

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



ELABORACIÓN DE UNA PRÁCTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN
YOGUR TIPO GRIEGO FABRICADO EN EL SALVADOR

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PRESENTADO POR

DEYSI ESTELA CALLES RAMÍREZ

ANA LUCÍA CANALES GALLO

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUÍMICA Y FARMACIA

JUNIO 2024

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESOR

LICENCIADO WALTER EDWIN RECINOS RIVERA

ASESORA DE ÁREA DE SALUD PÚBLICA

MÁSTER NURIAN LISSETH PÉREZ DE MARÍN

TUTOR

LICENCIADO MARIO ANTONIO HERNÁNDEZ MELGAR

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos principalmente a Dios y a nuestros padres por darnos la oportunidad de alcanzar una de las metas más importantes de nuestra vida académica, por darnos sabiduría y conocimientos para superar cada obstáculo que se nos presentó en nuestro recorrido y de esta manera alcanzar este objetivo.

Gracias a los docentes del Diplomado de especialización Análisis Químico de Alimentos, por impartirnos su conocimiento y orientarnos en el desarrollo del curso.

Agradecemos al Licenciado Mario Antonio Hernández, docente del curso de especialización y nuestro tutor en el desarrollo del presente trabajo, por su paciencia, dedicación y guía en el desarrollo del mismo.

De igual manera agradecemos a nuestra Alma Mater, la Universidad de El Salvador, y a la Facultad de Química y Farmacia, formada por todas sus autoridades, docentes y asesores que nos brindaron el apoyo necesario y la formación adecuada para desempeñarnos como profesionales que aporten sus conocimientos al desarrollo del país.

Ana Lucía y Deysi

DEDICATORIA

Dedico y agradezco todo a Dios por darme la sabiduría necesaria y la bendición de poder finalizar esta etapa de mi vida tan importante y deseada para mí y mi familia.

A mis padres, Vilma Estela Ramírez Orellana y Santos Calles Barrera por el apoyo incondicional que me brindaron siempre, por cada sacrificio que con mucho gusto y como padres hicieron por mí para que estudiara y finalizara mis estudios, por estar para mí en cada momento pendientes de cada alta y baja que tenía durante mi proceso.

Para mis hermanos y hermanas por su ayuda siempre y estarme apoyando en todas las necesidades que surgían en el transcurso de mi carrera, gracias a ellos por creer en mí y estar conmigo siempre para lograr esta meta.

Mis tías, primas, amigas y amigos por el tiempo, acompañamiento y la ayuda brindada cuando más la necesite, por su paciencia y motivación gracias también.

Finalmente agradecer a cada maestro de mis escuelas, Licenciados de la Universidad, y demás personas que con su esmero, dedicación y esfuerzo nos compartieron de su sabiduría y conocimiento para que fuera posible lograr y culminar mis estudios.

A TODOS MUCHAS GRACIAS.

Deysi Calles

DEDICATORIA

A Dios, por sostenerme en todo momento, por ser mi consuelo en los momentos más difíciles y por su infinito amor.

A mi abuelita, María de Jesús, mi mayor inspiración, sé que desde el cielo me cuida y celebra conmigo este logro.

A mis padres, Roger Canales y Lorena Gallo, por todo el apoyo, amor y sacrificios que han hecho por mí y mis hermanos.

A mis hermanos, Gabriela Canales y Roger Canales, por su apoyo y amor incondicional, y por ser mis mayores ejemplos de superación y perseverancia.

A mis amigos, Evelin Amaya, Mayrelin Santos, Lourdes Echeverría, Karen Chávez, Patricia García y Elder Flores, por compartir la vida conmigo y hacerla más ligera y feliz.

A Eduardo Echeverría, por su apoyo, palabras de aliento y compañía en este largo camino.

Ana Lucía Canales Gallo

ÍNDICE GENERAL

	Pág. N°
SIGLAS Y ABREVIATURAS	
RESUMEN	
CAPÍTULO I	
1.0 INTRODUCCIÓN	12
CAPÍTULO II	
2.0 OBJETIVOS	14
CAPÍTULO III	
3.0 MARCO TEÓRICO	16
3.1 Origen y definición del yogur	16
3.2 Proceso de fabricación del yogur	16
3.3 Fabricación de yogur en El Salvador	23
3.4 Yogur griego	23
3.5 Proteínas y su importancia en la dieta diaria	24
3.6 Métodos de análisis para la determinación de proteínas en alimentos	25
3.7 Marco normativo para las leches fermentadas	28
3.8 Prácticas de determinaciones analíticas	28
CAPÍTULO IV	
4.0 PRODUCTO FINAL	31
CAPÍTULO V	
5.0 CONCLUSIONES	41
CAPÍTULO VI	
6.0 RECOMENDACIONES	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág. N°
1	Proceso de fabricación del yogur	17
2	Etapas del método de Kjeldahl	26
3	Yogur griego fabricado en El Salvador	34
4	Información nutricional del producto	34
5	Equipo bloque digestor modelo TE-040/025 con dispositivo neutralizador de gases	36
6	Equipo Destilador de Nitrógeno modelo TE-0364	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Factores de conversión utilizados en la determinación de proteínas presentes en alimentos.	27

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°	
1	Norma del Codex para leches fermentadas: CODEX STAN 243- 2003.

SIGLAS Y ABREVIATURAS

- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- RDA: Recommended Dietary Allowances.
- kPa: Kilopascal

RESUMEN

Este trabajo de investigación tiene como principal objetivo la elaboración de una práctica para la determinación de proteína en muestras de yogur griego elaborado en El Salvador. Se realizó la investigación bibliográfica acerca de la determinación de proteínas en matrices alimentarias, para lo cual el método de determinación seleccionado fue el método de Kjeldahl, siendo este el de referencia universal para la determinación de proteínas.

Posterior a la investigación realizada, se elaboró el producto final, el cual consiste en una práctica de determinación analítica la cual incluye el fundamento teórico del método de análisis, los materiales y reactivos, el tratamiento de las muestras, el procedimiento y los cálculos involucrados. Dicha práctica servirá para evaluar el contenido proteico en muestras de yogur fabricadas en el país, con el fin de garantizar que los consumidores estén ingiriendo la cantidad de estos macronutrientes esenciales declarados en el producto.

Todo lo anterior destaca la importancia del análisis químico en los alimentos ya que estos productos deben cumplir con el criterio de aceptación que especifica la normativa del Codex Alimentarius para leches fermentadas que las muestras analizadas deben poseer como mínimo 5.6% de proteínas, para poder categorizarse como un producto de este tipo.

Se recomienda que la práctica elaborada sea retomada y sirva como base para la evaluación de diferentes muestras de yogur griego fabricadas y comercializadas en el país, con el fin de verificar que cumplan con lo declarado en los productos.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha popularizado el consumo de productos que corresponden a una dieta más saludable, como lo es el yogur tipo griego el cual el Codex Alimentarius lo clasifica como un producto de “leche fermentada concentrada” al poseer un mayor porcentaje de proteína en comparación al yogur normal, esto debido a la forma en la que se obtiene, dando como resultado un producto con mayor contenido proteico y menor contenido de azúcares. Sabiendo que ya existen este tipo de productos fabricados y comercializados en nuestro país, por lo cual el desarrollo de este proyecto tiene como relevancia el dotar o entregar los procedimientos teóricamente establecidos, para la elaboración de una práctica analítica de determinación del contenido proteico de muestras de yogur tipo griego fabricado en El Salvador, a través de la investigación bibliográfica acerca de las metodologías analíticas adecuadas para la determinación de proteína producto de interés así como los fundamentos del método, la descripción de la obtención de la matriz alimentaria, tratamiento y conservación de la muestra, y el criterio de aceptación para proteínas aplicables a muestras de yogurt basado en la normativa de Codex Alimentarius con la finalidad de obtener una práctica de determinación del contenido de proteína que permita la verificación del cumplimiento de este factor de calidad, y que brinde toda la información necesaria a futuros usuarios de dicha determinación.

Dicho proyecto se elaboró por la importancia y alto consumo que tiene este producto en la población debido a que el contenido proteico es mayor comparado con otros en el mercado, es por ello el interés de realizar un estudio y análisis, así como una práctica en la que futuros estudiantes y analistas les sirva como guía para garantizar la calidad de dicho producto, este se desarrolló como parte del diplomado de especialización en “Análisis Químico de Alimentos” en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador durante el período de septiembre de 2023 – junio 2024.

CAPÍTULO II

2.0 Objetivos

2.1 Objetivo General

Elaborar una práctica para la determinación de proteína en yogur tipo griego fabricado en El Salvador.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1 Presentar la metodología actual del método Kjeldahl utilizado para la determinación de proteína adaptado a muestras de yogur griego.
- 2.2.2 Describir el método de obtención de la matriz alimentaria a analizar, el método de conservación y tratamiento de la muestra.
- 2.2.3 Indicar el criterio de aceptación para proteínas aplicable a muestras de yogur griego fabricado en El Salvador basado en la normativa del Codex Alimentarius para leches fermentadas, para quien ponga en práctica la determinación propuesta.

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 Origen y definición del yogur ^{6,8}

A principios del siglo XX, el premio Nobel Elie Metchnikoff, en el Instituto Pasteur, vinculó la salud y longevidad a la ingestión de bacterias presentes en alimentos fermentados como el yogur. Esta observación dio un gran impulso a la fabricación y consumo de yogur y otras leches fermentadas productos.

Aunque no hay registros disponibles para rastrear el origen del yogur, se cree que la fermentación fue la primera técnica empleada por el ser humano para conservar los alimentos. La palabra "yogur" se deriva de la palabra turca "Jugurt". Los primeros registros ubican el origen del yogur en el Cercano Oriente, en zonas de Bulgaria habitadas por los tracios, y en Turquía. Diversas referencias históricas y literarias sobre el yogur consideran que su origen remite a la costumbre de los pastores de llevar la leche, durante sus largas jornadas de trabajo, en odres hechos con piel de animales; dentro de ellos, por la acción de ciertos fermentos y del calor, la leche sufría transformaciones que la convertían naturalmente en yogur.

El yogur se define como "un producto resultante de la leche por fermentación con un cultivo iniciador mixto compuesto de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. Sin embargo, en algunos países, incluida Australia, se permiten otras bacterias lácticas adecuadas para su uso como cultivos iniciadores. Como resultado, algunos fabricantes de yogur utilizan *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus jugurti* para la fabricación. Otra definición del yogur, es la que brinda el Codex Alimentarius para las leches fermentadas: "La leche fermentada es un producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, que puede haber sido elaborado a partir de productos obtenidos de la leche con o sin modificaciones en la composición, por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica)."

3.2 Proceso de fabricación del yogur ⁶

En el proceso de fermentación las bacterias ácido-lácticas transforman los azúcares en ácido láctico y pequeñas cantidades de productos secundarios. Las proteínas de la leche se coagulan y precipitan, dando lugar a un producto con sabor, aroma y textura característico.

El consumo de un yogur contribuye con el aporte de calcio y fósforo (alrededor de 18 y 30% de las ingestas diarias recomendadas, respectivamente) para un grupo de población sana. En general, la composición nutricional del yogur es muy similar a la de la leche, de la cual procede, excepto por el contenido de lactosa. Este azúcar está presente en cantidades mínimas en todas las leches fermentadas, debido a la fermentación de la lactosa con el consecuente incremento del ácido láctico. Lo anterior representa un beneficio importante para la población que padece intolerancia a la lactosa.

El flujo del proceso de fabricación del yogur se muestra en la figura 1, y se describen a continuación:

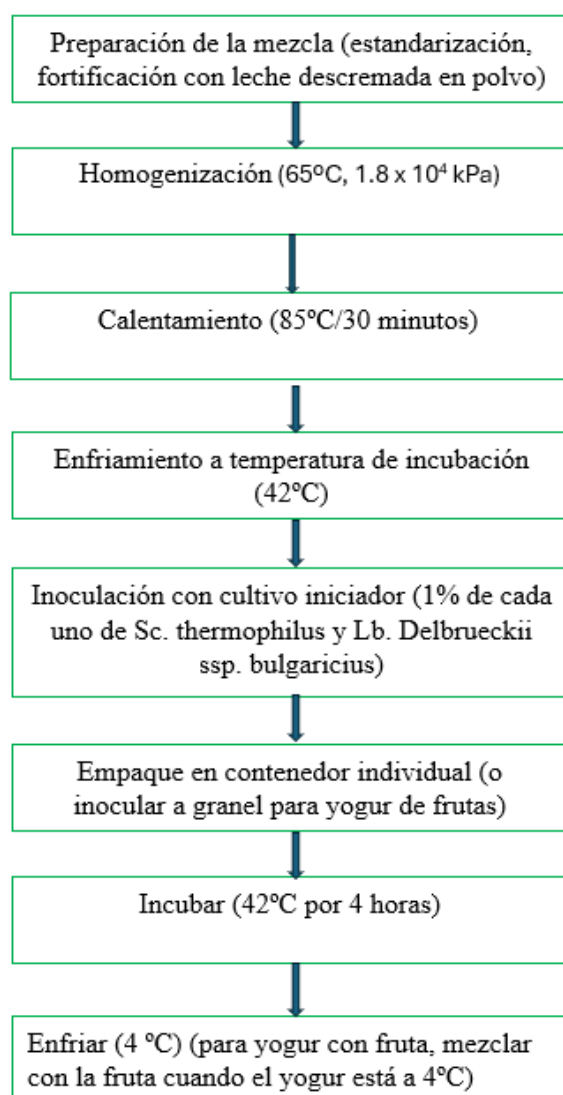


Figura N°1. Proceso de fabricación del yogur

Fuente: Elaboración propia con base en ⁶

3.2.1 Preparación de la mezcla

Tradicionalmente, el yogur se elabora a partir de leche, que ha sido concentrada mediante ebullición para aumentar la viscosidad del producto. Hoy en día la leche es fortificada con leche en polvo descremada para el mismo propósito. El nivel de fortificación varía desde tan sólo el 1% hasta un 6%. Sin embargo, el nivel de fortificación generalmente recomendado es de alrededor del 3% al 4%. Este aumenta el nivel de sólidos totales en la mezcla de yogur a 15-17%.

La ultrafiltración y la ósmosis inversa también pueden ser utilizadas para lograr un mayor contenido de sólidos con el fin de mejorar la viscosidad del producto. La leche concentrada por ultrafiltración a 18-20% de sólidos totales se ha informado que produce yogur de buena calidad.

La viscosidad del yogur depende casi por completo del contenido de proteínas en la leche, por lo tanto, una alta concentración de proteínas es esencial para la producción de un yogur viscoso. La caseína es el principal contribuyente a la viscosidad, seguida de la grasa y las proteínas del suero.

Los estabilizadores pueden también influir en la consistencia del yogur. En la práctica, la gelatina, almidón, gomas vegetales, carragenina y las pectinas se utilizan más ampliamente como estabilizantes para el yogur. La mejor textura del yogur se consigue utilizando gelatina en 0.3–0.8%. Se puede hacer un buen yogur sin utilizar estabilizantes añadidos, pero el yogur sin estabilizante es más vulnerable a una serie de factores de estrés que uno que ha sido estabilizado. Cuando son correctamente elegidos y utilizados, los estabilizadores juegan un papel importante para mejorar el cuerpo, la textura, la sensación en boca y la apariencia del yogur.

El contenido de grasa puede variar de 0.5 a 3.5%. La grasa de la leche también tiende a “enmascarar” el ácido sabor a yogur. Obviamente, cuando se incorpora grasa láctea a la formulación de la mezcla, la homogeneización se vuelve importante para la calidad general de la textura de yogur.

A los yogures naturales se les añaden edulcorantes, generalmente con frutas. La adición de azúcar es un método de corte de la nitidez del sabor del yogur. Se debe utilizar un nivel

adecuado de azúcar para enmascarar el grado total de acidez, pero debe quedar suficiente azúcar en el producto después de la fermentación para obtener una mezcla deseable de ácido-azúcar.

Generalmente se utiliza hasta un 10% de sacarosa cuando se añade fruta al yogur. Una mezcla que contiene 4% o más de sacarosa, puede reducir la producción de ácido y los recuentos microbianos de las dos especies incorporadas a la mezcla antes de la fermentación.

Algunos edulcorantes no nutritivos o intensos como el aspartamo pueden encontrar popularidad entre los dietistas consumidores conscientes. Dado que el aspartame es aproximadamente 200 veces más dulce que la sacarosa, sólo una pequeña cantidad es requerida para obtener el dulzor deseable. Debido a esto, los yogures que contienen edulcorantes intensos requieren un agente de carga tal como la polidextrosa.

Mientras se prepara el yogur se debe prestar especial atención a la homogenización y tratamiento térmico de la mezcla. La preparación de la mezcla y los pasos de homogeneización son importantes para la uniformidad de distribución de ingredientes. La homogenización suele ser llevada a cabo antes del tratamiento térmico, pero en algunos casos, puede tener lugar después del tratamiento térmico.

3.2.2 Homogenización

La homogenización es el proceso industrial típico utilizado para efectuar la estabilización de la fase lipídica frente a la separación por gravedad.

El peso específico de la grasa láctea es 0.9 mientras que el de la leche descremada es de 1.036. La grasa, siendo más liviana, tiende a separarse del suero o de la leche descremada si se deja imperturbable. El diámetro de los glóbulos de grasa en la leche varía de 1 a 15 mm, con un promedio de 3 a 4 mm. La homogenización reduce el diámetro medio de los glóbulos de grasa de 1 o 2 mm. Como resultado, los glóbulos de grasa no creman durante la incubación del yogur. Debido a la reducción de tamaño, hay un aumento de cuatro a seis veces del área superficial.

La membrana de los glóbulos grasos protege a los mismos de la lipasa. Tras la homogenización, la membrana del glóbulo de grasa es destruida, y el glóbulo de grasa es más vulnerable al ataque de la lipasa, que está presente de forma natural en la leche. Debido a esto, la leche se pasteuriza para inactivar la lipasa antes de la homogenización. Si la leche va a ser homogenizada antes de la pasteurización, la leche debe pasteurizarse inmediatamente para evitar la lipólisis.

Dado que la eficiencia de la homogenización es mucho mejor a altas temperaturas, la mezcla se calienta a alrededor de 65°C para licuar la grasa y luego forzar a alta presión (1.8×10^4 kPa) a través de un pequeño orificio para reducir el tamaño de los glóbulos de grasa.

3.2.3 Calentamiento

Las mezclas de yogur se calientan a una temperatura alta, normalmente 85 °C durante 30 min. Un tratamiento térmico tan alto tiene muchos objetivos:

- Destruir todas las bacterias patógenas presentes en la mezcla.
- Inactivar todas las enzimas que puedan estar presentes en la leche, incluida la lipasa.
- Destruir la mayoría de las bacterias que causan el deterioro, incluidos los termodúricos, y la más importante;
- Desnaturalizar las proteínas, b-lactoglobulina y a-lactoalbúmina;

El tratamiento térmico desnaturaliza más del 90% de la b-lactoglobulina en comparación con el 60% de la a-lactoglobulina. Se forma un complejo entre la k-caseína y la b-lactoglobulina desnaturalizada, que aumenta las propiedades hidrófilas de la caseína, reduce la propensión del gel a la sinéresis y facilita la formación de un coágulo estable. El efecto de hidratación de la proteína es máximo cuando la leche se calienta a 85°C, pero disminuye a medida que aumenta la temperatura por encima de 85°C. Un tratamiento térmico más alto disminuye las propiedades hidrófilas del complejo b-lactoglobulina-k caseína. Como resultado, se produce la sinéresis y la estructura del gel de yogur se vuelve débil y frágil.

Después del tratamiento térmico y la formación de complejos entre b-lactoglobulina y la k-caseína, la leche calentada forma una estructura suave similar a un gel cuando el pH baja durante la fermentación a 4.6, que es el valor isoeléctrico de la caseína (el pH al que la caseína no porta carga eléctrica)

3.2.4 Inoculación e incubación

Después de la pasteurización, la mezcla se enfría a 45°C e inoculado a un nivel que varía del 0.5 al 5%. El primer nivel (0.5-1%) puede ser susceptible a condiciones de crecimiento y un mayor tiempo de incubación.

La cantidad máxima recomendada es del 5%. Este nivel causará una producción de ácido muy rápida, pero conduce a defectos de aroma y una gran cantidad de cultivo debe ser preparado. El nivel óptimo es 2%, 1% *Lb. delbrueckii* spp. *bulgaricus* y *Sc. thermophilus*.

Lb. delbrueckii spp. *bulgaricus* hidroliza las proteínas de la leche, las caseínas, liberando así aminoácidos esenciales, incluida la valina, que estimulan el crecimiento de *Sc. thermophilus*. Inicialmente, *Sc. thermophilus* crece rápidamente, reduciendo el pH a alrededor de 5.4, lo que estimula el crecimiento de *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, que es tolerante a los ácidos y produce grandes cantidades de ácido láctico, que reduce el pH. *Sc. thermophilus* utiliza oxígeno durante su crecimiento, lo que hace el potencial de oxidación-reducción más favorable para *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*; también produce ácido fórmico, que estimula el crecimiento de los lactobacilos.

Las células bacterianas iniciadoras se distribuyen en la mezcla inoculada mezclando durante 10 a 15 minutos después de la adición de los cultivos. A esto le sigue la distribución de la mezcla en recipientes del tamaño del consumidor e incubando a 42°C durante aproximadamente 4 horas hasta que el pH disminuye a 4.5. Para la fabricación del yogur batido, la mezcla inoculada se incuba a granel y cuando el pH alcanza el valor deseado, el yogur se mezcla, se enfría, se mezcla con varios aromas, si es requerido, y llenado en contenedores individuales.

La temperatura de incubación de 42°C es óptima para el crecimiento asociado; la temperatura óptima de crecimiento de *Sc. thermophilus* solo es 37°C, y para *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* es 45°C. Las temperaturas de incubación superiores a 42°C promoverán el crecimiento del *Lactobacillus*, mientras que una temperatura de incubación inferior a 42°C favorecerá el crecimiento de *Sc. thermophilus*, la falta de sabor resulta debido al pobre crecimiento de *Lb. delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*. La desviación en cualquier dirección provocará una perturbación en la proporción de lactobacilos y estreptococos. La relación de lactobacilos y estreptococos en el yogur natural para obtener un sabor óptimo debe ser 1:1. Mediante el uso de monocultivos, esta proporción de 1:1 se puede mantener fácilmente ajustando el nivel de inóculo de ambos *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y *Sc. thermophilus*.

Cuando se utiliza un inóculo al 2% a una temperatura de incubación de 42°C, la leche se coagula y se forma un gel firme en 3.5-4 horas y el pH disminuye a 4.4-4.5. Cuando son utilizados

cultivos congelados, puede ser necesario un período de incubación de 5 a 8 horas. De manera similar, los cultivos liofilizados pueden requerir más tiempo que los cultivos frescos y activos.

Una nueva tendencia en la elaboración de yogur es incubar la mezcla de yogur a una temperatura significativamente más baja que la normal durante un período más largo. Una de las ventajas es que los productos requieren menos cultivos iniciadores y tiempos más cortos de enfriamiento. Una temperatura de incubación de 30°C con un 0.25% de cultivo iniciador puede tardar entre 12 y 14 horas. Si la temperatura de incubación es demasiado baja, el crecimiento del cultivo iniciador de yogur puede verse afectado negativamente.

Los cultivos de yogur producen acetaldehído, que le da al yogur natural su sabor típico que se asemeja al de las manzanas verdes. Otros compuestos volátiles incluyen ácido acético y diacetilo.

3.2.5 Enfriamiento

Una vez alcanzada la acidez deseada, el producto el producto se enfría a $< 10^{\circ}\text{C}$ lo más rápido posible. En el caso del yogur batido, en el enfriamiento en una fase, el producto se enfría desde la temperatura de incubación hasta $< 10^{\circ}\text{C}$ antes de la adición del material aromatizante y relleno.

En el enfriamiento de dos fases, la temperatura del producto se reduce a 15-20°C durante la primera fase de enfriamiento antes de la adición de materiales aromatizantes y llenado de contenedores seguido de la segunda etapa enfriamiento a $< 10^{\circ}\text{C}$ en una cámara frigorífica.

La calidad del yogur puede mejorarse envasando a 24°C seguido del enfriamiento final del producto en el contenedor. Para maximizar el efecto, la segunda etapa de enfriamiento debe ser llevada a cabo lo más lentamente posible durante un período de 12 horas.

La viscosidad del yogur mejora durante el almacenamiento durante 1 a 2 días. Durante las primeras 24 a 48 horas de almacenamiento en frío, se observa una mejora de las características físicas del coágulo, principalmente la hidratación y/o estabilización de las micelas de caseína. Se requiere una hidratación adecuada para evitar la sinéresis. Por lo tanto, es importante retrasar la venta o distribución de yogur entre 24 y 48 horas. Durante el almacenamiento en frío, es

importante minimizar la manipulación mecánica brusca del yogur envasado, y mantener la temperatura de $< 5^{\circ}\text{C}$. Durante el transporte, especialmente en verano, la agitación del yogur puede conducir a una reducción de la viscosidad y la sinéresis.

3.3 Fabricación de yogur en El Salvador

En el país se fabrican diferentes productos lácteos, tanto para consumo local como para la exportación.

En la fabricación del yogur en el país se destacan dos reconocidas empresas:

- Cooperativa ganadera de Sonsonate, SALUD: Empresa líder en la producción y distribución de leche y productos lácteos, entre ellos el yogur líquido.
- Lactolac de El Salvador: Empresa productora de una gran variedad de productos lácteos, entre ellos, uno de los más reconocidos de la región, el yogur.

3.4 Yogur griego^{1, 2, 5}

Una variante del yogur natural es el yogur griego que se elabora con la concentración del producto para reducir el contenido de humedad. El resultado es un producto concentrado, espeso y ácido con mayor contenido proteico por porción que el yogur natural.

En los últimos años el yogur griego ha ganado popularidad entre los consumidores por ser superior en términos de sabor, consistencia y valor nutricional en comparación al yogurt tradicional.

El proceso tradicional de obtención del yogur griego incluye la fermentación de la base hasta un pH de 4.6, seguido por presión del producto intermedio a través de un paño para queso a 4°C durante varias horas para el drenaje del suero, para así incrementar los sólidos totales desde un 14% hasta el 21- 23%. La textura resultante del alimento es muy espesa y viscosa. La compresión del yogur aumenta el contenido proteico del mismo en un 6-7% (aproximadamente), y el de grasa en un 10%.

De lo anterior surge el interés en los últimos años sobre este producto, sobre todo para los consumidores que buscan productos que les provean un mayor aporte de grasas y/o proteínas según sus requerimientos diarios.

3.5 Proteínas y su importancia en la dieta diaria ³

3.5.1 Definición de las proteínas, composición e importancia

La palabra Proteína, del griego “proteios” que significa “primordial” o “primer lugar”, fue sugerida por Berzelius para llamar así, al material que describiera el químico holandés Mulder en 1838 como “sustancia compleja” en cuya composición intervenía el nitrógeno (N), y la cual, era sin duda la más importante de todas las sustancias conocidas en el “reino orgánico”, sin la cual no parecía posible la vida sobre nuestro planeta. Aunque dentro del campo nutricional, no son las que aportan más energía, si son esenciales, pues las proteínas constituyen uno de los nutrimentos de mayor trascendencia en los seres vivos.

Las proteínas son macromoléculas las cuales desempeñan el mayor número de funciones en las células de los seres vivos. Forman parte de la estructura básica de tejidos (músculos, tendones, piel, uñas, etc.), durante todos los procesos de crecimiento y desarrollo, crean, reparan y mantienen los tejidos corporales; además desempeñan funciones metabólicas (actúan como enzimas, hormonas, anticuerpos) y reguladoras a saber: asimilación de nutrientes, transporte de oxígeno y de grasas en la sangre, eliminación de materiales tóxicos, regulación de vitaminas liposolubles y minerales, etc.

Las proteínas son moléculas de gran tamaño formadas por una larga cadena lineal de sus elementos constitutivos propios, los aminoácidos (aa). Éstos se encuentran formados de un grupo amino (NH₂) y un grupo carboxilo (COOH), enlazados al mismo carbono de la molécula. Los aminoácidos se encuentran unidos por un enlace peptídico (enlace de un grupo amino con otro carboxilo perteneciente a otro aminoácido).

3.5.2 Necesidades diarias de proteínas

En general, se recomiendan unos 40 a 60 g de proteínas al día para un adulto sano. La OMS y las RDA (del inglés Recommended Dietary Allowances) de Estados Unidos recomiendan un valor de 0.8 a 1.0 g/kg de peso al día para un adulto sano. Por supuesto, durante el crecimiento, el embarazo o la lactancia estas necesidades aumentan. La FAO ha planteado que la proteína de un alimento es biológicamente completa cuando contiene todos los aminoácidos en una cantidad igual o superior a la establecida para cada aminoácido requerido en una proteína de referencia o patrón, como la del huevo, que tienen una proporción de aminoácidos esenciales utilizables en un 100%.

3.6 Métodos de análisis para la determinación de proteínas en alimentos ⁹

El nitrógeno es el elemento químico más sobresaliente que se encuentra en las proteínas y a pesar de que no todo el nitrógeno de la materia orgánica proviene necesariamente de las proteínas, los métodos de determinación de proteínas totales usados hoy en día se fundamentan en la cuantificación del nitrógeno total.

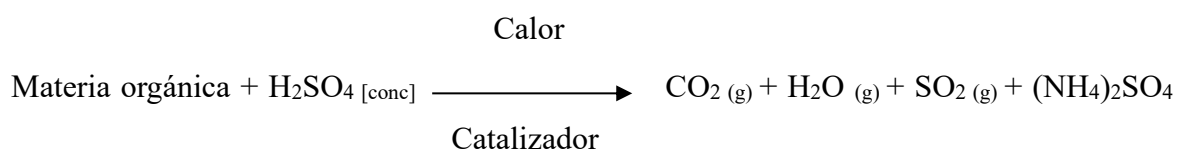
Para la determinación de proteínas en muestras alimentarias se utiliza el método de referencia universal para la determinación de proteínas totales en alimentos y otros tipos de productos, denominado Método Kjeldahl, cuyo nombre se deriva del danés Johan Kjeldahl, quién desarrolló el método en 1883.

El método de Kjeldahl contempla tres etapas fundamentales, las cuales son: digestión, destilación y valoración.

Digestión:

Se emplea ácido sulfúrico concentrado y sulfato de cobre como catalizador, que con ayuda de calor y sulfato de potasio oxidan la materia orgánica hasta CO₂ y agua y transforman todo el nitrógeno amínico (NH₂) e imínico (NH=NH) provenientes de proteínas y aminoácidos en el ion amonio (NH₄⁺).

La reacción general que tiene lugar es la siguiente:

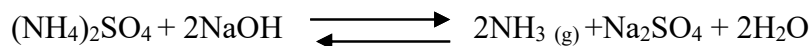


Varios catalizadores han sido empleados, entre ellos: mercurio, cobre y selenio.

Cuando la digestión termina, la disolución queda transparente, libre de partículas carbonosas. En el caso de haber empleado como catalizador el sulfato de cobre, la disolución toma un color azul verdoso.

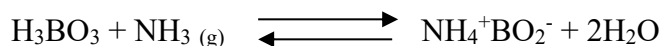
Destilación: En la muestra digerida se trata con un álcali (NaOH 40% m/v) añadido en exceso, el cual reacciona descomponiendo el sulfato de amonio en amoníaco, que es volátil y se destila por arrastre con vapor.

La reacción que tiene lugar es la siguiente:



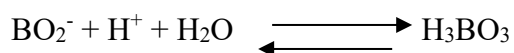
El amoníaco destilado se recoge en un erlenmeyer con una mezcla de indicadores (bromocresol verde-rojo de metilo) y disolución alcohólica de ácido bórico.

La reacción que ocurre es:



Valoración:

El borato de amonio formado se valora entonces utilizando como patrón valorante una disolución estandarizada de ácido clorhídrico, según:



El punto final de la valoración estará a pH ácido, por la presencia de ácido bórico finalmente formado.

El esquema general de las etapas del método clásico de Kjeldahl empleado para la determinación de proteínas se muestra en la Figura 2.

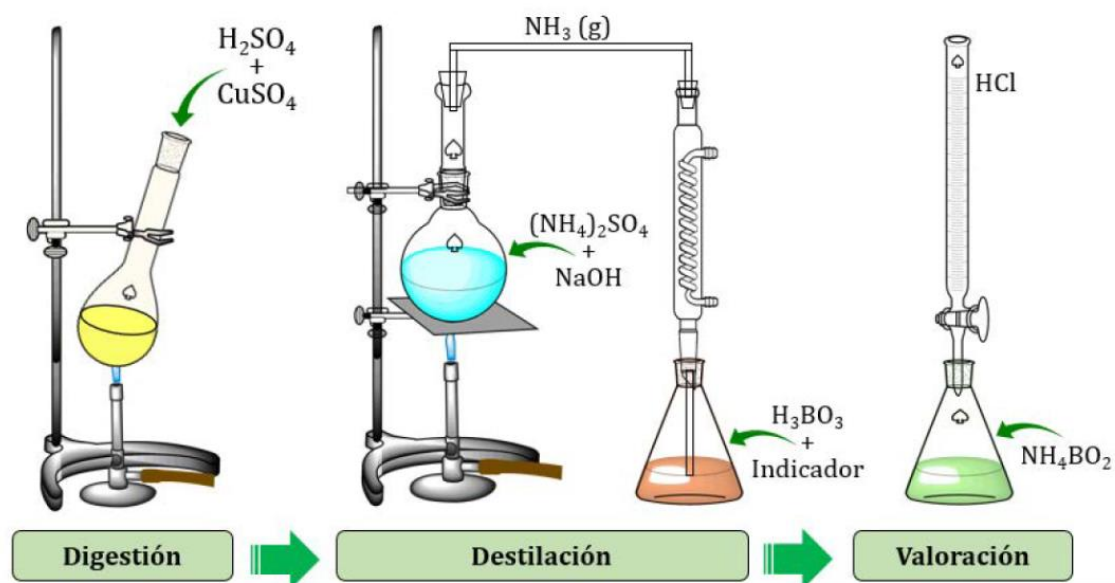


Figura 2. Etapas del método clásico de Kjeldahl ⁹

El contenido de nitrógeno finalmente calculado se multiplica por un factor característico de cada alimento y se obtiene entonces el contenido de proteínas totales.

Los factores de conversión utilizados para algunos alimentos se relacionan a continuación:

Tabla 1. Factores de conversión utilizados en la determinación de proteínas presentes en alimentos⁹

Alimento	Factor de conversión de N a proteínas
Productos cárnicos	6.25
Huevos	6.68
Productos lácteos	6.38
Soya	6.00
Cereales	5.95

Los factores de conversión para cada tipo de alimento han sido estimados a través de la determinación de nitrógeno total a una proteína patrón característica de cada alimento.

Así por ejemplo se ha determinado que las proteínas cárnicas poseen un 16% de nitrógeno. Quiere decir que 100 g de proteínas cárnicas contiene 16 g de nitrógeno.

Entonces:

$$\text{Factor de conversión} = \frac{100}{16} = 6.25$$

De aquí que el factor de conversión de nitrógeno en los productos cárnicos es 6.25.

En la actualidad, el instrumental empleado para la determinación de proteínas por el método Kjeldhal ha evolucionado notablemente y hoy en día existen en el mercado un amplio y diverso grupo de sistemas automatizados (desde la preparación de la muestra hasta la valoración), que permite un funcionamiento sin supervisión y consiguen un elevado rendimiento de muestras.

Debe señalarse que estos modernos sistemas, se basan en las mismas etapas (digestión, destilación y valoración) y emplean básicamente los mismos principios y reactivos que el método tradicional. La diferencia estriba en la exactitud y precisión de los resultados, así como en la velocidad de análisis, lo que permite el procesamiento de un número significativamente mayor de muestras en prácticamente todas las matrices alimentarias.

3.7 Marco normativo para las leches fermentadas ⁷

La norma que regula productos lácteos fermentados está dada por el Codex Alimentarius, específicamente la norma CODEX STAN 243-2003 Norma del Codex para Leches Fermentadas, ver Anexo N°1. Esta norma se aplica a las leches fermentadas y aplica a la Leche Fermentada incluyendo las Leches Fermentadas Tratadas Térmicamente, las Leches Fermentadas Concentradas y los productos lácteos compuestos basados en estos productos, para consumo directo o procesamiento ulterior.

En esta norma se dictan los requerimientos y especificaciones que deben contener las leches fermentadas, incluye el ámbito de aplicación, la descripción, composición esencial y factores de calidad, aditivos alimentarios, contaminantes, higiene, etiquetado, métodos de toma de muestra y análisis.

Para el caso de interés de este trabajo de investigación el cual es la elaboración de una práctica de determinación de proteínas en yogur griego, esta norma dicta la especificación en porcentaje mínimo que debe contener tanto el yogur tradicional (leche fermentada) para el cual establece que debe ser mínimo el 2.7% (m/m) de la composición del producto, mientras que para el yogur griego (leche fermentada concentrada) establece que debe ser mínimo el 5.6% (m/m) de la composición del producto.

3.8 Prácticas de determinaciones analíticas ⁴

Una práctica de determinación analítica es el medio utilizado para llevar a cabo el análisis químico, describe las operaciones implicadas en un método analítico hasta la obtención de un resultado.

Un análisis cuantitativo implica una secuencia de etapas que implican desde la definición del problema planteado hasta la elaboración de un informe y sus conclusiones. En algunos casos, es posible omitir una o más etapas; por ejemplo, si la muestra se encuentra en el estado físico y condiciones adecuadas para ser analizada mediante la técnica seleccionada, es posible que no se requiera ningún tratamiento previo de la misma. A continuación, se detallan cada una de las etapas del proceso analítico:

Definición del problema: En esta primera etapa se plantea el tipo de análisis requerido y la escala de trabajo, convirtiendo así las cuestiones generales en cuestiones específicas que puedan responderse a través de medidas.

Selección del método de análisis: Esta etapa resulta fundamental para el éxito del proceso analítico global, en ocasiones puede ser la etapa más difícil, requiriendo algo de experiencia e intuición. La selección del método de análisis generalmente representa un compromiso entre: exactitud requerida, concentración prevista del analito en la muestra, disponibilidad de tiempo, factor económico, complejidad de la muestra y número de muestras bajo análisis, entre otros factores.

Obtención de la muestra: también llamada toma de muestra o muestreo. Para que la información obtenida sea significativa, es necesario que la muestra tenga la misma composición que el resto del material del que se obtuvo

Tratamiento de las muestras: Son escasos los problemas que se resuelven sin necesidad de tratamiento de la muestra antes de proceder a la medida. Lo habitual, es que la muestra necesite algún tipo de tratamiento, con el fin de: preparar la forma y el tamaño de la muestra, así como la concentración del analito o los analitos en la forma química y concentración, adecuadas para la técnica analítica seleccionada y/o eliminar interferentes de la matriz de la muestra.

- Proceso de medida: Todos los resultados analíticos dependen de la medida final de una propiedad física o química del analito. Las valoraciones o titulaciones se encuentran entre los métodos analíticos más precisos. En una valoración, el analito reacciona con un reactivo estandarizado mediante una reacción de estequiometría conocida. La cantidad de reactivo estandarizado necesario para alcanzar la condición de equivalencia se relaciona con la cantidad de analito presente. Por tanto, la valoración es un tipo de comparación química.

- Evaluación de los resultados y conclusiones: Los resultados analíticos están incompletos sin una estimación de su fiabilidad. Por tanto, si pretendemos que los resultados tengan valor, debe proporcionarse alguna medición de la incertidumbre relacionada con los cálculos obtenidos. Además, el informe final no sólo debe plasmar los resultados obtenidos sino también las limitaciones concretas del método de análisis empleado. En cualquier caso, éste puede ir dirigido a un especialista o para el público en general, de modo que será necesario asegurarse de que es apropiado para el destinatario previsto. Una vez escrito el informe, el analista puede o no estar implicado en el uso de su información. Como mínimo el analista tiene la responsabilidad de asegurar que las conclusiones que se extraigan de sus datos sean coherentes con los mismos.

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL

Como parte de las actividades del Diplomado de especialización Análisis Químico de Alimentos, se elaboró una práctica de determinación analítica de proteínas en muestra de yogur griego elaborado en El Salvador.

La práctica de laboratorio está compuesta de una introducción, objetivos de la práctica, método de análisis y fundamento, una breve información de la muestra, reactivos, materiales y equipo, tratamiento y conservación de la muestra, procedimiento de la determinación, normativa y cálculos relacionados.

A continuación, se presenta la práctica de determinación analítica para la matriz alimentaria seleccionada.

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA EN YOGUR TIPO GRIEGO FABRICADO EN EL SALVADOR

1. INTRODUCCIÓN

Las proteínas son complejos de peso molecular elevado, formados aproximadamente por 20 aminoácidos naturales que constituyen sus unidades elementales y están unidas entre sí por enlaces peptídicos. A partir de la unión de dos o más aminoácidos a través de un enlace peptídico, surgen los péptidos y las proteínas. Desde el punto de vista funcional, las proteínas son importantes porque se encuentran desempeñando diversos papeles fundamentales en los alimentos.

En esta práctica se verifica la proteína presente en muestra de yogur tipo griego fabricado en El Salvador usando el método de análisis Kjeldahl, el cual se fundamenta en tres etapas las cuales son: digestión, destilación y valoración.

Por lo general se determina más frecuentemente la proteína total que las proteínas o aminoácidos individuales y puesto que el nitrógeno representa en la mayoría de las sustancias proteicas un porcentaje relativamente constante, alrededor del 16%, su determinación sirve como una medida del contenido proteico en los alimentos.

2. OBJETIVOS

- Determinar el contenido proteico en muestras de yogur tipo griego fabricado en El Salvador utilizando el método de Kjeldahl para determinación de proteínas.
- Analizar los resultados comparándolos con los criterios de aceptación establecidos en la Normativa del Codex Alimentarius para leches fermentadas.

3. MÉTODO DE ANÁLISIS Y FUNDAMENTO.

El nitrógeno es el elemento químico más sobresaliente que se encuentra en las proteínas y a pesar de que no todo el nitrógeno de la materia orgánica proviene necesariamente de las proteínas, los métodos de determinación de proteínas totales usados hoy en día se fundamentan en la cuantificación del nitrógeno total.

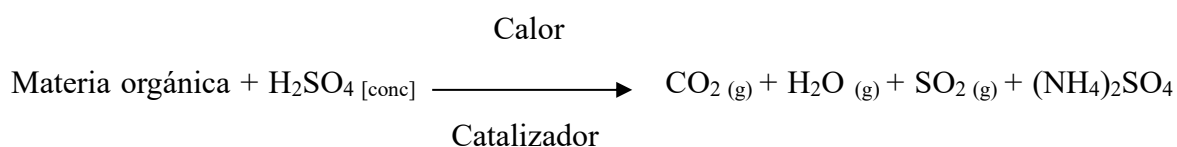
Para la determinación de proteínas en muestras de yogur tipo griego se utilizará el método de referencia universal para la determinación de proteínas totales en alimentos y otros tipos de productos, denominado Método Kjeldahl, cuyo nombre se deriva del danés Johan Kjeldahl, quién desarrolló el método en 1883.

El método de Kjeldahl contempla tres etapas fundamentales, las cuales son: digestión, destilación y valoración.

Digestión:

Se emplea ácido sulfúrico concentrado y sulfato de cobre como catalizador, que con ayuda de calor y sulfato de potasio oxidan la materia orgánica hasta CO_2 y agua y transforman todo el nitrógeno amínico (NH_2) e imínico ($\text{NH}=\text{NH}$) provenientes de proteínas y aminoácidos en el ion amonio (NH_4^+)

La reacción general que tiene lugar es la siguiente:



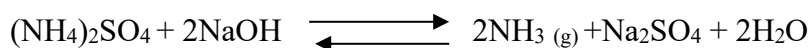
Varios catalizadores han sido empleados, entre ellos: mercurio, cobre y selenio.

Cuando la digestión termina, la disolución queda transparente, libre de partículas carbonosas. En el caso de haber empleado como catalizador el sulfato de cobre, la disolución toma un color azul verdoso.

Destilación:

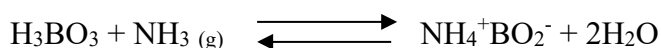
En la muestra digerida se trata con un álcali (NaOH 40% m/v) añadido en exceso, el cual reacciona descomponiendo el sulfato de amonio en amoníaco, que es volátil y se destila por arrastre con vapor.

La reacción que tiene lugar es la siguiente:



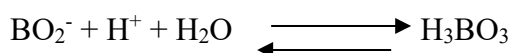
El amoníaco destilado se recoge en un erlenmeyer con una mezcla de indicadores (bromocresol verde-rojo de metilo) y disolución alcohólica de ácido bórico.

La reacción que ocurre es:



Valoración:

El borato de amonio formado se valora entonces utilizando como patrón valorante una disolución estandarizada de ácido clorhídrico, según



El punto final de la valoración estará a pH ácido, por la presencia de ácido bórico finalmente formado.

El contenido de nitrógeno finalmente calculado se multiplica por un factor característico de cada alimento y se obtiene entonces el contenido de proteínas totales. Para el caso de productos lácteos, el cual es el de interés en la presente práctica, es de 6.38.

En la actualidad, existen modernos equipos que permiten la determinación del contenido de nitrógeno total en muestras alimenticias, los cuales siguen las mismas tres etapas del método descritas anteriormente, sin embargo, permiten un análisis mucho más rápido, y resultados más exactos y precisos. En esta práctica, se describe el procedimiento a seguir para la determinación de proteínas en alimentos, haciendo uso de estos modernos sistemas.

4. INFORMACIÓN GENERAL DE LA MUESTRA.

La muestra de interés para la determinación es el yogur tipo griego natural fabricado en El Salvador, el cual se puede observar en la Figura N°1.

En la información nutricional del producto que se muestra en la Figura N°2, se observa que el yogur contiene 12 gramos de proteínas por cada 150 gramos de producto, lo que equivale al 8% m/m de la composición total del producto.



Figura N°3. Yogur griego fabricado en El Salvador ¹

Datos Nutricionales		
Porciones por envase 1		
Tamaño de porción 150 g		
Contenido Energético		544 KJ
Calorías	130	
* % de Valor Diario (VD)		
Grasa Total	3 g	5%
Grasa Saturada	1.5 g	8%
Colesterol	15 mg	5%
Sodio	80mg	3%
Carbohidratos Totales	13 g	4%
Fibra Dietética	0 g	0%
Azúcares Totales	12 g	
Incluye 0g de Azúcares Añadidos		0%
Proteínas	12 g	
Vitamina A		2%
Vitamina C		0%
Calcio		20%
Hierro		0%
*Los porcentajes de Valores Diarios (VD) están basados en una dieta de 2,000 calorías. Referencia FAO/OMS.		

Figura N°4. Información nutricional del producto ¹

5. REACTIVOS

- NaOH 50% m/v
- Solución indicadora: rojo de metilo y bromocresol verde.
- Solución de ácido clorhídrico 0.1N estandarizada
- Ácido bórico 4% m/v
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Sulfato de potasio
- Sulfato de cobre

6. MATERIALES Y EQUIPOS

- 4 Erlenmeyer de 125 mL
- Balanza analítica
- Espátula
- Pipeta de 10 mL
- 1 Beaker de 100 mL
- 1 Bureta de 25 mL
- 1 Probeta de 50ml
- 1 equipo de destilación de nitrógeno (para determinación de proteínas)
- 1 bloque digestor (para determinación de proteínas)

7. TRATAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS DE YOGUR

Antes de tomar las porciones para el análisis, llevar la muestra a aproximadamente 20 °C y mezclar por trasvase a otro recipiente limpio, repitiendo la operación hasta asegurar una muestra homogénea. Si no han desaparecido los grumos del yogur, calentar la muestra en baño de agua hasta casi 38°C, mezclar y luego enfriar a 15-20 °C.

8. PROCEDIMIENTO DE PRÁCTICA DE DETERMINACIÓN.

Como se ha mencionado anteriormente, el método de Kjeldahl se divide en tres etapas: Digestión, destilación y titulación, las cuales se describen a continuación.

Digestión:

1. Pesar 5 g de yogurt ya homogenizado en balanza analítica, como se describe en el numeral 7 de la práctica.
2. Colocar la muestra pesada y homogenizada en un tubo de borosilicato y agregar 20 mL de ácido sulfúrico concentrando.
3. Adicionar al mismo tubo, 0.5 g de sulfato de cobre, como catalizador, 10 g de sulfato de potasio, este último tiene como función elevar el punto de ebullición del ácido sulfúrico, ya que en la digestión se alcanzan temperaturas de hasta 400°C.
4. Colocar la mezcla preparada en el bloque digestor a una temperatura de 400°C, para empezar con el proceso de digestión.
5. Observar cuando la muestra oscura se transforme a una solución traslúcida, normalmente, verde claro, debido al sulfato de cobre añadido. En este momento, la digestión a finalizado.
6. En la figura 5, se muestra el equipo bloque digestor utilizado para la digestión de las muestras, al cual a su vez puede adaptarse un quipo neutralizador de gases.



Figura N°5. Equipo bloque digestor modelo TE-040/025 con dispositivo neutralizador de gases ⁴

Destilación:

1. Después de la digestión de la muestra, la solución de sulfato de amonio obtenida en el tubo debe enfriarse a temperatura ambiente.
2. Posteriormente llevarla al destilador de nitrógeno.
3. Previamente colocar un Erlenmeyer de 125 mL en la salida del condensador del equipo destilador y agregarle 50 mL de ácido bórico al 4% y unas gotas de solución indicadora.
4. Colocar el tubo de borosilicato que contiene el sulfato de amonio obtenido en la etapa de digestión, en el destilador donde se le deberá agregar 50 mL de hidróxido de sodio 50% para la neutralización.
5. El sulfato de amonio en contacto con el hidróxido de sodio y el vapor de agua de la caldera del equipo es transformado en amoníaco y libreado en estado gaseoso.
6. El amoníaco liberado pasa por el sistema de destilación del equipo y condensado en el erlenmeyer preparado anteriormente con ácido bórico y solución indicadora.
7. Observar cuando la muestra obtenida en el Erlenmeyer cambie la coloración que pasa de rojo pálido a verde. De esta forma se finaliza la destilación de la muestra.



Figura N°6. Equipo Destilador de Nitrógeno modelo TE-0364 ⁴

Titulación

1. Preparar una bureta colocando solución estandarizada de ácido clorhídrico 0.1 N.
2. Titular la muestra de borato de amonio que fue formada en la destilación.
3. Observar el cambio de color del destilado hasta obtener una solución incolora/ gris, en este momento finaliza la titulación.

Realizar los pasos de las tres etapas descritas anteriormente para un ensayo en blanco, sustituyendo la muestra por agua. Registrar el volumen gastado en la titulación para el ensayo en blanco.

4. CÁLCULOS INVOLUCRADOS

La fórmula para calcular el porcentaje (%) Nitrógeno en las muestras es la siguiente:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V_M - V_B) \times c (\text{HCl}/1) \times 14 \times 100}{1000 \times m (M)}$$

Donde:

- V_M son los mL de HCl consumidos en la valoración de la muestra.
- V_B son los mL de HCl consumidos en la valoración del ensayo en blanco.
- $c (\text{HCl}/1)$ es la normalidad o concentración molar del equivalente de la disolución de HCl
- 14 es la masa molar del equivalente de nitrógeno, expresada en g/mol
- $m (M)$ es la masa en gramos de la porción de ensayo pesada para el análisis.

La diferencia máxima entre dos determinaciones repetidas de no debe sobrepasar el 0.005% de nitrógeno.

Para expresar el contenido de proteínas analizada es necesario multiplicar la cantidad de nitrógeno total obtenida en las muestras de yogur según el método descrito, por un factor de conversión que es propio de cada alimento, en este caso, para productos lácteos es 6.38.

5. NORMATIVAS NACIONALES O INTERNACIONALES RELACIONADAS.

La normativa aplicable para el análisis de los resultados es la establecida en el Codex Alimentarius para Leche y Productos Lácteos, específicamente la Norma del Codex para Leches Fermentadas (CODEX STAN 243-2003), la cual especifica que las leches fermentadas concentradas, categoría en la que se ubica el yogur griego, son productos cuya proteína ha sido aumentada antes o luego de la fermentación a un mínimo del 5.6 %.

Por lo que las muestras analizadas deben poseer como mínimo 5.6% de proteínas, para poder categorizarse como un producto de este tipo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Lactolac. [Internet]. Disponible en: <https://www.yogurtyes.com/shop/product/natural-sin-azucar-155?category=3>
2. Manual de Análisis de Alimentos. Facultad de Química Farmacéutica Biológica. Universidad Veracruzana. Xalapa, Tesis de grado.
3. OMS/FAO. (2011). Codex Alimentarius para Leche y Productos Lácteos. 2da Ed.
4. Tecnal. Las etapas de digestión, destilación y titulación componen el método tradicional de determinación de nitrógeno [Internet]. Tecnal. Disponible en: https://tecnal.com.br/es/blog/86_las_etapas_de_digestion_destilacion_y_titulacion_componen_el_metodo_tradicional_de_determinacion_de_nitrogeno
5. Zumbado Fernández, H. (2022). Análisis Químico de los Alimentos: (2 ed.). Ciudad Educativa.

CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. En la actualidad, existen equipos modernos que permiten la determinación de proteínas en matrices alimentarias en sustitución del instrumental clásico del método de Kjeldahl, los cuales llevan a cabo las mismas etapas del método: digestión, destilación y titulación, que brindan resultados precisos y confiables en menor tiempo, lo que se traduce en mejoras considerables en la productividad y eficiencia del método.
2. El método de obtención, el tratamiento y método de conservación de las muestras a analizar son de mucha importancia en la práctica de determinación analítica, ya que nos brindan información específica para la matriz alimentaria en estudio, lo que permite que el desarrollo del análisis sea efectivo.
3. El método de análisis Kjeldahl es el método de referencia universal para la determinación de proteínas en alimentos, por lo que es adecuado para la determinación de proteínas en muestras de yogur tipo griego fabricado en el país, y los resultados que se obtengan al poner en práctica la determinación planteada deben cumplir con lo establecido en la normativa del Codex Alimentarius para leches fermentadas que establece que debe ser mínimo el 5.6% (m/m) de la composición del producto.

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

1. A investigadores y analistas de alimentos tener presente la importancia de la verificación de los equipos utilizados para la determinación de proteína en las muestras que se encuentren calibrados con el fin de obtener resultados confiables.
2. A futuros investigadores para el desarrollo e implementación de determinaciones analíticas para alimentos fabricados en el país, tomar en cuenta el tipo de método y normativa específica para cada matriz alimentaria, con el fin de asegurar la calidad de estos productos a los consumidores.
3. A los estudiantes de Licenciatura en Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, que puedan avocarse a industrias que cuenten con la instrumentación moderna de análisis requerida, les sirva esta práctica elaborada como base para la evaluación de diferentes muestras de yogur griego comercializadas en el país, los resultados deberán ser interpretados de acuerdo con la normativa del Códex Alimentarius para leches fermentadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arriaga A., Guzmán A., Morales A., Olivares B., Ramírez-Moreno E., Ortega-Ariza J. Evaluación de la información nutricional del etiquetado del yogurt natural y griego. Educación y Salud Boletín Científico de Ciencias de la Salud del ICSa, [Internet]. 2019. [Consultado 26 enero de 2024]; 14 (28-31). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/333637423_Evaluacion_de_la_informacion_nutritional_del_etiquetado_del_yogurt_natural_y_griego
2. Escalona Jimenez M., García Hernández L., Mérida Ramírez L., Alcano M., Richards N. Yogurt griego vs yogurt tradicional: Comparación fisicoquímica y sensorial. Rev Chil Nutr [Internet]. 2022. [Consultado 22 enero 2024]; 49(1). Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182022000200167
3. Gonzáles-Torres L., Téllez-Valencia A., Sampedro J., Nájera H. Las proteínas en la nutrición. Revista Salud Pública y Nutrición. [Internet] 2007. [Consultado 20 Enero 2024]; 8 (2). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2007/spn072g.pdf>
4. N. Campillo Seva. (2011) Introducción al análisis químico. Análisis Químico. Grado Bioquímica. Universidad de Murcia.
5. Miranda Miranda O., Ramírez Espinosa E., Palma Ponce I. Características fisicoquímicas y propiedades nutricionales del suero resultante del proceso de obtención del yogurt griego. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición [Internet] 2016. [Consultado 22 enero 2024]; 26 (1). Disponible en: <https://revalnutricion.sld.cu/index.php/rcan/article/view/14/12>
6. N. Shah. Yogurt. (2003). The product and its Manufacture. Encyclopedia of Foods Science and Nutrition. Elsevier.
7. OMS/FAO. (2011). Codex Alimentarius para Leche y Productos Lácteos. 2da Ed.
8. Parra Huerta, Ricardo. (2012). Importancia terapéutica y estabilizantes-edulcorantes en la tecnología del yogur. 1era Ed. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

9. Zumbado Fernández, H. (2022). Análisis Químico de los Alimentos. 2da Ed. Ciudad Educativa.

ANEXOS

ANEXO N°1

NORMA DEL CODEX PARA LECHE FERMENTADA, CODEX STAN 243-2003 ⁸

NORMA DEL CODEX PARA LECHE FERMENTADAS

CODEX STAN 243-2003

1. ÁMBITO

Esta norma se aplica a las leches fermentadas, es decir, la Leche Fermentada incluyendo las Leches Fermentadas Tratadas Térmicamente, las Leches Fermentadas Concentradas y los productos lácteos compuestos basados en estos productos, para consumo directo o procesamiento ulterior, de conformidad con las definiciones de la Sección 2 de esta Norma.

2. DESCRIPCIÓN

2.1 La **leche fermentada** es un producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, que puede haber sido elaborado a partir de productos obtenidos de la leche con o sin modificaciones en la composición según las limitaciones de lo dispuesto en la Sección 3.3, 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 serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de duración mínima. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables.

Ciertas leches fermentadas se caracterizan por un cultivo específico (o cultivos específicos) utilizado para la fermentación del siguiente modo:

Yogur:	Cultivos simbióticos de <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <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> subsp. <i>bulgaricus</i> y <i>Kluyveromyces marxianus</i> .

Podrán agregarse otros microorganismos aparte de los que constituyen el cultivo específico (o los cultivos específicos) especificados anteriormente.

2.2 **Leche fermentada concentrada** 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, Ymer e Ylette.

2.3 Las **leches fermentadas aromatizadas** son productos lácteos compuestos, tal como se define en la Sección 2.3 de la *Norma General para la Utilización de Términos Lácteos* (CODEX STAN 206-1999) que contienen un máximo del 50 % (w/w) de ingredientes no lácteos (tales como carbohidratos nutricionales y no nutricionales, frutas y verduras así como jugos, purés, pastas, preparados y conservadores derivados de los mismos, cereales, miel, chocolate, frutos secos, café, especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inoos) y/o sabores. Los ingredientes no lácteos pueden ser añadidos antes o luego de la fermentación.

2.4 Las **bebidas a base de leche fermentada** son productos lácteos compuestos, según se definen en la Sección 2.3 de la *Norma General para el Uso de Términos Lecheros* (CODEX STAN 206-1999), obtenidas mediante la mezcla de Leche Fermentada, según se describen en la Sección 2.1, con agua potable, con o sin el agregado de otros ingredientes tales como suero, otros ingredientes no lácteos, y aromatizantes. Las bebidas a base de leche fermentada tienen un contenido mínimo de leche fermentada del 40% (m/m).

Se podrían agregar otros microorganismos al margen de los que constituyen los cultivos de microorganismos inoos.

3. COMPOSICIÓN ESENCIAL Y FACTORES DE CALIDAD

3.1 Materias primas

- Leche y/o productos obtenidos a partir de la leche.
- Agua potable para usar en la reconstitución o recombinación.

3.2 Ingredientes permitidos

- Cultivos de microorganismos inoos incluyendo los especificados en la Sección 2;
- Otros microorganismos aptos e inoos (*para productos incluidos en la Sección 2.4*);
- Cloruro de Sodio; y
- Ingredientes no lácteos tal como se listan en la Sección 2.3 (Leches Fermentadas Aromatizadas);
- Agua potable (*para los productos incluidos en la Sección 2.4*);
- Leche y productos lácteos (*para los productos incluidos en la Sección 2.4*);
- Gelatina y almidón en:
 - leches fermentadas tratadas térmicamente luego de la fermentación;
 - leche fermentada aromatizada;
 - bebidas a base de leche fermentada; y
 - leches fermentadas simples si lo permite la legislación nacional del país de venta al consumidor final;

siempre y cuando se agreguen solamente en cantidades funcionalmente necesarias de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación, y tomando en cuenta todo uso de estabilizantes/espesantes listados en la sección 4. Estas substancias podrán añadirse antes o después del agregado de los ingredientes no lácteos.