



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Proyecto de la Unidad
Integración Curricular
previo a la obtención
del Título de Ingeniera
en Alimentos

Tema de la Unidad Integradora Curricular:

“EFECTO DEL USO DE *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium s. p.* Y PECTINA
CÍTRICA EN EL PROCESO FERMENTATIVO Y ATRIBUTOS SENSORIALES DE
UNA BEBIDA LÁCTEA SIMBIÓTICA”

Autora:

Génesis Valeria Quishpe Loor

Directora del Proyecto:

Ing. María Teresa Pacheco Tigselema, PhD.

MOCACHE – LOS RÍOS – ECUADOR

2022



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Génesis Valeria Quishpe Loor**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

.....
Génesis Valeria Quishpe Loor
C.C.: 1311065922



CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

La suscrita, **Ing. María Teresa Pacheco Tigselema, PhD.**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en calidad de Directora del Trabajo de Titulación titulado “**EFFECTO DEL USO DE *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium s. p.* Y PECTINA CÍTRICA EN EL PROCESO FERMENTATIVO Y ATRIBUTOS SENSORIALES DE UNA BEBIDA LÁCTEA SIMBIÓTICA**”, **CERTIFICA** que la estudiante **Génesis Valeria Quishpe Loor**, ejecutó dicha investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera en Alimentos, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....
Ing. María Teresa Pacheco Tigselema, PhD.
C.C.: 0502635188
Docente Tutora



CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

Dando cumplimiento al Reglamento de la Unidad de Titulación Especial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), a la normativa y directrices establecidas por la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT), la suscrita, **Ing. María Teresa Pacheco Tigselema, PhD.**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en calidad de Directora del Trabajo de Titulación: “**EFFECTO DEL USO DE *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium s. p.* Y PECTINA CÍTRICA EN EL PROCESO FERMENTATIVO Y ATRIBUTOS SENSORIALES DE UNA BEBIDA LÁCTEA SIMBIÓTICA**”, desarrollado por la Srta. estudiante **Génesis Valeria Quispe Loor**, certifica que el porcentaje de similitud reportado por el Sistema URKUND es de 4% cumpliendo de esta manera con el requerimiento establecido.



Document Information

Analyzed document	2022-01-20 Tesis_Quispe G. CAMBIOS ACEPTADOS.docx (D126997797)
Submitted	2022-02-04T01:14:00.0000000
Submitted by	MARIA TERESA PACHECO TIGSELEMA
Submitter email	mpachecot@uteq.edu.ec
Similarity	4%
Analysis address	mpachecot.uteq@analysis.arkund.com

.....
Ing. María Teresa Pacheco Tigselema, PhD.
C.C.: 0502635188
Docente Tutora



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Tema:

**“EFECTO DEL USO DE *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium s. p.* Y
PECTINA CÍTRICA EN EL PROCESO FERMENTATIVO Y ATRIBUTOS
SENSORIALES DE UNA BEBIDA LÁCTEA SIMBIÓTICA”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del Título
Ingeniera en Alimentos.

Aprobado por:

.....
Ing. Jaime Fabián Vera Chang. M.Sc.
PRESIDENTE DE TRIBUNAL

.....
Ing. Carol Daniela Coello Loor. M.Sc.
MIEMBRO DE TRIBUNAL

.....
Ing. Rossy Lisbeth Rodriguez Castro. M.Sc.
MIEMBRO DE TRIBUNAL

MOCACHE- LOS RÍOS- ECUADOR

2022

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidades, por saber brindarme una vida llena de aprendizaje y experiencia; a mis padres José y Carmen que con su apoyo me supieron guiar en el camino del bien, y por apoyarme en todo momento de mi vida; a mi hermana Alejandra y a mis sobrinos Ximena y Xavier por ser parte importante de mi vida. A mi esposo Luiggi Mendoza por estar en todo momento de mi camino universitario, gracias por tu apoyo.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo por abrirme las puertas para poder realizar mis estudios y formarme como una gran profesional. Le agradezco la confianza, el apoyo y dedicación de tiempo a mi Tutora de Proyecto de Investigación Ing. María Teresa Pacheco Tigselema, PhD. por haber compartido su experiencia, conocimientos, y sobre todo su linda amistad.

Génesis Valeria Quishpe Loor

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación se lo dedico con mucho amor a mis padres José Quishpe y Carmen Loor, que siempre estuvieron conmigo en mis momentos más difíciles, guiándome por el mejor camino. A mi esposo Luiggi Mendoza, compañero de clase y vida ... ¡Gracias por las cosas que has hecho por mí y por tu apoyo incondicional!

A mi hermana Alejandra y mis sobrinos Ximena y Xavier, por apoyarme, espero ser un ejemplo para ustedes.

Y como no, a mi tutora, Dra. María T. Pacheco, por contagiarnos de su amor a la ciencia, a la investigación, y ser fuente de inspiración para seguir adelante.

Genesis Valeria Quishpe Loor

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del uso de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*, y de pectina cítrica, sobre el proceso fermentativo y las características sensoriales de una nueva bebida láctea simbiótica. Para su elaboración se empleó leche fresca entera de vaca, con y sin adición de pectina cítrica (0,34 %); seguidamente, la leche fue debidamente pasteurizada e inoculada con dos tipos de cultivos, a la temperatura de crecimiento óptimo: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* a 44°C, y *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* a 37 °C. Ambos cultivos fueron añadidos por separado a dosis de 0,006 % o 0,012 %; obteniendo un total de 8 tratamientos (T1 a T8). Los °Brix, pH y acidez de las bebidas elaboradas, fueron analizados durante la incubación (hasta alcanzar pH de 4,2 a 4,5) y el almacenamiento (30 días), y el análisis sensorial se realizó al inicio y al final de los 30 días. El análisis ANOVA (95 %) mostró efecto significativo del uso de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica, sobre los indicadores de fermentación y características organolépticas de la bebida. La prueba de Tukey ($p < 0,05$) mostró diferencia significativa entre las propiedades fisicoquímicas y los atributos sensoriales de las bebidas elaboradas con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* frente a las elaboradas con *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* Las bebidas elaboradas con el cultivo convencional (*L. bulgaricus* y *S. thermophilus*), necesitaron menor tiempo de incubación y alcanzaron mayores porcentajes de acidez al final del almacenamiento, en comparación con las bebidas elaboradas con *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* Mayores dosis de cultivos permitieron observar mejores resultados tecnológicos y sensoriales, y la adición de pectina, al parecer aceleró la fermentación lograda con *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*

Palabras clave: Bebida láctea, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium*, pectina cítrica, simbiosis, propiedades sensoriales.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of *L. rhamnosus* and *Bifidobacterium* s. p., and citrus pectin, on the fermentation process and the sensory characteristics of a new symbiotic milk drink. Fresh whole cow's milk was used, with and without the addition of citrus pectin (0.34 %); then, the milk was properly pasteurized and inoculated with two types of cultures, at the optimal growth temperature: *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* at 44 °C, and *L. rhamnosus* and *Bifidobacterium* s. p. at 37 °C. Both cultures were added separately at 0.006 % or 0.012 %; obtaining a total of 8 treatments (T1 to T8). The °Brix, pH and acidity of the beverages were analyzed during the incubation (until pH of 4.2 to 4.5) and storage (30 days), and sensorial analysis was carried out at the beginning and at the end of the 30 days. ANOVA analysis (95%) showed a significant effect of *L. rhamnosus* and *Bifidobacterium* s. p., and citrus pectin, on fermentation indicators and organoleptic characteristics of the drink. Tukey's test ($p < 0.05$) showed a significant difference between the physicochemical properties and sensory attributes of beverages produced with *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* compared to those fermented with *L. rhamnosus* and *Bifidobacterium* s. p. Beverages with conventional culture (*L. bulgaricus* and *S. thermophilus*), required less incubation time and reached higher percentages of acidity at the end of storage, compared with the drinks fermented with *L. rhamnosus* and *Bifidobacterium* s. p. Higher doses of cultures allowed us to observe better technological and sensory results, and the addition of pectin apparently accelerated the fermentation achieved with *L. rhamnosus* and *Bifidobacterium* s. p.

Keywords: Milk drink, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium*, citrus pectin, symbiosis, sensory properties.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción.....	1
CAPÍTULO I.....	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1 El Problema.....	4
El problema de la investigación.	4
Diagnóstico.....	6
Pronóstico.....	6
Formulación del problema	6
Sistematización del problema.....	6
1.2 Objetivos.....	7
Objetivo general	7
Objetivos específicos.....	7
1.3 Hipótesis	8
Hipótesis nula.....	8
Hipótesis alternativa.....	8
1.4 Justificación	8
CAPÍTULO II.....	11
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	11
2.1 Marco Conceptual.....	12
2.2 Marco referencial.....	12
Leche fermentada	12
Ingredientes permitidos.....	13
Denominación del alimento	14
Tipos de yogur.....	15
Consideraciones importantes durante la elaboración y conservación del yogur	16
Defectos frecuentes observados en el yogur	22
Factores que afectan la calidad de los yogures	23
Productos fermentados, microorganismos beneficiosos y mecanismo de acción ...	23
Prebióticos.....	26

Tipos de prebióticos	27
Estructura de la pectina	27
2.3 Marco legal	28
Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos del yogur	28
CAPÍTULO III	29
MÉTODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	29
3.1 Localización.....	30
3.2 Tipos de investigación.	30
Exploratoria.....	30
Documental.	30
3.3 Método de investigación.....	30
Método inductivo-deductivo.	30
Método estadístico.....	31
3.4 Fuentes de recopilación.....	31
3.5 Diseño de la investigación.	31
Diseño experimental – Modelo matemático.....	31
Factores y niveles en estudio. Tratamientos. Diagrama de flujo.	32
3.6 Mediciones y análisis.....	34
3.7 Recursos humanos y materiales	35
3.8 Reactivos.....	36
3.9 Instrumentos y equipos	36
CAPITULO IV	37
RESULTADOS Y DISCUSIONES	37
4.1 Efecto general del uso de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium s. p.</i> y pectina cítrica sobre las características físico químicas y sensoriales de la bebida láctea fermentada.....	38
4.2 Efecto del uso de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium s. p.</i> y pectina cítrica en el proceso fermentativo durante la incubación y almacenamiento de la bebida.....	42
Efecto fisicoquímico observado durante la incubación.....	42
Efecto fisicoquímico observado durante el almacenamiento	46

Efecto sensorial observado al inicio y al final del almacenamiento	50
4.3 Selección del mejor tratamiento.....	56
CAPITULO V.....	58
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
Conclusiones	59
Recomendaciones	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS	68

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. <i>Diagrama de Ishikawa elaborado para el análisis de causa-efecto del problema considerado en este estudio.</i>	5
Gráfico 2. <i>Comportamiento beneficioso de los microorganismos probióticos.</i>	24
Gráfico 3. <i>Estructura química de la pectina.</i>	28
Gráfico 4. <i>Proceso de elaboración de la bebida láctea fermentada.</i>	33
Gráfico 5. <i>Variación del pH durante la incubación.</i>	43
Gráfico 6. <i>Variación del contenido de sólidos solubles durante la incubación.</i>	44
Gráfico 7. <i>Variación de la acidez titulable durante la incubación.</i>	45
Gráfico 8. <i>Variación del pH durante el almacenamiento.</i>	47
Gráfico 9. <i>Variación del contenido de sólidos solubles durante el almacenamiento.</i> ..	48
Gráfico 10. <i>Variación de la acidez titulable durante el almacenamiento.</i>	49
Gráfico 11. <i>Valoración del color de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.</i>	50
Gráfico 12. <i>Valoración del olor de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.</i>	51
Gráfico 13. <i>Valoración del sabor de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.</i>	52
Gráfico 14. <i>Valoración de la consistencia de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.</i>	53
Gráfico 15. <i>Calidad de la textura (superficie) de la bebida percibida por los catadores.</i>	54
Gráfico 16. <i>Aceptabilidad general de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.</i>	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cultivos usualmente empleados en la elaboración de leches fermentadas.....	13
Tabla 2. Composición de bebidas lácteas fermentadas.	14
Tabla 3 Requisitos fisicoquímicos del yogur.....	28
Tabla 4 Esquema del ANDEVA.....	31
Tabla 5. Tratamientos a aplicar en el desarrollo de la bebida fermentada láctea.	35
Tabla 6 Promedios en las características físico química	39
Tabla 7 Promedio en las características sensoriales	41
Tabla 8. <i>Tiempo de incubación, acidez final y aceptabilidad de la bebida.</i>	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza para los resultados de pH.....	69
Anexo 2. Análisis de varianza para los resultados de °Brix	69
Anexo 3. Análisis de varianza de un factor para los resultados de Acidez.....	69
Anexo 4. Análisis de varianza para los resultados de color.....	70
Anexo 5. Análisis de varianza para los resultados de olor.....	70
Anexo 6. Análisis de varianza para los resultados de sabor.....	71
Anexo 7. Análisis de varianza para los resultados de textura (superficie).....	71
Anexo 8. Análisis de varianza para los resultados de consistencia.....	72
Anexo 9. Análisis de varianza para los resultados de aceptabilidad.....	72
Anexo N° 10. Formato de la ficha de cata empleada para el análisis sensorial.....	74
Anexo N° 11. Fotografías tomadas durante la elaboración y el análisis de la bebida láctea fermentada.....	76
Anexo N° 12. Fotografías tomadas durante el análisis sensorial de la bebida láctea fermentada.....	79

CÓDIGO DUBLÍN

Título	“EFECTO DEL USO DE <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium s. p.</i> Y PECTINA CÍTRICA EN EL PROCESO FERMENTATIVO Y ATRIBUTOS SENSORIALES DE UNA BEBIDA LÁCTEA SIMBIÓTICA”
Autora	Génesis Valeria Quishpe Loor
Palabras clave	Bebida láctea, <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , pectina cítrica, simbiosis, propiedades sensoriales.
Editorial	Equipo de Trabajo (docente-estudiante) - UTEQ, 2022.
Resumen	<p>Resumen. - El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del uso de <i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i>, y de pectina cítrica, sobre el proceso fermentativo y las características sensoriales de una nueva bebida láctea simbiótica. Para su elaboración se empleó leche fresca entera de vaca, con y sin adición de pectina cítrica (0,34 %); seguidamente, la leche fue debidamente pasteurizada e inoculada con dos tipos de cultivos, a la temperatura de crecimiento óptimo: <i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i> a 44°C, y <i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i> a 37 °C. Ambos cultivos fueron añadidos por separado a dosis de 0,006 % o 0,012 %; obteniendo un total de 8 tratamientos (T1 a T8). Los °Brix, pH y acidez de las bebidas elaboradas, fueron analizados durante la incubación (hasta alcanzar pH de 4,2 a 4,5) y el almacenamiento (30 días), y el análisis sensorial se realizó al inicio y al final de los 30 días. El análisis ANOVA (95 %) mostró efecto significativo del uso de <i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i> y pectina cítrica, sobre los indicadores de fermentación y características organolépticas de la bebida. La prueba de Tukey ($p < 0,05$) mostró diferencia significativa entre las propiedades fisicoquímicas y los atributos sensoriales de las bebidas elaboradas con <i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i> frente a las elaboradas con <i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i> Las bebidas elaboradas con el cultivo convencional (<i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i>), necesitaron menor tiempo de incubación y alcanzaron mayores porcentajes de acidez al final del almacenamiento, en comparación con las bebidas elaboradas con <i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i> Mayores dosis de cultivos permitieron observar mejores resultados tecnológicos y sensoriales, y la adición de pectina, al parecer aceleró la fermentación lograda con <i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i></p> <p>Abstract. - The aim of this study was to determine the effect of <i>L. rhamnosus</i> and <i>Bifidobacterium s. p.</i>, and citrus pectin, on the fermentation process and the sensory characteristics of a new symbiotic milk drink. Fresh whole cow's milk was used, with and without the addition of citrus pectin (0.34 %); then, the milk was properly pasteurized and inoculated with two types of cultures, at the optimal growth temperature: <i>L. bulgaricus</i> and <i>S. thermophilus</i> at 44 °C, and <i>L. rhamnosus</i> and <i>Bifidobacterium s. p.</i> at 37 °C. Both cultures were added separately at 0.006 % or 0.012 %; obtaining a total of 8 treatments (T1 to T8). The °Brix, pH and acidity of the beverages were analyzed during the incubation (until pH of 4.2 to 4.5) and storage (30 days), and sensorial analysis was carried out at the beginning and at the end of the 30 days. ANOVA analysis (95%) showed a significant effect of <i>L. rhamnosus</i> and <i>Bifidobacterium s. p.</i>, and citrus pectin, on fermentation indicators and organoleptic characteristics of the drink. Tukey's test ($p < 0.05$) showed a significant difference between the physicochemical properties and sensory attributes of beverages produced with</p>

	<p><i>L. bulgaricus</i> and <i>S. thermophilus</i> compared to those fermented with <i>L. rhamnosus</i> and <i>Bifidobacterium</i> s. p. Beverages with conventional culture (<i>L. bulgaricus</i> and <i>S. thermophilus</i>), required less incubation time and reached higher percentages of acidity at the end of storage, compared with the drinks fermented with <i>L. rhamnosus</i> and <i>Bifidobacterium</i> s. p. Higher doses of cultures allowed us to observe better technological and sensory results, and the addition of pectin apparently accelerated the fermentation achieved with <i>L. rhamnosus</i> and <i>Bifidobacterium</i> s. p.</p>
Descripción	97 páginas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM.
URL	

Introducción

En los últimos años se ha observado una gran demanda del consumo de bebidas lácteas fermentadas, lo cual puede atribuirse al creciente interés de la población por el cuidado de su salud, puesto que las bebidas lácteas fermentadas, poseen microorganismos probióticos que protegen contra la gastroenteritis, promueven la reducción de toxinas, reducen el colesterol, mejoran la digestión y la biodisponibilidad mineral (Lavrentev et al., 2021, Ye et al., 2019).

Teniendo en cuenta la importancia del microbiota intestinal en la salud humana, ha habido cada vez mayor por los fármacos y probióticos funcionales. No obstante, un alimento probiótico requiere una consideración cautelosa en términos de selección de cepas, proceso apropiado y condiciones de almacenamiento (Yoha et al., 2021).

Entre las bebidas lácteas fermentadas más conocidas, se puede mencionar al yogur, definido por el Codex Alimentarius como un producto lácteo que se obtiene de la fermentación de microorganismos específicos de la leche, que pueden ser *Lactobacillus delbrueckii sbsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* viables, activos y abundantes en el producto (FAO & WHO, 2011), en condiciones ampliamente conocidas de temperatura y tiempo de fermentación.

Las bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, se caracterizan por brindar beneficios a sus hospederos al crear un microbioma (ambiente microscópico a nivel intestinal) favorable para su desarrollo y limitante para el desarrollo de bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, que son responsables de provocar enfermedad diarreica aguda (Delgado F. R. 2013).

Lactobacillus y *Bifidobacterium* se están empleando para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales, pero se conoce que pueden ser débilmente resistentes a las altas temperaturas (Lavrentev et al., 2021), lo que podría resultar en un proceso fermentativo lento, características sensoriales peculiares, y/o una pérdida significativa de microorganismos probióticos viables. Por otro lado, se conoce que el crecimiento de bacterias sanas en el intestino puede verse potenciado mediante el uso de prebióticos, pero aún existen muy pocos estudios sobre el efecto simbiótico de cultivos poco

habituales como *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium* s.p., y prebióticos vegetales, en el desarrollo de nuevas bebidas lácteas.

Los prebióticos se encuentran en muchas frutas y verduras, especialmente en aquellas que contienen carbohidratos complejos, como por ejemplo la fibra soluble, el almidón resistente, entre otros. Un ejemplo de fibra soluble es la pectina, un importante heteropolisacárido aniónico, existe en las paredes celulares de plantas dicotiledóneas (Agoda et al., 2012), que en los últimos años ha ganado un interés creciente como agente espesante o gelificante para la industria química y alimentaria (Kaya et al., 2014). Además, la pectina se ha descrito como un prebiótico con capacidad para modular la composición bacteriana del microbiota del colon, pudiendo ejercer efectos beneficiosos sobre la salud (Ferreira-Lazarte et al., 2018).

La pectina ha sido extraída a partir de muchos productos y residuos agroindustriales, no obstante, en estudios *in vivo*, se ha podido observar que la pectina extraída de las cortezas de cítricos, posee cierto potencial para mitigar la enfermedad inflamatoria intestinal (Pacheco et al., 2018a, 2018b, 2019). Debido a lo mencionado, se estudiará el efecto fermentativo y características sensoriales relacionadas con la utilización de *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium* s.p., y pectina cítrica, en el desarrollo de una nueva bebida fermentada. Los resultados permitirán diversificar la disponibilidad de productos lácteos funcionales.

*Determinar las curvas de crecimiento de las bacterias ácido lácticas y el tiempo de vida útil de esta bebida simbiótica, es de gran importancia para complementar el estudio de características de calidad de la bebida, pero dicho análisis será abordado en un trabajo de investigación, paralelo al que aquí se presenta.

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 El Problema.

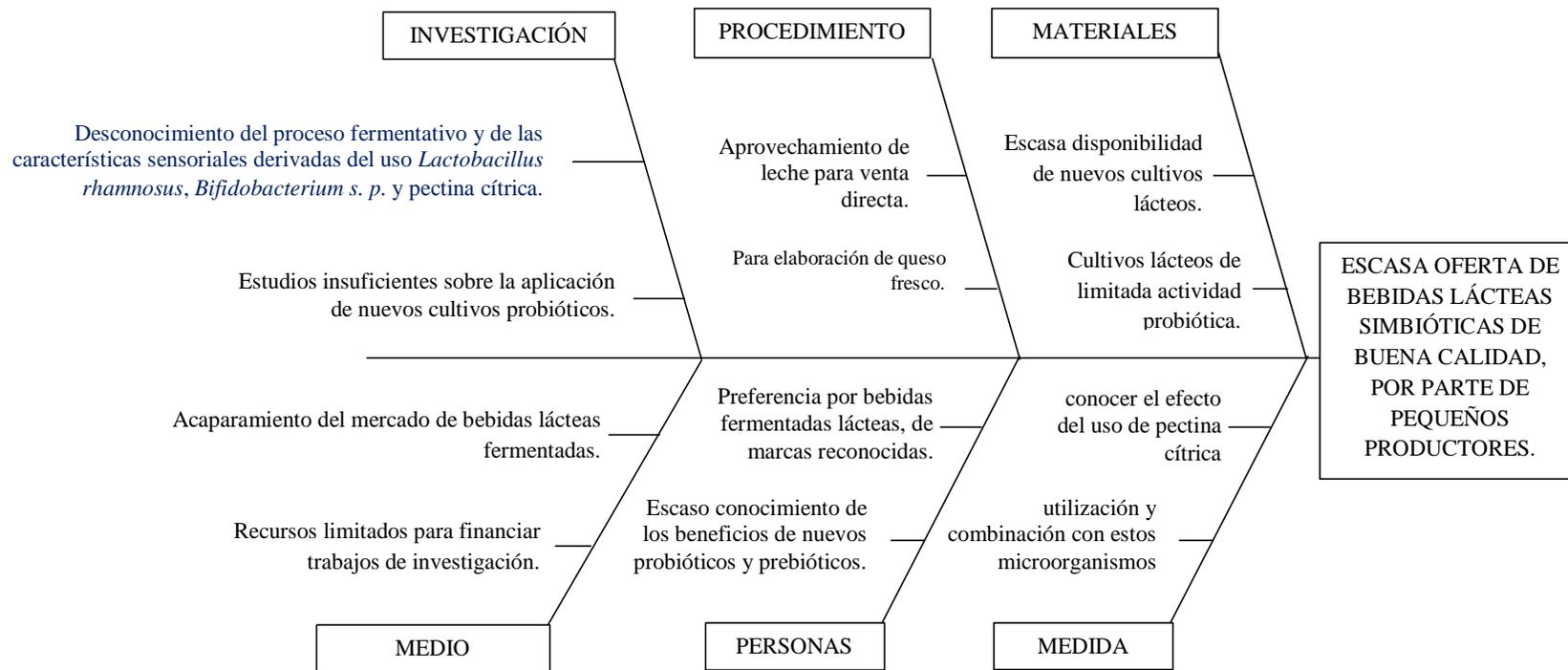
El problema de la investigación.

El principal problema que ha motivado esta investigación es la “escasa oferta de bebidas fermentadas probióticas de buena calidad por parte de pequeños productores”. Para proponer alternativas de solución, se han analizado las causas del problema según la metodología de Ishikawa (Ovalles Acosta et al, 2017), y se ha construido el diagrama causa-raíz mostrado en el Gráfico 1.

Las causas del problema en mención están relacionadas con la investigación, el procedimiento, los materiales, el medio ambiente y el consumidor. En cada una de estas áreas, existen varias causas que originan la escasa oferta de bebidas fermentadas probióticas de buena calidad por parte de pequeños productores; no obstante, hemos determinado que varias de ellas pueden reducirse enfocándonos en una subcausa, observada en el ámbito de la investigación, identificada como: “desconocimiento del efecto fermentativo y sensorial al emplear probióticos como *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium s. p.* y prebióticos como pectina cítrica”, por lo que, este trabajo se enfocará en determinar cómo difieren las variables del proceso fermentativo, al emplear este cultivo, en comparación al cultivo habitual de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, con y sin adición de pectina cítrica.

Determinar la dosis, la temperatura óptima de fermentación y el tiempo de incubación necesario al emplear *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*, y conocer el efecto del uso de pectina cítrica y su mejor dosis de utilización en combinación con estos microorganismos, permitirá diseñar una bebida láctea fermentada de gran potencial funcional. Este aporte investigativo, a su vez, podría motivar a la diversificación de alternativas de aprovechamiento de leche de vaca por parte de pequeños ganaderos, y aportar al incremento de la producción y oferta de bebidas lácteas simbióticas de buena calidad.

Gráfico 1. Diagrama de Ishikawa elaborado para el análisis de causa-efecto del problema considerado en este estudio.



Elaborado por: Génesis Quishpe, Luiggi Mendoza y M. Teresa Pacheco, 2021.

Diagnóstico.

La leche de vaca en nuestro medio se destina principalmente para consumo directo, venta a granel, producción de quesos, leche pasteurizada, o bebidas tipo yogur empleando cultivos probióticos convencionales (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*).

La diversificación de productos lácteos, con mayores atributos funcionales, es aún muy escasa, debido entre múltiples causas al desconocimiento de múltiples cepas de probióticos y nuevos compuestos reconocidos como importantes prebióticos de origen natural.

Al mismo tiempo, la afectación ambiental y el acelerado ritmo de vida, incrementan la aparición de enfermedades, siendo necesario preservar la salud del consumidor; el cual, se halla ampliamente interesado en adquirir alimentos que, a más de destacarse por su contenido nutricional, representen un aporte al cuidado de su bienestar general.

Pronóstico.

Este estudio busca dar a conocer el proceso y características sensoriales de una nueva bebida simbiótica, como una nueva forma de aprovechamiento de la leche de vaca, que permita el crecimiento económico y el ingreso a nuevos mercados, donde la prioridad sea promover una alimentación más saludable.

Formulación del problema.

¿Cómo influirá el uso de *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica sobre el proceso fermentativo y las características sensoriales de una bebida simbiótica?

Sistematización del problema.

¿Cómo variarán los indicadores de fermentación durante la incubación y almacenamiento de una bebida láctea empleando *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica?

¿Cuáles serán las características organolépticas de una bebida láctea elaborada con *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica, al tiempo cero y luego de 30 días de almacenamiento?

¿Cuál será la dosis recomendada del nuevo cultivo y de la pectina cítrica, para obtener las mejores características sensoriales de la bebida?

¿Qué ventajas o desventajas tecnológicas y/o sensoriales se observarán al emplear *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica, en comparación a lo observado al emplear el cultivo convencional *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, con y sin pectina cítrica?

¿Qué estudios adicionales sobre la bebida haría falta aplicar desde el punto de vista científico, para obtener más información sobre el potencial funcional de esta bebida simbiótica?

¿Qué estudios adicionales sobre la bebida haría falta aplicar para proceder a su comercialización?

¿Qué recomendación/es se podrían sugerir, a fin de mejorar aún más los resultados observados al emplear el nuevo cultivo y la pectina cítrica?

1.2 Objetivos.

Objetivo general.

- Determinar el efecto fermentativo y sensorial relacionado con el uso de *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica en el desarrollo de una bebida láctea simbiótica.

Objetivos específicos.

- Analizar los diferentes indicadores de fermentación en el desarrollo de una bebida láctea elaborada empleando un cultivo convencional, *Lactobacillus rhamnosus-Bifidobacterium s. p.*, con y sin pectina cítrica, mediante el monitoreo de parámetros fisicoquímicos durante la incubación y el almacenamiento de la bebida, de modo que se pueda conocer el efecto prebiótico de la pectina y el comportamiento de estas cepas, en comparación al cultivo comúnmente empleado.
- Determinar las características organolépticas de la nueva bebida simbiótica, con ayuda de un panel de catadores semientrenados y el respectivo análisis estadístico de datos; a fin de observar diferencias en comparación al yogur convencional con o sin

pectina, y poder seleccionar el cultivo más recomendable desde el punto de vista sensorial.

- Proponer el proceso de elaboración y la formulación más recomendable para el desarrollo de una nueva bebida láctea simbiótica, desde el punto de vista tecnológico y sensorial, para aportar al desarrollo de nuevos alimentos funcionales.

1.3 Hipótesis.

Las hipótesis planteadas en el presente estudio fueron:

Hipótesis nula.

H₀: El tipo de probiótico, dosis del cultivo y presencia de prebiótico (pectina cítrica), no influye sobre el proceso fermentativo y los atributos sensoriales de una bebida láctea.

Hipótesis alternativa.

H₁: El tipo de probiótico, dosis del cultivo y presencia de prebiótico (pectina cítrica), si influye sobre el proceso fermentativo y los atributos sensoriales de una bebida láctea.

1.4 Justificación.

Según la FAO, alrededor de 150 millones de hogares en todo el mundo se dedican a la producción de leche y en la mayoría de los países en desarrollo, ese alimento es producido por pequeños agricultores. Asimismo, en los últimos tres decenios, la producción lechera mundial ha aumentado en más del 50%, pasando de 500 millones de toneladas en 1983 a 769 millones de toneladas en el 2013 ([Gavilanes, 2016](#)), alcanzando un incremento en torno al 1,94% en la producción, entre los años 2019 a 2020 ([OCLA, 2021](#)).

La leche y sus derivados representan alimentos de alto contenido nutricional debido al gran contenido de calcio, indispensable para el desarrollo del sistema óseo. Su consumo es fundamental durante la niñez y la adolescencia, y también en la dieta diaria de las personas de la tercera edad y mujeres embarazadas. Su contenido de calcio es superior al de ciertos vegetales y otros alimentos ([Visioli & Strata, 2014](#)).

Entre los derivados lácteos, el yogur es una bebida fermentada de efecto considerado prodigioso, ya que representa una auténtica defensa natural contra infecciones y enfermedades, proporcionando además vitaminas de tipo A, y B, fósforo, potasio, magnesio, zinc y yodo (Butler, 2007). Los productos lácteos fermentados se obtienen a partir de la fermentación de la leche, mediante la acción de microorganismos inocuos. Además de las bacterias del ácido láctico, los productos lácteos fermentados poseen metabolitos derivados de la fermentación que otorgan al producto final propiedades más allá de lo puramente nutricional, convirtiéndolos en verdaderos alimentos funcionales, interesantes en una dieta saludable. Los productos lácteos fermentados pueden presentar efectos hipocolesterolémicos, antioxidantes, óseos, hipotensores y beneficios inmunológicos, como efectos en el intestino y microbioma del huésped, efectos anticancerígenos, inmunomoduladores y antialérgicos (García-Burgos et al., 2020).

El mercado global de yogur proyecta un incremento anual de 4.5% durante el período 2020 a 2025). El brote de COVID-19 tuvo un impacto positivo a corto plazo en el mercado minorista de yogur, ya que el mercado se vio impulsado por la acumulación de alimentos y el cierre forzoso de los consumidores, que priorizaron por esta razón el consumo de alimentos procesados. Además, los beneficios para la salud funcional del yogur, al ser un probiótico, ocasionaron una mayor demanda a medida que los consumidores buscaban seguir mejores dietas y concentrarse en su salud intestinal durante el período pandémico (Mordor, 2021).

El consumo diario de yogur en Ecuador oscila entre los 118.020,77 litros, mientras que la producción diaria alcanza los 150.000, litros (FAO, 2016) y pese al incremento nacional de la demanda y producción de yogur, su mercado nacional, continua siendo liderado por empresas de grandes productores como Toni S. A., con una participación del 49 %, mientras que El Kiosco, Alpina, Pura Crema, Parmalat, Andina, Miraflores, Alpina, Chivería, Superior, Prolac, Indulac, Reyogurt y otras empresas pequeñas representan el porcentaje restante (Ferre, 2021). Pequeños ganaderos destinan la mayor parte de su producción de leche a la venta directa, o en el mejor de los casos, a la elaboración de queso fresco y bebidas lácteas que muchas veces no poseen la calidad probiótica necesaria, para ser consideradas alimentos saludables y/o funcionales.

La pectina es un polisacárido empleado comúnmente como aditivo alimentario espesante o gelificante, que puede promover el crecimiento de microorganismos probióticos en el colon y presentar cierto efecto beneficioso sobre enfermedades inflamatorias intestinales (Pacheco et al., 2018b, 2019). No obstante, el efecto fisicoquímico y sensorial de cepas de gran potencial probiótico, como son los *Lactobacillus rhamnosus* y las *Bifidobacterium* s.p., en interacción la pectina cítrica, se encuentra aún muy poco estudiado.

Por todo lo mencionado, este estudio pretende proporcionar información sobre los parámetros de utilización de un cultivo lácteo aún muy poco empleado en nuestro medio, y de un importante prebiótico como es la pectina, para la obtención de una bebida láctea fermentada, que represente una alternativa de diversificación de productos, para pequeños ganaderos e industriales, en un medio cada vez más competitivo, que demanda alimentos altamente nutritivos, de gran aceptabilidad sensorial, y que además, representen un beneficio para la salud.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Marco Conceptual.

Alimento funcional.

Los alimentos que contienen un probiótico y prebiótico son denominados como alimentos funcionales ([Butler, 2007](#)).

Probiótico.

Microorganismos vivos que, ingeridos en determinadas cantidades, ejercen beneficios en la salud del hospedador ([FAO & WHO, 2011](#)).

Prebióticos.

Ingredientes alimentarios no digeribles que benefician al hospedador al estimular el crecimiento o la actividad de una o varias bacterias del colon, lo que mejora la salud ([Agoda et al., 2012](#)).

Pectina cítrica.

Agente espesante o gelificante para la industria química y alimentaria ([Kaya et al., 2014](#)).

2.2 Marco referencial.

Leche fermentada.

Es un producto lácteo obtenido por fermentación de la leche, cuya leche puede haber sido elaborado a partir de productos obtenidos a partir de leche con o sin modificación de la composición limitada, por la acción de microorganismos adecuados y que dan como resultado una reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos microorganismos iniciadores deben ser viables, activos y abundante en el producto hasta la fecha de mínima durabilidad. Si el producto se calienta tratados después de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables. Los cultivos comúnmente empleados en la elaboración de leches fermentadas son los que se muestran a continuación ([Tabla 1](#)) ([FAO & WHO, 2011](#)).

Tabla 1. Cultivos usualmente empleados en la elaboración de leches fermentadas.

Bebida Láctea fermentada	Cultivo
Yogur	Cultivos simbióticos de <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> .
Yogur de cultivo alternativo	Cultivos de <i>Streptococcus thermophilus</i> y cualquier especie de <i>Lactobacillus</i> .
Leche Acidophilus	<i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Kéfir	Cultivo iniciador preparado a partir de granos de kéfir, <i>Lactobacillus kefir</i> , especies de los géneros <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> y <i>Acetobacter</i> . Los granos de kéfir constituyen ambas levaduras fermentadoras de lactosa (<i>Kluyveromyces marxianus</i>) y levaduras que no fermentan la lactosa (<i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Saccharomyces exiguus</i>).
Kumis	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> y <i>Kluyveromyces marxianus</i>

Fuente: FAO & WHO, 2011.

Ingredientes permitidos.

- Cultivos iniciadores de microorganismos inocuos
- Cloruro de sodio
- Leches fermentadas aromatizadas
- Agua potable
- Leche y productos lácteos
- Gelatina y almidón en:
 - Leches fermentadas tratadas térmicamente después de la fermentación;
 - Leche fermentada aromatizada;
 - Bebidas a base de leche fermentada; y
 - Leches fermentadas simples si lo permite la legislación nacional del país de venta al consumidor final;

Siempre que se agreguen solo en cantidades funcionalmente necesarias según lo regulado por las Buenas Prácticas de Fabricación, teniendo en cuenta cualquier uso de los estabilizadores /espesantes. Estas sustancias pueden agregarse antes o después agregando los ingredientes no lácteos. La [Tabla 2](#) muestra la composición química de diversas bebidas lácteas fermentadas (FAO & WHO, 2011).

Tabla 2. Composición de bebidas lácteas fermentadas.

Parámetro	Leche fermentada	Yogur alternativo (leche ácida)	Kéfir	Kumis
^{a)} Proteína de la leche (% m/m)	Min. 2,7%	Min. 2,7%	Min. 2,7%	
Grasa de leche (% m/m)	Menos de 10%	Menos de 15%	Menos de 10%	Menos de 10%
Acidez titulable, expresado como % ácido láctico (% m/m)	Min. 0,3%	Min. 0,6%	Min. 0,6%	Min. 0,7%
Etanol (% vol./w)				Min. 0,5%
Suma de microorganismos (ufc/g, en total)	Min. 10 ⁷	Min. 10 ⁷	Min. 10 ⁷	Min. 10 ⁷
^(b) Etiquetado microorganismos (ufc/g, total)	Min. 10 ⁶	Min. 10 ⁶	Min. 10 ⁶	
Levaduras (ufc/g, total)			Min. 10 ⁴	Min. 10 ⁴

^(a) El contenido de proteínas es 6,38 multiplicado por el nitrógeno Kjeldahl total determinado.

^(b) Se aplica cuando se hace una declaración de contenido en el etiquetado que se refiere a la presencia de un microorganismo que se ha añadido como complemento del cultivo iniciador específico.

Fuente: FAO & WHO, 2011.

En leches fermentadas aromatizadas y bebidas a base de leche fermentada los criterios anteriores aplicar a la parte de la leche fermentada. Los criterios microbiológicos (basados en la proporción de producto lácteo fermentado) son válidas hasta la fecha de duración mínima. El requisito no se aplica a los productos tratados térmicamente después de la fermentación. El cumplimiento de los criterios microbiológicos especificados anteriormente se debe verificar mediante pruebas analíticas del producto hasta "la fecha de duración mínima" después del producto ha sido almacenado en las condiciones de almacenamiento especificadas en el etiquetado (FAO & WHO, 2011).

Denominación del alimento.

El nombre de los productos será: leche fermentada, o leche fermentada concentrada, según corresponda. Sin embargo, estos nombres pueden ser reemplazados por las designaciones Yoghurt, Acidophilus Milk, Kefir, Kumys, Stragisto, Labneh, Ymer e Ylette, siempre que

el producto cumpla con las disposiciones específicas de esta Norma. El yogur se puede escribir según corresponda en el país de venta al por menor.

El “yogur de cultivo alternativo”, se denominará mediante el uso de un calificativo apropiado junto con la palabra “yogur”. El clasificado elegido describirá, de forma precisa y no engañosa para el consumidor, la naturaleza del cambio impartido al yogur a través de la selección de los *Lactobacilos* específicos en la fabricación del producto.

Los productos obtenidos de la (s) leche (s) fermentadas tratadas térmicamente después de la fermentación deberán ser denominados “Leche Fermentada Tratada Térmicamente”. La designación de leches fermentadas aromatizadas incluirá el nombre de la principal sustancia aromatizante añadida. Los nombres cubiertos por esta Norma pueden usarse en la designación, en la etiqueta, en documentos comerciales y publicidad (FAO & WHO, 2011).

Tipos de yogur.

Según la [NTE INEN 2 395:2011](#), el yogur puede clasificarse de la siguiente manera:

Según la composición general.

- Yogur natural, el descrito en la definición.
- Yogur azucarado, es el yogur natural al que se ha añadido azúcar, u otros edulcorantes
- Yogur con fruta, zumos y/u otros productos naturales.
- Yogur aromatizado, el yogur natural al que se han añadido agentes aromáticos autorizados.

Según el proceso.

- Batido: se obtiene batiendo luego de la incubación y antes del envasado.
- Coagulado o aflanado: se obtiene dejando incubar en el envase, sin batido previo.
- Bebible: se obtiene empleando leche descremada y batiendo enérgicamente luego de la incubación y antes del envasado.
- Concentrado: yogur elaborado con leche enriquecida con sólidos lácteos (leche en polvo).
- Deslactosado: elaborado con leche deslactosada.

Según la cantidad de grasa.

- Tipo I. Elaborado con leche entera.
- Tipo II. Elaborado con leche semi descremada o semi desnatada.
- Tipo III. Elaborado con leche descremada o desnatada.

Consideraciones importantes durante la elaboración y conservación del yogur.

Para obtener yogures batido y líquido, la leche enriquecida e inoculada, se incuba en grandes fermentadores. Estas dos clases de yogur se diferencian sólo en el grado de rotura del gel formado durante la incubación. El yogur batido se bombea a un intercambiador de calor para enfriarlo, mientras que el yogur líquido se somete a un proceso más intenso y homogeneización antes de su enfriamiento. Tras el enfriamiento pueden añadirse el resto de los ingredientes (fruta, colorantes, saborizantes). Finalmente, se procede al envasado, almacenamiento en refrigeración y distribución.

Se estima que a más de 10°C, la vida útil del producto se calcula en unos pocos días ya que el mismo alcanza un grado de acidez excesivo porque *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* puede continuar metabolizando la lactosa y alcanzando hasta un 2,5% de ácido láctico.

La fabricación de un yogur de buena calidad implica algunos cuidados previos. En las centrales lecheras se analiza rutinariamente la leche en el momento de su recepción para asegurarse que cumple los requisitos indispensables para poder procesarla y fabricar yogur. Se determina su composición, se hacen recuentos microbiológicos y de células somáticas, se analizan posibles residuos de antibióticos y se mide la temperatura de recepción de la leche. La presencia de antibióticos puede ser lesiva para los microorganismos iniciadores. Si existen muchas proteasas procedentes de psicrótrofos, el gel no va a tener la textura más deseable; se pierde firmeza, viscosidad y capacidad de retención de agua. Para evitar la presencia masiva de psicrótrofos se recomienda una termización precoz de la leche, antes de almacenarla en refrigeración. Con este tratamiento térmico suave se destruye la mayor parte de los psicrótrofos presentes.

La elaboración de yogur comprende 4 fases básicas:

- 1) Tratamientos previos de la leche (enriquecimiento en sólidos lácteos, desaireación, desodorización, etc.).
- 2) Incubación.
- 3) Enfriamiento.
- 4) Envasado (Spreer, 1996).

El enriquecimiento o fortificación de la leche implica un incremento de la concentración de sólidos para conseguir las propiedades reológicas deseadas en el yogur y/o una normalización (ajustar la leche a una composición determinada). En vista de esto, la leche se tiene que estandarizar a un nivel menor de grasa y mayores contenidos de lactosa, proteínas, minerales y vitaminas; para eso se pueden añadir sólidos lácteos no grasos (leche deshidratada descremada, suero de leche, etc.), de tal forma que la gravedad específica aumente de 1,03 g/ml a 1,4 g/ml y paralelamente los sólidos no grasos suban aproximadamente un 15% en promedio. También, pueden añadirse gomas, estabilizantes, saborizantes y edulcorantes. El objetivo principal es aumentar el porcentaje de sólidos lácteos no grasos y, más concretamente el porcentaje de la proteína, con el fin de potenciar la viscosidad del producto terminado. Dependiendo del tipo de yogur, el extracto seco de procedencia láctea (ESL) es distinto. En el yogur natural, de consistencia firme, el enriquecimiento alcanza hasta un 16-18% de ESL, mientras que el yogur batido, aunque requiere una elevada viscosidad, sólo se enriquece hasta un 13-14%, ya que en este se permite la adición de espesantes.

Enriquecimiento con sólidos lácteos.

Los métodos empleados para el enriquecimiento son: concentración mediante calentamiento (no se usa comercialmente), adición de leche o productos lácteos en polvo, concentración mediante evaporación a vacío, concentración mediante filtración por membrana (ultrafiltración u ósmosis inversa). La forma más frecuente de concentración es añadir leche en polvo desnatada. Para acelerar el proceso, la disolución se hace a unos 40°C y con ayuda de un agitador. También pueden utilizarse leche en polvo entera o caseinatos.

El método que se utilice dependerá del coste y disponibilidad en materias primas, cuantía de la producción, instalaciones disponibles, imperativos legales y características buscadas en el producto terminado.

Filtración, desodorización, desaireación y homogeneización.

La filtración se recomienda para eliminar materias extrañas, las posibles partículas de los sólidos lácteos –añadidos en la fase anterior- no disueltas y los grumos procedentes de la leche base. Puede aplicarse haciendo pasar la leche a través de filtros cónicos ajustados en el interior de las conducciones, con clarificadoras centrífugas, o con filtros de nylon o de acero inoxidable. El motivo de eliminar estas partículas es evitar obstrucciones y daños en el orificio del homogeneizador y depósitos en los intercambiadores de calor.

En la elaboración de yogur, una leche con un contenido incrementado de aire conlleva una serie de desventajas, sobre todo, al añadir la leche en polvo, puesto que se produce una notable incorporación de aire. En este caso es conveniente desodorizar la leche en un depósito al vacío. Los efectos que se persiguen son los siguientes:

- a) Mejorar la estabilidad del gel de yogur incrementando la viscosidad.
- b) Eliminar las sustancias aromáticas y sápidas indeseadas.
- c) Incrementar los efectos de la homogeneización.
- d) Reducir los riesgos de que se queme la leche durante el calentamiento en el cambiador de placas.

La desodorización se realiza a una temperatura de 70-75 °C y a una presión de 70-80 kPa. Cuando se incrementa el extracto seco por el método de evaporación se consigue un grado suficiente de desodorización.

La eliminación de aire se recomienda sobre todo cuando el cultivo iniciador crece mal en presencia de tensiones elevadas de oxígeno (por ejemplo, *Lb. Acidophilus*, *Bifidobacterium spp.*).

La homogeneización, después de la pasteurización, estabiliza la grasa en pequeñas partículas que previenen el cremado durante la fermentación, y mejora la textura por la interacción entre las caseínas y los glóbulos de grasa. Para homogeneizar la leche se la hace pasar a través de un pequeño orificio a elevada presión en el homogeneizador, con lo que se reduce el tamaño de los glóbulos grasos impidiendo de esta manera la coalescencia de los mismos y la formación de la línea de nata, lo cual a su vez ayuda a mejorar la consistencia y el sabor del producto. La homogeneización reduce el tamaño de los glóbulos grasos, pero aumenta el volumen de las partículas de caseína. En consecuencia, se produce un menor acercamiento

entre las partículas, en el proceso de coagulación, lo que se traduce en la formación de un coágulo más blando.

Tratamiento térmico-pasteurización.

Es un punto crítico de control, pues es el punto donde se eliminan todos los microorganismos patógenos siendo indispensable para asegurar la calidad sanitaria e inocuidad del producto.

El tratamiento puede variar desde 75°C durante 15 segundos (pasterización ordinaria) hasta un tratamiento UHT a 133°C durante 1 segundo. No obstante, parece ser que las condiciones óptimas son de 80-85°C durante 30 minutos en sistemas discontinuos y de 90-95°C durante alrededor de 5 minutos en sistemas de flujo continuo.

Los efectos de este tratamiento térmico pueden resumirse como sigue:

- *Microorganismos*: Prácticamente se destruyen todas las formas vegetativas, mientras que las esporuladas se mantienen viables. Puede asegurarse que se elimina todo el microbiota patógeno no esporulado. Además, la reducción de la carga microbiana garantiza que el iniciador encontrará un sustrato bastante libre de competidores y crecerá velozmente.
- *Enzimas endógenas de la leche*: Los tratamientos térmicos utilizados no destruyen completamente todas las enzimas de la leche, pero las que mantienen su actividad no entrañan problemas.
- *Proteínas del suero*: se desnaturalizan parcialmente y pueden crear nuevos enlaces y unirse consigo mismas o con otros componentes de la leche. Estos agregados aumentan la viscosidad del yogur. Al desnaturalizarse las proteínas del suero por acción del calor pueden liberarse compuestos nitrogenados de bajo peso molecular que pueden estimular el desarrollo de los microorganismos iniciadores.
- *Oxígeno*: Se reduce la cantidad de oxígeno disuelto, con lo que se crean condiciones de microaerofilia favorables para el crecimiento del cultivo iniciador.

Adición del iniciador (inoculación).

Antes de añadir el cultivo iniciador, la leche ha de enfriarse hasta una temperatura distinta para cada leche fermentada. Esta temperatura es la misma que la de incubación y depende, fundamentalmente, de las características del cultivo iniciador. Si se va a fabricar yogur, la

temperatura acorde con el desarrollo del iniciador está comprendida entre 40 y 45°C, pero si por ejemplo se pretende el desarrollo de *Bifidobacterium spp.* O de otras bacterias probióticas, la temperatura ha de ser 37°C.

Comúnmente, se inocula con un starter de los dos microorganismos, el *Streptococcus thermophilus* y el *Lactobacillus bulgaricus*, pero que han sido cultivados por separado para evitar un exceso de producción de ácido láctico. De este modo, no se ve favorecida una especie frente a la otra dentro del mismo starter. El iniciador puede añadirse en polvo, congelado concentrado o en forma de una suspensión líquida.

El cultivo iniciador añadido no debe aportar sólo un abundante número de microorganismos viables, sino que, además, debe proporcionar una población en equilibrio (1/1) con el mismo número de individuos de las dos especies que intervienen en la fermentación (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*).

Así, el ácido láctico producido a partir de la lactosa baja el pH hasta un valor aproximado de 5, en donde se inicia la formación del coágulo.

En el yogur se pretende que la tasa inicial de microorganismos sea bastante elevada, del orden de 10^7 Ufc/ml (lo cual corresponde a un 2-3% de inóculo, aprox.) para que la fermentación se produzca con rapidez.

Un proceso de optimización de elaboración de yogur busca las características óptimas para el agregado, de manera que se obtenga un producto de alta calidad en el menor tiempo, pudiendo variar de 2 a 3 o más horas, dependiendo del cultivo.

Incubación.

Para la obtención de yogur, la leche suele incubarse a 42°C, temperatura que representa un compromiso entre la óptima de las dos especies responsables de su fermentación: 45°C para la mayoría de las cepas de *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus* y 39°C para *St. Thermophilus*. Si la temperatura de incubación es menor, el tiempo necesario para completar la fermentación y obtener yogur se prolonga. Por ejemplo, a 30°C son necesarias unas 20 horas. Si la leche está libre de inhibidores, la actividad microbiana está determinada principalmente por la temperatura de incubación y la cantidad de inóculo agregado. Mientras mayor sea la

diferencia con la temperatura óptima y menor la cantidad de inóculo agregada mayor será el tiempo de fermentación.

Esta aparición del ácido láctico es lo que provoca el descenso del pH, que a su vez es el responsable de la coagulación de la leche. La coagulación se produce a causa de la estabilidad de las caseínas. Al pH de la leche fresca, las caseínas tienen carga negativa y se repelen. En la acidificación de la leche, los iones hidrógeno del ácido son absorbidos por las caseínas, por lo que la carga negativa va disminuyendo y así también la repulsión entre ellas. La coagulación empieza cuando la repulsión ha disminuido. A un pH de 4,6 las caseínas son eléctricamente neutras y completamente insolubles. Este nivel de pH se conoce como punto isoeléctrico de la caseína. Su efecto en el yogur es que una vez ocurrida le confiere su consistencia semisólida característica (Badui, 2006).

En los productos lácteos fermentados, la fermentación culmina cuando se alcanza un valor de 4,2 a 4,5 de pH aproximadamente, o cuando se observa un valor de 0,75 a 0,8 % de acidez titulable. Una vez lograda la acidez requerida, debe enfriarse a 4 o 5 °C, para detener la fermentación y evitar que se siga produciendo ácido láctico.

Dependiendo del sistema de fabricación que se utilice, se emplean incubadores distintos. Para la incubación en el propio envase se utilizaba en un principio vidrio o baños de agua a la temperatura deseada. Hoy día se utilizan cámaras multifuncionales a través de las cuales puede circular aire caliente (para la incubación) o frío (para el enfriamiento posterior). Este sistema permite obtener yogur firme, el cual se envasa inmediatamente a la adición del starter en vasitos o tarritos, que son llevados a una estufa donde se produce la fermentación hasta el punto deseado y luego se refrigera en cámaras o en túneles de refrigeración.

El yogur líquido se elabora incubando la leche inoculada en tanques fermentadores y, una vez concluida la fermentación, el coágulo se bate intensamente para conseguir la consistencia deseada y finalmente se envasa.

En cambio, en el yogur batido la fermentación se produce directamente en el reactor, se homogeneiza, se enfría en un intercambiador entre 22 y 24 °C, temperatura indicada para retardar el desarrollo de las bacterias y se termina por envasar en recipientes que son inmediatamente refrigerados. En el caso del yogur batido con frutas, una vez coagulada la

leche, se bate, se bombea a un tanque junto con la fruta, se mezcla bien y finalmente se bombea a la llenadora donde se procede al envasado.

Enfriamiento.

Enfriar hasta la temperatura óptima de inoculación (42-45°C) permite la actividad y la supervivencia de las bacterias. Luego de la incubación, el enfriamiento ayuda a frenar la actividad del iniciador y sus enzimas, para evitar que la fermentación continúe. Se recomienda que la temperatura final del yogur no exceda los 5°C; de esta forma, la coexistencia de pH bajo y temperaturas de refrigeración actúan sinérgicamente para mantener el yogur en un estado apropiado para su consumo durante 15 o 20 días, al menos.

El enfriamiento del yogur parece no presentar problemas importantes, pero diversos estudios han indicado que un enfriamiento muy rápido puede afectar a la estructura del coágulo; puede ocasionar la separación del suero debido a una intensa retracción de las proteínas del coágulo que afecta, a su vez, a la capacidad de retención de agua de las mismas.

Envasado.

Se emplea vidrio, y envases plásticos de polietileno de alta densidad y poliestireno. Los envases son siempre opacos, para proteger las vitaminas de la luz, facilitar la impresión del envase (dibujos, etiquetas, etc.) y disimular la posible turbidez. El envasado puede realizarse antes de la incubación, pudiendo agregar, por ejemplo, frutas según corresponda (yogur de consistencia firme) o tras la fermentación (yogur batido y líquido). Se controla el cerrado hermético del envase para mantener la inocuidad del producto. Se debe controlar que el envase y la atmósfera durante el envasado sean estériles ([Ordoñez Pereda, 1998](#)).

Defectos frecuentes observados en el yogur.

- Baja firmeza de gel
- Bajo cuerpo en boca
- Sinéresis
- Grumos
- Alta acidez
- Textura áspera

- Baja “cremosidad” (en textura y sabor)
- Colores grisáceos / verdosos
- Bajo brillo
- Vida útil reducida (sinéresis/textura floja y sabores desviados)

Factores que afectan la calidad de los yogures.

- Calidad de la leche
- Tratamiento de la leche
- Cultivos
- Proceso ([Iriberry, A. & CRH-Hansen, 2014](#))

Productos fermentados, microorganismos beneficiosos y mecanismo de acción.

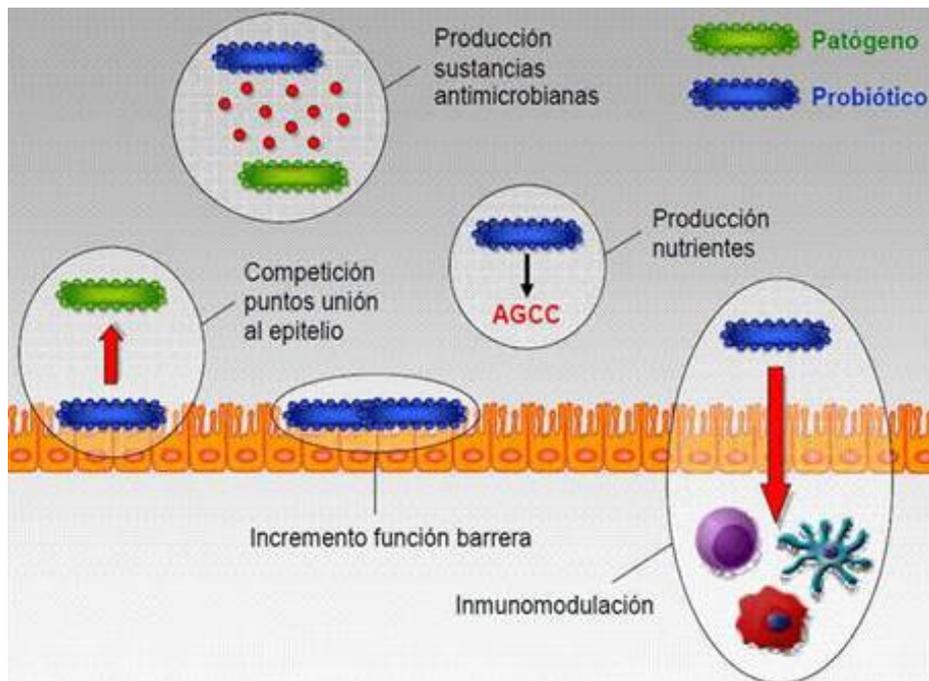
Estos productos se obtienen de la fermentación de la leche utilizando microorganismos adecuados para llegar a un nivel deseado de acidez. Entre los productos fermentados figuran yogur, kumys, dahi, ergo, tarag, ayran, kurut y kéfir ([FAO, 2021](#)).

Los microorganismos beneficiosos tienen una larga historia especialmente las bacterias conocidas como probióticas. Se han encontrado referencias que muestran que desde la antigüedad se reconocían efectos benéficos producidos por estas bacterias. En el viejo testamento (Génesis 18:8), se menciona que Abraham debió su longevidad al consumo de leche agria y en la antigua Roma en el año 76 d.C. Plinius (escritor y naturalista Romano), recomendaba la administración de productos de la fermentación láctea para tratar enfermedades gastroentéricas. Así, las bacterias benéficas han existido y coevolucionado a lo largo de la historia de la humanidad aportando beneficios a la salud de los hospederos en los que habitan.

Se conocen diversos efectos beneficiosos entre las que destacan la protección contra agentes patógenos y el efecto inmunomodulatorio, pero con el avance de los estudios en este campo cada día se conocen más y se ha llegado a describir cómo funcionan, por ejemplo, la supresión de microorganismos patógenos se debe a que las bacterias probióticas producen sustancias antimicrobianas entre las que se encuentra el peróxido de hidrógeno, el diacetilo,

la reuterina, ácidos orgánicos como el ácido láctico, ácido acético, ácido butírico; algunas especies de bacterias también producen sustancias de naturaleza proteica conocidas como bacteriocinas (Gráfico 2).

Gráfico 2. Comportamiento beneficioso de los microorganismos probióticos.



Fuente: Delgado F. R., 2013.

También tienen la capacidad de disminuir el colesterol sérico al inhibir su síntesis y reducir las lipoproteínas de baja densidad impidiendo su absorción en el intestino delgado; otro beneficio es que favorecen la absorción de nutrientes pues los probióticos promueven el “equilibrio” del microbiota (diversidad de especies microbianas en el intestino), ayudando al procesamiento de azúcares no digeribles, metabolismo de proteínas complejas, síntesis de vitaminas y producción de energía. Cuando ciertos azúcares (oligosacáridos), que sirven de alimento para estas bacterias, son administrados en la dieta estimulan la absorción de minerales como el calcio, el fósforo y el magnesio, siendo mayor este efecto en fase de crecimiento rápido cuando la demanda de calcio es alta (Delgado F. R. 2013).

Lactobacillus bulgaricus.

Se caracterizan por su alta temperatura de crecimiento, con una temperatura óptima de 40 – 43° C, mínima de 22° C y máxima de 52.5° C. Su resistencia frente a antibióticos es mayor que la de *Streptococcus thermophilus*. Se inhibe ante 0.3 - 0.6 U.I. de penicilina/mL de leche. Es una bacteria homo fermentativa, que produce hasta 1.7 % de D (-) ácido láctico en leche. Pequeñas cantidades de compuestos secundarios incluyen compuestos carbonílicos, etanol y ácidos volátiles. Posee una actividad proteolítica media, llevando a una relativamente alta acumulación de aminoácidos libres. Posee una débil actividad lipolítica, llevando a algunos cambios en la estructura de los ácidos grasos (Peng et al., 2014).

Streptococcus thermophilus.

Se caracteriza por tener un amplio rango de crecimiento, con una temperatura óptima de 40 – 45° C, mínima de 20° C y máxima de 50° C. Es muy sensible a sustancias inhibitoras. Es inhibido por 0.01 U.I. de penicilina o 5 mg de estreptomycin/mL de leche. Bacteria láctica del grupo homo fermentativo, produce 0,7 - 1,0 % de L (+) ácido láctico. Muestra una actividad proteolítica muy débil (Peng et al., 2014).

Lactobacillus rhamnosus.

Se ha demostrado que *Lactobacillus rhamnosus*, un miembro de la microbiota comensal humana, es importante para la salud humana, ya que equilibra el sistema microecológico del intestino y proporciona inmunomodulación local y sistémica (Peng et al., 2014). *Lactobacillus rhamnosus* puede tolerar el ambiente dentro del tracto digestivo del animal, colonizar los intestinos de humanos y animales y puede mejorar la respuesta inmune sistémica en el huésped (Lebeer et al., 2012). Muchos estudios han demostrado que *Lactobacillus rhamnosus* y sus componentes de la pared celular pueden promover los niveles secretorios de IL-6, IL-10 y TNF- α por las células mononucleares de sangre periférica humana y activar el sistema inmunológico del cuerpo (Di Caro et al., 2005; Ludwig et al., 2018). Se ha descubierto que la proteína p40 codificada por *Lactobacillus rhamnosus* puede proteger la inmunidad intestinal activando la vía de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico EGFR (Yan et al., 2011).

Bifidobacterium.

Las especies de *Bifidobacterium* son bacterias grampositivas, anaerobias en forma de bastoncillo, catalasa-negativas que pertenecen a la rama de las actinobacterias. El pH ideal para el crecimiento de las especies de *Bifidobacterium* es 6-7, a un pH de aproximadamente 4.5-5 y por encima de 8-8.5, no se observa crecimiento. Se han encontrado especies de bacterias bífidó en seres humanos, animales de sangre caliente y abejas. La abundancia de especies de *Bifidobacterium* depende de la edad y la dieta. Se asientan en el tracto gastrointestinal poco después del nacimiento, forman la cepa dominante en el tracto gastrointestinal después del nacimiento, y su número disminuye con la edad (Langhendries, et al. 1995, Chopra, et al. 2015). La principal diferencia entre las especies de *Bifidobacterium* y otras especies de *Lactobacillus* está en la fuente de nitrógeno, de manera que *Bifidobacterium* puede crecer en ambientes que contienen amonio (nitrógeno mineral), en contraste, otras bacterias del ácido láctico necesitan una fuente de nitrógeno orgánico como péptidos para multiplicarse (Gomes et al., 1998, Guarner et al., 2003).

Narvishi et al. (2021) compararon los genomas y proteomas de 12 *Bifidobacterium* y 46 especies de *Lactobacillus*. Examinaron especies seleccionadas de *Lactobacillus* para determinar la resistencia a las sales biliares, la resistencia al ácido y al pH, la pepsina y resistencia a la enzima tripsina y resistencia a los antibióticos. Los resultados mostraron que las especies de *Lactobacillus* tienen más diversidad y abundancia de bacteriocina en comparación con las especies de *Bifidobacterium*. En particular, *L. sakei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. fermentum* y *L. casei* tuvieron la mayor inhibición de patógenos; respectivamente; por lo que sugirieron una combinación de estos para controlar los patógenos gastrointestinales.

Pese a los beneficios potenciales de los *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium*, su uso combinado, permanece aún muy poco estudiado en el ámbito de la tecnología alimentaria para el desarrollo de bebidas lácteas.

Prebióticos.

Se define al término prebiótico como “un ingrediente fermentado selectivamente que da como resultado cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota

gastrointestinal, otorgando así un beneficio(s) sobre la salud del anfitrión” (Gibson et al., 2010).

Un prebiótico: (i) debe ser resistente al pH ácido del estómago, no puede ser hidrolizado por enzimas de mamíferos y tampoco debe ser absorbido en el tracto gastrointestinal, (ii) puede ser fermentado por la microbiota intestinal, y (iii) puede estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de las bacterias intestinales, proceso que mejora la salud del anfitrión (Gibson et al., 2010).

Se puede aprovechar los dos criterios siguientes para identificar los prebióticos derivados de carbohidratos: (i) las fibras prebióticas son carbohidratos con un grado de polimerización (DP) igual o superior a 3, y (ii) las enzimas endógenas en el intestino delgado, no pueden hidrolizarlas. Se debe tener en cuenta que la solubilidad o fermentabilidad de la fibra no es crucial (Howlet et al. 2010, Slavin et al., 2013).

Tipos de prebióticos.

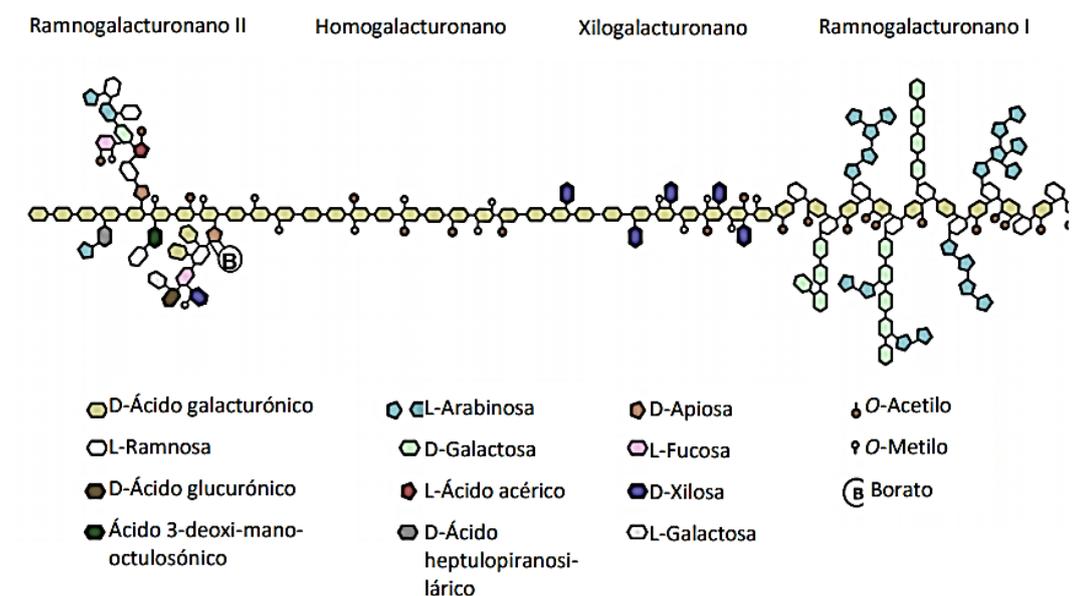
Entre los prebióticos, se puede citar los fructanos, galacto-oligosacáridos, oligosacáridos derivados de almidón y glucosa, oligosacáridos de tipo no carbohidrato, y otros oligosacáridos (Davani-Davari, et al., 2019).

Dentro del grupo de “otros oligosacáridos” está la pectina, conformada por varios tipos de azúcares (e.g. ác. Galacturónico, arabinosa, galactosa y xilosa) o ácido ferúlico. Sus estructuras varían significativamente según la fuente vegetal y el proceso de extracción (Yoo et al., 2012).

Estructura de la pectina.

El [Gráfico 3](#), muestra la estructura de la pectina; la presencia de los monómeros que allí se observan y la cantidad de ácido galacturónico presente, permite caracterizar al compuesto como pectina (FAO, 2013).

Gráfico 3. Estructura química de la pectina.



Fuente: Pacheco et al. 2019b,
Adaptada a partir de: Harholt et al., 2010.

2.3 Marco legal.

Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos del yogur.

Según la norma [NTE INEN 2 395:2011](#), las leches fermentadas deben cumplir las siguientes especificaciones ([Tabla 3](#)):

Tabla 3 Requisitos fisicoquímicos del yogur.

Requisitos	Tipo I		Tipo II		Tipo III	
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
Contenido de grasa	3.0	...	1.0	<3.0	...	<1.0
Acidez, %	0.6	1.5	0.6	1.5	0.6	1.5
Proteína, %	2.7	...	2.7	...	2.7	...
Ensayo de fosfatasa	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Fuente: NTE INEN 2 395:2011

La norma señalada indica que el yogur sin tratamiento térmico posterior a la fermentación deberá contener mínimo 10^7 Ufc/g correspondiente a la suma de microorganismos del cultivo empleado, y ausencia de *E. coli*, como los aspectos microbiológicos más relevantes.

CAPÍTULO III
MÉTODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización.

La presente investigación se realizará en el Laboratorio de Bromatología y en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, localizada en el Km 7 ½ de la vía Quevedo – El Empalme, Recinto San Felipe, entrada al Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos – Ecuador.

3.2 Tipos de investigación.

Exploratoria.

Se llevó a cabo siguiendo un diseño experimental para la elaboración de una bebida láctea fermentada, con la finalidad de analizar la variación del proceso fermentativo y de las características sensoriales en una bebida elaborada con cultivo lácteo convencional, o con *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*, con y sin pectina cítrica.

Documental.

Para fundamentar las condiciones de experimentación, consideradas en este trabajo, se partió de información bibliográfica sobre procesamiento de alimentos, nutrición, microbiología, química de los alimentos; así como también de avances presentados en estudios, reportados en publicaciones científicas recientes sobre el potencial probiótico de *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* y el potencial prebiótico de la pectina cítrica.

3.3 Método de investigación.

Método inductivo-deductivo.

Se aplicó este presente método de investigación, puesto que partiendo del análisis del problema y de los resultados observados durante el desarrollo de una nueva bebida simbiótica, se propone una nueva alternativa de aprovechamiento de la leche a través de la selección más adecuada del tipo de microorganismos fermentativo, cantidad prebiótico y proceso de elaboración.

Método estadístico.

Para calcular, tabular, graficar y aplicar el análisis ANOVA a los datos fisicoquímicos y sensoriales de la bebida láctea se usó el programa de Excel; y para la comparación de medias que permitiese seleccionar el mejor tratamiento, se aplicó una prueba de Tukey ($p < 0.05$) en el programa infostat.

3.4 Fuentes de recopilación.

La información presentada en el marco conceptual y referencial se tomó de diversas fuentes secundarias como: artículos científicos, revistas científicas, páginas web, libros, folletos.

3.5 Diseño de la investigación.

Diseño experimental – Modelo matemático.

A fin de interrelacionar las variables de interés, consideradas en las hipótesis planteadas, se armó un diseño experimental modelo 2^3 , cuyas respuestas experimentales se representan de con el siguiente modelo matemático:

Tabla 4 Esquema del ANDEVA

Fuente Variación		Grados de Libertad
Tratamiento	a.b.c.-1	7
Factor A	(a-1)	1
Factor B	(b-1)	1
Factor C	(c-1)	1
Int. AXB	(a-1).(b-1)	1
Int. AXC	(a-1).(c-1)	1
Int. Bx C	(b-1)(c-1)	1
Int. AxBxC	(a-1).(b-1).(c-1)	1
Error Exp	(a.b.c)(r-1)	8
Total	(a.b.c.r-1)	15

$$Y_{ijk} = u + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + R_j + E_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijk} = Respuestas del ensayo

u = Efecto global atribuible al material experimental

A_i = Efecto principal del factor A; niveles $i = 1,2$

B_j = Efecto principal del factor B; niveles $j = 1,2$

C_k = Efecto principal del factor C; niveles $k = 1,2$

$(AB)_{ij}$ = Efecto de interacción doble entre los factores A y B

$(AC)_{ik}$ = Efecto de interacción doble entre los factores A y C

$(BC)_{jk}$ = Efecto de interacción doble entre los factores B y C

$(ABC)_{ijk}$ = Efecto de interacción triple entre los factores A, B y C

R_l = Efecto de la réplica, ejemplo para un duplicado $l = 2$

E_{ijkl} = Efecto residual

Factores y niveles en estudio. Tratamientos. Diagrama de flujo.

El diseño experimental 2^3 planteado, estuvo conformado por los siguientes factores y niveles de estudio, obteniendo un total de 8 tratamientos (Tabla 5).

Factor A: Tipo de cultivo

a1: *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* (incubación a 44 °C)

a2: *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (incubación a 37 °C)

Factor B: Dosis del cultivo

b1: 0,006 %

b2: 0,012 %

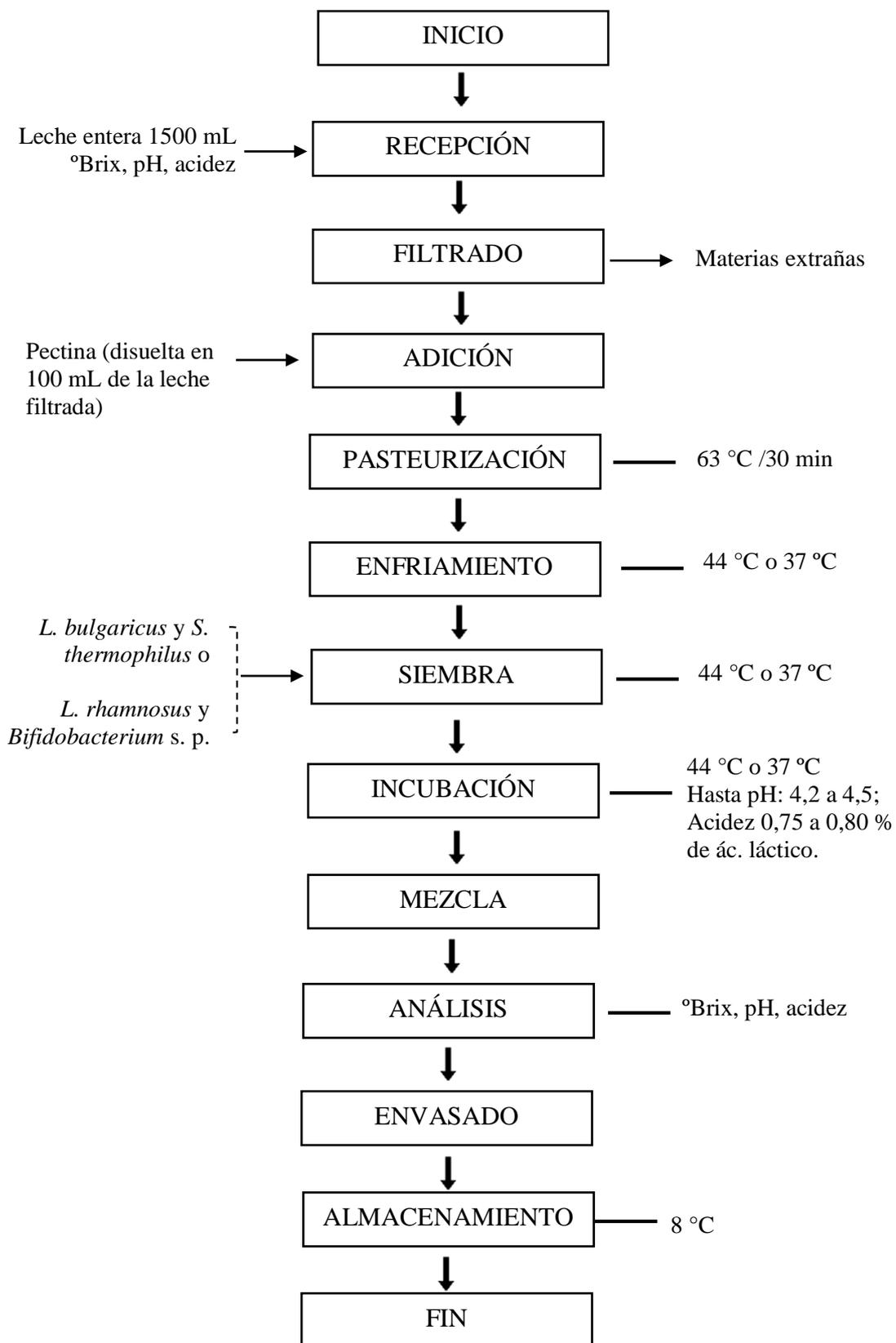
Factor C: Cantidad de prebiótico (pectina cítrica)

c1: 0 %

c2: 0,34 %

Para la elaboración de la bebida láctea simbiótica, el proceso básico que se aplicó, fue el siguiente (Gráfico 4):

Gráfico 4. *Proceso de elaboración de la bebida láctea fermentada.*



Elaborado por: Génesis Quishpe, Luiggi Mendoza y M. Teresa Pacheco, 2021.

3.6 Instrumentos de la investigación.

Indicadores del proceso fermentativo

°Brix, pH y acidez titulable.

Se determinaron en la bebida elaborada según los 8 diferentes tratamientos, a intervalos de una hora, durante el tiempo de incubación; y cada 3 días, durante el tiempo de almacenamiento (30 días) a temperatura de refrigeración (8 °C).

Los °Brix, se midieron con ayuda de un brixómetro marca ATP. Para ello se colocó una gota en el visor y se procedió a la lectura.

El pH se determinó empleando un pHímetro digital con aproximación a decimales, calibrado usando buffers comerciales de pH 4 y 7.

Para conocer la acidez, se recurrió al método de titulación ácido – base reportado por [Reyes y Ludeña \(2015\)](#). Se tomó 10 mL de muestra, se adicionó tres gotas de solución indicadora de fenolftaleína al 2 % y se tituló con una solución de hidróxido de sodio 0,1 N, hasta cambio de coloración a rosa ([Tamime & Robinson, 1991](#); [Yildiz, 2010](#)). Esta determinación se realizó por duplicado.

Análisis sensorial.

Las características sensoriales de la bebida (color, olor, sabor, consistencia, textura y aceptabilidad en general), se determinaron empleando un panel de 12 catadores semientrenados. Este análisis fue realizado al inicio y al final del tiempo de almacenamiento de la bebida elaborada en este trabajo (tratamientos 1 a 8), y sobre una muestra de yogur natural comercial (tratamiento 0).

Para la valoración, se utilizó una escala afectiva de 1 a 5 puntos, donde el mayor puntaje, correspondía al mejor atributo de la característica en cuestión ([Anexo N° 1](#)), de acuerdo a los aspectos de estudio sugeridos por [Zamora \(2008\)](#) para el análisis sensorial de bebidas lácteas fermentadas.

NOTA: Como referencia técnica de calidad para la elaboración de esta bebida, se tomó en cuenta la Norma Técnica Ecuatoriana [NTE INEN 2 395:2011](#). Leches Fermentadas. Requisitos.

Las curvas de crecimiento de microorganismos se construyeron en un tema paralelo a este, enfocado en el efecto de *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica, sobre el tiempo de vida útil de la bebida.

3.7 Tratamientos de los Datos

Los tratamientos del estudio se describen en la siguiente etapa.

Tabla 5. *Tratamientos a aplicar en el desarrollo de la bebida fermentada láctea.*

Nº	Código	Descripción
0	a0b0c0	Yogur natural comercial (estándar comparativo en el análisis sensorial)
1	a1b1c1	<i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i> (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
2	a1b1c2	<i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i> (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
3	a1b2c1	<i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i> (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
4	a1b2c2	<i>L. bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i> (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
5	a2b1c1	<i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i> (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
6	a2b1c2	<i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i> (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
7	a2b2c1	<i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i> (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
8	a2b2c2	<i>L. rhamnosus</i> y <i>Bifidobacterium s. p.</i> (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

Elaborado por: Génesis Quishpe, Luiggi Mendoza y M. Teresa Pacheco, 2021.

3.8 Recursos humanos y materiales.

Recursos humanos.

- Estudiante Tesista: Genesis Valeria Quishpe Loor.

Búsqueda bibliográfica, elaboración de la bebida, análisis fisicoquímicos, tabulación y análisis de datos, redacción realizada por la estudiante.

- Docente Tutora: María Teresa Pacheco Tigselema.

Búsqueda bibliográfica, asesoría general, análisis de datos y resultados, revisión y corrección realizada por la tutora.

Materiales e insumos.

- Leche entera cruda fresca
- Cultivos lácteos liofilizados: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (Hansen), *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (Bagó)
- Pectina cítrica (Sigma-Aldrich)
- Yogur natural (Toni) (tratamiento estándar)

3.8 Reactivos.

- Hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N
- Fenolftaleína 2 %
- Agua destilada

3.9 Instrumentos y equipos.

- Balanza
- Termómetro (escala 0 a 100 °C)
- Brixómetro
- Peachímetro
- Buffers de calibración pH 4 y 7.
- Pipeta de 2 mL
- Pera de succión
- Recipientes de acero inoxidable
- Incubadora
- Envases de 250 mL
- Refrigerador (8 °C)

CAPITULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Efecto general del uso de *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica sobre las características físico químicas y sensoriales de la bebida láctea fermentada.

Al aplicar un análisis de varianza de un factor (ANOVA) ($p < 0,05$) en el programa InfoStat, para los resultados de la bebida a los 30 días de almacenamiento: características físico químicas (T1 a T8) y sensoriales (T0 a T8) de la bebida fermentada (Tabla 5).

(Tabla 5) se observa las características físico químicas de los tratamientos (T1 a T8), los valores de pH más alto que alcanzaron al final del almacenamiento fueron (T5: a2b1c1), (T6: a2b1c2), (T7: a2b2c1), (T8: a2b2c2); a comparación con los tratamientos (T1: a1b1c1), (T2: a1b1c2), (T3: a1b2c1), (T4: a1b2c2) que fueron los que presentaron menor valor de pH. Según (Hirano, et al. 1998) en los efectos de la lactoperoxidasa sobre las propiedades reológicas del yogur, al llegar al pH del yogur 4,5 contribuye al olor y sabor característico. Por otra parte (Rivas, 2000) en el efecto de la adición de calcio en las propiedades físico químicas y sensoriales de dos tipos de yogurt se observó que los valores de pH se encuentran dentro del rango esperado, es decir entre 3,7 y 4,6; Es importante mencionar, que al alcanzar estos valores de pH se refrigera el yogur para controlar la actividad metabólica de los microorganismos iniciadores.

En los ° Brix se observa que los tratamientos (T5: a2b1c1), (T6: a2b1c2), (T7: a2b2c1), (T8: a2b2c2) presentaron los valores mayores, en cambio los tratamientos (T1: a1b1c1), (T2: a1b1c2), (T3: a1b2c1), (T4: a1b2c2) presentaron valores menores. Según Aridilla & Palla. (2007) los probióticos y su importante función en la alimentación se observa la disminución de los sólidos solubles durante la etapa de fermentación, desde un valor de 11 en todos los tratamientos a valores entre 6 y 6,5 a los 240 minutos de proceso. indican que uno de los parámetros para determinar la finalización de la etapa de fermentación es cuando los °Brix se estabilizan, lo que ocurrió a los 210 minutos.

Por otra parte, Mendoza & Neira (2013) evaluación de la pulpa concentrada de carambola (*averrhoa carambola l.*) A tres concentraciones de azúcar y dos temperaturas para la elaboración del yogurt frutado se observó que los sólidos solubles °brix se estabilizan cuando están en incubación a 6,5 y 7,0 esto cuando no está añadido ninguna clase de pulpa de fruta o saborizantes.

En la acidez titulable se observa que los tratamientos (T1: a1b1c1), (T2: a1b1c2), (T3: a1b2c1), (T4: a1b2c2) presentaron valores mayores del % de ácido láctico, en cambio los tratamientos (T5: a2b1c1), (T6: a2b1c2), (T7: a2b2c1), (T8: a2b2c2) presentaron los valores menores. Según [Gonzales, D \(2000\)](#) Análisis del desarrollo de la fase reproductiva y determinación de parámetros de recolección de la carambola (*Averrhoa carambola L.*), ha propuesto un mínimo de 0,7 g de ácido láctico por cada 100 mL de yogurt, es muy importante el control de la acidez en la producción y esto mismo se asocian frecuentemente a la contaminación del producto por mohos y levaduras, cuyo origen se encuentra la mayor parte en la flora microbiana del aire.

Por otra parte, [Alatríste, \(2002\)](#). Efecto de la adición de fibra y calcio en un yogurt con sabor, la acidez en productos lácteos es expresada como porcentaje de ácido láctico, este porcentaje presente en el yogurt debe ser mínimo de 0,6 la acidez, al igual que el pH es una propiedad de suma importancia debido a que es un indicador de los microorganismos que pueden estar presentes, desarrollarse o deteriorar el alimento.

Tabla 6 Promedios en las características físico química

Característica Físico Química			
Tratamientos	pH	° Brix	Acidez titulable
T1	3,72 d	5,97 e	0,72 cd
T2	2,98 f	5,88 g	0,85 a
T3	3,53 e	5,91 f	0,76 b
T4	2,97 f	5,88 g	0,87 a
T5	4,71 a	7,95 a	0,69 e
T6	3,97 b	7,73 c	0,74 bc
T7	4,00 b	7,87 b	0,71 de
T8	3,89 c	7,66 d	0,76 b
Promedio	3,72	6,86	0,76
C.V. (%)	0,30	0,11	0,81
p – valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Máximo	4,71	7,95	0,87
Mínimo	2,97	5,88	0,69
s.e.	**	**	**

*Datos transformados a raíz de n + 0,5 (coeficiente de variación).

C.V.: Coeficiente de variación.

p.: Probabilidad asociada a valores mayores o iguales que los puntos de 5% para la distribución F.

s.e.: Significancia estadística (n.s.= no significativo, *=significativo y **=muy significativo).

T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina

T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)

- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
 T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
 T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
 T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
 T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
 T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

(Tabla 6) se observa que al aplicar un análisis de varianza de un factor (ANOVA) ($p < 0,05$) se refleja los valores de las características sensoriales de los tratamientos (T0 a T8); en los atributos color, olor, sabor, consistencia, textura, aceptabilidad general los valores que presentaron mayor puntaje hasta el final del almacenamiento que fueron 30 días son (T0: a0b0c0), (T1: a1b1c1), (T2: a1b1c2), (T3: a1b2c1), (T4: a1b2c2), en comparación con los tratamientos (T5: a2b1c1), (T6: a2b1c2), (T7: a2b2c1), (T8: a2b2c2) que presentaron menor puntaje. Según Alatríste, K (2002) en el atributo color indica que los principales defectos son: color desigual, debido a la mala distribución de los ingredientes o mala distribución de los colorantes; color no natural, debido al empleo de colorantes no autorizados, poco color debido a que no está disuelto totalmente. Por otra parte, en el atributo olor Mejía, V (2006) indica que los productos lácteos tienen mayor aceptación cuando se añade productos como saborizantes, por lo que se debe tomar en cuenta la referencia que exige las normas INEN, en que el yogur debe presentar un olor característico del producto fresco, sin indicios de rancidez. Asimismo, en el atributo sabor Aridilla & Palla. (2007) menciona que el yogur natural se caracteriza por un sabor suave, dulce en el caso de los yogures azucarados y un poco ácido y agrio en el caso del yogur natural que no es edulcorado. Por otro lado, en el atributo consistencia Porter, J (1981) indica que el yogur es ácido y tiene una fina y suave consistencia que va desde un firme gel hasta un líquido viscoso como las natillas dependiendo de las técnicas de fabricación. Y del mismo modo en el atributo textura Gonzales, D (2000) menciona que la textura ideal del yogur debe de ser suave y las partículas sólidas lo suficientemente pequeñas para no ser detectadas en la boca, mientras que la textura mantecosa se manifiesta por grumos de grasa lo suficientemente grandes para ser detectados en la boca dejando una película grasa en el paladar y los dientes después de haber consumido algún producto lácteo. En la aceptabilidad general (Rivas, 2000) manifiesta que el yogur es un producto altamente apetecible, no solo por sus características organolépticas sino también por sus propiedades nutritivas, además el yogurt es un producto recomendable en todas las edades.

Tabla 7 Promedio en las características sensoriales

Tratamientos	Característica Sensoriales					Aceptabilidad general
	Color	Olor	Sabor	Consistencia	Textura	
T0	51 a	55 a	57 a	57 a	53 a	57 a
T1	56 a	54 a	55 a	56 a	54 a	56 ab
T2	55 a	52 a	52 a	57 a	52 a	52 ab
T3	53 a	53 a	54 a	57 a	51 a	51 ab
T4	52 a	51 a	57 a	58 a	51 a	56 b
T5	30 b	23 b	23 b	26 b	23 b	28 c
T6	34 b	21 c	26 b	23 b	18 b	24 cd
T7	29 b	23 c	26 b	24 b	21 b	27 cd
T8	32 b	32 c	22 b	21 b	19 b	30 d
Promedio	43,56	40,44	41,33	42,11	38,00	42,33
C.V. (%)	3,06	3,50	3,42	3,36	3,72	3,15
p – valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Máximo	56	55	57	58	54	57
Mínimo	29	21	22	21	18	24
s.e	**	**	**	**	**	**

*Datos transformados a raíz de n + 0,5 (coeficiente de variación).

C.V.: Coeficiente de variación.

p.: Probabilidad asociada a valores mayores o iguales que los puntos de 5% para la distribución F.

s.e.: Significancia estadística (n.s.= no significativo, *=significativo y **=muy significativo).

T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)

T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina

T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)

T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina

T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)

T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina

T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)

T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina

T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

4.2 Efecto del uso de *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium s. p.* y pectina cítrica en el proceso fermentativo durante la incubación y almacenamiento de la bebida.

Efecto fisicoquímico observado durante la incubación.

La leche cruda entera de vaca, empleada para elaborar la bebida, presentó un pH de 6,65; 10 °Brix y una acidez titulable de 0,17 % de ácido láctico; características de calidad óptimas para su procesamiento y/o consumo (NTE INEN 2 395:2011), que se mantuvieron luego de la adición de pectina y pasteurización (63 °C/30 min) (Gráfico 4).

Luego del enfriamiento, hasta la temperatura respectiva según cada tratamiento (44 °C para *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, o 37 °C para *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*) (Tabla 5), se procedió a la inoculación, e incubación por el tiempo necesario hasta alcanzar un pH de 4,2 a 4,5 (acidez 0,75 a 0,80 % de ácido láctico) (Gráfico 4).

Al medir el pH, los °Brix y la acidez, a intervalos de una hora durante la incubación, se pudo observar la variación mostrada en los (Gráficos 5 al 7).

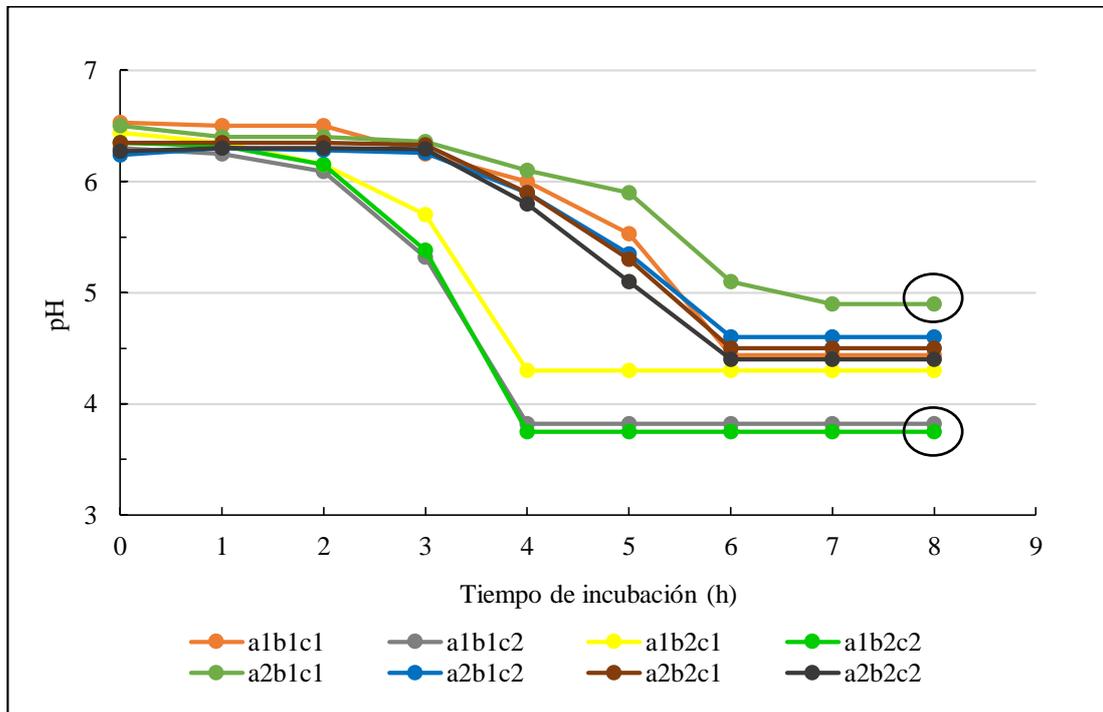
Durante la primera hora de incubación el pH se mantuvo prácticamente constante para la bebida elaborada según todos los tratamientos del diseño experimental (T1 a T8) (Gráfico 5). A partir de aproximadamente 1,5 horas, las bebidas elaboradas según los tratamientos T2 y T4 (a1b1c2, a1b2c2) comenzaron a bajar su pH, presentando los menores valores hasta el final de la incubación; lo cual pudo deberse al uso del cultivo convencional en la menor y mayor dosis, con pectina añadida (T2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %), T4: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)

El tratamiento T5, en cambio, permitió observar en la bebida los valores de pH más altos al final del tiempo de incubación (T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina), quizá debido a un menor poder fermentativo de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*, en comparación al cultivo de *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, y/o a la ausencia de pectina en este tratamiento.

Cabe resaltar que las bebidas elaboradas con los tratamientos T2 a T4 (cultivo convencional, con o sin pectina, alcanzaron un pH de 4,3 o menos, a las 4 h de incubación; mientras que al

emplear *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (T5 a T8) se alcanzaron valores de pH de 4,4 a 4,9 luego de 6 a 8 h de incubación.

Gráfico 5. Variación del pH durante la incubación.



- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
- T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

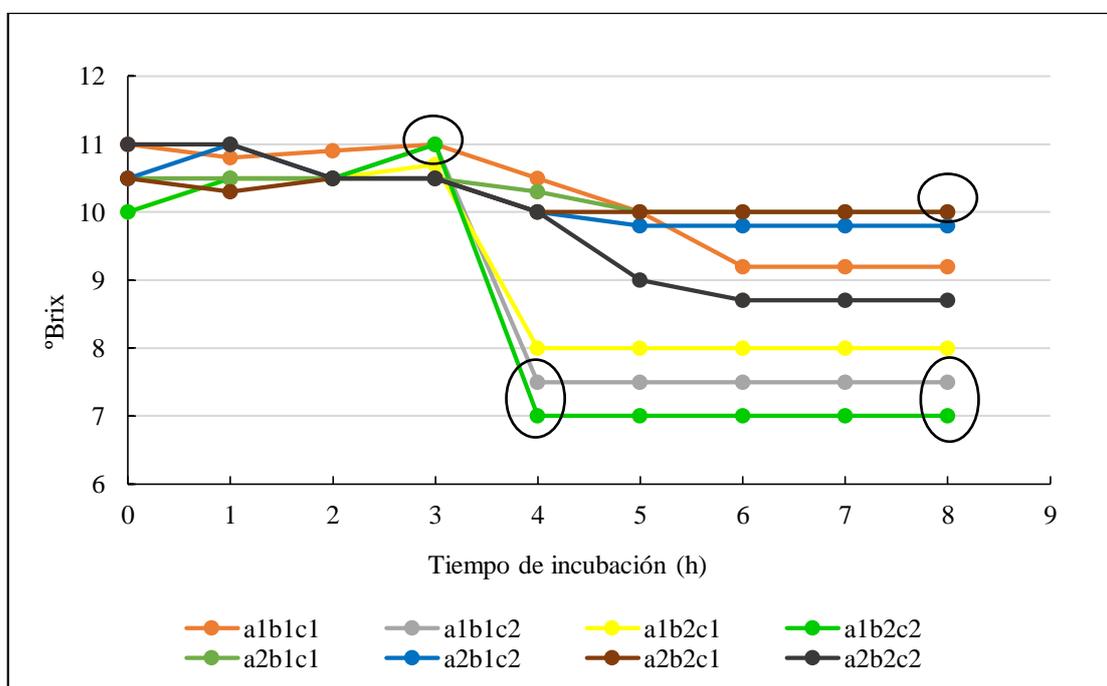
El [Gráfico 6](#) muestra la variación del contenido de sólidos solubles durante la incubación. Puede observarse que, durante las tres primeras horas de incubación, los °Brix presentan fluctuaciones en las bebidas elaboradas en base a los 8 tratamientos, lo cual podría deberse a una hidrólisis de carbohidratos de la leche y/o de la pectina (en los tratamientos donde esta se empleó), debido a la temperatura de incubación (44 o 37 °C).

Llama la atención del aumento de °Brix observado entre el tiempo cero y las 3 horas de incubación, en la bebida elaborada con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %) (T4: a1b2c2), lo cual parece confirmar una mayor hidrólisis de carbohidratos, cuando se aplica la mayor temperatura de incubación, en presencia del cultivo

convencional. Luego de las 3 horas de incubación, la cantidad de sólidos solubles disminuye notoriamente en las bebidas elaboradas con todos los tratamientos de este estudio, siendo más acusado el descenso de ° Brix, en el tratamiento 4, seguido del tratamiento T2 (T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)) indicativo de una mayor capacidad fermentativa del cultivo convencional en presencia de pectina, en comparación al nuevo cultivo probado en este trabajo (*L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*).

La bebida que mostró los valores de °Brix más altos al final de la incubación fue la elaborada según el tratamiento T7 (T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina), lo que puede deberse a una menor hidrólisis de carbohidratos a 37 °C, y al menor poder fermentativo de este cultivo (empleado en este tratamiento, a la mayor dosis de estudio).

Gráfico 6. Variación del contenido de sólidos solubles durante la incubación.



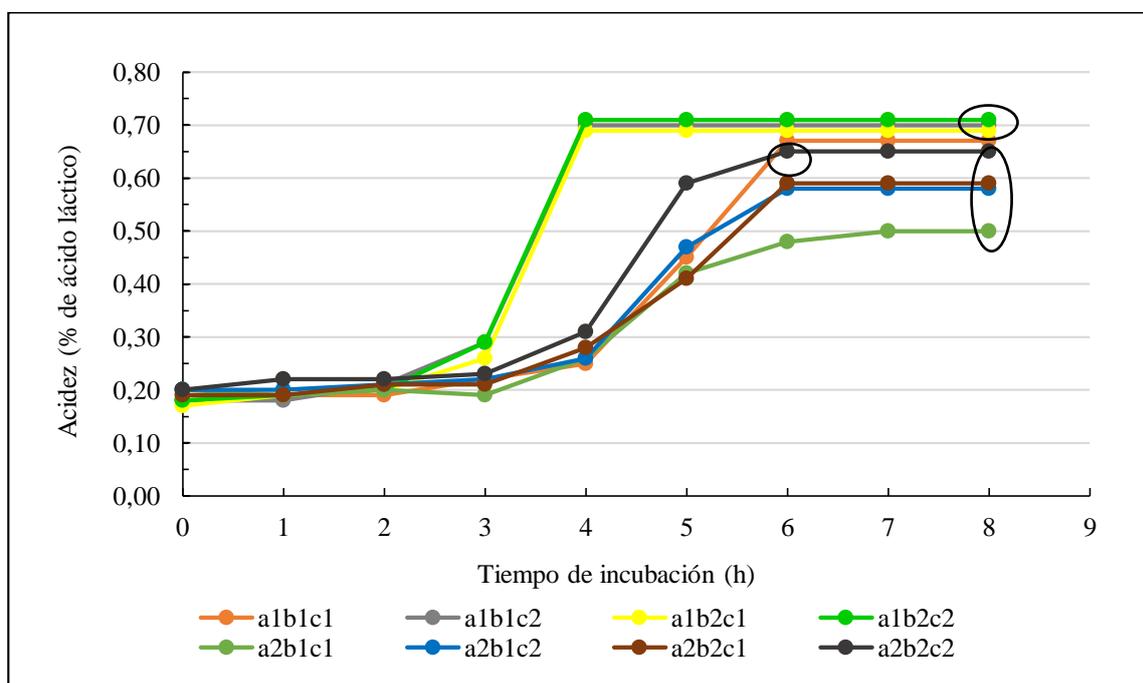
- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
- T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

La acidez titulable (Gráfico 7) varió en sentido contrario al pH (Gráfico 5), señalando que el descenso de pH, pudo deberse principalmente a la producción de ácido láctico durante el proceso de incubación. García-Burgos et al. (2020) han señalado que los microorganismos prebióticos pueden actuar produciendo además otros ácidos carboxílicos, e.g. ácidos grasos de cadena corta (ácido acético, butírico), relacionados con el efecto fisiológico del consumo de estos microorganismos, por lo que sería de gran interés en un futuro estudio, determinar la presencia de estos ácidos en las bebidas elaboradas.

La mayor acidez lograda alcanzó valores de 0,7 % de ácido láctico, a las 4 horas de incubación mediante los tratamientos T3 y T4 (cultivo convencional a la dosis más alta de estudio, con o sin pectina), y la menor acidez se observó al aplicar el tratamiento T5 (nuevo cultivo a la dosis más baja y sin pectina).

Cabe resaltar que la presencia de pectina al 0,34 %, al parecer favorece la fermentación en presencia del nuevo cultivo (*L. bulgaricus* y *S. thermophilus*) a la dosis de 0,012 %, pues como se observa en el Gráfico 7, el tratamiento T8 alcanzó una acidez de 0,66 % de ácido láctico a las 6 horas de incubación, siendo este porcentaje de acidez, el más alto alcanzado si se comparan entre si las bebidas elaboradas con el nuevo cultivo (tratamientos T5 a T8 = a2b1c1, a2b1c2, a2b2c1, a2b2c2).

Gráfico 7. Variación de la acidez titulable durante la incubación.



- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
- T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

Efecto fisicoquímico observado durante el almacenamiento.

Una vez culminada la incubación, las muestras fueron colocadas en envases asépticos y herméticos de 250 mL, por duplicado. Los parámetros de fermentación (pH, °Brix y acidez) se midieron a intervalos de 3 días, durante los 30 días de almacenamiento ([Gráficos N° 8 a 10](#)).

El [Gráfico 8](#) muestra el descenso paulatino de pH hasta alcanzar valores entre 3,0 a 4,7 según el tratamiento. Los tratamientos T2 (T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* al 0,006 %, con pectina) y T4 (a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* al 0,012 %, con pectina) mostraron el menor pH al final de la incubación ([Gráfico 5](#)) y también exhibieron el mayor descenso de pH entre los días 0 y 3 del almacenamiento [Gráfico 8](#); pH con un valor de 3, que se mantuvo casi invariable hasta el final de los 3 días de almacenamiento.

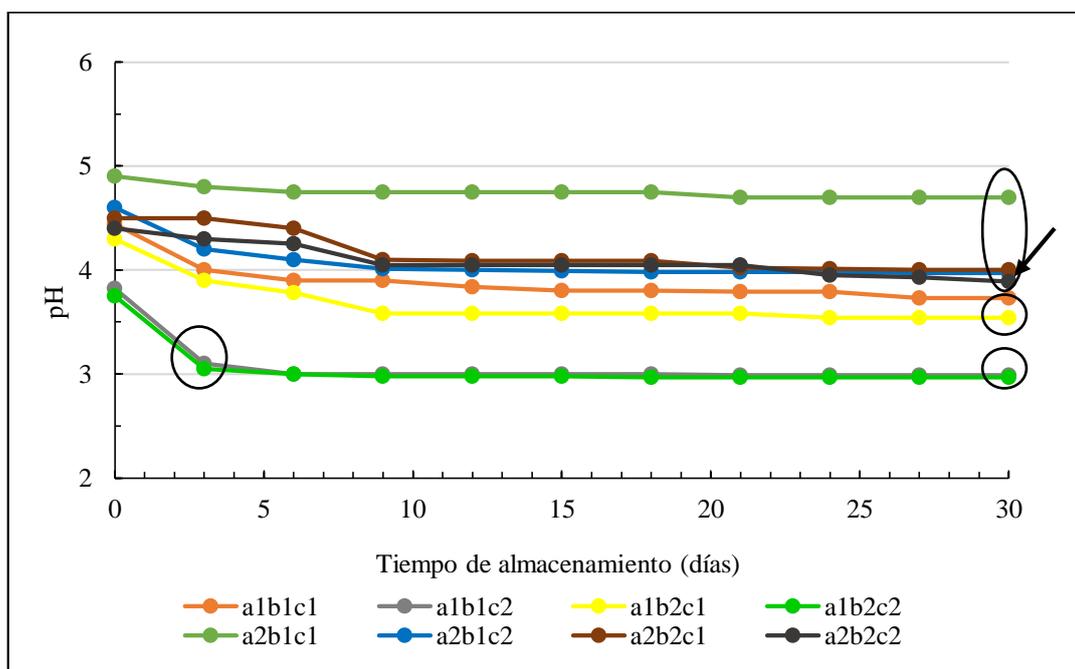
Las bebidas elaboradas según los tratamientos T5 a T8, mostraron en cambio, los mayores valores de pH [Gráfico 8](#), corroborando el hecho de que, al parecer, el cultivo de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*, tiene menor poder fermentativo en comparación al cultivo comúnmente usado para elaborar yogur. El pH más bajo entre estas bebidas (T5 a T8), se observó en la bebida elaborada según el tratamiento T8, claramente debido al uso de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* en su mayor dosis (0,012 %) y a la adición de pectina (0,34 %).

Según [Ruiz y Ramírez \(2008\)](#) elaboración de yogurt con probióticos (*bifidobacterium spp.* y *lactobacillus acidophilus*) e inulina concluyen que, durante el almacenamiento refrigerado, se observó una disminución en el pH y un aumento en la viscosidad del yogurt.

Por otra parte, [López y Gutiérrez \(2010\)](#), Uso de la inulina y chamburo (*Carica pubescens L*) en la tecnología de elaboración de yogurt con trozos de frutas tipo II en la quesera “SALINERITO” La conversión de lactosa en ácido láctico tiene un efecto conservador sobre

la leche. El bajo pH de la leche acidificada inhibe el crecimiento de las bacterias de la putrefacción y de otros organismos perjudiciales, lo que provoca una disminución del pH y un aumento de la acidez. De esta forma se prolonga la vida útil del producto. Por otra parte, la leche acidificada en un medio muy favorable para las levaduras y mohos que causan olores y sabores desagradables si se les permite infectar los productos lácteos.

Gráfico 8. Variación del pH durante el almacenamiento.



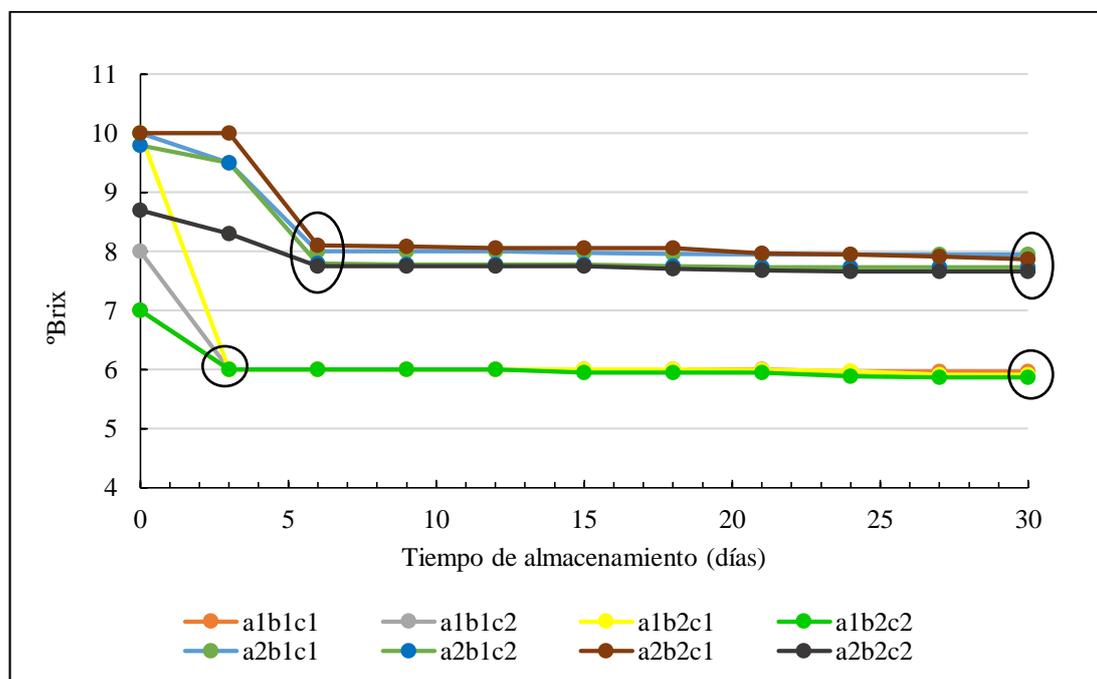
- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
- T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

En concordancia con lo explicado en líneas anteriores para el pH durante el almacenamiento (Gráfico 8); los valores de °Brix también fueron variando durante los primeros días (0 a 9 aprox.), para luego mantenerse constante hasta el día 30, con valores en el rango de 6 a 8 para todas las bebidas elaboradas en este estudio (T1 a T8) (Gráfico 9).

El menor contenido de sólidos solubles se observó en las bebidas elaboradas con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* en sus dosis, con y sin pectina (T2 a T4), y los mayores valores

de este parámetro de fermentación se observaron en las bebidas elaboradas con *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* principalmente con pectina (Gráfico 9).

Gráfico 9. Variación del contenido de sólidos solubles durante el almacenamiento.



- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
- T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

La acidez en cambio, fue aumentando en todas las bebidas, elaboradas según todos los tratamientos de estudio del proceso fermentativo (tratamientos T1 a T8) hasta alcanzar valores en el rango de 0,69 a 0,87 % de ácido láctico (Gráfico 10), los cuales se encuentran dentro de lo de los requisitos señalados por la NTE INEN 2 395:2011 (Tabla 3) (0,6 a 1,5 % de ácido láctico).

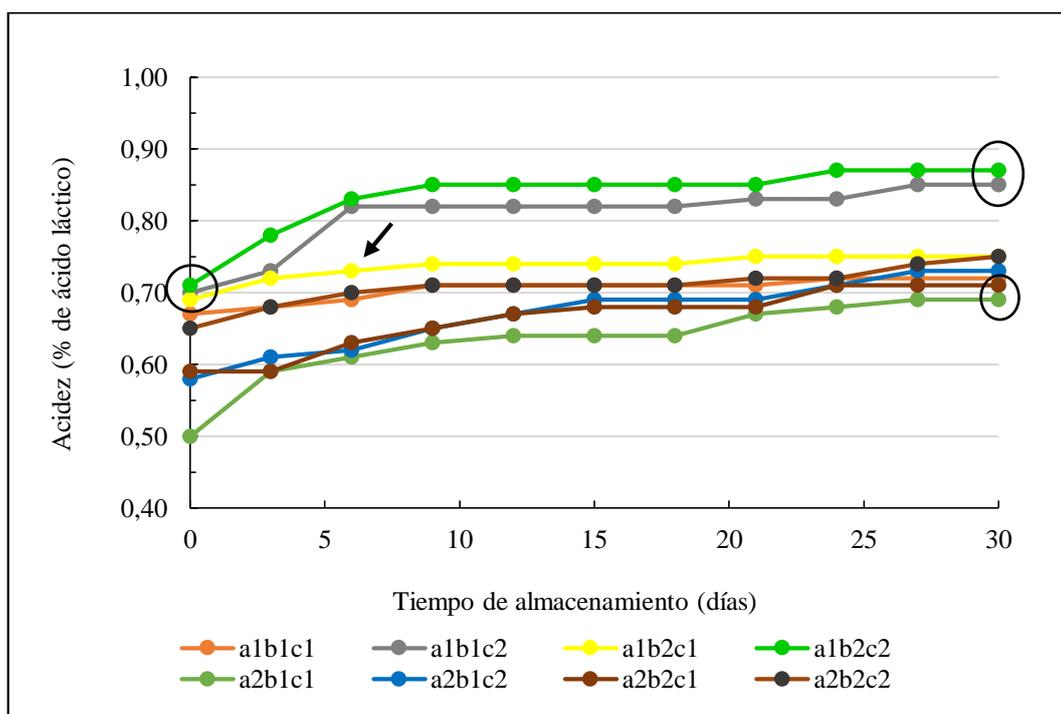
Los valores más altos de acidez se observaron en los tratamientos T4 y T2 (cultivo convencional en dosis alta y baja, respectivamente; ambos con pectina); y los valores más bajos de acidez se observaron en los tratamientos T5 y T7 (nuevo cultivo en dosis baja y alta, respectivamente, sin pectina; confirmando el bajo poder de fermentación de *L.*

rhamnosus y *Bifidobacterium s. p.*, y la ventaja de usar pectina con el cultivo convencional; efectos explicados en párrafos anteriores.

Según Morales (2008), determinación del yogurt frutado fresa a dos concentraciones de azúcar y dos temperaturas diferentes, realizo una comparación entre los valores tanto del día 0 como del día 21 de almacenamiento se puede ver claramente que existe un aumento en los valores de acidez, la misma que es normal ya que se está trabajando con bacterias vivas que generan ácido láctico y su rango en va desde 0.70 a 0,80% ácido láctico.

Por otro lado, Palacios, (2006) solo establece una acidez valorable mínima de 0.6 % de ácido láctico.

Gráfico 10. Variación de la acidez titulable durante el almacenamiento.



- T0: a0b0c0: Yogurt comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
- T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

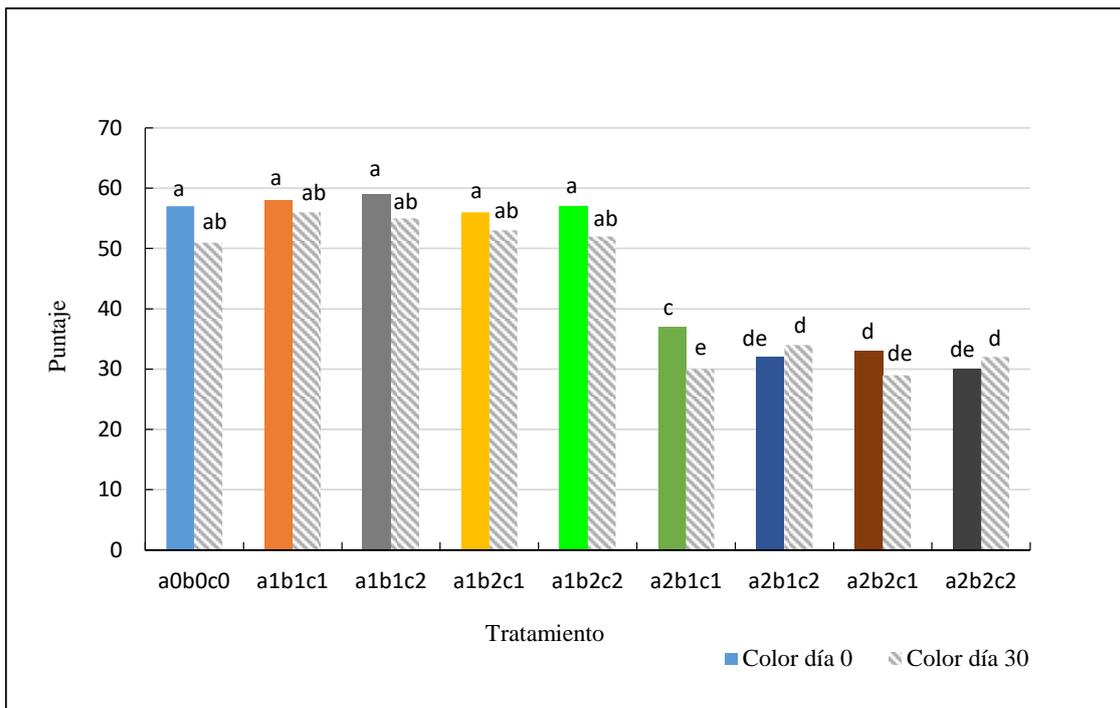
Efecto sensorial observado al inicio y al final del almacenamiento.

La **Gráfica N° 11** muestra la puntuación total proporcionada por los catadores, al color de la bebida comercial (T0) y de las bebidas elaboradas con los tratamientos de nuestro diseño experimental (T1 a T8), al inicio y a los 30 días del almacenamiento en refrigeración (8 °C).

Los 5 primeros casos: T0 a T4 (a1b1c1, a1b1c2, a1b2c1, a1b2c2 y a2b1c1) mostraron un color blanco característico con la más alta puntuación, muy similar entre tratamientos y con un ligero cambio de color no significativo luego del almacenamiento (día 30).

Los tratamientos T5 a T8 mostraron un color más amarillento estadísticamente diferente al de los tratamientos T0 a T4, posiblemente debido al uso de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p., en lugar de *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, empleado en los 5 tratamientos anteriores. Este color podría deberse a la tonalidad más oscura, que se observó posee el cultivo liofilizado de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. en comparación al cultivo liofilizado de *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*.

Gráfico 11. Valoración del color de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.

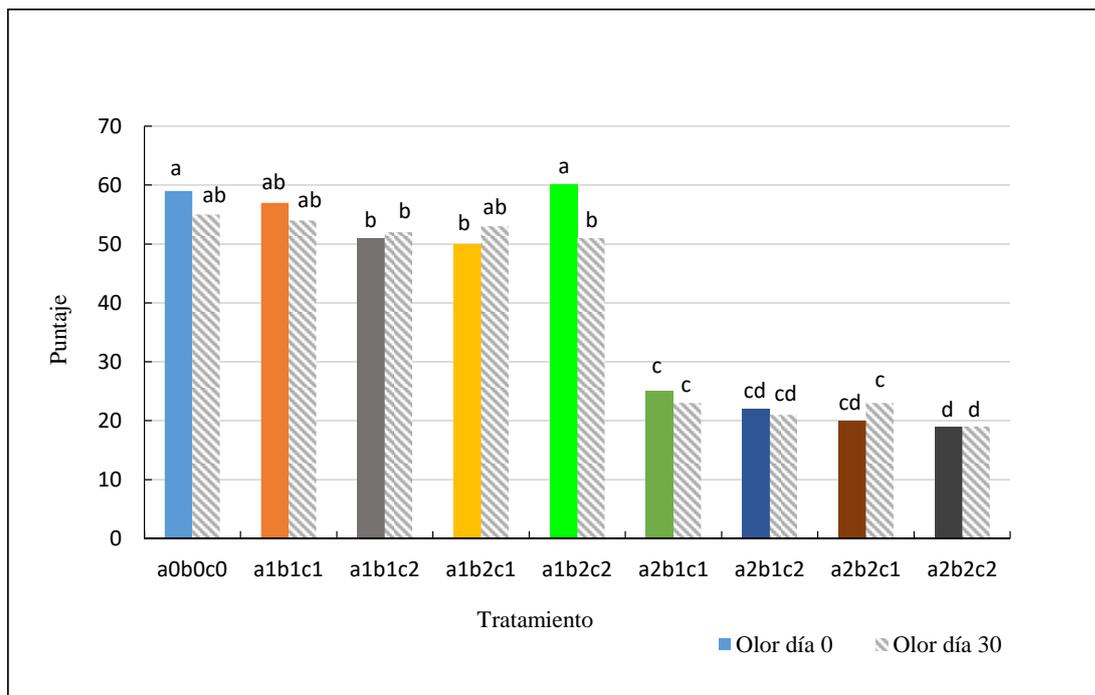


- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina

- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
 T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
 T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
 T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
 T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

El olor de la bebida también fue significativamente diferente entre los tratamientos T0 a T4 y T5 a T8 (Gráfico 12).

Gráfico 12. Valoración del olor de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.



- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
 T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
 T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
 T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
 T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
 T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
 T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
 T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
 T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

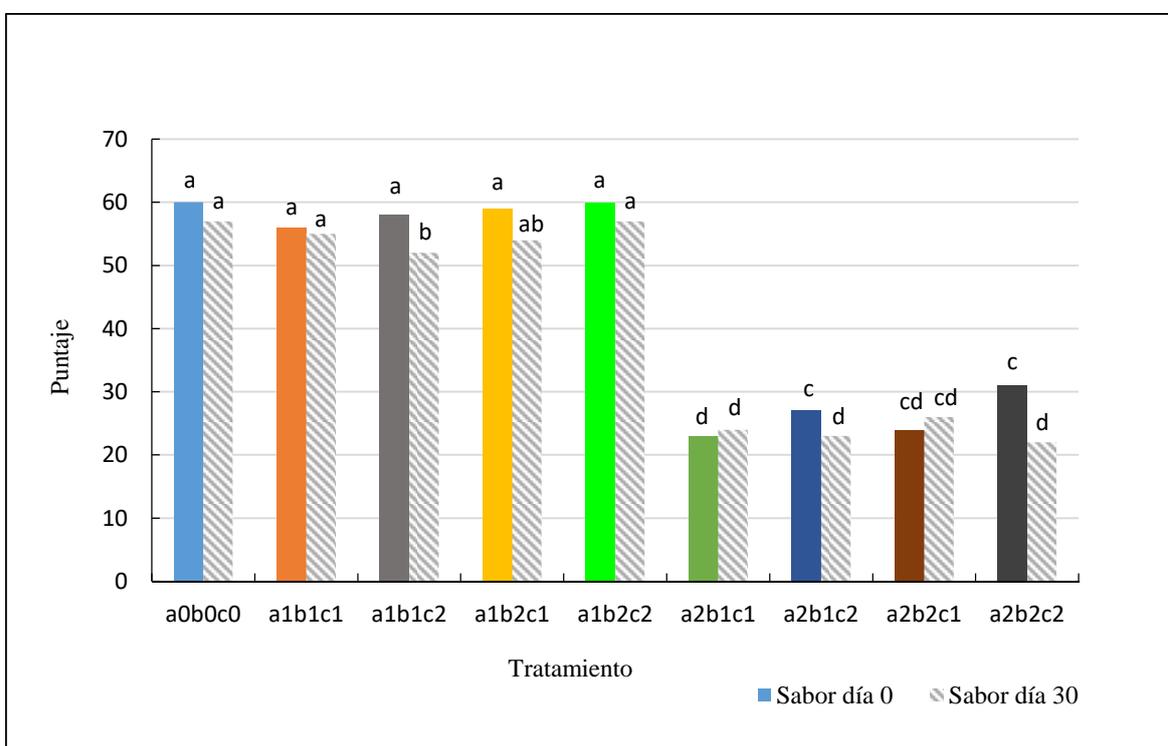
Como se observa en este gráfico (Gráfico 12), en el caso de los tratamientos T0 a T4 el aroma obtuvo las puntuaciones más altas, correspondientes a los atributos: intenso característico y característico de leche acidificada; los tratamientos T5 a T8 presentaron puntuaciones más bajas correspondientes a: aroma ligero acidificado, sin olor, o extraño no característico. El aroma observado en los tratamientos T5 a T8, podría estar relacionado con el uso del cultivo no convencional *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*, siendo interesante

investigar qué tipo de ácidos o ésteres se han producido durante la incubación y el almacenamiento, pues, aunque al parecer se han generado en pequeña cantidad, no parecen ser habituales en este tipo de bebidas.

Sobresalen los tratamientos T4 y T0, al inicio del almacenamiento, como las bebidas más aromáticas de todo el estudio, siendo estas: el yogur comercial y el yogur elaborado con *L. bulgaricus* - *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 % - pectina (0,34 %), respectivamente.

En cuanto al sabor, esta característica fue similar entre el yogur comercial (tratamiento T0) y la bebida elaborada con los 4 primeros tratamientos del diseño experimental (tratamientos T1 a T4), alcanzando todas estas muestras, el puntaje más alto en sabor al inicio del almacenamiento (Gráfico 13).

Gráfico 13. Valoración del sabor de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.

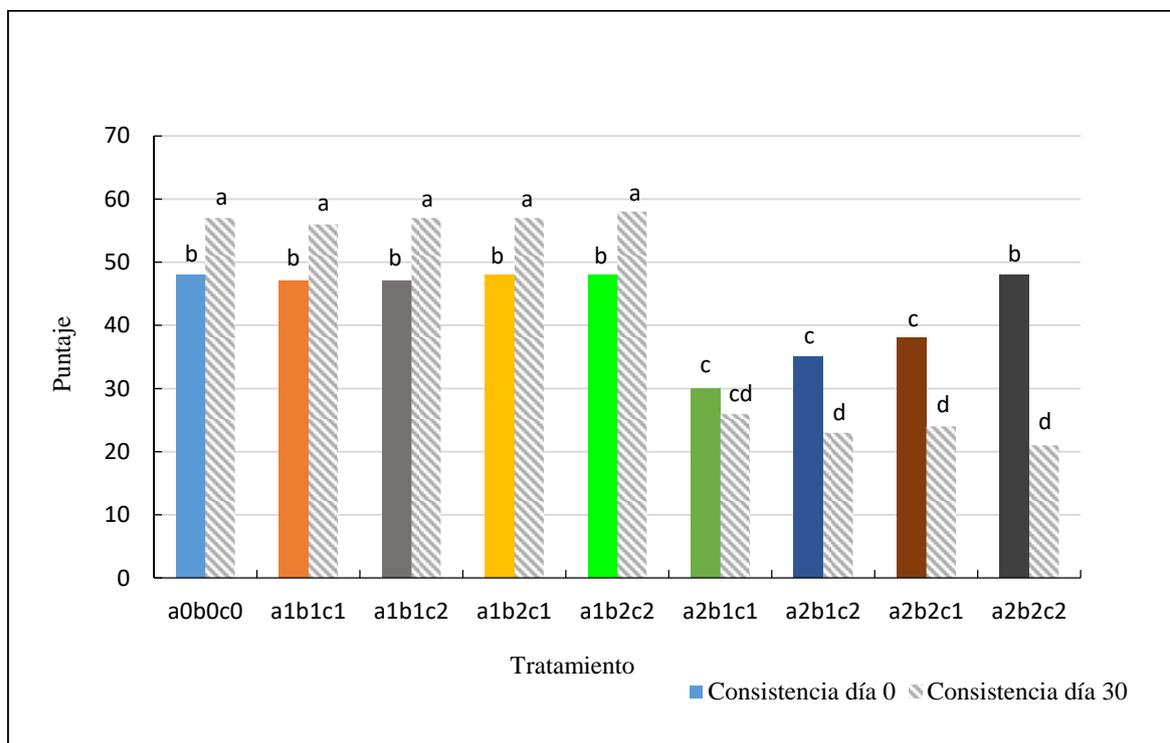


- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
- T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

El sabor menos agradable se observó en la bebida elaborada con los 4 últimos tratamientos (T5 a T8), lo cual sugiere que *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p., en la menor y mayor dosis probada, con y sin pectina cítrica, producen al parecer, compuestos adicionales que influyen negativamente sobre el sabor del producto; siendo recomendable usar este cultivo y algún tipo de saborizante, aromatizante o fruta que pueda mejorar tanto el sabor como el aroma del producto final (Gráfico 13).

Por otro lado; la consistencia o viscosidad de la bebida elaborada con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, fue similar a la consistencia lograda al emplear el cultivo de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. en su mayor dosis (0,012 %) y con pectina cítrica (0,34 %) (Gráfico 14).

Gráfico 14. Valoración de la consistencia de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.

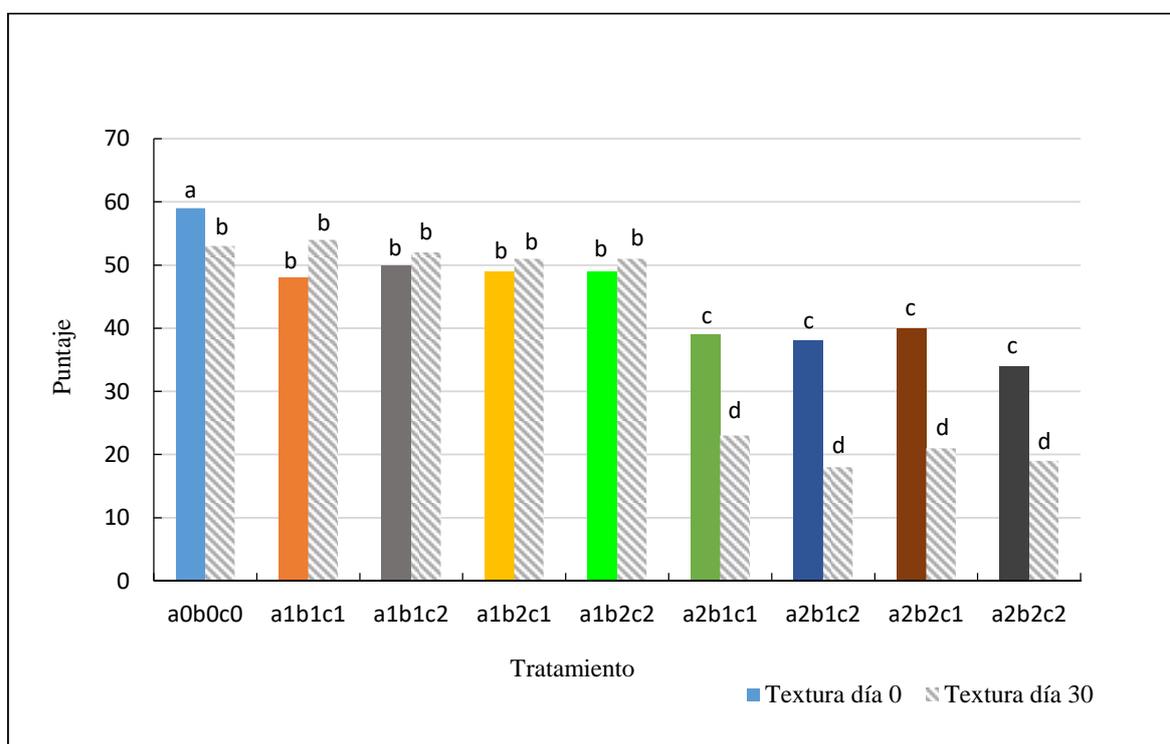


- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

Es decir, se observa aún más el beneficio de utilizar este prebiótico en bebidas fermentadas con *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*, puesto que además de generar una mayor producción de ácido láctico (acelerar o aumentar la fermentación), la bebida se vuelve más viscosa y consistente; pero este efecto se hace visible, solo cuando el cultivo se utiliza en dosis en torno al 0,012 % o mayores.

La calidad de la textura, o brillo de la superficie de la bebida, se calificó desde suave/aterciopelada (mayor puntaje) o grumosa/con mucho suero (menor puntaje), obteniendo la mayor puntuación en el yogur comercial (T0) (Gráfico 15), quizá debido a que, en la industria, esta bebida generalmente se elabora con adición de leche en polvo y otros estabilizantes (gomas o almidones) que ayudan a mejorar la viscosidad y textura del producto.

Gráfico 15. Calidad de la textura (superficie) de la bebida percibida por los catadores.

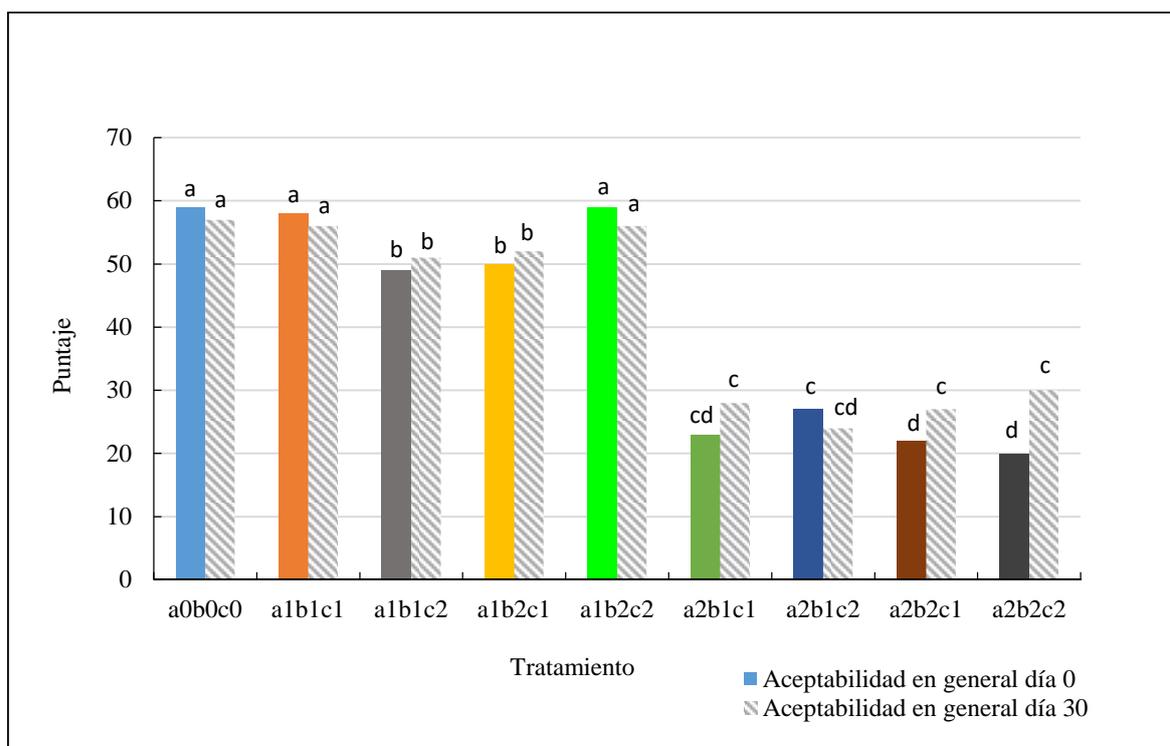


- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
- T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

Seguida de la bebida comercial, en cuanto a textura, se ubicó la bebida elaborada con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (T1 a T4), y luego la bebida elaborada con *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (T5 a T8) (Gráfico 5). Llama la atención el hecho de que, esta textura en los tratamientos T5 a T8, luego de los 30 días de almacenamiento, presentó más grumosidad o separación de fases, lo cual puede deberse al efecto de los compuestos adicionales producidos durante la fermentación llevada a cabo por *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p.; por lo que sería recomendable volver a probarlo con pectina en la dosis de 0,34% y enriquecimiento de sólidos lácteos y en combinación con otros estabilizantes.

Finalmente, la aceptabilidad general fue mayor en el yogur comercial (T0) y en la bebida elaborada con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* en su menor dosis - sin pectina (T1), y en su mayor dosis - con pectina (T4) (Gráfico 16); no obstante, las características sensoriales de la bebida elaborada con *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (T5 a T8), podrían mejorar aplicando las recomendaciones de formulación, señaladas en líneas anteriores.

Gráfico 16. Aceptabilidad general de la bebida al inicio y al final del almacenamiento.



- T0: a0b0c0: Yogur comercial (solo considerado para el análisis sensorial)
- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
- T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
- T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
- T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
- T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p. (37 °C) al 0,006 %, sin pectina

- T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

4.3 Selección del mejor tratamiento.

En la elaboración de una bebida fermentada es de gran interés: reducir los tiempos de procesamiento, mantener la acidez ideal hasta el final del tiempo de almacenamiento (vida útil promedio) y lograr las mejores características sensoriales. En atención a esto, la [Tabla 14](#), muestra el tiempo de incubación necesario, para lograr la reducción de acidez deseada, la acidez observada a los 30 días de almacenamiento, y la aceptabilidad general de las 9 bebidas en estudio (T0 a T8).

Como se puede observar en esta tabla, la mayor velocidad del proceso fermentativo (mayor producción de ácido láctico, en el menor tiempo de incubación), se logró al aplicar los tratamientos T2 a T4, seguidos de los tratamientos T1 y T8.

Por otro lado, en cuanto a la acidez al final del almacenamiento, todas las bebidas elaboradas en este trabajo mantuvieron una acidez en torno al estándar exigido por la normativa nacional [NTE INEN 2 395 \(2011\)](#) para bebidas lácteas fermentadas tipo yogur (0,75 a 0,80 % de ác. láctico). No obstante, las bebidas que cumplieron con mayor exactitud este requisito, fueron las elaboradas según los tratamientos T3 y T8.

La aceptabilidad, fue mayor en los tratamientos T0, T1 y T4, seguidos de los tratamientos: T2 y T3.

Por lo tanto, los mejores tratamientos según los parámetros fermentativos y sensoriales de esta bebida, serían los tratamientos: T3 (a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina) y T8 (a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)), pudiendo mejorar la aceptabilidad de este último (T8), empleando mezclas que ayuden a mejorar su aroma y sabor.

Tabla 8. Tiempo de incubación, acidez final y aceptabilidad de la bebida.

Tratamiento		Incubación		Almacenamiento (30 días)	Aceptabilidad (30 días)
Nº	Código	Acidez final (% ác. láctico)	Tiempo (h)	Acidez final (% ác. láctico)	Puntaje total (máx. 60 puntos)
T0	a0b0c0	57,50 ± 0,707 ^a
T1	a1b1c1	0,68 ± 0,007 ^a	6	0,73 ± 0,007 ^c	56,50 ± 0,707 ^a
T2	a1b1c2	0,71 ± 0,014 ^a	4	0,86 ± 0,014 ^a	50,00 ± 1,414 ^b
T3	a1b2c1	0,70 ± 0,007 ^a	4	0,77 ± 0,021 ^b	51,50 ± 0,707 ^b
T4	a1b2c2	0,72 ± 0,014 ^a	4	0,88 ± 0,014 ^a	56,00 ± 0,000 ^a
T5	a2b1c1	0,49 ± 0,014 ^c	7	0,68 ± 0,014 ^c	28,50 ± 0,707 ^c
T6	a2b1c2	0,58 ± 0,007 ^b	6	0,74 ± 0,007 ^c	23,00 ± 1,414 ^d
T7	a2b2c1	0,60 ± 0,007 ^b	6	0,72 ± 0,007 ^c	27,50 ± 0,707 ^c
T8	a2b2c2	0,66 ± 0,014 ^a	6	0,77 ± 0,028 ^b	30,75 ± 1,061 ^c

Medias ± desviación estándar de dos observaciones. Medias con diferentes letras a–d denotan diferencia significativa ($p < 0.05$) en la misma columna.

- T1: a1b1c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, sin pectina
T2: a1b1c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34 %)
T3: a1b2c1: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, sin pectina
T4: a1b2c2: *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* (44 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34 %)
T5: a2b1c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, sin pectina
T6: a2b1c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,006 %, con pectina (0,34%)
T7: a2b2c1: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, sin pectina
T8: a2b2c2: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.* (37 °C) al 0,012 %, con pectina (0,34%)

CAPITULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones.

- Se ha determinado el efecto fermentativo y sensorial, al usar *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p.*, y pectina cítrica observado al elaborar una bebida simbiótica. El uso de este cultivo, requiere de un mayor tiempo de incubación para llegar al pH deseado, en comparación a lo que sucede cuando se usa el cultivo habitual (*L. bulgaricus* y *S. thermophilus*); no obstante, la adición de pectina al parecer contribuye a reducir el tiempo de incubación. Sensorialmente el sabor y aroma generado por este cultivo podría deberse a la producción de ácidos y compuestos volátiles a los cuales el consumidor no está acostumbrado, recomendando su uso en combinación con frutas o saborizantes naturales.
- Durante la incubación y el almacenamiento se pudo observar la mayor reducción de pH en menor tiempo al usar *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* en su mayor dosis (0,012 %) y con pectina (T4), efecto quizá debido a una hidrólisis parcial de la pectina (y por consiguiente mayor fermentación de monómeros), y a su efecto prebiótico, que parece ser mayor con estas cepas.
- En base al análisis se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa, es decir: “*El tipo de probiótico, dosis del cultivo y presencia de prebiótico (pectina cítrica), influye sobre el proceso fermentativo y las características sensoriales de la bebida láctea elaborada (H1)*”. Se han seleccionado los tratamientos T2 y T4 como los de mayor puntaje en el análisis sensorial, con características muy similares a las del yogur comercial empleado como estándar. El último tratamiento (T8: *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p* al 0,012 %, con pectina), puede mejorar su aceptabilidad potenciando su sabor y aroma con alguna fruta.

La información proporcionada en este estudio sobre el efecto fermentativo y sensorial, del uso de este cultivo en presencia de pectina cítrica, no se ha reportado hasta el momento, siendo de gran utilidad para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales.

Recomendaciones.

- Determinar el tiempo de vida útil de la bebida elaborada
- Analizar mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC), el tipo y cantidad de compuestos volátiles, formados durante la fermentación al emplear *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium* s. p., con y sin pectina cítrica.
- Analizar mediante cromatografía de gases (GC), la cantidad de pectina en la bebida al final del tiempo de almacenamiento, pues para que el producto tenga un mayor potencial funcional, convendría que no toda la pectina se haya hidrolizado durante la incubación y almacenamiento.
- Determinar el efecto *in vivo*, derivado del consumo de esta bebida, a fin de conocer con mayor exactitud el beneficio que pueda aportar a la salud.

BIBLIOGRAFÍA

- Agoda-Tandjawa, G.; Durand, S.; Gaillard, C.; Garnier, C.; Doublier, J.L. Properties of cellulose/pectins composites: Implication for structural and mechanical properties of cell wall. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 90, 1081–1091.
- Aridilla, J., Palla, R (2007) Los probióticos y su importante función en la alimentación, *J Nutr* 12(1): 4-8
- Alatraste, K. J. 2002. Efecto de la adición de fibra y calcio en un yogurt con sabor. *Tesis de Licenciatura. UDLA. Puebla – México.*
- Badui, S. (2006). Química de los alimentos. 4ta edición: Leche. Editorial Pearson Educación, México.
- Chen, M., Ye, X., Shen, D., & Ma, C. (2019). Modulatory effects of gut microbiota on constipation: The commercial beverage yakult shapes stool consistency. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 25(3), 475–477.
- Chopra, L., Singh, G., Jena, K.K., & Sahoo, D.K. (2015). Sonorensin: a new bacteriocin with potential of an anti-biofilm agent and a food biopreservative. *Scientific reports*. 5,13412.
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S.J., Berenjian, A., & Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. Review. *Foods*. 8(3) 8030092.
- Darvishi, N., Fard, N. A. & Sadrnia, M. (2021). Genomic and proteomic comparisons of bacteriocins in probiotic species *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* and inhibitory ability of *Escherichia coli* MG 1655. *Biotechnology reports*. 31, e00654.

- Delgado F. R. (2013). Esquematización de los mecanismos de acción de los probióticos en el tracto intestinal. *Probióticos y salud Humana*. http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol19_supl2_2013/rev/t-15
- Di Caro, S., Tab, H., Grillo, A., Elia, C., Gasbarrini, G., Sepulveda, A. R., & Gasbarrini, A. (2005). Effects of Lactobacillus GG on genes expression pattern in small bowel mucosa. *Digestive and Liver Disease*, 37(5), 320–329.
- FAO. (2016). Estudio de Mercado “Sector de la leche en el Ecuador”. Accedido en 22 de junio del 2021: <https://www.scpm.gob.ec/sitio/wp-content/uploads/2019/03/VP-ESTUDIO-DE-LA-LECHE.pdf>
- FAO & WHO. (2011). Milk and Milk products. Codex Alimentarius. 2nd ed. Rome, Italy. 1-248.
- FAO & WHO. (2016). Residue Monograph prepared by the meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 82nd meeting 2016. Pectins. Accedido en 8 de enero de 2022: <https://www.fao.org/3/bq695e/bq695e.pdf>
- FAO (2021). Portal lácteo. Accedido en 22 de junio de 2021: <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/tipos-y-caracteristicas/es/>
- Ferre, S.J.J. (2021). Informe de Microeconomía- Industrias Lácteas Toni S. A. Accedido en 29 de junio de 2021: <https://xdocs.cz/doc/industrias-lacteas-toni-sa-vo9mjyve0d8j>
- Ferreira-Lazarte, A.; Kachrimanidou, V.; Villamiel, M.; Rastall, R.A.; Moreno, F.J. (2018). In vitro fermentation properties of pectins and enzymatic-modified pectins obtained from different renewable bioresources. *Carbohydrate Polymers*.199, 482–491.
- García-Burgos, M., Moreno-Fernández, J., Alférez, M.J.M., Díaz-Castro, J., & López-Aliaga, I. (2020). New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods*. 72, 104059.

- Gavilanes, P. (2016). La leche, un alimento indispensable según la FAO. Diario El Comercio. Accedido en 22 de junio de 2021: <https://www.elcomercio.com/tendencias/sociedad/leche-alimento-fao-nutricion-salud.html>
- Gibson, G.R.; Scott, K.P.; Rastall, R.A.; Tuohy, K.M.; Hotchkiss, A.; Dubert-Ferrandon, A.; Gareau, M.; Murphy, E.F.; Saulnier, D.; Loh, G.; Macfarlane, S., Delzenne, N., Ringel, Y., Kozianowski, G., Dickmann, R., Lenoir-Wijnkoop, I., Walker, C., & Buddington, R. (2010). Dietary prebiotics: Current status and new definition. *Food Science and Technology. Bulletin: Functional Foods*. 7, 1–19.
- Gomes, A.M., Malcata, F.X., Klaver, F.A. (1998). Growth enhancement of *Bifidobacterium lactis* Bo and *Lactobacillus acidophilus* Ki by milk hydrolyzates. *Journal of Dairy Science*. 81(11), 2817–2825.
- González, D.V. 2000 Análisis del desarrollo de la fase reproductiva y determinación de parámetros de recolección de la carambola (*Averrhoa carambola* L.) Tesis (pregrado). Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas ‘SINCHI’. Bogotá.
- Guarner, F., Malagelada, J.-R. (2003). Gut flora in health and disease. *The Lancet*. 361(9356), 512–519.
- Hirano, R., Hirano, M., Oooka, M., Dosako, S., Nakajima, I. & Igoshi, K. 1998. Lactoperoxidase effects on rheological properties of yogurt. *J. Food Science*. 63(1):35-38
- Harholt, J., Suttangkakul, A., & Vibe Scheller, H. (2010). Biosynthesis of pectin. *Physiologia Plantarum*, 129, 283–295.
- Howlett, J.F., Betteridge, V.A., Champ, M., Craig, S.A., Meheust, A., & Jones, J.M. (2010). The definition of dietary fiber-discussions at the ninth vahouny fiber symposium: Building scientific agreement. *Food & Nutrition Research*. 54, 5750.

- Iriberrri, A. & Chr-Hansen. (2014). Los defectos más comunes en los yogures y sus posibles soluciones. *Tecnolácteos*. Accedido en 29 de junio del 2021: <https://www.tecnolacteoscarnicos.com/resumen/2014/p2.pdf>
- Jay, J.M. (2000). *Modern food microbiology*. 6th edition, Aspen publication, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Jicheng, W., Zhuang, G. U. O., Qing, Z., Liya, Y. A. N., Yongfu, C., Xia, C., Xiao-Ming, L. I. U., Wei, C., & He-Ping, Z. (2010). Effect of probiotic *Lactobacillus casei* on fermentation characteristics of set yogurt. *International Journal of Dairy Technology*. 63(1), 105-112.
- Kaya, M.; Sousa, A.G.; Crépeau, M.-J.; Sorensen, S.O.; Ralet, M.-C. (2014). Characterization of citrus pectin simples extracted under different conditions: Influence of acid type and pH of extraction. *Annals of Botany*. 114, 1319–1326.
- Langhendries, J.P., Van Hees, J.D.J., Lamboray, J.M., Darimont, J., Mozin, M.J., Secretin, M.C., & Senterre, J. (1995). Effect of a fermented infant formula containing viable bifidobacteria on the fecal flora composition and pH of healthy full-term infants. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 21(2), 177–181.
- Lavrentev, F.V., Ashikhmina, M.S., Ulasevich, S.A., Morozova, O.V., Orlova, O.Y., Skorb, E.V., & Iakovchenko, N.V. (2021). Perspectives of *Bacillus coagulans* MTCC 5856 in the production of fermented dairy products. *LWT*. 148, 111623.
- Lebeer, S., Claes, I., Tytgat, H. L. P., Verhoeven, T. L. A., Marien, E., von Ossowski, I., ... Vanderleyden, J. (2012). Functional Analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG Pili in Relation to Adhesion and Immunomodulatory Interactions with Intestinal Epithelial Cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(1), 185–193.
- Ludwig, I. S., Broere, F., Manurung, S., Lambers, T. T., van der Zee, R., & van Eden, W. (2018). *Lactobacillus rhamnosus* GG-Derived Soluble Mediators Modulate Adaptive Immune Cells. *Frontiers in Immunology*, 9(1), 1546–1552.

- Mendoza, Aida., Neira, Marisol (2013) Evaluación de la pulpa concentrada de carambola (*averrhoa carambola l.*) A tres concentraciones de azúcar y dos temperaturas para la elaboración del yogurt frutado. Universidad nacional del centro del Perú facultad de ciencias agrarias. 9-14
- Mordor Intelligence (2021). Yogurt market - growth, trends, Covid-19 impact, and forecasts 2021 – 2026. Accessed on: 22 june 2021: <https://www.mordorintelligence.com/about>
- Morales, T (2008), determinación del yogurt frutado fresa a dos concentraciones de azúcar y dos temperaturas diferentes. (tesis para optar el título de ingeniería agroindustrial).
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 395 (2011). Leche fermentada. Requisitos.
- OCLA – Observatorio de la Cadena Láctea Argentina. (2021). Evolución de la producción mundial de la leche. Informes noticias. Accedido en 22 de junio del 2021: <https://www.ocla.org.ar/contents/news/details/18123105-evolucion-de-la-produccion-mundial-de-leche>
- Ordoñez, J. A. (1998). Tecnología de los alimentos, volumen II: Alimentos de origen animal. Editorial Síntesis S.A, Madrid (España).
- Ovalles Acosta, J.C, Gisbert Soler, V. y Pérez Molina, A.I. (2017). Herramientas para el análisis de causa raíz (ACR). *3C Empresa: investigación y pensamiento crítico*, Edición Especial, 1-9.
- Palacios, O. (2006). Tesis: "aplicación del e- 421 manito/ como edulcorante en la elaboración de yogurt bajo en calorías". Piura- Perú.
- Pacheco, M. T., Moreno, F. J., & Villamiel, M. (2018a). Chemical and physicochemical characterization of orange by-products derived from industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(August 2017), 868–876.

- Pacheco, M. T., Vezza, T., Diez-Echave, P., Utrilla, P., Villamiel, M., & Moreno, F. J. (2018b). Anti-inflammatory bowel effect of industrial orange by-products in DSS-treated mice. *Food & Function*, 4888–4896.
- Pacheco, M. T., Villamiel, M., Moreno, R., & Moreno, F. J. (2019). Structural and rheological properties of pectins extracted from industrial sugar beet by-products. *Molecules*, 24(3), 392.
- Peng, S., Yang, Y., Li, S., Wu, Q., Shah, N. P., Wei, H., & Xu, F. (2014). Immunomodulatory activities of *Lactobacillus rhamnosus* ZDY114 and donkey milk in BALB/c mice. *International Dairy Journal*, 34(2), 263–266.
- Reyes, J., Ludeña, F. (2015). Evaluación de las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de un yogur elaborado con sucralosa y estevia. *Revista Politécnica*. 36 (2).
- Rivas, A. (2000). Efecto de la adición de calcio en las propiedades físicoquímicas y sensoriales de dos tipos de yogurt. *Tesis de Maestría. UDLA*. Puebla, México.
- Romero, S., & Mestres, J. (2004) Productos lácteos-Tecnología. *Upc Editorial*.
- Ruiz, J., Ramírez, A. (2008). Elaboración de yogurt con probióticos (*Bifidobacterium spp.* Y *Lactobacillus acidophilus*) E INULINA. *Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela*
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 5, 1417–1435.
- Spreer, E. (1996). Lactología industrial. 2da edición: Leche, preparación y elaboración de productos lácteos. Editorial Acribia S.A, Zaragoza (España) 1996.
- Tamime, A., & Robinson, R. (1991). Yogurt: Ciencia y Tecnología. Zaragoza: Acribia.

- Visioli, F., & Strata, A. (2014). Milk, dairy products, and their functional effects in humans: a narrative review of recent evidence. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 5(2), 131–143.
- Yan, F., Cao, H., Cover, T. L., Washington, M. K., Shi, Y., Liu, L., ... Polk, D. B. (2011). Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGFR-dependent mechanism. *Journal of Clinical Investigation*, 121(6), 2242–2253.
- Yildiz, F. (2010). Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. Florida: *CRC Press*.
- Yoha, K.S., Nida, S., Dutta, S., Moses, J.A., & Anandharamakrishnan, C. (2021). Targeted Delivery of Probiotics: Perspectives on Research and Commercialization. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2021.
- Yoo, H.-D., Kim, D.-J., Paek, S.-H., & Oh, S.-E. Plant cell wall polysaccharides as potential resources for the development of novel prebiotics. *Biomolecules & Therapeutics*. 20, 371–379.
- Zamora Utset, E. (2008). Evaluación objetiva de la calidad sensorial de alimentos procesados. Ciudad de La Habana, Cuba: Editorial Universitaria. Recuperado de <https://elibro.net/es/lc/uteg/titulos/71342>

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza para los resultados de pH.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,58	7	0,65	5239,06	<0,0001
Factor A	2,84	1	2,84	22713,80	<0,0001
Factor B	0,25	1	0,25	1960,20	<0,0001
Factor C	1,16	1	1,16	9245,00	<0,0001
Factor A*Factor B	0,09	1	0,09	696,20	<0,0001
Factor A*Factor C	0,05	1	0,05	405,00	<0,0001
Factor B*Factor C	0,16	1	0,16	1248,20	<0,0001
Factor A*Factor B*Factor C..	0,05	1	0,05	405,00	<0,0001
Error	1,0E-03	8	1,3E-04		
Total	4,59	15			

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4,584	7	0,6549	5239,057	5,306E-14	3,500
Dentro de los grupos	0,001	8	0,0001			
Total	4,585	15				

Anexo 2. Análisis de varianza para los resultados de °Brix.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14,42	7	2,06	36629,06	<0,0001
Factor A	14,31	1	14,31	254352,11	<0,0001
Factor B	0,01	1	0,01	186,78	<0,0001
Factor C	0,08	1	0,08	1369,00	<0,0001
Factor A*Factor B	1,8E-03	1	1,8E-03	32,11	0,0005
Factor A*Factor C	0,02	1	0,02	441,00	<0,0001
Factor B*Factor C	7,6E-04	1	7,6E-04	13,44	0,0063
Factor A*Factor B*Factor C..	5,1E-04	1	5,1E-04	9,00	0,0171
Error	4,5E-04	8	5,6E-05		
Total	14,42	15			

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	14,423	7	2,060	36629,063	2,223E-17	3,500
Dentro de los grupos	0,000	8	5,625E-05			
Total	14,423	15				

Anexo 3. Análisis de varianza de un factor para los resultados de Acidez.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	7	0,01	215,90	<0,0001
Factor A	0,02	1	0,02	560,67	<0,0001
Factor B	2,5E-03	1	2,5E-03	66,67	<0,0001
Factor C	0,03	1	0,03	726,00	<0,0001
Factor A*Factor B	1,0E-04	1	1,0E-04	2,67	0,1411
Factor A*Factor C	0,01	1	0,01	150,00	<0,0001
Factor B*Factor C	1,0E-04	1	1,0E-04	2,67	0,1411
Factor A*Factor B*Factor C..	1,0E-04	1	1,0E-04	2,67	0,1411

Error	3,0E-04	8	3,8E-05
Total	0,06	15	

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0567	7	0,008096	215,905	1,784E-08	3,500
Dentro de los grupos	0,0003	8	0,000038			
Total	0,0570	15				

Anexo 4. Análisis de varianza para los resultados de color

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2244,44	8	280,56	157,81	<0,0001
Factor A	2194,94	2	1097,47	617,33	<0,0001
Factor B	20,25	1	20,25	11,39	0,0082
Factor C	6,25	1	6,25	3,52	0,0935
Factor A*Factor B	2,25	1	2,25	1,27	0,2897
Factor A*Factor C	20,25	1	20,25	11,39	0,0082
Factor B*Factor C	0,25	1	0,25	0,14	0,7163
Factor A*Factor B*Factor C..	0,25	1	0,25	0,14	0,7163
Error	16,00	9	1,78		
Total	2260,44	17			

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2435,4	8	304,431	33,618	8,157E-06	3,230
Dentro de los grupos	81,5	9	9,056			
Total	2516,9	17				

Anexo 5. Análisis de varianza para los resultados de olor.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3712,44	8	464,06	232,03	<0,0001
Factor A	3556,94	2	1778,47	889,24	<0,0001
Factor B	20,25	1	20,25	10,13	0,0111
Factor C	2,25	1	2,25	1,13	0,3165
Factor A*Factor B	42,25	1	42,25	21,13	0,0013
Factor A*Factor C	30,25	1	30,25	15,13	0,0037
Factor B*Factor C	30,25	1	30,25	15,13	0,0037
Factor A*Factor B*Factor C..	30,25	1	30,25	15,13	0,0037
Error	18,00	9	2,00		
Total	3730,44	17			

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4829	8	603,63	83,579	1,551E-07	3,230
Dentro de los grupos	65	9	7,22			
Total	4894	17				

Anexo 6. Análisis de varianza de un factor para los resultados de sabor.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4264,00	8	533,00	266,50	<0,0001
Factor A	4212,50	2	2106,25	1053,13	<0,0001
Factor B	2,25	1	2,25	1,13	0,3165
Factor C	12,25	1	12,25	6,13	0,0353
Factor A*Factor B	6,25	1	6,25	3,13	0,1109
Factor A*Factor C	12,25	1	12,25	6,13	0,0353
Factor B*Factor C	6,25	1	6,25	3,13	0,1109
Factor A*Factor B*Factor C..	12,25	1	12,25	6,13	0,0353
Error	18,00	9	2,00		
Total	4282,00	17			

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4525	8	565,625	55,941	9,026E-07	3,230
Dentro de los grupos	91	9	10,111			
Total	4616	17				

Anexo 7. Análisis de varianza de un factor para los resultados de textura (superficie).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4580,00	8	572,50	286,25	<0,0001
Factor A	4538,50	2	2269,25	1134,63	<0,0001
Factor B	6,25	1	6,25	3,13	0,1109
Factor C	20,25	1	20,25	10,13	0,0111
Factor A*Factor B	2,25	1	2,25	1,13	0,3165
Factor A*Factor C	6,25	1	6,25	3,13	0,1109
Factor B*Factor C	6,25	1	6,25	3,13	0,1109
Factor A*Factor B*Factor C..	0,25	1	0,25	0,13	0,7318
Error	18,00	9	2,00		
Total	4598,00	17			

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2140	8	267,50	3,151	0,053	3,230
Dentro de los grupos	764	9	84,88			
Total	2904	17				

Anexo 8. Análisis de varianza para los resultados de consistencia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5017,78	8	627,22	313,61	<0,0001
Factor A	4987,78	2	2493,89	1246,94	<0,0001
Factor B	1,00	1	1,00	0,50	0,4974
Factor C	4,00	1	4,00	2,00	0,1909
Factor A*Factor B	9,00	1	9,00	4,50	0,0629
Factor A*Factor C	16,00	1	16,00	8,00	0,0198
Factor B*Factor C	0,00	1	0,00	0,00	>0,9999
Factor A*Factor B*Factor C..	0,00	1	0,00	0,00	>0,9999
Error	18,00	9	2,00		
Total	5035,78	17			

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2140	8	267,50	3,151	0,053	3,230
Dentro de los grupos	764	9	84,89			
Total	2904	17				

Anexo 9. Análisis de varianza para los resultados de aceptabilidad.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3372,00	8	421,50	237,09	<0,0001
Factor A	3293,00	2	1646,50	926,16	<0,0001
Factor B	9,00	1	9,00	5,06	0,0510
Factor C	1,00	1	1,00	0,56	0,4724
Factor A*Factor B	4,00	1	4,00	2,25	0,1679
Factor A*Factor C	0,00	1	0,00	0,00	>0,9999
Factor B*Factor C	64,00	1	64,00	36,00	0,0002
Factor A*Factor B*Factor C..	1,00	1	1,00	0,56	0,4724
Error	16,00	9	1,78		
Total	3388,00	17			

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
---------------------------	-------------------	--------------------	---------------------------	---	--------------	----------------------

Entre grupos	2140	8	267,50	3,151	0,053	3,230
Dentro de los grupos	764	9	84,89			
Total	2904	17				

Anexo N° 10. Formato de la ficha de cata empleada para el análisis sensorial.



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN
CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Análisis sensorial de una bebida láctea fermentada

Luego de analizar las muestras proporcionadas de yogur natural, sírvase marcar con una X la opción que mejor represente su percepción acerca del producto correspondiente.

Puntaje	Color	Muestra N°									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	Grisáceo, verdoso										
2	Amarillento										
3	Blanco amarillento										
4	Blanquecino										
5	Natural de la leche										

Puntaje	Olor	Muestra N°									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	Extraño-no característico										
2	Sin olor										
3	Ligero acidificado										
4	Característico de leche acidificada										
5	Intenso característico										

Puntaje	Sabor	Muestra N°									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	Extraño-no característico										
2	Nada ácido										
3	Casi sin acidez										
4	Ligeramente ácido										
5	Ácido característico										

Puntaje	Consistencia	Muestra N°									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	Con separación de suero										
2	Con ligera separación de suero										
3	Fluido										
4	Ligeramente firme										
5	Aflanado, casi cortable										

Puntaje	Textura/Superficie	Muestra N°								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
1	Grumosa-con mucho suero									
2	Grumosa-con separación de suero									
3	Grumosa									
4	Ligeramente brillante									
5	Suave aterciopelada									

Puntaje	Aceptabilidad general	Muestra N°								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
1	Disgusta mucho									
2	Disgusta									
3	Ni gusta ni disgusta									
4	Gusta									
5	Gusta mucho									

Observaciones:

¡Gracias por su colaboración!

Elaborado por: Génesis Quishpe y M. Teresa Pacheco, 2021.

Anexo N° 11. Fotografías tomadas durante la elaboración y el análisis de la bebida láctea fermentada.

Elaboración de la bebida, análisis fisicoquímicos.



Fermento concentrado de *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*



Fermento concentrado de *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium s. p*



Pasteurización de la leche



Medición del fermento y pectina cítrica



Medición del fermento y pectina cítrica



Adición del fermento a los tratamientos



Incubación de los tratamientos del 1 al 4 con temperatura de 44°C



Incubación de los tratamientos del 5 al 8 con temperatura de 37°C



Almacenamiento de los tratamientos con temperatura de 8°C



Alícuotas para los diferentes análisis



Análisis del pH en los tratamientos



Análisis de °BRIX en los tratamientos



Análisis de la Acidez Titulable en los tratamientos

Anexo N° 12. Fotografías tomadas durante el análisis sensorial de la bebida láctea fermentada.

Análisis sensorial del día 0 de almacenamiento





Análisis sensorial del día 30 de almacenamiento



