UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

ESCUELA DE POST GRADO

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



"VIABILIDAD DE PROBIÓTICOS EN YOGUR BATIDO DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN"

Presentado por:

MARITZA JANNETH CASTILLO CARRIÓN

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

> Lima - Perú 2014

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

ESCUELA DE POST GRADO MAESTRÍA EN TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

"VIABILIDAD DE PROBIÓTICOS EN YOGUR BATIDO DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN"

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE

Presentado por:

MARITZA JANNETH CASTILLO CARRIÓN

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra. Rosana Chirinos Gallardo
PRESIDENTE

Mg.Sc. Fanny Ludeña Urquizo
PATROCINADORA

Dra. Ana Aguilar Gálvez

MIEMBRO

Mg.Sc. Jorge Vargas Morán
MIEMBRO

DEDICATORIA

Con especial cariño a mi esposo Emilio por su amor incondicional, comprensión y apoyo en todo momento. Por alentarme a culminar este trabajo y alcanzar esta meta.

A mi hijo Emilio Nicolás quien con su inocencia, cariño, sinceridad y alegría; me da cada día las fuerzas necesarias para cumplir mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

A todos los docentes de la Maestría en Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por compartir sus conocimientos y experiencias durante el desarrollo de esta maestría.

Con especial gratitud a la Mg.Sc. Fanny Ludeña Urquizo, por su apoyo incondicional y por la guía brindada durante el desarrollo de este trabajo.

A la Universidad Técnica Particular de Loja, por apoyo brindado para culminar la maestría, con especial cariño a mis compañeros de las secciones de Ciencia y Tecnología de Alimentos por la colaboración incondicional y desinteresada.

A la Empresa "YOGUPRO" por la apertura para la toma de muestras que hicieron posible este trabajo.

A todas las personas que de alguna u otra forma colaboraron con sus conocimientos y brindaron apoyo para la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Páş	gina
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.2	YOGUR PROBIÓTICOS BACTERIAS PROBIÓTICAS	3 6 8
	Lactobacillus Bifidobacterium	10 11
2.4 2.5	REQUERIMIENTOS DE CALIDAD DE UNA CEPA PROBIOTICA ACCIÓN Y EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS PROBIÓTICOS EN EL	13 14
2.6	ORGANISMO CONDICIONES QUE AFECTAN LA VIABILIDAD DE LOS	17
2.8	PROBIÓTICOS ESTUDIOS DE VIABILIDAD DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS RECUENTO, IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE PROBIOTICOS PREBIÓTICOS Y SU EFECTO EN LA VIABILIDAD DE BACTERIAS PROBIÓTICAS	20 22 23
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	25
	ESQUEMA DEL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN LUGAR DE EJECUCIÓN MUESTRAS ANALIZADAS	25 27 27
	Yogur comercial Yogur a nivel de laboratorio	27 27
3.4	CULTIVOS UTILIZADOS	28
3.5	PROCESO DE ELABORACIÓN DEL YOGUR	29
3.5.2 3.5.3	Recepción de la leche Pasteurización Enfriamiento	29 30 30
3.5.5	Inoculación Incubación Enfriamiento	31 31 31
3.5.8	Batido Adición de otros ingredientes Envasado	31 31 32

3.5.10 Almacenamiento 32		
3.6	MÉTODOS ANALÍTICOS	32
3.6.1	Determinación de pH	32
3.6.2	Determinación de acidez titulable	32
3.6.3	Viscosidad aparente	33
3.6.4	Sinéresis	33
3.6.5	Recuento de bacterias patógenas	33
3.6.6	Recuento de bacterias probióticas	34
a.	Preparación del medio base	34
b.	Preparación de sustancias inhibidoras	34
c.	Preparación de medios selectivos	35
d.	Preparación de diluciones y siembra de las muestras	35
e.	Incubación y recuento de probióticos	36
3.7	EVALUACIÓN SENSORIAL	36
3.7.1	Selección del cultivo	36
a.	Prueba de medida del grado de satisfacción	36
b.	Prueba de preferencia o aceptabilidad pareada	37
3.7.2	Evaluación de la vida útil de yogur con el cultivo seleccionado	37
a.	Selección del panel y entrenamiento	37
b.	Generación de atributos	38
c.	Evaluación de las muestras	39
3.8	DISEÑO ESTADÍSTICO Y ANÁLISIS DE DATOS	39
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1	EVALUACIÓN DE YOGUR COMERCIAL	41
4.1.1	Análisis microbiológicos	41
	Análisis químicos	41
	Viabilidad de bacterias probióticas	43
4.2	EVALUACIÓN DE YOGUR A NIVEL DE LABORATORIO	46
4.2.1	Yogur con el cultivo Yo-Fast-88	46
	Selección del cultivo	47
	Evaluación del yogur con el cultivo seleccionado	49
a.	Análisis microbiológicos	49
b.	Análisis físico-químicos	49
c.	Viabilidad de bacterias probióticas	53

d.	Evaluación sensorial	55
V.	CONCLUSIONES	60
VI.	RECOMENDACIONES	61
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
VIII.	ANEXOS	68

ÍNDICE DE CUADROS

	Págin	a
Cuadro 1	Microorganismos usados como probióticos.	10
Cuadro 2	Cepas probióticas y sus efectos benéficos.	16
Cuadro 3	Características de los cultivos utilizados.	28
Cuadro 4	Formulación del yogur.	29
Cuadro 5	Lista de atributos usados para el análisis descriptivo.	38
Cuadro 6	Propiedades químicas del yogur comercial durante el almacenamiento a 4°C.	41
Cuadro 7	Recuento viable (\log_{10} ufc/g) de bacterias probióticas en yogur comercial durante el almacenamiento a 4°C.	43
Cuadro 8	Propiedades físico-químicas de yogur elaborado con distintos cultivos probióticos.	47
Cuadro 9	Evaluación sensorial de yogur elaborado con distintos cultivos probióticos.	48
Cuadro 10	Propiedades físico-químicas del yogur con el cultivo seleccionado durante el almacenamiento a 4°C.	50
Cuadro 11	Recuento viable (log ₁₀ ufc/g) de bacterias probióticas en yogur con el cultivo seleccionado durante el almacenamiento a 4°C.	53
Cuadro 12	Cambios sensoriales del yogur con el cultivo seleccionado, durante el almacenamiento a 4°C.	56

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páş	gina
Figura 1	Esquema del desarrollo de la investigación.	26
Figura 2	Esquema de preparación del yogur.	30
Figura 3	Recuento de bacterias patógenas por el método Petrifilm.	33
Figura 4	Recuento de probióticos.	36
Figura 5	Comportamiento de <i>Bifidobacterium</i> en yogur comercial (Cultivo YoFast-88) y yogur con cultivo seleccionado (ABY-3).	o- 54
Figura 6	Comportamiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en yogur comercia (Cultivo Yo-Fast-88) y yogur con cultivo seleccionado (Cultivo ABY-3).	

ÍNDICE DE ANEXOS

	Págin	a
Anexo 1	ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LOS CULTIVOS USADOS.	68
Anexo 2	ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE INGREDIENTES E INSUMOS USADOS EN EL YOGUR COMERCIAL.	72
Anexo 3	CERTIFICADO DE CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE.	75
Anexo 4	HOJA DE CATACIÓN PARA LA SELECCIÓN DEL CULTIVO.	76
Anexo 5	HOJA DE CATACIÓN PARA LA PRUEBA CON CONSUMIDORES.	78
Anexo 6	LISTA COMPLETA DE ATRIBUTOS GENERADOS POR EL PANEL SENSORIAL.	79
Anexo 7	HOJA DE CATACIÓN PARA LA PRUEBA DESCRIPTIVA	80
Anexo 8	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL YOGUR COMERCIAL.	83
Anexo 9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS BACTERIAS PROBIÓTICAS EN EL YOGUR COMERCIAL.	86
Anexo 10	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS DEL YOGUR PARA LA SELECCIÓN DEL CULTIVO.	90
Anexo 11	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL YOGUR PARA LA SELECCIÓN DEL CULTIVO.	91
Anexo 12	RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PREFERENCIA.	93
Anexo 13	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS PROPIEDADES FÍSICO- QUÍMICAS DEL YOGUR CON EL CULTIVO SELECCIONADO.	95
Anexo 14	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS BACTERIAS PROBIÓTICAS EN EL YOGUR CON EL CULTIVO SELECCIONADO.	102
Anexo 15	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DEL YOGUR CON EL CULTIVO SELECCIONADO.	105

RESUMEN

Las bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las más usadas como probióticos, en la elaboración de yogures y otras leches fermentadas. Para garantizar su efecto funcional, se debe mantener la viabilidad y la actividad probiótica durante todo el proceso de elaboración y almacenamiento del producto. El propósito de este estudio fue la evaluación de la viabilidad de bacterias probióticas en yogur comercial y en yogur elaborado a escala de laboratorio.

Las muestras de yogur comercial elaborado con cultivo Yo-Fast-88, se almacenaron en refrigeración a 4°C hasta 28 días (tiempo de caducidad del producto). Para la elaboración del yogur a escala de laboratorio se probó los cultivos Yo-Fast-88, ABY-3 y ABT-4 (Chr-Hansen®) que contenían las bacterias *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*, y en el caso de los dos últimos cultivos, las cepas probióticas específicas La-5 y Bb-12 estuvieron incluidas. El mejor yogur se determinó mediante una prueba afectiva con un panel sensorial semientrenado y con una prueba de preferencia con consumidores. El recuento de las cepas probióticas en los yogures se realizó cada siete días usando los métodos descritos por la Compañía Chr-Hansen®, con medios de cultivo selectivos dependiendo de cada microorganismo. Se evalúo también el pH, acidez titulable, viscosidad aparente y sinéresis. La estabilidad del yogur elaborado, se realizó mediante evaluación sensorial usando una prueba descriptiva.

El yogur comercial con el cultivo Yo-Fast-88, mantuvo el recuento para L. acidophilus dentro de lo establecido por la Normativa Ecuatoriana de 10^6 ufc/g solamente por 21 días, mientras que para la cepa Bifidobacterium este período fue de sólo siete días. El yogur elaborado con el cultivo ABY-3 fue seleccionado sensorialmente como el mejor (p<0.05) y fue este yogur el que cumplió con la legislación establecida, obteniéndose en promedio recuentos superiores a 10^7 ufc/g y manteniendo además sus características físico-químicas y sensoriales a los 28 días de almacenamiento a 4° C.

Palabras clave: Viabilidad de probióticos, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*.

ABSTRACT

The bacteria of the genera Lactobacillus and Bifidobacterium are the most used as

probiotics in yogurt and other fermented milk products. To ensure their functional effect,

they must maintain their viability and probiotic activity throughout the development

process and product storage. The purpose of this study was to evaluate the viability of

probiotic bacteria in both, the commercial yogurt and the yogurt produced in laboratory

scale.

Samples of commercial yogurt made of using growing culture Yo-Fast-88, were

stored refrigerated at 4°C for 28 days (shelf life of the product). For laboratory prepared

yogurt it was tested the cultures Yo-Fast-88, ABT-4 and ABY-3 (Chr-Hansen®)

containing in all of them the bacteria Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium, and

in the case of the latter two cultures, the specific probiotic strains La-5 and Bb-12. The best

yogurt was determined by both, an affective test using a semi-trained sensory panel, and a

consumer preference test. The counting of the probiotic strains in yogurts was performed

on a selective media depending on each microorganism, every seven days using the

methods described by Chr-Hansen® Company. It was also evaluated the pH, titratable

acidity, apparent viscosity and syneresis of yogurt. The yogurt stability was performed by

sensory analysis using descriptive tests.

The commercial yogurt with Yo-Fast-88 culture, showed a colony counting for L.

acidophilus in agreement with the Ecuadorian legislation set at 10⁶ cfu/g for only 21 days,

meanwhile for Bifidobacterium strain this period was of only seven days. Yogurt made

with culture ABY-3 was sensory selected as the best (p<0.05), and this yogurt met the

established legislation, yielding on average a counting higher than 10^{7} cfu/g and also

maintained their physicochemical and sensory characteristics for 28 days of storage at 4

°C.

Keywords: Viability of probiotics, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*.

I. INTRODUCCIÓN

Los llamados alimentos funcionales son aquellos que, además de aportar los nutrientes recomendados, ejercen efectos beneficiosos sobre una o más funciones del organismo, fomentando la salud y reduciendo el riesgo de contraer enfermedades.

Los probióticos constituyen un grupo destacado dentro de los compuestos funcionales, el término probiótico significa *a favor de la vida* y se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos. *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son los géneros probióticos más estudiados y más usados en alimentos. Entre los aportes de los probióticos a la salud están: tratamiento y prevención de diarrea aguda, prevención de diarrea asociada a antibióticos, erradicación de *Helicobacter pylori*, prevención de alergias, enfermedades intestinales inflamatorias y síndrome de intestino irritable. Existen datos que indican que las personas sanas pueden tomar probióticos como medio de prevenir ciertas enfermedades y modular la inmunidad del huésped (FAO, 2006).

Para garantizar que un producto que contiene probióticos cumpla su función, se debe mantener la viabilidad y la actividad probiótica durante todo el proceso de elaboración, manipulación y almacenamiento del producto; verificándolas cuando concluya el período de vida útil. Aunque todavía existe poca información sobre las dosis y la frecuencia de consumo necesaria para garantizar la efectividad de estos productos, en general, se sugiere que estos productos mantengan unos valores de viables de 10⁶ ufc/g al final de la vida útil (INEN, 2011b).

El consumo de alimentos con probióticos requiere de que el consumidor esté bien informado acerca del producto, para lo cual es de gran importancia que éste lleve una descripción adecuada en su etiqueta que incluya: identificación de género y especie con sus nombres científicos reconocidos, designación de la cepa, recuento de microorganismos viables de cada cepa al final de la vida útil, condiciones de

almacenamiento recomendadas, seguridad en las condiciones de uso recomendadas, dosis recomendada y la información del contacto para la vigilancia post-comercialización (Guarner *et al.*, 2008).

La producción de yogur con cultivos probióticos por parte de la Empresa Ecuatoriana que fabrica el yogur comercial "Yogur-bio", empezó en el 2008 y desde entonces han tenido buena aceptación por parte de sus consumidores. Los yogures de la empresa contienen pulpas de frutas o saborizantes artificiales, y se envasan en fundas y frascos plásticos de calidad sanitaria. Esta investigación es relevante considerando que la empresa dispondrá de datos comprobados de la viabilidad de los probióticos usados en sus productos, cuyos resultados a su vez permitirán informar al consumidor sobre la cantidad de bacterias viables al final de la vida útil del producto. Con previa autorización del fabricante del cultivo, también se podrá declarar las cepas específicas de los probióticos con sus nombres científicos, para que el consumidor pueda relacionar los beneficios a esperarse de estos microorganismos. Según la legislación Ecuatoriana, la empresa podría incluir la declaración de que una adecuada alimentación y un consumo regular de alimentos con microorganismos probióticos, puede ayudar a normalizar las funciones digestivas y regenerar la flora intestinal; al ser ésta una declaración de salud comprobada (INEN, 2011a).

Dado lo anterior el objetivo del presente trabajo fue la evaluación del yogur comercial "Yogur-bio" con probióticos para garantizar el efecto funcional mediante la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium* durante el almacenamiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 YOGUR

La Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2395:2011 define al yogur como un producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de ésta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salvaris* subsp. *thermophilus*, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias benéficas que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables y activas desde su inicio y durante toda la vida útil del producto.

La producción moderna de yogur implica un proceso bien controlado donde se utilizan ingredientes como leche, leche en polvo, azúcar, frutas, esencias, colorantes, estabilizantes y cultivos específicos de bacterias ácido lácticas. En muchos yogures comerciales se regula el contenido de sólidos de 14 a 15 por ciento con la finalidad de incrementar la viscosidad y reducir la separación de suero. Harwalkar y Kalab (1986), citados por Trachoo (2002) mencionan que el yogur con un mayor contenido de sólidos totales es menos susceptible a la sinéresis y tiene cadenas de partículas de caseína más cortos. La expulsión de suero desde la red se puede observar en la superficie del yogur, lo cual se considera como un defecto que afecta la percepción de los consumidores (Lee y Lucey, 2010). La viscosidad del yogur se ve afectada por la composición, tipo de cultivo iniciador, tratamiento térmico y los estabilizantes usados (Trachoo, 2002). Estabilizantes como la pectina o gelatina se añaden a la leche para mejorar o mantener la textura, apariencia, viscosidad/consistencia y prevenir la separación de suero (Tamime y Robinson, 1999, citados por Lee y Lucey, 2010).

La leche utilizada para la elaboración del yogur se somete a un tratamiento térmico que puede ser de 85°C por 30 minutos o de 90 a 95°C por cinco minutos, también se usan tratamientos de ultra pasteurización (UHT) con la finalidad de destruir microorganismos patógenos que compiten con los cultivos iniciadores (Trachoo, 2002;

Lee y Lucey, 2010). Con temperaturas superiores a 70°C la mayoría de las proteínas del suero son desnaturalizadas, obteniéndose un incremento en la firmeza del gel y en la viscosidad del yogur; pero cuando se excede en la desnaturalización de las proteínas durante el tratamiento térmico se obtiene un resultado contrario en la firmeza del gel y en la viscosidad (Dannenberg y Kessler, 1988, citados por Lee y Lucey, 2010).

El proceso de fermentación por lo general se realiza con las denominadas bacterias iniciadoras del yogur, *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* las cuales no sobreviven el paso gástrico ni colonizan el intestino (Shah, 2000). El primer microorganismo (*S. thermophilus*) presenta un crecimiento óptimo a temperaturas de 40 a 45°C; fermenta glucosa, fructosa, lactosa y sacarosa, y produce de 0.7 a 0.8 por ciento de ácido láctico. El segundo microorganismo (*L. bulgaricus*) tiene un crecimiento óptimo a temperaturas de 40 a 50°C; fermenta glucosa, fructosa, galactosa y lactosa para producir 1.7 por ciento o más de ácido láctico (Trachoo, 2002). *L. bulgaricus* produce más compuestos aromáticos en la leche que *S. thermophilus* (Bonczar *et al.*, 2002, citados por Akin y Güler-Akin, 2005).

Los dos microorganismos muestran una relación simbiótica durante el procesamiento de yogur. *S. thermophilus* crece primero y más rápido durante la fermentación utilizando aminoácidos esenciales producidos por *L. bulgaricus* y produciendo ácido láctico lo cual reduce el pH hasta un nivel óptimo que favorece el crecimiento de *L. bulgaricus*. Después de tres horas aproximadamente de fermentación, el número de los dos microorganismos es igual. Con una larga fermentación, la tasa de crecimiento de *S. thermophilus* desciende mientras que *L. bulgaricus* continúa reduciendo el pH por la excesiva producción de ácido láctico (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Trachoo, 2002). Cuando se utilizan cultivos del yogur junto con bacterias probióticas, el crecimiento de *L. bulgaricus*, que es el principal microorganismo responsable de la producción de ácido en el yogur, se inhibe (Dave y Shah, 1997, citados por Akin y Güler-Akin, 2005).

La temperatura de incubación del yogur es usualmente de 40 a 45°C hasta alcanzar un pH que está en el rango de 3.7 a 4.7 para lograr una buena calidad del yogur (Shah, 2000; Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Lee y Lucey, 2010). El yogur debe

tener como mínimo 10⁷ ufc/g del cultivo iniciador (*L. bulgaricus* y *S. thermophilus*) al final de su vida útil (INEN, 2011b).

Durante la producción de yogur, los cambios en los constituyentes de la leche se atribuyen a la fermentación y a los ingredientes que se añaden durante su elaboración. Como resultado de la fermentación existe un incremento en la concentración de ácido láctico, galactosa, amino ácidos libres y ácidos grasos; mientras que la concentración de lactosa disminuye. La adición de ingredientes puede incrementar el contenido de proteína y de azúcar en el yogur (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

En años recientes algunos tipos de yogur han sido reformulados (Bio-yogur o yogur probiótico) al incluir cultivos vivos de *Lactobacillus acidophilus* y especies de *Bifidobacterium* (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001) los cuales al utilizarse solos alargan el proceso de fermentación por el crecimiento lento que presentan; por lo que es común acompañarlos de los cultivos convencionales del yogur con la finalidad de acelerar el proceso de fermentación por el rápido crecimiento que éstos presentan (Tharmaraj y Shah, 2003). La presencia de cualquiera de las especies de *Lactobacillus* en el cultivo iniciador puede influir en el contenido total de acetaldehído, compuesto responsable del aroma del yogur.

Akin y Güler-Akin (2005) evaluaron yogur con cultivo iniciador (*S. thermophilus* y *L. bulgaricus*) y bio-yogur con cultivo probiótico (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* Bb-12 y *L. casei*), éste último a dos temperaturas de incubación (42°C y 37°C). Como resultado se encontró que la menor cantidad de acetaldehído se presentó en el yogur elaborado con el cultivo iniciador seguido por el bio-yogur incubado a 42°C, mientras que el bio-yogur incubado a 37°C presentó el nivel más alto de este compuesto. La diferencia entre las dos muestras del bio-yogur se debió a que en el yogur incubado a 37°C se tuvieron recuentos más altos de *L. acidophilus* y de *B. bifidum*. El contenido de acetaldehído en todos los casos incrementó durante los primeros siete días de almacenamiento y luego disminuyó, debido a la hidrólisis por enzimas microbianas para formar otras sustancias tales como el etanol.

Los materiales que se utilizan para el envasado de los alimentos es un criterio importante que influye en sus propiedades (Routray y Mishra, 2011). Saint-Eve *et al.* (2008) estudiaron la influencia del material de envasado (poliestireno, polipropileno, y vidrio) sobre las propiedades sensoriales y físico-químicas de yogur con diferentes porcentajes de grasa (0 y 4 por ciento) durante 28 días de almacenamiento a 4°C. Como resultado de su estudio concluyeron que el tipo de empaque tiene mayor impacto sobre las características sensoriales y físico-químicas del yogur con cero por ciento de grasa, siendo el vidrio el material en el que el yogur presentó menor disminución del aroma. Por otro lado entre los dos tipos de polímeros, los envases de poliestireno resultaron mejores para limitar las pérdidas de compuestos aromáticos y subsiguientes intensidades de las nota del sabor a fruta, y para evitar defectos en el desarrollo de olor y aroma.

2.2 PROBIÓTICOS

Según Guarner y Schaafsma (1998) citados por FAO (2006), los probióticos son microorganismos vivos que cuando se consumen en cantidades apropiadas, confieren al huésped efectos saludables. La Organización Mundial de Gastroenterología menciona que la palabra "probiótico" debe reservarse para los microbios vivos que en estudios controlados en humanos, han demostrado producir un beneficio a la salud (Guarner *et al.*, 2008).

Schrezenmeir *et al.* (2001) y Collins *et al.* (1999), citados por Cocio (2006) mencionan que se considera alimento probiótico aquel que contiene bacterias vivas que permanecen activas en el intestino, que no causan enfermedades y ejercen importantes efectos fisiológicos ya que al ser ingeridos en cantidades suficientes, tienen efecto muy beneficioso, contribuyendo al equilibrio de la flora intestinal y a potenciar el sistema inmunológico.

Los probióticos a nivel comercial suelen encontrarse de forma general incorporados a los alimentos, en suplementos, en forma de pastillas, cápsulas, bolsitas o sobres. En la actualidad los productos lácteos constituyen los principales alimentos para el aporte de probióticos, ya que además de las propiedades funcionales de las bacterias inoculadas, estos alimentos son fáciles de digerir y tienen gran aceptación en los

distintos grupos de población. Se debe aclarar que los probióticos se diferencian de los medicamentos en diversos aspectos, especialmente en lo que concierne a las declaraciones de propiedades, ya que para el caso de probióticos sólo pueden hacerse declaraciones de propiedades saludables de carácter general (FAO, 2006).

Los yogures y otras leches fermentadas son considerados vehículos adecuados para la incorporación de probióticos, a través de los cuales el consumidor recibe el número adecuado de bacterias probióticas. De forma generalizada se reconoce que son necesarios entre 1×10^7 y 1×10^9 células por ración, dependiendo de la cepa, para asegurar el efecto probiótico (Vinderola *et al.*, 2000; Chr-Hansen, 2004). Así mismo la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2395:2011 indica que la cantidad de bacterias probióticas activas en leches fermentadas durante su vida útil debe ser como mínimo de 10^6 ufc/g. Blanchette *et al.* (1996) mencionan que para el caso del género *Bifidobacterium* es necesario que el producto lácteo fermentado en el punto de venta tenga recuentos de 10^7 y 10^8 ufc/g para que de esta manera se asegure el nivel de 10^6 ufc/g en el producto al momento de su consumo.

A escala comercial, los cultivos probióticos son producidos separadamente y se introducen en el producto alimenticio en preparaciones listas para usar. Típicamente se presentan en polvo liofilizado o como gránulos congelados y en la forma DVS (cultivos directos a cuba). Los cultivos probióticos pueden estar compuestos de cepas individuales o una mezcla de varias cepas. La mayoría de cultivos probióticos son producidos en una forma concentrada con la densidad de células de más de 10^{10} ufc/g (Chr-Hansen, 2004; Sip y Grajek, 2010).

En el mercado existen algunos derivados lácteos que están incorrectamente etiquetados en relación con la identidad de las cepas que los componen. La información que dispone el consumidor en la mayoría de los casos es muy poco específica, y muchas veces no se detallan aspectos importantes como las especies y las cepas que contienen, su concentración, la ingestión recomendada, las condiciones óptimas de almacenamiento y los efectos que, potencialmente, pueden ejercer sobre la salud (Sanz et al., 2003).

Sanz *et al.* (2003) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2006) mencionan que el etiquetado de productos probióticos debe contener información como:

- a. Género, especie y nombre de la cepa, para evitar confusiones sobre su funcionalidad;
- b. Número mínimo de cada cepa probiótica viable al final de la vida útil;
- Ingestión recomendada para que la dosis del probiótico sea efectiva en relación con la mejora de salud declarada;
- d. Declaración de propiedades saludables;
- e. Condiciones adecuadas de almacenamiento, y
- f. Dirección de contacto con centros de información al consumidor.

En cuanto a las declaraciones de propiedades saludables, en la mayoría de los países solo se permite declaraciones generales sobre los alimentos que contienen probióticos. La Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-3:2011 sobre requisitos para declaraciones nutriciones y declaraciones saludables, establece que solamente se podrá indicar que el consumo adecuado y regular de microorganismos probióticos no es el único factor para mejorar las funciones digestivas y que existen otros factores adicionales a considerar como el ejercicio físico y el tipo de dieta (INEN, 2011a). En el informe sobre directrices para la evaluación de los probióticos en los alimentos del grupo de trabajo FAO/OMS, se recomienda que sean permitidas declaraciones específicas de propiedades saludables relacionadas al uso de probióticos, cuando se disponga de suficiente evidencia científica y que estas declaraciones específicas deberían ser permitidas en las etiquetas y en el material de promoción (FAO, 2006).

2.3 BACTERIAS PROBIÓTICAS

La flora intestinal de las personas se establece desde su nacimiento y depende de factores como el tipo de parto, tipo de alimentación, edad del destete y del inicio de la alimentación no láctea (Olagnero *et al.*, 2007; Dunne, 2009). Los primeros microorganismos presentes en el intestino son aerobios tales como *Escherichia coli* y *Enterococcus* y a medida que el oxígeno intestinal disminuye aparecen bacterias

anaerobias como *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp. (Amores *et al.*, 2004; Magariños *et al.*, 2008). En los adultos la flora intestinal tiene gran diferencia dependiendo de factores como: la colonización inicial en el nacimiento, la alimentación, los genes, el medio ambiente, tratamientos con antibióticos y estrés (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Amores *et al.*, 2004; Guarner *et al.*, 2008). Normalmente el nivel microbiano en el intestino delgado (yeyuno e íleon) es de casi 10⁶⁻⁷ufc/g, y en el intestino grueso (colón) de 10⁹⁻¹⁰ufc/g de contenido (Ray y Bhunia, 2010). Gomes y Malcata (1999) mencionan que la especie *Bifidobacterium* puede eventualmente ser el tercer género más abundante, después del género *Bacteroides* y *Eubacterium*.

Al ser las bacterias probióticas residentes normales del aparato digestivo no presentan infectividad o toxicidad alguna (FAO, 2006; Olagnero *et al.*, 2007; Guarner *et al.*, 2008) y por tanto pueden ser aisladas de un individuo saludable para luego ser introducidos nuevamente en el intestino a través de los alimentos (Amores *et al.*, 2004).

Los géneros más usados como probióticos son Lactobacillus (L. acidophilus, L. casei, L. paracasei, L. rhamnosus, L. fermentum, L. johnsonii, L. reuterii) y Bifidobacterium (B. animals – nombre actual B. lactis, B. longum, B. breve) (Blanchette et al., 1996; Lamoureux et al., 2002; Amores et al., 2004; Sip y Grajek, 2010), aunque también se utilizan con este fin otras bacterias lácticas, bacterias de otros géneros (Enterococcus fecalis, Bacillus subtilis, etc.) e incluso levaduras, como Saccharomyces cerevisiae y Saccharomyces boulardii (Magariños et al., 2008). Sin embargo, no se debe asumir, bajo ningún concepto, que todas las bacterias lácticas o las del género Bifidobacterium posean propiedades beneficiosas; tal es el caso del L. bulgaricus usado comúnmente en la fermentación de productos lácteos.

Una cepa probiótica se cataloga en base a su género, especie y a una designación alfanumérica, por ejemplo *Lactobacillus casei* DN-114001 o *Lactobacillus rhamnosus* GG. Los nombres comerciales no están sujetos a regulación, y las compañías pueden ponerle el nombre que deseen a los probióticos que utilizan en sus productos, por ejemplo LGG (Guarner *et al.*, 2008). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación recomienda asignar nombres a los probióticos en conformidad con el Código Internacional de Nomenclatura para asegurar la

comprensión a nivel internacional (FAO, 2006). En el Cuadro 1 se muestras algunos microorganismos usados como probióticos.

Cuadro 1: Microorganismos usados como probióticos

Сера	Fabricante
Bifidobacterium animalis DN 173 010	Danone/Dannon
Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12	Chr-Hansen
Bifidobacterium infantis 35624	Procter y Gamble
Bifidobacterium logum BB536	Morinaga Milk Industry
Lactobacillus acidophilus La-5	Chr-Hansen
Lactobacillus acidophilus NCFM	Danisco
Lactobacillus casei DN-114 001	Danone/Dannon
Lactobacillus casei Shirota	Yakult
Lactobacillus johnsonii La1 (Lj1)	Nestlé

FUENTE: Guarner et al. (2008)

2.3.1 LACTOBACILLUS

Según Frazier (1972), citado por Cocio (2006) los *Lactobacillus* son bacilos microaerófilos, Gram positivos y catalasa negativos, estos organismos forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares. Gomes y Malcata (1999), señalan que son microorganismos inmóviles, no esporulados, que mejoran su crecimiento en anaerobiosis o bajo reducidas presiones de oxígeno y entre 5 y 10 por ciento de dióxido de carbono. Su temperatura óptima de crecimiento se sitúa entre 30 y 40 °C. Su tolerancia al ácido varía desde 0.3 hasta 1.9 por ciento de acidez titulable.

Morfológicamente, algunos bacilos son bastones delgados y largos; otros algo parecidos al colibacilos, pero, por el contrario de este, todos son Gram positivos, casi todos son inmóviles, pero se han señalado excepciones (Alais, 1985, citado por Cocio, 2006). Aparecen solos o encadenas pequeñas o grandes.

Alais (1985), citado por Cocio (2006) indica que la clasificación de los lactobacilos se ha basado en la fuente de donde se aislaron y de los productos que se obtienen de la fermentación y menciona que éstos se dividen en dos grupos:

- a. *Lactobacillus* homofermentativos, los cuales dan lugar a ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares. Este grupo está integrado por *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus bulgaricus*, entre otros.
- b. Lactobacillus heterofermentativos, estos producen además de ácido láctico, dióxido de carbono, etanol y otros productos volátiles.

El *Lactobacillus* de la especie *acidophilus* y cepa específica La-5 es la más estudiada y utilizada como bacteria probiótica.

2.3.2 BIFIDOBACTERIUM

Bifidobacterium es el género más utilizado y generalmente puede dividirse en dos grupos: las especies de origen animal y especies de origen humano; siendo estas últimas las más sensibles (Abe et al., 2009). En su investigación Jayamanne y Adams (2006), citados por Abe et al. (2009), encontraron que Bifidobacterium animalis incluyendo B. animalis subsp. lactis es más resistente contra el estrés ambiental y más estable en el yogur que B. longum, B. breve y B. bifidum, que son las especies de origen humano.

Cocio (2006) menciona que son bacterias Gram positivas, catalasa negativa, no forman esporas, son estrictamente anaeróbicas. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C a 41°C (alcanzando una mínima de entre 25°C a 28°C y una máxima que fluctúa entre los 43°C a 45°C) y su pH óptimo está entre los 6.5 -7.0 (límite inferior entre 4.5-5.0 y un límite superior 8.0-8.5). Degrada exclusivamente la glucosa y produce ácido acético y ácido láctico en una proporción de 3:2, respectivamente.

La especie *animalis* y subespecie *lactis* es la más usada como microorganismo probiótico. Este agente ha recibido las denominaciones *B. bifidum*, *B. animalis*, *Bifidobacterium lactis* Bb-12 o, simplemente, Bb-12 (Dunne, 2009).

Bifidobacterium lactis se caracteriza por ser capaz de sobrevivir a pH de 3.5 y, a diferencia de otras especies de Bifidobacterium, tolera bajas concentraciones de oxígeno, lo que representa una ventaja en su capacidad de adaptación en comparación con las otras especies con las que comparte el ambiente del lumen del colon" (Leahy et al., 2005; Dunne, 2009).

Castillo (2005), citado por Cocio (2006) señala que estos microorganismos son de forma de bastón delgado con extremos algo más ahusados y generalmente bifurcados. Las colonias son pequeñas, pueden ser cortas, regulares, con ramificaciones y se disponen aisladas, en cadenas, o en forma de "V", "Y", "T" (Leahy *et al.*, 2005). La morfología es muy variable y depende del medio de cultivo donde se desarrollen.

En cuanto a los medios óptimos para el crecimiento de *Bifidobacterium*, Gómez *et al.* (1998), citados por Flores (2003) indican a la leche como medio óptimo, porque contiene todos los nutrientes esenciales para el desarrollo de este microorganismo probiótico, aunque no siempre aquellos existen en formas biodisponibles o en concentraciones óptimas.

Chr-Hansen (2004) utiliza a la Bb-12 como principal bacteria probiótica para sus cultivos y menciona que es una de las cepas probióticas disponibles con mayor documentación clínica, posee una excelente resistencia al ácido y la bilis y propiedades de adhesión. Es fermentada en el intestino delgado y en el grueso de seres humanos sanos. Cuando está presente en número suficiente, compite con organismos patógenos tanto por los nutrientes como por los sitios de anclaje a lo largo de las paredes intestinales. Estos organismos dañinos pasan a través del tracto gastrointestinal sin causar ningún problema. Además, Bb-12 produce ácidos orgánicos como ácido láctico y acético, los cuales pueden inhibir el crecimiento de bacterias dañinas.

Bifidobacterium lactis Bb-12 es el único probiótico que ha recibido la denominación de GRAS (Generally Regarded as Safe, Reconocido como Inocuo) de la Administración de Alimentos y Fármacos (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos (AESAN, 2009; Dunne, 2009). La presencia predominante de este microorganismo en el tracto gastrointestinal y su largo historial de consumo en humanos, en particular en productos lácteos fermentados, apoya la seguridad de su uso (AESAN, 2009).

2.4 REQUERIMIENTOS DE CALIDAD DE UNA CEPA PROBIOTICA

Reid *et al.* (2003), citados por Sip y Grajek (2010) mencionan que para seleccionar las cepas probióticas y confirmar sus propiedades en primer lugar se deben realizar ensayos *in vitro* con la finalidad de determinar la seguridad y los efectos probióticos, en segundo lugar realizar ensayos *in vivo* en modelos animales con el fin de explicar el mecanismo de su acción probiótica y en tercer lugar realizar los ensayos clínicos en grupos seleccionados de voluntarios.

Para que una cepa microbiana sea considerada probiótica debe cumplir con los siguientes requisitos (Amores *et al.*, 2004; FAO, 2006; Guarner *et al.*, 2008; Ray y Bhunia, 2010):

- Debe ser de origen humano y por tanto segura para uso humano.
- No debe estar sujeta a ningún cambio genético o fisiológico.
- La identidad de cada cepa (tipificación genética) debe ser confirmada por análisis de ADN.
- Ser estable por sí misma.
- Haber demostrado ser eficaz en estudios controlados en humanos.
- Persistir y multiplicarse en el tracto gastrointestinal sin perturbar el equilibrio normal microbiano.
- Resistentes a los jugos gástricos y poder crecer en presencia de bilis.
- Capaces de sobrevivir al paso por el aparato digestivo y de proliferar en el intestino.
- Adherirse a las células epiteliales del sistema gastrointestinal.

- Interferir la adherencia de los patógenos entéricos a las células.
- Producir metabolitos antibacterianos.
- Pasar a formar parte de la flora normal del tracto gastrointestinal.
- Presentar un elevado recuento inicial de células.
- Soportar ácidos, oxígeno libre, carbohidratos y otros ingredientes en el producto.

Collins *et al.* (1998) y Morelli (2000), citados por FAO (2006) mencionan que los probióticos deben poder ejercer sus efectos beneficiosos en el huésped mediante su crecimiento y/o actividad en el cuerpo humano, lo que importa es la especificidad de la acción, y no la fuente del microorganismo. Para cada cepa potencialmente probiótica, lo que debería verificarse es la capacidad de seguir siendo viable en el lugar de destino y de ser eficaz (FAO, 2006).

Dado que las propiedades probióticas están relacionadas con las cepas, se propone que la identificación de las cepas (tipificación genética) se lleve a cabo utilizando métodos tales como la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE). Se recomienda que se realicen primero ensayos fenotípicos, seguidos de la identificación genética mediante métodos tales como la hibridación de ADN, la determinación de secuencias del ARN 16S u otros métodos reconocidos internacionalmente (FAO, 2006).

2.5 ACCIÓN Y EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS PROBIÓTICOS EN EL ORGANISMO

Los principales mecanismos de acción de las bacterias probióticas incluyen la inhibición competitiva para la adhesión de bacterias, síntesis de compuestos que inhiben los patógenos y la estimulación de la respuesta inmune a través de la mejora de la barrera intestinal, es decir, mejorando la permeabilidad y estimulando la respuesta intestinal. Otros efectos se relacionan con disminución de la inflamación intestinal y de las reacciones de hipersensibilidad (Isolauri *et al.*, 2001, citados por Cocio, 2006). Las propiedades de adhesión de las bacterias probióticas son necesarias para tener una influencia positiva sobre el sistema inmune (Chr-Hansen, 2004).

Famuralo *et al.* (1999), citados por Amores *et al.* (2004) mencionan que los nutrientes están presentes en cantidades limitadas en el intestino, los cuales al ser consumidos por las bacterias probióticas; disminuyen la probabilidad de desarrollo y crecimiento de agentes patógenos, limitando así su proliferación. También pueden llegar a producir una disminución en la concentración de lactosa en la leche fermentada por la actividad de la lactasa bacteriana durante la fermentación.

La presencia de *Bifidobacterium* en el tracto gastrointestinal se ha asociado con un número de beneficios para la salud, como por ejemplo para combatir la diarrea, alivio de la intolerancia a la lactosa, prevención del cáncer, tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino, alivio del estreñimiento y reducción de colesterol en suero (Leahy *et al.*, 2005). Las bifidobacterias, así como otros organismos productores de ácido láctico han demostrado tener un efecto protector contra los efectos devastadores de la enfermedad diarreica aguda. En la diarrea infantil aguda producida por infección con un rotavirus, una cepa de *B. bifidum* dado junto con *Streptococcus thermophilus* en una fórmula de leche estándar, ha demostrado reducir la incidencia de la infección por rotavirus (Saavedra *et al.*, 1994, citado por Leahy *et al.*, 2005).

Respecto al impacto de *Bifidobacterium* en la función inmune, estudios recientes describen que la cepa de *B. lactis* puede mejorar la función inmunológica natural por el consumo de la dieta; *B. bifidum* también está siendo investigado como una cepa que posiblemente ejerce efectos inmunomoduladores importantes en combinación con otras cepas de probióticos cuando se consume en el queso; *B. infantis* también puede desempeñar un papel inmunorregulador en la supresión de citoquinas Th2 durante la sensibilización de antígeno (Arunachalam *et al.*, 2000, Chiang *et al.*, 2000, Lee *et al.*, 2004, Medici *et al.*, 2004, citados por Leahy *et al.*, 2005).

Las bacterias *Lactobacillus* La-5 y *Bifidobacterium* Bb-12 junto a otras bacterias probióticas están vinculadas al tratamiento de diarrea aguda en niños, prevención de diarrea asociada a antibióticos en niños, prevención de diarrea por *Clostridium difficile*, reducción de síntomas por mala digestión de la lactosa, alivio de síntomas del síndrome de intestino irritable y prevención de enterocolitis (Guarner *et al.*, 2008).

En el Cuadro 2 se indican algunos efectos beneficiosos de probióticos que cuentan con documentación en ensayos clínicos.

Cuadro 2: Cepas probióticas y sus efectos benéficos

Cepas probióticas	Efectos beneficiosos
	- Mejora el metabolismo de la lactosa
	- Reducción del riesgo de cáncer de colon mediante la limitación de los
Lactobacillus acidophilus	daños del ADN en las células del colon, lo que reduce la actividad de las
NCFM (Rhodia)	enzimas procarcinogénicos y mutágenos vinculantes
	- Reduce el nivel de colesterol sérico
	- Prevención de las infecciones urogenitales
	- Eficaz en la reducción de la incidencia de las enfermedades diarreicas
	(diarrea por rotavirus, diarrea asociada a antibióticos, la diarrea por C.
	difficile y la diarrea del viajero)
	- Reducción del riesgo de trastornos gastrointestinales tales como
I4-L: II II	enfermedades inflamatorias del intestino
Lactobacillus rhamnosus	- Reducción de la incidencia de infecciones por H. pylori
GG (Valio)	- Inhibición de la generación de productos carcinógenos mediante la
	reducción de la actividad de las enzimas microbianas
	- Normalización de la permeabilidad intestinal
	- Reducción del riesgo de infecciones respiratorias
	- Reducción del riesgo de caries dentales
Lactobacillus casei	- Acorta la fase diarreica en los niños con infección por rotavirus
defensis DN 114 001	- Eficaz en el tratamiento y prevención de las infecciones gastrointestinales
(Danone)	- Mantiene la actividad ureasa constante
	- Estimulación del sistema immune
Lactobacillus casei	- Eficaz en el tratamiento de la diarrea por rotavirus
shirota (Yakult)	- Reducción del riesgo de trastornos gastrointestinales
smrota (Takuit)	- Reducción de la actividad de las enzimas procarcinogénicas
Lactobacillus johnsonii	- Reducción de la incidencia de infecciones por H. pylori
La1 (Danone)	- Reducción de la inflamación
Lat (Danone)	- Estimulación del sistema immune
	- Alivio de los síntomas inflamatorios intestinales, por ejemplo, enterocolitis
Lactobacillus plantarum	y pouchitis
299v (Probi AB)	- Reducción de la recurrencia de C. difficile enterocolitis
	- Estimulación del sistema immune

Cuadro 2: "...continúa"

Cepas probióticas	Efectos beneficiosos
	- Alivio de los síntomas de eczema atópico en niños con hipersensibilidad a
Bifidobacterium animalis	la leche
DN 173 010 (Danone)	- Reduce la duración del aumento de la producción de heces en niños con
	enfermedades diarreicas
	- Reduce la incidencia de las infecciones por rotavirus en los niños y
Bifidobacterium bifidum	estimula la respuesta de anticuerpos específicos contra el rotavirus
	- Mejora de la digestión de la lactosa
Saccharomyces boulardii	- Reducción de la incidencia de diarrea por <i>C. difficile</i>
Saccharomyces boutaratt	- Acorta la duración de la gastroenteritis aguda

FUENTE: Holzapfel y Schillinger (2002), Saarela *et al.* (2002), Guarner y Malagelada (2003), Saxelin *et al.* (2005), Shah (2007), citados por Sip y Grajek (2010)

2.6 CONDICIONES QUE AFECTAN LA VIABILIDAD DE LOS PROBIÓTICOS

Los factores que afectan la viabilidad de probióticos en leches fermentadas son el pH, acidez, presencia de otros microorganismos, temperatura y contenido de oxígeno (Shah, 2000, citado por Gueimonde *et al.*, 2004).

Según Chr-Hansen (2004) varios son los parámetros que influyen sobre el número de células durante la vida útil de un producto, en algunos países la caducidad de un producto probiótico es superior a un mes, y la legislación puede estipular un recuento mínimo de la cepa probiótica, en el momento de la fecha de caducidad. El parámetro más importante es la estabilidad del cultivo por sí mismo. Su capacidad de soportar ácidos, oxígeno libre, carbohidratos, además de otros ingredientes en el producto es esencial.

Un aspecto importante en la preparación de un producto lácteo fermentado con cultivo probiótico es lo relacionado a la interacción que tiene lugar entre los microorganismos probióticos y los agentes del cultivo iniciador ya que pueden existir efectos sinérgicos y antagónicos (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Gueimonde *et al.*, 2004). En el estudio realizado por Gueimonde *et al.* (2004) se demostró que el número

de *Bifidobacterium* viables disminuyó en presencia de los cultivos iniciadores *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*.

Debido a la diferencia en la tasa de crecimiento y los distintos requerimientos de nutrientes, las bacterias probióticas se producen en una forma altamente concentrada de manera que sus recuentos después de ser añadidas al producto alimenticio sean suficientes para proporcionar un efecto probiótico (Sip y Grajek, 2010). Por tanto la cantidad del inóculo que se utilice para fermentar el yogur es un factor clave para asegurar la suficiente viabilidad de los probióticos en el producto final. Al utilizar los cultivos DVS (cultivos directos a cuba), se recomienda usar todo el paquete del cultivo y no usar sólo una parte (en peso) ya que se estaría tomando una proporción incorrecta entre las cepas y se estaría alterando la actividad del cultivo (Chr-Hansen, 2004).

Lankaputhra *et al.* (1996) y Heller (2001), citados por Gueimonde *et al.* (2004) reportan que durante la elaboración y almacenamiento de yogur, el peróxido de hidrógeno parece ser la sustancia responsable de la reducción de la viabilidad de *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp.

Otros factores tales como la temperatura de incubación, oxígeno disuelto, contenido de ácido láctico y acético en el producto, tiempo de fermentación, temperatura de almacenamiento; pueden afectar la viabilidad de los probióticos en yogur. La adición de carbohidratos como fructosa, sacarosa, glucosa, a la leche antes de la fermentación puede tener efectos adversos sobre el tiempo de fermentación e incluso inhibir el crecimiento de los microorganismos del yogur, cuando se alcanzan niveles del 10 – 15 por ciento; por tal razón la práctica más usual al elaborar yogur con frutas es adicionarlas al yogur acabado (Tamime y Robinson, 1991; Chr-Hansen, 2004).

La temperatura de incubación es también un factor importante relacionado con la práctica de la inoculación. Por lo general, el yogur se fermenta a 43°C (temperatura óptima para la producción de ácido láctico por cultivos iniciadores), sin embargo, la temperatura óptima para el crecimiento de *Bifidobacterium* es 37°C. Por consiguiente, las temperaturas de incubación más bajas (37-40°C) favorecerán la tasa de crecimiento

y la supervivencia de las especies probióticas (Kneifel *et al.*, 1993, citados por Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

Durante la fermentación del yogur, el contenido de ácido láctico incrementa mientras que el pH disminuye. La sobre acidificación o post acidificación se debe al crecimiento incontrolable de *L. bulgaricus* que disminuye el pH drásticamente después de la fermentación y durante el almacenamiento a temperatura de refrigeración; afectando la viabilidad de las bacterias probióticas (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001). El crecimiento de *L. bulgaricus* se puede restringir con bajas temperaturas de almacenamiento.

Para superar el problema de la post-acidificación, la tendencia actual está en el uso de cultivos iniciadores que no contengan a *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, tales como los ABT (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* y *S. thermophilus*). Estos cultivos pueden requerir la incorporación de micronutrientes (péptidos y aminoácidos) a través de la adición de suero de leche en polvo (WP), concentrado de proteína de suero (WPC), hidrolizado ácido de caseína (ACH), o triptona para reducir el tiempo de fermentación y para mejorar la viabilidad de las bacterias probióticas (Dave y Shah, 1998).

Bifidobacterium exhibe un débil crecimiento en leche, requiere de un ambiente anaeróbico para crecer, un bajo potencial redox y la adición de factores bifidogénicos para lograr los niveles deseados de crecimiento (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001). La especie Bifidobacterium es menos tolerante a las bajas temperaturas comparado con L acidophilus y una gran cantidad de oxígeno puede afectar su crecimiento y viabilidad. Durante la producción de yogur el oxígeno penetra y se disuelve fácilmente en la leche o también puede ingresar a través del empaque durante el almacenamiento (Shah, 2000; Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001). Al incluir a S thermophilus en el cultivo iniciador se reduce el oxígeno disuelto en el yogur, ya que este microorganismo tiene gran habilidad para utilizar el oxígeno durante su crecimiento y de esta forma se mejora la viabilidad de Bifidobacterium (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

2.7 ESTUDIOS DE VIABILIDAD DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

Vinderola *et al.* (2000) estudiaron la sobrevivencia de bacterias probióticas en queso fresco Argentino, reportando que especies de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus casei* presentaron sobrevivencias satisfactorias, considerando que después de 60 días de almacenamiento, la disminución de la cantidad de bacterias viables, fue menor a un ciclo logarítmico para *Bifidobacterium* y nula para *L. casei*. Estos resultados demuestran que *L. casei* fue más adaptable al producto.

Cocio (2006) determinó la viabilidad de dos bacterias probióticas, *Lactobacillus casei* subsp. *shirota* y *Bifidobacterium lactis*, en quesillo de leche de soya, tanto juntas como por separadas. El quesillo de soya, con *Lactobacillus casei shirota* tuvo un mayor recuento (2.98 x10⁸ ufc/g) durante el tiempo de almacenamiento a 5 °C, en comparación con *Bifidobacterium lactis* que alcanzó 1.4×10⁸ ufc/g y en la mezcla de ambos que se obtuvo 2.8×10⁸ ufc/g y 2.5×10⁸ ufc/g, respectivamente. Los autores atribuyen la viabilidad de los probióticos al contenido de oligosacáridos (estaquinosa, rafinosa y sacarosa) que tiene la soya, al ser estos una fuente de nutrientes para las bacterias probióticas; y al contenido de aminoácidos que son estimulantes para el crecimiento de *Bifidobacterium*.

Corrales *et al.* (2007) determinaron el comportamiento de cepas de *Bifidobacterium lactis* Bb-12 y *Lactobacillus acidophilus* La-5 (Chr-Hansen), durante la elaboración y almacenamiento de un helado batido. Las muestras se almacenaron entre - 30 y -25 °C por 85 días, el recuento de probióticos se realizó después del batidocongelación, endurecimiento y almacenamiento en los días 1, 14, 28, 42 y 85. Se determinaron disminuciones significativas (p<0.05) para *L. acidophilus* durante el batido-congelado y para los dos probióticos durante las etapas de elaboración (batidocongelado y endurecimiento) y almacenamiento del helado batido. Los autores atribuyen esta disminución a factores como la formación de cristales, choque frío, desnaturalización de proteínas y la incorporación de oxígeno al medio. Se estableció que el tiempo de vida útil de este producto era de 90 días, por cuanto en este tiempo se tenía recuentos $\geq 10^6$ ufc/g.

Magariños *et al.* (2008) evaluaron la supervivencia de dos probióticos *Lactobacillus casei* subsp. *shirota* y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, en un postre a base de leche (2.7 por ciento de grasa) con adición de salsa de arándanos. *B. lactis* tuvo una concentración final de 1.99 x 10⁶ ufc/g después de 21 días de estudio, con una disminución logarítmica de 8.87 por ciento. Por otro lado, *L. casei* subsp. *shirota* tuvo una concentración final de 2.05 x 10⁷ ufc/g al final del mismo período, una disminución logarítmica de 8.41 por ciento. Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas entre el crecimiento de los dos microorganismos en varios tiempos de almacenamiento, el microorganismo más viable fue *L. casei* subsp. *shirota*, cuya disminución fue menor a un ciclo logarítmico después de 21 días.

Lamoureux *et al.* (2002) estudiaron yogures preparados con mezclas de cultivos de yogur del género *Bifidobacterium* (*B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis* y *B. longum*), adicionando una etapa de preincubación (1.5 h a 50 ° C) con *Bifidobacterium* con el fin de producir oligosacáridos. La supervivencia de *Bifidobacterium* se vio afectada drásticamente durante el almacenamiento de los yogures, excepto para los productos que contenían *B. animalis*, en la que permanecieron los recuentos viables mayores a 10⁶ ufc/g después de 28 días de almacenamiento a 4 °C. La mayor concentración de oligosacáridos se obtuvo en los yogures que contenían *B. infantis* y los yogures con *B. breve*, los cuales mostraron mayor cantidad β-galactosidasa. Los autores concluyeron que el uso de un cultivo mixto con *B. animalis*, *B. infantis* o *B. breve*, permite la producción de yogures en el que *Bifidobacterium* puede sobrevivir en un número relativamente alto y además contener una cantidad apreciable de oligosacáridos.

Gueimonde *et al.* (2004) evaluaron durante 30 días de almacenamiento a 4°C la presencia y viabilidad de *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus* spp. en leches fermentadas comerciales, todas las muestras fueron adquiridas entre dos a cuatro días después de haberse elaborado. Los recuentos de las bacterias probióticas disminuyeron entre 0.75 y 1.85 unidades logarítmicas para *Lactobacillus* spp. y entre 0.17 y 1.10 unidades logarítmicas para *Bifidobacterium* spp. Según el criterio de 10⁶ a 10⁸ ufc/ml, considerado como bueno para un microorganismo probiótico, solo los productos 2, 3, 5, 9 y 10 cumplieron este requerimiento para *Bifidobacterium* spp. y los productos 1, 4, 6, y 7 para *Lactobacillus* spp.; al cabo de 30 días de almacenamiento a 4°C. Todos los

probióticos que se indicaban en la etiqueta estuvieron presentes en los productos comerciales y en dos leches fermentadas también se encontró un grupo adicional de microorganismos. El microorganismo iniciador *S. thermophilus* estuvo presente en todos los casos, mientras que *L. bulgaricus* sólo se detectó en dos productos. *Bifidobacterium* fue el grupo más frecuente en todas las variedades comerciales.

2.8 RECUENTO, IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE PROBIOTICOS

La necesidad de determinar el recuento inicial de bacterias probióticas después de la elaboración, durante el almacenamiento en refrigeración y en el proceso de distribución, hace necesario contar con métodos de rutina que permitan cumplir este objetivo. Para el recuento de *L. acidophilus* y *Bifidobacterium* spp. se han propuesto y estudiado muchos medios, en todos los casos el medio (selectivo y/o diferencial) y método escogido deben considerar el tipo de alimento, la especie o cepa para aislar, además de tomar en cuenta que el medio elegido no servirá en todas las situaciones (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Tharmaraj y Shah, 2003).

Son tres los medios de cultivo usados para el recuento de bacterias iniciadores en yogur: (a) medio general para un recuento total de colonias sin distinguir entre géneros o especies, por ejemplo, Medio MRS (de Man, Rogosa, & Sharpe) que soporta un buen crecimiento de bacterias ácido lácticas, (b) medios formulados para el crecimiento selectivo de cada género, por ejemplo, agar ácido-litio cloruro-paromomicina neomicina-nalidíxico (agar NNLP) para el aislamiento de *B. bifidum* (Laroia y Martin, 1991) y (c) medio de diferenciación que permite en una misma placa distinguir los cuatro tipos de bacterias que se encuentran en el bioyogur, por ejemplo, agar extracto de tryptoneproteose-peptona-levadura con azul de Prusia (agar TPPYPB) (Teraguchi *et al.* 1978, citados por Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

Un medio de cultivo se vuelve diferencial cuando se agregan uno o más agentes (indicadores de pH o de oxidación y reducción) con capacidad para diferenciar colonias producidas por cierto grupo específico de microorganismos con distintas características metabólicas o fisiológicas de las que tienen otros grupos en la misma población. Así

mismo se puede agregar a un medio de cultivo uno o más inhibidores (antibióticos, sales) que permiten proliferar los microorganismos resistentes a ellos y con ello lograr que el medio se vuelva selectivo (Ray y Bhunia, 2010)

El medio para la enumeración diferencial de *Bifidobacterium* usualmente contiene sustancias que reducen el potencial redox (por ejemplo cisteína, cistina, ácido ascórbico o sulfito de sodio) o agentes selectivos (antibióticos, una fuente simple de carbón, ácido propiónico o cloruro de litio) que inhiben el crecimiento de bacterias ácido lácticas (Shah, 2000; Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

La compañía Chr-Hansen utiliza sus propios métodos para el recuento de sus probióticos, basados en las normas internacionales ISO y adaptados de acuerdo a la composición del cultivo utilizado en los productos lácteos fermentados. En ambos casos se utiliza el agar MRS como medio general al que se adiciona clindamicina para el caso de *L. acidophilus* La-5 y clorhidrato de cisteína (CyHCl) junto con Mupirocina para *Bifidobacterium* Bb-12. Los métodos permiten hacer el recuento de estos probióticos como única cepa (Chr-Hansen, 2007a; Chr-Hansen, 2007b).

2.9 PREBIÓTICOS Y SU EFECTO EN LA VIABILIDAD DE BACTERIAS PROBIÓTICAS

Schrezenmeir et al. (2001) y Collins et al. (1999), citados por Cocio (2006) mencionan que los prebióticos son fibras o ingredientes no digeribles que estimulan la actividad de bacterias benéficas ya existentes en el intestino grueso, de modo que aunque no son aprovechados por el ser humano le ayudan indirectamente. Otra definición es la que menciona Brunser (2001), citado por Salazar et al. (2005) que dice que los prebióticos son la fuente de carbono y de energía de los probióticos por ser carbohidratos de cadena corta, algunas veces reconocidos como oligosacáridos, no digeribles por las enzimas del epitelio intestinal o de las glándulas anexas debido a su estructura química, y llegan al intestino grueso para ser fermentadas por las bacterias sacarolíticas, que son especialmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, dando origen a compuestos que ejercen efectos funcionales sobre la mucosa del tubo digestivo.

Algunos fructooligosacáridos, isomaltooligosacáridos, oligomato, palatinosa, polidextrosa, polidextrina, raftilina, presentes en: soya, avena, cebolla, ajo, banano, puerros, derivados del trigo, achicoria, espárrago, alcachofa entre otros, se les considera también prebióticos (Cummings *et al.*, 2001, citados por Salazar *et al.*, 2005). La oligofructosa (OF) está presente naturalmente en muchos alimentos como: trigo, cebollas, bananas, miel, ajo y puerro (Guarner *et al.*, 2008).

Según la American Association of Cereal Chemists (AACC), la fibra dietética está formada por las partes comestibles de vegetales, plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado del ser humano y que sufren una fermentación total o parcial en el intestino grueso. Esta fibra incluye: celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas, gomas y otros polisacáridos y oligosacáridos asociados con las plantas (AACC, 2001). La fibra dietaria se clasifica en dos fracciones: fibra dietaria insoluble (FDI) compuesta por celulosa, lignina y parte de hemicelulosa y que es escasamente fermentable; y fibra dietaria soluble (FDS) que incluye pentosas, pectinas, gomas, mucilago, β glucanos, fructo-oligosacáridos, hemicelulosas solubles e inulina, y que tiene buena fermentabilidad. La composición de la FD depende de la especie de la planta y del tejido o parte de la misma (Dhingra *et al.*, 2011).

A diferencia de los probióticos, la mayoría de los prebióticos se utilizan como ingredientes de los alimentos. La combinación apropiada de prebióticos y probióticos da como resultado un alimento simbiótico que ejerce efectos pre y probióticos (Guarner *et al.*, 2008).

La presencia de probióticos y prebióticos en un alimento mejoran la supervivencia de las bacterias probióticas durante el almacenamiento del producto y durante el paso a lo largo del tracto intestinal. Por otra parte, el producto simbiótico puede permitir una implantación eficiente de las bacterias probióticas en la microbiota del colon, debido al efecto estimulante que tiene sobre el crecimiento y/o actividad exógena y endógena de la bacteria (Roberfroid, 1998, citado por Lamoureux *et al.*, 2002).

En leches fermentadas simbióticas, las cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium* spp. son ampliamente utilizadas como

probióticos, mientras que fructo-oligosacáridos, galactooligosacáridos, lactulosa, y los productos derivados de inulina se utilizan ampliamente como prebióticos (Ziemer y Gibson, 1998, Klaenhammeer y Kullen, 1999, citados por Lamoureux, 2002)

Bifidobacterium es difícil de propagar en alimentos debido a la sensibilidad al oxígeno y a la baja tolerancia de acidez, la adición de prebióticos a los alimentos lácteos puede conducir a resultados prometedores para garantizar la presencia en cantidades elevadas de las bifidobacterias durante la vida útil de los productos lácteos (Modler *et al.*, 1990, citados por Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

Brunser (2001) y Cummings *et al.* (2001), citados por Salazar *et al.* (2005) mencionan que al adicionar compuestos prebióticos a la dieta en determinadas cantidades se altera la microbiota intestinal disminuyendo los recuentos de coliformes, bacteroides y cocos, aumentando las bacterias probióticas hasta en diez veces; modifican la actividad metabólica del colon, logrando una disminución del pH y un incremento en el contenido fecal de ácidos grasos de cadena corta como el acético, propiónico y butírico. El butirato aumenta el grosor de la pared del colon e intestino delgado, estimula el crecimiento de la mucosa del colon y aumenta su flujo sanguíneo, inhibe el crecimiento de líneas tumorales epiteliales de origen colónico, induce la diferenciación de sus células y la apoptosis, entre otros.

En un estudio realizado por Salazar *et al.* (2005) en donde se investigó la viabilidad de un aislado nativo de *Lactobacillus brevis* en dos bebidas lácteas fermentadas, una de ellas diferenciada de la otra por el contenido de avena (0.5 por ciento) como ingrediente prebiótico. El resultado determinó que el microorganismo probiótico presentó >10⁶ ufc/ml hasta el día 21 en ambas bebidas, observándose un crecimiento más rápido en la bebida con avena.

Akalm *et al.* (2004), citados por Cocio (2006) demostraron que la viabilidad de *Bifidobacterium longum* y *Bifidobacterium animalis* en yogur almacenado a 4°C, con 2 por ciento de fructooligosacáridos es más alta que el control sin este prebiótico.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ESQUEMA DEL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

En la Figura 1 se muestra la secuencia de actividades que se llevaron a cabo en la presente investigación:

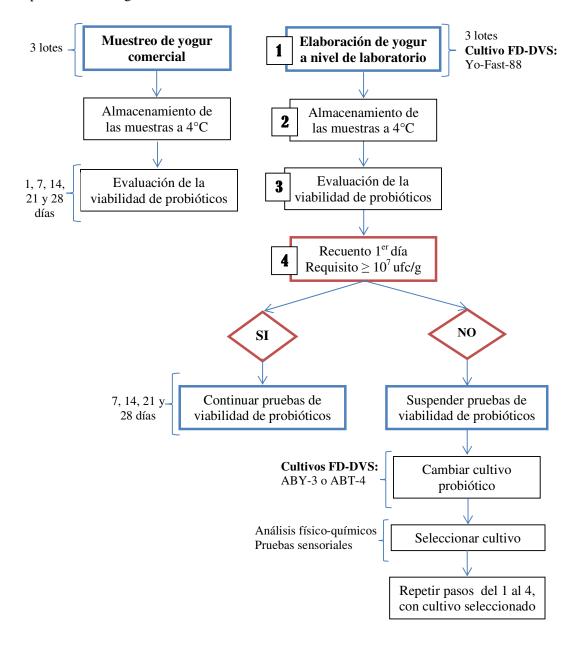


Figura 1: Esquema del desarrollo de la investigación.

3.2 LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de "Alimentos" y "Microbiología" del Departamento de Ciencias Agropecuarias y Alimentos de la Universidad Técnica Particular de Loja - Ecuador.

3.3 MUESTRAS ANALIZADAS

3.3.1 YOGUR COMERCIAL

Se evalúo el yogur con probióticos (sabor y pulpa de mango) comercial marca "Yogur-bio", ubicada en la ciudad de Loja (Ecuador). Tres lotes de cada tipo de yogur fue muestreado siguiendo los lineamientos de la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN. Leche y productos lácteos. Muestreo (INEN, 1983), se reunieron al alzar un total de 15 muestras considerando que el tamaño del lote era de 1100 litros. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4°C.

Las muestras se controlaron durante 28 días, a intervalos de siete días (1, 7, 14, 21 y 28). De cada lote y en cada día de control, se analizaron tres muestras. Se evalúo el pH, acidez, recuento de bacterias patógenas y probióticas.

3.3.2 YOGUR A NIVEL DE LABORATORIO

Con la finalidad de conseguir recuentos altos de los microorganismos probióticos al mantener un control más adecuado de las condiciones de producción, se elaboraron tres lotes de yogur con sabor y pulpa de mango con el cultivo usado para elaborar el yogur comercial "Yogur-bio" (Yo-Fast-88). El primer día de elaboración se controló que las muestras tuvieran como mínimo ≥10⁷ ufc/g de las bacterias probióticas, con la finalidad de asegurar un recuento inicial elevado que permita alcanzar al final de la vida útil del yogur el requisito que indica la Normativa Ecuatoriana de 10⁶ ufc/g (INEN, 2011b). Al no cumplirse este requisito, las pruebas de viabilidad de este yogur se suspendieron.

Se buscaron otros cultivos que permitieran alcanzar los recuentos de los microorganismos probióticos, pero que además brindaran características sensoriales y de producción similares al usado por la empresa que elabora el yogur "Yogur-bio"; por cuanto los consumidores estaban familiarizados con el producto que ésta elabora. Se seleccionó al cultivo que mejor cumplía este último requisito y se elaboró nuevamente el yogur. El primer día de elaboración se comprobó la viabilidad de las bacterias probióticas fuera $\geq 10^7$ ufc/g, lo que permitió continuar con las pruebas de viabilidad durante el almacenamiento a 4° C.

3.4 CULTIVOS UTILIZADOS

Para la elaboración del yogur se utilizaron cultivos de la marca Chr-Hansen (Alemania), en presentación liofilizada (FD) para la inoculación directa de leche (DVS). La descripción de las características de los tres cultivos se indica en el siguiente cuadro y las especificaciones técnicas en el Anexo 1:

Cuadro 3: Características de los cultivos utilizados.

	Cultivos FD-DVS				
Características	Yo-Fast-88	ABT-4	ABY-3		
Definición	Mezcla compuesta de cepas simples definidas de bacterias ácido lácticas con cepas probióticas	Cultivos de cepas bien definidas, con al menos us cepa probiótica con amplia documentación clínica sobre los beneficios específicos para la salud.			
Cepas	 Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, Lactobacillus acidophilus Bifidobacterium. 	- Streptococcus thermophilus, - Lactobacillus acidophilus La-5® - Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12®	 Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, Lactobacillus acidophilus La-5® Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12® 		
Parámetros de	43°C	43°C	43°C		
fermentación Intensidad del sabor	4h30 – 5h00 Suave a medio	5h00 – 5h30 Suave a medio	5h30 – 6h00 Muy suave		
Espesor en la boca	Alto	Bajo	Alto		
Viscosidad	Media	Baja	Baja – media		

FUENTE: Chr-Hansen (2004)

Para la utilización de los cultivos se partió de la premisa dada por el fabricante, que indica que con las dosis recomendadas de inoculación, el número de células viables en los cultivos liofilizados es de como mínimo 5 x 10¹⁰ ufc/g (Chr-Hansen, 2004)

3.5 PROCESO DE ELABORACIÓN DEL YOGUR

Para la elaboración del yogur se siguió el proceso y formulación (Cuadro 4) de la empresa que elabora el yogur "Yogur-bio". En el Anexo 2 se muestran las especificaciones técnicas de algunos de los ingredientes utilizados.

Cuadro 4: Formulación del yogur.

Ingrediente	Porcentaje (%)			
Leche estandarizada al 1.5% de grasa	100			
Azúcar de caña*	10.67			
Estabilizante G36400 AD*	0.15			
Cultivo (previamente activado)*	0.40			
Conservante sorbato de potasio*	0.005			
Yogur saborizado				
Esencia de mango*	0.035			
Colorante (preparado)*	0.075			
Yogur con pulpa				
Pulpa de mango pasteurizada*	10			

^{*} Calculados en función del 100% de leche estandarizada

El proceso que se siguió para elaborar el yogur se muestra en la Figura 2 y la descripción de cada una de las etapas se detalla a continuación:

3.5.1 RECEPCIÓN DE LECHE

La leche estandarizada al 1.5 por ciento de grasa fue proporcionada por la empresa que elabora el yogur "Yogur-bio" y contó el análisis de calidad, según los requisitos de la Norma Técnica Ecuatoriana para leche cruda (INEN, 2012). En el Anexo 3 se muestra el detalle de los análisis realizados.

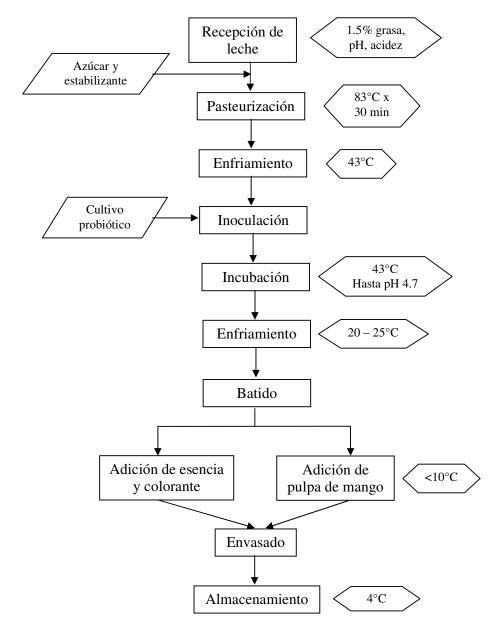


Figura 2: Esquema de preparación del yogur FUENTE: Manual de BPM de la Empresa que elabora el yogur "Yogur-bio"

3.5.2 PASTEURIZACIÓN

La leche fue calentada primeramente hasta 40°C para incorporar el estabilizante junto con el azúcar y facilitar su dispersión, luego se pasteurizó a 83°C por 30 minutos.

3.5.3 ENFRIAMIENTO

Le leche se enfrió hasta 43°C para la inoculación del cultivo.

3.5.4 INOCULACIÓN

Los cultivos se activaron previamente antes de colocarlos en la leche. Chr-Hansen (2004) recomienda para pruebas de laboratorio, utilizar un sobre de cultivo FD-DVS de 50 unidades de actividad (U) que sirve para preparar 250L de yogur. Para la activación del cultivo se utilizó un litro de leche estéril (UHT) calentada hasta 43°C, a la que se añadió un sobre completo del cultivo; agitando suavemente hasta disolverlo por completo. Inmediatamente se inoculó la leche, adicionando 4ml del cultivo activado por cada litro de yogur que se preparó (Chr-Hansen, 2004).

3.5.5 INCUBACIÓN

La incubación se realizó a la temperatura de 43°C hasta alcanzar un pH de 4.7.

3.5.6 ENFRIAMIENTO

El yogur se enfrió hasta una temperatura de 20 a 25°C para detener el proceso fermentativo.

3.5.7 BATIDO

La ruptura del coágulo fue realizado en todos los casos por la misma persona, a la misma velocidad y en la misma dirección con el objetivo de obtener resultados reproducibles (Sanz *et al.*, 2008).

3.5.8 ADICIÓN DE OTROS INGREDIENTES

Cuando la temperatura del yogur fue de 10°C aproximadamente, se adicionó el conservante (sorbato de potasio) disuelto en agua estéril. Para el yogur saborizado, la esencia y colorante (previamente preparados) se incorporaron mediante agitación para

homogenizarlo. La pulpa para ser adicionada al otro tipo de yogur, fue previamente descongelada en refrigeración a 4°C para luego incorporarla mediante agitación.

3.5.9 ENVASADO

El envasado se realizó manualmente. Para el yogur con pulpa se utilizaron frascos plásticos de polietileno de alta densidad (Rhenania S.A.), los cuales se desinfectaron previamente con agua caliente y vapor; y para el yogur saborizado se usaron fundas laminadas estériles de polipropileno (Prepacking S.C.C.A.).

3.5.10 ALMACENAMIENTO

El yogur se almacenó en un refrigerador industrial Thermoglobal a temperatura de 4°C. El control se realizó bajo las mismas condiciones explicadas en la sección 3.2.1 para el yogur comercial. Adicionalmente a este yogur se le determinó la viscosidad, sinéresis y características sensoriales; con la finalidad de completar los análisis que permitieran establecer la vida útil del mismo.

3.6 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.6.1 DETERMINACIÓN DE pH

Se realizó por medida directa usando un potenciómetro digital marca Metter Toledo (S20-SevenEasyTM), siguiendo el método de la Association of Official Agricultural Chemists AOAC 981.12 – pH en Alimentos acidificados (AOAC, 2005b). Se reportó el valor promedio de dos mediciones.

3.6.2 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE

Se tomó 20g de muestra a 20°C y se diluyó con un volumen dos veces mayor de agua destilada; se adicionó 2 ml de solución indicadora de fenolftaleína y se tituló con una solución de hidróxido de sodio 0.1N hasta cambio de coloración a rosa. Los

resultados se expresaron como porcentaje de ácido láctico (INEN, 1984) del promedio de dos mediciones.

3.6.3 VISCOSIDAD APARENTE

Se determinó con un viscosímetro rotacional Brookfield DVI-PRIME utilizando el husillo n°4 y a una velocidad de 30rpm por 30s, manteniendo el yogur a una temperatura de 4°C (Soukoulis *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2010). La viscosidad se reportó como el promedio de tres mediciones y se expresó en unidades centipoises (cP).

3.6.4 SINÉRESIS

Se pesó 25g de muestra en tubos para centrífuga, los cuales se centrifugaron por 15min a 2500rpm aproximadamente; utilizando una Centrifuga Adams (Clay Adams Inc, Chatsworth, CA). Se obtuvo el peso del sobrenadante y se calculó el porcentaje de sinéresis (p/p) mediante la relación entre peso del sobrenadante y el peso de la muestra multiplicado por 100 (Castillo *et al.*, 2004; Yüksel y Erdem, 2010).

3.6.5 RECUENTO DE BACTERIAS PATÓGENAS

Se realizó siguiendo los métodos rápidos Petrifilm (3M), para lo cual se hizo una sola dilución de cada muestra tomando 10g de yogur y adicionándolos a 90ml de agua buferada. Se sembró por duplicado 1ml de la dilución (Figura 3) y se incubó a 25°C por 5 días para el caso de mohos y levaduras (Método AOAC 997.02), y a 35°C por 24 horas para *Escherichia coli* / coliformes (Método AOAC 991.14) y *Staphylococcus aureus* (Método AOAC 2001.05) (AOAC, 2005a).



Figura 3: Recuento de bacterias patógenas por el método petrifilm.

En todos los casos y al término de la incubación se seleccionaron las placas que presentaron entre 15 a 150 colonias y se contaron todas las colonias reportando el resultado como unidades formadoras de colonia por gramo (ufc/g).

3.6.6 RECUENTO DE BACTERIAS PROBIÓTICAS

Se realizó mediante los métodos proporcionados por la compañía Chr-Hansen. Las etapas que se siguieron se detallan a continuación:

a. Preparación del medio base

Se utilizó agar MRS (Difco 288210), disolviendo 70g de agar en un litro de agua destilada. Se llevó a ebullición agitando fuertemente para disolverlo y luego se esterilizó en una autoclave marca YAMATO-SM32 a 121°C por 15 minutos. Al final se controló que el pH del medio fuera de 6.5±0.2 a 25°C. El agar preparado se almacenó en oscuridad hasta su utilización.

b. Preparación de sustancias inhibidoras

- Solución de Clorhidrato de cisteína-CyHCl (Merck No 2839): Se pesó 10g de clorhidrato de cisteína y se lo disolvió con 100 ml con agua destilada. Se esterilizó por autoclavado a 121°C por 15min. La solución se almacenó a temperatura ambiente (23°C) hasta dos meses.
- Solución de mupirocina de litio (EPM3806000): Se pesó 0.1g de Li-Mupirocina y se añadió 10ml de agua destilada. La solución se esterilizó por filtración, usando un filtro de membrana de 0.45μm. Se almacenó a -20°C en criotubos estériles.
- Solución de clorhidrato de clindamicina (Sigma C5269): Se pesó 0.002g de clorhidrato de clindamicina y se añadió 10 ml de agua destilada para disolverlo. La solución se esterilizó mediante un filtro de membrana de 0.22μm. Se almacenó a -20°C en criotubos estériles hasta por seis semanas.

c. Preparación de medios selectivos

El agar previamente preparado se derritió en baño maría con agua hirviente, luego fue enfriado y mantenido a 45°C en el mismo baño.

Para el recuento de *Bifidobacterium*, a cada litro de agar preparado se le adicionó 5ml de solución de clorhidrato de cisteína para reducir el potencial redox del medio y 2.5ml de solución de mupirocina de litio para inhibir el crecimiento de las bacterias ácido lácticas incluidas las del cultivo iniciador y la cepa probiótica *L. acidophilus* (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Tharmaraj y Shah, 2003; Chr-Hansen, 2007a; Chr-Hansen, 2007b).

Para el recuento de *Lactobacillus acidophilus* se adicionó 0.5ml de solución de clorhidrato de clindamicina por cada litro de agar preparado con la finalidad de inhibir la mayoría de bacterias ácido lácticas y de *Bifidobacterium* spp. (Chr-Hansen, 2004; Zalazar y Reinheimer, 2006).

d. Preparación de diluciones y siembra de las muestras

Como medio de dilución se utilizó solución salina de peptona, para lo cual se pesó 1g de peptona de caseína de digestión enzimática (Merck 1.07213), 8.5g de cloruro de sodio (Merck 1.06404) y se los disolvió con agua destilada hasta completar un litro (Chr-Hansen, 2007c). La solución se esterilizó a 121°C por 15min.

Se realizaron diluciones seriadas de cada muestra, pesando 10g de yogur en 90ml de solución salina de peptona estéril. Se realizó hasta cinco diluciones consecutivas, pasando en cada caso, 10 ml de la dilución anterior a 90 ml de solución salina de peptona. En cajas petri estériles se colocó 1ml de cada dilución y se agregó de 10 a 12ml del agar correspondiente.

Se sembraron por duplicado las tres diluciones más altas y en cada ensayo se realizaron blancos como control de esterilidad.

e. Incubación y recuento de probióticos

Todas las placas se colocaron de forma invertida en jarras de anaerobiosis, utilizando el sistema AnaeroGen AN0035A (Oxoid) para dar aproximadamente el 10 por ciento de dióxido de carbono en la jarra (Figura 4), se colocaron además indicadores Anaerotest (Merck 1.15112) para controlar que las condiciones de anaerobiosis se mantengan durante la incubación. Las placas dispuestas en las jarras se incubaron a 37°C por tres días.



Figura 4: Recuento de probióticos.

Al término de la incubación se seleccionaron las placas que presentaron entre 15 a 300 colonias, reportando el promedio de las dos placas por el inverso de la dilución. El resultado se expresó en unidades formadoras de colonia por gramo (ufc/g).

Para confirmar que los microorganismos que crecieron en los medios utilizados se trataban de *L. acidophilus* y *Bifidobacterium*, se utilizó la Tinción de Gram; la misma que permitió la identificación de las colonias según las características de crecimiento y la morfología que presentó cada una al ser observada al microscopio.

3.7 EVALUACIÓN SENSORIAL

3.7.1 SELECCIÓN DEL CULTIVO

a. Prueba de medida del grado de satisfacción

El yogur elaborado con los cultivos Yo-Fast-88, ABT-4 y ABY-3 fue analizado mediante la evaluación sensorial del producto aplicando una prueba afectiva. Un panel

de nueve catadores semientrenados (cinco mujeres y cuatro hombres, con edades comprendidas entre 22 y 40 años) quienes habían participado en otras sesiones de catación y por tanto tenían cierta experiencia y conocimientos sobre evaluación sensorial.

Se usó una escala hedónica de siete puntos (1 = Me disgusta muchísimo y 7 = Me gusta muchísimo) evaluando sabor, apariencia, viscosidad y aceptación general del producto (Hekmat y Reid, 2006), la ficha utilizada se muestra en el Anexo 4. Cada panelista evalúo las muestras por triplicado (nueve en total) en dos sesiones. Las muestras se dieron a degustar a una temperatura entre 5 y 10°C, contenidas en vasos plásticos codificados con tres números. Las muestras se presentaron aleatoriamente (Isleten y Karagul-Yuceer, 2006).

b. Prueba de preferencia o aceptabilidad pareada

Para conocer la aceptabilidad del yogur elaborado con el cultivo seleccionado en la etapa anterior, se aplicó una prueba de preferencia (Anexo 5) a 80 consumidores habituales de este producto, a quienes se les presentó dos muestras: (1) yogur con el cultivo Yo-Fast-88 y (2) yogur con el cultivo seleccionado. Se trabajó con un nivel de significancia de cinco por ciento (Anzaldúa-Morales, 1994).

3.7.2 EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL YOGUR CON EL CULTIVO SELECCIONADO

Durante los 28 días de almacenamiento en refrigeración (4°C) de las muestras de yogur con el cultivo seleccionado, se realizó el análisis sensorial del producto mediante la aplicación de una prueba descriptiva; siguiendo las siguientes etapas:

a. Selección del panel y entrenamiento

Del grupo de profesores del Departamento de Ciencias Agropecuarias y Alimentos de la Universidad Técnica Particular de Loja, se seleccionó ocho panelistas (cinco hombres y tres mujeres, con edades comprendidas entre 30 y 40 años), en base a su habilidad para reconocer aromas y sabores básicos, a su experiencia y capacitación previa en evaluación sensorial. El entrenamiento para este estudio consistió en dos sesiones de una hora cada una (King *et al.*, 2000; Saint-Eve *et al.*, 2008).

b. Generación de atributos

En cuatro sesiones se presentó a los panelistas muestras preparadas de yogur de diferentes características y se trabajó en el listado de términos para identificar y definir apariencia, textura y sabor. Se estableció una lista de 25 atributos (Anexo 6), luego de lo cual se redujo el número total de términos eliminando los redundantes o los que el panel no pudo llegar a un consenso, definiendo finalmente 10 atributos (Cuadro 5) junto con sus respectivas anclas (productos de referencia) y la valoración óptima para cada uno. En la última sesión se trabajó el uso y la aplicación de la escala (Santana *et al.*, 2006; Soukoulis *et al.*, 2007; Saint-Eve *et al.*, 2008)

Cuadro 5: Lista de atributos usados para el análisis descriptivo

Descriptores	Atributos	Anclas	Valoración óptima
	Sinéresis	Min: Yogur cuchareable Max: Yogur con 1% de suero líquido en la superficie	0
	Viscosidad	Min: Yogur bebible Max: Yogur cuchareable (sin batir)	4.5
Aspecto	Grumosidad	Min: Yogur bebible Max: Yogur con 5% de leche descremada en polvo, mezclado ligeramente	0
	Tonalidad	Min: Carta de colores RHS. Yellow- orange. Group 20 (B) Max: Carta de colores RHS. Yellow- orange. Group 21 (B)	4.5
Sahany	Astringencia	Min: Agua Max: Bolsas filtrantes de té, remojadas por una hora	4.5
Sabor y aroma	Acidez	Min: Agua Max: Agua + 0.08% de ácido cítrico	4.5
	Amargor	Min: Agua Max: Agua + 0.04% de cafeína	0

Cuadro 5: "...continúa"

Descriptores	Atributos	Anclas	Valoración óptima
Sabor y aroma	Regusto	Min: Agua Max: Agua con caseinato de sodio al 5%	0
Channa	Viscosidad	Min: Yogur bebible Max: Yogur cuchareable (sin batir)	4.5
Cuerpo y textura	Grumosidad	Min: Yogur bebible Max: Yogur con 5% de leche en polvo mezclado ligeramente	0

c. Evaluación de las muestras

Se utilizó una escala lineal de nueve centímetros, delimitada en los extremos por las siglas min (mínimo) y máx (máximo). Se pidió al juez que marcara sobre la línea, una pequeña raya vertical para indicar su apreciación respecto al atributo evaluado. La ficha de catación utilizada se muestra en el Anexo 7.

Todas las muestras se sacaron de refrigeración media hora antes de empezar la sesión de evaluación, a fin de que la temperatura estuviera de 5 a 10°C. A cada juez se le entregó 50g de yogur en vasos codificados con números aleatorios de tres dígitos (Anzaldúa-Morales, 1994). El orden de presentación de las muestras fue aleatorio y se evaluaron los atributos definidos previamente (Cuadro 5).

3.8 DISEÑO ESTADÍSTICO Y ANÁLISIS DE DATOS

Para determinar diferencias significativas en las características físico-químicas y de viabilidad de probióticos entre los días de almacenamiento y según el tipo de yogur; se usó un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional.

Para la selección del cultivo y evaluación de la vida útil de este yogur se llevó a cabo un ANOVA de una vía, para comparar los datos de los análisis físico-químicos y de las pruebas sensoriales.

Para establecer en dónde se encontraban las diferencias, se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey al 95 por ciento de confianza. Todos los datos se analizaron con el programa Minitab 16 y fueron expresados como media y desviación estándar de tres repeticiones.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EVALUACIÓN DEL YOGUR COMERCIAL

4.1.1 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Los resultados del análisis microbiológico de las muestras de yogur con esencia y pulpa de mango, mostraron ausencia de Coliformes totales, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, mohos y levaduras; lo que confirmó su calidad sanitaria ya que cumplieron con lo establecido en la Norma Técnica Ecuatoriana para Leches fermentadas (INEN, 2011b).

4.1.2 ANÁLISIS QUÍMICOS

Los resultados de la evaluación del pH y acidez de las muestras de yogur comercial se muestran en el Cuadro 6 y el tratamiento estadístico de los datos en el Anexo 8.

Cuadro 6: Propiedades químicas del yogur comercial durante el almacenamiento a 4°C

Propiedades	Día de almacenamiento	A	В
	1	4.51 ± 0.02^{a1}	4.49 ± 0.01^{a1}
	7	4.39 ± 0.01^{ab1}	4.42 ± 0.03^{b1}
pН	14	4.36 ± 0.01^{ab1}	$4.38 \pm 0.01^{\text{bc1}}$
	21	4.28 ± 0.01^{b1}	$4.35 \pm 0.01^{\text{cd1}}$
	28	4.27 ± 0.03^{b1}	4.30 ± 0.01^{d1}
	1	0.70 ± 0.00^{b1}	0.71 ± 0.01^{b1}
Acidez titulable	7	$0.74 \pm 0.00^{\mathrm{ab1}}$	0.73 ± 0.01^{ab1}
(% ácido láctico)	14	$0.78 \pm 0.00^{\mathrm{ab1}}$	$0.74 \pm 0.00^{\mathrm{ab1}}$
	21	0.81 ± 0.01^{ab1}	0.75 ± 0.01^{a1}
	28	0.82 ± 0.01^{a1}	0.76 ± 0.00^{a1}

A: Yogur con cultivo Yo-Fast-88 con sabor a mango

Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del día de almacenamiento y diferentes números en la misma fila indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del tipo de yogur (p<0.05).

B: Yogur con cultivo Yo-Fast-88 con pulpa de mango

El pH en el yogur con sabor a mango, disminuye significativamente de 4.51 a 4.27 y de 4.49 a 4.30 en el yogur con pulpa de mango. En este último, se observa que el pH disminuye más lento que en el otro tipo de yogur, lo cual se deba posiblemente al incremento de carbohidratos por la adición de la pulpa de fruta que pudieron inhibir el crecimiento de los microorganismos iniciadores del yogur, especialmente de L. bulgaricus que es el que provoca la disminución del pH durante el almacenamiento a temperatura de refrigeración y que se ve inhibido cuando se alcanzan niveles del 10 -15 por ciento de fruta (Tamime y Robinson, 1991; Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001). Yildiz (2010) menciona que al término de la fermentación la acidez del yogur debe estar entre 1.2 y 1.4% de ácido láctico y el pH entre 4.5 y 4.7; por su parte Lourens-Hattingh y Viljoen (2001) mencionan que el pH de los yogures comerciales está en el rango de 4.3 a 3.7, observándose en los dos tipos de yogur valores de pH cercanos al rango citado. El pH que presenta el yogur al término de su elaboración se debe principalmente a la acción de los microorganismos iniciadores S. thermophilus y L. bulgaricus, los cuales exhiben un crecimiento simbiótico durante la producción de yogur. S. thermophilus crece primero utilizando los aminoácidos esenciales producidos por L. bulgaricus y en contraparte S. thermophilus produce ácido láctico para reducir el pH hasta un nivel óptimo para el crecimiento de L. bulgaricus. Al cabo de tres horas de fermentación aproximadamente, el número de los dos microorganismos es igual. Con procesos largos de fermentación la tasa de crecimiento de S. thermophilus desciende mientras que L. bulgaricus continúa reduciendo el pH con mayor producción de ácido láctico y por ende disminución del pH (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

La acidez en los dos tipos de yogur no fue afectada de manera significativa durante el almacenamiento, presentándose únicamente diferencia entre el primer y último día de almacenamiento para el yogur con sabor a mango, y entre el día uno con los días 21 y 28 para el yogur con pulpa. La acidez de los dos tipos de yogur es estadísticamente igual (p>0.05).

Cuando la acidez incrementa, el pH disminuye y este comportamiento puede observarse en los dos tipos de yogur. En la muestra A, la acidez incrementa de 0.70 a 0.82 por ciento de ácido láctico y el pH disminuye de 4.51 a 4.27; mientras que en la muestra B la acidez incrementa de 0.71 a 0.76 por ciento de ácido láctico y el pH

disminuye de 4.49 a 4.30. Vinderola *et al.* (2000) y Akin y Güler-Akin (2005) reportan resultados similares.

4.1.3 VIABILIDAD DE BACTERIAS PROBIÓTICAS

Los medios de cultivo utilizados para el recuento *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium* resultaron adecuados, puesto que permitieron el crecimiento selectivo de los dos probióticos estudiados. Los resultados del recuento de probióticos en el yogur comercial se muestran en el cuadro a continuación y el tratamiento estadístico de los datos en el Anexo 9:

Cuadro 7: Recuento viable (log₁₀ ufc/g) de bacterias probióticas en yogur comercial durante el almacenamiento a 4°C

Microorganismo Día de almacenamien		A	В
	1	7.57 ± 0.08^{a1}	7.32 ± 0.16^{a1}
	7	$6.32 \pm 0.26^{\mathrm{b1}}$	6.85 ± 0.11^{a1}
Bifidobacterium	14	4.22 ± 0.61^{c2}	5.69 ± 0.14^{b1}
	21	1.72 ± 0.27^{d2}	3.23 ± 0.18^{c1}
	28	1.14 ± 0.17^{d1}	1.54 ± 0.16^{d1}
	1	7.14 ± 0.15^{a1}	6.83 ± 0.06^{a1}
Lactobacillus	7	6.93 ± 0.10^{a1}	$6.61 \pm 0.09^{\mathrm{ab1}}$
acidophilus	14	$6.34 \pm 0.06^{\mathrm{ab1}}$	6.21 ± 0.11^{ab1}
	21	$6.20 \pm 0.09^{\mathrm{ab1}}$	$5.78 \pm 0.10^{\mathrm{b1}}$
	28	$5.43 \pm 0.28^{\mathrm{b1}}$	4.78 ± 0.11^{c1}

A: Yogur con cultivo Yo-Fast-88 con sabor a mango

En el caso del yogur A, *Lactobacillus acidophilus* muestra una clara diferencia (p<0.05) en las dos primeras semanas de almacenamiento (días 1 y 7) con la última (día 28), mientras que en el yogur B este microorganismo muestra una disminución significativa al día 28 de almacenamiento. La viabilidad de este microorganismo descendió (p<0.05) en 1.7 ciclos logarítmicos en el yogur A, mientras que en el B lo hizo en 2.1 ciclos logarítmicos al final del almacenamiento (28 días).

B: Yogur con cultivo Yo-Fast-88 con pulpa de mango

Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del día de almacenamiento y diferentes números en la misma fila indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del tipo de yogur (p<0.05).

Bifidobacterium disminuye significativamente en los dos tipos de yogur (A y B) en cada día de control, comparando la cantidad inicial con la final de este microorganismo se observa que en yogur con sabor a mango disminuyó (*p*<0.05) en 6.4 unidades logarítmicas y en el yogur con pulpa 5.8 ciclos logarítmicos; demostrando que Bifidobacterium fue más sensible y por tanto mostró menor viabilidad. Estos resultados concuerdan con lo meniconado por Shah *et al.* (1995), citados por Gueimonde *et al.* (2004) quienes evaluaron yogures comerciales almacenados a 4°C durante cinco semanas, determinando un considerable descenso de en la viabilidad de Bifidobacterium bifidum (3.5 − 7 ciclos logarítmicos) y L. acidophilus (1.5 − 6 unidades logarítmicas). La explicación de la menor viabilidad de Bifidobacterium se puede deber a que estos microorganismos son menos tolerantes a las bajas temperaturas que L. acidophilus y en particular exhibe un crecimiento débil, requiere de un ambiente anaeróbico, un bajo potencial redox y la adición de factores bifidogénicos para lograr los niveles deseados de crecimiento (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

El cultivo Yo-Fast-88 que utiliza la empresa que elabora el yogur comercial, contiene una mezcla de cepas simples de bacterias ácido lácticas y cepas probióticas de los géneros *L. acidophilus y Bifidobacterium*, sin especificarse alguna cepa en concreto, lo cual pudo haber influido en la drástica disminución en la viabilidad del segundo microorganismo; ya que como lo mencionan Lourens-Hattingh y Viljoen (2010) "la supervivencia de las bacterias probióticas en productos lácteos fermentados depende de factores tan variados como las cepas utilizadas y la interacción entre las especies presentes". Lo anterior se corrobora en un estudio realizado por Lamoureux *et al.* (2002), quienes evaluaron yogur con *B. bifidum*, *B. animalis*, *B. breve*, *B. infantis* y *B. logum* en busca de la producción de oligosacáridos; encontrando que la viabilidad de las Bifidobacterias fue afectada drásticamente durante el almacenamiento del yogur, excepto en los productos que contenían *B. animalis* (Bb-12) que presentaron recuentos mayores de 10⁶ ufc/g después de 28 días de almacenamiento a 4°C; lo anterior debido a que *B. animalis* es una cepa de origen animal más fuerte y resistente a la temperatura que las otras cepas en estudio que son de origen humano.

La Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2395:2011. Leches Fermentadas. Requisitos (INEN, 2011b) y autores como Vinderola *et al.* (2000), Chr-Hansen (2004) y

Gueimonde *et al.* (2004), mencionan que la cantidad de probióticos que debe tener este tipo de productos al final de la vida útil es de 10⁶ ufc/g y en este caso ninguno de los dos probióticos presentes en los yogures comerciales cumplieron con este requisito, puesto que mostraron recuentos de 1.14x10¹ y 1.54x10¹ ufc/g para *Bifidobacterium* y de 5.43x10⁵ y 4.78x10⁴ ufc/g para *L. acidophilus*; tanto en el yogur con sabor a mango como en el yogur con pulpa de mango respectivamente.

La acidificación del yogur durante su almacenamiento influye sobre la viabilidad de los probióticos, por lo que es de vital importancia restringir el crecimiento de *L. bulgaricus* mediante el control adecuado del pH, mantenimiento de la temperatura de almacenamiento entre 3 y 4°C, mejorando la capacidad de amortiguación del yogur por la adición de concentrado de proteína de suero y controlando el oxígeno disuelto en la leche (Dave y Shah, 1998; Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Gueimonde *et al.*, 2004). Para el caso de las muestras analizadas, la temperatura de almacenamiento (4°C) fue controlada estrictamente, por lo que se descartaría la influencia de este factor sobre la viabilidad de los probióticos. En el proceso de elaboración del yogur comercial, existen dos etapas en las que se requiere de agitación (rotura del coágulo e incorporación de saborizante, colorante y pulpa; cuando es el caso); esta actividad incorpora oxígeno al producto, el cual también podría de alguna manera estar influyendo en la viabilidad de los dos probióticos.

L. acidophilus (cepa BG2FO4) muestra una rápida disminución a pH 2.0, pero a pH de 4.0 el número de células viables no decrece significativamente (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001), los valores de pH estuvieron sobre este último valor; estando entre 4.51 a 4.27 para el yogur con sabor a mango y de 4.49 a 4.30 para el yogur con pulpa de mango. Lankaputhra y Shah (1995) en su estudio concluyeron que de las seis cepas de L. acidophilus estudiadas, todas sobrevivieron bien a pH de 3.0 o más y que los recuentos se mantuvieron por arriba de 10⁷ ufc/ml después de 3 horas de incubación. En este caso ninguno de los dos yogures alcanzó este valor al final de su vida útil pero en comparación al otro microorganismo probiótico, presentaron recuentos alrededor de 10⁵ ufc/g en ambos yogures.

4.2 EVALUACIÓN DE YOGUR A NIVEL DE LABORATORIO

4.2.1 YOGUR CON EL CULTIVO Yo-Fast-88

Pese a seguir con todas las instrucciones para la elaboración del yogur, el primer día de elaboración se obtuvieron recuentos demasiado bajos (<10⁷ ufc/g) tanto para *Bifidobacterium* como *L. acidophilus* y este comportamiento se repitió en los dos tipos de yogur. Para confirmar estos resultados se volvieron a analizar las muestras de yogur, se elaboraron nuevos lotes de producto, obteniéndose los mismos resultados negativos en cuanto a viabilidad de los probióticos. Se contactó al fabricante del cultivo, quién validó la forma en la que se lo estaba usando, descartándose que podría ser ésta la razón de los resultados obtenidos. En este punto, se decidió parar el estudio y no seguir analizando los yogures, puesto que se podía predecir el resultado final que arrojaría este análisis.

Las razones de la baja viabilidad de los probióticos presentes en el cultivo Yo-Fast-88, se pueden deber a que este cultivo corresponde a una serie que fue diseñada para tener un cultivo comercial que permitiera colocar en una etiqueta de yogur una leyenda que diga "contiene PROBIÓTICOS"; cuyo recuento total de cepas probióticas va a cumplir con un mínimo de 1x10⁶ ufc/g al final de vida útil, pero estas cepas probióticas no necesariamente corresponden a las cepas registradas por el fabricante del cultivo: La-5® (*Lactobacillus acidophilus*) y Bb-12® (*Bifidobacterium lactis*) de las que la empresa tiene estudios bien documentados sobre su actividad. Al no conocerse específicamente las cepas probióticas del cultivo, no se sabría con certeza las condiciones que afectan su viabilidad.

Dado los recuentos bajos de los microorganismos probióticos obtenidos de la evaluación del yogur comercial y del elaborado a nivel de laboratorio, a más de la dificultad de que en un futuro cercano se pudiera continuar con los estudios que permitieran rotular al producto como PROBIOTICO, es decir con beneficio funcional; se decidió probar nuevos cultivos que permitieran lograr este objetivo.

4.2.2 SELECCIÓN DEL CULTIVO

Los resultados de la medición de las propiedades físico-químicas del yogur elaborado con los cultivos ABT-4 y ABY-3 así como el elaborado a manera de control con el cultivo Yo-fast-88, se muestran en el Cuadro 8 y el tratamiento estadístico de los datos en el Anexo 10.

Cuadro 8: Propiedades físico-químicas de yogur elaborado con distintos cultivos probióticos

Parámetro	Yogur con cultivo Yo-Fast-88	Yogur con cultivo ABT-4	Yogur con cultivo ABY-3	
Acidez titulable (% ácido láctico)	0.83 ± 0.02^{a}	0.81 ± 0.03^{a}	0.78 ± 0.02^{a}	
pН	4.18 ± 0.08^{a}	4.11 ± 0.07^{a}	4.23 ± 0.01^{a}	
Sinéresis (%)	$53.63 \pm 2.05b$	57.69 ± 1.24^{a}	54.69 ± 2.40^{ab}	
Viscosidad aparente (cP)	2617.78 ± 297.76 ^a	2790.22 ± 359.87 ^a	3118.00 ± 931.59^{a}	
Diferentes letras en la misma fila indican que fueron estadísticamente diferentes (p <0.05).				

En cuanto a la acidez, pH y viscosidad; los cultivos no presentan diferencia significativa (p>0.05). Es esperable que para el caso de los dos primeros parámetros no se presenten diferencias, por cuanto la etapa de fermentación se controló adecuadamente a fin de lograr que el pH de los tres productos fuera similar sin que se vieran afectados los parámetros (Cuadro 3) indicados por el fabricante del cultivo.

Según lo menciona Trachoo (2002) las dos bacterias iniciadoras L. bulgaricus y S. thermophilus, ayudan a aumentar la viscosidad del yogur por la producción de exopolisacáridos que son muy importantes para la consistencia del yogur; lo anterior posiblemente influyó para que la viscosidad en los tres tipos de yogur no presentara diferencias (p>0.05) por cuanto estos microorganismos estuvieron presentes en los tres cultivos, a excepción de L. bulgaricus que no estuvo en el cultivo ABT-4.

En cuanto a la sinéresis existe diferencia (*p*<0.05) entre el yogur elaborado con cultivo Yo-Fast-88 y el elaborado con el cultivo ABT-4, presentando una media más

alta (57.69 por ciento) este último yogur, lo que indica que hubo mayor separación de suero de la matriz en esta muestra.

En el Cuadro 9, se observa que solamente el yogur con el cultivo ABT-4 presenta diferencias (p<0.05) en cuanto los atributos sensoriales analizados (Anexo 11).

Cuadro 9: Evaluación sensorial de yogur elaborado con distintos cultivos probióticos

Atributos	Yogur con cultivo Yo-Fast-88	Yogur con cultivo ABT-4	Yogur con cultivo ABY-3	
Sabor	5.15 ± 0.91^{a}	$3.52 \pm 0.77^{\mathrm{b}}$	5.11 ± 0.60^{a}	
Apariencia	5.74 ± 0.72^{a}	2.44 ± 0.99^{b}	4.81 ± 0.85 a	
Viscosidad	5.48 ± 0.87^{a}	3.22 ± 0.71^{b}	4.93 ± 1.01 a	
Aceptación general	5.30 ± 1.01^{a}	3.04 ± 0.82^{b}	4.78 ± 0.93^{a}	
Diferentes letras en la misma fila indican que fueron estadísticamente diferentes $(p<0.05)$.				

El sabor del yogur con los cultivos Yo-Fast-88 y ABY-3 presenta una media más alta (p<0.05) en comparación al yogur con el cultivo ABT-4, lo cual puede deberse a que este último cultivo no contiene al microorganismo L. bulgaricus que es la especie fundamentalmente implicada en la liberación de acetaldehído; principal producto metabólico responsable del sabor y aroma del yogur. Este aspecto muy probablemente fue detectado por los catadores al momento de evaluar las muestras y de ahí las calificaciones obtenidas.

Según las propiedades físico-químicas y sensoriales de los yogures elaborados con los tres cultivos, se eligió al cultivo ABY-3 como posible candidato para que la empresa que elabora el yogur "Yogur-bio" reemplace al cultivo Yo-Fast-88 y para realizar la evaluación de los probióticos en el estudio.

En la prueba de preferencia aplicada con la finalidad de conocer la aceptabilidad del yogur con el cultivo seleccionado (ABY-3) frente al yogur con el cultivo Yo-Fast-88; se determinó que 44 consumidores eligieron la muestra M1 (yogur con cultivo Yo-Fast-88) y 36 seleccionaron a la muestra M2 (yogur con cultivo ABY-3) (Anexo 12),

por tanto cualquiera de las dos muestras podía ser elegida por no superar el mínimo de juicios coincidentes (50 jueces) necesario para establecer diferencia significativa (Anzaldúa-Morales, 1994); indicando que los consumidores preferían cualquiera de las muestras por igual.

4.2.3 EVALUACIÓN DEL YOGUR CON EL CULTIVO SELECCIONADO

Los cambios en los parámetros físicos, químicos o microbiológicos de yogur además de influir en la viabilidad de los microorganismos probióticos; pueden afectar el almacenamiento y la vida útil del producto (Coggins *et al.*, 2010). Los resultados microbiológicos, físico-químicos, de viabilidad de probióticos y características sensoriales del yogur elaborado con el cultivo ABY-3, se muestran a continuación:

a. Análisis microbiológicos

Para determinar la calidad sanitaria de los productos elaborados, el primer día de su elaboración se controló la presencia de Coliformes totales, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, mohos y levaduras; obteniendo como resultado la ausencia de todos ellos, lo que permitió determinar que los productos cumplieron con los parámetros sanitarios establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana para Leches Fermentadas. Requisitos (INEN, 2011b).

Por lo general las bacterias ácido lácticas inhiben el crecimiento de otros microorganismos, en especial a los patógenos. Los coliformes no resisten pH bajos y altas concentraciones de ácido láctico (Ray y Bhunia, 2010), lo cual explicaría su ausencia en los yogures elaborados; y como factor más importante está el hecho de haber trabajo con buenas prácticas de higiene durante el proceso de fabricación.

b. Análisis físico-químicos

Los parámetros físico-químicos del yogur elaborado con el cultivo ABY-3, se muestran en el Cuadro 10 y el tratamiento estadístico en el Anexo 13. Tanto en el yogur

con sabor a mango como en el yogur con pulpa de mango, el pH disminuye mientras que la acidez aumenta (p<0.05).

Cuadro 10: Propiedades físico-químicas del yogur con el cultivo seleccionado durante el almacenamiento a 4°C

Propiedades	Día de almacenamiento	С	D
	1	4.42 ± 0.01^{a1}	4.47 ± 0.01^{a1}
	7	4.38 ± 0.01^{ab1}	4.42 ± 0.01^{b1}
pН	14	$4.35 \pm 0.01^{\text{bc2}}$	4.38 ± 0.01^{c1}
	21	$4.30 \pm 0.01^{\text{cd1}}$	4.33 ± 0.01^{d1}
	28	4.27 ± 0.01^{d1}	4.28 ± 0.02^{e1}
	1	0.76 ± 0.01^{b1}	0.70 ± 0.01^{c2}
A -: 1 4:4-1-1-1-	7	0.77 ± 0.01^{b1}	0.71 ± 0.01^{bc2}
Acidez titulable (% ácido láctico)	14	$0.78 \pm 0.01^{\mathrm{ab1}}$	0.72 ± 0.02^{b2}
(% acido factico)	21	0.79 ± 0.01^{a1}	0.74 ± 0.01^{a2}
	28	0.80 ± 0.01^{a1}	0.75 ± 0.02^{a2}
	1	47.62 ± 5.33^{a1}	35.20 ± 0.86^{a2}
	7	42.64 ± 0.80^{ab1}	29.27 ± 3.62^{a2}
Sinéresis (%)	14	38.12 ± 0.81^{b1}	31.78 ± 2.14^{a2}
	21	39.53 ± 2.24^{b1}	35.26 ± 2.86^{a1}
	28	40.75 ± 2.23^{ab1}	32.03 ± 1.63^{a2}
Viscosidad aparente (cP)	1	2925.33 ± 79.83^{a1}	2155.22 ± 301.94^{ab2}
	7	$2619.22 \pm 78.69^{\text{abc1}}$	2288.78 ± 414.24^{ab1}
	14	2441.89 ± 216.67^{bc1}	2680.67 ± 205.00^{a1}
	21	2706.22 ± 209.33^{ab1}	2563.33 ± 148.72^{ab1}
	28	2190.00 ± 178.68^{c1}	1948.67 ± 121.59^{b1}

C: Yogur con cultivo ABY-3 con sabor a mango

Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del día de almacenamiento y diferentes números en la misma fila indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del tipo de yogur (p<0.05).

El pH en los dos tipos de yogur muestra únicamente diferencia (p<0.05) en el día 14 de almacenamiento, presentando un pH menor el yogur con sabor a mango (4.35) que el yogur con pulpa de mango (4.38). Los rangos de pH de los dos tipos de yogur se encuentran dentro del rango establecido para yogures comerciales que va de 4.3 a 3.7 (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

La acidez en el yogur C es mayor (p<0.05) que en el yogur D, en todas los días de almacenamiento. Lo anterior se debe posiblemente al aporte de carbohidratos en forma de sacarosa, glucosa y fructosa que se da en el yogur por la incorporación de fruta

D: Yogur con cultivo ABY-3 con pulpa de mango

(pulpa de mango); que dan como resultado menor acidez en el producto. Renner (1983), citado por Lourens-Hattingh y Viljoen (2001), menciona que el yogur de fruta puede contener entre 9 y 12% de hidratos de carbono adicionales.

Los valores de acidez que presentaron las muestras en este estudio se encuentran cercanos a los rangos de 0.79 a 1.16 por ciento de ácido láctico, establecidos por Gueimonde *et al.* (2004) los cuales estudiaron la viabilidad, etiquetado correcto y diversidad de cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* incluidas en una variedad de leches fermentadas comercializadas en España. El incremento de la acidez en el yogur durante su almacenamiento se debe posiblemente a la actividad residual de los microorganismos iniciadores que continúan produciendo ácido láctico (Saint-Eve *et al.*, 2008), este fenómeno se conoce como post-acidificación y se ve afectado principalmente por las cepas utilizadas, la temperatura de almacenamiento y el tiempo de almacenamiento (Coggins *et al.*, 2010).

La sinéresis en el yogur D se mantuvo durante todo el tiempo de almacenamiento, mientras que el yogur C disminuyó significativamente en los días 14 y 21. La sinéresis que presentó el yogur con sabor a mango fue mayor (p<0.05) que en el yogur con pulpa de mango, a excepción del día 21 de almacenamiento en donde el porcentaje de sinéresis fue estadísticamente igual. Lo anterior puede deberse a que la elevada acidez estimula la sinéresis en el yogur (Tamime y Robinson, 1999, citados por Akin y Güler, 2005) y en este caso se observa que la acidez del yogur C es significativamente mayor (0.76 a 0.80 por ciento de ácido láctico) presentando por tanto mayores porcentajes de sinéresis.

Lucey (2001), citado por Wang *et al.* (2010) menciona que la separación de suero de la leche (sinéresis) se debe al reordenamiento excesivo de las partículas que forman la red del gel y se ve afectada por diversos parámetros reológicos. Así mismo Harwalkar y Kalab, 1986, citados por Trachoo (2002) mencionan que el yogur al que se le regula la cantidad de sólidos totales (ST) es menos susceptible a la sinéresis y en este caso como se buscaba trabajar en condiciones similares a la empresa que elabora el "Yogur-bio", que no realiza esta estandarización, al yogur elaborado no se le regularon los ST. Lo anterior pudo influir para que el yogur fuera más susceptible a la separación de suero.

Todos los valores de sinéresis encontrados en las muestras de yogur se encuentran sobre 31 por ciento de separación de suero, estos valores se encuentran dentro los reportados por Wang *et al.* (2010) en donde se estudió diferentes niveles de inoculo (*L. casei*) para evaluar su influencia en la sinéresis, encontrando que a mayor cantidad de inóculo la sinéresis es menor.

La viscosidad en los dos tipos de yogur no muestra cambios significativos durante los 28 días de almacenamiento, únicamente el yogur C muestra disminución (p<0.05) en esta propiedad al inicio y final de la evaluación (2925 a 2190 cP) lo cual podría deberse a la acción de enzimas bacterianas sobre la matriz de las micelas de caseína (Kayanush y Paula, 2007, citados por Wang *et al.*, 2010). La viscosidad en el primer día de almacenamiento es menor (p<0.05) en el yogur con pulpa que en el yogur con sabor a mango, lo cual puede deberse a que la pulpa es incorporada al yogur después del enfriado y ruptura del coagulo; y que para ser homogenizada se requiere de mayor tiempo de mezclado disminuyendo así su viscosidad.

La viscosidad en el yogur es afectada por la composición, cultivos iniciadores, tratamiento térmico y los estabilizantes usados (Trachoo, 2002); así mismo, al incrementar los sólidos totales, la viscosidad y firmeza del yogur aumentan. Labropoulos *et al.* (1981), citados por Trachoo (2002) mencionan que el yogur elaborado con leche tratada con un proceso UHT (149°C por 3.3 segundos) tiene menor viscosidad que el yogur elaborado con leche tratada a temperatura entre 63 y 82°C por 30 minutos, debido a la desnaturalización de las proteínas del suero. El tratamiento térmico (83°C por 30 minutos) aplicado en la pasteurización de la leche para elaborar el yogur se encuentra cercano al rango mencionado anteriormente, esperándose por tanto que el yogur presentara valores adecuados de viscosidad; en función también del tipo de cultivo usado que produce una viscosidad baja a media. Los valores de viscosidad que presentó el yogur con sabor a mango (2925.33 a 2190.00 cP) y yogur con pulpa (2155.22 a 1948.67 cP), se encuentran dentro de los rangos mencionados (2000 a 5000 cP) para un yogur ajustado con proteínas de suero del procesamiento de queso cheddar (Haque y Ji, 2003).

c. Viabilidad de bacterias probióticas

Los resultados de la viabilidad de las bacterias probióticas del yogur control, se muestran en el Cuadro 11 y el detalle del tratamiento estadístico de los datos en el Anexo 14.

Cuadro 11: Recuento viable (log₁₀ ufc/g) de bacterias probióticas en yogur con el cultivo seleccionado durante el almacenamiento a 4°C

Microorganismo Día de almacenamiento		С	D
	1	7.50 ± 0.30^{a1}	7.34 ± 0.19^{a1}
D'C' 1 1	7	7.38 ± 0.09^{a1}	7.33 ± 0.10^{a1}
Bifidobacterium lactis – Bb12®	14	7.52 ± 0.17^{a1}	7.29 ± 0.10^{a1}
tactis B0120	21	7.29 ± 0.09^{a1}	7.16 ± 0.08^{a1}
	28	7.18 ± 0.18^{a1}	7.08 ± 0.07^{a1}
	1	7.47 ± 0.32^{a1}	7.44 ± 0.06^{a1}
Lactobacillus	7	7.42 ± 0.09^{a1}	7.23 ± 0.06^{ab1}
acidophilus – La5®	14	7.44 ± 0.11^{a1}	7.17 ± 0.07^{ab1}
	21	7.42 ± 0.12^{a1}	7.08 ± 0.16^{ab2}
	28	7.24 ± 0.06^{a1}	$6.86 \pm 0.09^{\mathrm{bl}}$

C: Yogur con cultivo ABY-3 con sabor a mango

Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del día de almacenamiento y diferentes números en la misma fila indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del tipo de yogur (p<0.05).

Tanto *Bifidobacterium lactis* como *L. acidophilus* estuvieron en igual cantidad (*p*>0.05) en los dos tipos de yogur, presentándose únicamente un descenso significativo del segundo microorganismo entre el primer y último día de almacenamiento del yogur D. Los resultados demuestran que la adición de pulpa de mango al yogur, no influye estadísticamente en la viabilidad de los probióticos; lo anterior se deba posiblemente a que la pulpa de mango contiene una baja cantidad de fibra dietaria y dentro de la cual el contenido de fructanos tipo inulina (considerados con efectos prebióticos) también sean bajos. Dhingra *et al.* (2011) reportan valores de 1.8 g de fibra dietaria total por cada 100g de porción comestible, de la cual 1.06 corresponde a fibra insoluble y 0.74 g a la fibra soluble.

D: Yogur con cultivo ABY-3 con pulpa de mango

Una gran cantidad de oxígeno puede afectar el crecimiento y viabilidad de las Bifidobacterias, el oxígeno penetra y se disuelve fácilmente en la leche o también puede ingresar a través del empaque durante el almacenamiento (Shah, 2000; Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001). La diferencia en la cantidad de B. lactis en los dos tipos de yogur no es significativa en ninguna de las semanas de almacenamiento, pese a que en el yogur D la pulpa se adiciona mediante un mezclado para homogenizarla; pudiendo incorporar gran cantidad de aire al producto que pudiera influir en la viabilidad de esta bacteria. El cultivo iniciador contiene en su composición a S thermophilus el cual reduce el oxígeno disuelto que puede haber en el yogur, ya que este microorganismo tiene gran habilidad para utilizar el oxígeno durante su crecimiento y de esta forma se mejora la viabilidad de las bifidobacterias (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001). B. lactis se caracteriza por ser capaz de sobrevivir a pH de 3.5 y a diferencia de otras especies de bifidobacterias, tolera concentraciones bajas de oxígeno (Dunne, 2009); lo anterior explicaría los recuentos elevados obtenidos de este probiótico en los yogures elaborados con el cultivo seleccionado (ABY-3) en comparación con los evaluados de la marca comercial con el cultivo Yo-Fast-88 (Figura 5), ya que este último no contiene una cepa definida de bifidobacterias.

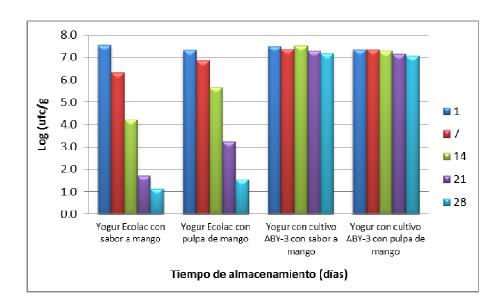


Figura 5. Comportamiento de *Bifidobacterium* en yogur comercial (Cultivo Yo-Fast-88) y yogur con cultivo seleccionado (ABY-3).

L. acidophilus en el yogur con pulpa de mango (Cuadro 11), decrece de manera significativa en el último día de control; comparándolo frente al primer día. Lo cual puede deberse al incremento de acidez del yogur que afecta a este microorganismo (Dave y Shah, 1998), que para el caso de este yogur fue de 0.70 a 0.75 por ciento de ácido láctico; un punto más que el yogur C que presentó un incremento de 0.76 a 0.80 por ciento de ácido láctico. En la Figura 3 se muestra la comparación en la viabilidad de L. acidophilus en los yogures comerciales y los elaborados con el cultivo seleccionado ABY-3.

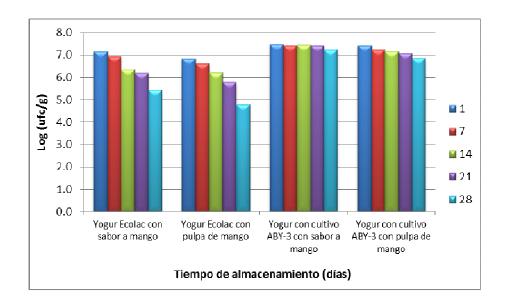


Figura 6. Comportamiento de *Lactobacillus acidophilus* en yogur comercial (Cultivo Yo-Fast-88) y yogur con cultivo seleccionado (ABY-3).

En los dos tipos de yogur elaborados en esta parte del estudio, tanto B. lactis como L. acidophilus mantienen el nivel de viabilidad de 10^7 ufc/g, superando el mínimo establecido por la normativa Ecuatoriana para este tipo de productos que es de 10^6 ufc/g (INEN, 2011b).

d. Evaluación sensorial

El aroma, cuerpo y sabor del yogur pueden variar dependiendo de tipo de cultivo, tipo de leche, cantidad de grasa, sólidos en la leche, proceso de fermentación y de la temperatura usada (Routray y Mishra, 2011). Durante el almacenamiento del yogur se producen cambios en las características sensoriales, los mismos que deben ser evaluados para determinar hasta qué punto el producto sigue siendo aceptable.

Tanto para el yogur con sabor a mango como para el yogur con pulpa de mango se evalúo el aspecto, el sabor – aroma, y cuerpo - textura. Los resultados de este análisis se muestran en el Cuadro 12 y el análisis estadístico en el Anexo 15.

Cuadro 12: Características sensoriales del yogur con el cultivo seleccionado, durante el almacenamiento a 4°C

Atributos		Día de almacenamiento	С	D
ASPECTO	Sinéresis	1 7 14 21 28	0.11±0.03 ^{b1} 0.11±0.03 ^{b1} 0.05±0.01 ^{b1} 0.37±0.12 ^{a1} 0.15±0.05 ^{b1}	0.08±0.02 ^{a1} 0.10±0.02 ^{a1} 0.09±0.04 ^{a1} 0.04±0.02 ^{a2} 0.10±0.01 ^{a1}
	Viscosidad	1 7 14 21 28	4.33±0.08 ^{a1} 4.35±0.02 ^{a1} 4.40±0.06 ^{a1} 4.37±0.02 ^{a1} 4.04±0.05 ^{b2}	4.46±0.05 ^{a1} 4.44±0.05 ^{a1} 4.46±0.03 ^{a1} 4.18±0.11 ^{b2} 4.26±0.03 ^{b1}
	Grumosidad	1 7 14 21 28	0.23±0.19 ^{a1} 0.17±0.07 ^{a1} 0.15±0.04 ^{a2} 0.22±0.08 ^{a2} 0.16±0.05 ^{a2}	0.19±0.02 ^{c1} 0.11±0.02 ^{c1} 0.26±0.02 ^{c1} 1.05±0.09 ^{a1} 0.51±0.13 ^{b1}
	Tonalidad	1 7 14 21 28	4.43±0.10 ^{ab1} 4.36±0.01 ^{b2} 4.49±0.01 ^{a1} 4.46±0.02 ^{ab1} 4.50±0.00 ^{a1}	4.45±0.01 ^{b1} 4.48±0.01 ^{ab1} 4.45±0.02 ^{b2} 4.51±0.03 ^{a1} 4.49±0.02 ^{ab1}
SABOR Y AROMA	Astringencia	1 7 14 21 28	4.29±0.08 ^{a1} 4.33±0.05 ^{a1} 3.88±0.09 ^{b1} 3.35±0.02 ^{d1} 3.55±0.04 ^{c1}	4.21±0.06 ^{b1} 4.38±0.06 ^{a1} 3.86±0.06 ^{c1} 3.36±0.06 ^{d1} 2.84±0.06 ^{c2}

C: Yogur con cultivo ABY-3 con sabor a mango

Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del día de almacenamiento y diferentes números en la misma fila indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del tipo de yogur (p<0.05).

D: Yogur con cultivo ABY-3 con pulpa de mango

Cuadro 12: "...continuación"

		Día de		
Atril	outos		C	D
	ı	almacenamiento	n1	h1
		1	4.27±0.13 ^{a1}	4.22±0.03 ^{b1}
		7	4.37±0.07 ^{a1}	4.33 ± 0.07^{ab1}
	Acidez	14	4.36±0.07 ^{a1}	4.38±0.04 ^{a1}
		21	3.86 ± 0.02^{b1}	3.89 ± 0.04^{c1}
		28	3.94±0.04 ^{b1}	3.91±0.05 ^{c1}
		1	0.08±0.01 ^{b1}	0.07±0.01 ^{a1}
SABOR Y		7	0.11 ± 0.02^{ab1}	0.07 ± 0.01^{a2}
	Amargor	14	0.16 ± 0.03^{a1}	0.05 ± 0.01^{a2}
AROMA	_	21	0.11 ± 0.05^{ab1}	0.09 ± 0.02^{a1}
		28	0.05 ± 0.02^{b1}	0.07±0.03 ^{a1}
	Regusto	1	0.20±0.12 ^{a1}	0.15±0.05 ^{b1}
		7	0.17 ± 0.03^{a1}	0.11 ± 0.03^{b1}
		14	0.19 ± 0.01^{a1}	0.13 ± 0.02^{b2}
		21	0.17 ± 0.03^{a1}	0.21 ± 0.03^{ab1}
		28	0.22 ± 0.02^{a1}	0.30 ± 0.06^{a1}
		1	4.42±0.11 ^{a1}	4.47±0.06 ^{a1}
	Viscosidad	7	4.39 ± 0.06^{a1}	4.42±0.04 ^{a1}
		14	4.45 ± 0.05^{a1}	4.43±0.08 ^{a1}
		21	4.35 ± 0.02^{a1}	4.42±0.06 ^{a1}
CUERPO Y		28	4.18±0.04 ^{b1}	4.18±0.08 ^{b1}
TEXTURA		1	0.19±0.02 ^{a1}	0.12±0.02 ^{a2}
		7	0.17 ± 0.08^{a1}	0.11±0.03 ^{a1}
	Grumosidad	14	0.07 ± 0.03^{a1}	0.11 ± 0.04^{a1}
		21	0.14 ± 0.04^{a1}	0.11±0.01 ^{a1}
		28	0.09 ± 0.02^{a1}	0.14 ± 0.06^{a1}

C: Yogur con cultivo ABY-3 con sabor a mango

Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del día de almacenamiento y diferentes números en la misma fila indican diferencia significativa entre las muestras dependiendo del tipo de yogur (p<0.05).

Coggins et al. (2010) mencionan que los atributos relacionados con la apariencia, son los últimos en ser afectados por factores externos o internos para representar la calidad de yogur. Lo anterior es lo que se observa en los datos obtenidos de la evaluación sensorial del aspecto del yogur. Las calificaciones para la tonalidad no presentan diferencia (p>0.05) para los dos tipos de yogur durante el almacenamiento. Yildiz (2010a) menciona que los defectos de color que pueden presentarse en el yogur son debidos al crecimiento de mohos y levaduras o también a la distribución heterogénea de fruta en yogures afrutados; en esta investigación se descarta cualquiera de las dos posibilidades mencionadas por el autor, ya que los análisis microbiológicos determinaron ausencia de estos microorganismos alterantes y además se controló

D: Yogur con cultivo ABY-3 con pulpa de mango

adecuadamente el tiempo y forma de mezclado para homogenizar la pulpa en el caso del yogur D, corroborándose lo anterior con las calificaciones emitidas para los dos tipos de yogur que se encuentran muy cercanas a la establecida como óptima por el panel de catación (4.5).

Las calificaciones para la sinéresis no cambian (*p*>0.05) durante los 28 días de almacenamiento, solamente la calificación en el día 21 es significativamente mayor para el yogur C. Considerando que la calificación esperada para este atributo era de cero, pero que en realidad todas las muestras de yogur evaluadas presentaron valores sobre el 31 por ciento de separación de suero, los puntajes emitidos por los jueces son bastante bajos (0.04 a 0.37) lo que indicaría que pese a tener sinéresis; ésta no fue detectada por los jueces en la superficie del producto.

La variación de la viscosidad que se da en el yogur puede ser correlacionada por panelistas a través de las propiedades sensoriales tales como la apariencia y la sensación en la boca (Duarte y Hickmann, 2007). En este sentido las calificaciones emitidas por el panel de catación para la viscosidad evaluada tanto en el aspecto como en el cuerpo y textura, disminuye significativamente al día 28 en el yogur C y a partir del día 21 en el yogur D. En el último día de evaluación, el yogur con pulpa de mango presentó una calificación más alta (p<0.05) para este atributo; lo que indicaría que este yogur tuvo mayor viscosidad. Lo anterior no se relaciona con la viscosidad aparente (Cuadro 10) que mostró ser estadísticamente igual en cada una de las semanas de almacenamiento para los dos tipos de yogur.

La grumosidad tanto en el aspecto como en el cuerpo y textura, no presenta diferencia significativa en el yogur C en ninguno de los días de almacenamiento, mientras que en el yogur D las calificaciones disminuyen (p<0.05) a partir del día 21. Desde el día 14 de almacenamiento, la grumosidad en el aspecto es significativamente mayor en el yogur D, lo cual podría explicarse debido a que un bajo pH y la diferencia entre la presión osmótica entre la fruta y el yogur base, puede causar una textura grumosa o arenosa en el producto final (Yildiz, 2010a). La sensación de grumosidad o granulosidad que presenta un yogur, puede estar relacionada con el cultivo estárter que se utiliza; recomendándose en caso de presentarse este defecto, cambiar el cultivo por

uno que confiera mayor viscosidad al yogur (Tamime y Robinson, 1991; Chr-Hansen, 2004). Así mismo Yildiz (2010b) menciona que para el caso del yogur al que se le adiciona fruta, la temperatura óptima para su adición es <10°C, ya que una temperatura mayor puede causar un cuerpo débil y una textura arenosa en el producto final. En esta investigación, la pulpa de fruta fue previamente descongelada hasta una temperatura <10°C aproximadamente y posteriormente adicionada al yogur antes de ser envasado, cuando éste presentó una temperatura de 5°C.

Las calificaciones para la astringencia y acidez otorgadas por los catadores son más altas en el primer día y van disminuyendo conforme aumenta el tiempo de almacenamiento. Lo anterior de cierta forma se contradice con la medida de la acidez expresada ácido láctico (Cuadro 10), la cual aumenta en función del tiempo. Las calificaciones otorgadas en la evaluación de estos dos atributos puede deberse a los pequeños rangos que presentó la acidez de las muestras al inicio y final del almacenamiento (0.76 a 0.80 y 0.70 a 0.75 por ciento de ácido láctico para yogur con sabor a mango y yogur con pulpa de mango respectivamente), los cuales posiblemente no fueron detectados por los catadores.

Las calificaciones otorgadas para el amargor y regusto son bastante bajas y no muestran diferencia (*p*>0.05) durante el almacenamiento del yogur. El amargor y regusto fueron evaluados como un defecto que pudiera presentar el yogur debido al tipo de cultivo usado o a la posible contaminación con mohos y levaduras que confieren al producto un sabor amargo (Ray y Bhunia, 2010). Se descarta esto último por cuanto no hubo presencia de estos microorganismos en el yogur. Por otro lado las bifidobacterias producen ácido acético además de ácido láctico en una proporción de 3:2. El ácido acético provoca un sabor áspero o duro en el producto e incluso a niveles elevados confiere un sabor avinagrado que disminuye la aceptabilidad del producto por los consumidores (De Vuyst, 2000, citado por Yildiz, 2010b y Gallardo-Escamilla *et al.*, 2005). En este caso, *Bifidobacterium lactis* (Bb-12®) que se encuentra el cultivo usado (ABY-3) posiblemente no presentó un elevado contenido de este ácido, lo que dio como resultado puntajes bajos para este atributo.

V. CONCLUSIONES

- 1. Los dos tipos de yogur comerciales con el cultivo Yo-Fast-88, no mantienen la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* y de las especies de *Bifidobacterium* durante los 28 días de almacenamiento en refrigeración (4°C), por lo que no se podría garantizar su posible efecto funcional.
- 2. En función de la viabilidad (>10⁶ ufc/g) de las bacterias probióticas en el yogur comercial, el tiempo de vida útil sería de 21 días para *L. acidophilus* y de siete días para *Bifidobacterium*.
- 3. En cuanto a las características físico-químicas y sensoriales del yogur, no existen diferencias significativas entre los cultivos Yo-Fast-88 y ABY-3, por lo que es factible el uso de este cultivo en reemplazo del Yo-Fast-88.
- 4. El yogur con el cultivo probiótico ABY-3 contiene las cepas específicas La-5® del género *Lactobacillus acidophilus* y Bb-12® de *Bifidobacterium lactis*, las mismas que superan el mínimo de 10⁶ ufc/g hasta el día 28 de almacenamiento a 4°C.
- 5. La viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* La-5® y *Bifidobacterium lactis* Bb-12® tanto en yogur con sabor a mango como en yogur con pulpa de mango utilizando el cultivo ABY-3, no presenta diferencias (*p*>0.05) en ninguno de los días de control.
- 6. En función de las propiedades físico-químicas, sensoriales y de viabilidad de probióticos; el yogur con el cultivo ABY-3 mantiene la vida útil de 28 días que tiene el yogur comercial evaluado.

VI. RECOMENDACIONES

- Para realizar el recuento de los microorganismos probióticos es importante utilizar en lo posible los métodos específicos desarrollados por la casa comercial de los cultivos, ya que los utilizados en esta investigación no pueden resultar adecuados para otros casos. Esto es particularmente importante para las bifidobacterias ya que sus requerimientos de cultivo son más complicadas que la de los lactobacilos y difieren de una bifidobacteria a otra.
- Para tener la certeza de que los microorganismos probióticos que se encuentran en el producto elaborado corresponden a las bacterias de interés, se deben aplicar métodos apropiados para su identificación. Como lo recomienda el estudio de la FAO (2006), primero se deben realizar ensayos fenotípicos, seguidos de la identificación genética mediante métodos tales como la hibridación de ADN, la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), la determinación de secuencias del ARN 16S u otros métodos reconocidos internacionalmente.
- Sería importante evaluar la viabilidad de los probióticos a diferentes temperaturas de refrigeración y de esta forma tener un dato más real sobre el comportamiento del yogur en los hogares de los consumidores, ya que la temperatura de un refrigerador en el hogar puede estar a temperaturas más altas de las que se manejan industrialmente o en los puntos de venta.
- Otro aspecto importante para completar el presente estudio, sería la evaluación de la viabilidad de los probióticos en un producto que ha sido abierto y que se mantiene en refrigeración durante algunos días. Lo anterior con la finalidad de simular lo que puede suceder en el hogar de un consumidor cuando compra una presentación grande del producto.

-	Sería importante realizar ensayos <i>in vitro</i> para predecir mejor la capacidad de los
	microorganismos probióticos para funcionar en el cuerpo humano.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC (American Association of Cereal Chemists). 2001. The definition of dietary fiber (en linea). 46. 112-126. Consultado 20 mar. 2013. Disponible en http://www.aaccnet.org/initiatives/definitions/Documents/DietaryFiber/DFDef.pdf.
- Abe, F; Tomita, S; Yaeshima, T; Iwatsuki, K. 2009. Effect of production conditions on the stability of a human bifidobacterial species *Bifidobacterium longum* in yogurt. Journal of Applied Microbiology. 49: 715-720.
- AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, ES). 2009. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) relativo a la evaluación de la seguridad de *Bifidobacterium lactis* en fórmulas y alimentos para lactantes y niños de corta edad. Revista del Comité Científico. no. 9: 17-24.
- Akin, MS; Güler-Akin, MB. 2005. Effect of different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt. Italian Journal of Food Science. 17(1): 67-74.
- Amores, R; Calvo, A; Maestre, JR; Martínez-Hernández, D. 2004. Probióticos. Revista Española de Quimioterapia. 17(2): 131-139.
- Anzaldúa-Morales, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Zaragoza España. Acribia, S.A. 220 p.
- AOAC, I. 2005a. Official Methods of Analysis. Microbiological Methods. WH Andrews;TS Hammack. 18 ed. Maryland, USA. AOAC International. Ch. 17. p. 1-244.
- AOAC, I. 2005b. Official Methods of Analysis. Vegetable Products, Processed. M Jantschke. 18 ed. Maryland, USA. AOAC International. Ch. 42. p. 2-3.
- Blanchette, L; Roy, D; Bélanger, G; Gauthier, S.F. 1996. Production of cottage cheese using dressing fermented by Bifidobacteria. Journal of Dairy Science. 79(1): 8-15.
- Castillo, M; Borregales, C; Sánchez, MD. 2004. Influencia de la pectina sobre las propiedades reológicas del yogur. Revista de la Facultad de Farmacia. 46(2): 33-37.
- Coggins, PC; Rowe, DE; Wilson, JC; Kumari, S. 2010. Storage and temperature effects on appearance and textural characteristics of conventional milk yogurt. Journal of Sensory Studies. 25: 549–576.

- Corrales, A; Henderson, M; Morales, I. 2007. Sobrevivencia de microorganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis* en helado batido. Revista Chilena de Nutrición. 34(2): 1-12.
- Chr-Hansen (Chistian Hansen, DK). 2004. Nu-trish TM. 2. ed. 40 p.
- Chr-Hansen, DK. 2007a. Enumeration of Bifidobacteria in fermented milk products Guideline: Technical bulletin P-11. 3 p.
- Chr-Hansen, DK. 2007b. Enumeration of *L. acidophilus*, in fermented milk products Guidelines: Technical bulletin P-10. 3 p.
- Chr-Hansen, DK. 2007c. Guideline for sample dilution, plating and counting of lactic acid bacteria in fermented milk: Technical bulletin P-9. 3 p.
- Dave, RI; Shah, NP. 1998. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. Journal of Dairy Science. 81: 2804-2816.
- Dhingra, Devinder; Michael, Mona; Rajput, Hradesh; Patil, R.T. 2011. Dietary fibre in foods: a review. Food Scientists & Technologists: 12.
- Duarte, C; Hickmann, S. 2007. The influence of additives on the rheological and sensory properties of nonfat yogurt. International Journal of Dairy Technology. 60(4): 270-276.
- Dunne, C. 2009. Desarrollo de la flora intestinal neonatal: rol del *Bifidobacterium lactis* Bb12. Nestle-pediatria. 18 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2006. Probioticos en los alimentos: Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Roma, IT. FAO. 55 p.
- Flores, M. 2003. Viabilidad de microorganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus* La5 y *Bifidobacterium lactis* Bb12) en helados de leche. Tesis Ingeniería en Alimentos. Chile, Universidad Austral de Chile. 82 p.
- Gallardo-Escamilla, FJ; Kelly, AL; Delahunty, CM. 2005. Influence of starter culture on flavor and headspace volatile profiles of fermented whey and whey produced from fermented milk. Journal of Dairy Science. 88(11): 3745-3753.
- Gomes, A; Malcata, X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidhophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Foods and Technology. 10: 139-157.
- Guarner, F; AG, Khan; Garisch, J; Eliakim, R; Gangl, A; Thomson, A; Krabshuis, J; Le Mair, T. 2008. Proibóticos y prebióticos. OMGE. 22 p.
- Gueimonde, M; Delgado, S; Mayo, B; Ruas-Madiedo, P; Margolles, A; de los Reyes-Gavilán, C. 2004. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and

- *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. Food Research International. 37: 839-850.
- Haque, Z; Ji, T. 2003. Chedar whey processing and source: II. Effect on non-fat ice cream and yoghurt. International Journal of Food Science and Technology. 38: 463-473.
- Hekmat, S; Reid, G. 2006. Sensory propierties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. Nutrition Research. 26: 163-166.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización, EC). 1983. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0004:1984. Leche y productos lácteos. Muestreo. Quito-Ecuador: 13 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización, EC). 1984. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0013:84. Leche. Determinación de la acidez titulable. Quito-Ecuador: 7 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización, EC). 2011a. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-3:2011. Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 3. Requisitos para declaraciones nutriciones y declaraciones saludables. 1. ed. Quito-Ecuador: 20 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización, EC). 2011b. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2395:2011. Leches fermentadas. Requisitos. 2. ed. Quito-Ecuador: 10 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización, EC). 2012. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012. Leche cruda. Requisitos. Quito-Ecuador: 7 p.
- Isleten, M; Karagul-Yuceer, Y. 2006. Effects of Dried Dairy Ingredients on Physical and Sensory Properties of Nonfat Yogurt. Journal of Dairy Science. 89(8): 2865-2872.
- King, SC; Lawler, PJ; Adams, JK. 2000. Effect of Aspartame and Fat on Sweetness Perception in Yogurt. Journal of Food Science. 65(6): 1056-1059.
- Lamoureux, L; Roy, D; Gauthier, SF. 2002. Production of oligosaccharides in yogurt containing bifidobacteria and yogurt cultures. Journal of Dairy Science. 85: 1058-1069.
- Lankaputhra, WEV; Shah, NP. 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in the presence of acid and bile salts. Cultured Dairy Products Journal. 30.
- Laroia, S; Martin, JH. 1991. Methods for enumerating bifidobacteria. Cultured Dairy Products Journal. 5: 32-33.
- Leahy, SC; Higgins, DG; Fitzgerald, GF; van Sinderen, D. 2005. Getting better with bifidobacteria. Journal of Applied Microbiology. 98: 1303-1315.

- Lee, WJ; Lucey, JA. 2010. Formation and physical properties of yogurt. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 23(9): 1127-1136.
- Lourens-Hattingh, A; Viljoen, BC. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal. 11: 1-17.
- Magariños, H; Cartes, P; Fraser, B; Selaive, S; Costa, M; Figuerola, F; Pizarro, O. 2008. Viability of probiotic micro-organisms (*Lactobacillus casei* shirota and *Bifidobacterium animalis* subspp. *lactis*) in a milk-based dessert with cranberry sauce. International Journal of Dairy Technology. 61(1): 96-101.
- Olagnero, G; Abad, A; Bendersky, S; Genevois, C; Granzella, L; Montonati, M. 2007. Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. Diaeta. 25(121): 20-33.
- Ray, B; Bhunia, A. 2010. Fundamentos de microbiología de los alimentos. 4. México. p. 113-121.
- Routray, W; Mishra, HN. 2011. Scientific and technical aspects of yogurt aroma and taste: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 10: 208-220.
- Saint-Eve, A; Lévy, C; Le Moigne, M; Ducruet, V; Souchon, I. 2008. Quality changes in yogurt during storage in different packaging materials. Food Chemistry. 110: 285-293.
- Salazar, BC; Montoya, OI; Sepúlveda, JU. 2005. Viabilidad de un aislado nativo de *Lactobacillus brevis* en una bebida láctea fermentada. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 55(4): 1-7.
- Santana, Ligia; Santos, Lílian; Natalicio, Maria; Mondragon-Bernal, Olga; Elias, Elede; Silva, Camila; Zepka, Leila; Isabela, Martins; Vernaza, Maria; Castillo-Pizarro, Cintya; Bolini, Helena. 2006. Perfil Sensorial de Iogurte Light, Sabor Pêssego. Ciencia y Tecnología de Alimentos. 26(3): 619-625.
- Sanz, T; Savador, A; Jiménez, A; Fiszman, SM. 2008. Yogurt enrichment with funcional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. Eur Food Res Technol. 227: 1515-1521.
- Sanz, Y; Collado, MC; Dalmau, J. 2003. Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Acta Pedíatrica Española. 61(9): 476-482.
- Shah, NP. 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science. 83: 894-907.
- Sip, A; Grajek, W. 2010. Probiotics and prebiotics. Blackwell Publishing Ltd. 146-177.

- Soukoulis, C; Panagiotidis, P; Koureli, R; Tzia, C. 2007. Industrial yogurt manufacture: Monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. Journal of Dairy Science. 90(6): 2641–2654.
- Tamime, AY; Robinson, RK. 1991. Yogur, ciencia y tecnología. Zaragoza, ES. Acribia S.A. 368 p.
- Tharmaraj, N; Shah, NP. 2003. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacteria, Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus, and Propionibacteria. Journal of Dairy Science. 86(7): 2288-2296.
- Trachoo, N. 2002. Yogurt: The fermented milk. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 24(4): 727-737.
- Vinderola, C; Prosello, W; Ghiberto, D; Reinheimer, J. 2000. Viability of probiotic (*Bifidobacteium, Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in argentinian fresco cheese. Journal of Dairy Science. 83(9): 1905-1911.
- Wang, J; Guo, Z; Zhang, Q; Yan, L; Chen, Y; Chen, X; Liu, XM; Chen, W; Zhang, HP. 2010. Effect of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang on fermentation characteristics of set yogurt. International Journal of Dairy Technology. 63(1): 105-112.
- Yildiz, F. 2010a. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. B Özer. Boca Raton, USA. CRC Press. Ch. 2. p. 47-96.
- Yildiz, F. 2010b. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. G Candan Gürakan; N Altay. Boca Raton, USA. CRC Press. Ch. 3. p. 97-121.
- Yüksel, Z; Erdem, YK. 2010. The influence of transglutaminase treatment on funtional propierties of set yogurt. International Journal of Dairy Technology. 63: 86-97.
- Zalazar, C; Reinheimer, J. 2006. Avances en microbiología, bioquímica y tecnología de quesos. C Vinderola; J Reinheimer. Santa Fe, AR. Ediciones UNL. Ch. 4. p. 73-80.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1 ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LOS CULTIVOS USADOS

1. CULTIVO FD-DVS Yo-Fast 88

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO					
Descripción	La serie Yo-Fast® con			epas en form	ıa de
	gránulos congelados		•	gur con	unas
m /	características de aroma y cuerpo únicas.				
Taxonomía	Bifidobacterium species				
	Streptococcus thermophilus				
	Lactobacillus acidophilus Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus				
T			garicus		
Envase	Tamaño	Tipo	an agia		
Daniele de des Eérices	25X200 U	Sobre (s)			
Propiedades Físicas	Color: Blanco a ligerar	•	o marron		
Anligación	Aspecto Físico: Granul	ado			
Aplicación	Uso El aultivo producirá un	a laaba farn	aantada aa	n muaha au	orno
	El cultivo producirá un sabor suave y una post				_
	yogur batido, bebible y		11 111111111111111111111111111111111111	incuia. Apio	para
	yogur batido, bebible y	neiddo.			
	Este producto no debe	ser denomina	ado "probi	ótico", va qu	e las
	cepas y/o los niveles de				
	los requerimientos para				-
	para la salud. Si se necesitan probióticos con documentación				
	clínica, recomendamos los productos de la gama nu-trish de				
	Chr. Hansen, que contienen los niveles adecuados de las cepas				
	probióticas documentadas de Chr. Hansen, Bifidobacterium BB-				
	12®, Lactobacillus acidophilus LA-5® y Lactobacillus L. casei				
	431®.				
	Dosis de inoculación r	ecomendada	1		1
	Cantidad de leche a	1,000 V	2,500 l/	5,000 l/	
	inocular	300 gal	700 gal	1,500 gal	
Cantidad de cultivo DVS 200 U 500 U 1,		1,000 U			
	Discreting a series				
	Directivas para su uso				
	Sacar el cultivo del congelador justo antes de su utilización. Limpiar la parte superior del sobre con cloro. Abrir el sobre y				
	añadir los gránulos liofilizados directamente al producto				
	pasteurizado mientras			_	
	•	iutos para			ltivo
	homogéneamente. La te				
	depende de la aplicació				

	Para más información sobre aplicaciones específicas, por favor, consulte nuestros catálogos técnicos y recetas recomendadas.
Almacenaje y manipulación	<-18 °C / < 0 °F
Vida útil	Como mínimo 24 meses desde la fecha de fabricación cuando se almacena siguiendo las recomendaciones. A +5°C (0°F) la caducidad es de cómo mínimo 6 semanas.
Legislación	Chr. Hansen cumple con los requerimientos generales de seguridad alimentaria establecidos por el Reglamento 178/2002/EC. Las bacterias ácido lácticas son reconocidas de forma general como seguras y pueden ser utilizadas en alimentos, sin embargo, para aplicaciones específicas recomendamos que consulte la legislación nacional. El producto está destinado a ser utilizado en alimentos.
Seguridad	No existe garantía de seguridad alimentaria implícita para
alimentaria	aplicaciones de este producto distintas de las indicadas en la sección de utilización. Si desea utilizar este producto en otra aplicación por favor, contacte con su representante de Chr. Hansen para solicitar ayuda.
Etiquetado	Etiquetado recomendado "cultivo ácido láctico" o "cultivo iniciador", sin embargo, la legislación puede variar. Por favor, consulte la legislación local.

2. CULTIVO FD-DVS ABT-4 Probio-Tec®

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO			
Descripción	Cultivo termófilo ácido láctico. Contiene las cepas probióticas		
	documentadas BB-12® y LA-5®. Las cepas tienen una larga		
	historia de uso seguro.		
Taxonomía	Lactobacillus acidophilus		
	Streptococcus thermophilus		
	Bifidobacterium		
Envase	Tamaño Tipo		
	10X50 U Sobre (s) en caja		
Propiedades Físicas	Color: Blanco a ligeramente rojizo o marrón		
	Aspecto Físico: Granulado		
Aplicación	Uso El cultivo producirá una leche fermentada con baja viscosidad, aroma suave-medio y mínima post-acidificación. Adecuado para yogur firme, batido y líquido.		
	Dosis recomendada Dosis de inoculación recomendada: 100U/500 l. de leche. Dosis de inoculación recomendada		

	Cantidad de leche a	250 l/	1,000 l/	2,500 l/
	inocular	70 gal	300 gal	700 gal
	Cantidad de cultivo DVS	50 U	200 U	500 U
			1	
	D: 4			
	Directivas para su uso	ladan iyata		utilima ai ám. Ma
	Sacar el cultivo del conge descongelar. Limpiar la			
	Abrir el sobre y añadir los			
	producto pasteurizado mi	•		
	mezcla durante 10-15			
	homogéneamente. La tem			
	depende de la aplicación			
	Para más información sob			
	consulte nuestros catálogo			
Almacenaje y	< -18 °C / < 0 °F.			
manipulación				
Vida útil	Como mínimo 24 meses desde la fecha de fabricación cuando			
	se almacena siguiendo las recomendaciones.			
	A +5°C (0°F) la caducidad			
Legislación	Chr. Hansen cumple co			•
		establecido		0
	178/2002/EC. Las bacterias ácido lácticas son reconocidas de forma general como seguras y pueden ser utilizadas en			
	forma general como seguras y pueden ser utilizadas en			
	alimentos, sin embargo, para aplicaciones específicas recomendamos que consulte la legislación nacional.			
Seguridad	El producto está destinado a ser utilizado en alimentos. No existe garantía de seguridad alimentaria implícita para			
alimentaria	aplicaciones de este prod			
ammentaria	sección de utilización. Si			
	aplicación por favor, con			
	Hansen para solicitar ayud		sa represe	attante de cin.
Etiquetado	Etiquetado recomendado		ácido láctio	co" o "cultivo
4	iniciador", sin embargo, l			
	consulte la legislación loca	_	•	ŕ
	El etiquetado con el nomb		epas probió	ticas es posible
	previo acuerdo de utiliza		_	
	consulte con su representa	nte local pa	ıra más info	rmación.

3. CULTIVO FD-DVS ABY-3 Probio-Tec®

	ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO	
Descripción	Cultivo termófilo ácido láctico. Contiene las cepas probióticas	
	documentadas BB-12 ® y LA-5®. Las cepas tienen una larga	
	historia de uso seguro.	
Taxonomía	Streptococcus thermophilus	
	Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus	
	Lactobacillus acidophilus	

	Bifidobacterium				
Envase	Tamaño Tip 20X500 U So	o bre (s) en ca	aja		
Propiedades Físicas	Color: Blanco a ligeramente rojizo o marrón				
	Aspecto Físico: Granula	do			
Aplicación	Uso				
	El cultivo producirá yogu				
	mucho cuerpo, aroma mu				ión.
	Adecuado para yogures f	irmes, batic	ios y iiquiad	os.	
	Dosis de inoculación red	comendada	1		_
	Cantidad de leche a	250 l/	1,000 l/	2,500 l/	
	inocular	70 gal	300 gal	700 gal	
	Cantidad de cultivo DVS	50 U	200 U	500 U	
					_
	Directivas para su uso	-11	4 1	4:11:::	NT.
	Sacar el cultivo del cong descongelar. Limpiar la				
	Abrir el sobre y añadir los gránulos liofilizados directamente al producto pasteurizado mientras se agita suavemente. Agitar la				
	mezcla durante 10-15 minutos para distribuir el cultivo				
	homogéneamente. La temperatura recomendada de incubación				
	depende de la aplicación en la que se va a utilizar el cultivo.				
	Para más información so	-	_	-	
	consulte nuestros catálog	os técnicos	y recetas re	comendadas	.
Almacenaje y	<-18 °C /< 0 °F				
manipulación	Como mínimo 24 meses	daada la faa	ha da falani	ال سودية ساكنون	1
Vida útil	se almacena siguiendo la			cacion cuand	Ю
	A +5°C (0°F) la caducida			6 semanas	
Legislación	Chr. Hansen cumple c				de
Legislacion	seguridad alimentaria		-	el Reglame	
	178/2002/EC. Las bacterias ácido lácticas son reconocidas de				
	forma general como seguras y pueden ser utilizadas en				
	alimentos, sin embargo, para aplicaciones específicas				
	recomendamos que consu				
	El producto está destinado a ser utilizado en alimentos.				
Seguridad	No existe garantía de seguridad alimentaria implícita para				
alimentaria	aplicaciones de este producto distintas de las indicadas en l sección de utilización. Si desea utilizar este producto en otr				
	aplicación por favor, contacte con su representante de Chr. Hansen para solicitar ayuda.			CIII.	
Etiquetado	Etiquetado recomendado		ácido lácti	ico" o "cult	tivo
Dayueauv	iniciador", sin embargo,				
	consulte la legislación lo	-	-		
	cepas probióticas es pos				
		_			
	marca registrada. Por fav	or, consum	e con su rep	oresentante Id	ocai

ANEXO 2 ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE INGREDIENTES E INSUMOS USADOS EN EL YOGUR COMERCIAL

1. Estabilizante

ESPECIFICA	CIONES DEL PRODUCTO
Nombre	ESTABILIZANTE PARA YOGUR
	G36400 AD
Proveedor	ADITMAQ
Grado comercial	Uso en la industria alimenticia
Aplicación	Utilizado en productos como yogur
Apiicacion	batido y con frutas.
Nivel de uso sugerido	0.5 - 3%
Declaración de	Almidón modificado, gelatina Kosher,
ingredientes	pectina y goma guar
Certificado	Ministerio de Agricultura Servicio
Certificado	Agrícola y Ganadero de Chile.
Características	Producto en polvo, blanco a crema,
Caracteristicas	humedad <12%
Vida de anaquel y	24 meses, mantener el producto en
recomendaciones	polvo, en su envase original sellado, en
recomendaciones	un lugar fresco y seco.

FUENTE: Ficha técnica

2. Pulpa de mango

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO		
Nombre	PULPA DE MANGO CONGELADA	
Proveedor	FADESA	
Declaración de	Mango maduro fresco (variedad: Atking,	
ingredientes	Haden, Criollo, Kent)	
	° Brix: 12 - 14	
	pH: 3.7 - 3.9	
	Acidez: 0.4 - 1.0	
	Aerobios totales = <100	
Características	Mohos y levaduras = <100	
Caracteristicas	Coliformes totales = <100	
	E. Coli = ausencia	
	Color = amarillo	
	Sabor / aroma = Fresco aroma y dulce	
	sabor	
Vida de anaquel y recomendaciones	12 meses en congelación.	

FUENTE: Ficha técnica

3. Conservante

ESPECIFICAC	IONES DEL PRODUCTO
Nombre	SORBATO DE POTASIO
	GRANULADO
Proveedor	SILPERAL
Grado comercial	Uso en la industria alimenticia
Aplicación	Empleado como conservante de
Aplication	productos lácteos.
Características	Polvo blanco, soluble en agua, no
Caracteristicus	toxico, inodoro.
Vida de anaquel y	24 meses, mantener el producto en
recomendaciones	su envase original sellado, en un
recomenductones	lugar fresco y seco.

FUENTE: Ficha técnica

4. Fundas para yogur

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO		
Nombre	FUNDAS LAMINADAS	
Proveedor	PREPACKING	
Grado comercial	Utilizado en la industria alimenticia	
Material PELD, PELLD, METALOCEN, POLIPROPILENO		
Características	Migración de tinta: 0 Densidad: 0.92g/cm³ Temperatura (rango de aplicación): 60 – 80° C. Permeabilidad al oxígeno: 3200-4000cm³, 0.05mm/m² - 24 h Permeabilidad al CO ₂ : 1500-2000cm³, 0.05mm/m² - 24h Permeabilidad al aire: 1500-1700 cm³, 0.05mm/m² - 24h Permeabilidad a la humedad en ambiente al 85%: 2-3cm³, 0.05mm/m² - 24h.	

FUENTE: Ficha técnica

5. Frascos para yogur

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO		
Nombre	FRASCOS	
Proveedor	RHENANIA S.A.	
Grado comercial	Utilizado en la industria alimenticia	
Certificado	FDA	
Material	Polietileno de alta densidad	

	Resina de soplado copolímera con					
	alta resistencia al impacto y de					
	buena rigidez.					
Características	Excelente resistencia al					
	agrietamiento por tensión.					
	Adecuada para contacto con					
	substancias tensoactivas y					
	productos químicos.					

ANEXO 3 CERTIFICADO DE CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE.

Fecha: 10 -	Z.T!	×	*******				No))(23	9
ANALISIS		-	-	_	PROV	EEDO	R			
Analista	11	-	-	_						
Proveedor	Lelexn	Belv	_							
No muestras	1	-	_	-	_	_				
110 Illudottas	-1	-	_	-	_	_				
Color	V	-	-	+	-	-				
Olor	1	-	+	+	-	-	_	-	-	
Sabor	-	-	-	+		-	_		-	
Prueba de alcohol	1		-	-		-				
Acidez	1/5		-	-	-	-	-			_
Temperatura	2090		-	-	-	-	-			
Densidad	3/63		-	-	+	+	-	_		_
Mastitis	3/-			-	-	-				
	_		-		-	+	-			
			-	+	-	-	-			_
Grasa (%)	199		+		-	-	-	-	1000	
Conductividad (ms/cm)	389		+		-	-	-			
SNG (%)	246			-	-		-			
Proteina (%)	296		-	-		-	-			-
Agua añadida (%)	-			-	-					
actosa (%)	437				-	-				
unto de congelación (°C)	-0.51				-					
iolidos (%) SALES	065				-		-			1
	000				-					
rueba azul de metileno										
ntibiótico										
			-							
									_	
bservaciones:										
The state of the s										
							000-00-0			

ANEXO 4 HOJA DE CATACIÓN PARA LA SELECCIÓN DEL CULTIVO

EVALUACIÓN SENSORIAL DE YOGUR

Nombre: Fecha:	
Marque con una X de acuerdo a su elección:	
Evaluación de SABOR	

	522	255	268	791	425
Me gusta muchísimo					
Me gusta mucho					
Me gusta poco					
Ni me gusta ni me disgusta					
Me disgusta poco					
Me disgusta mucho					
Me disgusta muchísimo					

Evaluación de APARIENCIA

	522	255	268	791	425
Me gusta muchísimo					
Me gusta mucho					
Me gusta poco					
Ni me gusta ni me disgusta					
Me disgusta poco					
Me disgusta mucho					
Me disgusta muchísimo					

Evaluación de VISCOSIDAD

	522	255	268	791	425
Me gusta muchísimo					
Me gusta mucho					
Me gusta poco					
Ni me gusta ni me disgusta					
Me disgusta poco					
Me disgusta mucho					
Me disgusta muchísimo					

Evaluación de ACEPTACION GENERAL

	522	255	268	791	425
Me gusta muchísimo					
Me gusta mucho					
Me gusta poco					
Ni me gusta ni me disgusta					
Me disgusta poco					
Me disgusta mucho					
Me disgusta muchísimo					

¡Gracias por su colaboración!

ANEXO 5 HOJA DE CATACIÓN PARA LA PRUEBA CON CONSUMIDORES

"EVALUACIÓN SENSORIAL DE YOGUR"

Nombre: Fecha:						
Pruebe por favor las dos muestras de yogur que se le presentan e indique cual prefiere.						
Marque con una \mathbf{X} la muestra que prefiere.						
Muestra 1	Muestra 2					
Indique por qué prefiere la muestra seleccionada:						

Gracias por su colaboración.

ANEXO 6 LISTA COMPLETA DE ATRIBUTOS GENERADOS POR EL PANEL SENSORIAL

Atributos relacionados con el aspecto	Atributos relacionados con el sabor y aroma	Atributos relacionados con el cuerpo y textura oral
- Tonalidad - Brillo - Color	- Aroma - Olor	
 Viscosidad Espesor Consistencia Firmeza Grumosidad Cuerpo Sinéresis Presencia de suero Aceptación general 	AstringenciaAcidezGustoDulzorAmargorRegusto	ViscosidadGrumosidadHarinosidadArenosidadGranulosidad

ANEXO 7 HOJA DE CATACIÓN PARA LA PRUEBA DESCRIPTIVA

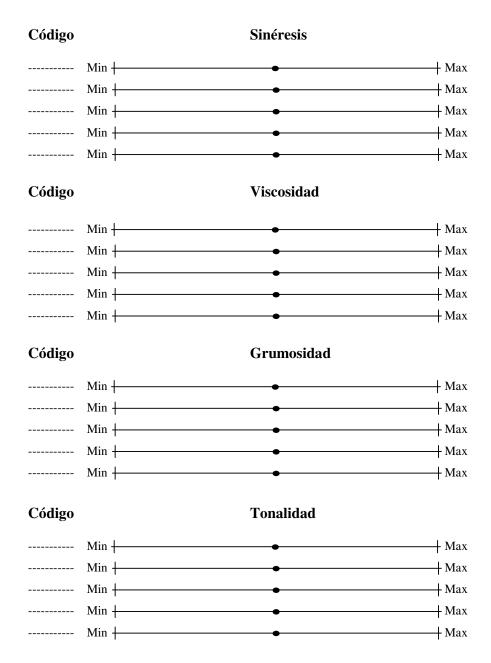
EVALUACIÓN SENSORIAL DE YOGUR

NOMBRE:

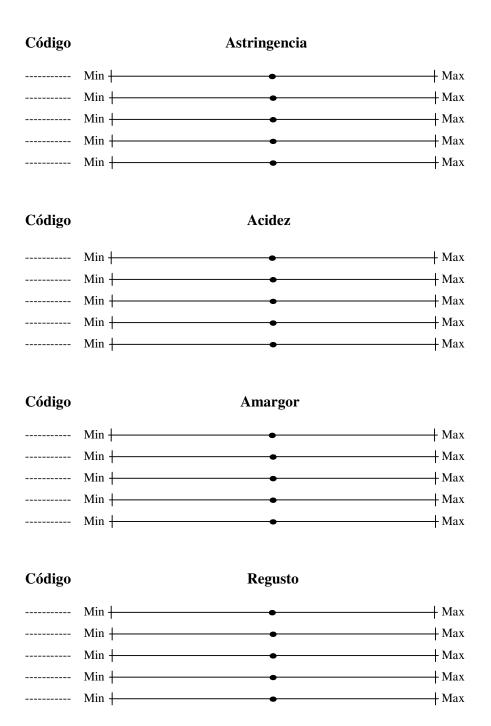
FECHA:

Marque en cada línea una posición correspondiente a la intensidad del descriptor pedido.

EVALUACIÓN DEL ASPECTO



EVALUACIÓN DEL SABOR Y AROMA



EVALUACIÓN DEL CUERPO Y TEXTURA

Código		Viscosidad	
	Min 	•	
	Min 	•	
	Min 	•	
	Min 	•	———— Max
	Min 	•	Hax
Código		Grumosidad	
	Min 	•	——————————————————————————————————————
	Min 	•	
	Min 	•	———— Max
	Min +	•	——— Max

----- Min |

ANEXO 8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL YOGUR COMERCIAL

1. ANÁLISIS DEL pH

a. Análisis del pH dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: pH Yogur Esencia vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 0.10913 0.02728 4.72 0.021 Error 10 0.05780 0.00578 Total S = 0.07603 R-cuad. = 65.38% R-cuad. (ajustado) = 51.53%
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de
almacenamiento N Media Agrupación
1 3 4.50667 A
2 3 4.39000 A B
3 4.36667 A B
4 3 4.28333 B
5 3 4.27000 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: pH Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	0.058827	0.014707	32.93	0.000
Error	10	0.004467	0.000447		
Total	14	0.063293			
S = 0.02113 R-cuad. = 9	92.949	R-cuad	.(ajustado	= 90.	12%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

 Semana de

 almacenamiento
 N
 Media
 Agrupación

 1
 3
 4.48667
 A

 2
 3
 4.42333
 B

 3
 4.38333
 B C

 4
 3
 4.35000
 C D

 5
 3
 4.30333
 D

b. Análisis del pH dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: pH semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.000600 0.000600 4.50 0.101
Error 4 0.000533 0.000133
Total 5 0.001133
S = 0.01155 R-cuad. = 52.94% R-cuad.(ajustado) = 41.18%
```

ANOVA unidireccional: pH semana 2 vs. Tipo de yogur

```
CM
Fuente
              GL
              1 0.00167 0.00167 0.92 0.392
Tipo de yogur
               4 0.00727 0.00182
Error
               5 0.00893
Total
S = 0.04262 R-cuad. = 18.66% R-cuad. (ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: pH semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
                     SC
                            CM
                                  F
            1 0.00042 0.00042 0.35 0.585
Tipo de yogur
Error
              4 0.00473 0.00118
Total
              5 0.00515
S = 0.03440 R-cuad. = 8.09% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: pH semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
              GL
                     SC
                              CM
                                   F
              1 0.00667 0.00667 1.06 0.362
Tipo de yogur
Error
               4 0.02527 0.00632
              5 0.03193
Total
S = 0.07948 R-cuad. = 20.88% R-cuad. (ajustado) = 1.10%
```

ANOVA unidireccional: pH semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
             GI.
                     SC
                             CM
                                   F
              1 0.00167 0.00167 0.27 0.629
Tipo de yogur
               4 0.02447 0.00612
Error
            5 0.02613
Total
S = 0.07821 R-cuad. = 6.38% R-cuad. (ajustado) = 0.00%
```

ANÁLISIS DE LA ACIDEZ 2.

Análisis de la acidez dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Acidez del Yogur con Esencia vs. Semana de almacenamiento

F

```
\operatorname{GL}
                                 SC
                                         CM
                        4 0.02591 0.00648 4.17 0.031
Semana de almacenamiento
Error
                        10 0.01553 0.00155
Total
                        14 0.04144
S = 0.03941 R-cuad. = 62.52% R-cuad.(ajustado) = 47.52%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
                  Media Agrupación
almacenamiento N
               3 0.81667
                          Α
                 0.80667
4
               3
                          АВ
3
               3 0.77333 A B
               3 0.73667 A B
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Acidez del Yogur con Pulpa vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	0.003760	0.000940	6.71	0.007
Error	10	0.001400	0.000140		
Total	14	0.005160			
S = 0.01183 R-cuad. = 7	2.879	R-cuad.	(ajustado)	= 62	.02%

В

3 0.70667

1

Agrupar información utilizando el método de Tukey

```
Semana de
almacenamiento N Media Agrupación
5 3 0.75667 A
4 3 0.74667 A
3 0.73667 A B
2 3 0.73000 A B
1 3 0.71000 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

b. Análisis de Bifidobacterias dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Acidez semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0.000017 0.000017 0.14 0.725 Error 4 0.000467 0.000117 Total 5 0.000483 S = 0.01080 \quad R-cuad. = 3.45\% \quad R-cuad. (ajustado) = 0.00\%
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 2 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.000067	0.000067	0.18	0.692	
Error	4	0.001467	0.000367			
Total	5	0.001533				
S = 0.01915	R-cua	d. = 4.35%	R-cuad.	(ajust	ado) =	0.00%

ANOVA unidireccional: Acidez semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0.002017 0.002017 4.17 0.111 Error 4 0.001933 0.000483 Total 5 0.003950 S = 0.02198 \quad R-cuad. = 51.05\% \quad R-cuad. (ajustado) = 38.82\%
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0.00540 0.00540 3.31 0.143 Error 4 0.00653 0.00163 Total 5 0.01193 S = 0.04041 \quad R-cuad. = 45.25\% \quad R-cuad. (ajustado) = 31.56\%
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0.00540 0.00540 3.31 0.143 Error 4 0.00653 0.00163 Total 5 0.01193 S = 0.04041 \quad R-cuad. = 45.25\% \quad R-cuad. (ajustado) = 31.56\%
```

ANEXO 9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS BACTERIAS PROBIÓTICAS EN EL YOGUR COMERCIAL

1. ANÁLISIS DE BIFIDOBACTERIUM

a. <u>Análisis de *Bifidobacterium* dependiendo del día de almacenamiento del</u> yogur

ANOVA unidireccional: Bb12 en Yogur Esencia vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	94,029	23,507	188,32	0,000
Error	10	1,248	0,125		
Total	14	95 , 277			
S = 0,3533 R-cuad. = 98	,69%	R-cua	d.(ajust	ado) = 9	8,17%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de			
almacenamiento	N	Media	Agrupación
1	3	7,5667	A
2	3	6,3200	В
3	3	4,2200	C
4	3	1,7200	D
5	3	1,1400	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Bb12 en Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	73,1446	18,2861	191,97	0,000
Error	10	0,9525	0,0953		
Total	14	74,0971			
S = 0,3086 R-cuad. = 98	,71%	R-cuad	.(ajustad	0) = 98,	20%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de
almacenamiento N Media Agrupación
1 3 7,3267 A
2 3 6,8533 A
3 5,6833 B
4 3 3,2267 C
5 3 1,5433 D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b. Análisis de Bifidobacterium dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,0864 0,0864 3,48 0,136
Error 4 0,0993 0,0248
Total 5 0,1857
S = 0,1576 R-cuad. = 46,52% R-cuad.(ajustado) = 33,15%
```

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,4267 0,4267 4,45 0,102
Error 4 0,3833 0,0958
Total 5 0,8099
S = 0,3095 R-cuad. = 52,68% R-cuad. (ajustado) = 40,85%
```

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
              GL
                    SC
                          CM
             1 3,212 3,212 17,36 0,014
Tipo de yogur
              4 0,740 0,185
Error
              5 3,952
S = 0,4302 R-cuad. = 81,27% R-cuad. (ajustado) = 76,59%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur N
          Media Agrupación
Pulpa 3 5,6833 A
Esencia 3 4,2200
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 3,405 3,405 31,26 0,005
Error 4 0,436 0,109
Total 5 3,841
S = 0,3300 R-cuad. = 88,66% R-cuad.(ajustado) = 85,82%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tipo de
Yogur N Media Agrupación
Pulpa 3 3,2267 A
Esencia 3 1,7200 B
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogurt 1 0,244 0,244 1,80 0,251
Error 4 0,542 0,136
Total 5 0,786
S = 0,3682 R-cuad. = 31,03% R-cuad.(ajustado) = 13,79%
```

2. ANÁLISIS DE LACTOBACILLUS

a. Análisis de L. acidophilus dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: La-5 Yogur con Esencia vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 5,483 1,371 6,01 0,010 Error 10 2,281 0,228 Total S = 0,4776 R-cuad. = 70,62% R-cuad. (ajustado) = 58,87\%
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey

```
Semana de
almacenamiento N Media Agrupación
1 3 7,1467 A
2 3 6,9300 A
3 6,3400 A B
4 3 6,2033 A B
5 3 5,4267 B
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: La-5 en Yogur con Pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 7,9422 1,9856 19,97 0,000 Error 10 0,9945 0,0994 Total 14 8,9367 S = 0,3154 R-cuad. = 88,87% R-cuad. (ajustado) = 84,42%
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey

```
Semana de
almacenamiento N Media Agrupación
1 3 6,8333 A
2 3 6,6100 A B
3 6,2067 A B
4 3 5,7767 B
5 3 4,7767 C
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b. Análisis de L. acidophilus dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: La-5 semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,1473 0,1473 2,38 0,198
Error 4 0,2473 0,0618
Total 5 0,3946
S = 0,2487 R-cuad. = 37,32% R-cuad. (ajustado) = 21,65%
```

ANOVA unidireccional: La-5 semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,1536 0,1536 2,41 0,195
Error 4 0,2548 0,0637
Total 5 0,4084
S = 0,2524 R-cuad. = 37,61% R-cuad. (ajustado) = 22,01%
```

ANOVA unidireccional: La-5 semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,0267 0,0267 0,35 0,585
Error 4 0,3027 0,0757
Total 5 0,3293
S = 0,2751 R-cuad. = 8,10% R-cuad.(ajustado) = 0,00%
```

ANOVA unidireccional: La-5 semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,2731 0,2731 3,52 0,134
Error 4 0,3101 0,0775
Total 5 0,5832
S = 0,2784 R-cuad. = 46,82% R-cuad.(ajustado) = 33,53%
```

ANOVA unidireccional: La-5 semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,634 0,634 1,17 0,340
Error 4 2,161 0,540
Total 5 2,794
S = 0,7349 R-cuad. = 22,68% R-cuad.(ajustado) = 3,35%
```

ANEXO 10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL YOGUR PARA LA SELECCIÓN DEL CULTIVO

1. ANÁLISIS DE LA ACIDEZ

ANOVA unidireccional: Acidez vs. Cultivo

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Cultivo	2	0.004269	0.002135	4.28	0.070	
Error	6	0.002993	0.000499			
Total	8	0.007262				
S = 0.02	233	R-cuad.	= 58.79%	R-cua	d.(ajusta	do) = 45.05%

2. ANÁLISIS DEL pH

ANOVA unidireccional: pH vs. Cultivo

Fuente	GL	SC	CM	F	P			
Cultivo	2	0.01936	0.00968	1.83	0.239			
Error	6	0.03167	0.00528					
Total	8	0.05102						
S = 0.07	265	R-cuad.	= 37.94%	R-c	uad.(ajus	tado) :	= 17.25	5°8

3. ANÁLISIS DE LA SINÉRESIS

ANOVA unidireccional: Sinéresis vs. Cultivo

```
Fuente GL SC CM F P
Cultivo 2 26.48 13.24 5.46 0.045
Error 6 14.55 2.42
Total 8 41.03
S = 1.557 R-cuad. = 64.54% R-cuad.(ajustado) = 52.72%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Cultivo N Media Agrupación
ABT-4 3 57.683 A
ABY-3 3 54.690 A B
Yo-Fast 3 53.633 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

4. ANÁLISIS DE LA VISCOSIDAD

ANOVA unidireccional: Viscosidad vs. Cultivo

```
Fuente GL SC CM F P
Cultivo 2 387513 193756 0.41 0.681
Error 6 2839785 473298
Total 8 3227298
S = 688.0 R-cuad. = 12.01% R-cuad. (ajustado) = 0.00%
```

ANEXO 11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL YOGUR PARA LA SELECCIÓN DEL CULTIVO

1. ANÁLISIS DEL SABOR

ANOVA unidireccional: Sabor vs. Cultivo

```
Fuente GL
              SC
                     CM
Cultivo 2 15.472 7.736 13.39 0.000
Error 24 13.867 0.578
        26 29.339
Total
S = 0.7601 R-cuad. = 52.74% R-cuad.(ajustado) = 48.80%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Cultivo N
          Media Agrupación
Yo-Fast 9 5.1444 A
ABY-3
       9 5.1111 A
ABT-4 9 3.5222
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

2. ANÁLISIS DE LA APARIENCIA

ANOVA unidireccional: Apariencia vs. Cultivo

```
Fuente GL SC CM F P
Cultivo 2 52.087 26.043 34.93 0.000
Error 24 17.893 0.746
Total 26 69.980
S = 0.8635 R-cuad. = 74.43% R-cuad.(ajustado) = 72.30%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Cultivo N Media Agrupación
Yo-Fast 9 5.7444 A
ABY-3 9 4.8111 A
ABT-4 9 2.4444 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

3. ANÁLISIS DE LA VISCOSIDAD

ANOVA unidireccional: Viscosidad vs. Cultivo

```
F
Fuente GL
              SC
                      CM
        2 24.859 12.429 16.49 0.000
24 18.087 0.754
Cultivo
Error
      26 42.945
Total
S = 0.8681 R-cuad. = 57.88% R-cuad.(ajustado) = 54.37%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Cultivo N Media Agrupación
Yo-Fast 9 5.4778 A
ABY-3 9 4.9222 A
       9 3.2222
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

4. ANÁLISIS DE LA ACEPTACIÓN GENERAL

ANOVA unidireccional: Aceptación general vs. Cultivo

```
Fuente GL SC CM F P
Cultivo 2 25.280 12.640 14.66 0.000
Error 24 20.687 0.862
Total 26 45.967
S = 0.9284 R-cuad. = 55.00% R-cuad.(ajustado) = 51.25%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Cultivo N Media Agrupación
Yo-Fast 9 5.3111 A
ABY-3 9 4.7778 A
ABT-4 9 3.0444 B
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANEXO 12 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PREFERENCIA

Consumidores = 80

	Mı	iestras			
Consumidor	M1 (Yogur con cultivo Yo- Fast88) M2 (Yogur co cultivo ABY		Comentarios		
1		X	Sabor más simple y se puede consumir en cualquier momento,		
2		X	Más dulce y menos ácida		
3		X	Sabor más agradable		
4	X		Sabor más agradable que la otra muestra		
5	X		Tiene mejor sabor		
6		X	Mejor sabor		
7		X	Más rica		
8		X	Más espesa y más natural		
9	X		Más dulce		
10		X	Más suave		
11		X	Sabor más agradable		
12		X	Mejor sabor y aroma		
13	X		Mejor sabor		
14	X		Más líquida y sabor delicioso		
15		X	Sabor agradable y dulce		
16	X		-		
17	X		Sabor más dulce		
18	X		-		
19	X		Mejor sabor		
20		X	Sabor menos ácido		
21		X	Más espesa y mejor consistencia		
22	X		-		
23	X		Mejor sabor		
24	X		Menos grumoso		
25		X	Sabor más suave, menos ácida		
26		X	Más dulce		
27	X		Sabor más natural		
28		X	Más cremoso		
29	X		Mejor sabor		
30		X	Menos ácido		
31		X	Mejor sabor y espesor		
32	X		Más dulce		
33	X		Mejor sabor		
34	X		Sabor más dulce		
35	X		Más dulce		
36	X		Mejor sabor		
37	X		Más dulce y viscoso		

38		X	Sabor más rico
39		X	Sabor natural
40	X		Dulce y agradable
41	X		Menos ácido
42	X		Textura adecuada
43	X		Sabor más dulce
44		X	Más espeso
45	X		Menos espeso y más dulce
46	X		Más dulce
47	X		Sabor más agradable
48	X		Sabor más ácido
49		X	Sabor natural
50	X		Mejor sabor
51	X		Sabor más rico
52		X	Sabor más rico
53		X	Menos ácido
54		X	Mejor sabor y menos ácido
55		X	Menos dulce
56	X		Tiene más sabor
57	X		Mejor sabor
58		X	Más rica
59		X	Mejor consistencia y sabor
60	X		Sabor agradable
61	X		Buen sabor
62	X		Más dulce y espeso
63		X	Mejor sabor
64	X		Sabor más suave
65		X	Más espesa
66		X	Mejor sabor
67	X		Sabor más dulce
68	X		-
69		X	Sabor natural y dulce
70		X	Menos ácida
71		X	-
72	X		Mejor sabor y menos espesa
73	X		Sabor más rico
74	X		Más dulce y agradable
75		X	Sabe mejor
76		X	Mejor consistencia y sabor
77	X		Más rica
78	X		Sabor más rico y dulce
79	X		Mejor sabor y textura
80		X	Mejor sabor

ANEXO 13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL YOGUR CON EL CULTIVO SELECCIONADO

1. ANÁLISIS DEL pH

a. Análisis del pH dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: pH Yogur Esencia vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de alm	acenamiento 4	0.047707	0.011927	23.54	0.000
Error	10	0.005067	0.000507		
Total	14	0.052773			
S = 0.02251	R-cuad. = 90.40)% R-cuad	l.(ajustado) = 86.	56%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de			
almacenamiento	N	Media	Agrupación
1	3	4.42000	A
2	3	4.38667	A B
3	3	4.35333	ВС
4	3	4.29667	C D
5	3	1 26667	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: pH Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	0.066275	0.016569	130.62	0.000
Error	10	0.001269	0.000127		
Total	14	0.067544			
S = 0.01126 R-cuad. = 9	8.128	R-cuad	.(ajustado) = 97.3	7%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de			
almacenamiento	N	Media	Agrupación
1	3	4.46833	A
2	3	4.41556	В
3	3	4.37944	С
4	3	4.33222	D
5	3	4.27556	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b. Análisis del pH dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: pH semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.003504 0.003504 6.99 0.057
Error 4 0.002006 0.000501
Total 5 0.005510
S = 0.02239 R-cuad. = 63.60% R-cuad. (ajustado) = 54.50%
```

ANOVA unidireccional: pH semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.001252 0.001252 4.17 0.111
Error 4 0.001202 0.000300
Total 5 0.002454
S = 0.01733 R-cuad. = 51.02% R-cuad.(ajustado) = 38.77%
```

ANOVA unidireccional: pH semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
                         SC
             1 0.0010227 0.0010227 27.96 0.006
Tipo de yogur
Error 4 0.001
5 0.0011690
               4 0.0001463
                            0.0000366
S = 0.006048 R-cuad. = 87.49% R-cuad. (ajustado) = 84.36%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
       N
             Media Agrupación
      3 4.379444 A
Pulpa
Esencia 3 4.353333 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: pH semana 4 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.001896	0.001896	4.49	0.102	
Error	4	0.001691	0.000423			
Total	5	0.003587				
S = 0.02056	R-cua	d. = 52.87%	R-cuad	.(ajus	tado) =	41.08%

ANOVA unidireccional: pH semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0.000119 0.000119 0.37 0.577 Error 4 0.001291 0.000323 Total 5 0.001409 S = 0.01796 \quad R-cuad. = 8.418 \quad R-cuad. (ajustado) = 0.008
```

2. ANÁLISIS DE LA ACIDEZ

a. Análisis de la acidez dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Acidez Yogur Esencia vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 0.0039067 0.0009767 11.27 0.001 Error 10 0.0008667 0.0000867 Total 14 0.0047733 S = 0.009309 R-cuad. = 81.84% R-cuad. (ajustado) = 74.58%
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de			
almacenamiento	N	Media	Agrupación
5	3	0.800000	A
4	3	0.793333	A
3	3	0.776667	AВ
2	3	0.766667	В
1	3	0.756667	В

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Acidez Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P
Semana de almacenamiento 4 0.0078267 0.0019567 26.68 0.000
Error 10 0.0007333 0.0000733
Total 14 0.0085600
S = 0.008563 R-cuad. = 91.43% R-cuad. (ajustado) = 88.01%
Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de almacenamiento N Media Agrupación
5 3 0.756667 A
```

almacenamiento N Media Agrupación
5 3 0.756667 A
4 3 0.746667 A
3 0.723333 B
2 3 0.706667 B C
1 3 0.696667 C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b. Análisis de la acidez dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Acidez semana 1 vs. Tipo de yogur

```
GL
                       SC
                                CM
                                       F
Tipo de yogur
             1 0.005500 0.005500 41.98 0.003
Error
              4 0.000524 0.000131
              5 0.006025
Total
S = 0.01145 R-cuad. = 91.30% R-cuad.(ajustado) = 89.13%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
       N
           Media Agrupación
Esencia 3 0.75667 A
        3 0.69611
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 2 vs. Tipo de yogur

```
SC
                                              F
Fuente
               GI.
                                     CM
Tipo de yogur
               1 0.0055005 0.0055005 139.78 0.000
Error
                 4 0.0001574 0.0000394
                5 0.0056579
Total
S = 0.006273 R-cuad. = 97.22% R-cuad. (ajustado) = 96.52%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
        N
              Media Agrupación
Esencia 3 0.766667 A
Pulpa 3 0.706111 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.004723 0.004723 47.01 0.002
Error 4 0.000402 0.000100
Total 5 0.005125
S = 0.01002 R-cuad. = 92.16% R-cuad.(ajustado) = 90.20%
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tipo de

Yogur N Media Agrupación

Esencia 3 0.77667 A Pulpa 3 0.72056 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Acidez semana 4 vs. Tipo de yogur

Fuente GL SC CM F P Tipo de yoqur 1 0.0037500 0.0037500 180.00 0.000

Error 4 0.0000833 0.0000208

Total 5 0.0038333 S = 0.004564 R-cuad. = 97.83% R-cuad. (ajustado) = 97.28%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tipo de

Yogur N Media Agrupación

Esencia 3 0.793333 A Pulpa 3 0.743333 E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Acidez semana 5 vs. Tipo de yogur

Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0.0031894 0.0031894 56.93 0.002

Error 4 0.0002241 0.0000560

Total 5 0.0034134

S = 0.007485 R-cuad. = 93.44% R-cuad. (ajustado) = 91.79%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tipo de

Yogur N Media Agrupación

Esencia 3 0.800000 A Pulpa 3 0.753889 E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

3. ANÁLISIS DE LA SINÉRESIS

Análisis de la sinéresis dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Sinéresis Yogur Esencia vs. Semana de almacenamiento

Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 162.94 40.73 5.12 0.017

Error 10 79.55 7.95

Total 14 242.48 S = 2.820 R-cuad. = 67.20% R-cuad.(ajustado) = 54.07%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de

almacenamiento N Media Agrupación
1 3 47.617 A
2 3 42.637 A B
5 3 40.750 A B
4 3 39.523 B
3 38.123 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Sinéresis Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 77.79 19.45 3.32 0.056 Error 10 58.55 5.86 Total 14 136.34 S = 2.420 R-cuad. = 57.06% R-cuad. (ajustado) = 39.88%
```

b. Análisis de la sinéresis dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 1 vs. Tipo de yogur

```
SC
Fuente
               GL
                           CM
Tipo de yogur
             1 231.1 231.1 15.83 0.016
Error
               4 58.4
                          14.6
               5 289.5
Total
S = 3.821 R-cuad. = 79.83% R-cuad.(ajustado) = 74.78%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
        N
           Media Agrupación
Esencia 3 47.617 A
Pulpa 3 35.203
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 2 vs. Tipo de yogur

```
SC
                                     F
Fuente
               GL
                             CM
Tipo de yogur
              1 268.14 268.14 38.93 0.003
               4
                  27.55
                          6.89
                5 295.69
Total
S = 2.624 R-cuad. = 90.68% R-cuad.(ajustado) = 88.35%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
        N
           Media Agrupación
        3 42.637 A
3 29.267
Esencia 3
Pulpa
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
              GI.
                    SC
                          CM
                                  F
             1 60.42 60.42 23.25 0.009
Tipo de yogur
               4 10.39
                         2.60
Error
               5
Total
                  70.81
S = 1.612 R-cuad. = 85.32% R-cuad.(ajustado) = 81.65%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur N
          Media Agrupación
Esencia 3 38.123 A
Pulpa 3 31.777
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 27.22 27.22 4.11 0.112 Error 4 26.46 6.62
```

```
Total 5 53.68 S = 2.572 R-cuad. = 50.71% R-cuad.(ajustado) = 38.38%
```

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 5 vs. Tipo de yogur

```
SC
              GL
             1 114.14 114.14 29.88 0.005
Tipo de yogur
               4 15.28
5 129.43
                          3.82
Error
Total
S = 1.955 R-cuad. = 88.19% R-cuad.(ajustado) = 85.24%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
          Media Agrupación
Yogur
        N
Esencia 3 40.750 A
Pulpa 3 32.027
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

4. ANÁLISIS DE LA VISCOSIDAD

a. Análisis de la viscosidad dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Viscosidad Yogur Esencia vs. Semana de almacenamiento

Fuente			GL		SC	CM	F	P		
Semana de almac	ena	miento	4	92	23523	230881	8.54	0.003		
Error			10	2	70509	27051				
Total			14	119	94032					
S = 164.5 R-cuad. = 77.34% R-cuad.(ajustado) = 68.28%										
Agrupar informa	Agrupar información utilizando el método de Tukey									
Semana de										
almacenamiento	N	Media	Ag	rupa	ación					
1	3	2925.3	A							
4	3	2706.2	Α	В						
2	3	2619.2	A	ВС						
3	3	2441.9		ВС						

ANOVA unidireccional: Viscosidad Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	1065112	266278	3.90	0.037
Error	10	683382	68338		
Total	14	1748494			
S = 261.4 R-cuad. = 60.	92%	R-cuad.	(ajustad	0) = 4	5.28%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

```
      Semana de almacenamiento
      N
      Media Agrupación

      3
      2680.7 A

      4
      3 2563.3 A B

      2
      3 2288.8 A B

      1
      3 2155.2 A B

      5
      3 1948.7 B

      Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

b. Análisis de la viscosidad dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Viscosidad semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 889604 889604 18.24 0.013
Error 4 195088 48772
Total 5 1084692
S = 220.8 R-cuad. = 82.01% R-cuad.(ajustado) = 77.52%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tipo de
Yogur N Media Agrupación
Esencia 3 2925.3 A
Pulpa 3 2155.2 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad semana 2 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogu	r 1	163792	163792	1.84	0.246	
Error	4	355569	88892			
Total	5	519362				
S = 298.1	R-cuad.	= 31.54%	R-cu	ad.(aj	ustado)	= 14.42%

ANOVA unidireccional: Viscosidad semana 3 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P		
Tipo de yogu	r 1	85524	85524	1.92	0.238		
Error	4	177939	44485				
Total	5	263463					
S = 210.9	R-cuad.	= 32.46	% R-c	uad.(a	justado)	=	15.58%

ANOVA unidireccional: Viscosidad semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 30626 30626 0.93 0.390
Error 4 131870 32968
Total 5 162497
S = 181.6 R-cuad. = 18.85% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 87363 87363 3.74 0.125
Error 4 93424 23356
Total 5 180786
S = 152.8 R-cuad. = 48.32% R-cuad.(ajustado) = 35.40%
```

ANEXO 14 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS BACTERIAS PROBIÓTICAS EN EL YOGUR CON EL CULTIVO SELECCIONADADO

1. ANÁLISIS DE BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM BB-12

a. Análisis de BB-12 dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Bb12 Yogur Esencia vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	0.250	0.063	0.44	0.777
Error	10	1.421	0.142		
Total	14	1.671			
S = 0.3770 R-cuad. = 14	.97%	R-cua	ad.(aju	stado)	= 0.00%

ANOVA unidireccional: Bb12 Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	0.1728	0.0432	0.58	0.683
Error	10	0.7423	0.0742		
Total	14	0.9151			
S = 0.2725 R-cuad. = 18	.88%	R-cua	d.(ajust	ado) =	0.00%

b. Análisis de BB-12 dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 1 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogu	r 1	0.035	0.035	0.28	0.627	
Error	4	0.512	0.128			
Total	5	0.547				
S = 0.3576	R-cuad	. = 6.4	15% R-	cuad. (ajustado)	= 0.00%

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 2 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogu	1	0.0028	0.0028	0.06	0.819	
Error	4	0.1887	0.0472			
Total	5	0.1915				
S = 0.2172	R-cuad	. = 1.479	k R−cu	ad.(aj	ustado)	= 0.00%

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 3 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.079	0.079	0.59	0.484	
Error	4	0.535	0.134			
Total	5	0.614				
S = 0.3657	R-cuad.	= 12	.92%	R-cuad.	(ajustado)	= 0.00%

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 4 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.027	0.027	0.26	0.639	
Error	4	0.416	0.104			
Total	5	0.443				
S = 0.3226	R-cuad	. = 6.0	2% R-	cuad.(ajustado) = 0.00%

ANOVA unidireccional: Bb12 semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.016 0.016 0.13 0.741
Error 4 0.512 0.128
Total 5 0.528
S = 0.3578 R-cuad. = 3.03% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
```

2. ANÁLISIS DE LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS LA-5

a. Análisis de La-5 dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: LA-5 Yogur Esencia vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 0.1005 0.0251 1.64 0.240 Error 10 0.1535 0.0154 Total 14 0.2540 S = 0.1239 R-cuad. = 39.55% R-cuad. (ajustado) = 15.38%
```

ANOVA unidireccional: LA-5 Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	0.5464	0.1366	2.99	0.073
Error	10	0.4567	0.0457		
Total	14	1.0031			
S = 0.2137 R-cuad. = 54	1.47%	R-cua	d.(ajust	ado) =	36.26%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de almacenamiento N Media Agrupación 1 3 7.4400 A 2 3 7.2267 A B 3 7.1667 A B 4 3 7.0733 A B 5 3 6.8567 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b. Análisis de La-5 dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: LA5 semana 1 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P		
Tipo de yogu	1	0.0013	0.0013	0.04	0.850		
Error	4	0.1336	0.0334				
Total	5	0.1350					
S = 0.1828	R-cuad	. = 1.00%	R-cu	ad.(aj	ustado)	=	0.00%

ANOVA unidireccional: LA5 semana 2 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P			
Tipo de yogu	1	0.0600	0.0600	3.10	0.153			
Error	4	0.0773	0.0193					
Total	5	0.1373						
S = 0.1390	R-cuad	. = 43.6	9% R-c	uad.(a	iustado)	=	29.6	61%

ANOVA unidireccional: LA5 semana 3 vs. Tipo de yogur

Fuente GL SC CM F P

```
Tipo de yogur 1 0.1148 0.1148 4.42 0.103

Error 4 0.1039 0.0260

Total 5 0.2187

S = 0.1612 R-cuad. = 52.49% R-cuad.(ajustado) = 40.61%
```

ANOVA unidireccional: LA5 semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.1803 0.1803 10.20 0.033
Error 4 0.0707 0.0177
Total 5 0.2509
S = 0.1329 R-cuad. = 71.84% R-cuad. (ajustado) = 64.80%
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tipo de Yogur N Media Agrupación Esencia 3 7.4200 A Pulpa 3 7.0733 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: LA5 semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.2204 0.2204 3.92 0.119
Error 4 0.2247 0.0562
Total 5 0.4451
S = 0.2370 R-cuad. = 49.52% R-cuad.(ajustado) = 36.90%
```

ANEXO 15 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DEL YOGUR CON EL CULTIVO SELECCIONADO

1. ANÁLISIS DE LA SINÉRESIS (ASPECTO)

a. Análisis de la sinéresis dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Sinéresis Yogur esencia vs. Semana de almacenamiento

Error Total	enamiento 1	SL SC CM F P 4 0.18076 0.04519 12.77 0.001 .0 0.03540 0.00354 4 0.21616 62% R-cuad.(ajustado) = 77.07%
Agrupar informac	ción utiliza	ando el método de Tukey
Semana de		
almacenamiento	N Media	Agrupación
4	3 0.36667	A
5	3 0.14667	В
1	3 0.11000	В
2	3 0.10667	В
3	3 0.05000	В
Las medias que n	no comparter	una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Sinéresis Yogur Pulpa vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	0.006227	0.001557	2.57	0.103
Error	10	0.006067	0.000607		
Total	14	0.012293			
S = 0.02463 R-cuad. = 5	0.659	R-cuad	.(ajustado	= 30	.91%

b. Análisis de la sinéresis dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 1 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.001667	0.001667	2,50	0,189	
Error	4	0.002667	0.000667			
Total	5	0.004333				
S = 0.02582	R-cua	d. = 38.46%	R-cuad	.(aius	tado) =	23.08%

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 2 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.000150	0.000150	0.26	0.639	
Error	4	0.002333	0.000583			
Total	5	0.002483				
S = 0.02415	R-cuae	$d_{\cdot \cdot} = 6.04\%$	R-cuad.	(aiust	ado) =	0.00%

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 3 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tipo de yogur	1	0.002017	0.002017	2.20	0.212
Error	4	0.003667	0.000917		
Total	5	0.005683			

```
S = 0.03028 R-cuad. = 35.48% R-cuad. (ajustado) = 19.35%
```

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
                       SC
                                СМ
               GI.
             1 0.15682 0.15682 21.98 0.009
Tipo de yogur
Error
               4 0.02853 0.00713
Total
                5 0.18535
S = 0.08446 R-cuad. = 84.61% R-cuad.(ajustado) = 80.76%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
            Media Agrupación
        N
Esencia 3 0.36667 A
        3 0.04333 B
Pulpa
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Sinéresis semana 5 vs. Tipo de yogur

GI.

Fuente

Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.00327	0.00327	3.06	0.155	
Error	4	0.00427	0.00107			
Total	5	0.00753				
S = 0.03266	R-cua	d. = 43.3	6% R-cu	ad.(aj	ustado)	= 29.20%

2. ANÁLISIS DE LA VISCOSIDAD (ASPECTO)

a. Análisis de la viscosidad dependiendo del día de almacenamiento del yogur

F

CM

4 0.26016 0.06504 19.40 0.000

ANOVA unidireccional: Viscosidad Yogur esencia vs. Semana de almacenamiento

SC

```
10 0.03353 0.00335
Error
                         14 0.29369
Total
S = 0.05791 R-cuad. = 88.58% R-cuad.(ajustado) = 84.02%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
                  Media Agrupación
almacenamiento N
3
               3 4.40000 A
               3 4.37333 A
4
2
               3
                  4.35333
                          Α
1
                 4.33000
               3 4.04000
                          В
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 0.21013 0.05253 14.25 0.000 Error 10 0.03687 0.00369 Total 14 0.24700 S = 0.06072 \quad R-cuad. = 85.07\% \quad R-cuad. (ajustado) = 79.10\% Agrupar información utilizando el método de Tukey Semana \ de \ almacenamiento \ N \quad Media \quad Agrupación
```

```
3 3 4.46333 A
1 3 4.45667 A
2 3 4.44333 A
5 3 4.25667 B
4 3 4.18000 B
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b. Análisis de la viscosidad dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Viscosidad Asp. semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.02407 0.02407 6.22 0.067
Error 4 0.01547 0.00387
Total 5 0.03953
S = 0.06218 R-cuad. = 60.88% R-cuad. (ajustado) = 51.10%
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad Asp. semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.01215 0.01215 3.65 0.129
Error 4 0.01333 0.00333
Total 5 0.02548
S = 0.05774 R-cuad. = 47.68% R-cuad. (ajustado) = 34.60%
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad Asp. semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.00602 0.00602 2.84 0.167
Error 4 0.00847 0.00212
Total 5 0.01448
S = 0.04601 R-cuad. = 41.54% R-cuad. (ajustado) = 26.93%
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad Asp. semana 4 vs. Tipo de yogur

SC

```
1 0.05607 0.05607 8.35 0.045
Tipo de yogur
Error
                4 0.02687
                          0.00672
Total
                5 0.08293
S = 0.08196
                             R-cuad.(ajustado) = 59.51%
            R-cuad. = 67.60%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
        Ν
           Media Agrupación
Esencia 3 4.37333 A
        3 4.18000 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

CM

F

ANOVA unidireccional: Viscosidad Asp. semana 5 vs. Tipo de yogur

```
F
Fuente
               GL
                       SC
                                CM
               1 0.07042
                           0.07042 44.95 0.003
Tipo de vogur
Error
                4
                  0.00627
                           0.00157
                5 0.07668
Total
S = 0.03958 R-cuad. = 91.83% R-cuad.(ajustado) = 89.78%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
        Ν
            Media Agrupación
        3 4.25667 A
Pulpa
Esencia 3 4.04000 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

3. ANÁLISIS DE LA GRUMOSIDAD (ASPECTO)

a. Análisis de la grumosidad dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Grumosidad Asp. Yogur vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 0.0155 0.0039 0.38 0.821 Error 10 0.1029 0.0103 Total 14 0.1183 S = 0.1014 R-cuad. = 13.07% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad Asp. Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente
                        GI.
                                 SC
                                          CM
                                                 F
                         4 1.75617
                                             79.83 0.000
Semana de almacenamiento
                                    0.43904
Error
                        10 0.05500
                                    0.00550
                        14 1.81117
Total
S = 0.07416 R-cuad. = 96.96% R-cuad.(ajustado) = 95.75%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
almacenamiento N Media Agrupación
               3 1.0533 A
               3 0.5133 B
5
3
               3
                 0.2567
               3 0.1900
                             С
1
               3 0.1100
                             С
2
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

b. Análisis de la grumosidad dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Grumosidad Asp. semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.0024 0.0024 0.13 0.736
Error 4 0.0736 0.0184
Total 5 0.0760
S = 0.1356 R-cuad. = 3.16% R-cuad. (ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad Asp. semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.00540 0.00540 2.04 0.227
Error 4 0.01060 0.00265
Total 5 0.01600
S = 0.05148 R-cuad. = 33.75% R-cuad.(ajustado) = 17.19%
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad Asp. semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.01707 0.01707 14.63 0.019
Error 4 0.00467 0.00117
Total 5 0.02173
S = 0.03416 R-cuad. = 78.53% R-cuad. (ajustado) = 73.16%
```

```
Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tipo de

Yogur N Media Agrupación

Pulpa 3 0.25667 A

Esencia 3 0.15000 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad Asp. semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
               GI.
                       SC
                                CM
               1 1.04167 1.04167 149.52 0.000
Tipo de yogur
               4 0.02787 0.00697
Error
Total
                5 1.06953
S = 0.08347 R-cuad. = 97.39% R-cuad. (ajustado) = 96.74%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
        N
          Media Agrupación
Pulpa
        3 1.0533 A
Esencia 3 0.2200 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad Asp. semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
               GL
                       SC
                1 0.1837 0.1837 17.87 0.013
Tipo de yogur
Error
                 4 0.0411
                           0.0103
Total
                5 0.2249
S = 0.1014 R-cuad. = 81.71% R-cuad.(ajustado) = 77.14%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur N
           Media Agrupación
Pulpa 3 0.5133 A
Esencia 3 0.1633
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

4. ANÁLISIS DE LA TONALIDAD (ASPECTO)

a. Análisis de la tonalidad dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Tonalidad Yogur esencia vs. Semana de almacenamiento

```
GL
                                SC
                                         CM
                                               F
                        4 0.03843 0.00961 4.35 0.027
Semana de almacenamiento
                        10 0.02207 0.00221
Error
Total
                        14 0.06049
S = 0.04698 R-cuad. = 63.52% R-cuad. (ajustado) = 48.93%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
almacenamiento N
                  Media Agrupación
              3 4.50000 A
               3
                 4.49000 A
4
              3
                 4.46000
                         АВ
1
              3 4.42667 A B
              3 4.36000
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Tonalidad Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente
                        GL
                                                 F
                                 SC
                                           CM
                         4 0.006173 0.001543 5.51 0.013
Semana de almacenamiento
                        10 0.002800 0.000280
Total
                        14 0.008973
S = 0.01673 R-cuad. = 68.80% R-cuad.(ajustado) = 56.32%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
almacenamiento N
                  Media Agrupación
               3 4.51000 A
               3 4.48667 A B
               3
                 4.48333 A B
               3
1
                 4.46000
               3 4.45333
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

b. Análisis de la tonalidad dependiendo del tipo de vogur

ANOVA unidireccional: Tonalidad semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0.00167 0.00167 0.31 0.605 Error 4 0.02127 0.00532 Total 5 0.02293 S = 0.07292 \quad R-cuad. = 7.27\% \quad R-cuad. (ajustado) = 0.00\%
```

ANOVA unidireccional: Tonalidad semana 2 vs. Tipo de yogur

```
SC
            1 0.022817 0.022817 195.57 0.000
Tipo de yogur
               4 0.000467 0.000117
Error
               5 0.023283
S = 0.01080 R-cuad. = 98.00%
                             R-cuad.(ajustado) = 97.49%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
       N
           Media Agrupación
      3 4.48333 A
Pulpa
Esencia 3 4.36000 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Tonalidad semana 3 vs. Tipo de yogur

```
SC
Fuente
              GL
                                 CM
             1 0.002017 0.002017 12.10 0.025
               4 0.000667 0.000167
Error
                5 0.002683
S = 0.01291 R-cuad. = 75.16% R-cuad.(ajustado) = 68.94%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
        Ν
            Media Agrupación
Yogur
Esencia 3 4.49000 A
       3 4.45333 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Tonalidad semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.003750 0.003750 7.50 0.052
Error 4 0.002000 0.000500
Total 5 0.005750
S = 0.02236 R-cuad. = 65.22% R-cuad.(ajustado) = 56.52%
```

ANOVA unidireccional: Tonalidad semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.000267 0.000267 2.29 0.205
Error 4 0.000467 0.000117
Total 5 0.000733
S = 0.01080 R-cuad. = 36.36% R-cuad.(ajustado) = 20.45%
```

5. ANÁLISIS DE LA ASTRINGENCIA (SABOR Y AROMA)

a. Análisis de la astringencia dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Astringencia Yogur esencia vs. Semana de almacenamiento

```
SC
                                                  F
                         GI.
                                          CM
Semana de almacenamiento
                         4 2.28289 0.57072 166.88 0.000
                         10 0.03420
Error
                                     0.00342
Total
                         14 2.31709
S = 0.05848 R-cuad. = 98.52% R-cuad.(ajustado) = 97.93%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
almacenamiento N
                  Media Agrupación
               3 4.3300 A
2
1
               3 4.2933 A
3
               3 3.8767
5
               3 3.5533
4
               3 3.3500
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Astringencia Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 4.81429 1.20357 452.47 0.000 Error 10 0.02660 0.00266 Total 14 4.84089 S = 0.05158 R-cuad. = 99.45% R-cuad. (ajustado) = 99.23%
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey

```
Semana de
almacenamiento N
                 Media Agrupación
2
              3 4.3833 A
1
              3 4.2100
                         В
3
               3 3.8567
                            С
              3 3.3567
4
                              D
              3 2.8400
5
```

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b. Análisis de la astringencia dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Astringencia semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0.01042 0.01042 2.39 0.197 Error 4 0.01747 0.00437 Total 5 0.02788 S = 0.06608 \quad R-cuad. = 37.36\% \quad R-cuad. (ajustado) = 21.70\%
```

ANOVA unidireccional: Astringencia semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.00427 0.00427 1.66 0.267
Error 4 0.01027 0.00257
Total 5 0.01453
S = 0.05066 R-cuad. = 29.36% R-cuad. (ajustado) = 11.70%
```

ANOVA unidireccional: Astringencia semana 3 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.00060	0.00060	0.10	0.770	
Error	4	0.02453	0.00613			
Total	5	0.02513				
S = 0.07832	R-cua	d. = 2.399	R-cua	d.(aju	stado) =	= 0.00%

ANOVA unidireccional: Astringencia semana 4 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.00007	0.00007	0.05	0.826	
Error	4	0.00487	0.00122			
Total	5	0.00493				
S = 0.03488	R-cuad	d. = 1.35%	R-cua	d.(aju	stado)	= 0.00%

ANOVA unidireccional: Astringencia semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente
               GL
                         SC
                                   CM
                                            F
                1 0.763267 0.763267 832.65 0.000
Tipo de yogur
Error
                4 0.003667 0.000917
                5 0.766933
S = 0.03028 R-cuad. = 99.52% R-cuad.(ajustado) = 99.40%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur N
            Media Agrupación
Esencia 3 3.55333 A
Pulpa 3 2.84000
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

6. ANÁLISIS DE LA ACIDEZ (SABOR Y AROMA)

a. Análisis de la acidez dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Acidez Yogur esencia vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P
Semana de almacenamiento 4 0.69983 0.17496 32.72 0.000
Error 10 0.05347 0.00535
Total 14 0.75329
S = 0.07312 R-cuad. = 92.90% R-cuad.(ajustado) = 90.06%
```

```
Agrupar información utilizando el método de Tukey
```

```
Semana de
almacenamiento N
                  Media Agrupación
               3 4.37333 A
3
               3 4.36000 A
1
               3 4.27333 A
                          В-
5
               3
                 3.94333
               3 3.86333
4
                            В
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Acidez Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente
                         GL
                                  SC
                                          CM
                                                  F
                         4 0.64197
                                     0.16049
                                              72.29 0.000
Semana de almacenamiento
Error
                         10 0.02220
                                     0.00222
                         14 0.66417
Total
S = 0.04712 R-cuad. = 96.66% R-cuad.(ajustado) = 95.32%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
almacenamiento N
                  Media Agrupación
3
               3 4.38000 A
2
               3 4.32667 A B
1
               3
                  4.22000
5
                              С
               3 3.90667
               3 3.89333
                              С
4
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

b. Análisis de la acidez dependiendo del tipo de vogur

ANOVA unidireccional: Acidez semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.00427 0.00427 0.52 0.512
Error 4 0.03307 0.00827
Total 5 0.03733
S = 0.09092 R-cuad. = 11.43% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.00327 0.00327 0.72 0.444
Error 4 0.01813 0.00453
Total 5 0.02140
S = 0.06733 R-cuad. = 15.26% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.00060 0.00060 0.19 0.683
Error 4 0.01240 0.00310
Total 5 0.01300
S = 0.05568 R-cuad. = 4.62% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,001350 0,001350 1,37 0,306
Error 4 0,003933 0,000983
Total 5 0,005283
S = 0,03136 R-cuad. = 25,55% R-cuad.(ajustado) = 6,94%
```

ANOVA unidireccional: Acidez semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.00202 0.00202 0.99 0.376
Error 4 0.00813 0.00203
Total 5 0.01015
S = 0.04509 R-cuad. = 19.87% R-cuad. (ajustado) = 0.00%
```

7. ANÁLISIS DEL AMARGOR (SABOR Y AROMA)

a. Análisis del amargor dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Amargor Yogur esencia vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente
                        GL
                                  SC
                                           CM
                                                  F
                        4 0.017773
                                      0.004443 6.17 0.009
Semana de almacenamiento
Error
                        10 0.007200
                                      0.000720
                        14 0.024973
Total
S = 0.02683 R-cuad. = 71.17% R-cuad. (ajustado) = 59.64%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
                  Media Agrupación
almacenamiento N
3
               3 0.15667 A
               3 0.11000 A B
4
2
               3
                 0.10667 A B
1
               3 0.08000
                           В
5
               3 0.05333
                            В
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Amargor Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 0.002427 0.000607 2.12 0.153 Error 10 0.002867 0.000287 Total 14 0.005293 S = 0.01693 R-cuad. = 45.84% R-cuad. (ajustado) = 24.18%
```

b. Análisis del amargor dependiendo del tipo de vogur

ANOVA unidireccional: Amargor semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.000150 0.000150 1.50 0.288
Error 4 0.000400 0.000100
Total 5 0.000550
S = 0.01 R-cuad. = 27.27% R-cuad.(ajustado) = 9.09%
```

ANOVA unidireccional: Amargor semana 2 vs. Tipo de vogur

```
Fuente
              GL
                        SC
                                        F
                                 CM
               1 0.002017 0.002017 12.10 0.025
Tipo de yogur
               4 0.000667 0.000167
Error
Total
               5 0.002683
S = 0.01291 R-cuad. = 75.16% R-cuad. (ajustado) = 68.94%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur N
          Media Agrupación
```

```
Esencia 3 0.10667 A Pulpa 3 0.07000 B Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Amargor semana 3 vs. Tipo de yogur

```
SC
                                 CM
                                        F
Fuente
               GL
                                     33.03 0.005
               1 0.017067 0.017067
Tipo de yogur
Error
                4
                  0.002067 0.000517
                5 0.019133
Total
S = 0.02273 R-cuad. = 89.20%
                             R-cuad.(ajustado) = 86.50%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur
        N
           Media Agrupación
Esencia 3 0.15667 A
Pulpa 3 0.05000 B
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Amargor semana 4 vs. Tipo de yogur

Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Tipo de yogur	1	0.00060	0.00060	0.50	0.519	
Error	4	0.00480	0.00120			
Total	5	0.00540				
S = 0.03464	R-cua	d. = 11.1	1% R-cu	ad.(ai	ustado)	= 0.00%

ANOVA unidireccional: Amargor semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0.000267 0.000267 0.50 0.519
Error 4 0.002133 0.000533
Total 5 0.002400
S = 0.02309 R-cuad. = 11.11% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
```

8. ANÁLISIS DEL REGUSTO (SABOR Y AROMA)

a. Análisis del regusto dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Regusto Yogur esencia vs. Semana de almacenamiento

```
F
Fuente
                         GI.
                                 SC
                                          CM
                                                       Р
                         4 0.00611
                                     0.00153
                                              0.48 0.749
Semana de almacenamiento
                         10 0.03167
Error
                                     0.00317
Total
                         14 0.03777
S = 0.05627 R-cuad. = 16.17% R-cuad. (ajustado) = 0.00%
```

ANOVA unidireccional: Regusto Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
GL
                                SC
                                         CM
Semana de almacenamiento
                        4 0,07389 0,01847 10,74 0,001
                        10 0,01720 0,00172
Error
Total
                        14 0,09109
S = 0,04147 R-cuad. = 81,12% R-cuad. (ajustado) = 73,57%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
almacenamiento N
                  Media Agrupación
               3 0,30000 A
5
               3 0,21333 AB
```

```
1 \\ 3 \\ 0,15000 \\ B \\ 2 \\ 3 \\ 0,10667 \\ B \\ Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

b. Análisis del regusto dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Regusto semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00375 0,00375 0,47 0,532
Error 4 0,03220 0,00805
Total 5 0,03595
S = 0,08972 R-cuad. = 10,43% R-cuad.(ajustado) = 0,00%
```

ANOVA unidireccional: Regusto semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,005400 0,005400 5,79 0,074
Error 4 0,003733 0,000933
Total 5 0,009133
S = 0,03055 R-cuad. = 59,12% R-cuad. (ajustado) = 48,91%
```

ANOVA unidireccional: Regusto semana 3 vs. Tipo de yogur

```
GL
                       SC
                                CM
                                       F
              1 0,006667 0,006667 36,36 0,004
Tipo de yogur
               4 0,000733 0,000183
              5 0,007400
Total
S = 0.01354 R-cuad. = 90.09% R-cuad. (ajustado) = 87.61%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
Yogur N
           Media Agrupación
Esencia 3 0,19333 A
        3 0,12667
Pulpa
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Regusto semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,002400 0,002400 2,44 0,193
Error 4 0,003933 0,000983
Total 5 0,006333
S = 0,03136 R-cuad. = 37,89% R-cuad.(ajustado) = 22,37%
```

ANOVA unidireccional: Regusto semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00882 0,00882 4,27 0,108
Error 4 0,00827 0,00207
Total 5 0,01708
S = 0,04546 R-cuad. = 51,61% R-cuad. (ajustado) = 39,51%
```

9. ANÁLISIS DE LA VISCOSIDAD (CUERPO Y TEXTURA)

a. Análisis de la viscosidad dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Viscosidad C.T Yogur es vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 0,14029 0,03507 9,48 0,002 Error 10 0,03700 0,00370 Total 14 0,17729 S = 0,06083 R-cuad. = 79,13% R-cuad. (ajustado) = 70,78%
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey

 Semana de

 almacenamiento
 N
 Media
 Agrupación

 3
 4,45000
 A

 1
 3
 4,42333
 A

 2
 3
 4,39000
 A

 4
 3
 4,34667
 A

 5
 3
 4,17667
 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Viscosidad C.T Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Semana de almacenamiento	4	0,16364	0,04091	8,93	0,002
Error	10	0,04580	0,00458		
Total	14	0,20944			
S = 0.06768 R-cuad. = 7	78.139	% R−cua	d.(aiusta	.do) =	69,39%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semana de
almacenamiento N Media Agrupación
1 3 4,47000 A
3 4,42667 A
4 3 4,42000 A
2 3 4,41667 A
5 3 4,17667 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b. Análisis de la viscosidad dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Viscosidad CT semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00327 0,00327 0,43 0,547
Error 4 0,03027 0,00757
Total 5 0,03353
S = 0,08699 R-cuad. = 9,74% R-cuad.(ajustado) = 0,00%
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad CT semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00107 0,00107 0,44 0,543
Error 4 0,00967 0,00242
Total 5 0,01073
S = 0,04916 R-cuad. = 9,94% R-cuad.(ajustado) = 0,00%
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad CT semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00082 0,00082 0,18 0,694
Error 4 0,01827 0,00457
Total 5 0,01908
S = 0,06758 R-cuad. = 4,28% R-cuad.(ajustado) = 0,00%
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad CT semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00807 0,00807 3,90 0,119
Error 4 0,00827 0,00207
Total 5 0,01633
S = 0,04546 R-cuad. = 49,39% R-cuad.(ajustado) = 36,73%
```

ANOVA unidireccional: Viscosidad CT semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00000 0,00000 0,00 1,000

Error 4 0,01633 0,00408

Total 5 0,01633

S = 0,06390 R-cuad. = 0,00% R-cuad. (ajustado) = 0,00%
```

10. ANÁLISIS DE LA GRUMOSIDAD (CUERPO Y TEXTURA)

a. Análisis de la grumosidad dependiendo del día de almacenamiento del yogur

ANOVA unidireccional: Grumosidad C.T Yogur es vs. Semana de almacenamiento

```
F
Fuente
                        GI.
                                 SC
                                          CM
Semana de almacenamiento
                         4 0,03157 0,00789 3,86 0,038
Error
                         10 0,02047
                                     0,00205
Total
                        14 0,05204
S = 0,04524 R-cuad. = 60,67% R-cuad.(ajustado) = 44,94%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Semana de
                  Media Agrupación
almacenamiento N
               3 0,19333 A
               3 0,16667 A
2
                  0,14000 A
4
               3
5
               3
                  0,08667
                          Α
               3 0,07333 A
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad C.T Yogur pulpa vs. Semana de almacenamiento

```
Fuente GL SC CM F P Semana de almacenamiento 4 0,00297 0,00074 0,63 0,654 Error 10 0,01187 0,00119 Total 14 0,01484 S = 0,03445 R-cuad. = 20,04% R-cuad. (ajustado) = 0,00%
```

b. Análisis de la grumosidad dependiendo del tipo de yogur

ANOVA unidireccional: Grumosidad semana 1 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,007350 0,007350 16,96 0,015
Error 4 0,001733 0,000433
Total 5 0,009083
S = 0,02082 R-cuad. = 80,92% R-cuad.(ajustado) = 76,15%
Agrupar información utilizando el método de Tukey
Tipo de
```

Yogur N Media Agrupación Esencia 3 0,19333 A Pulpa 3 0,12333 B Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Grumosidad semana 2 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00482 0,00482 1,31 0,316
Error 4 0,01467 0,00367
Total 5 0,01948
S = 0,06055 R-cuad. = 24,72% R-cuad.(ajustado) = 5,90%
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad semana 3 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,00167 0,00167 1,25 0,326
Error 4 0,00533 0,00133
Total 5 0,00700
S = 0,03651 R-cuad. = 23,81% R-cuad.(ajustado) = 4,76%
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad semana 4 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P
Tipo de yogur 1 0,001667 0,001667 1,92 0,238
Error 4 0,003467 0,000867
Total 5 0,005133
S = 0,02944 R-cuad. = 32,47% R-cuad.(ajustado) = 15,58%
```

ANOVA unidireccional: Grumosidad semana 5 vs. Tipo de yogur

```
Fuente GL SC CM F P Tipo de yogur 1 0,00482 0,00482 2,70 0,176 Error 4 0,00713 0,00178 Total 5 0,01195 S = 0,04223 \quad R-cuad. = 40,31\% \quad R-cuad. (ajustado) = 25,38\%
```