

# **APLICACIÓN DE ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES EN LA EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE AROMA DURANTE LA FERMENTACIÓN DE YOGURT A DOS TEMPERATURAS DE INCUBACIÓN.**

## **APPLICATION OF PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS IN THE EVALUATION OF AROMA PRODUCTION DURING FERMENTATION OF YOGURT AT TWO INCUBATION TEMPERATURES.**

**Bertha Viviana Ruales G.** Ingeniera Agroindustrial. Aspirante a Magister en Ciencia y Tecnología de alimentos, Universidad Nacional de Colombia. Grupo de Investigación Aseguramiento de la calidad de alimentos. Correspondencia: bvrualesg@unal.edu.co.

**Carlos Fernando Novoa C.** Zootecnista. Magister en Química. Profesor Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Grupo de Investigación Aseguramiento de la calidad de alimentos

### **RESUMEN**

El análisis de componentes principales (PCA) es una técnica que permite evaluar al tiempo la relación entre varias variables y su influencia sobre la muestra. En la presente investigación se utilizó el PCA para evaluar la influencia de la temperatura de incubación en la producción de aroma durante la fermentación de yogurt, utilizando 3 cultivos comerciales. Al mismo tiempo se relacionaron los resultados de los parámetros que se controlan a menudo en la industria láctea como son pH, acidez y viscosidad.

Los resultados encontrados permitieron observar que con el cambio de la temperatura de incubación la producción de compuestos volátiles también varía, pero las variables fisicoquímicas no mostraron influencia sobre el análisis con el componente principal 1 por encontrarse cerca al origen, confirmando así los datos encontrados en la literatura que informan que la temperatura ideal de fermentación es 45°C, por lo tanto es necesario evaluar la producción de compuestos volátiles durante una fermentación como alternativa de control de calidad y así asegurar una mayor satisfacción en consumidor final.

**Palabras claves:** Análisis de componentes principales, nariz electrónica, aroma, yogurt.

### **ABSTRACT**

The principal component analysis (PCA) is a technique to evaluate the time the relationship between various variables and their influence on the sample. In the present study PCA was used to evaluate the influence of incubation temperature on production of aroma during fermentation of yogurt, using 3 strains. At the same time the results were related to the parameters that often are controlled by the dairy industry such as pH, acidity and viscosity.

The results allowed to observe that with the change of temperature of incubation the production of volatile compounds also varies, but the physicochemical variables showed no influence on the analysis with principal component 1 for being close to the origin, confirming the data found in the literature report that the ideal temperature for fermentation is 45 ° C, therefore it is necessary to evaluate the production of volatile compounds during fermentation as an alternative quality control and thus ensure greater consumer satisfaction in the end.

**Keywords:** Principal component analysis, electronic nose, aroma, yogurt.

## INTRODUCCIÓN

El yogurt es el producto de leche fermentada con bacterias lácticas homofermentativas como *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* [1,2]. El papel de estos dos géneros en la fabricación de yogurt se puede resumir como la acidificación de la leche y la síntesis de compuestos aromáticos. La capacidad para producir compuestos aromáticos es uno de los parámetros básicos que caracterizan a las cepas de arranque de las leches fermentadas [3, 4]. En la fermentación estas bacterias convierten la lactosa en ácido láctico y pequeñas cantidades de acetaldehído, 2,3-butanodiona, y el 2,3 pentanodiona-, que conforman los compuestos impacto del aroma del yogurt. [1].

El análisis de componentes principales (PCA) es el método más común para visualizar y clasificar la estructura de datos multivariados. El PCA es una técnica quimiométrica bien conocida, que proyecta los datos en un hiperespacio reducido, definido por los componentes principales. [5].

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. Se utilizó un biorreactor en un proceso discontinuo por lotes, proporcionando condiciones controladas que aseguraron el crecimiento eficaz de las bacterias y de esta manera lograr una mayor confiabilidad en parámetros de fermentación.

Se reconstituyó leche en polvo entera con agua potable para obtener una materia prima homogénea con 9,11 %m/m de sólidos no grasos y 3,4%m/m de grasa. Los cultivos lácticos comerciales que se utilizaron estaban conformados por *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus termophilus*.

A partir del momento de la inoculación hasta las ocho horas de fermentación se tomaron muestras por triplicado cada hora para

evaluar acidez, pH, viscosidad y producción de aroma por nariz electrónica.

Los tratamientos de incubación utilizados en la fermentación fueron 35 y 45°C.

## Método instrumental para producción de aroma

Se llevó a cabo por medio de la nariz electrónica marca Airsense analytics PEN3 con un arreglo de 10 sensores de óxido metálico (Tabla 1), utilizando un vial cromatográfico de 20 mL con 1 g de la muestra a una temperatura de 10°C, dejándola 20 minutos hasta lograr el equilibrio de la concentración de los compuestos volátiles. Las condiciones de trabajo del equipo fueron 450 segundos de limpieza, análisis de la muestra por 150 segundos, flujo de gas de 200ml/min y el factor de dilución automática.

Tabla 1. Sensores de la nariz electrónica

Number in array	sensor-name	general description	reference
1	W1C aromatic	aromatic compounds	Toluene, 10ppm
2	W5S broadrange	very sensitive, broad range sensitivity react on nitrogen oxides and ozone very sensitive with negative signal	NO <sub>2</sub> , 1ppm
3	W3C aromatic	Ammonia, used as sensor for aromatic compounds	Benzene, 10ppm
4	W6S hydrogen	mainly hydrogen, selectively (breath gases)	H <sub>2</sub> , 100ppb
5	W5C arom-aliph	Alkanes, aromatic compounds, less polar compounds	Propane, 1ppm
6	W1S broad-methane	sensitive to methane (environment) ca. 10ppm, broad range similar to no. 8	CH <sub>4</sub> , 100ppm
7	W1W sulphur-organic	reacts on sulphur compounds (H <sub>2</sub> S 0,1ppm) otherwise sensitive to many terpenes and sulphur organic compounds, which are important for smell (limonene, pyrazine)	H <sub>2</sub> S, 1ppm
8	W2S broad-alcohol	detects alcohol's, partially aromatic compounds, broad range	CO, 100ppm
9	W2W sulphur-chlor	aromatic compounds, sulphur organic compounds	H <sub>2</sub> S, 1ppm
10	W3S methane-aliph	reacts on high concentrations >100ppm sometimes very selective (methane)	CH <sub>4</sub> , 10ppm

## Parámetros fisicoquímicos

Para viscosidad se utilizó un viscosímetro Haake Rotovisco RV 20, con sistema NV con control de temperatura a 10°C±0,1°C, utilizando 10 ml de muestra, para pH se utilizó un pH-metro Orion 420 A, y para acidez se tomó como base la AOAC 947.05.

## Análisis multivariado

Se utilizó el software Matlab versión 7.11.0. con el cual se realizó un análisis de

componentes principales de cada uno de los análisis de cultivos y temperaturas, obteniéndose en total 27 muestras para cada ensayo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se puede observar claramente que existen diferencias al realizar la fermentación a las dos temperaturas (35°C azul y 45°C verde), siendo las variables más importantes para esta diferenciación los sensores de la nariz electrónica. Esto se puede explicar en la figura 2 en donde sobre el eje X para el componente principal 1 las variables más alejadas del origen son los sensores de la nariz electrónica, por el contrario los parámetros de pH y acidez (AC) se encuentran más cerca al origen lo que muestra que son variables que no tienen capacidad para diferenciar entre las dos temperaturas de incubación. También se aprecia claramente que al relacionar las figuras 1 y 2 se encuentran diferenciadas las horas de fermentación (H) por el componente principal 2 en los cuales las variables que más explican la diferencia son el pH y acidez mostrando así, que las primeras horas de fermentación tienen un alto pH y baja acidez mientras las últimas horas tienen bajos valores para pH y altos para acidez.

Estos dos componentes principales para el cultivo 1 representan un 75.54% de la varianza del total de los datos.

En las figuras 3 y 4 se observa el mismo comportamiento para el cultivo 2 pero no existe una muy buena diferenciación entre las temperaturas como para el cultivo 1. Con los 2 componentes principales se explica 63.99% de la varianza.

En las figuras 5 y 6 se evalúa el cultivo 3 y de igual manera las variables que mejor explican la diferencia son las de la nariz electrónica y con los dos componentes principales se explica una varianza del 63.9%.

Figura 1. Muestras a diferencias temperaturas cultivo 1.

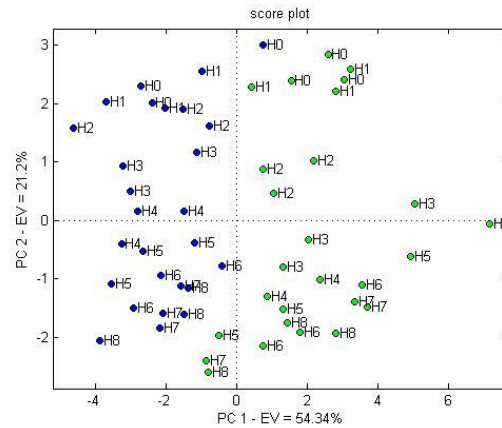


Figura 2. Variables cultivo 1.

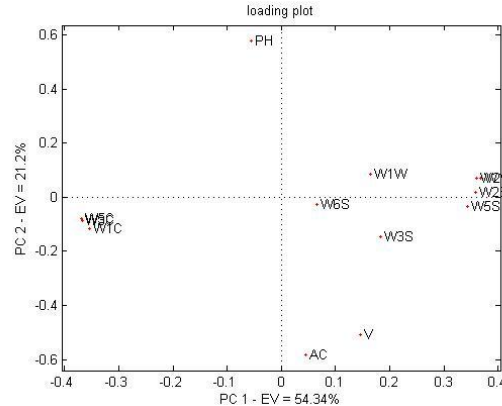
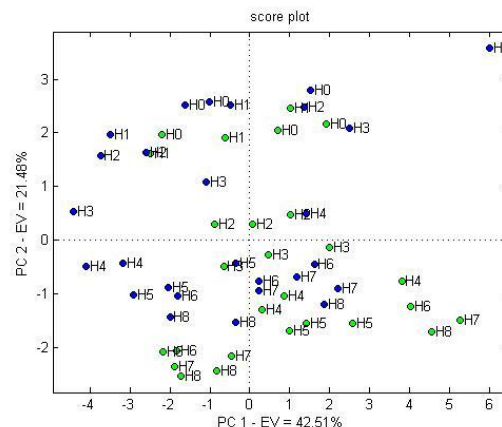
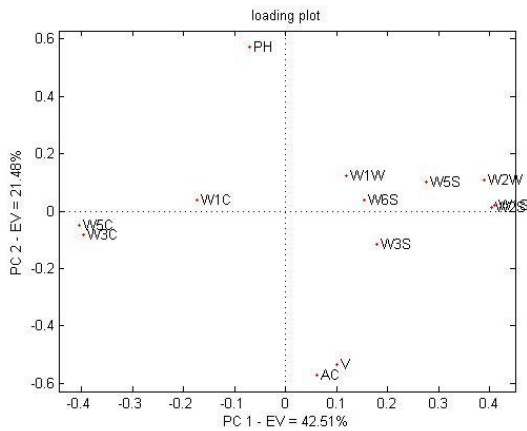


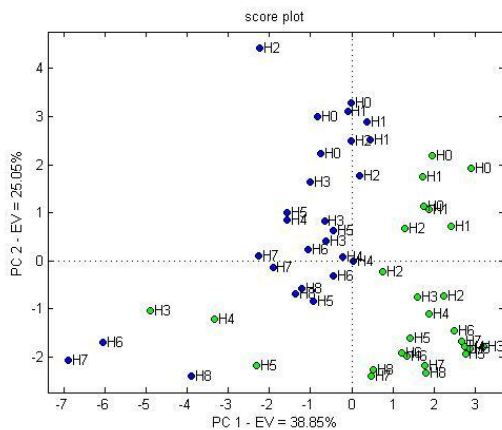
Figura 3. Muestras a diferencias temperaturas cultivo 2.



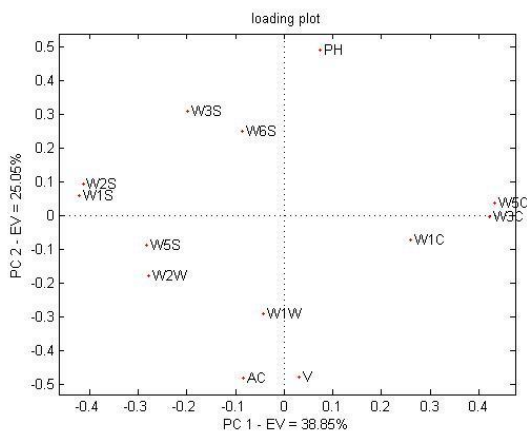
**Figura 4. Variables cultivo 2.**



**Figura 5. Muestras a diferencias temperaturas cultivo 3.**



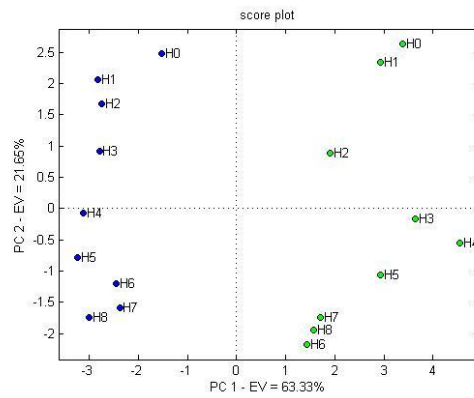
**Figura 6. Variables cultivo 3.**



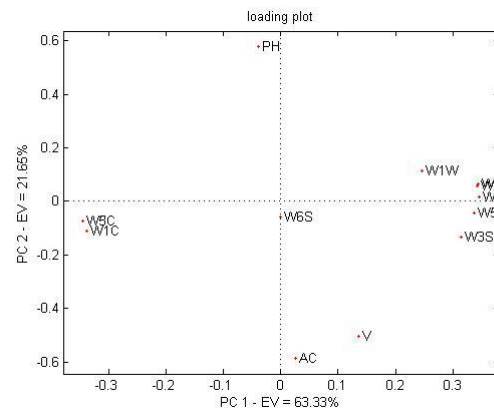
Para poder interpretar claramente las diferencias entre las temperaturas se calculó un promedio entre las réplicas de cada hora para cada ensayo y se procedió a realizar un PCA con los nuevos valores.

En la figura 7 y 8 se observa el pca para el cultivo 1 con los nuevos valores.

**Figura 7. Promedios de muestras a diferencias temperaturas cultivo 1.**



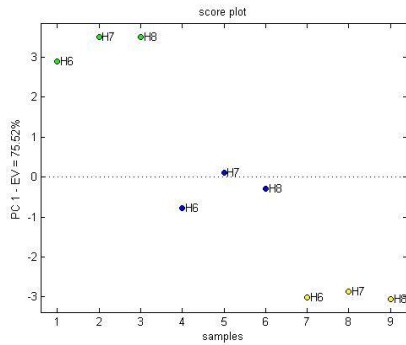
**Figura 8. Variables de los promedios a diferencias temperaturas cultivo 1.**



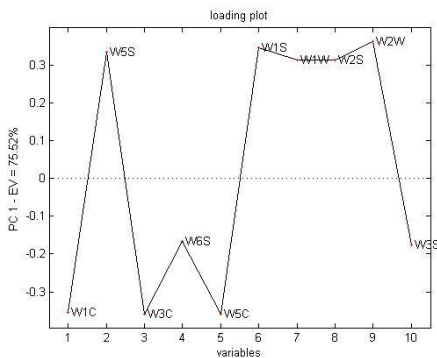
En las figuras 9 y 10 se observa la diferencia entre los 3 cultivos utilizando únicamente las 3 últimas horas de fermentación a 45°C.

El pc1 explica que el cultivo 1 (verde) y el cultivo 3 (amarillo) son los que mayor producción de compuestos volátiles generan a la temperatura de 45°C ya que son los que tienen mayor distancia al punto de origen y son explicados en la figura 10 con los sensores W5S, W1S, W1W, W2S y W2W para el cultivo 1 y W1C, W3C y W5C para el cultivo 3. En la figura 9 también se aprecia la evolución de la producción de aroma durante las últimas horas de la fermentación en donde el pico más alto se obtiene a la hora 7 en los tres cultivos.

**Figura 9. Diferencias entre cultivos en la producción de aroma a 45°C.**



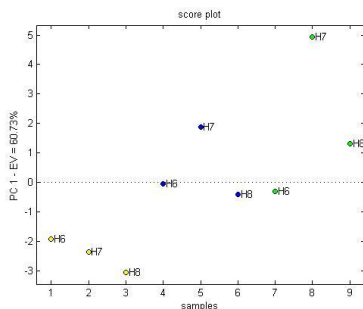
**Figura 10. Variables de cultivos a 45°C.**



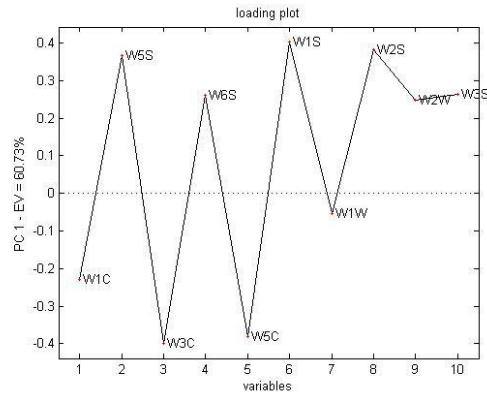
En las figuras 11 y 12 se observa la diferencia entre los 3 cultivos utilizando únicamente las 3 últimas horas de fermentación a 35°C.

El pc1 explica que el cultivo 1 (verde) es el que mayor producción de compuestos volátiles genera a la temperatura de 35°C ya que es el que tiene mayor distancia al punto de origen y es explicado en la figura 12 con los sensores W5S, W1S y W2S para los cuales se tendrán respuestas más altas, contrario a los sensores W3C y W5C en los que se tendrán respuestas más bajas.

**Figura 11. Diferencias entre cultivos en la producción de aroma a 35°C.**



**Figura 12. Variables de cultivos a 45°C.**



## CONCLUSIONES

La temperatura de la fermentación de yogurt influye en la generación de compuestos volátiles responsables del aroma, la temperatura idónea es 45°C.

No es suficiente controlar parámetros fisicoquímicos como viscosidad, pH y acidez en una fermentación, la calidad sensorial es importante porque también varía y es indispensable para la aceptación del consumidor.

## AGRADECIMIENTOS

Dirección de Investigación Bogotá DIB. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Facultad de Ciencias y programa de Postgrado de Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad Nacional de Colombia Bogotá.

## REFERENCIAS

- [1] GÜLER, Z., *et al.* The determination of volatile compounds in set-type yogurts using static headspace gas chromatographic method. *Journal Gida*, 2009, p. 137-142.
- [2] SERRA, M, *et al.* Flavour profiles and survival of starter cultures of yogurt produced from high-pressure homogenized milk. *International Dairy Journal* 19, 2009, p100–106.

[3] KNEIFEL, W., *et al.* Aroma profiles and sensory properties of yogurt and yogurt-related products I. Screening of commercially available starter cultures. *Milchwissenschaft*, 47, 1992, p. 362–365.

[4] YUGUCHI, H., HIRIMATSU, A., and DOI, K. Studies on the flavor of yogurt fermented with *Bifidobacteria*-significance of volatile compounds and organic acids in the sensory acceptance of yogurt. *Japanese Journal of Zootechnology and Science*, 60, 1973, p. 734–741.

[5] QUICAZÁN M., *et. al.* La nariz electrónica, una novedosa Herramienta para el control de procesos Y calidad en la industria agroalimentaria. *Vitae. Revista de la facultad de química farmacéutica.* . Vol 18 número 2, 2011. p. 209-217.