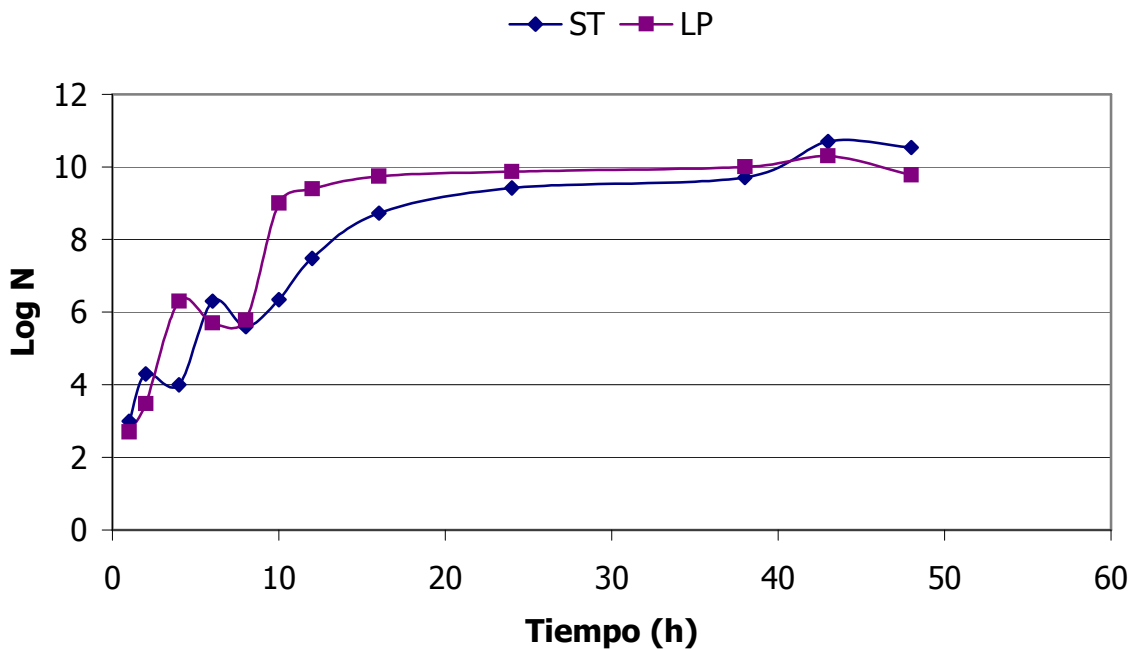


## VI. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1 Curva de crecimiento en sistema modelo

Se observó que la población microbiana aumentó de 3 a 10 ciclos logarítmicos en un periodo de 48 horas. En la figura 4 se muestra la gráfica del crecimiento de *L. plantarum* y *S. thermophilus* en sistema modelo (caldo MRS).



**Figura 4.** Recuentos (UFC/mL) de *S. thermophilus* (ST) y *L. plantarum* (LP) en sistema modelo (caldo MRS) durante la incubación a 37°C.

La curva de crecimiento en sistema modelo (caldo MRS) muestran que hay buena interacción entre el microorganismo iniciador (*S. thermophilus*) y el microorganismo probiótico (*L. plantarum*) ya que no se observó algún efecto inhibitorio durante la etapa de incubación.



## 6.2 Producción de ácido

Empleando el sistema API 50 CH (Metabolismo de hidratos de carbono: *bacilos*, *lactobacilos*), se demostró la producción de ácido a partir de la fermentación de 49 carbohidratos diferentes.

En el apéndice C se muestran los resultados reportados por Santiesteban (2004), utilizando el sistema API 50 para evaluar la capacidad de fermentar carbohidratos de *L. plantarum* y *S. thermophilus*. De acuerdo con resultados reportados, las bacterias utilizadas en este estudio son capaces de fermentar la lactosa. Las respuestas obtenidas para *L. plantarum* varían con respecto a lo reportado por otros autores, ésta diferencia puede deberse a las cepas utilizadas, ya que dependiendo del tamaño de las cadenas de cada especie de microorganismos varía su modo de acción y puede ser causa de la respuesta a la fermentación de diferentes tipos de azúcares. En el caso del *S. thermophilus* no se encontraron resultados similares hasta el momento para realizar una comparación. Con esta prueba se confirma la especie de los microorganismos analizados.

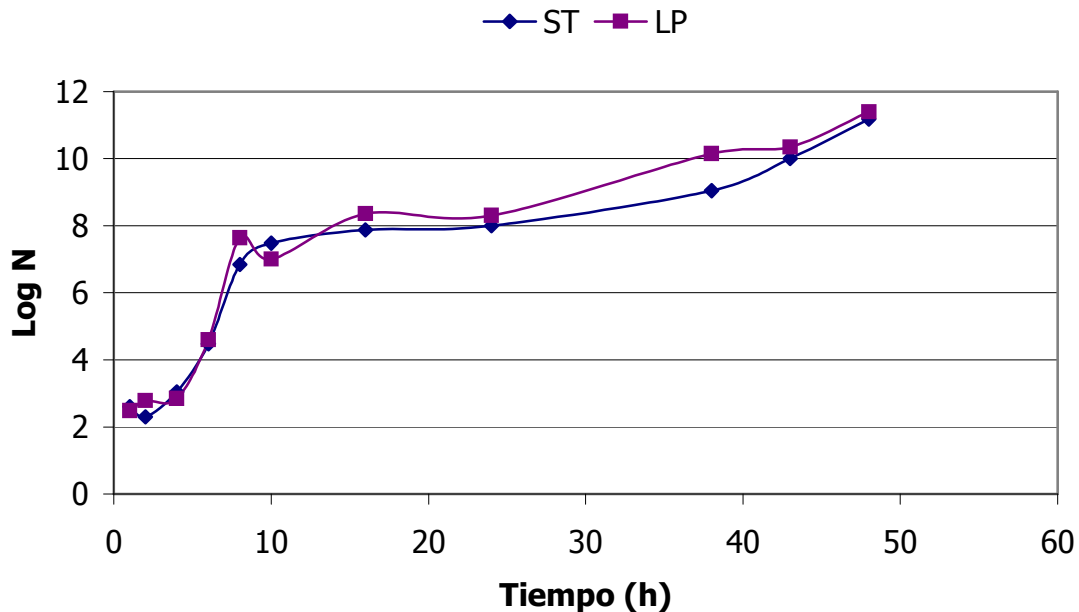
## 6.3 Curva de crecimiento en Leche

La curva de crecimiento en leche se comporta de manera similar a la curva de crecimiento en sistema modelo, sin embargo, mejora el crecimiento de los microorganismos llegando a valores de 11 ciclos logarítmicos en las 48 horas de incubación para ambos microorganismos, con un inóculo inicial que contenía  $10^3$  UFC de cada microorganismo.

Similar al recuento que hubo en el sistema modelo, el crecimiento del cultivo iniciador (*S. thermophilus*) y del microorganismo probiótico (*L. plantarum*) se encuentran con la misma tendencia, por lo que no se muestra ningún efecto inhibitorio y nuevamente se hace presente la afinidad de los microorganismos.

---

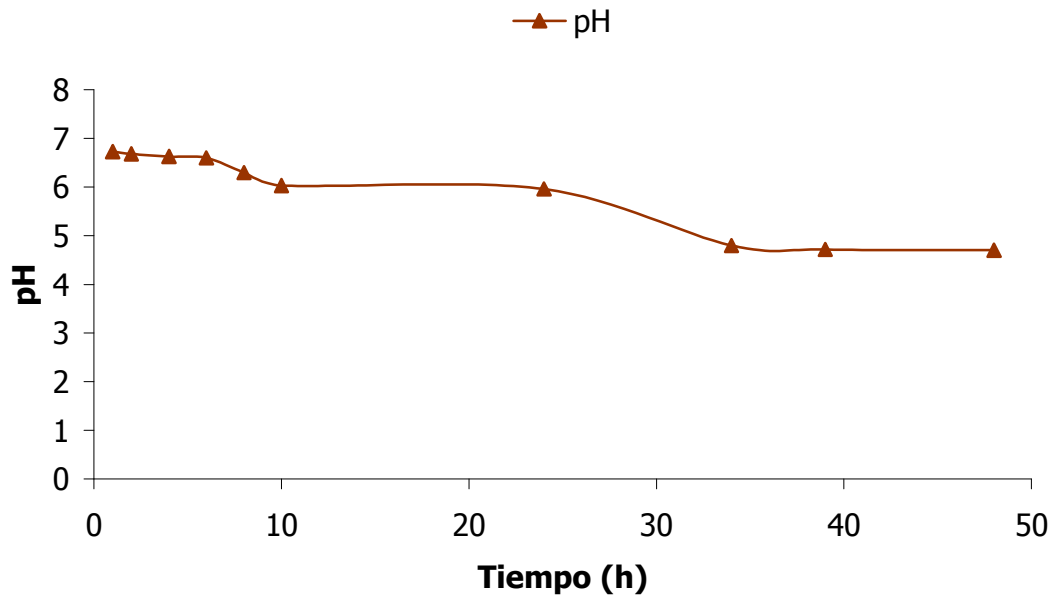
---



**Figura 5.** Incremento de la población (UFC/mL) de *S. thermophilus* (ST) y *L. plantarum* (LP) en leche pasteurizada a 37 °C.

Con respecto al decremento del pH, este se fue dando mientras transcurría el tiempo de incubación, logrando llegar a un pH de 4.7 después de 48 horas de incubación a una temperatura de 37 °C. Este descenso se puede ver claramente en la figura 6, el cual muestra la variación con respecto al tiempo de este parámetro fisicoquímico.

En el trabajo de Maní (2005), fueron elaborados diferentes yogures probióticos empleando combinaciones de microorganismos, para el caso de la variación del pH, en un lapso de 48 h de incubación a una temperatura de 35°C, el descenso más significativo fue para la combinación de los microorganismos *S. thermophilus* y *L. casei*, llegando a un pH de 3.54; sin embargo, en el caso de la combinación de *S. thermophilus* y *L. reuteri*, el descenso de pH fue a 5.1. Al comparar los resultados hay una clara evidencia de la diferencia de producción de ácido entre los microorganismos del género *Lactobacillus*.



**Figura 6.** Decremento del pH en leche pasteurizada inoculada con *S. thermophilus* y *L. plantarum* e incubada a 37 °C.

## 6.4 Leche fermentada

El tiempo requerido para la fermentación de 2.5 L de leche entera pasteurizada empleando los microorganismos *S. thermophilus* y *L. plantarum* con un inóculo de  $3 \times 10^{10}$  UFC/mL y  $8 \times 10^{10}$  UFC/mL, respectivamente fue de 16 horas, hasta que se alcanzó un pH próximo a 4.5; el pH obtenido a ese tiempo fue de 4.4; con un porcentaje de acidez titulable de 0.66%; partiendo de que la leche tenía un pH de 6.7 y una acidez inicial de 0.17%.

De acuerdo con el trabajo de Maní (2005), el yogurt probiótico que fue elaborado con *S. thermophilus* y *L. reuteri* para alcanzar un pH menor a 4.5 tuvo que transcurrir un tiempo de 40 h a 35°C, en cuanto al yogurt probiótico elaborado con *S. thermophilus* y *L. acidophilus* para alcanzar un pH de 3.96 transcurrió un periodo de tiempo de 52 h (a una temperatura de 35°C) y para que el yogurt



probiótico elaborado con *S. thermophilus* y *L. plantarum* tuviera un pH de 4.34 transcurrió un tiempo de 21 h (a una temperatura de 35°C).

La variación de pH en los diferentes probióticos puede ser causada por el tipo de microorganismo empleado o bien por la cantidad de inóculo inicial. Para el caso de los probióticos elaborados con *S. thermophilus* y *L. plantarum*, el que estuvo en condiciones de incubación por más tiempo presenta un pH menor, por lo que si la leche fermentada probiótica que se elaboró en este trabajo de investigación se hubiera mantenido en la etapa de incubación por más tiempo podría haber disminuido más el pH. Otro factor que pudo haber contribuido, son las condiciones con las que fueron incubados los probióticos, ya que son 5 horas y 2°C de diferencia; a pesar de esto, la variación de pH es de 0.06 unidades, considerando que después de las 16 h de incubación que se emplearon para el descenso de pH a 4.4, no hubiera sido significativa si se dejara unas horas más en esta etapa, ya que con 21 h y a condiciones de temperatura de 35°C el pH disminuyó a 4.34.

#### **6.4.1 Cambios en pH**

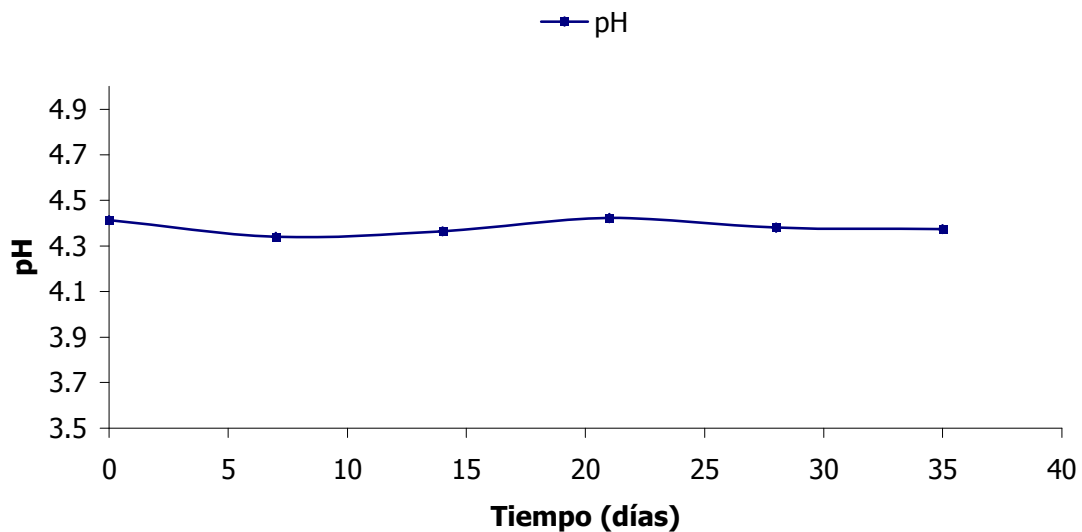
El descenso del pH en leches fermentadas varía de 4.6 a 4, factor que contribuye al mantenimiento de un bajo pH en el estómago después de consumir la leche. También favorece la inhibición del desarrollo microbiano no deseado por los ácidos no disociados (por ej., ácido láctico) y por otros metabolitos como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y otras sustancias con actividad bactericida. La correcta pasteurización de la leche cruda destruye cualquier patógeno que pudiera sobrevivir a la fermentación.

Por ejemplo, *Campylobacter*, desaparece de forma inmediata en presencia de ácido láctico, mientras que *Salmonella* se destruye o inactiva cuando la concentración en ácido láctico está por encima del 1% y el pH es inferior a 4.55 (Pérez y Sánchez, 2008).





Los valores de pH a lo largo del almacenamiento del producto se mantuvieron constantes. Sin embargo hay una ligera disminución de pH de 0.1 unidades después de 35 días de almacenamiento, esto puede ser ocasionado por la disminución de temperatura al mantenerse en refrigeración. La tendencia de la variación del pH se muestra en la figura 7.



**Figura 7.** Valores de pH durante el almacenamiento de la leche fermentada probiótica.

De acuerdo al análisis estadístico, el pH presenta una desviación estándar de 0.0309, por lo tanto con una nivel de confianza de 95% se puede asegurar que las diferencias entre los valores durante los 35 días de almacenamiento no son significativas. El valor máximo obtenido fue de 4.41, una media de 4.38 y el valor mínimo fue de 4.34, estos valores de acuerdo a la media presentan una varianza de 0.0009, lo cual indica también que el proceso no presenta una variación que represente un cambio significativo en esta característica fisicoquímica que fue evaluada en la leche fermentada probiótica.

---

---



La leche fermentada probiótica que se elaboró, al final del almacenamiento presentó un pH de 4.3, este valor está por debajo 0.4 unidades de los yogures comerciales de la marca activa, con un pH de 4.7.

Dave y Shah (1997) obtuvieron un pH de 4.16 y 4.4 después de 35 días de almacenamiento a 5°C en yogurts probióticos, cuando el pH al día 0 fue de 4.33-4.61. Gilliland et al.(2002), midieron pH de 4.1 y 4.2 al final de 35 días de refrigeración a 5°C de productos tipo yogurt fermentados con *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, Bifidobacterias y *L. casei*, el pH inicial era de 4.7 y 4.8.

Katz (2005), elaboró leches fermentadas con *L. reuteri* y *L. johnsonii* cncmi-1225 y el pH que obtuvo fue de 3.5 a 5. En otros estudios realizados muestran que los valores de pH en leches fermentadas comerciales presentan valores de pH en un rango de 3.9-4.2 (Gueimonde et al, 2004). Laye et al (1993), elaboraron un yogurt con *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y con *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, el pH después del periodo de incubación fue de 4.2. En la mayoría de las investigaciones realizadas con leches fermentadas presentan una tendencia similar, presentándose una ligera acidificación después del almacenamiento, independientemente de los cultivos utilizados y del producto. Por lo anterior y después del análisis estadístico se considera que los rangos en que se encuentra el producto son aceptables.

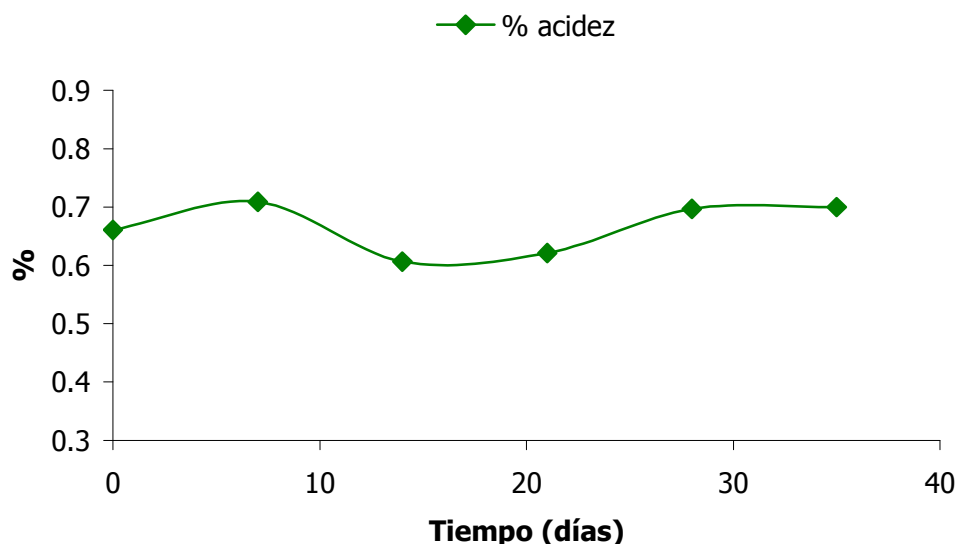
#### **6.4.2 Acidez titulable**

Las leches fermentadas contienen cantidades variables de ácido láctico; su riqueza raramente rebasa el 1%. A esta sustancia se le atribuye un papel antiséptico intestinal (Alais, 1971).

El porcentaje de ácido láctico en las leches fermentadas se ve influenciado por características como: tiempo muy largo de fermentación, temperatura muy alta de almacenamiento, exceso de cultivo, cultivos mal seleccionados, contenidos muy altos de lactobacilos.



Por lo que respecta al porcentaje de acidez titulable, el comportamiento es similar al del pH, ya que de acuerdo al análisis estadístico, la desviación estándar que presentó con respecto al porcentaje de ácido láctico fue de 0.04%, con este valor se puede asegurar con un porcentaje de confianza del 95% que los cambios presentados durante el almacenamiento no son significativos. El valor máximo que se obtuvo de porcentaje de ácido láctico fue de 0.71%, una media de 0.66% y un valor mínimo de 0.6%; se calculó una varianza de 0.00214, lo que hace sugerir que el proceso de elaboración y almacenamiento fue el adecuado y no presenta cambios en el producto durante el almacenamiento en refrigeración durante 35 días; sin embargo, cabe señalar que hubo una mayor variación del valor de pH con respecto al porcentaje de ácido láctico presente en las muestras, pero como ya se mencionó puede considerarse no significativa. Durante el almacenamiento, al día 7 se tiene un incremento de 0.048%, volviendo al día 14 a disminuir 0.1%, e incrementando el valor a 0.7% en el día 35 de almacenamiento, aumentando 0.04% del valor al tiempo cero (0.66%). El comportamiento de la variación del porcentaje de acidez titulable se presenta en la figura 8.



**Figura 8.** Comportamiento de la acidez titulable a lo largo del periodo de almacenamiento de la leche fermentada probiótica.





Realizando una comparación con los yogures comerciales de la marca activa, este presentó un porcentaje de acidez titulable de 0.61%, valor más bajo en comparación con las lecturas obtenidas a lo largo del almacenamiento de la leche fermentada probiótica. Este valor no se encuentra de los rangos establecidos por la Secretaría de Salud en México que establece un rango de acidez de 0.86-1.8% para yogurt, sin embargo, considerando que se trata de un probiótico, no hay normatividad establecida en nuestro país para este tipo de productos.

De acuerdo con la bibliografía, en estudios realizados a diferentes tipos de leches fermentadas que son comercializadas, los valores del porcentaje de ácido láctico presente varían entre 0.70 y 1.16% (Gueimonde et al, 2004), con lo que podemos confirmar que el valor de porcentaje de ácido láctico del producto elaborado se encuentra en el rango mínimo de estas pruebas realizadas. Sin embargo, pruebas realizadas por Dave y Shah (1997) para las leches fermentadas que elaboraron y yogurts probióticos, reportan valores iniciales de acidez de 0.68% a 0.77% respectivamente, y presentaron un incremento después de 5 días de almacenamiento en refrigeración, este incremento fue a valores de 0.82% a 0.84%, después de ese periodo de almacenamiento no se observó cambios hasta alcanzar los 35 días. Laye et al (1993), reportan que en sus yogures elaborados la acidez titulable tuvo una variación entre 0.9 y 1.3 %, aumentando conforme avanzaba el tiempo de almacenamiento. Estos valores obtenidos, se semejan más a los obtenidos del análisis que se realizó a la leche fermentada elaborada con *S. thermophilus* y *L. plantarum*.

### **6.4.3 Textura**

Las leches fermentadas son un producto cuya textura puede ser parecida a la crema o más líquida; en la mayoría de los países de Norte América y Europa se prefieren semilíquidas. Hasta ahora hay pocos estudios donde se evalúen las características deseables en cuanto a textura de este tipo de productos, sin

---

---



embargo, se sabe que se aprecian las características tanto de firmeza como viscosidad después de ser agitados.

Hace algunas décadas las pruebas de firmeza se llevaban a cabo mediante la prueba de la esfera de acero (Galesloot, 1958), pero más recientemente hay metodologías variadas para este tipo de pruebas. En la actualidad la prueba de penetración es la que ha permitido evaluar las características de firmeza, adhesividad, entre otras; con solo 120 g de producto, estas pruebas arrojan resultados satisfactorios; sin embargo, los resultados son mejores cuando las leches fermentadas son elaboradas con leche homogeneizada (Sherman, 1975).

La estructura interna de la leche fermentada se rompe por las fuerzas inducidas de agitación, permitiendo el aumento del flujo. Esto puede ser evaluado mediante un cilindro coaxial. La disminución de la viscosidad como mecanismo de trabajo depende del cultivo empleado para fermentar la leche y la naturaleza del mecanismo de tratamiento (Steenbergen, 1971).

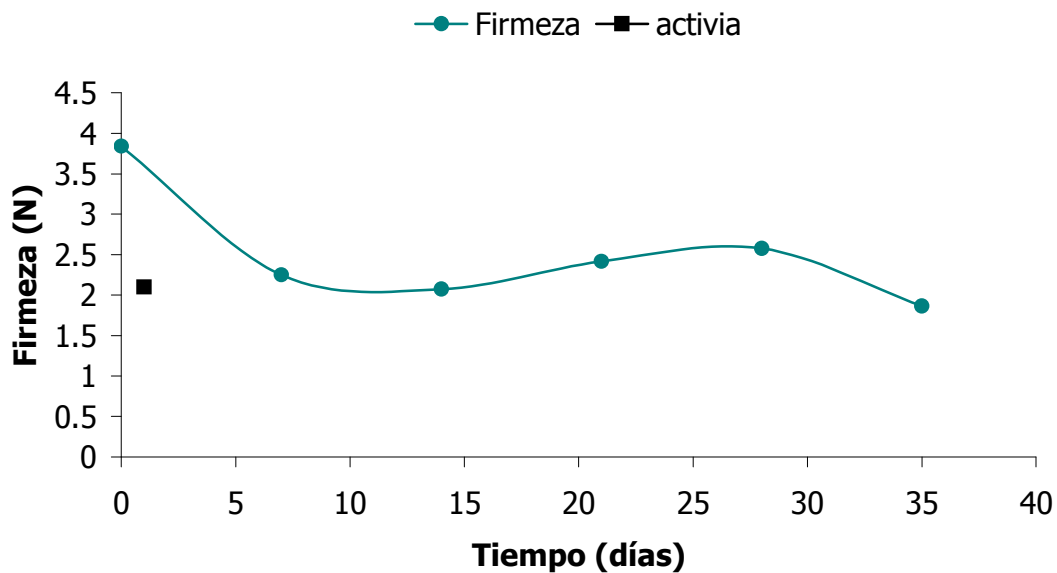
Otros factores como el contenido de grasa, la temperatura de incubación, el pH durante el almacenamiento en refrigeración, y el rango de temperatura influyen en la firmeza (Martens, 1972).

En este estudio, el comportamiento de la firmeza fue variable para la leche fermentada probiótica a lo largo de los 35 días de almacenamiento; en la figura 9 se puede observar la variación del comportamiento con respecto al tiempo del producto. El valor de la firmeza del yogurt comercial (activia) evaluado, es menor que el que presenta el probiótico en todas las etapas del almacenamiento, con excepción del día 35.

De acuerdo a los resultados obtenidos respecto a la prueba de firmeza realizadas, en el análisis estadístico se presenta una desviación estándar de 0.701N, y considerando que la media es de 0.29N, se puede considerar un cambio significativo en esta característica evaluada, sin embargo, al observar la variación en la gráfica, se puede apreciar que el mayor cambio se presento

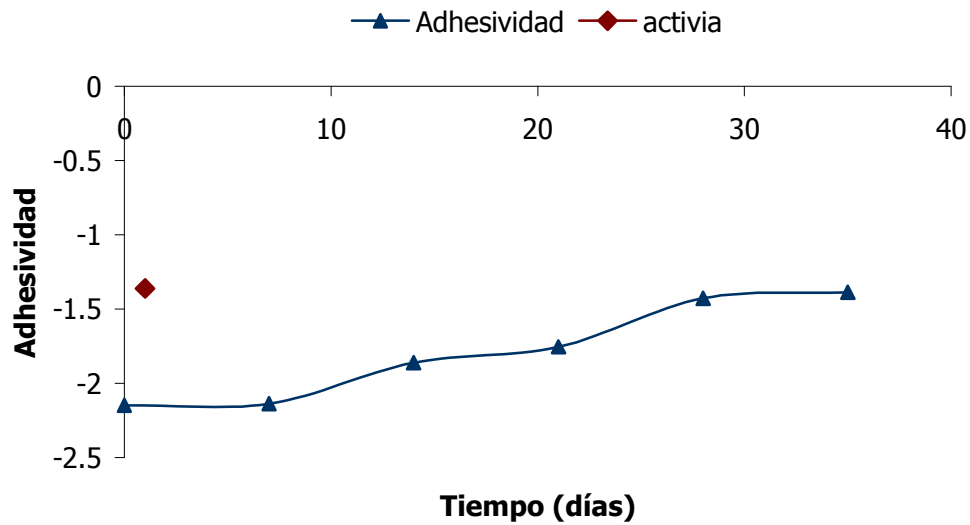


durante los primeros 7 días de almacenamiento, cayendo el valor en 1.59N, lo que representa un cambio considerable, sin embargo, después de este tiempo, la variación disminuyó, siendo el cambio de 0.38N del día 7 de almacenamiento al día 35. Para ilustrar más este fenómeno, se tiene que el valor mínimo presentado en el perfil de textura evaluado fue de 1.86N en el día 35 de almacenamiento, y el valor máximo presentado fue en el día 0 con 3.84 N.



**Figura 9.** Variación de la firmeza con respecto al tiempo de almacenamiento en refrigeración.

En lo concerniente a las pruebas de adhesividad, en todas las mediciones se presentó un aumento de esta característica con respecto al tiempo de almacenamiento; en cuanto al yogurt comercial evaluado (activia), este presentó una adhesividad mayor que la leche fermentada probiótica, este resultado se presenta con claridad en la figura 10, donde se presenta la variación de la adhesividad y el valor que presentó el yogurt comercial.



**Figura 10.** Comportamiento de la adhesividad de la leche fermentada probiótica con respecto al tiempo de almacenamiento.

De acuerdo a Gonzáles-Martínez et al. (2002), la adhesividad y viscosidad de los productos aumenta al adicionarse a la leche proteínas de suero, lo que incrementa la fuerza del gel. La adhesividad fue menor en el producto comercial, esta diferencia puede ser causada por las gomas y sólidos que se les adicionan para mejorar las características. Referente a la firmeza, fue menor la presentada por el probiótico comercial, debido a que no se conoce con exactitud el periodo de almacenamiento con el que contaba además de los estabilizantes que se adicionan para mejorar sus características sensoriales, no se puede determinar una razón de la variación entre las muestras evaluadas. De acuerdo con Katz (2001), estas características pueden ser modificadas adicionándoseles almidones modificados, hidrocoloides o pectinas seleccionadas que den una textura específica. Así mismo, puede ser adicionadas vitaminas o pueden ser hechos a base de soya e incorporarles fitoquímicos; también pueden contener grandes cantidades de ácidos omega 3 u otras grasas específicas. La mayoría de los probióticos lo que contiene de acuerdo a Katz (2001), son fructooligosacáridos, inulina o carbohidratos que le den un buen medio a los microorganismos para que se puedan multiplicar. Un factor que pudo haber contribuido a la textura del



producto que se elaboró fue la presencia de *S. thermophilus*, ya que tiene la capacidad de producir polisacáridos lo que le da al producto mayor viscosidad y mejor textura.

#### **6.4.4 Sinéresis**

La sinéresis se define como la expulsión del agua hacia el exterior del gel con la consiguiente reducción del volumen. Los materiales que se expulsan son: la fase acuosa de la leche fermentadas, el agua atrapada dentro de las estructuras, el agua ligada a las proteínas y el agua libre (mayor cantidad).

Las causas de este fenómeno son: poca cantidad de proteína en la leche con la que se está elaborando el producto, poca cantidad de grasa, tratamiento térmico y homogeneización deficientes, temperatura de incubación muy alta, destrucción del coágulo durante la acidificación, oxígeno de la leche y un pH elevado (>4.8). A su vez, las causas pueden ser externas: temperatura de almacenamiento, pH y vibraciones; o internas: atracciones o repulsiones.

En lo que respecta a la sinéresis que presento la leche fermentada, en el tiempo cero fue de un 29% aproximadamente, disminuyendo este porcentaje después de 7 días de almacenamiento, esto pudo ocasionarse por la refrigeración a la que fue sometida, sin embargo, el porcentaje se incrementa a partir de la medición del día 14 y se mantienen constantes hasta el día 35 de almacenamiento, donde sufre un aumento hasta llegar a 27%. En la figura 11 se presentan las variaciones y tendencias de este cambio.

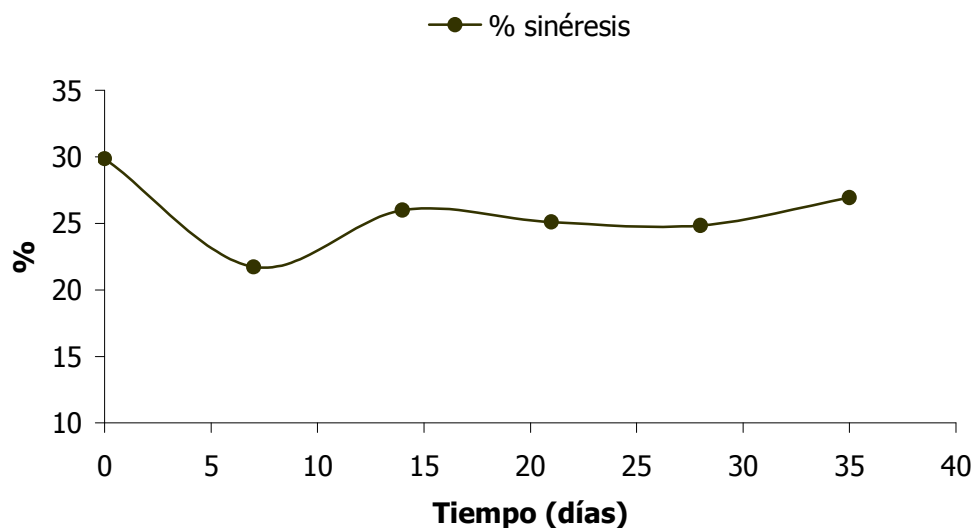
El análisis estadístico de esta característica arroja una desviación estándar de 2.68%, y si el valor medio fue de 25.75%, con un valor máximo de 29.87% y un mínimo de 21.74%, las variaciones durante el almacenamiento por 35 días en refrigeración de las muestras de leche fermentada probiótica si presenta una variación significativa; sin embargo, visualmente no hubo presencia de sinéresis, habrá que seguir con la observación durante un mayor tiempo de



almacenamiento para comprobar que la sinéresis se presentará. Cabe señalar, que el valor máximo presentado durante las pruebas fue al tiempo cero, y el valor mínimo a los los 7 días de almacenamiento, por lo que se puede considerar que la refrigeración contribuyó a la estabilidad del producto durante los primeros días de almacenamiento, aunque después los valores tuvieron un aumento hasta tener un porcentaje de sinéresis final de 26.9% después de 35 días de almacenamiento en refrigeración.

En esta prueba no se realizó comparación con ninguna marca de yogures comerciales debido a que cuentan con estabilizantes y gomas que hacen que en el producto no se presente con facilidad este fenómeno no deseable.

De acuerdo con González-Martínez et al. (2004), los rangos de sinéresis en yogures que fueron analizados y que contenían proteínas de suero de leche fueron de 23-36%, si comparamos estos valores con los obtenidos durante el almacenamiento, la leche fermentada presenta una muy buena estabilidad, debido a que sin tener que adicionársele ningún tipo de estabilizante los valores de sinéresis durante el almacenamiento están en el rango de 21.7% en el día 7 y 29.8% en el día 0.



**Figura 11.** Variación del porcentaje de sinéresis durante el almacenamiento de la leche fermentada probiótica.



### 6.4.5 Color

Los parámetros Lh, ah y bh se mantuvieron constantes durante el almacenamiento con excepción del día 35. En el día de almacenamiento 35 hubo un aumento en el tono (h) de 7 unidades con respecto al día 0; el croma o saturación(C) disminuyó de 0.5 unidades del día 0 al día 35 de almacenamiento; y en cuanto a la diferencia neta de color, únicamente es representativa en la última medición realizada el día 35 (tabla XI). De acuerdo al análisis estadístico ( $P>0.05$ ) no hay variación significativa durante los primeros 28 días de almacenamiento, en la medición realizada en el día 35, la desviación estándar aumentó considerando significativa la variación presentada en la última medición. En cuanto a la luminosidad, esta estuvo en un rango de 89.2 a 95.7 durante todo el almacenamiento, y la variación más significativa fue la presentada en el día 35, ya que el día 28 se tuvo un valor de 89.8 y el día 35 aumentó hasta 95.7 (tabla XI). El parámetro ah estuvo en el rango de -2.55 a -1.40, y el cambio mayor se dio del día 28 (-2.54) al 35(-1.40), por lo que no se considera que haya una variación hasta el día 28 de almacenamiento. El parámetro bh tuvo valores entre 9.5 y 9.3, estos valores no sufrieron un cambio significativo durante toda la etapa de almacenamiento ( $P>0.05$ ).

**Tabla XI.** Variación color en la leche fermentada probiótica con respecto al tiempo.

<b>Tiempo (días)</b>	<b>L</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>h</b>	<b>C</b>	<b><math>\Delta E</math></b>
0	89.2	-2.55	9.5	74.97	9.86	
7	89.4	-2.42	9.4	75.56	9.71	0.221
14	89.5	-2.4	9.4	75.57	9.71	0.106
21	89.4	-2.5	9.5	75.25	9.85	0.155
28	89.8	-2.54	9.5	75.03	9.79	0.337
35	95.7	-1.4	9.3	81.43	9.36	6.012



## 6.5 Cambios en los recuentos de bacterias

Los cambios en los recuentos de *S. thermophilus* y *L. plantarum* se muestran en la tabla XII. Como se observa el inóculo va de  $3 \times 10^8$  UFC/ mL al tiempo 0 y  $7 \times 10^7$  UFC/ mL al día 35 en el *L. plantarum*; y para el *S. thermophilus* va de  $4 \times 10^{10}$  UFC/ mL al tiempo 0 y  $1 \times 10^{10}$  UFC/ mL en el día 35 de almacenamiento.

Gilliland et al. (2002), reportaron que en leches fermentadas que fueron elaboradas con probióticos al tiempo 0 las cuentas bacterianas variaron de  $10 \times 10^6$  a  $4.5 \times 10^6$  UFC/ g; estas leches fueron elaboradas con *S. thermophilus* el cual se encontraba viable en una cantidad de  $1.7 \times 10^6$  UFC/ g, *L. acidophilus* con  $4.5 \times 10^6$  UFC/ g, *B. Longum* S9 y *B. Longum* Com-4 que presentaron una viabilidad de  $1 \times 10^6$  y  $4.1 \times 10^6$  UFC/ g respectivamente, *L. casei* E5, *L. casei* E10 y *L. casei* Com-5 que presentaron una viabilidad de  $2 \times 10^6$ ,  $1.6 \times 10^6$  y  $2 \times 10^6$  UFC/ g respectivamente.

Leye et al. (1993), realizaron un estudio evaluando las propiedades sensoriales de yogurt durante almacenamiento, se utilizaron cepas de microorganismos como con *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y con *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, los rangos de composición microbiana estaban entre  $140-800 \times 10^6$  UFC/g. El almacenamiento en refrigeración resultó en un decremento de la población viable, sin embargo se mantuvo con una población en el rango de  $>10^6$  durante el almacenamiento en ambos microorganismos.

En otro estudio realizado a leches fermentadas comerciales, se reporta cuentas de  $10^7$  a  $10^9$  UFC/ mL durante 30 días de almacenamiento en refrigeración (Gueimonde et al., 2004). Las cuentas que se obtuvieron son similares a las reportadas por los autores.







**Tabla XII.** Cambios en las cuentas viables (UFC/mL) de *S. thermophilus* y *L. plantarum* durante la elaboración y almacenamiento de la leche probiótica fermentada.

Tiempo (días)	St	Lp	Log <sub>10</sub>	Log <sub>10</sub>
			UFC/mL ST	UFC/mL LP
0	4.39E+10	3.23E+08	10.6422	8.50853
7	1.08E+10	1.95E+08	10.0314	8.29059
14	1.33E+10	1.50E+08	10.1228	8.17609
21	1.43E+10	1.06E+08	10.1546	8.02325
28	1.62E+10	6.07E+07	10.2095	7.78295
35	1.33E+10	6.72E+07	10.1239	7.82715

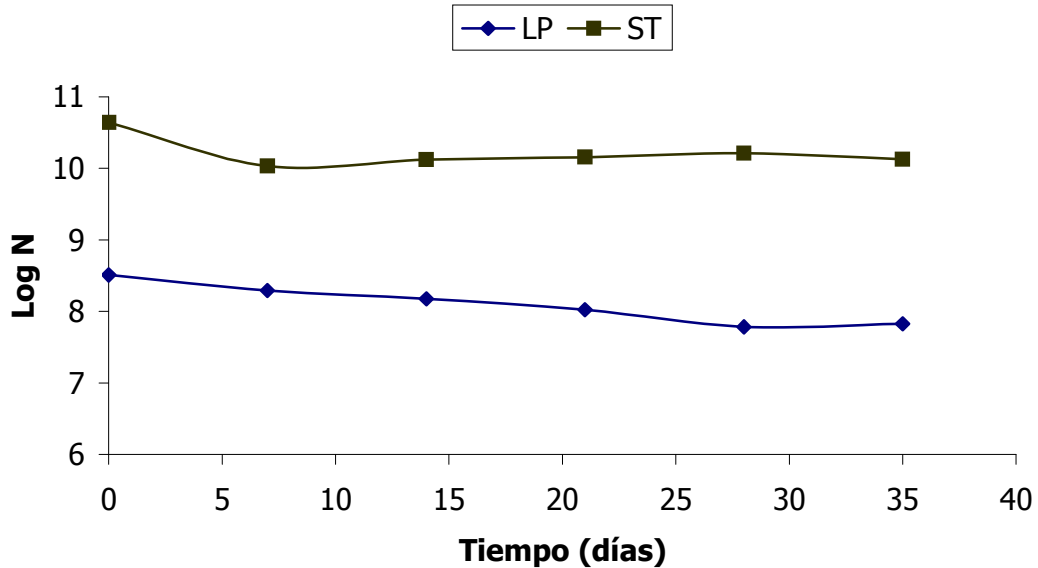
La National Yogurt Association (NYA) de Estados Unidos, pide un valor de  $10^8$  UFC/ mL, esto es un requisito para que los productos tengan una leyenda de que contiene "cultivos vivos y activos" (Tamime, 2005). Sin embargo, en la sesión 26 en Julio del 2003 del Codex Alimentario, el Codex Standard for Fermented Milks, reemplazó dos formas estándares: (a) yogurt por yogurt endulzado; y (b) por yogurt de sabor y productos que reciben tratamiento térmico antes de la fermentación. Estas modificaciones entre otras fueron echas para beneficiar a leches fermentadas como el kefir, leche acidophilus y koumiss; además, el nuevo estándar incluye que la composición tenga por lo menos  $1 \times 10^6$  UFC/g de microorganismos viables para ser considerados probióticos. Los microorganismos deben estar viables y abundantes de acuerdo a la especificación (Tamime, 2005).

Un modelo que es interesante en la industria alimentaria, es el enfoque que tiene la cultura japonesa hacia los alimentos probióticos, en esta cultura son llamados "Alimentos de uso específico para la salud (FOSHU, siglas en ingles)" y la cantidad de microorganismos que los alimentos deben de proporcionar a las personas es de  $10^9$  /día, para considerar que el producto es FOSHU; en esta

cultura hay una leyenda especial para señalar este tipo de alimentos, debe ir en la etiqueta (Tamime, 2005).

De acuerdo a las ultimas especificaciones del Codex Standard for Fermented Milks, la leche fermentada probiótica elaborada entra dentro estos estándares.

El análisis de varianza reporta que la variación en la cantidad de microorganismos es significativa ( $P > 0.05$ ) en el caso del *S. thermophilus*, sin embargo, la variación que se presenta para el *L. plantarum* no presenta un cambio significativo durante la etapa de almacenamiento ( $P > 0.05$ ), estas diferencias se pueden apreciar en la figura 12, donde la disminución de la cantidad de microorganismos viables por parte del *S. thermophilus* es evidente, sin embargo, se muestra una constante en la cantidad de células viables de *L. plantarum*.



**Figura 12.** Variación de la viabilidad de *S. thermophilus* y *L. plantarum*.



## 6.6 Evaluación sensorial

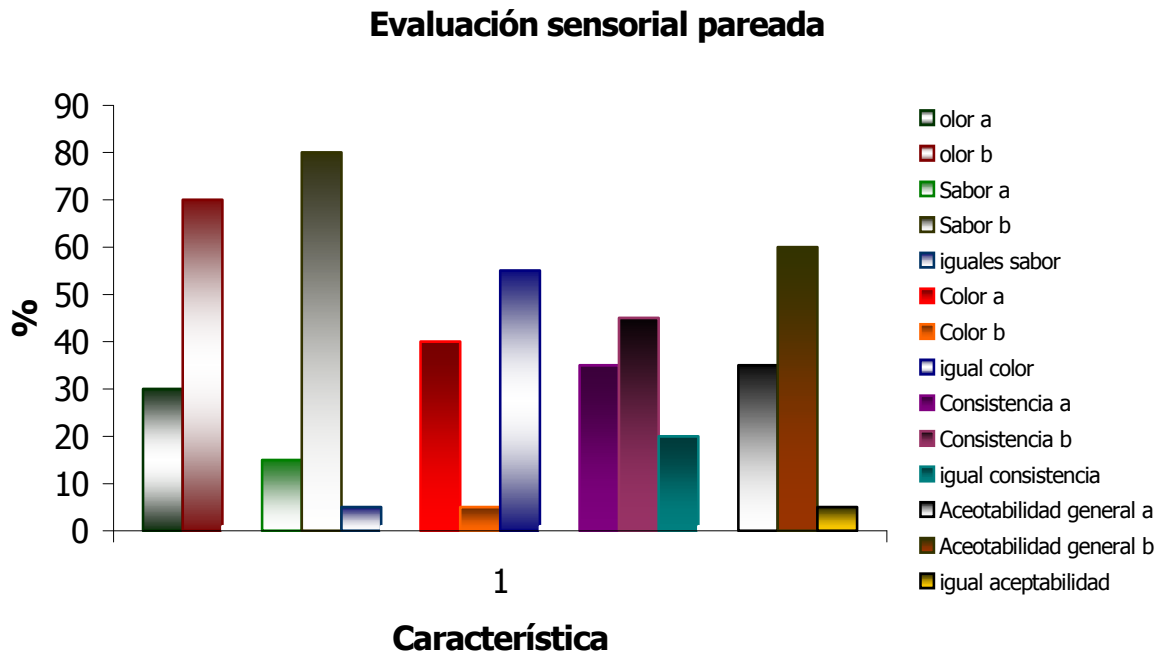
La prueba pareada utilizada en la evaluación sensorial fue aplicada a 20 jueces, se realizó la comparación de la leche fermentada probiótica con una marca de yogurt comercial con probióticos. La prueba consistía en marcar si notaba alguna diferencia entre los dos productos dependiendo de la característica evaluada (olor, color, sabor, consistencia y aceptabilidad general), después de esta etapa si les parecía que había diferencia, tenían que seleccionar el producto de su preferencia.

Los resultados concernientes a esta prueba se presentan en la figura 13, en esta figura el producto "a" corresponde a la leche fermentada probiótica que fue elaborada, y el "b" al yogurt comercial con el que fue comparado. Como se puede apreciar, en todas las características hay mayor preferencia por el yogurt comercial que por la leche fermentada elaborada, sobre todo en sabor, sin embargo, en los aspectos evaluados como color y consistencia, hay una clara división de opiniones, siendo las características más similares a las del yogurt comercial. En cuanto a la aceptabilidad general, se prefiere el producto comercial sobre el elaborado. Los comentarios por parte de los jueces fueron que el yogurt comercial presentó mayor dulzor y que la leche fermentada elaborada fue más ácida, probablemente el pH influyo en el gusto de los jueces, ya que el yogurt comercial tuvo un pH de 4.7 y la leche fermentada tuvo un pH entre 4.4 y 4.3.

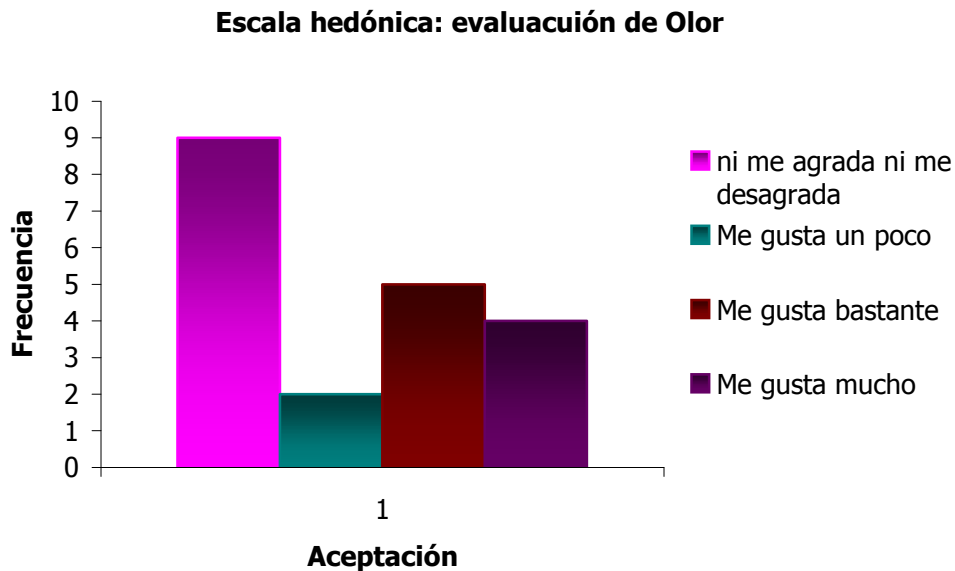
En cuanto a la segunda evaluación sensorial que se aplicó, la escala hedónica con la que se llevo acabo se basaba en 9 niveles (1= me desagrada muchísimo, 2 = me desagrada mucho, 3 = me desagrada bastante, 4 = me desagrada un poco, 5 = ni me agrada ni me desagrada, 6 = me gusta un poco, 7 = me gusta bastante, 8 = me gusta mucho, 9 = me gusta muchísimo), en esta prueba se contó con la colaboración de 20 jueces, cada uno evaluó la leche fermentada probiótica elaborada empleando dicha escala y las características que se



evaluaron fueron olor, color, sabor, consistencia y aceptabilidad general. Los resultados de esta evaluación se muestran en las figuras 14, 15, 16, 17 y 18.

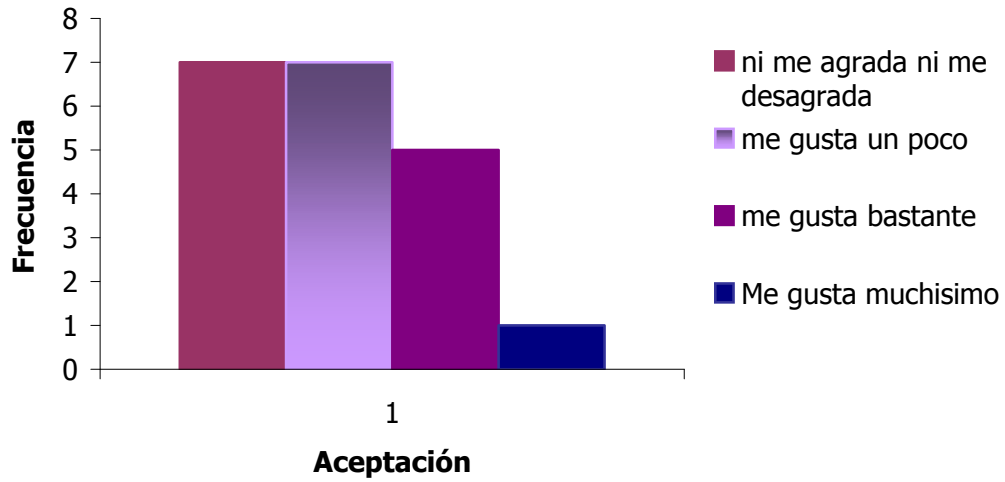


**Figura 13.** Resultados obtenidos de la evaluación sensorial pareada.



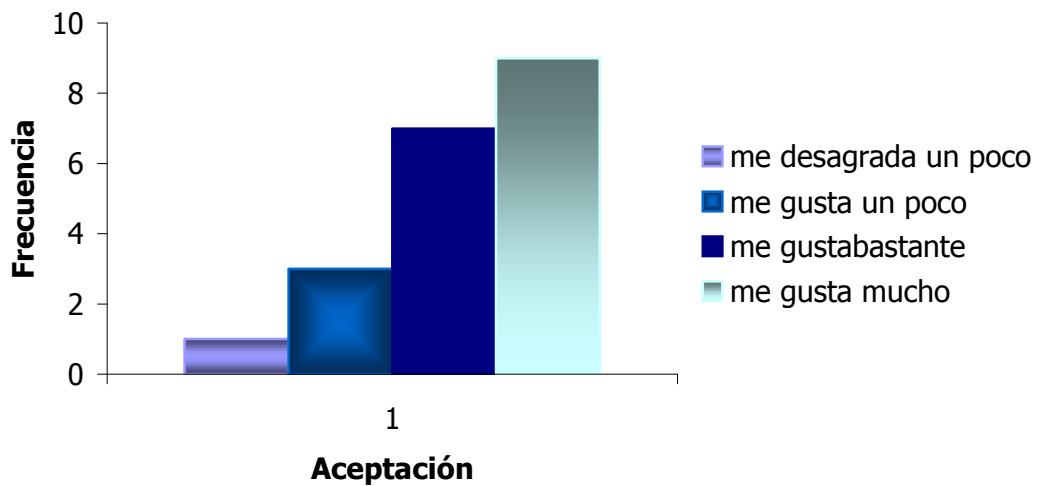
**Figura 14.** Evaluación sensorial, escala hedónica: evaluación de olor en la leche fermentada probiótica elaborada.

### Escala hedónica: evaluación de Color



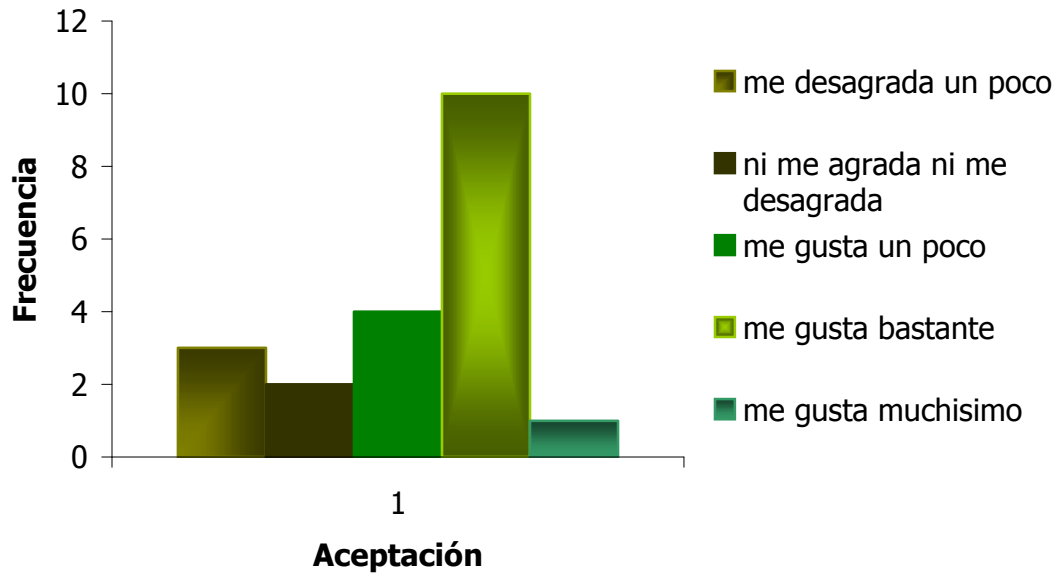
**Figura 15.** Evaluación sensorial, escala hedónica: evaluación de color en la leche fermentada probiótica elaborada.

### Escala hedónica: evaluación de sabor



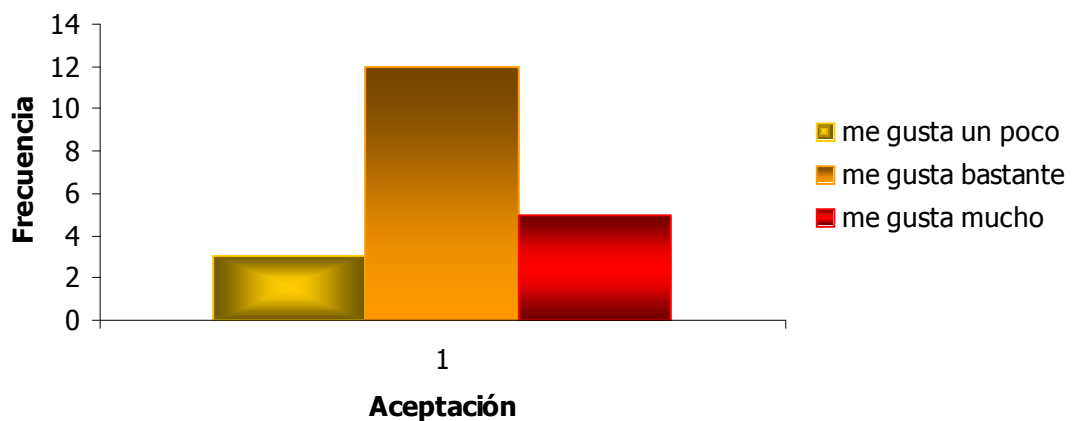
**Figura 16.** Evaluación sensorial, escala hedónica: evaluación de sabor de la leche fermentada probiótica elaborada.

### Escala hedónica: evaluación de consistencia



**Figura 17.** Evaluación sensorial, escala hedónica: evaluación de consistencia de la leche fermentada probiótica elaborada.

### Escala hedónica: evaluación de aceptabilidad general



**Figura 18.** Evaluación sensorial, escala hedónica: aceptabilidad general de la leche fermentada probiótica elaborada.



De acuerdo a la escala hedónica, la característica de olor arrojó resultados donde el 45% de los jueces que valoraron lo consideraron en el nivel 5 (ni me agrada ni me desagrada), el porcentaje restante lo evaluaron entre los rangos de "me gusta poco" a "me gusta bastante". En la característica de color, el 35 % lo evaluó en la escala 5, otro 35% lo evaluó en la escala de "me gusta poco" y el resto les pareció más aceptable. En cuanto al sabor, el 75% lo evaluaron en escalas altas, como: "me gusta bastante" y "me gusta mucho". En la consistencia, el 50% de los jueces evaluaron como "me gusta bastante" al producto; por ultimo, en la aceptabilidad general, el 85% de los jueces lo evaluaron entre las escalas de "me gusta bastante" y "me gusta mucho".

De acuerdo a los resultados que se obtuvieron y considerando las característica evaluadas, se puede considerar al producto elaborado como aceptable, estando este en el rango de "me gusta bastante" de acuerdo los porcentajes obtenidos de las evaluaciones realizadas por los jueces en esta prueba.

Laye et al. (1993), realizaron una determinación sensorial de las propiedades de yogurt, la muestra control fue procesada por los panelistas y fue comparada con marcas comerciales, sin embargo, de acuerdo al análisis que efectuaron no hubo diferencias significativas en cuanto a la consistencia, sabor, olor y en aceptabilidad general en cuanto a la comparación con yogures comerciales. Así mismo, realizaron un estudio evaluando las propiedades sensoriales de yogurt durante almacenamiento, se utilizaron cepas de microorganismos como con *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y con *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* los rangos de composición microbiana estaban entre 140-8000 x10<sup>6</sup> UFC/ g. El almacenamiento en refrigeración resulto en un decremento de la población viable, sin embargo se mantuvo con una población en el rango de >10<sup>6</sup> durante el almacenamiento en ambos microorganismos y los resultados de la evaluación sensorial no sufrieron cambios significativos después del periodo de almacenamiento.

Comparando con el trabajo realizado por Laye et al. (1993), en el caso de la leche fermentada elaborada, si presenta variación significativa al ser comparado



con el yogurt comercial, de acuerdo con algunos estudios realizados, el cambio en cuanto a las características evaluadas en el análisis sensorial se debe fundamentalmente al tipo de microorganismos empleado, a la adición de azúcares, gomas, pectinas, etc; al tiempo de fermentación, al nivel de producción de ácido láctico, al tipo de proceso de elaboración, a las condiciones bajo las cuales se elaboró y a las propiedades de la leche elaborada que se empleó como materia prima para la elaboración del producto (Katz, 2001; Soldini et al, 2004).

## **6.7 Análisis Bromatológico**

Se le realizó un análisis bromatológico para evaluar las principales características de composición a la leche fermentada probiótica. Las pruebas que se realizaron fueron el contenido de cenizas por el método 7.009 del AOAC (1984); el residuo inorgánico que lo constituyen las cenizas de los productos alimenticios. De tal manera que los constituyentes de la ceniza incluyen potasio, calcio y magnesio, los cuales están presentes en grandes cantidades; así como pequeñas cantidades de aluminio, fierro, cobre, magnesio, zinc, arsénico, yodo, flúor y otros elementos traza.

Para el contenido de grasa se utilizó el método 16.064 del AOAC (1984). Los lípidos están caracterizados por su extrema insolubilidad en agua, muy ligera solubilidad en alcohol y por la facilidad con que son disueltos en éter etílico y de petróleo, bisulfuro de carbono y tetracloruro de carbono. Además los lípidos se caracterizan por ser ésteres actuales o potenciales de ácidos grasos y porque pueden ser utilizados por organismos vivos.

La determinación del contenido de humedad es una de las determinaciones más importantes y más ampliamente usadas en el procesamiento de productos alimenticios. El agua es el más simple y abundante de todos los constituyentes de los alimentos.

---

---





La determinación del contenido de proteína en los alimentos es uno de los análisis más comúnmente realizados. Usualmente se calcula a partir del contenido de nitrógeno presente en la muestra.

El análisis de proteína realizada a la leche fermentada probiótica dio como resultado un 4.2% de proteína en la muestra, este resultado en referencia al contenido de proteína del yogurt comercial comparado (1.04%) es mucho mayor, esto puede ser considerado un elemento a favor para el producto elaborado.

El contenido de cenizas para la muestra es de 1.08%, por lo que se puede considerar que los contenidos de minerales es bajo para el producto elaborado, cabe señalar que se necesitaría llevar a cabo un análisis más completo para evaluar la cantidad de minerales con los que cuenta el producto.

Como se mencionó, puede ser un beneficio para este producto el alto porcentaje de proteínas con que cuenta, sin embargo, también presenta un contenido de grasas elevado (3%), si lo comparamos con el contenido de grasa de la marca activia (1.1%), el porcentaje de grasa es casi el triple, lo que puede ser un parámetro que hay que considerar de cuidado por la tendencia al consumo de alimentos bajos en grasa.

En cuanto al contenido de agua del producto, este tuvo un 88% de agua, los cálculos en de humedad fueron realizados en base húmeda.

El contenido de carbohidratos fue calculado por diferencia, y la muestra evaluada presento un contenido de carbohidratos de 3.7%, comparado con el porcentaje de carbohidratos que contiene el yogurt comercial activia la diferencia es mínima, ya que este presenta un contenido de 3.9% de carbohidratos.

De acuerdo a lo anterior, se considera que el producto elaborado presenta buenas características nutrimentales, principalmente por el alto contenido de proteína que contiene, además, casi iguala el contenido de carbohidratos al del yogurt comercial, el inconveniente que presenta es el alto contenido de grasa.

---

---