkorb, A. (2012). Enzymatic Hydrolysis of Heat-induced Aggregates of Whey Protein Isolate. *Agriculture and Food Development Authority*, 60(19), 1-39.

Patel, S. (2015). Emerging trends in nutraceutical applications of whey protein and its derivatives. *Journal Food Science Technology*, 1-11. doi. 10.1007/s13197-015-1894-0.

Pang, Z., Deeth, H., Sharma, R., & Bansal, N. (2014). Effect of addition of gelatin on the rheological and microstructural properties of acid milk protein gels. *Food Hydrocolloids*, 35(2014), 1-12.

Pinheiro, Oliveira, Penna, & Tamime. (2005). The effect of different sweeteners in low-calorie yogurts - a review. *International Journal of Dairy Technology*, 58(4), 193-199.

Remeuf, F., Mohammed, S., Sodini, I., & Tissier, J. P. (2003). Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *International Dairy Journal*, 13(2003), 773-782.

Robitaille, G. (2013). Growth-promoting effects of caseinomacropeptide from cow and goat milk on probiotics. *Journal of Dairy Research*, 80(1), 58-63.

Royle, P. J., McIntosh, G. H., & Clifton, P. M. (2008). Whey protein isolate and glycomacropeptide decrease weight gain and alter body composition in male Wistar rats. *British Journal of Nutrition*, 100(2008), 88-93.

Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *Journal Food Science Technology*, 47(6), 587-597.

Silva, E.R. (2004). Goat's Glycomacropeptide and Glycomacropeptide Depleted-Whey: Isolation and Characterization. Tesis de doctorado. University of

Alberta, Alberta, Canadá (p. 23-60).

Tamime, A., y Robinson, R. (2007). Tamime and Robinson's Yoghurt (Science and technology. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.

Thomä, C., Krause, I., & Kulozik, U. (2006). Precipitation behaviour of caseinomacropetides and their simultaneous determination with whey proteins by RP-HPLC. *International Dairy Journal*, 16(2006), 285–293.

Tolkach, A., & Kulozik, U. (2005). Fractionation of whey proteins and caseinomacropetide by means of enzymatic crosslinking and membrane separation techniques. *Journal of Food Engineering*, 67(2005), 13-20.

Tome, D. (2008). Protein-induced satiety. *Appetite*, 94(3), 51, 405.

Tosh, S., Marangoni, A., Hallett, R., & Britt, I. (2003). Aging dynamics in gelatin gel microstructure. *Food Hydrocolloids*, 17(2003), 503-513.

Yañez, E., & Biolley, E. (1999). Sustitutos de grasa en la alimentación humana. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49(2), 101-104.

Yazici, F., & Akgun, A. (2004). Effect of some protein based fat replacers on physical, chemical, textural, and sensory properties of strained yoghurt. *Journal of Food Engineering*, 62(2004), 245-254.

Yver, A. L., Bonnaille, L. M., Yee, W., McAloon, A., & Tomasula, P. M. (2012). Fractionation of Whey Protein Isolate with Supercritical Carbon Dioxide - Process Modeling and Cost Estimation. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(2012), 240-259.

9 APÉNDICE

Cuadro A-1. Abreviaturas de empleo en español

GMP	glicomacropéptido
Mm	milímetro
°C	grado celsius
Min	minuto
β -LG	beta-lactoglobulina
α -LA	alfa-lactoalbúmina
WPI	aisalado de proteína de suero
MPC 70	concentrado de proteína de leche al 70%
LDL	lipoproteína de baja densidad
UFC	unidad formadora de colonias
UF	ultrafiltración
WPC	concentrado de proteína de suero
HCL	ácido clorhídrico
TFA	áido trifluoroacético
G´	módulo de almacenamiento
G´´	módulo de pérdida

Cuadro A-2. Códigos usados para fines del presente trabajo

SWPI _T	Sobrenadante resultado del aislado de proteína de suero con tratamiento térmico
SWPI _{TD}	Sobrenadantes resultado del aislado de proteína de suero con los tratamientos térmicos del diseño de experimentos (Cuadro 6)
YG _o	Yogur estilo griego formulación original
YG _R	Yogur estilo griego con reducción de azúcar en un 25%
YR _{RB}	Yogur estilo griego con reducción de azúcar en un 25%, bajo en grasa y con 0.75 % de GMP