

EFECTO DEL ALMIDÓN FÍSICAMENTE MODIFICADO SOBRE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS, MICROESTRUCTURALES Y SENSORIALES DE YOGURES CON CAPACIDAD SACIANTE

Álvaro Chapa Navarro, María Isabel Hernando Hernando¹ y Susana Fiszman Dal Santo²

RESUMEN

La obesidad es un problema global; una estrategia para combatirla busca formular alimentos saciantes para reducir la sensación de hambre y la ingesta. Las proteínas son el macronutriente con mayor potencial saciante. Se formularon yogures desnatados aumentando el contenido proteico por adición de leche o aislado de proteína de suero con almidón físicamente modificado, para evaluar su efecto sobre las propiedades reológicas y microestructurales (antes y después de la digestión oral *in vitro*) y aspectos sensoriales mediante Flash Profile. El almidón aumentó el umbral de fluencia, siempre con valores menores tras la digestión, considerando la misma muestra por el efecto dilución de la saliva. Los valores de índices de consistencia siguieron el mismo patrón para la mayoría de muestras. Todas las muestras con almidón presentaron valores menores de $\tan \delta$ y, en general, valores mayores de G' y G'' , que la misma formulación sin almidón indicando un aumento del carácter sólido. Los valores de G' y G'' tras la digestión oral fueron menores debido también al efecto de la saliva artificial. El análisis microestructural mostró los gránulos de almidón embebidos en las redes proteicas tanto antes como después de la digestión oral así como entramado más denso en los yogures con doble leche y doble proteína. Tras la digestión oral los gránulos no parecieron afectarse. Las muestras con almidón se percibieron como más consistentes y saciantes que las de igual composición pero sin almidón.

L'obesitat és un problema global; una estratègia per combatre-la recerca formular aliments saciants per reduir la sensació de gana i la ingesta. Les proteïnes són el macronutrient amb major potencial saciant. Es van formular iogurts desnatats augmentant el contingut proteic per addició de llet o aïllat de proteïna de sèrum amb midó físicament modificat, per avaluar el seu efecte sobre les propietats reològiques i microestructurals (abans i després de la digestió oral *in vitro*) i aspectes sensorials mitjançant Flash Profile. El midó va augmentar el llindar de fluència, sempre amb valors menors després de la digestió, considerant la mateixa mostra per l'efecte dilució de la saliva.

¹ Universitat Politècnica de Valencia, departament de Tecnologia de Aliments

² Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC)

Els valors d'índexs de consistència van seguir el mateix patró per a la majoria de mostres. Totes les mostres amb midó van presentar valors menors de $\tan \delta$ i, en general, valors majors de G' i G'' , que aquesta formulació sense midó indicant un augment del caràcter sòlid. Els valors de G' i G'' després de la digestió oral són menors a causa també de l'efecte de la saliva artificial. L'anàlisi microestructural mostra els grànuls de midó embeguts en les xarxes proteiques tant abans com després de la digestió oral així com un entramat més dens en els iogurts amb doble llet i doble proteïna. Després de la digestió oral els grànuls no van semblar afectar-se. Les mostres amb midó es van percebre com més consistents i saciants que les d'igual composició però sense midó.

Obesity is a global problem; a strategy to combat it seeks to formulate satiating foods to reduce hunger and food intake. Proteins are the macronutrient with most satiating potential. Skimmed yoghurt were formulated by increasing the protein content by the addition of milk or whey protein isolate with physically modified starch, to assess their effect on the rheological properties and microstructure (before and after *in vitro* oral digestion) and sensory aspects by Flash Profile. The starch increased the yield stress, always with lower values after digestion, given the same sample by the dilution effect of the saliva. The consistency index values followed the same pattern for most samples. All samples with starch presented lower $\tan \delta$ values and generally higher values of G' and G'' , than the same formulation without starch indicating increased solid character. The values of G' and G'' after oral digestion are also lower because of the effect of the artificial saliva. Microstructural analysis shows starch granules embedded in the protein network, both before and after oral digestion and more dense network in yoghurts with double milk and double protein. Following oral digestion granules appeared to be unaffected. The starch samples were perceived as more consistent and satiating than those of the same composition but without starch.

PALABRAS CLAVE: yogur, saciedad, digestión oral, propiedades reológicas, microestructura.

INTRODUCCIÓN

Actualmente la obesidad es uno de los principales problemas a los que se enfrenta la sociedad, y cuya incidencia ha aumentado en todo el mundo (Kopelman, 2000). La obesidad es consecuencia de la alteración en el equilibrio entre la energía que se ingiere y la que se gasta (Paddon-Jones et al., 2008). Un cambio en el estilo de vida y una mejora en la dieta podría ser la mejor estrategia para abordar dicha problemática. La formulación de

alimentos saciantes aporta soluciones de modo indirecto, evitando “picar” entre horas alimentos con alto contenido calórico. Los alimentos saciantes provocan una reducción en la sensación de hambre durante cierto tiempo o reduce la cantidad de alimentos ingeridos, ayudando así a disminuir la cantidad de energía consumida (Fizman y Varela, 2013).

Las proteínas son el macronutriente con mayor potencial saciante (Van Kleef et al., 2012; Astrup, 2005). Diversas hipótesis explican su efecto; la más actual sugiere una relación con la concentración en aminoácidos en sangre (Veldhorst et al., 2008).

Los productos lácteos han mostrado inducir saciedad y reducir la ingesta de alimentos (Dove et al., 2009). Las proteínas del suero y la caseína representan aproximadamente el 80 y el 20% de las proteínas lácteas respectivamente (Luhovyy et al., 2007). El yogur es un producto obtenido por fermentación láctica de la leche mediante diferentes bacterias como *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Estas bacterias convierten la lactosa en ácido láctico; la caseína de la leche coagula a los bajos valores de pH que se crean y forma un gel firme compuesto por micelas unidas mediante puentes de hidrógeno. Este gel constituye una matriz en la que quedan embebidas las proteínas del suero. La estructura del yogur sería el resultado de la unión entre la κ -caseína y las proteínas séricas desnaturalizadas por medio de puentes disulfuro así como de la agregación de las caseínas a medida que el pH disminuye durante el proceso fermentativo y alcanzan su punto isoéctrico (Damin et al., 2009).

La aparición de signos de saciedad está modulada por una serie de factores. McCrickerd et al. (2012) sugieren que una mayor duración o intensidad en la exposición orosensorial de los alimentos contribuiría a incrementar la saciedad. En este sentido, los alimentos líquidos presentarían un menor poder saciante que los sólidos (Hogenkamp y Schiöth, 2013).

La cremosidad y la viscosidad son atributos relacionados con la textura que pueden potenciar la capacidad saciante (Morell et al., 2014). Los hidrocoloides, y particularmente los almidones aportan estos atributos. Su carácter cremoso, podría relacionarse con la reducción de la astringencia, que es un factor negativo de la percepción de lácteos ácidos, y que fue descrita por Lee y Lawless (1991) como un complejo conjunto de sensaciones que implica sequedad, rugosidad de las superficies orales, y la tensión, perfilamiento o arrugamiento de la mucosa y músculos de alrededor de la boca. La astringencia se considera una sensación táctil y desempeña un papel crítico en la percepción del sabor (Lawless y Heymann, 1998).

El almidón es un polisacárido granular con forma, tamaño y composición característicos, constituido por la amilosa y la amilopectina. Al calentarse en presencia de agua, el gránulo se hincha, aportando viscosidad, y libera sus componentes que aportan sus propiedades a la pasta formada (viscosidad, textura, retención de agua, etc.). Los almidones nativos presentan numerosas desventajas para aplicaciones alimentarias: insolubilidad en agua fría, y pérdida de viscosidad y poder espesante tras la cocción y procesado. Además, suelen presentar retrogradación (aparición de una estructura ordenada después de gelatinizado), con aparición de sinéresis. La industria ha logrado modificar ciertos almidones obteniendo mejoras en sus propiedades, disminuyendo sus limitaciones. Se ha aumentado la resistencia a los tratamientos térmicos, la capacidad de retención de agua, el poder espesante, y se ha minimizado la sinéresis (Miyazaki et al., 2006). La modificación de almidones se consigue con métodos químicos o físicos.

La modificación química consiste en la modificación de ciertos grupos hidróxido de la glucosa, principalmente en zonas amorfas o próximas a la superficie del gránulo, sin modificar su estructura granular. La modificación física de los almidones permite mejorar la solubilidad en agua y cambiar el tamaño de partícula mediante tratamiento de los gránulos nativos con diferentes combinaciones de calor-humedad, presión, cizallamiento, irradiación, o desgaste mecánico para alterar el tamaño de los gránulos.

Los tratamientos de calor-humedad (*heat-moisture*) y cocción lenta (*annealing*) inducen la migración rápida o reordenamiento de las moléculas de amilosa en los gránulos, formándose enlaces intermoleculares en la amilosa o entre amilosa y amilopectina. El tratamiento *heat-moisture* normalmente aumenta la temperatura de gelatinización, amplía su rango, y disminuye el poder de hinchamiento. Por su parte el *annealing* modifica las propiedades fisicoquímicas del almidón sin destruir la estructura del gránulo, elevando la temperatura de gelatinización y concentrando su intervalo. El efecto de este tratamiento sobre la viscosidad es complejo.

La modificación por extrusión comprende varias operaciones unitarias como el mezclado, el amasado, la refrigeración o el calentamiento, entre otras. Básicamente el material se comprime hasta formar una masa semisólida en condiciones controladas y se fuerza a pasar por una abertura restringida a determinada velocidad. La solubilidad y la absorción de agua son las dos principales propiedades tecnofuncionales de estos almidones; además, el grado de retrogradación es menor (Colonna y Mercier, 1989).

Finalmente, los almidones con tamaño de gránulo reducido (diámetro menor de 5 μm) se han utilizado como sustitutos de grasa (Jane et al.,

1992). Se ha desarrollado un método industrial a partir de almidón de maíz, con una etapa de hidrólisis seguida de cizallamiento a alta presión (Chiou et al., 1991). Lucca y Tepper (1994) determinaron que la lengua humana no es capaz de percibir partículas de menos de 3 μm como individuales (aunque también depende de su forma y deformabilidad, entre otros factores) percibiéndose como un líquido cremoso. Por esta razón los almidones de gránulo pequeño, como los glóbulos de grasa, pueden usarse como sustitutos en alimentos formulados (Ma et al., 2006).

MATERIAL Y MÉTODOS

Ingredientes

Los ingredientes utilizados fueron leche desnatada en polvo (Central Lechera Asturiana, Siero, España; proteína 32,5g/100g, hidratos de carbono 54,5g/100g, grasa máximo 1g/100g), almidón físicamente modificado NovationTM Indulge 1720 (Ingredion Incorporated, Chicago, Illinois, EE.UU.), proteína de suero lácteo (Aislado proteico de suero , BestPROTEIN SL, El Prat de Llobregat, España; proteína 90g/100g, hidratos de carbono 0,50g/100g, grasa 0,34g/100g.), fermento láctico (Yogur natural occidental N11091, Genesis Laboratories Ltd., Sofía, Bulgaria), aspartamo y acesulfamo K (EPSA Aditivos Alimentarios, Valencia, España), y agua desionizada.

Preparación de los yogures

Se prepararon seis tipos de yogur: control (C), control con almidón (CS), doble leche (MP), doble leche con almidón (MPS), doble proteína (WP) y doble proteína con almidón (WPS). La leche base para las muestras se preparó con 500 mL de agua desionizada y 50 g de leche en polvo. Para conseguir una concentración doble leche (MP y MPS) que la de los yogures control (C y CS), a la leche base se le incorporaron 50 g de leche en polvo desnatada adicionales. A las muestras con doble proteína (WP y WPS) se les añadió 18,89 g de proteína de suero lácteo. Todas las muestras con almidón se elaboraron con un 2% de almidón.

La leche se pasteurizó en un baño de agua (Precistern, JP Selecta S.A, Abrera, España) durante 30 minutos a una temperatura de 82-85°C. Al finalizar, los vasos se sacaron del baño y en caliente se dispersó el almidón en las muestras correspondientes (CS, MPS y WPS). Los preparados se dejaron enfriar a temperatura ambiente controlando la temperatura

regularmente (termómetro digital, VWR International, Radnor, Pensilvania, EE.UU.), hasta alcanzar los 42-45°C. A esta temperatura (indicada por el fabricante del fermento láctico) se efectuó la inoculación con una concentración de fermento de 0,5 g/100g de leche. Se agregaron los edulcorantes en una proporción de 2:1 (aspartamo:acesulfamo K) y a una concentración total de 0,011g/100g de leche.

Las muestras se introdujeron en yogurteras (YG523, Jata Electro, Abadiano, España) en vasos de 125 mL y se mantuvieron durante 6 horas \pm 15 minutos a una temperatura de $41 \pm 1^\circ\text{C}$, alcanzando valores de pH de 4,2-4,5 (PH BASIC 20, Crison Instruments, S.A., Alella, España). Los yogures se retiraron de las yogurteras, se taparon y almacenaron en nevera a 4-5°C durante 48 horas. Antes de medirse se batieron individualmente con un agitador (RZR 1, Heidolph Instruments GmbH & Co., Schwabach, Alemania) equipado con una varilla agitadora tipo hélice a 280 rpm durante 1 minuto.

Saliva artificial

La saliva artificial se preparó de acuerdo con Mishellany-Dutour *et al.* (2011), con modificaciones. Los componentes fueron bicarbonato sódico (5,208 g/L), fosfato de potasio dibásico trihidratado (1,369 g/L), cloruro de sodio (0,877 g/L), cloruro de potasio (0,477 g/L), cloruro de calcio dihidratado (0,441 g/L), mucina de estómago porcino tipo II (PGM) (Sigma, M2378) (2,16 g/L), α -amilasa de páncreas porcino tipo VI-B (Sigma, A3176) (8,70 g/L (200.000 unidades) y agua doblemente destilada de grado HPLC. Para llevar a cabo la digestión oral *in vitro*, la proporción de saliva y muestra fue de 1:4 en peso (Sanz y Luyten, 2006).

Medidas reológicas

El comportamiento al flujo y las propiedades viscoelásticas se determinaron por triplicado con un reómetro de esfuerzo controlado modelo ARG2 (TA Instruments, New Castle, Delaware, EE.UU.), con geometría de platos serrados paralelos de 40 mm de diámetro y una distancia entre platos de 2 mm. Todos los registros y cálculos posteriores se llevaron a cabo con el programa ARES Software version V5.7.0 (T.A. Instruments, New Castle, Delaware, EE.UU.). Las medidas se realizaron a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ (baño de agua circulante F30-C (Julabo GmbH, Seelbach, Alemania). Antes de cada medida las muestras se mantuvieron durante 5 minutos en la célula del reómetro para equilibrarlas a la temperatura adecuada.

Para estudiar la reología tras la simulación del proceso de digestión oral *in vitro*, la muestra se mezcló con la saliva en un vaso de precipitados mediante una cucharilla e inmediatamente después se iniciaron los ensayos.

COMPORTAMIENTO AL FLUJO

Se registraron los valores del esfuerzo de cizallamiento al someter la muestra a velocidades de cizallamiento de 0 a 200 s⁻¹ durante 60 s y en la secuencia inversa para el mismo tiempo. La diferencia entre el área bajo la curva superior e inferior permite obtener el área tixotrópica en Pa·s:

$$A_{\text{tixotrópica}} = A_{\text{arriba}} - A_{\text{abajo}} \quad (\text{ecuación 1})$$

donde: $A_{\text{tixotrópica}}$ = área tixotrópica (Pa·s); A_{arriba} = área bajo la curva superior (Pa·s); A_{abajo} = área bajo la curva inferior (Pa·s).

Los datos experimentales de la curva superior se ajustaron al modelo de Herschel Bulkley (ecuación 2):

$$\sigma = \sigma_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (\text{ecuación 2})$$

σ = tensión de cizallamiento (Pa); σ_0 = umbral de fluencia (Pa); K = índice de consistencia (Pa·sⁿ); $\dot{\gamma}$ = velocidad de cizallamiento (s⁻¹); n = índice de flujo.

PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS

Se halló la región viscoelástica lineal mediante barridos de esfuerzo (0,01-100 Pa) a 1 Hz. Posteriormente, se realizaron barridos de frecuencia (0,01-10 Hz) y se calcularon los valores del módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdidas (G'') en función de la frecuencia.

Análisis microestructural

Se utilizó un Microscopio Óptico Nikon Eclipse 80i (Nikon, Japón) con el objetivo de 10x/0.45 y 20x/0.75 (Plan Apo, Nikon, Japón). Las muestras (20 µL) se depositaron en el centro de un portaobjetos con 20 µL del agente de tinción y se cubrieron con un portaobjetos. Los agentes de tinción empleados fueron lugol (disolución de trabajo) para teñir los gránulos de almidón (tonos pardos-rosados) y azul de toluidina (0,1%) para teñir las proteínas (azul). Las imágenes se capturaron con una resolución de 1024 x 1024 píxeles mediante el software de microscopio.

Evaluación sensorial

Se utilizó el método de Flash Profile (Delarue y Sieffermann, 2004; Moussaoui y Varela, 2010) que permite obtener descriptores de las muestras para cada consumidor individualmente. El tratamiento conjunto de estos datos permite conocer los atributos que mejor describen cada una de las muestras ensayadas.

Se formó un panel de jueces con 21 participantes adultos con experiencia en análisis sensorial, 16 mujeres y 5 hombres, pertenecientes al Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC) y al departamento de Tecnología de Alimentos de la Universitat Politècnica de València. La evaluación tuvo lugar en dos sesiones en salas de catas, que cumplían con las condiciones de la norma UNE-87-007-79.

A cada juez se le presentaron las seis muestras identificadas con un número aleatorio de tres dígitos y se les dio una hoja de cata. La evaluación se efectuó de manera individual en tres partes (FIGURA 1 y 2): En la primera, cada participante generó descriptores apropiados para describir las diferencias entre las muestras, estableciéndose nueve como el número máximo. En la segunda, se les pidió que ordenaran las seis muestras según sus atributos generados de “poco” a “mucho” sobre una escala no estructurada de 10 centímetros. Por último, se les pidió que calificaran las muestras de acuerdo con su capacidad saciante esperada en una escala similar (de poco a mucho).

Análisis de datos

MEDIDAS REOLÓGICAS

Mediante un análisis de la varianza de los datos de reología se estudió el efecto de la composición sobre los resultados reológicos (Statgraphics Centurion 16.1.15 Statistical Graphics Co., Rockville, Maryland, EE.UU.). Se utilizó el test LSD (Least significant difference) de Fisher para evaluar las diferencias entre medias ($p < 0.05$).

EVALUACIÓN SENSORIAL

Los resultados se volcaron en una matriz de cálculo (FIGURA 3). Para obtener la configuración del espacio sensorial de las formulaciones se efectuó un Análisis Procrusteano Generalizado (GPA). Dicho “mapa” proporcionó la base para la discusión de los resultados sensoriales (Moussaoui y Varela, 2010). Así mismo y con el objetivo de identificar qué atributos generados por los panelistas estaban más relacionados con la capacidad saciante esperada de las muestras se llevó a cabo un análisis multifactorial (MFA) en el que saciedad esperada se utilizó como variable suplementaria (XLSTAT Version 2010.5.01 (Addinsoft SARL, Paris, Francia)).

Instrucciones:

Vas a probar 6 yogures naturales edulcorados. Nos interesa saber cómo las describirías.
Prueba las 6 muestras **COMPARATIVAMENTE**

1º) piensa y anota todas las **CARACTERÍSTICAS SENSORIALES** que las diferencian (atributos)
2º) **ORDENA** las muestras según cada uno de los atributos seleccionados

EJEMPLO - Manzana Verde

1º. Selección de atributos:

-Color verde (cáscara) -Sabor ácido -Olor a manzana -Arenosidad
-Color verde (interior) -Sabor dulce -Dureza
-Cantidad de semillas -Sabor a manzana -Sensación de crujiente

2º. Evaluación por atributos: ORDENACIÓN

- Color verde

Poco Verde 145 721 089 357 247 Muy Verde

HOJA DE CATA

ATRIBUTO 1: Color verde

Poco 145 721 089 357 y 145 247 Mucho

FIGURA 1. Instrucciones discutidas con los panelistas previo a la realización de la evaluación sensorial por el método de Flash Profile.

DESCRIPCIÓN DE LOS YOGURES

Nombre del participante: _____ Fecha: _____

ATRIBUTO 1: _____

POCO ----- MUCHO

ATRIBUTO 2: _____

POCO ----- MUCHO

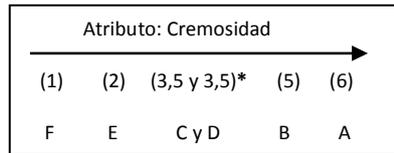
ATRIBUTO 3: _____

POCO ----- MUCHO

Por último, ordena las muestras según su capacidad saciante:

POCO ----- MUCHO

FIGURA 2. Hoja de cata entregada a cada participante.



Muestra	Panelista 1			Panelista 2			Panelista 3		
	AT1 Cremosidad	AT2 Consistencia	...	AT1	AT2	...	AT1	AT2	...
A	6								
B	5								
C	3.5								
D	3.5								
E	2								
F	1								

* Los valores entre paréntesis representan el orden asignado a cada muestra por el panelista para ese atributo. El valor 3,5 correspondería a dos muestras a las que se le asignó el mismo orden muestras C y D; es el promedio entre 3 y 4 $((3+4)/2 = 3,5)$.

FIGURA 3. Recopilación de datos generados por cada panelista y para cada muestra con un ejemplo en el que un panelista asignó el mismo orden a dos muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Medidas reológicas

COMPORTAMIENTO AL FLUJO

Las curvas de flujo de los yogures (FIGURAS 4 A y B) antes y después de la digestión oral in vitro se ajustaron al modelo de Herschel Bulkley; se obtuvieron valores de K (índice de consistencia), de n (índice de flujo), de σ_0 (umbral de fluencia) y n_{50} (viscosidad a 50 s^{-1}) (TABLA 1).

Como podía esperarse, de los pares de muestras con y sin almidón (C/CS, MP/ MPS y WP/ WPS), las curvas correspondientes a muestras con almidón siempre se encuentran por encima de las que no lo contienen, lo que corresponde a muestras más consistentes. Las muestras con doble proteína y doble leche siempre se sitúan por encima de la muestras control sin adiciones; este patrón de comportamiento lo siguen las muestras tanto antes como después de la digestión oral. Sin embargo, los valores de las muestras tras la digestión son más bajos.

Tanto antes como después de la digestión oral *in vitro* todas las muestras presentan un comportamiento pseudoplástico, con un índice de flujo menor que 1. En general, tras la digestión oral *in vitro* se produce una disminución de los valores de todos los parámetros, excepto en el índice de flujo que lógicamente aumenta, tanto para muestras con y sin almidón acercándose al flujo newtoniano; esto se explicaría por el efecto dilución debido al agua que aporta la saliva. El análisis de la microestructura (ver sección Análisis microestructural) indica que no se produjo hidrólisis de los gránulos de almidón por parte de la α -amilasa.

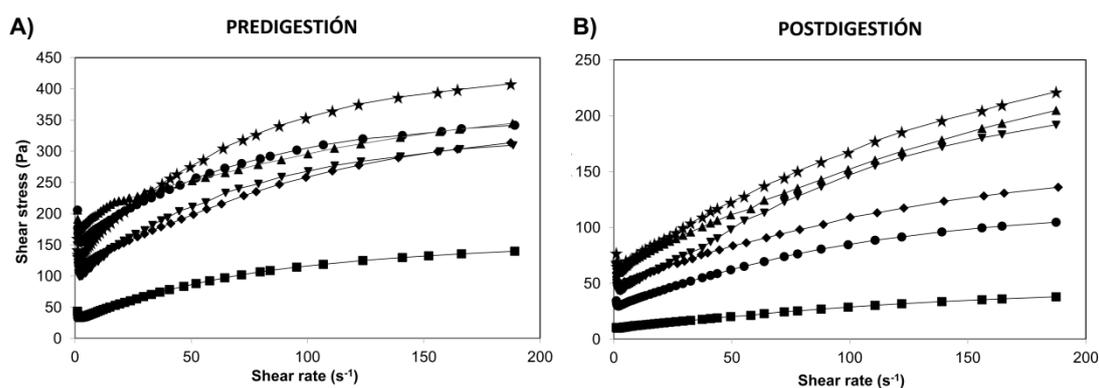


FIGURA 4. Curvas de flujo para las muestras de yogur antes (A) y después (B) de la digestión oral *in vitro*. Control (cuadrados), control con almidón (círculos), doble de leche (rombos), doble de leche con almidón (triángulos), doble de proteína (triángulo invertido), doble de proteína con almidón (estrellas).

Puede observarse que tanto antes como después de la digestión las muestras con almidón presentan valores de umbral de fluencia mayores que los correspondientes a las muestras sin almidón (TABLA 1), siendo estos valores significativamente mayores ($p < 0,05$) prácticamente en todas las muestras, indicando mayor resistencia para comenzar a fluir. Los valores después de la digestión son siempre menores para misma formulación.

La misma pauta siguen los valores del índice de consistencia: las muestras que contienen almidón presentan valores significativamente mayores prácticamente en todos los casos (TABLA 1).

TABLA 1. Valores medios ($n = 3$) y desviación estándar del umbral de fluencia (σ_0), índice de consistencia (K), índice de flujo (n) y viscosidad a 50 s^{-1} (η_{50}) de los yogures antes y después de la digestión oral *in vitro*.

Muestra	Predigestión				Postdigestión			
	σ_0 (Pa)	K (Pa·s)	n	η_{50}	σ_0 (Pa)	K (Pa·s)	n	η_{50}
C	23,21 ^a (3,11)	6,56 ^a (0,75)	0,56 ^a (0,02)	58,0 ^a (2,1)	8,6 ^a (0,3)	0,62 ^a (0,03)	0,74 ^a (0,01)	11,2 ^a (0,2)
CS	170 ^b (35)	11,07 ^b (1,17)	0,56 ^a (0,01)	98,6 ^{bc} (7,7)	24,1 ^b (1,9)	2,45 ^{bc} (0,43)	0,65 ^b (0,01)	31,2 ^b (4,6)
MP	97 ^c (9)	5,65 ^a (0,88)	0,67 ^b (0,04)	79,0 ^{ab} (8,5)	43,1 ^c (2,6)	1,91 ^b (0,24)	0,75 ^a (0,03)	35,8 ^b (1,4)
MPS	188 ^b (48)	11,47 ^b (3,64)	0,56 ^a (0,01)	101,4 ^{bc} (25,6)	57,0 ^d (0,6)	2,44 ^{bc} (0,7)	0,56 ^a (0,04)	48,2 ^c (8,9)
WP	82 ^c (3)	18,23 ^c (4,32)	0,49 ^c (0,03)	123,4 ^c (18,9)	38,9 ^c (3,4)	3,0 ^c (1,0)	0,56 ^a (0,06)	59,3 ^d (5,6)
WPS	90 ^c (22)	24,34 ^d (0,56)	0,49 ^c (0,01)	164,0 ^d (7,8)	57,7 ^d (3,7)	3,4 ^c (0,6)	0,67 ^a (0,03)	67,7 ^d (6,4)

Las letras en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS

En todas las formulaciones los valores de G' se sitúan por encima de los de G'' , tanto antes como después de la digestión oral (FIGURA 5), esto indica que las muestras presentaron un comportamiento de gel débil (Lobato-Calleros et al., 2014). Prácticamente todas las muestras con almidón tanto antes como después de la digestión presentaron curvas por encima de sus parejas sin almidón.

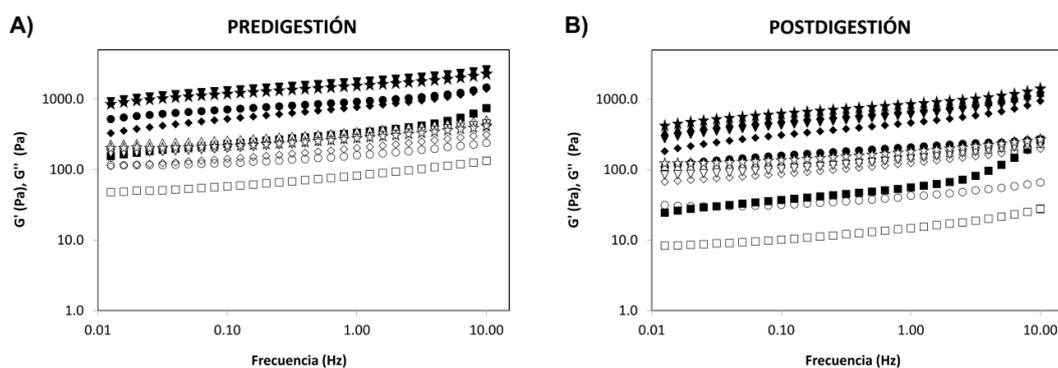


FIGURA 5. Espectros mecánicos de las muestras de yogur antes (A) y después (B) de la digestión oral *in vitro*. Símbolos rellenos representan el módulo de almacenamiento (G'), símbolos vacíos representan el módulo de pérdidas. Véase Figura 4 para código de muestras.

En general todas las muestras con almidón presentan valores de G' y de G'' significativamente superiores ($p < 0,05$) a sus correspondientes formulaciones sin almidón (TABLA 2). Todas las muestras con adición de

almidón presentan valores menores de $\tan \delta$ que su pareja indicando un aumento del carácter sólido (mayor aporte de la componente elástica). Antes de la digestión las muestras control con almidón y doble proteína con almidón presentan valores de $\tan \delta$ significativamente menores ($p < 0,05$) que tras la digestión, indicando un mayor comportamiento elástico. Como ocurría en el comportamiento al flujo, los valores de G' y G'' tras la digestión oral son menores en todos los casos; esta disminución podría explicarse por el efecto de dilución provocado por la saliva artificial.

TABLA 2. Valores medios ($n = 3$) y desviación estándar del módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdidas (G'') y tangente de pérdida ($\tan \delta$) de los yogures antes y después de la digestión oral *in vitro*.

Muestra	Predigestión			Postdigestión		
	G'	G''	$\tan \delta$	G'	G''	$\tan \delta$
C	249 ^a (16)	61,5 ^a (3,8)	0,250 ^a (0,002)	40,2 ^a (9,0)	10,9 ^a (2,3)	0,270 ^a (0,005)
CS	752 ^{bc} (76)	129,8 ^b (9,4)	0,170 ^b (0,005)	168,1 ^b (25,1)	33,1 ^b (4,4)	0,200 ^b (0,004)
MP	566 ^{bc} (128)	151,2 ^b (33,3)	0,270 ^c (0,002)	336,6 ^c (27,8)	92,9 ^c (7,5)	0,280 ^a (0,001)
MPS	1415 ^d (166)	277,4 ^d (33,8)	0,200 ^d (0,001)	559,4 ^d (46,4)	124,2 ^d (9,4)	0,220 ^c (0,001)
WP	943 ^c (74)	212,46 ^c (15,42)	0,230 ^e (0,002)	457,0 ^e (35,6)	107,7 ^e (9,7)	0,240 ^d (0,003)
WPS	1285 ^d (207)	228,0 ^c (33,0)	0,180 ^b (0,009)	677,0 ^f (16,9)	144,4 ^f (5,2)	0,210 ^e (0,006)

Las letras en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Análisis Microestructural

PREDIGESTIÓN

En las muestras control (C), doble de leche (MP) y doble de proteína (WP) se observa (FIGURA 6) una red de proteínas de color azulado, consecuencia del agente de tinción empleado. Pueden observarse zonas algo más densas en el caso de la muestra MP, debido al doble contenido proteico. En el caso de la muestra WP, con adición de proteína de suero lácteo, pueden distinguirse dos redes: una de color grisáceo y de aspecto más granuloso que correspondería a la proteína propia de la leche al igual que la red observada en C y MP; y una red más azulada y de aspecto más fino rodeando a la primera que correspondería a la proteína de suero lácteo.

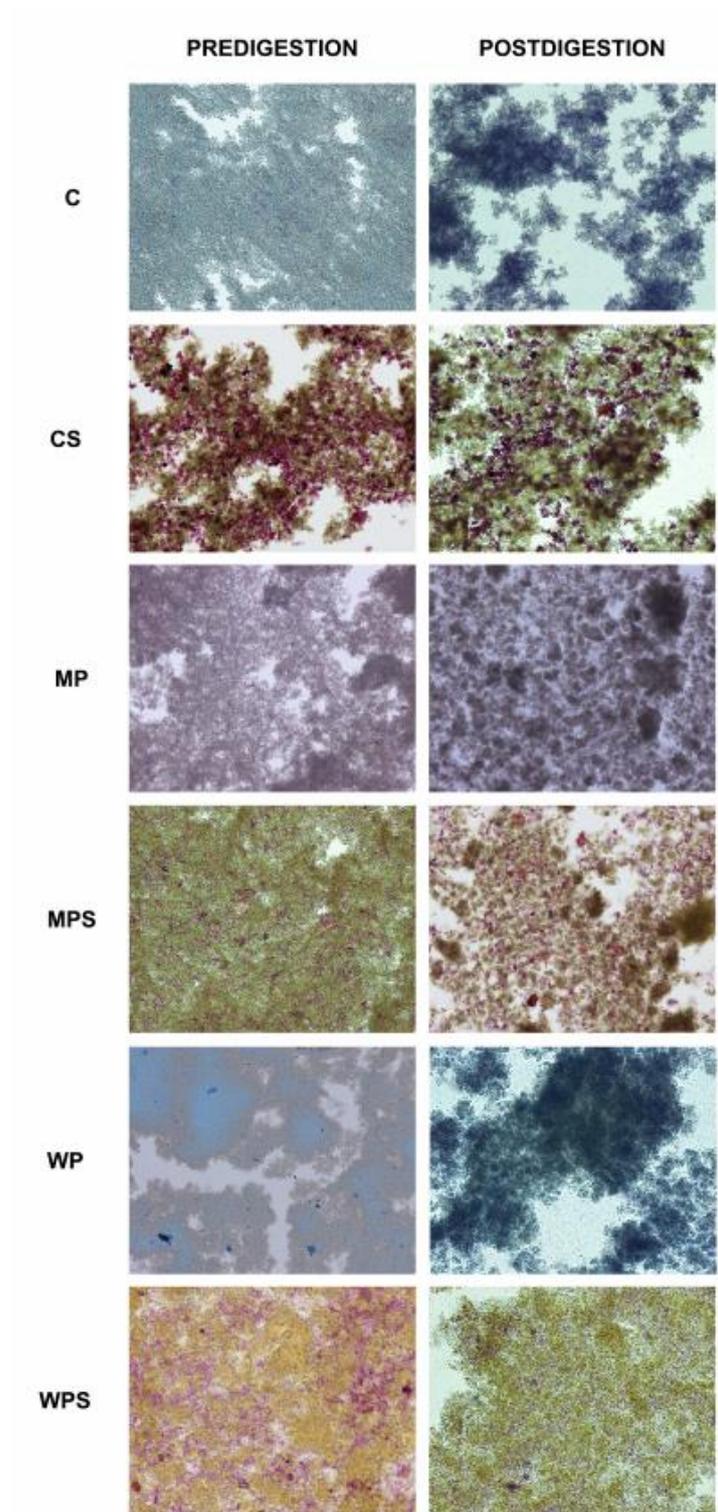


FIGURA 6. Micrografías de los yogures antes y después de la digestión oral in vitro

En el caso de las muestras control, doble leche y doble proteína con almidón (CS, MPS y WPS) se observan gránulos de almidón de color rosado embebidos en las redes proteicas ya descritas (que por efecto del agente de tinción ahora se observan de color pardo o amarillo).

POSTDIGESTIÓN

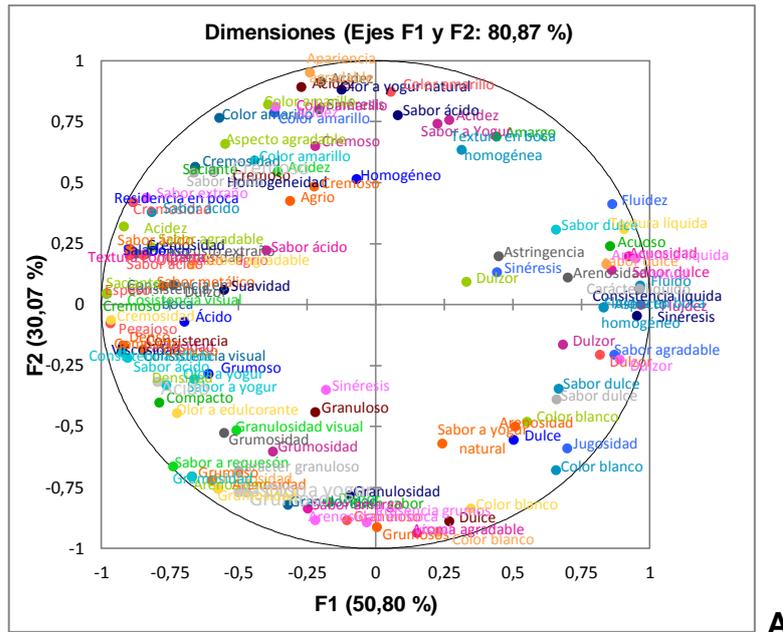
El principal cambio que se observa en la microestructura de las muestras tras la digestión oral *in vitro* es la formación de agregados proteicos formando campos más densos y opacos en la red rodeados por otros menos densos. Una posible explicación a este fenómeno podría ser que en presencia de saliva se creen unas condiciones que favorezcan la precipitación de las proteínas lácteas (Sano et al., 2005). Este fenómeno podría estar relacionado con la percepción de astringencia si bien el mecanismo de la precipitación de las proteínas y su relación con la astringencia no está claro (Andrewes et al, 2011; Ye et al., 2012).

En las muestras con almidón (CS, MPS y WPS) los gránulos se ven nuevamente embebidos en la red proteica, que ha sufrido una menor agregación que en el caso de las correspondientes muestras sin almidón dando lugar a una estructura más continua. Esta estructura explicaría por qué estos almidones contribuyen a incrementar la sensación de cremosidad, viscosidad y residencia en boca respecto de las muestras sin almidón.

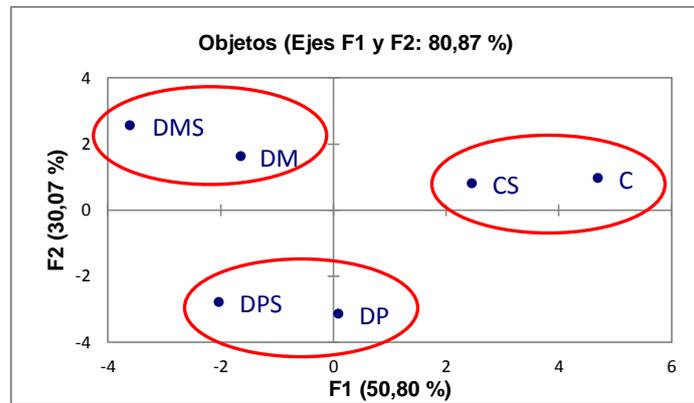
Evaluación sensorial

En la FIGURA 7 A se muestra el espacio sensorial generado. La variabilidad explicada por las dos primeras componentes fue de un 80,87%, lo que muestra que los panelistas fueron capaces de percibir las diferencias y similitudes entre las muestras. Las muestras se ubicaron en 3 grupos diferenciados (FIGURA 7 B) según su composición básica: control (C y CS), muestras con doble leche (MP y MPS) y con doble proteína (WP y WPS). Las formulaciones que incorporaron almidón se sitúan muy cerca y siempre a la izquierda de las que no lo contenían.

A lo largo del eje F1 las muestras van de izquierda a derecha desde un carácter más consistente y compacto a uno más líquido o fluido. La secuencia de esta distribución va desde doble leche, doble proteína hasta control. Por lo tanto, la formulación base de los yogures parece la determinante de sus características sensoriales mientras que la incorporación de almidón (a la izquierda de las que no lo llevan en el “mapa” sensorial) aporta siempre consistencia y cremosidad.



A



B

FIGURA 7. Configuración espacial obtenida. (A) representación por panelistas (en diferentes colores); (B) mapa de muestras.

De modo esquemático en la FIGURA 8 se representa una agrupación de los principales atributos obtenidos y su dirección. El eje F1 divide a la izquierda los atributos Consistencia, Cremosidad, Densidad y Sabor ácido o Sabor extraño donde se ubican MP y MPS, y a la derecha los atributos Fluidez, Textura líquida y Dulzor, donde se ubican C y CS. Por otro lado, Grumosidad, Granulosidad y Arenosidad se separan sobre la parte inferior del eje F2 donde se ubican WP y WPS, de Color amarillo, ubicado en la parte superior ligeramente hacia la izquierda, próximos a la zona donde se ubican las muestras MP y MPS. Puede también observarse “saciedad esperada”, que se sitúa muy cerca de los atributos Cremosidad y Consistencia, y que por lo tanto son los que los consumidores relacionarían más con la capacidad saciante (muestras MP y MPS).

Cabe destacar que los consumidores utilizaron los atributos Grumosidad y Granulosidad para describir las formulaciones con doble proteína (WP y WPS); sería interesante probar otra fuente de proteínas lácteas para saber si se puede mejorar dicha percepción.

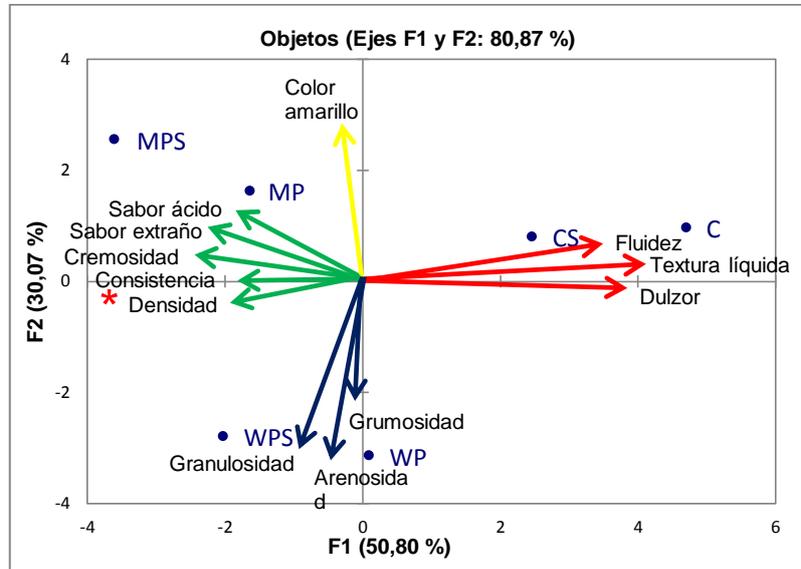


FIGURA 8. Esquema representativo de los principales atributos y de la saciedad esperada (identificada con un asterisco).

CONCLUSIONES

Los yogures con doble leche y doble proteína de suero presentaron comportamientos más sólidos y consistentes que las muestras control, con zonas más densas y compactas observables al microscopio.

La adición de almidón ejerció también un efecto positivo de incremento de la consistencia y viscoelasticidad de los yogures, dando lugar a geles más firmes y de mayor carácter elástico.

El análisis microestructural de los yogures mostró que los gránulos de almidón se encuentran embebidos en las redes proteicas del yogur tanto antes como después de la digestión oral, contribuyendo a la sensación de cremosidad, viscosidad y residencia en boca sin afectarse por la presencia de saliva.

Estas formulaciones contribuirían a aumentar y prolongar la exposición orosensorial que está en relación directa con un aumento de la percepción de la capacidad saciante en los consumidores.

REFERENCIAS

- Andrewes, P.; Kelly, M.; Vardhanabhuti, B.; Foegeding, E.A. 2011. Dynamic modelling of whey protein–saliva interactions in the mouth and relation to astringency in acidic beverages. *International Dairy Journal*, **21**(8): 523-530.
- Astrup, A. 2005. The satiating power of protein—a key to obesity prevention? *American Journal Clinic Nutrition*, **82**:1-2.
- Chiou, R.G.; Brown, C.C.; Little. 1991. EP Patent 443 844 A1.
- Colonna, J.T., Mercier, C. Extrusion cooking of starch and starchy products. 1989. En: Mercier, C., Harper, J.M. (eds). *Extrusion Cooking*. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, MN, 247-320.
- Damin, M.R.; Alcântara, M.R.; Nunes, A.P.; Oliveira, M.N. 2009. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, **42**(10):1744-1750.
- Delarou, J.; Sieffermann, J. 2004. Sensory mapping using Flash profile. Comparison with a conventional descriptive method for the evaluation of the flavour of fruit dairy products. *Food Quality and Preference*, **15**:383-392.
- Dove, E.R.; Hodgson, J.M.; Puddey, I.B.; Beilin, L.J.; Lee, Y.P.; Mori, T.A. 2009. Skim milk compared with a fruit drink acutely reduces appetite and energy intake in overweight men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **90**:70-75.
- Fizman, S.M.; Varela, P. 2013. The satiating mechanisms of major food constituents – An aid to rational food design. *Trends in Food Science & Technology*, **32**(1):43-50.
- Hogenkamp, P.S.; Schiöth, H.B. 2013. Effect of oral processing behaviour on food intake and satiety. *Trends in Food Science & Technology*, **34**(1):67-75.
- Jane, J.; Shen L.; Wang, L.; Maningat, C.C. 1992. Preparation and properties of small-particle corn starch. *Cereal Chemistry*, **69**:280-283.
- Kopelman PG. 2000. Obesity as a medical problem. *Nature*, **404**:635-643.
- Lawless, H.T.; Heymann, H. 1998. Sensory evaluation of food: Principles and practices. Chapman & Hall, New York, NY.
- Lee, C.B.; Lawless, H.T. 1991. Time-course of astringent sensations. *Chemical Senses*, **16**:225-238.
- Lobato-Calleros, C.; Ramírez-Santiago, C.; Vernon-Carter, E. J.; Alvarez-Ramirez, J. 2014. Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt. *Journal of Food Engineering*, **131**: 110-115.
- Lucca, A.; Tepper, B.J. 1994. Fat replacers and the functionality of fat in foods. *Trends in Food Science and Technology*, **5**:12-19.
- Luhovyy, B.L.; Akhavan, T.; Anderson, G.H. 2007. Whey proteins in the regulation of food intake and satiety. *Journal of the American College of Nutrition*, **26**:704-712.

- Ma, Y.; Cai, C., Wang, J.; Sun, D.W. 2006. Enzymatic hydrolysis of corn starch for producing fat mimetics. *Journal of Food Engineering*, **73(3)**:297-303.
- McCrickerd, K.; Chambers, L.; Brunstrom, J.M.; Norton, J.E.; Mills, T.; Yeomans, M.R. 2012. Subtle changes in the flavour and texture of a drink enhance expectations of satiety. *Appetite*, **1(20)**:1-11.
- Mishellany-Dutour, A.; Peyron, M.-A.; Croze, J.; François, O.; Hartmann, C.; Alric, M., et al. 2011. Comparison of food boluses prepared in vivo and by the AM2 mastication simulator. *Food Quality and Preference*, **22(4)**:326-331.
- Miyazaki, M.; Van Hung, P.; Maeda, T.; Morita, N. 2006. Recent advances in application of modified starches for breadmaking. *Trends in Food Science & Technology*, **17(11)**:591-599.
- Morell, P.; Fiszman, S.M.; Varela, P.; Hernando, I. 2014. Hydrocolloids for enhancing satiety: Relating oral digestion to rheology, structure and sensory perception. *Food Hydrocolloids*, **41**:343-353.
- Moussaoui, K. y Varela, P. 2010. Exploring consumer product profiling techniques and their linkage to a quantitative descriptive analysis. *Food Quality and Preference*, **21**:1088-1099.
- Paddon-Jones, D.; Westman, E.; Mattes, R.D.; Wolfe, R.R.; Astrup, A.; Westerterp-Plantenga, M. 2008. Protein, weight management, and satiety. *American Journal of Clinical Nutrition*, **87**: 1558-1561.
- Sanz, T.; Luyten, H. 2006. Effect of thickening agent in the in vitro mouth, stomach and intestine release of tyrosol from enriched custards. *Food Hydrocolloids*, **20(5)**:703-711.
- Sano, H.; Egashira, T.; Kinekawa, Y.; Kitabatake, N. 2005. Astringency of bovine milk whey protein. *Journal of dairy science*, **88(7)**: 2312-2317.
- Van Kleef, E.; Van Trijp, J.C.M.; Van Den Borne, J.J.G.C.; Zonder, C. 2012. Successful development of satiety enhancing food products: towards a multidisciplinary agenda of research challenges. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **52**:611-628.
- Veldhorst, M.; Smeets, A.; Soenen, S.; Hochstenbach-Waelen, A.; Hursel, R.; Diepvens, K.; et al. 2008. Protein-induced satiety: effects and mechanisms of different proteins. *Physiology & Behavior*, **94**:300-307.
- Ye, A.; Zheng, T.; Ye, J.Z.; Singh, H. 2012. Potential role of the binding of whey proteins to human buccal cells on the perception of astringency in whey protein beverages. *Physiology & behavior*, **106(5)**: 645-650.