

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS



**EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE SACAROSA POR
ESTEVIÓSIDO Y DE LA ADICIÓN DE CARRAGENINA SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y SENSORIALES DE DULCE
DE LECHE**

TESIS para optar el título de:

INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

DAPHNE DEL CARMEN GARCÍA MONTEJO

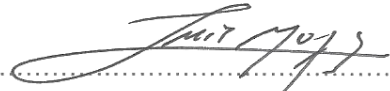
TRUJILLO, PERÚ

2016

La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:



.....
Dr. Fernando Rodríguez Avalos
PRESIDENTE



.....
MsC. Luis Márquez Villacorta
SECRETARIO



.....
MsC. Ana Ferradas Horna
VOCAL



.....
Dr. Antonio Rodríguez Zevallos
ASESOR

DEDICATORIA

A Dios, por haberme otorgado la bendición de culminar satisfactoriamente mi carrera y por guiar mi camino brindándome la fortaleza necesaria para alcanzar mis objetivos.

A mi madre, por su inmenso amor, por la paciencia, sus consejos y por estar siempre a mi lado. Porque día a día me motiva a ser mejor persona y mejor profesional.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por su gran bondad y todas las oportunidades que me presentó en el camino. Por guiar mis pasos y regalarme tantas bendiciones.

A mi madre, María Del Carmen Montejo Terrones, por la confianza y el apoyo. Porque celebra mis triunfos y está siempre dándome la mano en las situaciones difíciles. Gracias por hacer de mí, la persona que soy. No alcanzan las palabras para expresar mi admiración y el gran amor que te tengo. Finalmente puedo decir que lo logramos.

A mis amigas Gabriela Calderón y Fiorelina Angulo, por su amistad, por los buenos momentos que compartimos y acompañarme tanto en mi etapa universitaria como en el desarrollo de la tesis.

A mi asesor, Dr. Antonio Rodríguez Zevallos por sus conocimientos, dedicación y orientación durante el desarrollo de la tesis. Por su constante seguimiento y los valiosos consejos que permitieron lograr los objetivos de la investigación.

A los Ingenieros Luis Márquez y Carla Pretell, por sus enseñanzas, por el apoyo y motivación durante el desarrollo de mi carrera, mostrando su calidad humana y profesional.

ÍNDICE GENERAL

	Página
Carátula	i
Aprobación por el Jurado de Tesis	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	iv
Índice General	v
Índice de Cuadros	vii
Índice de Figuras	ix
Índice de Anexos	x
Resumen	xii
Abstract	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA	3
2.1. Generalidades del dulce de leche	3
2.2. Reacciones enzimáticas en dulce de leche	6
2.3. Defectos y alteraciones en dulce de leche	9
2.3.1. Defectos de textura	9
2.3.2. Defectos de apariencia	10
2.3.3. Defectos de sabor	10
2.3.4. Alteraciones en dulce de leche	11
2.4. Edulcorantes	11
2.5. Agentes espesantes en dulce de leche	16
2.6. Pruebas sensoriales en dulce de leche	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Lugar de ejecución	21
3.2. Materiales	21
3.3. Equipos e instrumentos	21

3.4. Métodos	22
3.4.1. Esquema experimental	22
3.4.2. Formulación experimental	22
3.4.3. Diagrama de flujo del proceso experimental	24
3.5. Métodos de análisis	26
3.5.1. Acidez titulable	26
3.5.2. Viscosidad aparente	27
3.5.3. pH	27
3.5.4. Densidad	27
3.5.5. Color instrumental	27
3.5.6. Determinación de azúcares	27
3.5.7. Aceptabilidad general	30
3.6. Evaluación estadística	30
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
4.1. Efecto de la sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina sobre el color en dulce de leche	32
4.2. Efecto de la sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina sobre la viscosidad aparente en dulce de leche	38
4.3. Efecto de la sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina sobre el contenido de azúcares en dulce de leche	42
4.4. Efecto de la sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina sobre la aceptabilidad general en dulce de leche	46
V. CONCLUSIONES	49
VI. RECOMENDACIONES	50
VII. BIBLIOGRAFÍA	51
VIII. ANEXOS	57

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Composición química del dulce de leche	5
Cuadro 2. Reacciones no enzimáticas en dulce de leche	6
Cuadro 3. Formulaciones para la elaboración de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa	24
Cuadro 4. Prueba de Levene para los parámetros L^* , a^* y b^* de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	36
Cuadro 5. Análisis de varianza para el parámetro de color L^* (luminosidad) de dulce con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	36
Cuadro 6. Análisis de varianza para el parámetro de color a^* (rojo - verde) de dulce con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	36
Cuadro 7. Análisis de varianza para el parámetro de color b^* (amarillo - azul) de dulce con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	37
Cuadro 8. Prueba de Duncan para los valores de b^* en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	37
Cuadro 9. Prueba de Levene para los valores de viscosidad aparente de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	41

Cuadro 10. Análisis de varianza para los valores de viscosidad aparente en dulce con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	41
Cuadro 11. Prueba de Duncan para los valores de viscosidad aparente en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	42
Cuadro 12. Prueba de Levene para los valores de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	44
Cuadro 13. Análisis de varianza para los valores de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	45
Cuadro 14. Prueba de Duncan para los valores de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	46
Cuadro 15. Prueba de Friedman para los valores de aceptabilidad general de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	48

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fórmula del esteviósido	15
Figura 2. Esquema experimental para la investigación de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósidos	23
Figura 3. Diagrama de flujo para la elaboración de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido	25
Figura 4. Valores de L*, a* y b* en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina	33
Figura 5. Valores de viscosidad aparente en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina	39
Figura 6. Valores de contenido de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina	43
Figura 7. Rango promedio de aceptabilidad general para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina	47

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXO 1. Características fisicoquímicas de leche fresca	57
ANEXO 2. Equivalente estevióside y cálculos de sustitución de sacarosa en dulce de leche.....	57
ANEXO 3. Valores del parámetro L* para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	58
ANEXO 4. Valores del parámetro a* para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	58
ANEXO 5. Valores del parámetro b* para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	58
ANEXO 6. Valores de viscosidad para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	59
ANEXO 7. Valores de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	59
ANEXO 8. Presentación de muestras de dulce de leche para prueba de aceptabilidad general	59
ANEXO 9. Aceptabilidad general de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina	60

ANEXO 10. Ficha de aceptabilidad general para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósidos	61
ANEXO 11. Escala de puntuación para aceptabilidad general	62
ANEXO 12. Dulce de leche con 12.5% de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina	62
ANEXO 13. Dulce de leche con 25% de sustitución de parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina	63
ANEXO 14. Dulce de leche con 50% de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina	63

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto de la sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y la adición de carragenina sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de dulce de leche. Se realizaron 6 formulaciones, empleando leche fresca de vaca como materia prima. Se reemplazó el 12.5, 25 y 50% del contenido de sacarosa (18% respecto al volumen inicial de leche) por 0.023, 0.045 y 0.090% de esteviósido respectivamente; y se adicionó carragenina en dos concentraciones 0.025 y 0.050%. El análisis estadístico mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) en la viscosidad aparente, la cual aumentó al incrementar el porcentaje de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y al aumentar la concentración de carragenina. El contenido de azúcares disminuyó por efecto significativo del porcentaje de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido. Los parámetros de color L^* , a^* y b^* presentaron valores similares en todos los tratamientos. Respecto a la aceptabilidad general, los tratamientos mostraron en promedio la calificación me gusta moderadamente. La sustitución parcial de 50% de sacarosa y 0.050% de adición de carragenina fue el mejor tratamiento por tener mayor viscosidad aparente, aceptabilidad general similar a los otros tratamientos y menor contenido de azúcares en el producto final.

ABSTRACT

In the present study the effect of the partial substitution of sucrose by stevioside and the addition of carrageenan on the physicochemical and sensory characteristics of milk caramel was assessed. Six formulations were made, using fresh cow's milk as a raw material. It was replaced 12.5%, 25% and 50% of the sucrose content (18% compared to the initial volume of milk) for 0.023%, 0.045% and 0.090% stevioside respectively and adding two concentrations carrageenan: 0.025% and 0.050%. The statistical analysis showed significant differences ($p < 0.05$) in the apparent viscosity, which increased by increasing the percentage of partial replacement of sucrose by stevioside and by increasing the concentration of carrageenan. The sugars content decreased by significant effect the percentage of partial replacement of sucrose by stevioside. Color parameters L^* , a^* and b^* presented similar values in all treatments. Regarding to overall acceptability, treatments showed average rating I like moderately. The partial substitution of 50% sucrose and adding 0.050% carrageenan was the best treatment for having higher apparent viscosity, overall acceptability similar to other treatments and lower sugar content in the final product.

I. INTRODUCCIÓN

El proceso de elaboración del dulce de leche y el principio de su conservación se basan en la concentración de sólidos, especialmente azúcares, por evaporación del agua contenida en la leche, lo que impide el ataque de microorganismos (FAO, 2006).

En cuanto al control de la ingesta energética específicamente relacionado con la cantidad de azúcares consumidos diariamente, ha llevado a la necesidad de modificar la composición de ciertos alimentos de consumo regular que contienen azúcar, por lo tanto, las empresas procesadoras de alimentos necesitan ajustar sus productos tradicionales sustituyendo el contenido de sacarosa y manteniendo las características organolépticas y fisicoquímicas de los productos elaborados con niveles de sacarosa normal (Gutiérrez, 2014).

La demanda de edulcorantes alternativos al azúcar está creciendo anualmente, y el mercado muestra cada vez mayor interés por los de origen natural frente a los sintéticos. El auge de estos productos se debe a la preocupación por el denominado síndrome metabólico y las enfermedades relacionadas, como el sobrepeso y la obesidad, la diabetes y la hipertensión arterial (Torresani, 2007).

En la industria alimentaria, pensando en las características de estructura y palatabilidad de un producto, no basta con sustituir el sabor dulce del azúcar, sino que también se debe buscar que el sustituto sea agente de cuerpo, llamados "bulking agents", los cuales proveen la masa y el volumen del azúcar (Torresani, 2007). Los espesantes, también llamados gelificantes o hidrocoloides, corresponden a macromoléculas que se disuelven y se dispersan en el agua, causando un aumento en la viscosidad del producto (Gutiérrez, 2014).

El problema planteado en esta investigación fue: ¿Cuál será el efecto de la sustitución parcial de sacarosa (12.5, 25 y 50%) por tres concentraciones equivalentes de esteviósido (0.023, 0.045 y 0.090%) y la adición de dos concentraciones de carragenina (0.025 y 0.05%) sobre la viscosidad aparente, color instrumental, contenido de azúcares y aceptabilidad general en dulce de leche?

Los objetivos fueron:

Evaluar el efecto de la sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y la adición de dos concentraciones de carragenina sobre el color, viscosidad aparente, contenido de azúcares y aceptabilidad general en dulce de leche.

Determinar el porcentaje de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y la adición de carragenina que permitan obtener las mejores características de color, viscosidad aparente, contenido de azúcares y la mayor aceptabilidad general en dulce de leche.

I. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

2.1. Generalidades del dulce de leche

Según INDECOPI (2005) el manjar blanco o dulce de leche es un producto obtenido por concentración, mediante calor, a presión normal en todo o parte del proceso, de la leche o leche reconstituida, con o sin adición de sólidos de origen lácteo y/o crema, y adicionado de sacarosa (parcialmente sustituida o no por monosacáridos y/u otros disacáridos), con o sin adición de otras sustancias alimenticias y aditivos permitidos, hasta alcanzar los requisitos especificados en la norma técnica peruana.

El manjar blanco es un producto lácteo obtenido por concentración mediante el sometimiento al calor a presión normal, en todo o en parte del proceso, de leche cruda o leches procesados, con el agregado de azúcares y otros aditivos permitidos. El producto resultante tiene una consistencia pastosa, más o menos untada y de color caramelo (FAO, 2006).

Keating y Gaona (1999) indican que el arequipe es un dulce tradicional de varios países de América Latina; se define como un producto de textura blanda y pegajosa, elaborado a partir del proceso de evaporación de leche con azúcar hasta lograr una concentración en el contenido de sólidos solubles de 70 °Bx. Este producto tiene un aporte calórico aproximado de 30 Kcal por porción (10 g). En Chile se conoce como manjar, manjar de leche o manjar blanco; en Colombia y Venezuela se le denomina arequipe; en Argentina, dulce de leche; en Brasil, doce de leite y en México y Centroamérica, cajeta (derivado de la caja de madera que se utilizaba para empacarlo).

Según Rovedo y otros (1991), existen dos tipos de manjar: uno de menor consistencia utilizado como postre (manjar untado) y otro de consistencia mayor debido a la incorporación de almidón, utilizado como producto de confitería (manjar sólido). A medida que aumenta el porcentaje de azúcar en el manjar, la concentración de sólidos solubles es mayor, obteniéndose un producto de mayor solidez (Cifuentes, 1982).

Zunino (2013) describe dos tipos de ingredientes que forman parte de la composición del dulce de leche:

Ingredientes obligatorios: leche y/o leche reconstituida, sacarosa (en un máximo de 30 kg /100 L de leche).

Ingredientes opcionales: crema de leche, sólidos de origen láctico, mono y disacáridos que sustituyan a la sacarosa en un máximo del 40% m/m, almidón o almíbares modificados en una proporción no superior a 0.5 g/100 mL de leche, cacao, chocolate, coco, almendras, maní, frutas secas, cereales y/u otros productos alimenticios solos o en mezclas en una proporción entre el 5% y el 30% m/m del producto final.

El Código Alimentario Argentino (2003), en el capítulo VIII, artículo 592 indica que las características que debe tener el dulce de leche son una consistencia de jarabe, textura lisa, suave y uniforme, sin cristales perceptibles. La cantidad de agua no debe superar el 30%, los sólidos totales de leche no deben superar el 24% y deberá tener como mínimo un 6% de grasa láctea. En su elaboración se permite el uso de alcalinizantes como bicarbonato de sodio para neutralizar parcialmente la acidez. Puede haber sustitución de hasta 40% de azúcar por edulcorantes permitidos. Se permite también el uso de la enzima lactasa para hidrólisis parcial de la lactosa (sin declaración en la

etiqueta) y el uso de otras sustancias como aromatizantes naturales.

En el Cuadro 1, se presenta la composición química del dulce de leche, según datos presentados en el documento de consulta de elaboración de manjar blanco (Senati, 2007).

Cuadro 1. Composición química de dulce de leche.

Componente	Contenido (%)	
	Mínimo	Máximo
Humedad	20	30
Azúcares	37	48
Sólidos de leche	26	30
Materia grasa	2	10
Proteína	8	10
Lactosa	6	15
Cenizas	1	2

Fuente: Senati (2007).

Zunino (2013) indica que el dulce de leche debe cumplir con las siguientes características sensoriales:

- Consistencia: cremosa o pastosa, sin cristales perceptibles sensorialmente. La consistencia podrá ser más firme en el caso del dulce de leche para repostería o repostero, para pastelería o pastelero y para heladería o heladero.
- Podrá presentar consistencia semi-sólida o sólida y parcialmente cristalizada cuando la humedad no supere el 20% m/m.
- Color: castaño acaramelado, proveniente de la reacción de Maillard. En el caso del dulce de leche para heladería o heladero el color podrá corresponder al colorante adicionado.
- Flavor (sabor y olor): Dulce característico, sin olores ni sabores extraños.

2.2. Reacciones no enzimáticas en dulce de leche

El dulce de leche contiene proteínas, aminoácidos libres y azúcares, los cuales generan un conjunto de reacciones no enzimáticas que producen el color y olor característico del producto. Estas reacciones son: caramelización y reacción de Maillard (Zunino, 2013). En el Cuadro 2, se muestran las reacciones no enzimáticas producidas en dulce de leche.

Cuadro N° 2. Reacciones no enzimáticas en dulce de leche

Mecanismo	O ₂	Sustrato	T° elevada	pH óptimo	Producto
Caramelización	No	Azúcar reductor	Si	Alcalino / ácido	Caramelo
Maillard	No	Azúcar reductor + amino	No	Ligeramente alcalino	Melanoidinas

Fuente: González (2014)

La reacción de caramelización ocurre cuando los azúcares se calientan por encima de su punto de fusión dando lugar a la aparición de reacciones de enolización, deshidratación y fragmentación, que provocan la formación de derivados furánicos que forman pigmentos macromoleculares oscuros. Si se trata de disacáridos debe existir una hidrólisis previa. Se efectúa tanto a pH ácidos como alcalinos (González, 2014).

González (2014) expresa que se distinguen dos tipos de caramelización:

- Caramelización en medio ácido: se produce deshidratación de los azúcares y posterior polimerización. El caramelo obtenido es oscuro y tiene poco aroma
- Caramelización en medio alcalino: se producen isomerizaciones de los azúcares y fragmentaciones de las cadenas. El caramelo obtenido es más claro que el anterior pero tiene menos aroma.

Las reacciones de Maillard son las responsables del color característico del dulce de leche. En determinadas condiciones la función aldehído de los azúcares reacciona con diversas sustancias nitrogenadas (amoníaco, aminos, aminoácidos). Esta reacción puede verificarse entre la lactosa y las proteínas de la leche. Cuando se calienta la leche, manteniendo la temperatura durante un cierto tiempo, y como consecuencia de un conjunto de reacciones no muy bien conocidas, agrupadas genéricamente bajo el nombre de “Reacción de Maillard”, se forman algunos compuestos pigmentados que oscurecen el medio (Zunino, 2013).

González (2014) indica que la reacción de Maillard se desarrolla en 3 etapas:

Etapas I: incoloro, no hay absorción de la luz ($T^{\circ} < 100^{\circ}C$)

- Condensación grupo amino-azúcar
- Rearreglo de Amadori

Etapas II: sin color o amarillo, fuerte absorción de luz UV cercana.

- Deshidratación de los azúcares
- Fragmentación de los azúcares
- Degradación de aminoácidos (formación de reductonas)

Etapas III: altamente coloreado, degradación de Strecker.

- Polimerización del amino-aldehído

Los factores que afectan la reacción de Maillard son:

- Tipo de Hidrato de Carbono: Los monosacáridos dan una reacción más intensa que los disacáridos, siendo las pentosas las que mejor reaccionan. Los azúcares no reductores son inactivos y no pueden reaccionar.
- Tipo de aminoácido o proteína: mientras más simple sea el aminoácido mayor será la intensidad del color.
- Tiempo y temperatura de cocción: Al aumentar la temperatura y el tiempo de cocción la reacción se ve incrementada.
- pH: es más favorable dentro de condiciones alcalinas.
- Actividad de agua: Los alimentos de humedad intermedia, con valores de aw de 0.6 a 0.9, con los que más favorecen esta reacción.
- Presencia de inhibidores: los más comunes son los sulfitos, metasulfitos, bisulfitos y anhídrido sulfuroso (González, 2014).

2.3. Defectos y alteraciones del dulce de leche

El dulce de leche puede presentar defectos de tres tipos: de textura, de apariencia y de sabor (González, 2014).

2.3.1. Defectos de textura

- Producto poco consistente: alto contenido de agua aparece como consecuencia de buscar altos rendimientos.
- Producto muy consistente: elevada concentración de sólidos lácteos, uso inadecuado de espesantes.
- Producto ligoso: alta concentración de glucosa, balance inapropiado de sólidos.
- Cristalización de la sacarosa: Defecto conocido como azucaramiento del dulce de leche y motivado principalmente por las siguientes causas:
 - Excesiva concentración de sólidos solubles
 - Superficie de evaporación amplia y mal protegida
 - Ausencia de glucosa
 - Excesiva cantidad de sacarosa
 - Almacenaje prolongado
 - Almacenaje a bajas temperaturas
- Cristalización de la lactosa: los cristales de lactosa son de tamaño relativamente grandes y translúcidos y se presentan por varias causas: ausencia de glucosa; inadecuada proporción de humedad; superficie de evaporación amplia y mal protegido en los envases; enfriamiento lento del dulce de leche al final del procesamiento, llenado de los envases a una temperatura superior a 55°C.

2.3.2. Defectos de apariencia

- Presencia de sinéresis: Producida por la excesiva humedad del dulce (encima de 35%) o por acción de la excesiva acidez del medio, fenómeno motivado principalmente por el uso de leches contaminadas con bacterias proteolíticas.

- Color extremadamente oscuro: Motivado por un exceso del tiempo de cocción, exceso de glucosa en el dulce, falta de presión de vapor durante el procesamiento, caramelización inadecuada de los azúcares y también por el uso de leches con acidez muy baja.
- Dulce de leche gomoso: Defecto que se produce a causa de la utilización de leches con un porcentaje de acidez láctica demasiado bajo, lo que puede ser natural o adquirido por medio de un exceso de neutralizante.

2.3.3. Defectos de sabor

- Muy dulce: desbalance en la formulación.
- Quemado: inadecuada distribución del calor por falta de agitación durante el proceso de elaboración.
- Aromatizante: producto muy aromatizado por desbalance en la formulación.
- Agresividad residual: exceso de vainilla y falta de materia grasa.

2.3.4. Alteraciones en dulce de leche

Senati (2007) describe las principales alteraciones que se pueden presentar en el dulce de leche.

- Fermentaciones: La presencia de levaduras se pone de manifiesto en aquellos dulces de leche que no han sido esterilizados en envases de cierre hermético. Esta alteración se produce a causa del ataque de las levaduras a la lactosa, que como consecuencia se

- degrada con formulación de alcohol etílico, anhídrido carbónico y otras sustancias secundarias que le confieren sabores y olores desagradables al producto.
- Desarrollo de mohos y bacterias: alteración que se presenta como consecuencia de una excesiva humedad en el dulce de leche además de una deficiente higiene en el procesamiento. La temperatura y tiempo de elaboración del producto fabricado a presión normal no alcanza a destruir las esporas introducidas en la leche.

2.4. Edulcorantes

El término edulcorante, hace referencia a aquel aditivo alimentario que es capaz de mimetizar el efecto dulce del azúcar y que, habitualmente, aporta menor energía. Algunos de ellos son extractos naturales mientras que otros son sintéticos, en este último caso se denominan edulcorantes artificiales (García - Almeida y otros, 2013).

De todas formas, reemplazar la sacarosa en alimentos y bebidas por edulcorantes presenta una gran variedad de cambios que deben ser evaluados en términos tecnológicos debido a las diferencias que existe entre ellos, pudiendo destacarse las distintas propiedades, ya sea físicoquímicas o de sabor, así como el poder edulcorante, con la posibilidad de ser utilizados en mucha menor concentración (Cooper, 2012).

La sacarosa es el principal edulcorante proveniente de la caña de azúcar y la remolacha, es el azúcar más abundante que se encuentra en los alimentos. Tiene un aporte calórico de 4 Kcal/g y aporta propiedades funcionales a los alimentos al tener efecto en las características sensoriales (sabor de las melazas),

físicas (cristalización, viscosidad), microbianas (preservación, fermentación) y químicas (Maillard, caramelización, antioxidación), entre otras (Valencia y otros, 2008).

El edulcorante comúnmente empleado en la elaboración de dulce de leche es la sacarosa, que se refiere a azúcar de caña. Además de su importancia como componente del sabor típico del dulce de leche tiene un papel clave en la determinación del color final, consistencia y cristalización (Zunino, 2013).

Los edulcorantes son utilizados como sustitutos del azúcar en los tratamientos contra el sobrepeso y la diabetes, enfermedades que pueden conducir al desarrollo de múltiples padecimientos, especialmente del tipo crónico degenerativo (Velasco y Echavarría, 2011)

Zunino (2013) indica que el jarabe de glucosa es un derivado vegetal, fácilmente digestible. Su poder edulcorante es inferior al de la sacarosa y su utilización como sustituto obedece a varias razones: es económico, agrega brillo al producto y ayuda en parte a disimular la velocidad de cristalización.

Uno de los edulcorantes naturales que se viene utilizando en los alimentos proviene de la *Stevia rebaudiana bertonii*, conocida también como “yerba dulce”, es una planta arbustiva semiperenne que se propaga naturalmente, originaria del noreste de Paraguay. Su importancia económica radica en una sustancia que posee en sus hojas denominada esteviósido, constituida por una mezcla de por lo menos seis glucósidos diterpénicos, que es de 100 a 400 veces más dulce que la sacarosa y que por sus características físico-químicas y toxicológicas permite su inclusión en la dieta humana para ser utilizada como un edulcorante dietético natural, sin efectos

colaterales. El principio activo de la stevia es el esteviósido y el rebaudiósido, que son los glicósidos responsables del sabor dulce de la planta. Estos principios aislados son hasta 300 veces más dulces que la sacarosa (Osorio, 2007).

Los compuestos responsables del dulzor de la *Stevia rebaudiana* son los glucósidos de esteviol aislados e identificados como esteviósido, esteviolbiósido, rebaudiósido A, B, C, D, E y F y dulcósido. Éstos se encuentran en las hojas de la planta en porcentajes variables en función de la especie, las condiciones de crecimiento y las técnicas agronómicas, llegando a alcanzar hasta el 15% de su composición (Gilabert y Encinas, 2014).

Los extractos purificados obtenidos de hojas de stevia contienen más del 95% de esteviósido y/o rebaudiósido A. Los alimentos procesados contienen glucósidos de esteviol que son bajos en calorías, además su dulzor es de 100 a 300 veces mayor que el de la sacarosa, mientras que el del rebaudiósido A es unas 50 a 250 veces superior. Estos glucósidos no pueden ser absorbidos en el tracto gastrointestinal, por lo que son hidrolizados principalmente por bacilos del grupo *Bacteroides* de la micro-biota intestinal (Salvador y otros, 2014).

Los glucósidos de esteviol pasan por el cuerpo sin producir ningún tipo de acumulación o impacto calórico significativos en el cuerpo. Éstos no se digieren y pasan a través del tubo digestivo alto completamente intactos. Las bacterias intestinales en el colon (*Bacterioides spp*) hidrolizan los glicósidos de esteviol en esteviol al cortar sus unidades de glucosa. Luego, el esteviol es absorbido por la vena porta y, principalmente, es metabolizado por el hígado a glucorónido de esteviol, y,

finalmente, es eliminado a través de la orina (Geuns y otros, 2007).

Osorio (2007) describe las principales características químicas que posee la estevia.

Capacidad edulcorante: el edulcorante que se obtiene es 300 veces más dulce que la sacarosa a una concentración de sacarosa del 0,4% y 110 veces más dulce que la sacarosa a una concentración de sacarosa del 10%.

Estabilidad: Es estable en un rango amplio de pH: de 3 a 9 aún a 100°C (posee estabilidad térmica a temperaturas normales de procesamiento de los alimentos). Por encima de pH 9 se produce una rápida pérdida del dulzor.

Composición: El esteviósido es un glucósido diterpeno de peso molecular = 804,80 con fórmula: C₃₈ H₆₀ O₁₈ (ver Figura 1). Puede metabolizarse de manera indirecta en el hombre por medio de las enzimas digestivas a steviol y glucosa (el steviol inhibe la fosforilación oxidativa in vitro).

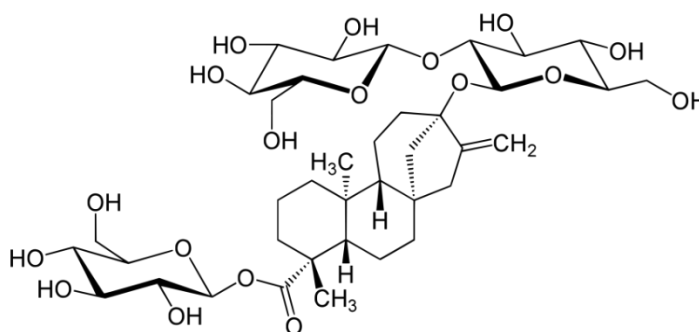


Figura 1. Fórmula del esteviósido

Soto y Del Val (2002)

El esteviósido parece tener muy poca o ninguna toxicidad aguda. Del mismo modo, el consumo crónico de esteviósido se cree que representa poco riesgo basado en los estudios en humanos.

Yamada en 1985 mostró que el consumo oral de esteviósido en cantidades elevadas como 550 mg/kg de peso corporal al día (es decir 200 veces la ingesta máxima probable de alrededor de 2 mg/kg/peso corporal/día por 2 años, no tuvo efectos tóxicos o cancerígenos en ratas. Sin embargo los efectos farmacológicos son sugeridos por otros estudios, como la reducción de la presión arterial y los niveles de glucosa en sangre. Además, el metabolito de la aglicona, el esteviol, se informó que es mutagénico y bactericida en *Salmonella typhimurium*. Por lo tanto, los efectos biológicos e interacciones adversas con fármacos se desconocen (Durán y otros, 2009).

La estevia se comercializa en forma de hoja seca, líquido concentrado, hojas pulverizadas o polvo blanco concentrado (Atencio, 2005).

- Hojas: se usan como té (en bolsitas) o se mezclan con otras hierbas como endulzante. En algunos países se vende en polvo o en bolsitas como el té. Así endulza 30 veces más que el azúcar.
- Solución acuosa concentrada: es una práctica de tomarla ya que bastan 2 gotitas en la infusión para endulzar. En ésta concentración, tiene un poder 70 veces mayor que el azúcar.
- Concentrado de Esteviósido: tiene una capacidad de endulzar 200 veces mayor al azúcar. Sin embargo esta forma priva del resto de propiedades medicinales de la planta.

Uno de los productos procesados de estevia es el extracto en polvo con 85% - 97% de glucósidos. Las hojas de estevia se procesan a través de uno de los varios métodos de extracción, normalmente con una base de agua o alcohol etílico. El polvo resultante es 200-300 veces más dulce que el azúcar. Este tipo de estevia es utilizado principalmente como edulcorante. No

todos los polvos de estevia tienen la misma calidad. El sabor, la dulzura y el costo de los diferentes polvos blancos de estevia probablemente dependerán de su grado de refinamiento y de la calidad de la planta de estevia usada (Osorio, 2007).

2.5. Agentes espesantes en dulce de leche

Estos ingredientes proporcionan propiedades específicas funcionales para incrementar la viscosidad o hacer las sustancias más espesas y se usan en pequeñas cantidades. Típicamente son fibras con bajo contenido calórico como las pectinas, goma xantana, goma de acacia o carragenina (Cooper, 2012).

La textura en los alimentos es algo tan importante como el sabor, convirtiéndose de hecho en un factor determinante en la aceptación de un producto por parte del cliente. Diferentes texturas pueden ser mejoradas o creadas mediante la adición de carrageninas (Makymat, 2013).

Los espesantes, también llamados gelificantes o hidrocoloides, corresponden a macromoléculas que se disuelven y se dispersan en el agua, causando un aumento en la viscosidad del producto. Los hidrocoloides se clasifican de acuerdo a su origen en: gomas de origen vegetal (proviene principalmente de carbohidratos) y gomas de origen animal (de naturaleza proteica). Dentro de las gomas de origen vegetal se distinguen los extractos de algas (alginatos, carragenina, agar-agar, furcelanas) (Cerníkova y otros, 2008).

La particularidad de las carrageninas es que poseen la capacidad de formar una amplia variedad de texturas de gel a temperatura ambiente, además de que pueden ser utilizadas

también como espesantes, agentes de suspensión, retención de agua, gelificación y estabilización en diversas aplicaciones de la industria alimentaria (Makymat, 2013).

Las carrageninas o carragenanos se obtienen de algas de la familia *Rhodophyceae*. Son polímeros sulfatados de galactosa unidos por enlaces $\alpha(1-3)$ y $\beta(1-4)$. Se distinguen diferentes carrageninas según el grado de sulfatación y posición de los ésteres sulfatos: kappa (k), iota (i) y lambda (l) (Cerníkova y otros, 2008).

Generalmente, las carrageninas comerciales son mezclas más o menos enriquecidas de uno u otro de estos tipos de carragenina, y de acuerdo al proceso de producción de la carragenina es que pueden ser de tipo semirefinado o refinado. Entre más refinadas sean, el gel que se obtenga a partir de esa carragenina será más transparente (Makymat, 2013).

Carragenina iota forma geles elásticos con las proteínas de la leche. La unión del polisacárido y la caseína es de tipo iónico, entre las cargas negativas del carragenano y las positivas de la zona externa de la micela. Esta asociación aumenta mucho la resistencia del gel, otorgándole estabilidad, para obtener productos sólidos, como postres lácteos, con una concentración de carragenano de solamente el 0.2% (Calvo, 2001).

Dentro de las ventajas de las carrageninas están el formar coloides espesos o geles en sistemas lácteos y/o acuosos a muy bajas concentraciones, además de reaccionar sinérgicamente con otros hidrocoloides. Es explotada sobre todo su gran propiedad para formar diferentes texturas: firmes o elásticas, frágiles o fuertes, cristalinas o turbias (Makymat, 2013).

2.6. Pruebas sensoriales en dulce de leche

La evaluación de la calidad de los alimentos comprende tanto la determinación de su calidad tecnológica a base de análisis físicoquímicos y microbiológicos como su calidad sensorial mediante la apreciación de sus caracteres organolépticos. El análisis sensorial permite determinar en forma científica y objetiva la evaluación de estos caracteres que tanto influyen en la aceptabilidad del alimento (Wittig, 2001).

Conocer la información sobre los gustos y aversiones, preferencias y requisitos de aceptabilidad por parte de los consumidores, permite el desarrollo de nuevos alimentos, la mejora de la calidad de los existentes, entre otros, para esto es necesario aplicar el análisis sensorial (AS), específicamente métodos de análisis denominados pruebas orientadas al consumidor (POC) (Ramírez-Navas y otros, 2014).

Las pruebas orientadas al consumidor de preferencia y de aceptación, son de fácil realización. Son un componente valioso y necesario de todos los programas sensoriales. La aceptabilidad de un producto generalmente indica el uso real del producto, con relación a la compra y consumo. Las pruebas recomendadas para la mayoría de estudios, o en proyectos de investigación estándar, donde el objetivo es simplemente determinar si existe preferencia por un producto en particular o diferencias entre los productos en la aceptación del consumidor, son las POC de preferencia (prueba de comparación) o las POC de aceptación (escala hedónica de 9 puntos) (Ramírez-Navas, 2012).

Uno de los procesos del análisis sensorial corresponde a la masticación del alimento, donde se somete a fuerzas complejas,

se rompe y se hace digerible, transmitiéndose información de varios receptores sensoriales de la boca a partes específicas del cerebro, donde se integra con otras informaciones recibidas, así como los datos almacenados en la memoria para dar una impresión general de textura. La textura tiene una importancia fundamental en la producción y posterior aceptación del alimento por parte del consumidor (Quezada, 2009).

Otro parámetro sensorial es el olor, el cual se define como la sensación percibida por los receptores olfativos, que proviene de compuestos volátiles contribuyendo al aroma o fragancia de un alimento. El gusto corresponde a la sensación percibida por las papilas gustativas de la lengua y la cavidad bucal, donde se distingue: dulce, amargo, salado y ácido. Por otra parte, el sabor es la sensación percibida por el olfato y el gusto en conjunto, sin desconocerse la estimulación simultánea de los receptores sensoriales de presión, y los cutáneos de calor, frío y dolor (Quezada, 2009).

Los jueces corresponde a un panel de consumidores que no están relacionadas con la prueba, no son entrenados y forman parte del universo de la población objetivo, los cuales mediante escala hedónica evalúan el nivel de aceptación o rechazo de las muestras de dulce de leche (Ramírez – Navas, 2014).

Respecto a la presentación de las muestras, Valencia y Milán (2009) indican que se deben presentar en cucharas descartables, debidamente codificadas y colocadas sobre una bandeja de poliestireno. Las características sensoriales que destacan en esta prueba son: color, sabor y textura.

Roca (2011) explica que para el análisis de sabor, los panelistas deben usar una cuchara de plástico y para la textura o viscosidad

es necesario untar el manjar en una galleta con ayuda de una paleta de madera, luego deben percibir el olor y observar los colores indicando si las muestras son o no de su agrado.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

- Laboratorios de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Privada Antenor Orrego.

3.2. Materiales

- Leche fresca de vaca procedente del establo “Aeropuerto” en el distrito de Huanchaco.
- Azúcar blanca, marca “Cartavio”
- Estevia cristalizada, marca “Endulzante Natural”
- Carragenina iota, marca “Carralact”
- Glucosa, marca “Linros”
- Bicarbonato de sodio, marca “Erza”
- Hidróxido de sodio 0.1 N
- Fenolftaleína solución alcohólica 1%
- Fehling A y B.
- Hidróxido de Sodio (NaOH 6N)
- Ácido Clorhídrico concentrado (HCl)

- EtilenDiaminoTetraAcético (EDTA)

3.3. Equipos e instrumentos

- Termómetro digital de pinchar modelo Checktemp-c. Rango - 50 +150 °C. Precisión: ± 0.3 °C
- pH metro marca Oakton. Rango 0.00 – 14.00 pH.
- Lactodensímetro. Rango: 1.015 – 1.040 g/mL.
- Refractómetro portátil marca Link Modelo RHB-32ATC. Rango 30 – 60 °Brix, aprox. ± 0.5 %.
- Refractómetro portátil marca Atago. Modelo Master 3M. Rango 58.0 – 90.0 °Brix, aprox. ± 0.5 %.
- Balanza electrónica, marca Ohaus. Modelo SPJ6001. Capacidad 6000 g, aprox. 0.1 g.
- Balanza electrónica, marca Ohaus. Modelo TAJ602. Capacidad 600 g, aprox. 0.01 g.
- Colorímetro Konika Minolta CR-400.
- Cocina semi-industrial marca Surge.
- Reómetro digital marca Brookfield modelo RVDV-III+ rango 0 – 100 rpm.
- Criotermostato de circulación, marca JP Selecta, a 65 °C.
- Paila de cobre estañada.

3.4. Métodos

3.4.1. Esquema experimental

En la Figura 2, se muestra el esquema experimental para la investigación sobre dulce de leche. Las variables independientes son: tres porcentajes de sustitución de sacarosa (12.5, 25 y 50%) por estevióside (0.023, 0.045 y 0.090%) y dos concentraciones de carragenina (0.025 y 0.05%). Las variables dependientes a evaluar fueron:

color instrumental, viscosidad aparente, contenido de azúcares y aceptabilidad general del dulce de leche.

3.4.2. Fomulación experimental

En el Cuadro 3, se presenta las formulaciones para la elaboración de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina.

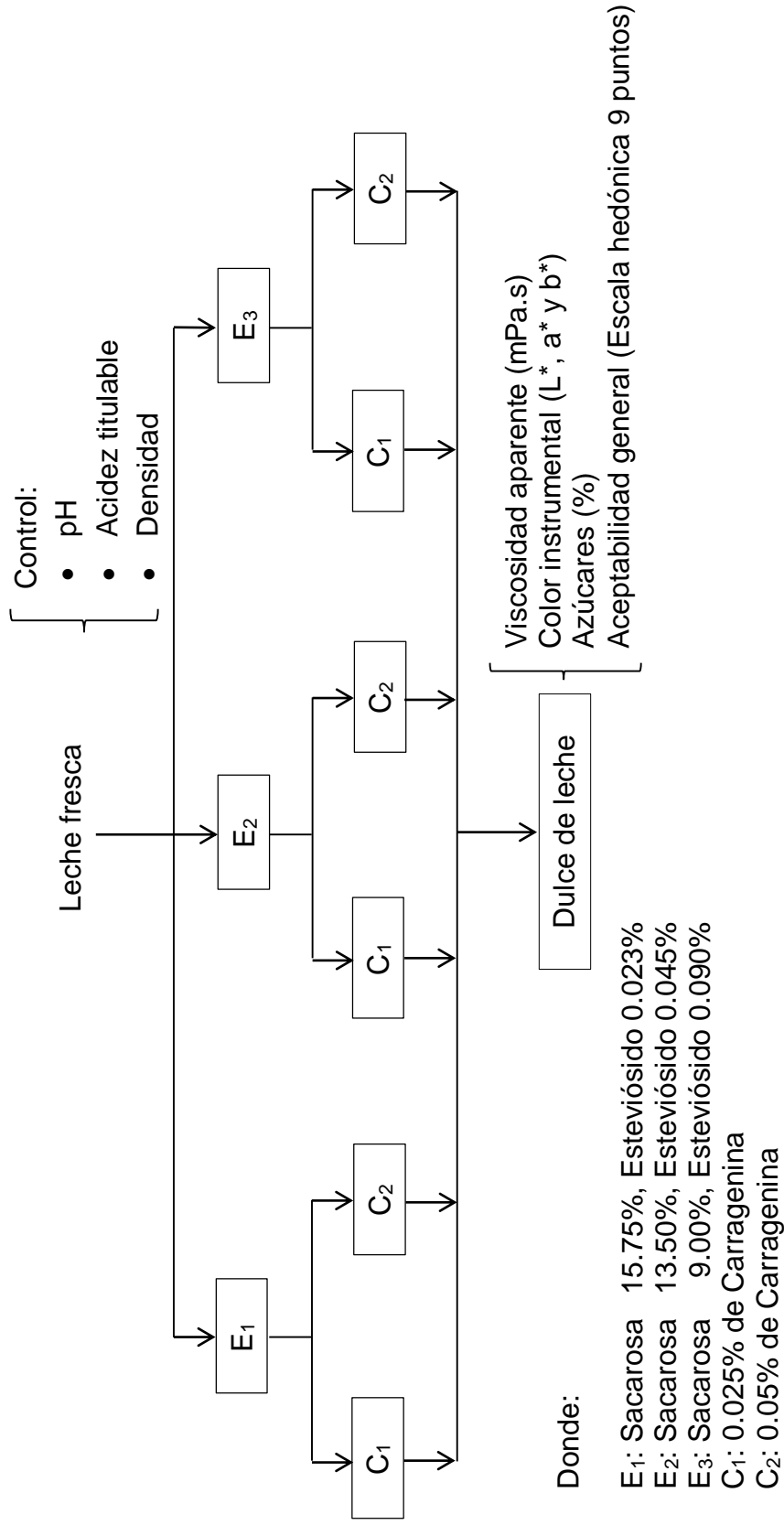


Figura 2. Esquema experimental para la investigación de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevioso.

Cuadro 3. Formulaciones para la elaboración de dulce de leche.

Ingredientes	Form. Básica	Sustitución de sacarosa por el equivalente en esteviósido (en porcentaje)					
		12.50%	12.50%	25%	25%	50%	50%
Leche	83.30	83.30	83.30	83.30	83.30	83.30	83.30
Sacarosa	14.99	13.12	13.12	11.25	11.25	7.50	7.50
Esteviósido	0	0.019	0.019	0.037	0.037	0.075	0.075
Glucosa	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67	1.67
Bicarbonato de sodio	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Carragenina	0	0.021	0.042	0.021	0.042	0.021	0.042
TOTAL	100	98.170	98.191	96.318	96.339	92.606	92.627

Fuente: Basado en FAO (2006).

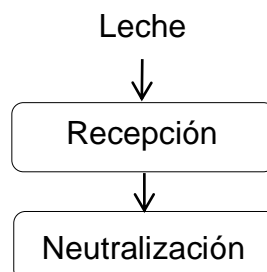
3.4.3. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de dulce de leche

En la Figura 3 se presenta el diagrama de flujo para la elaboración de dulce de leche. Se emplea el método descrito por Montero (2000).

A continuación se describe cada operación de la Figura 3, para la obtención de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina.

Recepción: Se evaluaron las características de densidad (1.030 – 1.033 g/mL), acidez (15 – 18 °Dornic) y pH (6.6 – 6.8) para realizar las correcciones de la formulación y determinar la calidad de la materia prima.

Neutralización: Se agregó 0.046% de bicarbonato de sodio (en base a la cantidad de leche procesada) para regular la acidez de la leche.



Bicarbonato de sodio →

Glucosa →
Carragenina →

Figura 3. Diagrama de flujo de la elaboración de dulce de leche.

Calentamiento: Se calentó el producto hasta llegar al punto de ebullición (100.15 – 100.17 °C), pero evitando un calentamiento brusco. Se agitó continuamente para distribuir mejor el calor y evitar la formación de capas finas de grasa en la superficie de la leche.

Mezcla de ingredientes: Se agregó a la leche en ebullición el azúcar y estevióside, alcanzando aproximadamente 35 °Brix.

Concentración: La mezcla se calentó hasta alcanzar 63 °Brix, que fueron medidos con el refractómetro. En esta etapa se requirió evaporar una gran cantidad de agua de la leche. Casi al final del proceso se añadió la glucosa previamente disuelta en leche caliente (1:10). La carragenina también se agregó al final del proceso disuelta en leche caliente. Cuando la mezcla comenzó a espesar se hicieron mediciones continuas hasta alcanzar los sólidos solubles indicados.

Pre enfriamiento: Se apagó la fuente de calor y con una paleta se batió vigorosamente el producto para acelerar el enfriamiento y también incorporar aire que determinó el color final del producto.

Envasado: El dulce de leche se envasó a 50 - 60 °C. Usando envases de vidrio de boca ancha con capacidad de 500 g. para una mejor conservación.

Almacenamiento: El producto se mantuvo a temperatura ambiente por 10 días.

3.5. Métodos de análisis

3.5.1. Acidez titulable. Se empleó el método por volumetría. La acidez titulable de la leche se determinó con hidróxido de sodio 0.1 N en presencia de fenolftaleína como indicador y se expresó como porcentaje de ácido láctico. (AOAC 947.05: 2005).

3.5.2. pH. Los valores de pH de la leche fueron medidos mediante inmersión directa a través de un electrodo, utilizando el pHmetro manual, marca Oakton, previamente calibrado (Valencia y otros, 2008).

3.5.3. Densidad. Se empleó el método del lactodensímetro. Se sumergió el lactodensímetro, máximo en un centímetro de la línea de aforo de la probeta que contenía la leche. Se esperó que el lactodensímetro quede en equilibrio para realizar la lectura del resultado indicado en la escala del instrumento. Como la lectura se efectuó a una temperatura diferente a 15 °C, se corrigió la densidad relativa leída, añadiendo 0.0002 por cada grado por encima del valor mostrado (AOAC 925.22: 2005)

3.5.4. Viscosidad aparente. Se empleó un reómetro rotacional Brookfield modelo DV- III+, con husillo N° 27 a 50 RPM. La medición se realizó a 65 °C empleando 10 gramos de dulce de leche como muestra. Los resultados de la lectura del reómetro se expresaron en mPa.s (Andrade y otros, 2009).

3.5.5. Color instrumental. Se empleó un colorímetro Konika Minolta, modelo CR-400, empleando la escala de color CIELa*b*. Se evaluaron los parámetros L* (luminosidad), a* (rojo – verde) y b* (amarillo – azul). (Novoa y Ramírez - Navas, 2012).

3.5.6. Determinación de azúcares. Se utilizó el método de Lane-Eynon que se basa en la determinación del volumen de una disolución de la muestra, que se requiere para reducir completamente un volumen conocido del reactivo alcalino de cobre. El punto final se determinó por el uso de un indicador interno, azul de metileno, el cual es reducido por un exceso de azúcar reductor (AOAC 923.09:2005).

Los reactivos empleados en esta prueba, deben ser grado analítico a menos que se indique otra cosa: solución de Fehling, Ácido clorhídrico (HCl 6.35 N y 0.1 N), Hidróxido de sodio (NaOH 20%), azul de metileno, EDTA, fenolftaleína, muestra problema y agua destilada.

Preparación de muestra de azúcar:

- Se pesaron 30 g de muestra problema en una cápsula y se transfirieron a un balón de 250 mL.
- Se aforó a 250 mL con agua destilada.
- Se agregaron 0.25 g de EDTA para descalcificar.
- Se filtró la solución para eliminar sólidos en suspensión. Eliminando los primeros mililitros de filtrado enjuagando el vaso.
- El filtrado fue la solución "A".

Azúcares reductores iniciales

- La solución "A" fue colocada en una bureta y se procedió a titular la solución de Fehling.

Azúcares reductores totales

- De la solución "A" se tomaron 10 mL y fueron transferidos a una fiola de 100 mL.
- Agregamos aproximadamente 10 mL de agua destilada.
- Se mezcló suavemente, adicionando 5 mL de HCl 6.35 N.
- La muestra fue colocada en baño María hasta que llegó a 65 – 70 °C.
- Se adicionó 5 mL más de HCl 6.35 N.
- Se retiró la muestra del baño maría, dejando reposar durante 30 minutos.
- Se agregaron 3 – 4 gotas de fenolftaleína.
- La solución se neutralizó con NaOH 20% hasta viraje rosado.
- Se enfrió la muestra, luego se neutralizó el exceso de soda con gotas de HCl 1N hasta llegar a incoloro.
- Finalmente se aforó a 100 mL y se mezcló, usando esta solución para titular la solución de Fehling.

Titulación

- Se colocaron 10 mL de solución de Fehling (5 mL de Fehling A y 5 mL de Fehling B) en 1 matraz de 250 mL.
- Se añadió al matraz 15 mL de agua destilada.
- La mezcla fue llevada a ebullición durante 2 minutos. Transcurrido el tiempo se adicionó 4 gotas de azul de metileno al 1% dando una coloración azul.
- Se tituló con la solución hidrolizada hasta viraje rojo ladrillo y formación de precipitado en el matraz.

Resultados:

- Azúcares reductores iniciales (ARI):

$$\% \text{ ARI} = \frac{F \times 10 \times 250}{G1 \times W \times 1000} \times 100$$

Donde:

F: factor del azúcar reductor (5.03 azúcar invertido)

G1: gasto de la solución no hidrolizada.

W: peso inicial de la muestra, en gramos.

- Azúcares reductores totales (ART):

$$\% \text{ ART} = \frac{F \times 10 \times 250 \times 100}{G2 \times W \times V \times 1000} \times 100$$

Donde:

F: factor del azúcar reductor (5.03 azúcar invertido)

G2: gasto de la solución hidrolizada.

W: peso inicial de la muestra, en gramos.

V: mL de alícuota tomada de la solución "A".

- Azúcares no reductores:

$$\% \text{ Azúcares} = (\% \text{ ART} - \% \text{ ARI}) \times 0.95$$

Donde:

% ART: porcentaje de azúcares reductores totales.

% ARI: porcentaje de azúcares reductores iniciales.

3.5.7. Aceptabilidad general. Se aplicó una escala hedónica estructurada de 9 puntos, con un total de 30 panelistas. La degustación de las seis muestras, correctamente codificadas con números aleatorios, se presentó en tapers individuales de polietileno, en los que se colocaron 4 g de producto. Se cuidó que todas las muestras tengan la posibilidad de ocupar el primer lugar, el mismo número de veces, para evitar el error por ordenamiento. Se solicitó a los panelistas que al terminar cada muestra tomen agua y coman galletas de soda sin sal, como neutralizante para evitar interferencias con el siguiente producto. (Ramírez – Navas, 2014).

3.6. Evaluación estadística

Se utilizó un diseño 3 x 2 con 3 repeticiones y 18 unidades experimentales. Se emplearon tres concentraciones de esteviósido: 0.023, 0.045 y 0.090% y dos concentraciones de carragenina: 0.025 y 0.05 %.

Para los valores de color instrumental, viscosidad aparente y contenido de azúcares, se empleó la prueba de Levene modificada para determinar la homogeneidad de varianzas, posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANVA), al existir diferencias significativas ($p < 0.05$) se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Duncan la cual comparó los resultados mediante la formación de subgrupos y se determinó de esta manera el mejor tratamiento. La aceptabilidad general

fue evaluada mediante la prueba de Friedman (datos relacionados).

Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de confianza del 95%. Para procesar los datos se utilizó el software especializado Statistical Package for the Social Science (SPSS) versión 22.0.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina sobre el color en dulce de leche

En la Figura 4, se muestra los valores de los parámetros de color L* (luminosidad), a* (verde – rojo) y b* (azul – amarillo) en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición

de carragenina. Se observa que a medida que aumentó el porcentaje de sustitución, el valor de L^* aumentó en un rango de 60 a 65, con tendencia a brillo blanco; el parámetro a^* presentó valores negativos comprendidos entre -5 y -6, mostrando una clara disminución de los tonos rojizos, finalmente el parámetro b^* presentó valores entre 8 y 10, aproximándose a los tonos amarillos.

Novoa y Ramírez – Navas (2012) expresan que el color del manjar blanco puede verse afectado por variaciones de los ingredientes, aditivos, métodos de procesamiento y almacenamiento. En este caso la sustitución parcial de sacarosa por esteviósido implica una disminución del contenido de sacarosa en la formulación, esto explica la obtención de un dulce de leche de color beige o crema medio con disminución de los tonos rojizos, lo cual también es explicado por Quevedo (2009), quien menciona que la reacción de Maillard se asocia a la formación de color pardo o pardeamiento no enzimático de los alimentos. Una mayor concentración de sacarosa en la leche promueve la reacción de Maillard, así como también un aumento de color por caramelización.

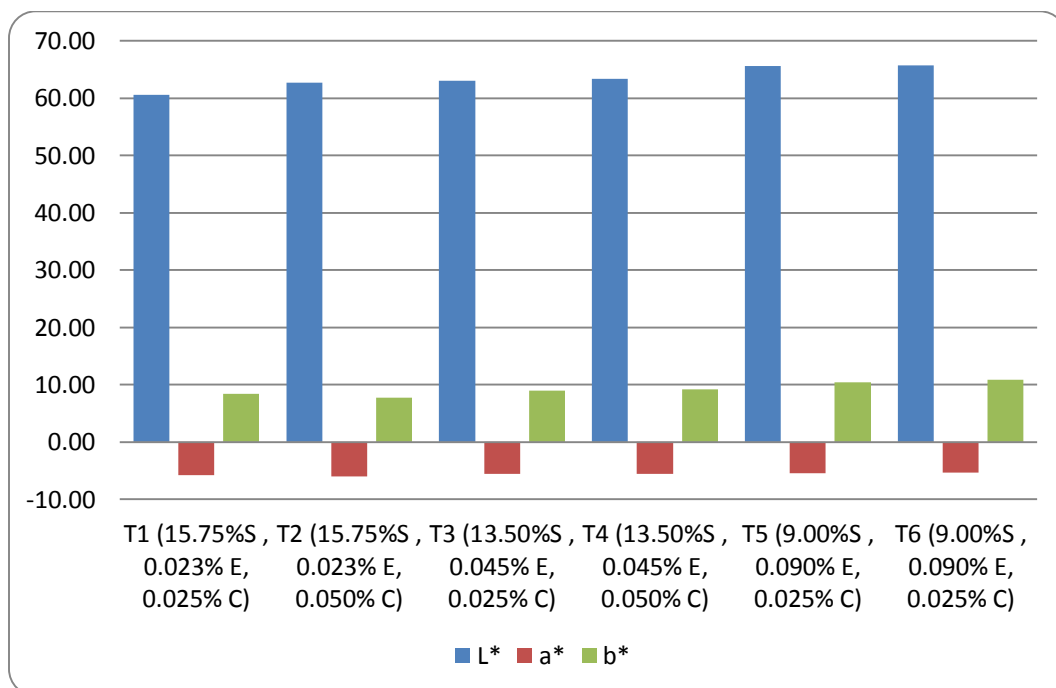


Figura 4. Valores de L*, a* y b* en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina

Quezada (2009) estudió el efecto de la concentración de carragenina iota y sacarosa en manjar sólido. Respecto a la medición de color instrumental indica que el manjar sólido se vio influenciado por la concentración de sacarosa, disminuyendo la luminosidad de las muestras al aumentar el contenido de sacarosa. El valor del parámetro a* aumentó hacia el eje positivo (color rojo) a medida que aumentó el contenido de sacarosa en el manjar sólido, la concentración de carragenina no influyó en este parámetro. El valor b* (eje amarillo) aumentó a medida que se incrementó la concentración de sacarosa. Comparando con nuestros resultados, podemos decir que la luminosidad (L*) aumentó al disminuir el contenido de sacarosa, ya que al haber menos azúcares disponibles para la reacción de Maillard, el dulce de leche presentó colores más claros. Respecto al parámetro a*, mostró una tendencia a valores

negativos y disminución de los tonos rojizos. Este parámetro se mantuvo constante para todos los tratamientos y estuvo influenciado por la sustitución parcial de sacarosa por estevia en la formulación. El contenido de carragenina no influyó en este parámetro. Finalmente para el parámetro b^* ocurrió lo contrario a lo expresado en la referencia, ya que aumentó al disminuir el contenido de sacarosa y aumentar la concentración de carragenina.

Las principales reacciones de formación de color en dulce de leche son la reacción de Maillard, la cual se produce por la interacción de la proteína de la leche y el grupo carbonilo de la sacarosa en condición de calentamiento; y la reacción de caramelización, proceso en el cual una solución concentrada de azúcar es tratada a una temperatura por sobre su punto de fusión, obscureciéndose a una coloración que va del amarillo, marrón, marrón rojizo y negro. A condiciones alcalinas el caramelo obtenido es más claro que el obtenido a condiciones ácidas (González, 2014). El dulce de leche presentó mayor coloración amarilla al aumentar el porcentaje de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido (mayor valor de b^*) ya que disminuyen los azúcares disponibles para la formación de colores pardos u oscuros y el dulce de leche tuvo un pH promedio de 6.9, cercano a la neutralidad, por ello se obtuvo un caramelo de color claro.

El dulce de leche fue elaborado a escala de laboratorio, empleando un perol de cobre, que es considerado buen conductor de calor. En base a 4 litros de leche fresca, el tiempo de ebullición fue de 40 min aproximadamente y 45 min para concentración. Al procesar poco volumen de leche, el tiempo de elaboración es menor, por lo tanto, la leche y los azúcares no están expuestos por mucho tiempo a la fuente de calor y esto influye en la coloración clara del producto final, tal como lo explican Andrade y otros (2009) la aparición del color

está influenciada por el tiempo de cocción, y este, a su vez, por el volumen de la mezcla a procesar y por la capacidad de calentamiento del equipo.

Roca (2011) expresa que el brillo aparece en las etapas finales de la concentración al momento en que el manjar empieza a tomar una consistencia más viscosa. En relación a los resultados, se puede decir que a mitad del proceso de concentración se observaron cambios en la coloración, casi en la etapa final (60 °Brix) se adicionó la glucosa, ingrediente que permite darle el brillo al producto y evita la cristalización, al llegar a los 63 °Brix se dio por terminado el proceso de concentración, obteniendo una textura untable.

En el Cuadro 4, se presenta la prueba de Levene aplicada a los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina, mostrando la existencia de homogeneidad de varianzas ($p > 0.05$), por lo tanto, se procedió a realizar el análisis de varianza. Los Cuadros 5 y 6 muestran que la sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y la adición de carragenina, no presentaron valores significativos entre los tratamientos ($p > 0.05$) sobre los parámetros de color L^* y a^* . El Cuadro 7 muestra que el porcentaje de sustitución de sacarosa por esteviósido presenta un valor significativo sobre el parámetro de color b^* y la adición de carragenina no influye sobre el mismo.

Cuadro 4. Prueba de Levene para los parámetros de color L^* , a^* y b^* de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina

Variable	F	P
----------	---	---

L*	0.806	0.567
a*	1.44	0.279
b*	2.90	0.061

Cuadro 5. Análisis de varianza para el parámetro de color L* (luminosidad) de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	P
Esteviósido (E)	48.892	2	24.446	1.973	0.182
Carragenina (C)	3.320	1	3.320	0.268	0.614
E * C	3.866	2	1.933	0.156	0.857
Error	148.650	12	12.387		
Total	204.727	17			

Cuadro 6. Análisis de varianza para el parámetro de color a* (rojo – verde) de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	P
Esteviósido (E)	0.861	2	0.431	1.282	0.313
Carragenina (C)	0.011	1	0.011	0.032	0.861
E * C	0.110	2	0.055	0.163	0.851
Error	4.032	12	0.336		
Total	5.014	17			

Cuadro 7. Análisis de varianza para el parámetro de color b* (amarillo – azul) de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	P
---------------------	-------------------	--------------------	------------------	---	---

Esteviósido (E)	19.844	2	9.922	6.125	0.015
Carragenina (C)	5.000E-05	1	5.000E-05	0.000	0.996
E * C	1.181	2	.590	0.364	0.702
Error	19.440	12	1.620		
Total	40.464	17			

En el Cuadro 8, se observa la prueba de Duncan aplicada a los valores de b* (amarillo - azul) del dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina, donde se realiza la formación de subgrupos y se aprecia que el subconjunto 2 presenta los valores más altos con 10.42 y 10.86 para los tratamientos de 50% de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido - 0.025% de adición carragenina y 50% de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido - 0.050% de adición de carragenina.

Cuadro 8. Prueba de Duncan para los valores de b* (amarillo - azul) en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

Esteviósido (%)	Carragenina (%)	Subgrupo	
		1	2
0.023	0.025	7.7333	
0.023	0.050	8.4533	
0.045	0.025	8.9467	
0.045	0.050	9.2100	
0.090	0.025		10.4200
0.090	0.050		10.8667

Para la elaboración del dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina se contó con insumos pertenecientes al mismo lote y tratando de mantener las mismas condiciones en todas la repeticiones. La disponibilidad de materia

prima de calidad permite obtener uniformidad en la apariencia de los tratamientos y como se observa en los resultados el color beige o crema medio fue uniforme en todos los tratamientos. Murillo (2008) indica que el color del manjar blanco varía normalmente entre crema claro y marrón oscuro; desde un punto de vista industrial se plantea que, más que establecer un color determinado, lo más importante es disponer de una materia prima de color uniforme que permita asegurar un producto final sin variaciones importantes en su aspecto. A la vez, el Código Alimentario Argentino (2003) expresa que el dulce de leche de bajas calorías es menos espeso y de un color más claro en relación al dulce de leche tradicional.

4.2. Efecto de la sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina sobre la viscosidad aparente en dulce de leche

En la Figura 5 se observa que la viscosidad aparente aumentó a medida que se incrementó el porcentaje de sustitución de sacarosa por estevia y la cantidad de carragenina adicionada. Quezada (2009) menciona que la carragenina iota al unirse y reaccionar con las proteínas de la leche confiere propiedades elásticas, aumentando la gomosidad del manjar.

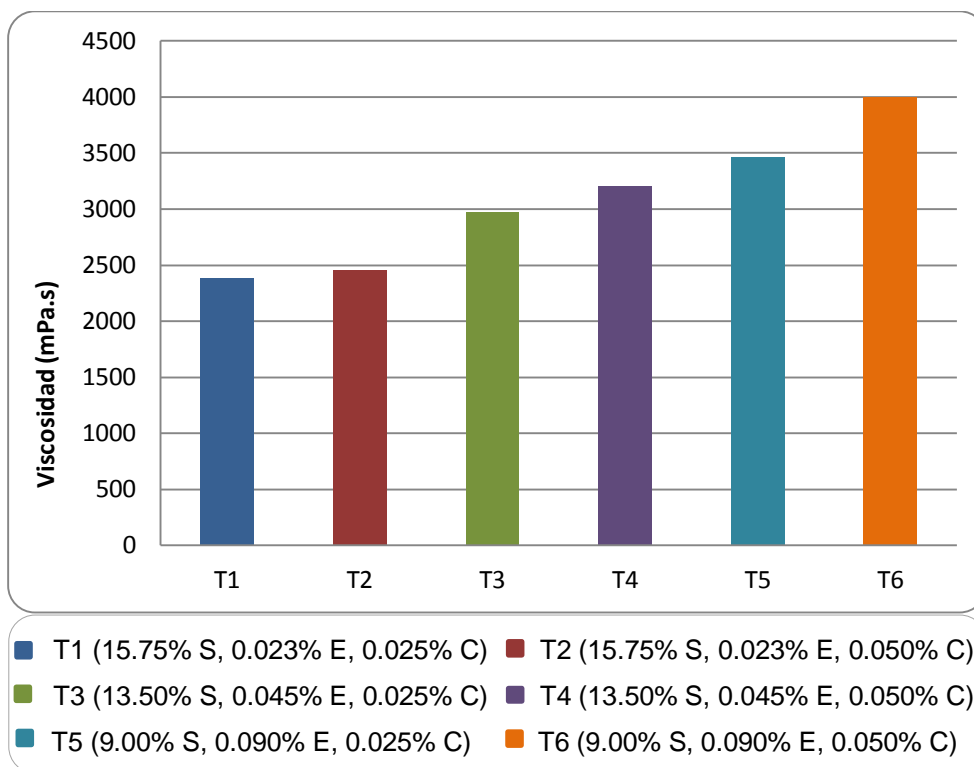


Figura 5. Valores de viscosidad aparente en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina

Los resultados de la viscosidad del dulce de leche muestran una tendencia ascendente al disminuir la cantidad de sacarosa y aumentar la cantidad de carragenina adicionada, esto se puede contrastar con los resultados de Quezada (2009), quien indica que a menores concentraciones de sacarosa y mayores niveles de carragenina iota aumenta la gomosidad, elasticidad, masticabilidad y resistencia del manjar sólido. La dureza y cohesividad del manjar sólido aumentan al incrementar la concentración de sacarosa. Al disminuir el contenido de carragenina iota en el manjar sólido, aumenta la dureza instrumental.

Murillo (2008) explica que la viscosidad del manjar blanco se ve afectada principalmente por el contenido de sólidos solubles, la

acidez de la mezcla inicial y el porcentaje de sacarosa utilizado; explicando estas tres variables el 73 – 85% de las variaciones en la viscosidad final del producto. En este caso, la leche fue neutralizada al agregar bicarbonato de sodio, por tanto el pH se mantuvo constante; el contenido de sacarosa disminuyó en los tratamientos mientras que la viscosidad aumentó, así mismo la adición de carragenina influyó en el incremento de la viscosidad. Zunino (2013) indica que la carragenina iota es de difícil disolución en soluciones concentradas de azúcar a cualquier temperatura, por ello a mayor concentración de sacarosa en la formulación, la carragenina formaba geles menos consistentes, lo cual influyó en la viscosidad final del producto.

Al sustituir parcialmente sacarosa por esteviósido el contenido de azúcares disminuye, por ello en la formulación se consideró la adición de carragenina en dos concentraciones. Los resultados muestran que el contenido de dicho hidrocoloide influye notoriamente en la viscosidad del producto. La carragenina se adicionó a mitad del proceso de concentración, al finalizar esta etapa y comenzar el batido para enfriado se pudo observar que el dulce de leche tomaba una textura untada. Quezada (2009) indica que para compensar la pérdida de viscosidad, en el desarrollo del dulce de leche, se emplean hidrocoloides como la carragenina que presenta buenas interacciones con los componentes lácteos, aunque puede tener comportamientos viscoelásticos dependientes de la agitación y la temperatura a la que es sometida.

En el Cuadro 9, se presenta la prueba de Levene para determinar la homogeneidad de varianzas de los valores de viscosidad aparente, el valor de $p > 0.05$ indica que se asumen varianzas iguales entre los tratamientos, por ello en el Cuadro 10, se presenta el análisis de la varianza en la sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y

adición de carragenina en dulce de leche, mostrando que ambos factores influyen significativamente sobre el parámetro de viscosidad ($p < 0.05$).

En el Cuadro 11, se observan los resultados de la prueba de Duncan para el parámetro de viscosidad, mostrando diferencias significativas entre los tratamientos. Se formaron seis subgrupos, siendo el de mayor promedio el tratamiento de 50% de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido - 0.050% de adición de carragenina con 3998.33 mPa.s y de menor promedio, el tratamiento de 50% de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido- 0.025% de adición de carragenina con 2388.33 mPa.s.

Cuadro 9. Prueba de Levene para los valores de viscosidad aparente de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

Variable	F	P
Viscosidad	6.625	0.503

Cuadro 10. Análisis de varianza para viscosidad de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	P
Esteviósido E	5128975.00	2	2564487.500	3256.492	0.000
Carragenina C	347222.22	1	347222.222	440.917	0.000
E * C	163052.78	2	81526.389	103.526	0.000
Error	9450.00	12	787.500		
Total	5648700.00	17			

Cuadro 11. Prueba de Duncan para viscosidad aparente en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

Esteviósido (%)	Carragenina (%)	Subgrupo					
		1	2	3	4	5	6
0.023	0.025	2388.33					
0.023	0.050		2461.67				
0.045	0.025			2973.33			
0.045	0.050				3201.67		
0.090	0.025					3466.67	
0.090	0.050						3998.33

4.3. Efecto de la sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina sobre el contenido de azúcares en dulce de leche

La Figura 6, muestra que a medida que aumenta el porcentaje de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido en los tratamientos, el porcentaje de sacarosa va disminuyendo. Caruajulca (2012) cita que la estevia contiene bioflavonoides, terpenos, steviosidos, rebaudiosidos y otros compuestos tales como minerales y esteroides. Por tanto, este edulcorante no posee grupos reductores y es no calórico, esto explica la disminución del porcentaje de sacarosa al realizar las sustituciones en el dulce de leche elaborado. Por otro lado la carragenina es un polisacárido que se extrae de algas rojas que se emplea por su capacidad para formar geles, por ello no influye en la cantidad de azúcares del producto.

La norma técnica peruana para manjar blanco (NTP 202.108:2005), indica que el porcentaje de azúcares en dicho producto debe oscilar entre 37 y 50%. Se elaboró una formulación base (18% de sacarosa, sin sustitución por esteviósido y sin adición de carragenina), a las mismas condiciones de los tratamientos evaluados, determinando

38.72% de sacarosa en su composición, encontrando este valor dentro de lo establecido por la norma técnica. En la sustitución de 12.5% se obtuvo en promedio 33.27% de azúcares; para la sustitución de 25%, 26.87% y finalmente para la sustitución de 50%, 12.87%. Estos resultados muestran una clara disminución del contenido de azúcares.

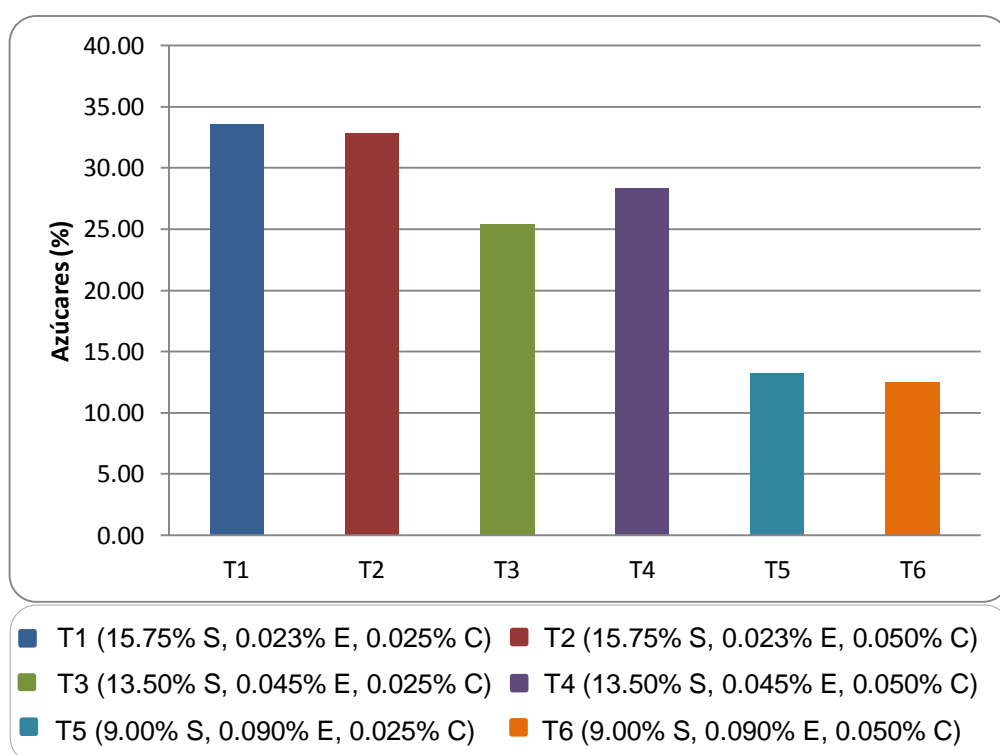


Figura 6. Valores de porcentaje de sacarosa en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

El dulce de leche presentó 65% de sólidos solubles finales, los cuales incluyen la sacarosa, la lactosa presente en la leche y la glucosa adicionada. El contenido de azúcares estuvo comprendido entre 12.47 y 33.63%. Quezada (2009) cita que el manjar o dulce de leche contiene en promedio 30% de humedad y 70% de sólidos totales, de los cuales un 44% corresponde a azúcares agregados y

26% a sólidos de leche, lo cual indica que se ha logrado reducir el contenido de azúcar en el dulce de leche.

El dulce de leche bajo en calorías tiene una reducción parcial de uno de sus componentes, los porcentajes de reducción varían de acuerdo con las normas vigentes en cada país, y generalmente, oscilan entre 25 y 33% calorías menos que el alimento original (Valencia y Milán, 2009). La muestra base presentó 38.72% de azúcares, los autores indican que la sacarosa aporta 4kcal/g, por tanto podemos decir que 100 g de dulce de leche de la formulación base aportan 154.88 kcal. La sustitución de 12.5% aporta 133.04 kcal; la de 25%, 107.47 kcal y la de 50%, 51.49 kcal; logrando reducciones de 14.10, 30.61 y 33.25% de calorías.

En el cuadro 12, se presenta la prueba de Levene para determinar la homogeneidad de varianzas para los valores de azúcares, mostrando que se asumen varianzas iguales entre los tratamientos ($p > 0.05$), por lo tanto, se procedió a realizar el análisis de varianza y posteriormente la prueba de Duncan.

Cuadro 12. Prueba de Levene para los porcentajes de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

Variable	F	P
Contenido de azúcares	0.664	0.658

En el Cuadro 13, se presenta el análisis de varianza, calculado con un nivel de confianza del 95%, donde se muestra que el porcentaje de sustitución parcial de sacarosa por esteviósido presenta un efecto significativo sobre el contenido de azúcares en dulce de leche

($p < 0.05$). Respecto a la adición de carragenina, dado que el valor de p es inferior que 0.05, indica que no influye en este parámetro.

Cuadro 13. Análisis de varianza para los valores del contenido de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	P
Estevióside E	1304.939	2	652.470	440.032	0.000
Carragenina C	0.911	1	0.911	0.615	0.448
E * C	13.363	2	6.681	4.506	0.035
Error	17.793	12	1.483		
Total	1337.006	17			

En el Cuadro 14, se observa la prueba de Duncan aplicada al contenido de sacarosa de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina, donde se realiza la formación de subgrupos y se aprecia que el subconjunto 1 presenta los valores más bajos con 12.47 y 13.27% para los tratamientos de 0.090% de estevióside - 0.025% de carragenina y 0.090% de estevióside - 0.050% de carragenina, respectivamente. Como se busca una mayor reducción del contenido de azúcares presentes en el dulce de leche, se puede indicar como mejor tratamiento a 0.090% de estevióside - 0.050% de carragenina.

Cuadro 14. Prueba de Duncan para los valores del contenido de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

Esteviósido (%)	Carragenina (%)	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
0.090	0.050	12.47			
0.090	0.025	13.27			
0.045	0.025		25.43		
0.045	0.050			28.31	
0.023	0.050				32.89
0.023	0.025				33.63

4.4. Efecto de la sustitución parcial de sacarosa y adición de carragenina sobre la aceptabilidad general en dulce de leche.

La Figura 7 muestra los valores promedio de la evaluación sensorial de cada tratamiento de dulce de leche. Los panelistas no detectaron mayores diferencias entre las muestras otorgando a los tratamientos la calificación de me gusta poco y me gusta moderadamente. Pasto (2011) elaboró un dulce de leche con sustitución de sacarosa por estevia, al realizar la prueba sensorial obtuvo que el tratamiento con mayor aceptabilidad fue la formulación de 75% de sacarosa y 25% de estevia, siendo la sustitución del 100% de sacarosa por estevia la de menor aceptación. Esto indica que los panelistas muestran preferencia por los productos que contienen menor porcentaje de sustitución de sacarosa.

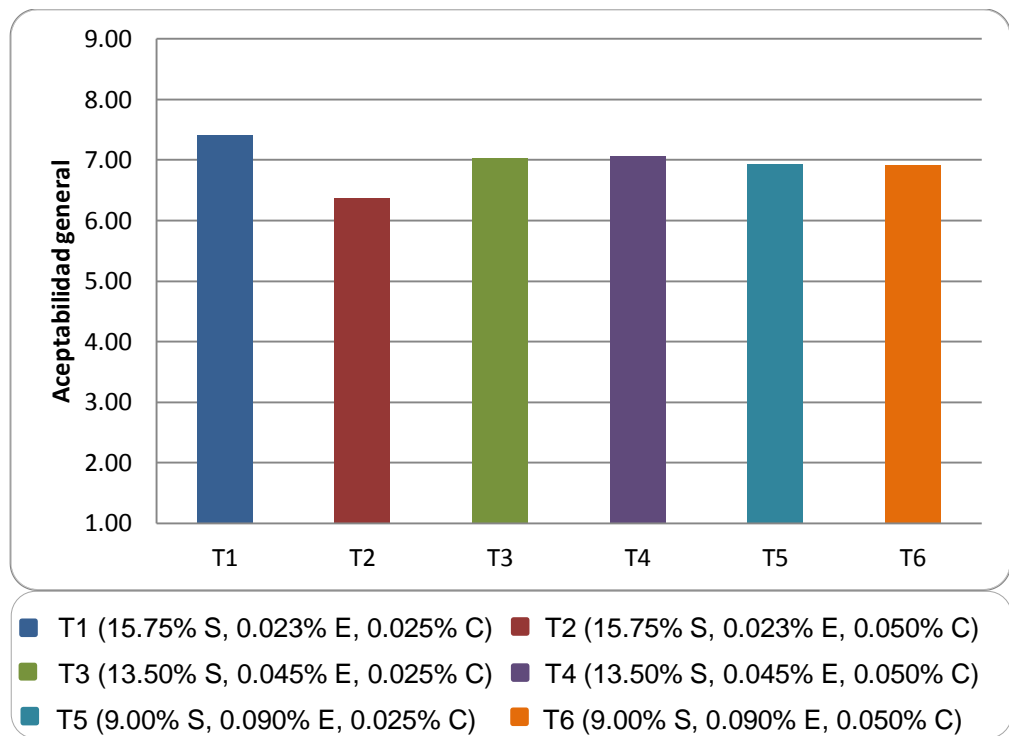


Figura 7. Valores promedio de aceptabilidad general para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

Ramírez – Navas y otros (2014) señalan que generalmente para los datos de pruebas hedónicas, se aplica análisis estadístico no paramétrico para determinar las diferencias existentes, recomendando el uso de la prueba de Friedman, equivalente al análisis de varianza. El Cuadro 15 muestra el resultado de dicha prueba, indicando que no hay diferencia significativa entre los tratamientos después de la aplicación del test a un nivel de significancia de 5% a los resultados obtenidos del análisis sensorial ($p > 0.05$). Por lo tanto, no hay efecto significativo de la sustitución de sacarosa por esteviósido y la adición de carragenina sobre la aceptabilidad general del dulce de leche.

Osorio (2007) expresa que en el caso industrial de la sustitución del azúcar por el esteviósido la proporción que generalmente se sustituye es el 30% de la sacarosa, ya que así se obtiene el máximo de sinergismo, sin que se note el sabor característico del esteviósido. De acuerdo a los resultados de la prueba de Friedman el tratamiento de 0.023% de esteviósido y 0.025% de carragenina, correspondiente a la sustitución de 12.5% del contenido de sacarosa, presenta el mayor rango promedio (3.88), sin embargo no se muestra diferencia significativa entre las muestras ($p > 0.05$), por ello, para determinar el mejor tratamiento es necesario tomar en cuenta los resultados de las características fisicoquímicas evaluadas en el producto.

Cuadro 15. Prueba de Friedman para aceptabilidad general de dulce de leche con sustitución de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina

Esteviósido (%)	Carragenina (%)	Moda	Rango promedio
0.023	0.025	8	3.88
0.023	0.05	8	2.95
0.045	0.025	8	3.57
0.045	0.05	7	3.73
0.09	0.025	7	3.62
0.09	0.05	6	3.25
Chi-cuadrado		5.55	
P		0.35	

IV. CONCLUSIONES

El porcentaje de sustitución parcial de sacarosa por estevióside y la adición de carragenina tuvieron efecto significativo sobre la viscosidad aparente, en tanto que, solo el porcentaje de sustitución de sacarosa por estevióside tuvo efecto significativo sobre el contenido de azúcares.

El porcentaje de sustitución de sacarosa por estevióside y la adición de carragenina no mostraron efecto significativo sobre los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) y el grado de aceptabilidad general en dulce de leche.

Se determinó como mejor tratamiento la sustitución del 50% de sacarosa y adición de 0.050% de carragenina, ya que obtuvo la mayor viscosidad aparente (3998.33 mPa.s), el menor contenido de azúcares (12.47%) y aceptabilidad general similar a los otros tratamientos.

V. RECOMENDACIONES

Realizar una caracterización reológica del dulce de leche ya que la viscosidad es una de las principales características de calidad del producto.

Evaluar el tiempo de vida útil de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina, tomando como referencia los atributos de calidad del producto como son actividad de agua y crecimiento de hongos y levaduras.

Realizar un análisis microbiológico durante el tiempo de almacenamiento del dulce de leche, evaluando el desarrollo de hongos.

Optimizar los porcentajes de azúcar y esteviósido en la formulación base mediante el uso del diseño de superficie de respuesta y evaluar las características fisicoquímicas y sensoriales del producto.

VI. BIBLIOGRAFÍA

Andrade, P.; Velez, H.; Arteaga, M. y Sánchez, S. 2009. Efecto de la neutralización y adición de edulcorante en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del arequipe de leche de búfala. *Vitae, Revista de la facultad de química farmacéutica*; 16 (2):201-209. Colombia.

Anzaldúa – Morales, A. 2005. *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. 2º edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.

AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th Edition. Method 923.09. Invert sugar in sugars and syrups. Lane-eynon general volumetric method.

AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th Edition. Method 925.22. Specific gravity of milk. Pycnometer method.

AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th Edition. Method 947.05. Acidity of milk. Titrimetric method.

Atencio, F. 2005. *Enciclopedia práctica de las medicinas alternativas*. Primera edición. Editorial Ediciones LEA S.A. Buenos Aires, Argentina.

Calvo, M. 2001. *Bioquímica de los alimentos*. Milk Science. Disponible en: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/carragenano.html>. Consultado el 27/04/15.

Caruajulca, D. 2012. *Efecto de la concentración de extracto de stevia (*stevia rebaudiana* bertonii) en las características fisicoquímicas y sensoriales de néctar de membrillo*. Tesis para optar el título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

Cerníková, M., F. Bunka, V. Pavlínek, P. Brezina, J. Hrabec and P. Valásek. 2008. Effect of Carrageenan type on viscoelastic properties of processed cheese. *Food Hydrocolloids*; 22(6):1054-1061.

Cifuentes, A. 1982. Elaboración de dulce de leche: Una alternativa de bajo costo para aprovechar excedentes. *El Campesino*. 113(5): 28-33.

Cooper, J. 2012. Nutrición y salud: reformulación de productos – ¿se puede reemplazar el azúcar en alimentos?. *Revista Internacional del Azúcar*; 114 (16):642 – 645.

Durán, S., Rodríguez, M., Cerdón, K. y Record, J. 2012. Estevia (*stevia rebaudiana*), edulcorante natural y no calórico. *Nutrición y Alimentación*; 39(4): 203-206.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2006. Fichas técnicas: Procesados lácteos. Disponible en: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/inpho/documents/PROCESADOS-LACTEOS.pdf>. Consultado el 29/03/15.

García - Almeida, J., Casado, G. y García, J. 2013. Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de Regulación. *Nutrición Hospitalaria*; 28 (4):17 – 31.

Geuns, J.; Buyse, J.; Vankeirsbilck, A; Temme, E. 2007. Metabolism of stevioside by healthy subjects. *Experimental biology and medicine*; 232(1): 164-173.

Gilabert, J.; Encinas, T. 2014. De la stevia al E-960: un dulce camino. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. Universidad Complutense de Madrid. Reduca (Recursos Educativos). Serie Congresos Alumnos 6: 305-311.

González, A. 2014. Tecnología del dulce de leche. Universidad de La República. Uruguay. Disponible en: <http://www.fvet.edu.uy/sites/defa>

ult/files/cytleche/Teorico%20Dulce%20de%20Leche%20orientado%202014.pdf. Consultado el 20/06/2016.

Gutierrez, A. 2014. Desarrollo de dulce de leche (Arequipe) de bajo contenido calórico con utilización de sucralosa y polidextrosa. Tesis para optar el título de Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Colombia.

Indecopi. 2005. NTP 202.108:2005 Leche y productos lácteos. Manjar blanco. Requisitos. 2° edición. Lima, Perú.

Keating, P. y Gaona, H. 1999. Introducción a la lactología. 2° Edición. Editorial Limusa. México.

Makymat. 2013. Buscando la textura adecuada: Carrageninas. Boletín técnico. Disponible en: <http://www.makymat.com/contenido/archivospdf/TexturaCarrageninas.pdf>. Consultado el 18/04/2016.

Martín, Q., Cabero, M. y De Paz, Y. 2008. Tratamiento estadístico de datos con SPSS. Thomson Editores Spain. Madrid. España.

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 2003. Código Alimentario Argentino. Capítulo VIII: Alimentos Lácteos. Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/marco/marco2.php>. Consultado el 26/04/15.

Montero, R. 2000. Manjarblanco. Proyecto San Martín. ITDG – Perú, CEPCO. Lima, Perú.

Murillo, L. 2008. Desarrollo y caracterización sensorial y fisicoquímica de un dulce de leche sin grasa y sin azúcar elaborado a nivel de laboratorio. Tesis de licenciatura en alimentos. Universidad de Costa Rica. Costa Rica.

Novoa, D. y Ramírez – Navas, J. 2012. Caracterización colorimétrica del manjar blanco del valle. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*; 10(2): 54 – 60.

Osorio, C. 2007. *Estevia el dulce sabor de tu vida*. Bogotá Community College. Bogotá, Colombia.

Pasto, Y. 2011. Estudio del efecto de la sustitución parcial de sacarosa por estevia (edulcorante natural) en la elaboración de dulce de leche. Tesis para optar el título de Ingeniera en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.

Quezada, J. 2009. Efecto de la concentración de iota-carragenina y sacarosa en el color, textura y características organolépticas de manjar sólido. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción. Chillán. Chile.

Ramírez - Navas, J. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *Revista RECITEIA*, 12(1): 83-102.

Ramírez – Navas, J., Murcia, L. y Castro, V. 2014. Análisis de aceptación y preferencia del manjar blanco del valle. *Biotecnología en el Sector agropecuario y Agroindustrial*; 12(1): 20–27.

Roca, E. 2011. Determinación del mejor proceso de elaboración de dulce de leche a partir de la sustitución parcial o total de leche fresca por leche en polvo. Tesis de grado para obtener el título de Ingeniera de Alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador.

Rovedo, C., P. Viollas and C. Suarez. 1991. The effect of pH and temperatura on the rheological behavior of dulce de leche, a typical dairy argentine product. *Journal Dairy Scient*; 74(5): 147-152.

Salvador, R., Sotelo, M. y Paucar, L. 2014. Estudio de la estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. *Scientia Agropecuaria*; 5(2014): 157-163.

Senati. 2007. Elaboración de manjar blanco. Disponible en: http://infolactea.arquea.works/biblioteca_detail.php?bib_id=413&catbib_id=12 Consultado el 26/04/15.

Soto, A. y Del Val, S. 2002. Extracción de los principios edulcorantes de la *Stevia rebaudiana*. *Ciencias Agrarias y Tecnología de los alimentos*; 20: 5-9.

Torresani, M. 2007. Edulcorantes. Sociedad Argentina de Nutrición. Disponible en: http://www.sananutricion.org.ar/files/upload/files/edulcorantes_0.pdf. Consultado el 27/04/2015.

Valencia, F., Millán, L. 2009. Estimación de la vida útil de un arequipe bajo en calorías. *Lasallista de Investigación*; 6(1): 9-15. Colombia.

Valencia, F.; Millán, L. y Ramírez, N. 2008. Evaluación de los efectos en las propiedades fisicoquímicas, sensoriales y texturales de polidextrosa, fructosa y sorbitol como sustitutos de azúcar en la elaboración de arequipe. *Revista Lasallista de Investigación*; 5(2): 20 – 27.

Velasco, O.; Echavarría, S. 2011. Edulcorantes utilizados en alimentos. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Disponible en: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/8166/Manuscrito%203%20Edulcorantes2012%20O.%20Velasco.pdf?sequence=1>. Consultado el 23/04/2016

Yañez, M., Sánchez, E., Martínez, C. y Herman, E. 2006. Modelación matemática del efecto de la temperatura y tiempo en la determinación de azúcares totales y reductores en miel de abeja. Tuxtepec, México.

Wittig, E. 2001. Evaluación sensorial: una metodología actual para tecnología de alimentos [en línea]. Biblioteca digital Universidad de Chile. Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/wittinge01/index.html. Consultado el 25/04/2016.

Zunino, A. 2013. Dulce de leche. Aspectos básicos para su adecuada elaboración Ministerio de Asuntos Agrarios. Departamento Fiscalización de Industrias Lácteas. Buenos Aires. Argentina.

VII. ANEXOS

ANEXO 1. Características fisicoquímicas de leche fresca

Repetición	pH	Acidez (% ácido láctico)	Densidad (g/mL)
1	6.7	0.16	1.029
2	6.8	0.16	1.028
3	6.7	0.18	1.028

ANEXO 2. Equivalente esteviócido y cálculos de sustitución de sacarosa en dulce de leche.

Equivalente esteviócido (información obtenida de etiqueta del producto)

0.1 g de stevia en polvo = 10 g de sacarosa

0.1 g de estevia en polvo $\begin{cases} \rightarrow 0.0535 \text{ g de Carbohidratos} \\ \rightarrow 0.0465 \text{ g de esteviócido} \end{cases}$

Poder Edulcorante: 0.0465 g de esteviócido = 10 g de sacarosa

PE = 215.05

Cálculos de sustitución:

Para 12.5%:

0.1 g de estevia cristalizada --- 10 g de azúcar
X --- 22.5 g de azúcar

X = 0.225 g de
estevia cristalizada
= 0.0225%

Para 25%:

0.1 g de estevia cristalizada --- 10 g de azúcar
X --- 45 g de azúcar

X = 0.450 g de
estevia cristalizada
= 0.045%

Para 50%:

0.1 g de estevia cristalizada --- 10 g de azúcar
 X --- 90 g de azúcar

$X = 0.90 \text{ g de estevia cristalizada} = 0.090\%$
--

ANEXO 3. Valores de parámetro L* para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina.

Repetición	E1		E2		E3	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
1	61.62	64.22	65.67	66.17	70.04	71.45
2	61.52	65.02	63.21	63.25	65.58	65.02
3	58.74	59.12	60.41	60.91	61.41	60.77
Promedio	60.63	62.79	63.1	63.44	65.68	65.74

ANEXO 4. Valores de parámetro a* para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina.

Repetición	E1		E2		E3	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
1	-5.19	-6.38	-6.04	-6.05	-5.49	-5.92
2	-6.86	-6.01	-5.06	-5.46	-5.86	-4.78
3	-5.26	-5.6	-5.44	-5.25	-4.94	-5.13
Promedio	-5.77	-5.99	-5.51	-5.59	-5.43	-5.28

ANEXO 5. Valores de parámetro b* para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina.

Repetición	E1		E2		E3	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
1	10.04	7.71	7.96	8.65	11.9	12.35
2	7.44	7.86	10.73	9.39	10.14	11.4
3	7.88	7.63	8.15	9.59	9.22	8.85
Promedio	8.45	7.73	8.94	9.21	10.42	10.87

ANEXO 6. Valores de viscosidad para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina.

Repetición	E1		E2		E3	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
1	2370	2450	2905	3195	3450	3980
2	2415	2470	3010	3210	3480	4005
3	2380	2465	3005	3200	3470	4010
Promedio	2388	2462	2973	3202	3467	3998

ANEXO 7. Valores del porcentaje contenido de azúcares en dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por estevióside y adición de carragenina.

Repetición	E1		E2		E3	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
1	34.51	32.95	24.51	28.94	14.16	13.44
2	32.24	34.84	26.55	28.50	13.56	12.25
3	34.13	30.89	28.50	27.50	12.10	11.72
Promedio	33.63	32.89	25.42	28.31	13.27	12.47

ANEXO 8. Presentación de muestras de dulce de leche para prueba de aceptabilidad general.



ANEXO 9. Aceptabilidad general de dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina (S: sacarosa, E: esteviósido, C: carragenina).

Panelista	T1	T2	T3	T4	T5	T6
	15.75% S 0.023% E 0.025% C	15.75% S 0.023% E 0.050% C	13.50% S 0.045% E 0.025% C	13.50% S 0.045% E 0.050% C	9.00% S 0.090% E 0.025% C	9.00% S 0.090% E 0.050% C
	879	856	220	338	180	129
1	9	7	8	7	8	6
2	7	8	9	7	4	8
3	8	4	9	8	4	9
4	8	8	9	9	7	8
5	7	5	9	6	6	5
6	8	5	8	6	7	6
7	9	6	7	9	7	8
8	9	8	8	9	7	7
9	8	9	8	9	9	9
10	7	8	6	4	9	7
11	7	8	6	7	9	7
12	8	6	9	7	9	6
13	6	6	4	7	7	6
14	6	7	8	7	7	6
15	8	6	7	8	5	6
16	7	3	8	4	2	4
17	8	8	9	7	8	7
18	3	4	3	6	7	8
19	7	4	6	8	7	7
20	8	7	8	8	8	5
21	8	9	8	7	9	8
22	7	4	6	7	9	6
23	7	8	5	8	6	9
24	8	4	4	7	8	7
25	7	7	8	6	7	8
26	8	7	7	9	7	8
27	5	7	3	6	8	6
28	7	9	7	8	8	8
29	8	5	7	7	6	5
30	9	4	7	4	3	7
Promedio	7.40	6.37	7.03	7.07	6.93	6.90

ANEXO 10. Ficha de aceptabilidad general para dulce de leche con sustitución parcial de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina.

CARTILLA DE EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD GENERAL

Nombre del juez: Fecha:

Código de la muestra: Producto: Dulce de leche

Instrucciones: Pruebe las muestras que se le presentan e indique, según la escala, su opinión sobre ellas.

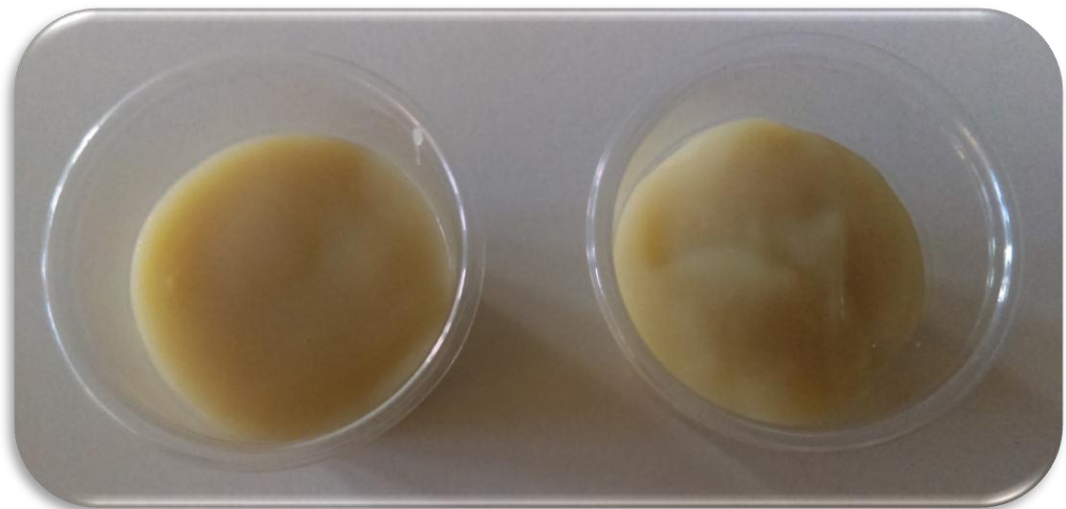
Marque con una (X) en el renglón que corresponda a la percepción de aceptabilidad de la muestra.

ESCALA	220	879	338	129	856	180
Me agrada muchísimo						
Me agrada mucho						
Me agrada moderadamente						
Me agrada poco						
No me agrada ni me desagrada						
Me desagrada poco						
Me desagrada moderadamente						
Me desagrada mucho						
Me desagrada muchísimo						

Comentarios _____

ANEXO 11. Escala de puntuación para aceptabilidad general.

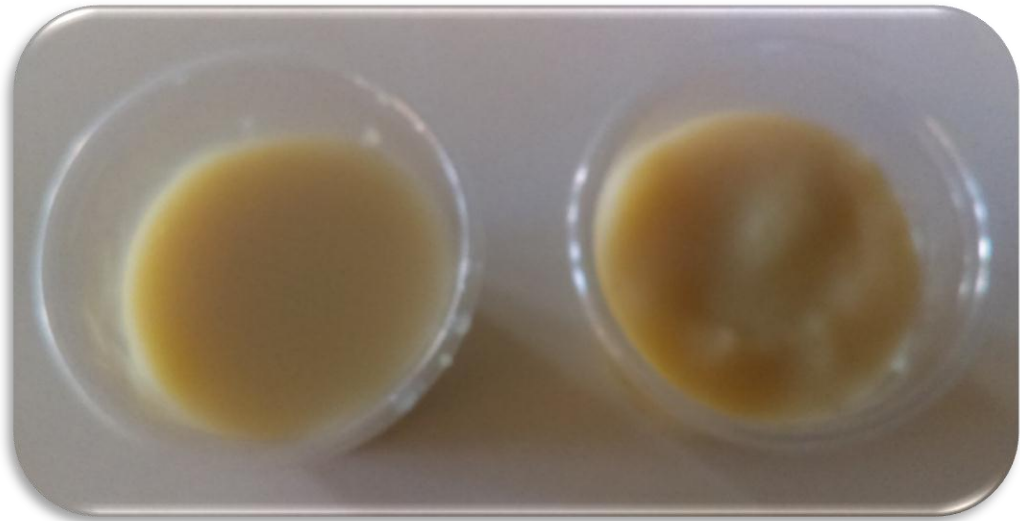
Escala	Puntuación
Me gusta muchísimo	9
Me gusta mucho	8
Me gusta moderadamente	7
Me gusta ligeramente	6
Ni me gusta ni me disgusta	5
Me disgusta ligeramente	4
Me disgusta moderadamente	3
Me disgusta mucho	2
Me disgusta muchísimo	1

ANEXO 12. Dulce de leche con 12.5% de sustitución de sacarosa por estevióside y adición de carragenina.

A: 0.025% de carragenina

B: 0.050% de carragenina

ANEXO 13. Dulce de leche con 25% de sustitución de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina.



A: 0.025% de carragenina

B: 0.050% de carragenina

ANEXO 14. Dulce de leche con 50% de sustitución de sacarosa por esteviósido y adición de carragenina.



A: 0.025% de carragenina

B: 0.050% de carragenina