

LA ULTRAFILTRACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE YOGUR ESTILO GRIEGO

Carlos Orozco-Alvarez*, Anayanci Cruz-Enriquez, Viridiana Martínez-Pacheco, Sergio García-Salas y Enrique Hernández-Sánchez.

Departamento de Bioingeniería. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional. Av. Acueducto S/N. Col. Barrio La Laguna Ticomán. Ciudad de México

*correspondencia: corozcoa@ipn.mx

RESUMEN:

Se llevó a cabo la elaboración de yogur estilo griego de dos formas: tradicional y ultrafiltración. Se emplearon membranas de 8 y 100 kDa y área de filtración de 0.05 m². La membrana de 100 kDa, con agua, resultó en un flux de 180 x10⁻⁶ m/s, 250 kPa, mientras el de 8 kDa resultó tres veces menor. Con leche entera los fluxes en ambas membranas disminuyeron a valores de 3 a 5 x10⁻⁶ m/s debido a la retención de los sólidos. Se decidió trabajar sólo con la membrana de 8 kDa para tener una completa retención de los sólidos. Posteriormente se efectuó la ultrafiltración de 5 L de leche, probando presiones de 0 a 250 kPa y concentrando de 3 a 5 veces. El mayor flux se alcanzó a una presión de 175 kPa y el contenido de proteína en la leche concentrada fue 9-15 %, mientras que en el permeado la proteína fue muy baja. Se elaboró yogur tradicional fermentando por un tiempo de 4-6 horas. El yogur obtenido tuvo una consistencia grumosa, poco cremosa y con facilidad a separar suero, con sólidos totales de 21-23 % y proteína de 5-6 %. Finalmente se elaboró yogur con leche ultrafiltrada y se fermentó bajo las mismas condiciones pero con agitación a 125 rpm; se obtuvo un yogur sin formación de suero, cremoso y con brillo, con 9-12 % de proteína y 28-30 % de sólidos totales.

Palabras clave: ultrafiltración, yogur griego, proteínas, fermentación, viscosidad

ABSTRACT:

It was carried out the elaboration of Greek style yogurt in two forms: traditional and ultrafiltration. Membranes of 8 and 100 kDa and filtration area of 0.05 m² were used. The 100 kDa membrane, with water, resulted in a flux of 180 x10⁻⁶ m/s, 250 kPa, while the 8 kDa membrane was three times smaller. With milk the fluxes in both membranes decreased to values of 3 to 5 x10⁻⁶ m/s due to the retention of the solids. It was decided to work only with the membrane of 8 kDa to have a complete retention of the solids. Subsequently the ultrafiltration of 5 L of milk was carried out, testing pressures from 0 to 250 kPa and concentrating from 3 to 5 times. The highest flux was reached at a pressure of 175 kPa and the protein content in the concentrated milk was 9-15%, whereas in the permeate the protein was very low. Traditional yogurt was fermented for a time of 4-6 hours. The obtained yoghurt had a lumpy, slightly creamy consistency and easily separated serum, with total solids of 21-23% and protein of 5-6%. Finally yoghurt was made with ultrafiltered milk and fermented under the same conditions but with agitation at 125 rpm; a creamy, glossy, non-whey yogurt was obtained with 9-12% protein and 28-30% total solids.

Keywords: Ultrafiltration, Greek yogurt, proteins, fermentation, viscosity

INTRODUCCIÓN

Los productos lácteos fermentados están entre los productos lácteos que gozan de una creciente demanda por parte de los consumidores y la inmensa variedad de complementos que se les pueden añadir permite ofrecerle al consumidor una amplia gama de productos.

En México el 8.5 % de la población consume yogur y su elaboración muestra una tasa promedio de crecimiento de 6.1 % desde 2010⁽⁵⁾. En los últimos años, el consumo de yogur griego o estilo griego ha aumentado y se ha establecido como un producto de alto valor nutritivo, esto debido a las propiedades nutricionales que posee al tener un alto contenido de grasa y de proteína. En 2014, los productos estilo griego con un alto contenido de proteínas representan el 36.5% de las ventas de yogur de los comercios minoristas.

Por otra parte, la mayoría de los trabajos de investigación sobre el yogur estilo griego, reportan que éste puede elaborarse a partir de leche, ó leche evaporada, adicionada con leche en polvo y esta mezcla someterla al proceso de fermentación, y el producto así obtenido posteriormente se concentra por ultrafiltración para desuerar y sobre todo para alcanzar el nivel de proteína requerido^(1, 2, 4). También reportan que emplear una mayor proporción de leche en polvo para lograr el nivel de proteína requerido (9-10 %) y evitar la operación de ultrafiltración, haría al proceso poco rentable económicamente^(6, 7). Desde la década pasada se vienen estudiando nuevas estrategias para mejorar la ultrafiltración, como el desarrollo de nuevos tipos de membranas (nuevos arreglos geométricos y/o nuevos polímeros para su elaboración)⁽⁸⁾, el probar diferentes tamaños de poro para la concentración de leche entera con la finalidad de mejorar el flux de la ultrafiltración, y la última estrategia ha consistido en primero ultrafiltrar la leche y ya concentrada agregar el cultivo láctico para realizar el proceso de fermentación⁽³⁾.

Así, el presente trabajo se planteó el objetivo de analizar la ultrafiltración de leche entera, como primer paso en la elaboración de yogur estilo griego, empleando membranas de 8 y 100 kDa de tamaño de poro, así como analizar la cinética de fermentación a través de la medición de parámetros como la acidez y la viscosidad. El conjunto de resultados de este proceso permitió obtener un producto con 10-12 % de proteína y características idóneas de cremosidad, brillo y aroma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó una membrana de 8 kDa de poro y área de filtración de 0.05 m² para la ultrafiltración de leche entera. La membrana fue caracterizada empleando agua y posteriormente leche entera. Para la ultrafiltración de leche entera se probaron presiones transmembrana de 0 a 250 kPa, el pH solo se registró para no adicionar ningún reactivo que adulterara la leche y la temperatura fue controlada de 30 a 35°C para no afectar la calidad de las proteínas. Se trabajó un volumen inicial de 5 L de leche y fue concentrada de 3 a 5 veces. El flux fue determinado midiendo el flujo de filtrado cada vez que se obtenían 100 mL de filtrado. También se tomaron muestras al inicio y al final de la ultrafiltración para la cuantificación de proteínas (método Lowry), azúcares (método DNS), grasas (método Gerber), cenizas (método de calcinación), sólidos totales (método peso seco) y acidez (método de titulación). El yogur fue obtenido de dos formas. En la primera se usó 0.5 L de leche entera, 40 g de leche en polvo y 25 mL de cultivo comercial marca “yoplait”; la fermentación se realizó a 40-42 °C, sin agitación y durante 4-6 horas; a esta forma de elaboración se le llamó tradicional.

Para la segunda forma se usó 0.5 L de leche concentrada por ultrafiltración, más 25 mL del cultivo comercial; las condiciones de fermentación fueron las mismas que se usaron anteriormente pero esta vez empleando agitación mecánica de 100-125 rpm.

Se tomaron muestras al inicio y al final de la fermentación para la determinación de proteínas, grasas, azúcares, cenizas, sólidos totales y acidez. Para la cinética de fermentación se tomaron muestras cada 30 minutos durante un tiempo de 4-6 horas, a las cuales se les determinó acidez, pH, viscosidad (Brookfield) y cuenta microbiana (cámara de Neubauer).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de las membranas de ultrafiltración

Primeramente se llevó a cabo la caracterización de los cartuchos que se emplearon en la concentración de leche entera. Con base en la literatura se propuso trabajar con membranas de 8 y 100 kDa de corte molecular. En la **Fig. 1** se muestran los resultados del flux de filtrado a diferentes presiones transmembrana utilizando agua destilada y leche entera. Claramente se observa que el flux de agua en la membrana de 100 kDa es de 3 a 5 veces superior con respecto a la de 8 kDa en cualquier presión que se compare; esto era de esperarse puesto que la membrana de 100 kDa tiene un poro de mayor tamaño que la de 8 kDa.

Sin embargo, cuando se emplea leche los fluxes son muy parecidos en ambas membranas, pero a su vez los fluxes son de 10 a 20 veces menores en comparación con agua. También se observa que el flux de la membrana de 100 kDa (5×10^{-6} m/s) es el doble que la de 8 kDa (2.5×10^{-6} m/s) cuando se trabaja leche; se esperaba que la diferencia de fluxes fuera mucho mayor, pero la mezcla de proteínas-grasas-células se convierte en un conglomerado de mayor tamaño en la superficie de la membrana de 100 kDa, convirtiéndose en una resistencia adicional para el paso de fluido, y de moléculas proteicas a través de la membrana, ocasionando de esta forma la disminución del flux. Es claro que cuando se emplea leche los fluxes alcanzan un valor máximo a una presión de 150 a 250 kPa, y a presiones superiores ya no se puede aumentar el flux, debido a la consolidación de la capa de gel formada en la superficie de la membrana de acuerdo a la teoría de “concentration polarization”.

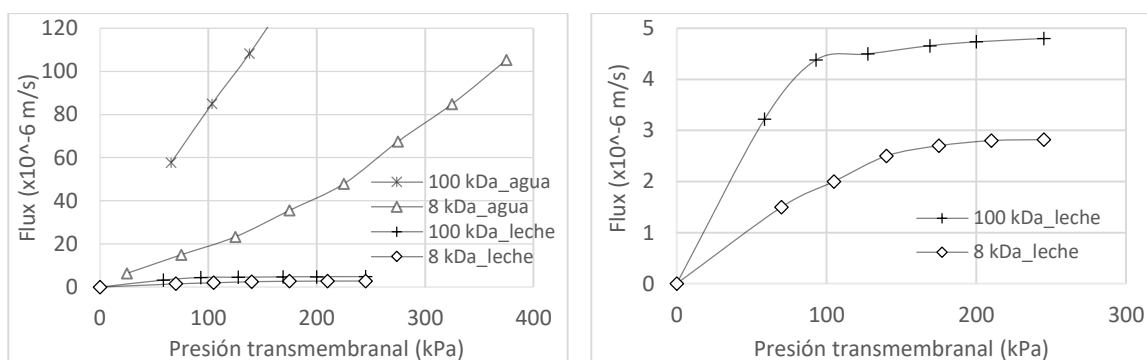


Fig. 1. Caracterización de las membranas de 8 y 100 kDa.

Concentración de leche entera en membrana de 8 kDa.

Con base a los anteriores resultados, se llevaron a cabo corridas de concentración de leche en membrana de 8 kDa, probando diferentes presiones transmembrana en un intervalo de 100 a 250 kPa, y trabajando un volumen inicial de leche de 4 litros, obteniéndose los resultados mostrados en la **Fig. 2**. Como se puede observar la presión con la que se obtuvo un mayor flux fue de 175 kPa.

En teoría se esperaría que con una mayor presión transmembrana el flux también aumente, sin embargo esto no ocurre, porque la película que se forma sobre la membrana junto con los aglomerados de proteínas evitan el libre paso de permeado a través de la membrana, lo que ocasiona que el flux ya no aumente aunque se incremente la presión; inclusive a una presión de 245 kPa el flux se ve reducido a valores del orden de los obtenidos a baja presión.

El factor de concentración es la proporción en que se reduce el volumen inicial de la leche, que también será el factor por el cual las concentraciones de la grasa y proteína aumentarían en la misma proporción si las retenciones de estos componentes son del 100 %. Como se muestra en los trabajos realizados por otros autores (Glover, 1984) el flujo de permeado disminuye con el aumento en la concentración de proteína.

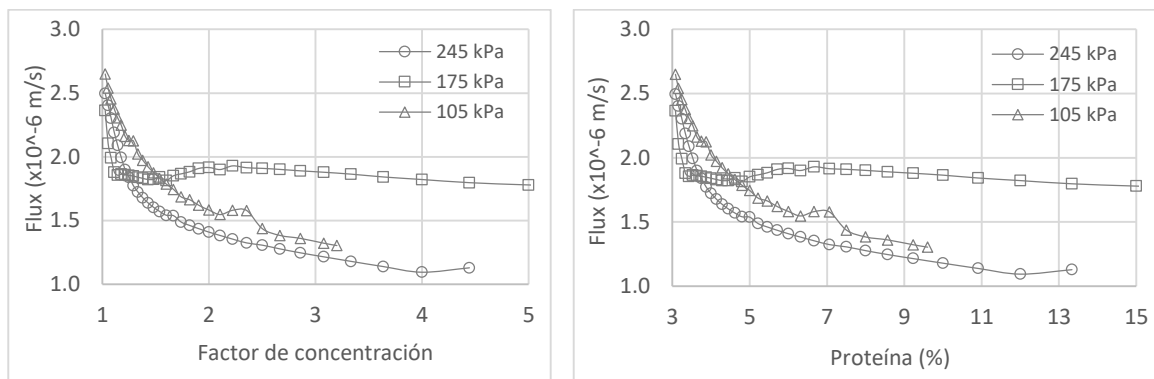


Fig.2. Concentración de leche entera en membrana de 8 kDa. Factor de concentración y proteína

La leche entera presenta un contenido de proteína de 3.12 %, y para obtener una concentración de 10 % se debe concentrar la leche por un factor de 3.2, porque a esta concentración se comercializa el yogur estilo griego. Este factor fácilmente se alcanza y los resultados también muestran que pueden lograrse factores hasta de cinco veces.

También se realizó un análisis químico proximal tanto para la materia prima como para cada una de las muestras obtenidas en la ultrafiltración de la leche entera en membrana de 8 kDa, estos resultados se muestran en la **Tabla I**.

Tabla I. Análisis químico proximal en la concentración de leche entera en membrana de 8 kDa

| Lote | Muestra | Proteína (%) | Azúcares (%) | Cenizas (%) | Sólidos totales (%) | Acidez (%) |
|------|-------------------|--------------|--------------|-------------|---------------------|------------|
| 1 | Leche entera | 3.29 | 3.59 | 0.15 | 11.86 | 0.12 |
| | Leche concentrada | 9.46 | 4.85 | 0.57 | 24.41 | 0.47 |
| | Permeado | 0.01 | 3.92 | 0.13 | 3.99 | 0.08 |
| 2 | Leche entera | 3.32 | 4.08 | 0.62 | 11.39 | 0.18 |
| | Leche concentrada | 9.42 | 4.16 | 0.97 | 23.76 | 0.49 |
| | Permeado | 0.04 | 3.82 | 0.52 | 3.69 | 0.08 |
| 3 | Leche entera | 3.23 | 3.77 | 0.64 | 12.05 | 0.10 |
| | Leche concentrada | 9.26 | 4.56 | 0.99 | 25.08 | 0.73 |
| | Permeado | 0.03 | 3.22 | 0.21 | 3.57 | 0.06 |

Se puede observar que la retención de proteínas es prácticamente total ya que el porcentaje de éstas en el permeado es mínimo. Por lo tanto el contenido de proteína en la leche concentrada es 3 veces superior con respecto a la leche entera. Algunos autores informan que las grasas forman cuerpos miceliales con las proteínas y estos conglomerados de gran tamaño no pueden atravesar la membrana de 8 kDa, y por lo tanto el contenido de grasa en la leche concentrada se esperaría que también se triplicara, mientras el contenido de grasa en el permeado sería cero; esta fue la razón por la que no se llevó a cabo el análisis de grasa y la comprobación se realizó a nivel visual al obtener un permeado cristalino libre de partículas grasas.

Con respecto a los azúcares, el contenido es muy parecido tanto en el concentrado como en el permeado, indicando esto que los azúcares tienen libre paso por la membrana debido a su bajo peso

molecular con respecto al tamaño de poro de la membrana. En el caso del contenido de cenizas éste fue superior en la leche concentrada debido a la asociación que tienen algunos iones con las proteínas y otras macromoléculas que son completamente retenidas por la membrana. Los resultados de sólidos totales demuestran lo que se ha venido explicando, es decir, si los conglomerados de proteínas y grasas son retenidos, y los azúcares y sales tienen libre paso por la membrana, entonces el contenido de sólidos en la leche concentrada sería tres veces la suma de proteína y grasa, más el porcentaje de azúcares, lo que resultaría en un valor promedio de 23 %; los valores reportados en la anterior tabla se encuentran en este orden de magnitud. Finalmente los resultados de acidez indican que ésta aumenta en la leche concentrada, pero no en la misma proporción que el factor de concentración, debido a que la carga microbiana de la leche produce ácido láctico durante la ultrafiltración el cual tiene una duración de 10 a 12 horas.

Es importante verificar la permeabilidad de la membrana después de cada corrida de concentración de leche y posterior limpieza, así, en la **Fig. 3** se muestran los resultados de la limpieza. Se puede observar que la membrana se ha limpiado adecuadamente ya que su permeabilidad es prácticamente la misma que la de la membrana nueva.

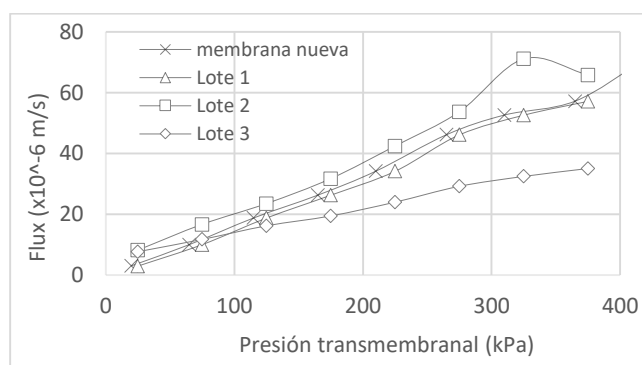


Fig. 1. Recuperación del flujo de la membrana de 8 kDa después de cada ciclo de limpieza.

Elaboración de yogur con leche entera más leche en polvo (yogur tradicional).

El yogur estilo griego puede elaborarse de dos formas, la más empleada es a través de la mezcla de leche entera con leche en polvo, en proporción suficiente para obtener un yogur con un mínimo de 5 % de contenido proteico, y un tiempo de fermentación necesario para alcanzar un índice de acidez de 0.7 a 1.0 %, a una temperatura de 40-42 °C y sin agitación. Con esta base se procedió a la elaboración de yogur realizando dos lotes de prueba y los resultados obtenidos se presentan en la **Tabla II**.

En ambos lotes se obtuvo una cantidad de suero equivalente a 10-15 % del total de yogur elaborado, con un contenido proteico cinco veces menor que el del yogur, pero con porcentaje de azúcares semejante al del yogur. Es importante mencionar que en un proceso industrial es deseable evitar la formación de suero para no aumentar el número de operaciones para la obtención del producto, por eso algunos autores reportan que elevando el contenido de sólidos totales se puede reducir la formación de suero.

Por otra parte, el yogur obtenido tuvo un contenido de proteína de 5-6 %, sólidos totales de 21-24 % y una acidez de 0.86-0.97 %; para alcanzar este último parámetro se necesitó de 4 a 6 horas de fermentación..

Tabla II. Análisis químico proximal de yogur elaborado con leche entera más leche en polvo

| Lote | Tiempo de fermentación (h) | Muestra | Proteína (%) | Azúcares (%) | Cenizas (%) | Sólidos totales (%) | Acidez (%) |
|----------|----------------------------|----------------|--------------|--------------|-------------|---------------------|------------|
| A | 0 | leche entera | 3.29 | 3.59 | 0.15 | 11.86 | 0.12 |
| | | leche en polvo | 24.07 | 9.68 | - | 91.93 | 0.14 |
| | | cultivo | 5.56 | 6.09 | 0.35 | 18.10 | 0.84 |
| | 4 a 6 | yogur | 5.94 | 4.90 | 1.19 | 21.14 | 0.86 |
| | | suero | 1.35 | 3.51 | - | 9.22 | 0.64 |
| B | 0 | leche entera | 3.63 | 3.77 | 0.64 | 13.05 | 0.10 |
| | | leche en polvo | 21.86 | 8.19 | 0.94 | 93.52 | 0.12 |
| | | cultivo | 5.56 | 6.09 | 0.35 | 18.10 | 0.84 |
| | 4 a 6 | yogur | 5.31 | 3.55 | - | 23.83 | 0.97 |
| | | suero | 1.21 | 3.29 | - | 8.10 | 0.29 |

Elaboración de yogur con leche concentrada en membrana de 8 kDa.

Otra forma de elaborar el yogur estilo griego es utilizando leche concentrada por ultrafiltración y luego llevar a cabo la fermentación hasta alcanzar el grado de acidez requerido⁽⁷⁾. Así, las corridas de ultrafiltración efectuadas en la membrana de ultrafiltración de 8 kDa fueron ahora la base para la elaboración de yogur a partir de la leche concentrada; las condiciones de fermentación fueron las mismas que las del yogur tradicional pero ahora se decidió emplear agitación mecánica de 100-125 rpm, y los resultados son presentados en la **Tabla 3**.

A diferencia del yogur tradicional, el yogur elaborado con leche ultrafiltrada no presenta formación de suero, el contenido de proteínas, 11-12 %, es prácticamente el doble, los sólidos totales en promedio son de 30 %, siendo este contenido 50 % superior, y el grado de acidez estuvo en el mismo orden de magnitud que el del yogur tradicional, de 0.9 a 1.1 %. El mayor contenido proteico, mayor porcentaje de sólidos y baja agitación durante la fermentación, mejoraron las propiedades del yogur obtenido: consistencia uniforme, viscosa, cremosa y brillante.

Tabla III. Análisis químico proximal de yogur elaborado con leche concentrada en membrana de 8 kDa

| Lote | Tiempo de fermentación (h) | Muestra | Proteína (%) | Azúcares (%) | Cenizas (%) | Sólidos totales (%) | Acidez (%) |
|----------|----------------------------|-------------------|--------------|--------------|-------------|---------------------|------------|
| 1 | 0 | Leche concentrada | 9.46 | 4.85 | 0.57 | 24.41 | 0.47 |
| | | Cultivo | 5.56 | 6.09 | 0.35 | 18.10 | 0.84 |
| | 4 a 6 | yogur | 11.07 | 4.02 | 1.07 | 30.84 | 1.01 |
| 2 | 0 | Leche concentrada | 9.42 | 4.16 | 0.97 | 23.76 | 0.49 |
| | | Cultivo | 5.56 | 6.09 | 0.35 | 18.10 | 0.84 |
| | 4 a 6 | yogur | 12.68 | 6.40 | 1.15 | 28.80 | 0.98 |
| 3 | 0 | Leche concentrada | 9.26 | 4.56 | 0.99 | 25.08 | 0.73 |
| | | Cultivo | 5.56 | 6.09 | 0.35 | 18.10 | 0.84 |

| | | | | | | | |
|--|-------|-------|-------|------|------|-------|------|
| | 4 a 6 | yogur | 12.60 | 3.96 | 1.27 | 30.86 | 1.10 |
|--|-------|-------|-------|------|------|-------|------|

Además del análisis químico proximal, también se cuantificaron parámetros como la acidez, pH, viscosidad y cuenta microbiana durante la cinética de fermentación, los resultados obtenidos se muestran en las **Figs. 4 y 5**.

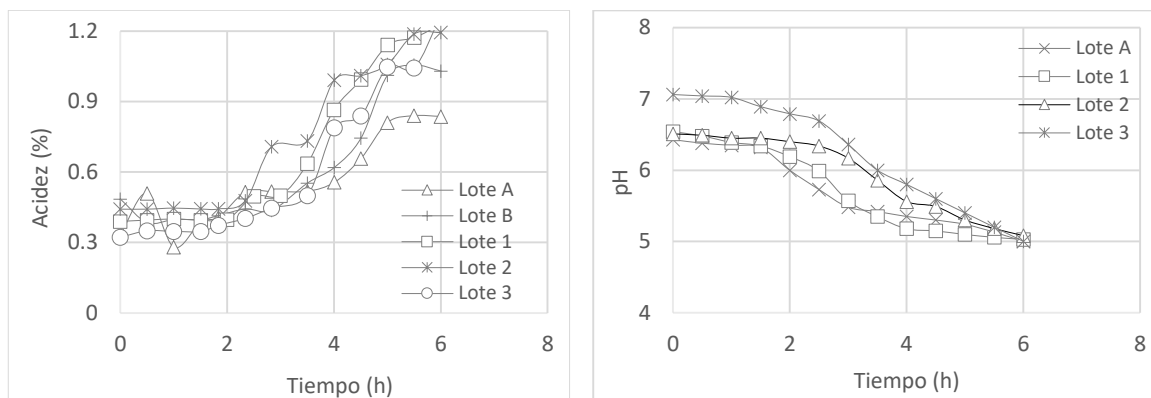


Fig. 4. Cinética de fermentación de yogur estilo griego. Acidez y pH

El aumento de acidez durante la fermentación del yogur se debe principalmente al crecimiento de *Streptococcus thermophilus* de acuerdo a los trabajos reportados⁽⁶⁾, y el máximo crecimiento de esta bacteria se producen después de 4-5 horas cuando la acidez es máxima también. Como consecuencia del aumento de la acidez el pH durante la fermentación disminuye de 6.5-7.0 a 5.0. El incremento de la acidez y la reducción del pH, prácticamente son del mismo orden ya sea que el yogur sea elaborado de forma tradicional ó a partir de leche ultrafiltrada, ya que el cultivo láctico tiene el suficiente sustrato para crecer de manera idónea; cabe mencionar que un corto tiempo de fermentación no permite el suficiente crecimiento de *Lactobacillus bulgaricus*, el cual produce más aroma como lo demuestran otros trabajos donde la fermentación fue superior a las 6 horas⁽⁶⁾.

Como se puede observar en la **Fig. 5**, la viscosidad aumenta exponencialmente a medida que sube el contenido de acidez, iniciando en valores de 50-100 cp para leche ultrafiltrada y luego elevándose hasta valores de 3500-4000 cp. Este aumento de viscosidad se debe a la conglomeración de las proteínas provocada por la reducción de la acidez formando así un producto cremoso. A su vez, el cultivo láctico inicial triplica su población microbiana pasando de $3-4 \times 10^9$ a $9-12 \times 10^9$ UFC/mL, y a las 6 horas de fermentación pareciera alcanzar una fase estacionaria debido probablemente a la disminución del pH, ya que todavía hay suficiente sustrato para seguir creciendo (sólidos totales).

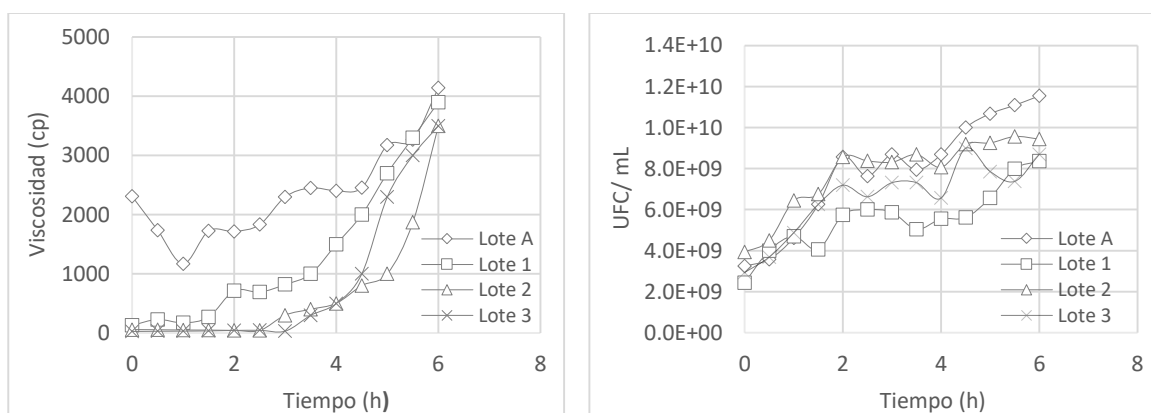


Fig. 5. Cinética de fermentación de yogur estilo griego. Viscosidad y cuenta microbiana.

CONCLUSIONES

La leche entera fue concentrada por ultrafiltración, en membrana de 8 kDa, de 3 a 4 veces para alcanzar un contenido proteico de 10 a 12 %. Esta leche así concentrada fue fermentada con agitación a 100 a 150 rpm para obtener yogur estilo griego con 28-30 % de sólidos totales, acidez de 0.8 a 1.0 % y viscosidad de 3000 a 4000 cp, parámetros que evitaron la formación de suero y proporcionaron características de cremosidad y brillo idóneos al producto final.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brazuelo, A., 1995. Protein-Enriched yogurt by ultrafiltration of skim-milk. *Journal of the Science of food and Agriculture, Article 69*, 283-290.
2. Chacón, V., 2006. Tecnologías de Membrana en la Industria Láctea, Revisión Bibliográfica. *Agronomía Mesoamericana*, 243-248.
3. Doyen, A., & Paredes, A., 2006. *Skim milk ultrafiltration before or after fermentation: impact on mass balance and process efficiency during Greek-style yogurt manufacture.*
4. Dragoljub, D., Marijana, C., & Miloslav, k., 1989. Effects of Protein Concentration in Ultrafiltration Milk Retentates and the Type of Protease Used for Coagulation on the Microstructure of Resulting Gels. *Food Structure: Vol. 8: No. 1, Article 8.*, 53-66.
5. INEGI., 2012. *Producción de leche y derivados lácteos.* México: Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera.
6. Rinaldoni, A., Campderrós, M., & Pérez, M., 2010. Yogures Deslactosados Elaborados con Concentrados de Leche Bovinas y de Soja obtenidos por ultrafiltración. *Ingeniería y Competitividad*, 19-30.
7. Tamime, A., Kalab, M., & Davies, G., 1991. The Effect of Processing Temperatures on the Microstructure and Firmness of Labneh Made from Cow's Milk by the Traditional Method or by Ultrafiltration. *Food Structure: Vol. 10: No. 4, Article 8.*, 345-352.
8. Tolosa, S., J., B., & Cadenas, A., 2006. Producción de Yogur Utilizando Membranas Cerámicas para Incrementar el Porcentaje de Sólidos de la Leche. *Revista Ciencia e Ingeniería No 5 Artículo 2*, 4-9.