

Memoria de Trabajo de Final de Máster

de

Calidad de Alimentos de Origen Animal

**Incorporación a yogur de emulsiones deshidratadas ricas en ácidos grasos omega 3  
y mazada**

**UAB**

**Universitat Autònoma  
de Barcelona**



FACULTAT DE VETERINÀRIA

Laura Mendoza Sanahuja

Directoras: Dra. Victoria Ferragut Pérez y Dra. Marta Capellas Puig

Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), Septiembre 2021

Declaro ser autora de este Trabajo Fin de Máster que se presenta para obtener el grado de Maestría en Calidad de Alimentos de Origen Animal en la Universidad Autónoma de Barcelona, España. Este Trabajo no ha sido presentado antes para obtener ningún grado o examen en cualquier otra universidad.

Firma

Bellaterra, 31 de julio de 2021.

**Victoria Ferragut Pérez y Marta Capellas Puig** Profesoras de Universidad en el Área de Tecnología de los Alimentos del Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la Universitat Autònoma de Barcelona,

INFORMAN

Que el trabajo titulado: “**Incorporación a yogur de emulsiones deshidratadas ricas en ácidos grasos omega 3 y mazada**” ha sido realizado bajo nuestra supervisión y tutela por **Laura Mendoza Sanahuja** correspondiente al módulo Trabajo Fin de Máster en Calidad de Alimentos de Origen Animal de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Así mismo, se informa que este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Gobierno de España), a través del proyecto AGL2017-83331-R.

Firmas

Bellaterra, 31 de julio de 2021.

## **Agradecimientos**

A lo largo de este trabajo son varias las personas que me han ayudado a realizarlo ya sea de manera directa o indirecta y merecen un reconocimiento.

Me gustaría agradecer inicialmente a las directoras de este trabajo de fin de máster Victoria Ferragut Pérez y Marta Capellas Puig. Agradecerles especialmente su confianza y dejarme formar parte de este proyecto. Gracias por vuestra implicación y seguimiento a lo largo de estos meses resolviendo todas las dudas que me han podido surgir mostrándose siempre disponibles para atenderme.

Paralelamente, también agradezco enormemente la implicación de mi compañera de laboratorio Afi. Gracias por tu dedicación incansable y por mostrarte disponible siempre para resolver cualquier duda, aportando conocimientos, motivación y ánimo. A su vez, quería agradecer y reconocer la enorme labor llevada a cabo por Sonia Llorens siempre atenta para ayudarnos y guiarnos en el uso de las herramientas y gestión de equipos de laboratorio.

Finalmente, a nivel extra-académico, me gustaría dar un agradecimiento y mención especial a mi familia, amigos y personas cercanas por confiar en mí siempre y que de un modo u otro han sido mi principal fuente de apoyo y motivación en todo momento.

## **Lista de abreviaturas**

<b>ALA</b>	Ácido alfa-linolénico
<b>CH</b>	Homogenización convencional
<b>CRA</b>	Capacidad de retención de agua
<b>ED</b>	Emulsiones deshidratadas
<b>F</b>	Firmeza del gel al finalizar la coagulación
<b>IDR</b>	Ingesta diaria recomendada
<b>MFMG</b>	Membrana del glóbulo graso de la leche
<b>TC</b>	Tiempo de inicio de la coagulación
<b>UHPH</b>	Homogenización a ultra alta presión
<b>VC</b>	Velocidad de coagulación

## Tabla de contenido

Resumen .....	7
Abstract .....	8
1. Introducción .....	9
2. Materiales y métodos .....	12
2.1. Materiales .....	12
2.2. Preparación de las emulsiones.....	13
2.3. Elaboración de los yogures .....	14
2.4. Estudio de la coagulación.....	15
2.5. Curva de acidez .....	15
2.6. Textura .....	16
2.7. Reología .....	16
2.8. Capacidad de retención de agua .....	16
2.9. Color.....	17
2.10. Determinación de la acidez total .....	17
2.11. Análisis sensorial.....	18
2.12. Análisis microbiológico .....	18
2.13. Análisis estadístico.....	19
3. Resultados y discusión .....	19
3.1. Estudio de la coagulación.....	19
3.2. Características de los yogures y su evolución durante el almacenamiento.....	21
3.2.1. Propiedades mecánicas.....	21
3.2.1.1. Análisis de textura .....	22
3.2.1.2. Análisis de la viscoelasticidad.....	25
3.2.1.3. Capacidad de retención de agua.....	27
3.2.2. Color.....	28
3.2.3. Determinación de la acidez total .....	31
3.3. Análisis sensorial.....	32
3.4. Análisis microbiológico .....	34
4. Conclusiones .....	35
5. Bibliografía.....	36

## Resumen

En este estudio se compararon el proceso de fermentación y las características de calidad durante su almacenamiento de yogures batidos. En primer lugar, a partir de una emulsión deshidratada (ED) compuesta por mazada y rica en ácidos grasos omega 3, se aplicaron dos sistemas de homogenización distintos: convencional (CH) y ultra alta presión de homogenización (UHPH). Para cada tipo de emulsión, se formularon yogures con un 4 y un 6% de ED obteniendo finalmente cuatro tipos de yogures batidos.

Los resultados mostraron que el tipo y la concentración de ED usada, por lo general, no afectó a las características fisicoquímicas y sensoriales de los yogures. El proceso de fermentación del yogur se desarrolló correctamente, presentando un tiempo de inicio de coagulación (TC) inferior en los yogures tratados por UHPH. Con relación al estudio de las propiedades mecánicas, se observó que, a nivel macroscópico, no se producían cambios significativos en la textura, ni por la distinta concentración de ED añadida ni por el tratamiento aplicado a esta. Sin embargo, en el estudio de las propiedades viscoelásticas sí que se observó una posible afectación en la estructura del yogur cuando la ED es tratada por UHPH. Se constató, a su vez, que los yogures con un 6% de ED presentaban una mejor capacidad de retención de agua (CRA) respecto los yogures con un 4%. En lo concerniente al color, la luminosidad ( $L^*$ ) no fue distinta entre yogures y, en todos ellos, disminuyó durante el almacenamiento. Sí que se observaron diferencias significativas en los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ , concluyendo que cuanto mayor era la concentración de ED, mayor era también la coloración amarilla. A pesar de ello, en el cálculo  $\Delta E$  se observó que no se percibían diferencias visibles claras entre los yogures. Asimismo, la acidez de los yogures aumentó durante el almacenamiento a causa de la actividad acidificante de las bacterias *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* presentes, las cuales no se vieron afectadas por la incorporación de ED en su desarrollo. A nivel sensorial, en general, no se percibieron diferencias entre los yogures, abriendo así la posibilidad de formular yogures con una concentración de 6% de ED sin provocar una percepción sensorial negativa a los consumidores. Esta concentración de ED añadida al yogur supone un contenido teórico de 0,41 g/100 g de ácido alfa-linolénico (ALA), correspondiente al 86% de la IDR.

**Palabras claves:** mazada, ácidos grasos omega-3, yogur, homogenización convencional, ultra alta presión de homogeneización (UHPH), emulsión deshidratada.

## Abstract

In this study, the fermentation process and the storage quality characteristics of stirred yoghurts were compared. First, a dry emulsion (ED) composed of buttermilk and rich in omega 3 fatty acids was treated by two different homogenization systems: conventional (CH) and ultra-high-pressure homogenization (UHPH). For each type of emulsion, yoghurts with 4 and 6% ED were formulated, so obtaining four types of stirred yoghurts.

Results showed that the physical-chemical and sensory characteristics of the yoghurts were not particularly affected by the application of ED. The yoghurt fermentation process developed correctly, presenting a lower coagulation time (TC) in UHPH yoghurts. Regarding the mechanical properties, it was observed that there were no significant changes in the texture at the macroscopic level, neither due to the different concentrations of ED added nor the treatment applied to them. However, the study of the viscoelastic properties revealed a possible affectation in the structure of the yoghurt if the ED is treated by UHPH. In turn, it was found that yoghurts with 6% ED had a better holding-water capacity (CRA) compared with yoghurts containing 4% ED. Concerning colour, the luminosity ( $L^*$ ) was not different between yoghurts and decreased during storage in all of them. Nevertheless, significant differences were observed in the parameters  $a^*$  and  $b^*$ , reaching the conclusion that a higher concentration of ED entailed a more yellowish colouration. Despite this fact, no clear visible differences were perceived between the yoghurts in the  $\Delta E$  calculation. Furthermore, the acidity of the yoghurts increased while stored because of the acidifying activity of the *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* cultures, which were not affected by the incorporation of ED in their development. On a sensory level, significant differences were not perceived between yoghurts, thus opening up the possibility of formulating yoghurts with a concentration of 6% ED at least without prompting a negative sensory perception to the consumers. This concentration of ED added to the yoghurts assumes a theoretical content of 0.41 g /100 g of alpha-linolenic acid (ALA), corresponding to 86% of the DRI.

**Keywords:** buttermilk, omega 3 fatty acids, yoghurt, conventional homogenization, ultra- high-pressure homogenization (UHPH), dry emulsion.



## 1. Introducción

El consumo de alimentos ha ido variando con el tiempo. En los últimos años, se ha producido un auge de la demanda de productos funcionales que ayuden a la salud del consumidor. Un recurso observable desde hace tiempo en la industria alimentaria es la fortificación de alimentos con sustancias bioactivas que faciliten estos beneficios para la salud (Gumus y Gharibzahedi 2021).

En la producción de mantequilla se origina un subproducto procedente de la fase acuosa separada en el proceso de inversión de fases, conocido como suero de mantequería o mazada. En los últimos años, la mazada ha ido adquiriendo relevancia en la industria alimentaria por las propiedades funcionales y beneficiosas que se le asocian (Jiménez-Flores 2021). En 2019, la *Internacional Dairy Federation* informaba en su boletín anual sobre la situación mundial de productos lácteos que la producción anual de mantequilla era de alrededor de 11.000 toneladas y, por ende, la producción de suero de mantequilla era proporcional en magnitud a esa cantidad (*IDF* 2019). Históricamente, este subproducto se había destinado mayoritariamente a la producción de alimentación animal y solo una pequeña parte de este para consumo humano. Sin embargo, en la actualidad, esta situación se va revirtiendo y se considera a la mazada no solo como un ingrediente con propiedades funcionales apto para ser incorporado en diferentes productos alimentarios, sino también como una fuente de valiosos componentes biológicos (Narvhus y Abrahamsen 2021).

El suero de mantequería contiene compuestos no grasos, tales como caseínas, proteínas del suero y lactosa, y algunos minerales, como el calcio, tal y como sucede con la leche. Sin embargo, el contenido de grasa presente es muy variable y depende del proceso de elaboración de la mantequilla, de la composición de la nata y sus tratamientos previos. El suero de mantequería se caracteriza por tener un perfil lipídico con una cantidad significativa de fosfolípidos derivados de la presencia de membrana del glóbulo graso (MFGM), que proporcionan ácidos grasos insaturados esenciales y confieren a este subproducto una alta importancia biológica (Svanborg *et al.* 2015; Ali 2019).

Durante la producción de leche, en las células epiteliales de la glándula mamaria de los animales, los glóbulos grasos son encapsulados por MFGM, protegiendo a la grasa de fenómenos de coalescencia y degradación enzimática (Jiménez-Flores 2021). Esta membrana está compuesta, principalmente, por lípidos – mayoritariamente polares-,

colesterol y proteínas – sobre todo glicoproteínas–. El 30% de los lípidos son fosfolípidos, entre los cuales destacan la esfingomiélinea, la fosfatidilcolina y la fosfatidiletanlamina que aportan a esta membrana actividades funcionales y enzimáticas de relevancia (Haddadian *et al.* 2018; Jiménez-Flores 2021).

Los diferentes componentes de la MFGM funcionan de manera sinérgica, aportando a la mazada una serie de beneficios asociados. Existen evidencias clínicas que atribuyen a la MFGM propiedades beneficiosas para la salud, tales como ayudas en los sistemas intestinal e inmunitario y en el desarrollo neuronal y cognitivo. Incluso hay estudios que apuntan que la MFGM podría inhibir el crecimiento de células cancerígenas, que tendrían propiedades antivirales y antimicrobianas, que disminuirían la absorción del colesterol en sangre y, por ende, decrecería la probabilidad de desarrollar enfermedades coronarias (Claumarchirant *et al.* 2017; Ali 2019; Brink y Lönnerdal 2020; Jiménez-Flores 2021).

A nivel tecno-funcional, debido a su composición, la mazada es una gran aliada para la formulación alimentaria gracias a su poder emulgente. Además, se ha demostrado que la mazada es apta para micro encapsular y liberar compuestos bioactivos como ácidos omega 3 (Gumus y Gharibzahedi 2021). Este hallazgo es de gran interés porque permite combinar estas propiedades para la creación de nuevos productos con una fase dispersa rica en compuestos bioactivos gracias al uso de mazada y, a su vez, se aporta alimentos al consumidor con grandes beneficios para la salud. Además, permite valorizar un subproducto que hasta el momento no tenía una especial relevancia para el consumo humano.

El aceite de chía es un aceite vegetal muy rico en ácidos grasos poliinsaturados. Las evidencias disponibles indican que la ingesta adecuada de ácido alfa-linolénico es de un 0,5-0,6% diaria (FAO 2008). En orden de abundancia, el aceite de chía presenta los siguientes ácidos grasos: ácido linolénico (50-57%), linoleico (17-26%), oleico y palmítico, esteárico y vaccénico (Rosas-Mendoza *et al.* 2017). El comité científico de la FAO determina que la substitución de ácidos grasos saturados por ácidos grasos poliinsaturados disminuye el riesgo de desarrollar enfermedades coronarias (FAO 2008). Esto resulta de gran relevancia para la formulación de nuevos productos funcionales, declarando al aceite de chía como un buen aliado una mejora de la salud humana.

Se entiende por emulsión a la dispersión coloidal de dos líquidos inmiscibles. La fase dispersa se obtiene al romper uno de los líquidos por medios mecánicos en pequeñas gotas

de entre 0,1 y 10  $\mu\text{m}$ , que se distribuyen en la fase continua (Badui 2006). Estos sistemas son termodinámicamente inestables y, con el tiempo, se pueden dar fenómenos de desestabilización, tales como floculación, cremado, coalescencia y, en última instancia, separación de fases (Badui 2006). Ahí radica la necesidad del uso de emulgentes, que son moléculas anfipáticas – con una parte hidrofílica y una lipófila– que se adsorben en la interfase aceite-agua reduciendo la tensión interfacial y protegiendo a las gotas de los mecanismos de desestabilización antes citados (Kosegarten-Conde y Jiménez-Munguía 2012). Por otra parte, un pequeño tamaño de los glóbulos grasos impide o retrasa algunos de los fenómenos de desestabilización mencionados, reduciendo la interacción atractiva de las gotas, así como la tendencia al cremado. Por ello, todo proceso de obtención de emulsiones requiere una etapa de homogeneización para reducir al máximo el tamaño de las partículas de la fase dispersa (Zamora y Guamis 2015).

En los últimos años, ha habido un auge en los estudios relativos a la tecnología de homogeneización por ultra-alta presión (UHPH) por su potencial aplicación en la industria alimentaria como proceso substitutivo de la homogeneización por alta presión (CH) que de manera convencional utiliza presiones entre 15 y 50 MPa. En el tratamiento UHPH se aplican presiones entre 100 y 350 MPa. Los efectos producidos por ambas tecnologías se deben a fenómenos de cavitación, turbulencia y fuerzas de cizallamiento producidos por el paso del alimento a través de la válvula de disrupción y que afectan en la estructura y estabilidad del fluido (Dumay *et al.* 2013; Zamora y Guamis 2015). Sin embargo, con la UHPH, además de la mayor reducción de tamaño de partícula se puede conseguir una destrucción microbiana que depende de las condiciones – temperatura de entrada de producto y presión- utilizadas en el tratamiento. De ahí que se logre una mayor estabilidad del sistema coloidal, así como la calidad higiénica del producto tratado (Desrumaux y Marcand 2002; Zamora y Guamis 2015).

En la industria láctea, la CH se utiliza ampliamente para la estabilización de la leche y formulaciones destinadas a la elaboración de productos lácteos como helados, yogures, etc. Por ello, la tecnología UHPH tiene un importante potencial de aplicación para la mejora de la calidad de estos productos. En el caso de la utilización de esta tecnología en la elaboración de yogures, se ha descrito (Serra *et al.* 2009) una importante mejora de los aspectos que determinan su calidad. Concretamente, sin la adición de leche en polvo a la leche de partida (práctica habitual en estos productos), se consiguió un incremento de la consistencia y de la capacidad de retención de agua, impidiendo la sinéresis espontánea

durante el almacenamiento. La mejora observada por efecto de la aplicación de la UHPH a 200 y 300 MPa se atribuyó fundamentalmente a la parcial desintegración de las micelas de caseína que, junto con la elevada disminución del tamaño del glóbulo graso, dieron lugar a la formación de microgotas estabilizadas con sub-micelas de caseína, propiciando la formación de una red densa con alto predominio de interacciones caseína-caseína.

Desde hace unos años, se encuentran en el mercado una amplia variedad de productos lácteos desarrollados con la finalidad de ayudar al buen funcionamiento del organismo. El gran aliado de las industrias alimentarias en muchas ocasiones es el yogur, en el que frecuentemente las grasas lácteas presentes son sustituidas por almidones o proteínas con propiedades emulsionantes para obtener geles cremosos y productos bajos en calorías (Tamine y Robinson, 1999). Al ser productos de consumo habitual, el yogur es un vehículo para incorporar componentes bioactivos y producir alimentos potencialmente funcionales de fácil incorporación a la dieta.

El objetivo principal del presente Trabajo de final de Máster es estudiar comparativamente el proceso de fermentación y las características de calidad durante el almacenamiento de yogures producidos con la sustitución de la grasa láctea por emulsiones deshidratadas (ED) elaboradas con mazada y ricas en ácidos grasos omega-3 obtenidas por dos diferentes sistemas de homogeneización: CH y UHPH a 200 MPa, y con diferentes niveles de concentración de ED – 4 y 6% –.

## **2. Materiales y métodos**

### **2.1. Materiales**

La mazada en polvo (MAZADA 1%AD) se adquirió en Activa Food-Tech (Girona, España), quienes proporcionaron las siguientes especificaciones sobre su composición: Proteína: 30%; Grasa 7%; Lactosa: 52%; Humedad:  $\leq 4,00\%$ ; Cenizas: 7%.

Los aceites vegetales se adquirieron en la empresa Gustav Heess (Santa Perpètua de Mogoda, Barcelona). Las especificaciones técnicas del fabricante determinaban que el aceite de chía (*Salvia hispánica* L.) es un aceite puro de semillas de chía obtenido por presión en frío con las siguientes características: Densidad (20 °C) = 0,931; Índice de refracción (20 °C) = 1,475; Índice de acidez  $\leq 4,0$  mg KOH/g; Índice de peróxidos  $\leq 10,0$  mEq O<sub>2</sub>/kg; Impurezas insolubles  $\leq 0,05\%$ ; Ácido oleico (C18:1)  $\geq 5,0\%$ ; Ácido linoleico

(C18:2) = 15,0-20,0%; Ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3)  $\geq$  60,0%. El aceite de girasol (*Helianthus annuus* L.) se obtuvo mediante presión o extracción y posterior refinado, y presenta las siguientes especificaciones: Densidad (20 °C) = 0,918-0,923; Índice de refracción (20 °C) = 1,461-1,468; Índice de acidez  $\leq$  0,5 mg KOH/g; Índice de peróxidos  $\leq$  10,0 mEq O<sub>2</sub>/kg; Impurezas insolubles  $\leq$  0,05%; Ácido palmítico (C16:0) 4,0-9,0%; Ácido esteárico (C18:0) 1,0-7,0%; Ácido oleico (C18:1) 15,0-85,0%; Ácido linoleico (C18:2) = 50,0-72,0%.

La maltodextrina (GLUCIDEX® 19) fue adquirida de ROQUETTE FRERES (Lestrem, Francia). Según las especificaciones de la ficha técnica el producto posee: Concentración maltodextrina  $\geq$  96%; pH  $\sim$  4,7 a 50%; Densidad relativa  $\sim$  0,5 kg/L; Solubilidad en agua  $\sim$  600 g/L a 20 °C; Humedad  $\sim$  4,2%; Tamaño de partícula  $\sim$  100  $\mu$ m.

## 2.2. Preparación de las emulsiones

Las emulsiones aceite en agua utilizadas para el posterior secado se prepararon con la siguiente composición: 7% (p/p) de mazada, 10% (p/p) de una mezcla de aceites vegetales compuesta por 50% de aceite de girasol y 50% de aceite de chía y 30% (p/p) de maltodextrina. Se prepararon dispersiones concentradas de maltodextrina y mazada por separado, y se mantuvieron a 4°C durante toda la noche para conseguir su hidratación completa. Al día siguiente, se utilizó un homogenizador Ultraturrax (modelo IKA T25, Stauden, Alemania) operando a 15.000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente, para la elaboración de las pre-emulsiones por adición lenta de la fase oleosa a la fase acuosa, la cual estuvo compuesta por la mezcla de las dos dispersiones en las proporciones adecuadas para obtener la concentración final indicada anteriormente. Seguidamente, se obtuvieron las emulsiones finales utilizando dos sistemas de homogeneización: homogeneización convencional (CH), utilizando un homogeneizador Homolab, modelo 2.20 (BF, Parma, Italia) a 30 MPa y Ultra alta presión de homogeneización (UHPH) con un equipo Ypsicon modelo A-60 (Ypsicon Advanced Technologies, S.L., Barcelona, España) a 200 MPa. Finalmente, las emulsiones deshidrataron en un equipo semi-industrial PRODUCTION MINOR™ Spray Dryer (GEA, Düsseldorf, Alemania). Se alimentó la cámara de secado, equipada con una boquilla giratoria, a través de una bomba peristáltica con un caudal de alimentación de 160 ml / min. Los parámetros de secado durante el proceso se controlaron para mantener el secado a 180 °C y la temperatura de

salida a 85 °C. Las ED se almacenaron en bolsas de plástico y guardadas en tambores de aluminio a 20 °C hasta su utilización.

### 2.3. Elaboración de los yogures

Para la elaboración de los yogures, se partió de mezclas de leche desnatada comercial UHT, adicionada con 3% de leche en polvo desnatada y 4 o 6% de ED (tratada por CH o UHPH). Los ingredientes fueron mezclados con la ayuda de un agitador de palas durante 10 minutos hasta obtener una perfecta dispersión de la leche en polvo desnatada y de las ED. Las formulaciones se guardaron en botellas de cristal PYREX y se les aplicó un proceso de pasteurización a 80 °C durante 20 min. Posteriormente, se enfriaron las formulaciones a 43 °C en el menor tiempo posible y se incorporó a cada formulación un 2% de cultivo iniciador liofilizado de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* Y0-MIX 300 LYO 10 DCU (Danisco, Buxières, Francia) previamente activado en leche semidesnatada de vaca. Las mezclas fueron incubadas a 43°C hasta alcanzar un pH 4,6. Al finalizar el proceso de fermentación, los yogures fueron agitados suavemente durante 2,5 minutos a mediante una batidora de varillas Jata FP500P (Tudela, Navarra, España). Los yogures fueron guardados en una cámara frigorífica a 4°C hasta el fin de su vida útil.

Previamente al inicio de este estudio, se realizaron cálculos teóricos respecto al contenido de omega 3, en forma de ácido alfa-linolénico (ALA), que se obtendrían añadiendo diferentes porcentajes de la ED utilizada a los yogures elaborados. La ingesta diaria recomendada (IDR) de ALA es de 0,6 g. Con la adición de un 4 y 6 %, se corresponden con 0,35 y 0,52 g de ALA respectivamente por 125 g de yogur (unidad de consumo) aportando al consumidor un 58 y un 86 % de la IDR de ALA. Para obtener yogures que completaran la IDR se debería añadir un 7% de ED, pero ensayos preliminares apuntaron que una cantidad mayor al 6% de ED era percibida organolépticamente y por ese motivo, fue descartado.

Se elaboraron cuatro tipos de yogures distintos que se denominaron: CH4, CH6, UH4 y UH6.

## 2.4. Estudio de la coagulación

El proceso de coagulación de las diferentes fórmulas se monitorizó con un equipo de coagulación Optigraph-A (Ysebaert Dairy Division, Frépillon, Francia). El equipo mide la señal del infrarrojo cercano con los que se obtiene la curva óptica – expresados en mA–, así como la primera y la segunda derivada de la curva (figura 1). Esto permite determinar el tiempo de inicio de coagulación (TC), la velocidad de coagulación (VC) mediante la pendiente de la curva respecto al tiempo y la firmeza del gel formado (F), obtenido por la diferencia entre los valores final e inicial de la señal óptica. Antes de iniciar la monitorización, las diferentes formulaciones fueron atemperadas a 43°C. En ese momento, se inocularon con un 2% de cultivo iniciador activado el día anterior y se inició la monitorización a 43°C, que se dio por finalizado cuando se alcanzó pH 4,6.

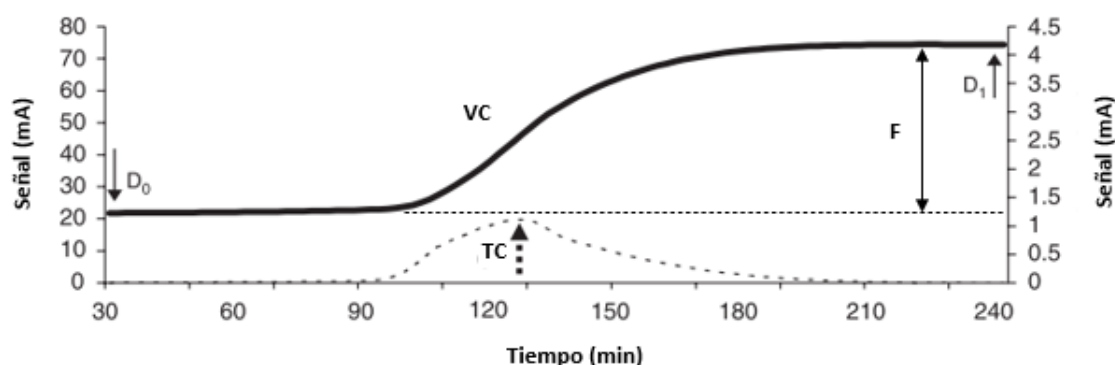


Figura 1. Curva de coagulación de Optigraph expresado como señal (mA) en función del tiempo (min). TC es el tiempo en el valor máximo de la primera derivada. VC es la velocidad de coagulación, que es el pendiente durante el período de coagulación. F es la firmeza del gel que se calcula como  $D_1 - D_0$ .

## 2.5. Curva de acidez

Para estudiar la cinética de acidificación producida durante el proceso de fermentación del yogur se monitorizó el proceso con un equipo Wcinac32 (Ysebaert Dairy Division, Frépillon, Francia – INRA-LGMPA, Thiverval-Grignon, Francia) estableciendo así un control *at-line* con un sistema multicanal de medida de pH. Las muestras (250 ml) atemperadas a 43°C de las diferentes formulaciones se inocularon con el cultivo iniciador y la monitorización se programó hasta pH 4,6, en el que se dio por finalizado el proceso.

## 2.6. Textura

Los yogures se batieron y se distribuyeron en vasos de plástico (80 mm altura x 45 mm diámetro) en porciones de 60 g cuatro horas antes de realizar el análisis para estabilizar la estructura del yogur, manteniéndolos a 4 °C. Se realizó un ensayo de extrusión por retroceso, utilizando un texturómetro Texture Analyzer TA.TX2 (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) equipado con una sonda cilíndrica plana de un diámetro de 35 mm, aplicando una velocidad constante de 1 mm/s hasta una profundidad de 5 mm; la sonda se retiró a la misma velocidad hasta la posición inicial. Se obtuvieron las curvas fuerza-tiempo y utilizando el software Exponent V.5.2.1.0 (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) del equipo se calcularon los parámetros de textura: firmeza, consistencia, cohesividad e índice de viscosidad. Las medidas de textura se realizaron los días 1, 14 y 28 de almacenamiento a 4°C.

## 2.7. Reología

Se realizaron ensayos de viscoelasticidad mediante medidas oscilatorias con un reómetro Thermo Haake RS1 (Thermo-Haake GmbH, Karlsruhe, Alemania). Las medidas se realizaron a 4 °C, utilizando una sonda de tipo plato-plato rugoso de 35 mm de diámetro. Las muestras se depositaron en el reómetro con una cuchara asegurando que fuese suficiente para que cubriera la totalidad de superficie de la sonda y retirando la muestra sobrante, una vez se situó en la posición de medida, con una distancia de 2 mm entre platos. Las muestras se dejaron reposar durante 5 minutos antes de iniciar la medida para permitir su relajación. Para determinar las propiedades viscoelásticas del yogur, se llevaron a cabo pruebas de barrido de frecuencia de 0,1 a 1 Hz con una deformación constante del 1%. Las mediciones se realizaron en el rango viscoelástico lineal, previamente determinado con una prueba de barrido de esfuerzo de un intervalo de esfuerzo de 0,03-50 Pa. Se usó el software Rheowin (ThermoHaake GmbH) para el cálculo de los módulos dinámicos ( $G'$  y  $G''$ ). Las medidas reológicas se realizaron los días 1, 14 y 28 de almacenamiento.

## 2.8. Capacidad de retención de agua

Para valorar la capacidad de retención de agua (CRA) se muestrearon 40 g de yogur en tubos de centrifuga de 50 ml, que fueron sometidos a 5000 g durante 20 minutos a 22 °C con una centrifuga Sigma 4K15 (Sigma Laboratory Centrifuges, Harz, Germany). Al



finalizar el proceso se pesó el suero expulsado, filtrándolo a través de un colador fino para asegurar la ausencia de partículas. Se determinó la CRA los días 1, 14 y 28 de almacenamiento.

Este parámetro fue expresado como % de fase acuosa expulsada mediante la fórmula (1):

$$\% \text{ fase acuosa expulsada} = \frac{\text{peso muestra inicial} - \text{peso sobrenadante}}{\text{peso muestra inicial}} * 100$$

## 2.9. Color

Para determinar el color se usó un colorímetro Chroma Meter CR-400 (KONICA MINOLTA, INC., Osaka, Japón), utilizando una fuente de luz D65 y un observador de ángulo de 10° como referencias. Previamente a la medición, se agitó el yogur para obtener una muestra más homogénea y representativa. Las muestras se colocaron en un recipiente de vidrio óptico transparente de 50 ml lleno hasta 10 mm. Se midió la superficie externa interior. Los resultados se expresaron en el espacio de color CIE L\* a\* b\*, donde L\* es la claridad, a\* es el verde-rojo y b\* es el azul-amarillo. La diferencia de color total ( $\Delta E$ ) se calculó utilizando la siguiente ecuación (2):

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5}$$

## 2.10. Determinación de la acidez total

Se calculó la acidez total del yogur siguiendo el método establecido por la ISO/TS 11869:2012 los días 1, 14 y 28 de almacenamiento. Se tomaron 10 gr de yogur atemperados a 22 °C mezclándolos con 10 ml de agua destilada, y se realizó una valoración ácido-base con una solución de hidróxido de sodio al 0,1 mol/L hasta pH 8,30  $\pm$  0,01. La acidez total se expresó en porcentaje de ácido láctico siguiendo la siguiente fórmula (3):

$$\% \text{ Ácido láctico} = \frac{V * 0,9}{m}$$

donde

V es el volumen, en ml, de hidróxido de sodio usado para llegar al pH indicado;

m es la masa de muestra, en gramos, empleada para el análisis.

### 2.11. Análisis sensorial

El panel de cata se compuso de 20 panelistas no entrenados (media de edad = 31 años en un intervalo de edades entre 22 y 61 años; 3 hombres y 17 mujeres). El día 7 de almacenamiento se llevaron a cabo dos pruebas triangulares para valorar si los panelistas encontraban diferencias significativas entre tratamientos de la ED CH4 frente UH4 y CH6 frente UH6. Una vez analizados los resultados de las pruebas triangulares, se procedió a comparar, mediante otra prueba triangular el efecto de la concentración incorporada a los yogures (UH4 frente a UH6). Para la prueba descriptiva se compararon las dos muestras etiquetadas con las letras “A” y “B” – correspondientes a UH4 y UH6, respectivamente. Se presentó una hoja de cata con una escala estructurada con 7 puntos y se pidió a los panelistas que clasificasen las distintas muestras dentro de esta escala comparando cinco atributos; cremosidad (sensación cremosa en la boca; lo contrario es áspero), consistencia (viscosidad en boca), acidez, aroma láctico (típico de yogur) y aromas extraños (no característicos de yogur). Finalmente, se les pidió que ordenaran por orden de preferencia las muestras “A” y “B”. Las muestras se presentaron a los panelistas de manera aleatoria. Los jueces de cata tenían a su disposición agua y pan tostado para poder limpiar el paladar correctamente entre las diferentes muestras y pruebas. La evaluación sensorial de los yogures se realizó una semana después de su producción.

### 2.12. Análisis microbiológico

Los parámetros microbiológicos evaluados divergieron según el momento de elaboración o vida útil en el que se realizaron. Durante la elaboración de las distintas formulaciones, y antes de inocular, se determinaron aerobios mesófilos y sus esporas, y coliformes/*Escherichia coli* para definir la calidad inicial de la leche y si había habido una buena manipulación durante la producción. Se realizaron siembras directas y/o de diluciones seriadas en agua de peptona tamponada (Oxoid, Basigstoke, UK). Para el recuento de aerobios mesófilos, se usó el medio general *Plate Count Agar* (PCA, Oxoid) sembrado por inclusión. Para la determinación de las esporas se calentó la muestra a 80°C durante 10 minutos, se enfrió rápidamente, se realizó la siembra en PCA y se incubó a 30°C durante 48 horas. Para el recuento de coliformes/*E. coli* se utilizó el medio selectivo *Agar Cromogénico para Coliformes* (CCA, Oxoid) que se sembró en superficie y se incubó a 37°C durante 24 horas. Los resultados se expresaron en UFC/ml.

Una vez inoculada cada formulación, pero previamente al proceso de fermentación, se realizaron recuentos de *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* en los medios selectivos MRS y M17 (Oxoid), respectivamente (ISO 7889). La dilución de la muestra se realizó mediante agua de peptona tamponada y se realizó siembra en superficie con un sembrador automático en espiral. Las placas de MRS se incubaron en condiciones de anaerobiosis a 37 °C durante 72 h y las de M17 a 37 °C durante 48 h. Pasado este tiempo, se realizó la lectura de las placas y se expresaron los resultados en log UFC/ml.

Para los análisis microbiológicos del yogur, se determinaron en el día 1 los aerobios mesófilos y sus esporas, *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* usando los métodos descritos en párrafo anterior. También, se realizó la cuantificación de *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* los días 14 y 28 de almacenamiento en refrigeración de los yogures. Los resultados se expresaron en log UFC/g.

### 2.13. Análisis estadístico

Se realizaron al menos dos producciones individuales de yogures y cada parámetro fue analizado por triplicado. El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante análisis de la varianza (ANOVA) con el paquete estadístico R Commander (R Core Team, Viena, Austria) versión 4.0.4., con un nivel de significación  $p < 0,05$ . Se utilizó la prueba de Tukey para la comparación entre muestras.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Estudio de la coagulación

En la figura 1 se presenta la curva típica de coagulación registrada con el coagulómetro, indicando los parámetros de coagulación VC, TC y F, que describen el comportamiento durante el proceso de fermentación hasta alcanzar pH 4,6. En la tabla 1, se muestran los valores medios de dichos parámetros para las diferentes formulaciones utilizadas en este estudio y en la figura 2 se pueden observar las curvas de acidificación. En general, no se observaron diferencias significativas en los parámetros de coagulación entre muestras ( $p > 0,05$ ), excepto en el inicio de la coagulación en la formulación UH6, que presentó un TC significativamente menor. Con respecto a las curvas de acidificación, la cinética del proceso de fermentación de los yogures no presentó diferencias estadísticas significativas entre ellos ( $p > 0,05$ ). Pasados  $198 \pm 3$  minutos se alcanzó pH 4,6. En la figura 3 se

observa que las curvas obtenidas se superpusieron unas con otras. El tiempo obtenido hasta llegar al pH indicado fue el esperado tal y como se reportan en otros estudios en los que el tiempo de incubación fue alrededor de 3-4 horas (Soukoulis et al. 2007; Horiuchi et al. 2009).

Tabla 1. Parámetros de coagulación de las formulaciones para la elaboración de yogures.

	<b>TC (s)</b>	<b>VC (mA min<sup>-1</sup>)</b>	<b>F (mA)</b>
<b>CH4</b>	134 ± 26 <sup>a</sup>	0,46 ± 0,23 <sup>a</sup>	58 ± 4 <sup>a</sup>
<b>UH4</b>	118 ± 20 <sup>ab</sup>	0,51 ± 0,17 <sup>a</sup>	55 ± 4 <sup>a</sup>
<b>CH6</b>	129 ± 23 <sup>a</sup>	0,51 ± 0,21 <sup>a</sup>	59 ± 2 <sup>a</sup>
<b>UH6</b>	106 ± 29 <sup>b</sup>	0,46 ± 0,17 <sup>a</sup>	55 ± 2 <sup>a</sup>

Los superíndices con letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Los factores que afectan al proceso de coagulación de la leche son diversos, aunque la modificación en el tamaño y estructura de las gotas de aceite en las ED adicionadas a las formulaciones, así como el porcentaje en el que fueron añadidas, son los únicos factores que pudieron dar lugar a modificaciones en la coagulación. El inicio de la coagulación se detecta cuando ha habido una interacción suficiente entre caseínas para producir una agregación perceptible. Este inicio se produjo en un intervalo de tiempo entre 100 y 134 min, coincidiendo con un pH entre 5,5 y 5, intervalo en el que se producen mayores cambios en las micelas de caseína, que favorecen su interacción (C. Needs et al. 2000). En la leche homogeneizada utilizada para la producción de productos fermentados, los glóbulos de grasa participan en el proceso de coagulación ya que pueden comportarse hasta cierto punto como grandes micelas de caseína (Nair et al. 2000). Por otra parte, Sandra y Dalgleish (2005) mostraron que la leche tratada por UHPH presentaba una modificación en las estructuras de las micelas de caseína que podían afectar potencialmente en la funcionalidad de las proteínas.

El inicio de coagulación se dio antes en las formulaciones elaboradas con emulsión UH. Este fenómeno podría explicarse por la modificación de tamaño de partícula durante el proceso de UHPH. Aghababaei et al. (2021) realizaron un estudio con emulsiones similares a las del presente trabajo, y que sirvió para la elección de la formulación de una emulsión con 7% de mazada tratada a 200 MPa, que es objeto de esta investigación. En el trabajo de Aghababaei et al. (2021), se constató el efecto de la UHPH en la modificación de las estructuras de las gotas de aceite, con una gran reducción del tamaño

y la formación de pequeños agregados de gotas de tamaño inferior a las gotas obtenidas con CH. Así, el menor tiempo observado en el inicio de la coagulación en las formulaciones UH pudo estar favorecido por la presencia de un mayor número de agregados de gotas de pequeño tamaño, que se comportaron como grandes micelas de caseína. En contrapartida, no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la VC ni en la F del gel que fueron alrededor de  $0,489 \text{ mA min}^{-1}$  y  $57 \text{ mA}$ . Probablemente, una vez iniciado el desarrollo de la red gelificada, el factor determinante fue la concentración de caseína procedente de la leche, que fue la misma en todas las formulaciones.

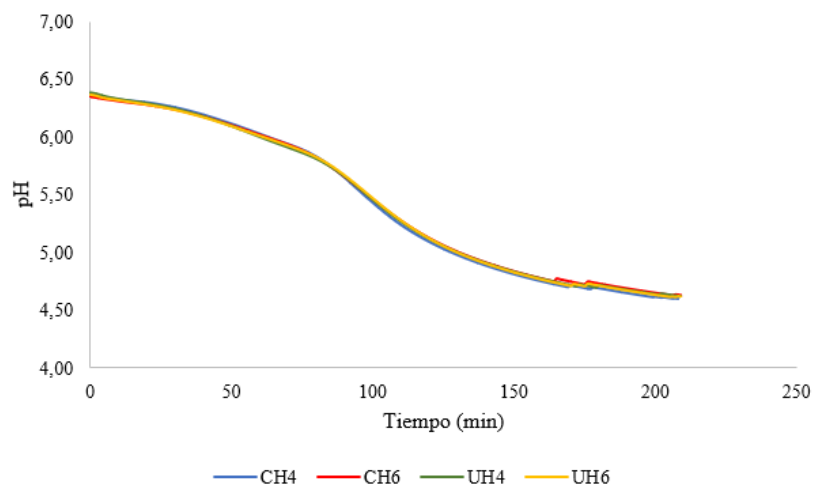


Figura 2. Curva de acidificación de las formulaciones durante el proceso de fermentación de los yogures.

### 3.2. Características de los yogures y su evolución durante el almacenamiento

#### 3.2.1. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas describen características de calidad de importancia en los yogures, ya que están relacionadas con su percepción sensorial. En el caso de los yogures, la consistencia, utilizando este término de manera genérica, depende fundamentalmente del contenido en grasa y proteína, y de aspectos tecnológicos, tales como el tratamiento térmico y la homogeneización, aplicados a las formulaciones de partida.

El estudio de las propiedades mecánicas en el presente estudio se ha llevado a cabo utilizando un análisis de textura, mediante un ensayo de extrusión por retroceso (pseudocompresión), que aporta información macroscópica cuando se destruye la muestra mediante la aplicación de una fuerza de compresión, y un ensayo reológico de

viscoelasticidad, el cual aporta información de la muestra sin producir (idealmente) destrucción estructural, ya que se ha trabajado en el intervalo de viscoelasticidad lineal.

### 3.2.1.1. Análisis de textura

En la figura 3 se muestra una curva típica de extrusión por retroceso para un alimento pastoso, tal como el yogur batido. Los parámetros derivados de la curva fuerza-tiempo fueron: firmeza (fuerza máxima en la compresión), consistencia (área de la curva positiva, o trabajo de compresión), cohesividad (fuerza negativa máxima), que indica la resistencia a la extracción de la muestra del disco de extrusión cuando se eleva e índice de viscosidad (área de la curva negativa) del yogur (Liu *et al.* 2007). La consistencia y el índice de viscosidad son parámetros relacionados; la consistencia indica lo espesa que es la muestra, mientras que el índice de viscosidad mide la resistencia de la muestra a fluir fuera del disco durante la extrusión por retroceso (Ciron *et al.*, 2010).

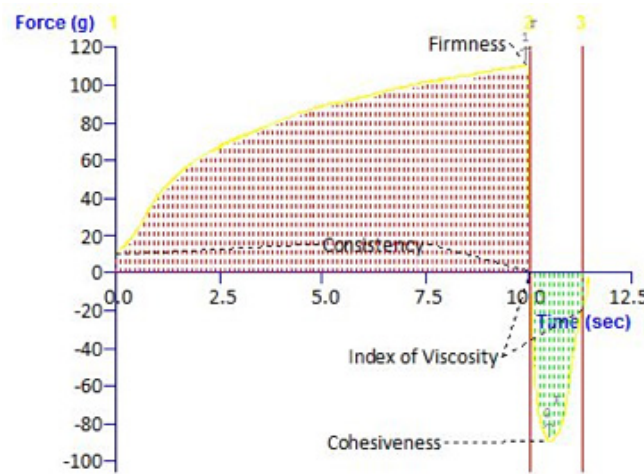


Figura 3. Curva típica de extrusión por retroceso de un alimento pastoso (Ciron *et al.*, 2010).

En la tabla 2 se observan los valores obtenidos de los diferentes parámetros de textura analizados en los ensayos de extrusión por retroceso. El primer día después de la elaboración, la firmeza fue similar en todos los yogures excepto en el UH4 que mostró un valor significativamente mayor ( $p < 0,05$ ). Este resultado parece contradictorio, ya que la muestra UH6 contiene mayor cantidad de ED y presentó una consistencia significativamente inferior que la UH4. La explicación podría ser que el mayor contenido

en agregados de gotas de grasa procedentes del 6% de ED añadido en la formulación UH6, como se ha comentado anteriormente, podría actuar como partículas que romperían la continuidad del gel de caseína. Sin embargo, a lo largo del almacenamiento, esta diferencia perdió significado y se mantuvo la firmeza sin alteraciones en todos los yogures. En el caso de la consistencia y la cohesividad, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en todo el periodo de almacenamiento, mientras que el índice de viscosidad, siendo similar en todas las muestras mostró un descenso significativo el día 14, el cual se mantuvo estable hasta el final del almacenamiento. Este aspecto se observó en todos los yogures.

A la vista de los resultados, parece que la adición de un 4 o un 6 % de ED, ya sea CH o UH no produce cambios significativos en la textura evaluada instrumentalmente. Al menos, a nivel macroscópico, las propiedades mecánicas de los yogures, no se vieron afectadas sensiblemente por esa diferencia de un 2% entre formulaciones. Probablemente, la ruptura del gel en la etapa de batido y el posterior asentamiento de la estructura de los yogures durante el almacenamiento redujo el efecto debido a la diferencia de ED adicionado en la formulación, no siendo significativamente detectado en los ensayos de extrusión.

Tabla 2. Valores medios de los parámetros de textura obtenidos en las pruebas de extrusión durante el almacenamiento: cohesividad, consistencia, firmeza e índice de viscosidad.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento		
	d1	d14	d28
<i>Firmeza (N)</i>			
<b>CH4</b>	0,21 ± 0,05 <sup>bz</sup>	0,21 ± 0,02 <sup>bzy</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>by</sup>
<b>UH4</b>	0,24 ± 0,04 <sup>az</sup>	0,24 ± 0,01 <sup>azy</sup>	0,23 ± 0,01 <sup>ay</sup>
<b>CH6</b>	0,22 ± 0,05 <sup>bz</sup>	0,22 ± 0,01 <sup>bzy</sup>	0,2 ± 0,01 <sup>by</sup>
<b>UH6</b>	0,20 ± 0,03 <sup>bz</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>bzy</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>by</sup>
<i>Consistencia (Ns)</i>			
<b>CH4</b>	0,89 ± 0,2 <sup>abz</sup>	0,81 ± 0,06 <sup>abzy</sup>	0,79 ± 0,02 <sup>aby</sup>
<b>UH4</b>	0,94 ± 0,22 <sup>az</sup>	0,88 ± 0,03 <sup>azy</sup>	0,87 ± 0,03 <sup>ay</sup>
<b>CH6</b>	0,9 ± 0,17 <sup>abz</sup>	0,83 ± 0,04 <sup>abzy</sup>	0,79 ± 0,02 <sup>aby</sup>
<b>UH6</b>	0,83 ± 0,12 <sup>bz</sup>	0,77 ± 0,02 <sup>bzy</sup>	0,77 ± 0,04 <sup>by</sup>
<i>Cohesividad (N)</i>			
<b>CH4</b>	0,11 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>UH4</b>	0,26 ± 0,34 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>CH6</b>	0,11 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>UH6</b>	0,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>
<i>Índice de viscosidad (Ns)</i>			
<b>CH4</b>	0,91 ± 0,52 <sup>az</sup>	0,54 ± 0,07 <sup>ay</sup>	0,44 ± 0,06 <sup>ay</sup>
<b>UH4</b>	0,84 ± 0,37 <sup>az</sup>	0,56 ± 0,02 <sup>ay</sup>	0,51 ± 0,04 <sup>ay</sup>
<b>CH6</b>	0,70 ± 0,33 <sup>az</sup>	0,50 ± 0,08 <sup>ay</sup>	0,44 ± 0,02 <sup>ay</sup>
<b>UH6</b>	0,68 ± 0,23 <sup>az</sup>	0,44 ± 0,03 <sup>ay</sup>	0,43 ± 0,04 <sup>ay</sup>

<sup>a-b</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre diferentes tratamientos dentro del mismo parámetro.

<sup>z-y</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los distintos días de almacenamiento dentro del parámetro.



### 3.2.1.2. Análisis de la viscoelasticidad

Las propiedades viscoelásticas permiten caracterizar la intensidad de las interacciones presentes en alimentos semisólidos y sólidos responsables de su estructura.  $G'$  (módulo de almacenamiento) indica la intensidad y/o número de interacciones responsables de la formación de la red;  $G''$  está relacionado con la naturaleza viscosa y las interacciones que no afectan directamente a la red tridimensional formada (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas 2005). La figura 4 muestra la dependencia de  $G'$  y  $G''$  con el esfuerzo aplicado a 1 Hz en el intervalo de esfuerzo entre 0,03 y 30 Pa. Como se puede observar en la figura 4, las muestras de yogur mostraron un comportamiento de gel como lo evidencia el predominio de  $G'$  frente a  $G''$  en la mayor parte del intervalo analizado. En todas las muestras se observó un intervalo lineal hasta valores que variaron entre 3 y 5 Pa, estableciéndose una deformación de un 1% para proceder a realizar el espectro mecánico, que consistió en un barrido de frecuencias, lo que garantizó la viscoelasticidad lineal para poder comparar las diferentes muestras.

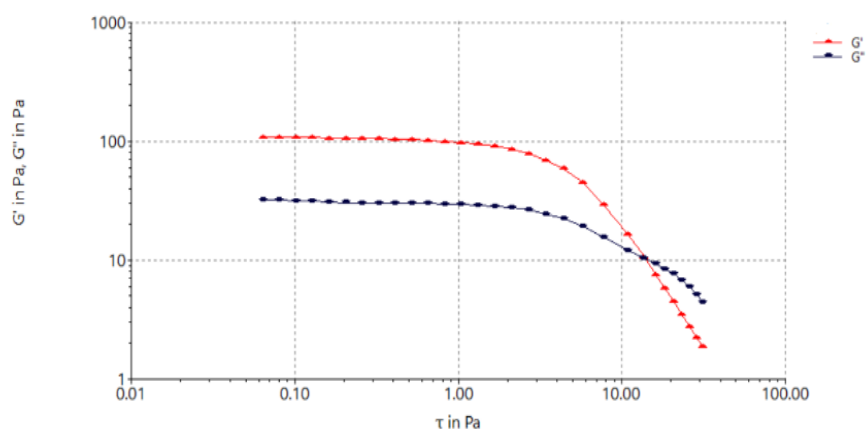


Figura 4. Curva tipo de barrido de esfuerzo obtenida en los yogures a 4 °C, mostrando el intervalo de viscoelasticidad lineal.

La tabla 3 muestra los valores de  $G'$  y  $G''$  a 1 Hz. De nuevo, igual que se observó en los resultados de textura, los yogures UH4 son los que mostraron mayor firmeza, lo que se refleja a través del valor de  $G'$ , siendo estadísticamente similares a los yogures CH6. A estos les siguieron los yogures UH6 y finalmente, los CH4. En este tipo de análisis se percibieron diferencias más marcadas entre muestras que en los análisis de textura. Sin embargo, y como puede verse en los resultados, el coeficiente de variación observado en

algunos de los valores fue elevado, superior al 15% en algunos casos. Este hecho puede ser consecuencia de la variabilidad entre producciones y, probablemente, en la manipulación de la muestra que requiere mantener la estructura lo más íntegra posible. Sin embargo, analizando las tendencias de los valores de los parámetros para cada producción de yogur individualmente, los resultados de la tabla confirman el comportamiento que se ve reflejado en la misma. Es decir, que los cambios experimentados en las emulsiones UH parecen afectar a la estructura del yogur. Un 4% de ED añadida produce el gel más firme, mientras que un 6% parece que actúa como parcialmente disruptor de la continuidad de la red caseína responsable de la firmeza del gel. Esto podría deberse al mayor número de partículas agregadas presentes en los yogures UH, a que la asimetría de los agregados impide una mayor interacción proteína-proteína, o por ambos efectos conjuntos.

En cuanto a la evolución de los parámetros viscoelásticos, se observó un incremento de  $G'$  y  $G''$  el día 14 como consecuencia del asentamiento de los yogures durante el almacenamiento en refrigeración y un ligero descenso, en general, el día 28.

Tabla 3. Valores medios de los módulos  $G'$  y  $G''$  a 1 Hz y su evolución durante el almacenamiento.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento		
	d1	d14	d28
<i>G'</i> (Pa)			
CH4	69,39 ± 3,32 <sup>cx</sup>	71,49 ± 10,3 <sup>cy</sup>	88,52 ± 16,47 <sup>cz</sup>
UH4	98,97 ± 24,83 <sup>ax</sup>	146,08 ± 13,82 <sup>ay</sup>	101,24 ± 11,18 <sup>az</sup>
CH6	88,81 ± 8,97 <sup>ax</sup>	134,37 ± 12,82 <sup>ay</sup>	113,27 ± 9,67 <sup>az</sup>
UH6	77,54 ± 16,06 <sup>bx</sup>	100,38 ± 11,57 <sup>by</sup>	98,08 ± 4,11 <sup>bz</sup>
<i>G''</i> (Pa)			
CH4	19,18 ± 0,92 <sup>cy</sup>	18,52 ± 2,68 <sup>cz</sup>	22,78 ± 4,49 <sup>cy</sup>
UH4	28 ± 6,32 <sup>ay</sup>	37,98 ± 3,31 <sup>az</sup>	26,1 ± 2,72 <sup>ay</sup>
CH6	24,84 ± 2,56 <sup>ay</sup>	34,53 ± 2,74 <sup>az</sup>	28,73 ± 2,52 <sup>ay</sup>
UH6	22,11 ± 4,37 <sup>by</sup>	27,03 ± 3,18 <sup>az</sup>	25,47 ± 1,02 <sup>by</sup>

<sup>a-c</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre diferentes tratamientos dentro del mismo parámetro.

<sup>z-x</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre distintos días de almacenamiento del mismo parámetro.

### 3.2.1.3. Capacidad de retención de agua

Uno de los defectos más relevantes en la calidad del yogur es la expulsión del agua hacia el exterior del gel. La cantidad de fase acuosa expulsada del gel tiene una relación inversamente proporcional con la CRA, por ende, a mayor expulsión de fase acuosa, menor CRA del yogur. Este fenómeno es conocido como sinéresis y la principal causa de esto es un bajo contenido de proteína en la leche con la que se elabora el yogur. Existen otros factores, sin embargo, que también puede ocasionar sinéresis, tales como un tratamiento térmico o una homogenización deficiente, una temperatura de incubación demasiado elevada, o un pH superior a 4,8 (Vázquez 2008). La sinéresis es un aspecto no deseable por parte de los consumidores y, con la finalidad de minimizar este defecto, la industria láctea centra su estrategia en la adición de leche en polvo y/o proteínas lácteas a los yogures para mejorar la CRA del gel.

En este estudio se forzó la sinéresis por centrifugación para evaluar la CRA de los geles. Antes de iniciar el análisis se observó la presencia de sinéresis espontánea producida durante el almacenamiento de los yogures, pero no fue cuantificada ya que la cantidad de fase acuosa expulsada era muy pequeña y difícilmente cuantificable.

En la figura 5 se observan los resultados relativos al porcentaje de fase acuosa expulsada por los yogures. Los yogures CH4 y UH4 – correspondientes con los yogures con menor porcentaje de emulsión deshidratada incorporada- fueron los que mostraron mayor expulsión de fase acuosa. La incorporación de este ingrediente aumentó el agua ligada, siendo los yogures con un porcentaje de ED mayor (CH6 y UH6) los que presentaron una mayor CRA. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los diferentes días de almacenamiento en los yogures analizados individualmente, aunque hay estudios apuntan a que la expulsión de agua es un fenómeno dependiente del tiempo debido a una mayor interacción de los agregados que forman la red tridimensional del yogur (Gilbert y Turgeon 2021; Li et al. 2021). Sin embargo, esa observación hace referencia a la sinéresis espontánea. El hecho de forzarla por centrifugación podría ser el motivo de no observar diferencias en función del tiempo de almacenamiento.

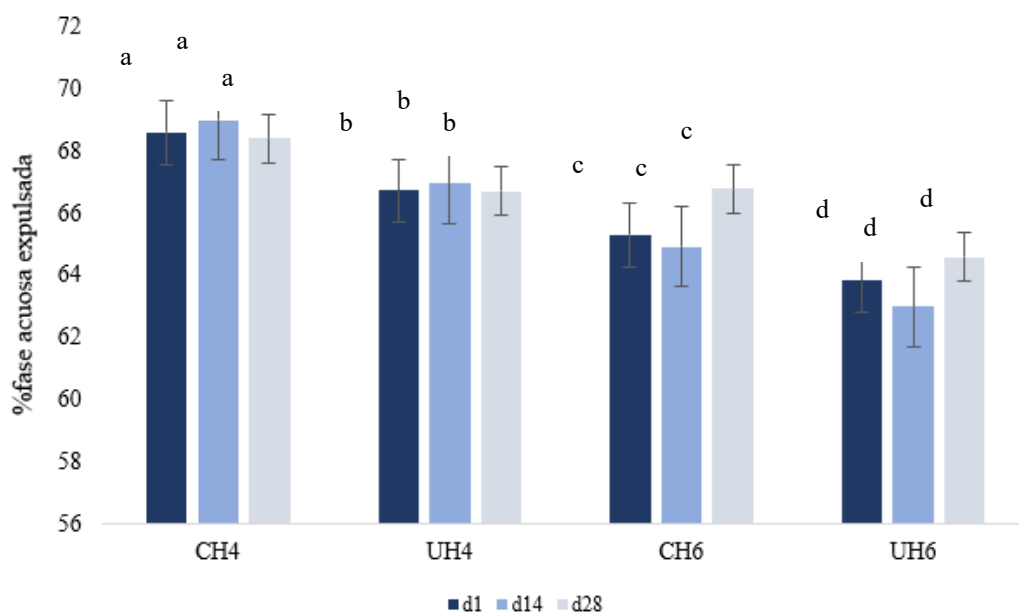


Figura 5. Porcentaje de fase acuosa expulsada y evolución durante el almacenamiento. Los superíndices con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### 3.2.2. Color

La primera impresión que recibe el consumidor es fundamental para su aceptación, y el color es un atributo de calidad característico de cada alimento. En la tabla 4 se presentan los resultados obtenidos de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y  $\Delta E$  de los yogures y su evolución durante el almacenamiento.

En el yogur se espera una alta luminosidad, la cual está directamente relacionada con la luz reflejada, y por tanto cuantifica el blanco. El grado de reflexión difusa de la luz en el caso de alimentos coloidales formados por partículas dispersas, como es el caso del yogur batido puede tener relación con el proceso de homogenización ya que, a mayor tamaño de partícula, la reflexión difusa es menor. Con la tecnología UHPH se logran emulsiones más uniformes y con un tamaño de partícula menor favoreciendo la dispersión de la luz (Poliseli-Scopel et al. 2013). En la figura 6 se observa que la variable  $L^*$  no fue estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre los yogures, aunque, en todos los tratamientos disminuyó la luminosidad a lo largo del almacenamiento. Este suceso podría atribuirse al hecho que a medida que avanza el tiempo de almacenamiento se produce una mayor interacción de los agregados que forman la red por lo que, el tamaño de estos agregados cada vez es mayor y consecuentemente, la reflexión difusa es menor.

Tabla 4. Valores L\*, a\* y b\* durante el almacenamiento de los yogures.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento		
	d1	d14	d28
<i>a*</i>			
<b>CH4</b>	1,80 ± 0,16 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,21 <sup>a</sup>	1,81 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>UH4</b>	1,72 ± 0,10 <sup>b</sup>	1,65 ± 0,12 <sup>b</sup>	1,60 ± 0,07 <sup>b</sup>
<b>CH6</b>	1,81 ± 0,15 <sup>a</sup>	1,84 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>UH6</b>	1,68 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,51 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,66 ± 0,08 <sup>b</sup>
<i>b*</i>			
<b>CH4</b>	2,71 ± 0,06 <sup>dz</sup>	2,52 ± 0,10 <sup>dz</sup>	2,63 ± 0,09 <sup>dy</sup>
<b>UH4</b>	2,96 ± 0,03 <sup>bz</sup>	3,09 ± 0,37 <sup>bz</sup>	2,78 ± 0,2 <sup>by</sup>
<b>CH6</b>	2,85 ± 0,02 <sup>cz</sup>	2,83 ± 0,06 <sup>cz</sup>	2,56 ± 0,01 <sup>cy</sup>
<b>UH6</b>	3,34 ± 0,03 <sup>az</sup>	3,24 ± 0,20 <sup>az</sup>	3,14 ± 0,15 <sup>ay</sup>
<i>L*</i>			
<b>CH4</b>	83,86 ± 0,03 <sup>az</sup>	83,34 ± 0,13 <sup>by</sup>	82,93 ± 0,03 <sup>bx</sup>
<b>UH4</b>	83,93 ± 0,05 <sup>az</sup>	83,66 ± 0,05 <sup>ay</sup>	83,63 ± 0,31 <sup>ax</sup>
<b>CH6</b>	83,84 ± 0,10 <sup>az</sup>	83,69 ± 0,14 <sup>ay</sup>	83,48 ± 0,14 <sup>ax</sup>
<b>UH6</b>	83,86 ± 0,08 <sup>az</sup>	83,69 ± 0,03 <sup>ay</sup>	83,29 ± 0,10 <sup>ax</sup>
<i>ΔE</i>			
<b>CH4-CH6</b>	0,14 ± 0,02	0,47 ± 0,01	0,57 ± 0,03
<b>CH4-UH4</b>	0,27 ± 0,04	0,67 ± 0,10	0,75 ± 0,12
<b>CH6-UH6</b>	0,51 ± 0,03	0,53 ± 0,02	0,61 ± 0,01
<b>UH4-UH6</b>	0,39 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,49 ± 0,03

<sup>a-b</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre diferentes tratamientos dentro del mismo parámetro.

<sup>z-x</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los distintos días de almacenamiento dentro del mismo parámetro.

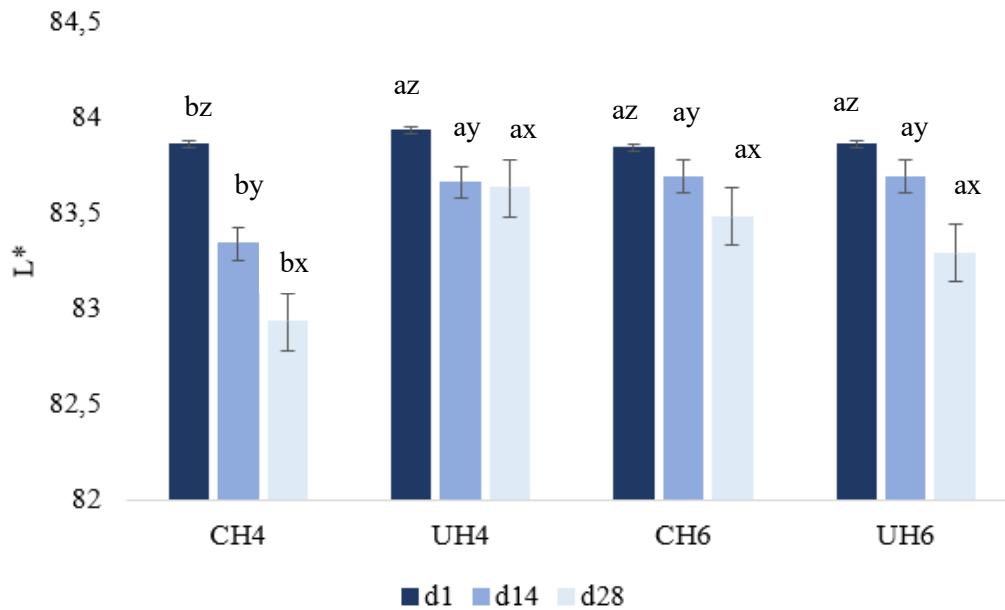


Figura 6. Evolución de la luminosidad ( $L^*$ ) de los yogures durante el almacenamiento a 4 °C.

<sup>a-b</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre diferentes tratamientos dentro del mismo parámetro.

<sup>z-x</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los distintos días de almacenamiento dentro del mismo parámetro.

En relación con las coordenadas  $a^*$  (verde-rojo) y  $b^*$  (azul-amarillo), los valores de las mismas correspondieron con todos rojos (valores positivos) y amarillos en la contribución del color de los yogures. Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de dichas coordenadas entre los yogures, quizás asociados a los cambios producidos en la distribución de la mazada alrededor de los agregados. Tal como observaron Aghababaei et al. (2021), el tratamiento CH produce emulsiones con una mayor dispersión de la mazada en la fase acuosa mientras que, los UH tienen la mazada concentrada en los agregados de gotas de aceite. La ED añadida a los yogures es de color amarillento hecho que podría ser la causa de que, dentro del mismo tratamiento aplicado, se obtienen valores superiores a mayor concentración de esta.

El parámetro  $\Delta E$  expresa la diferencia de color total entre dos muestras. Si este valor se encuentra entre 0,5 y 1,5 la diferencia es poco notable, entre 1,5 y 3,0 es notable, entre 3,0 y 6,0 es visible y valores  $>6,0$  son claramente diferenciables (Wibowo et al. 2015). A pesar de la diferencia significativa observada de  $b^*$  entre diferentes yogures anteriormente, en la tabla 4 se observa como en la mayoría de los casos, la diferencia entre tratamientos o concentraciones no es perceptible a ojo humano. Solo entre los

yogures CH6 y UH6 se pueden percibir diferencias poco notables (entre 0,5-1,5) desde el día 1 de producción, viéndose incrementada dicha diferencia a lo largo del almacenamiento. Por lo que, se puede concluir aceptando que no hay una diferencia de color entre los distintos yogures que pueda ser claramente percibida por los consumidores.

### 3.2.3. Determinación de la acidez total

Durante el almacenamiento de los yogures, es frecuente observar como la acidez total de estos aumenta. Este fenómeno, conocido como sobre-acidificación o post acidificación, se da como consecuencia de la actividad metabólica incluso a temperaturas de almacenamiento de los cultivos iniciadores (Beal et al. 1999). La norma de calidad de las leches fermentadas (Codex, 2003) designa que la acidez titulable o total debería encontrarse entre 0,5 – 1,6 %. En el presente estudio, se aplicó un distinto tratamiento de homogenización a la ED incorporada en los yogures y, aunque la cantidad adicionada fue solo del 4 y del 6%, se observa como en los yogures CH se obtienen valores de acidez total superiores a los alcanzados por UH (figura 7). En el estudio realizado por Serra et al. (2009) se comparaban las características fisicoquímicas de distintos yogures elaborados a partir de leche tratada por CH y leche UHPH. Se observó que la acidez total durante el almacenamiento también fue mayor en los yogures tratados por CH que en los tratados por UHPH. La actividad acidificante de las bacterias de los yogures se debe a la presencia de la lactosa procedente de la leche UHT y leche en polvo añadida, es por este motivo que, dentro del mismo tratamiento, no se presentan diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre concentraciones de ED añadidas, además, como se observará en el siguiente apartado, sensorialmente tampoco tuvo relevancia entre los panelistas. En la figura 7 se observa que la tendencia de variación de acidez desde el día 1 hasta el 28 es mayor cuanto menor es la concentración de ED añadida. Este hecho, solo presenta una variación

estadísticamente significativa el día 28 en los yogures UH4 frente los UH6, en los que se obtienen valores medios de acidez de  $1,54 \pm 0,01$  y  $1,50 \pm 0,03$ , respectivamente.

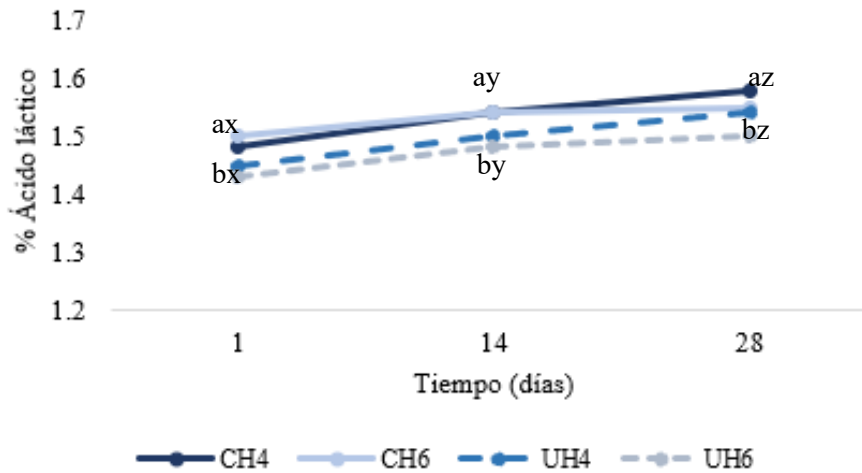


Figura 7. Evolución de la acidez total de los yogures durante el almacenamiento.

<sup>a-b</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre diferentes tratamientos dentro del mismo parámetro.

<sup>z-x</sup> Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los distintos días de almacenamiento dentro del mismo parámetro.

### 3.3. Análisis sensorial

Para llevar a cabo el análisis sensorial se realizaron pruebas triangulares, descriptivas y de preferencia. En las pruebas triangulares se compararon los yogures entre tratamientos, CH4 frente UH4 y CH6 frente UH6, y entre la concentración de ED añadida, UH4 frente UH6. La tendencia en todas las pruebas realizadas fue la misma, dando en todos los casos, más resultados erróneos que correctos por lo que, se puede determinar que ninguna de las parejas de muestras fue diferenciada significativamente ( $p < 0,05$ ) por los catadores. Para la prueba descriptiva se asignaron cinco términos asociados al perfil sensorial de los yogures. Estos atributos fueron categorizados en una escala del 1 al 7, siendo el primer valor el más intenso y el último el que menos, y los panelistas atribuyeron un valor numérico de parámetro para las muestras de yogur UH4 y UH6. Aunque para todos los parámetros, con excepción de «aroma láctico», los resultados de UH6 fueron superiores que para UH4, no se obtuvieron diferencias significativas entre ambos en la mayoría de ellos (figura 8). Solo la «consistencia» y la «cremosidad» fueron percibidas como diferentes ( $p < 0,05$ ) entre las dos muestras, siendo los yogures UH6 los que obtuvieron



valores de  $4,3 \pm 1,11$  y  $4,43 \pm 1,18$ , respectivamente, mientras que, en los yogures UH4 fueron de  $3,88 \pm 1,15$  y  $3,75 \pm 1,05$  respectivamente para la consistencia y la cremosidad. Estos resultados concuerdan con el hecho de que la concentración de ED presente en los yogures UH6 es superior, aunque, a su vez, estos resultados resultan contradictorios con los datos obtenidos en los análisis mecánicos de textura realizados.

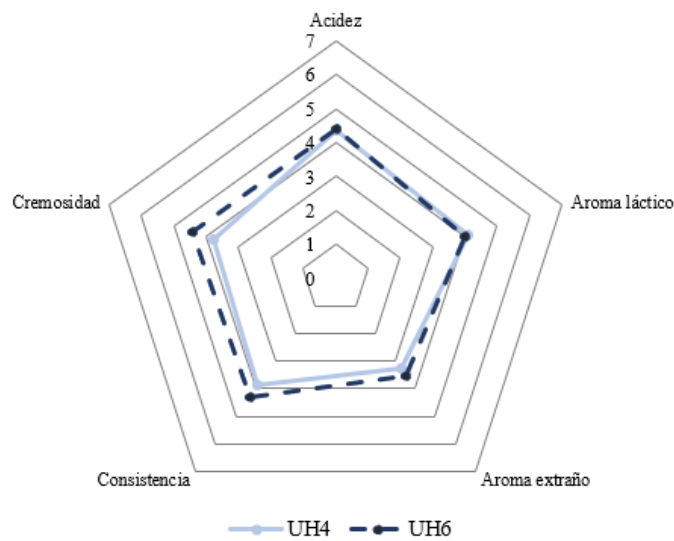


Figura 8. Resultados del análisis descriptivo de UH4 y UH6.

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial se pueden valorar positivamente ya que permiten la adición de más concentración de ED sin que tenga una percepción sensorial negativa por parte de los consumidores. Además, aunque no fue significativo ( $p > 0,05$ ), la tendencia de los consumidores en la prueba de preferencia realizada entre los yogures UH4 y UH6 fue superior en el yogur con mayor concentración de ED abriendo la posibilidad de elaborar yogures con esta concentración teniendo la aprobación de los

consumidores que a su vez, podrían sacar mayor partido a los beneficios asociados a este producto.

### 3.4. Análisis microbiológico

En el control de la calidad inicial de la leche y la manipulación durante la elaboración de los yogures se realizaron siembras en medios selectivos para coliformes/*E. coli*, aerobios mesófilos y las esporas de estos. Las siembras se realizaron a partir de las diferentes formulaciones en el momento previo de la inoculación. No se detectaron colonias de coliformes/*E. coli* en ninguna de las muestras y, en el caso de los aerobios mesófilos y sus esporas la media se situó en 1,70 y 1,34 log UFC/ml, respectivamente.

En el Real Decreto 271/2014 del 11 de abril se indica que los microorganismos iniciadores de la fermentación láctica – *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*– deben ser viables y estar presentes en la parte láctea del producto terminado en cantidad mínima de  $1 \times 10^7$  UFC por gramo o mililitro. En la tabla 5 se muestran los recuentos microbiológicos (log UFC/ml) de los yogures durante los días 0, 1, 14 y 28 sembrados en los medios MRS y M17 – selectivos para *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, respectivamente–. Los recuentos del día 0 corresponden a las muestras inoculadas y analizadas previamente al proceso de fermentación, motivo por el que se observa una diferencia significativa entre los recuentos del día 0 y los de los días posteriores. Una vez finalizado el proceso de fermentación, en general, ya se presentan crecimientos bacterianos alrededor de 7 log UFC/g, como marca la legislación. Los yogures elaborados con ED tratada por CH y por UHPH no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre ellos y tampoco se observó efecto relacionado con la cantidad de ED añadida. Los recuentos de *L. bulgaricus* se mantuvieron constantes durante el almacenamiento de los yogures mientras que en el caso de *S. thermophilus* se observa un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en los recuentos del día 28 aunque este resultado proviene de una sola repetición debida a problemas con el medio de cultivo usado, y debería confirmarse. A su vez, *S. thermophilus* presenta, en todos los días analizados, un mayor crecimiento frente *L. bulgaricus*, que podría estar relacionado con una mayor adaptación de *S. thermophilus* a las formulaciones utilizadas.

Tabla 5. Número de bacterias viables (media del log UFC/g  $\pm$  desviación estándar) en los yogures.

	<b>d0</b>	<b>d1</b>	<b>d14</b>	<b>d28</b>
<i>L. bulgaricus</i>				
<b>CH4</b>	4,56 $\pm$ 0,32 <sup>b</sup>	7,01 $\pm$ 0,62 <sup>a</sup>	7,85 $\pm$ 1,74 <sup>a</sup>	7,53 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>
<b>UH4</b>	4,55 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>	7,24 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>	6,78 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>	7,41 $\pm$ 0,70 <sup>a</sup>
<b>CH6</b>	4,60 $\pm$ 0,38 <sup>b</sup>	6,91 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup>	6,96 $\pm$ 1,50 <sup>a</sup>	7,28 $\pm$ 0,56 <sup>a</sup>
<b>UH6</b>	4,58 $\pm$ 0,30 <sup>b</sup>	7,36 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>	6,81 $\pm$ 0,86 <sup>a</sup>	7,45 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>
<i>S. thermophilus</i>				
<b>CH4</b>	4,17 $\pm$ 2,30 <sup>c</sup>	8,50 $\pm$ 0,71 <sup>b</sup>	8,44 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>	9,15 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
<b>UH4</b>	3,17 $\pm$ 0,55 <sup>c</sup>	8,79 $\pm$ 0,47 <sup>b</sup>	8,51 $\pm$ 0,98 <sup>b</sup>	9,14 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
<b>CH6</b>	3,69 $\pm$ 0,92 <sup>c</sup>	8,58 $\pm$ 0,65 <sup>b</sup>	8,41 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>	9,19 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
<b>UH6</b>	3,79 $\pm$ 0,83 <sup>c</sup>	8,58 $\pm$ 0,67 <sup>b</sup>	8,46 $\pm$ 0,92 <sup>b</sup>	9,13 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> Superíndices diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en distintos días de análisis

#### 4. Conclusiones

En general, no se observaron grandes diferencias entre los cuatro tipos de yogures. El proceso de fermentación y las características de calidad de los yogures fueron similares, tal como muestran la mayoría de los análisis realizados. Los resultados relativos a la textura y las propiedades viscoelástica revelaron una mayor firmeza en los yogures UH4, aunque no fueron concluyentes y serían necesarias más repeticiones del experimento para poder avalarlos con mayor certeza. Como principal cambio, se podría destacar la mayor CRA y la menor acidez durante el almacenamiento de los yogures con ED tratada por UHPH frente los elaborados con ED tratada por CH. Respecto al porcentaje de ED añadida, no se observaron diferencias entre los yogures con un 4 y un 6 %. Este hecho es relevante pues permitiría la incorporación del mayor porcentaje de ED (6%) sin afectar negativamente a las características de calidad del yogur y, por lo tanto, a la aceptación por parte de los consumidores.

Este estudio abre camino a una futura aplicación del 6% de ED en la formulación de yogures batidos. La adición de este porcentaje en un yogur de 125 g significaría el 86 %

de la IDR de omega 3 recomendada, ofreciendo a los consumidores una forma fácil y cómoda de suplir estas necesidades. Aun así, con el presente estudio, nace la necesidad de plantear futuros experimentos que permitan obtener un mayor respaldo estadístico.

## 5. Bibliografía

Aghababaei F, Cano-Sarabia M, Trujillo AJ, Quevedo JM, Ferragut V. 2021. Buttermilk as encapsulating agent: Effect of ultra-high-pressure homogenization on chia oil-in-water liquid emulsion formulations for spray drying. *Foods*. 10(5).

Ali AH. 2019. Current knowledge of buttermilk: Composition, applications in the food industry, nutritional and beneficial health characteristics. *Int J Dairy Technol*. 72(2):169-182.

Badui S. 2006. Estado de dispersión. Quintanar Duarte E., editor. *Química de los alimentos*. 4a ed: México. Pearson Educación.

Beal C, Skokanova J, Latrille E, Martin N, Corrieu G. 1999. Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. *J Dairy Sci*. 82(4):673-681.

Brink LR, Lönnerdal B. 2020. Milk fat globule membrane: the role of its various components in infant health and development. *J Nutr Biochem*. 85:108465.

C. Needs E, Marta Capellas, Patricia Bland A, Pretima Manoj, Douglas Macdougall, Gopal Paul. 2000. Comparison of heat and pressure treatments of skim milk, fortified with whey protein concentrate, for set yogurt preparation: effects on milk proteins and gel structure. *J Dairy Res*. 67(03):329-348.

Chandan, Ramesh C.; White, Charles H.; Kilara, Arun; Hui, Y. H. 2006. *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. 1a ed. USA: Blackwell Publishing. 363 p.

Claumarchirant L, Sánchez-Siles LM, Alegría A, Lagarda MJ. 2017. Ingrediente rico en membrana del glóbulo graso de la leche (MFGM) como fuente de gangliósidos en preparados para lactantes. *Acta pediátrica española*. 75:104-109.

Desrumaux A, Marcand J. 2002. Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high-pressure homogenization (up to 350 MPa): Effect of pressure on emulsion characteristics. *Int J Food Sci Technol*. 37(3):263-269.

- Dumay E, Chevalier-Lucia D, Picart-Palmade L, Benzaria A, Gràcia-Julià A, Blayo C. 2013. Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends Food Sci Technol.* 31(1):13-26.
- FAO. 2008. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Consulta de expertos.
- Gilbert A, Turgeon SL. 2021. Studying stirred yogurt microstructure and its correlation to physical properties: a review. *Food Hydrocoll.* 121.
- Gumus CE, Gharibzahedi SMT. 2021. Yogurts supplemented with lipid emulsions rich in omega-3 fatty acids: New insights into the fortification, microencapsulation, quality properties, and health-promoting effects. *Trends Food Sci Technol.* 110:267-279.
- Haddadian Z, Eyres GT, Bremer P, Everett DW. 2018. Polar lipid composition of the milk fat globule membrane in buttermilk made using various cream churning conditions or isolated from commercial samples. *Int Dairy J.* 81:138-142.
- Horiuchi H, Inoue N, Liu E, Fukui M, Sasaki Y, Sasaki T. 2009. A method for manufacturing superior set yogurt under reduced oxygen conditions. *J Dairy Sci.* 92(9):4112-4121.
- IDF. 2019. The World Dairy Situation. Bulletin No. 501/2019. Brussels, Belgium. *Int J Dairy Technol.* 73(4):801-803.
- Jiménez-Flores R. 2021. Buttermilk and Milk Fat Globule Membrane Fractions. *Ref Modul Food Sci.*:1-8.
- Kosegarten-Conde CE, Jiménez-Munguía MT. 2012. Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsión doble. *Temas Sel Ing Aliment.* 6:1-18.
- Li S, Ye A, Singh H. 2021. Effects of seasonal variations on the quality of set yogurt, stirred yogurt, and Greek-style yogurt. *J Dairy Sci.* 104(2):1424-1432.
- Liu H, Xu XM, Guo SD. 2007. Rheological , texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT- Food Sci Technol.* 40:946-954.
- Nair MG, Mistry V V., Oommen BS. 2000. Yield and functionality of Cheddar cheese as influenced by homogenization of cream. *Int Dairy J.* 10(9):647-657.
- Narvhus JA, Abrahamsen RK. 2021. Fermented Milk | Buttermilk Products. *Ref Modul Food Sci.*:1-8.

- Poliseli-Scopel FH, Hernández-Herrero M, Guamis B, Ferragut V. 2013. Characteristics of soymilk pasteurized by ultra high pressure homogenization (UHPH). *Innov Food Sci Emerg Technol.* 20:73-80.
- Real Decreto 271/2014, del 11 de abril, por el que se aprueba la Norma de Calidad para el yogur o yoghurt. *Boletín Oficial del Estado*, 28 de abril de 2014, núm 102.
- Rosas-Mendoza ME, Coria-Hernández J, Meléndez-Pérez R, Luis Arjona-Román J. 2017. Characteristics of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil extracted by ultrasound assistance. *J Mex Chem Soc.* 61(4):326-335.
- Serra M, Trujillo AJ, Guamis B, Ferragut V. 2009. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food Hydrocoll.* 23(1):82-91.
- Soukoulis C, Panagiotidis P, Koureli R, Tzia C. 2007. Industrial yogurt manufacture: Monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. *J Dairy Sci.* 90(6):2641-2654. doi:10.3168/jds.2006-802.
- Svanborg S, Johansen AG, Abrahamsen RK, Skeie SB. 2015. The composition and functional properties of whey protein concentrates produced from buttermilk are comparable with those of whey protein concentrates produced from skimmed milk. *J Dairy Sci.* 98(9):5829-5840.
- Tabilo-Munizaga G, Barbosa-Cánovas G V. 2005. Rheology for the food industry. *J Food Eng.* 67(1-2):147-156.
- Tamine AY & Robinson RK. 1999. *Yoghurt: Science and Technology*. 3th ed. USA: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. 2007.
- Vázquez, M. 2008. Viabilidad y propiedades fisicoquímicas de leche fermentada probiótica: tesis de maestría. [tesis] Puebla: México: Universidad de las Américas.
- Wibowo, S., Vervoort, L., Tomic, J., Santiago, J. S., Lemmens, L., Panozzo, A. 2015. Colour and carotenoid changes of pasteurised orange juice during storage. *Food Chemistry*, 171, 330–340.
- Zamora A, Guamis B. 2015. Opportunities for Ultra-High-Pressure Homogenisation (UHPH) for the Food Industry. *Food Eng Rev.* 7(2):130-142.

