



1859

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS
NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA
DE YOGURT CON DIFERENTES DOSIFICACIONES DE
EDULCORANTE NATURAL ESTEVIA (*Stevia rebaudiana
bertoni*)”

Tesis de grado previa a
la obtención del título
de Médico Veterinario
Zootecnista

AUTOR

Angel Emilio Narváez Rueda

DIRECTORA

Ing. Nohemí del Carmen Jumbo Benítez, Mg.Sc.

LOJA - ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

**Ing. Nohemí Jumbo Benítez, Mg. Sc.
DIRECTORA DE TESIS**

CERTIFICA:

Que se ha **CONCLUIDO DENTRO DEL CRONOGRAMA APROBADO** el trabajo de investigación titulado, **“CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA DE YOGURT CON DIFERENTES DOSIFICACIONES DE EDULCORANTE NATURAL ESTEVIA (*Stevia rebaudiana bertonii*)”**, del señor **ANGEL EMILIO NARVÁEZ RUEDA**, egresado de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Particular que lo certifico para los fines pertinentes.

Loja, 25 de junio de 2015

Atentamente,



.....
**Ing. Nohemí Jumbo Benítez, Mg. Sc.
DIRECTORA DE TESIS**

**“CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA DE YOGURT
CON DIFERENTES DOSIFICACIONES DE EDULCORANTE NATURAL ESTEVIA
(*Stevia rebaudiana bertonii*)”**

Tesis presentada al Tribunal de Grado como requisito previo a la obtención del título
de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

APROBADA:



Dr. Rolando Sisalima Jara Mg. Sc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Dr. Juan Alberto Parra Chalán Mg. Sc.
VOCAL DEL TRIBUNAL



Dr. Ignacio Gómez Orbes Esp.
VOCAL DEL TRIBUNAL

AUTORÍA

Yo, Angel Emilio Narvárez Rueda, declaro ser el autor del presente trabajo de tesis y eximo a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de esta tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Angel Emilio Narvárez Rueda.

Firma: 

Cédula: 1104865900

Fecha: Loja, 25 de junio de 2015

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCION PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACION ELECTRONICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, Angel Emilio Narváz Rueda, declaro ser el autor de la tesis titulada **“CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA DE YOGURT CON DIFERENTES DOSIFICACIONES DE EDULCORANTE NATURAL ESTEVIA (*Stevia rebaudiana bertonii*)”**, como requisito por optar al grado de: Médico Veterinario Zootecnista, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, firma el autor.

Firma: 

Autor: Angel Emilio Narváz Rueda.

Número de cédula: 1104865900

Dirección: Calle Francisco Nariño / Miguel Hidalgo. Cdla. Daniel Alvarez.

Correo electrónico: muecas10_1992@hotmail.com

Teléfono móvil: 0990891978.

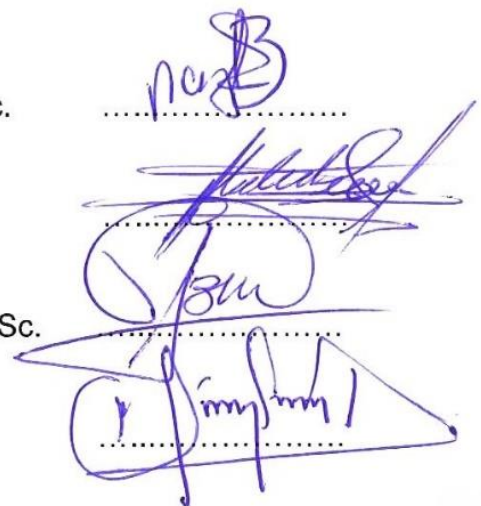
DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora de Tesis: Ing. Nohemí Jumbo Benítez Mg. Sc.

Tribunal de Grado: Dr. Rolando Sisalima Jara Mg. Sc.

Dr. Juan Alberto Parra Chalán Mg. Sc.

Dr. Ignacio Gómez Orbes Esp.



AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco a Dios y a la Virgen del Cisne por iluminar mi camino y permitirme terminar mi Carrera, de igual manera agradezco a la Universidad Nacional de Loja, al Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, a la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia que me recibió en sus aulas para desarrollarme como profesional, a sus Docentes que sin egoísmo me impartieron sus conocimientos.

A mis compañeros que a lo largo de la vida estudiantil compartimos momentos buenos y malos. Así mismo, y de manera muy especial a la Ingeniera Nohemí Jumbo Benítez, Mg. Sc; Directora de mi Tesis, quien con sus sabios conocimientos, su paciencia y tiempo me apoyó y orientó en el desarrollo de este trabajo.

A mi familia por apoyarme en todo momento, este triunfo también es de ustedes, a todos de corazón, GRACIAS.

El Autor

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a Dios y a la Churunita del Cisne por acompañarme siempre en mi camino, a mis queridos padres Pedro Narváez y María Rueda que con su esfuerzo y sacrificio me apoyaron incondicionalmente para poder alcanzar mi sueño, ser un Médico Veterinario Zootecnista.

A mis hermanos que siempre estuvieron en buenos y malos momentos, por incentivar me día a día, por brindarme su cariño y sus consejos, en especial a mi hermano Cristhian por enseñarme a que nunca hay que rendirse a pesar de los problemas. A todos mis familiares, compañeros, profesores y amigos quienes también formaron parte de este logro alcanzado.

Angel Emilio

ÍNDICE GENERAL

<u>Contenido</u>	<u>Pág.</u>
PORTADA	i
CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS ¡Error! Marcador no definido.	
A CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO¡Error! Marcador no definido.	
AUTORÍA	¡Error! Marcador no definido.
CARTA DE AUTORIZACIÓN	¡Error! Marcador no definido.
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE CUADROS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
TITULO	xv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 MATERIA PRIMA	3
2.1.1 La Leche	3
2.1.2 Propiedades	3
2.1.2.1 Propiedades físicas	3
2.1.2.2 Propiedades químicas	4
2.1.3 Los Minerales	5
2.1.4 Las Vitaminas	6
2.1.5 Leche Fermentada	6
2.2 EL YOGURT (YOGUR O YOGURT)	7
2.2.1 Composición Nutricional del Yogurt	7
2.2.2 Carbohidratos Disponibles	8
2.2.3 Proteínas	8
2.2.4 Lípidos	8
2.2.5 Vitaminas y Minerales	9

2.2.6	Cambios Físicos	10
2.2.6.1	Viscosidad	11
2.2.7	Cambios Químicos	12
2.2.7.1	Acidez y pH	12
2.2.7.2	Materia grasa	12
2.2.7.3	Contenido proteico	13
2.2.7.4	Carbohidratos	13
2.2.7.5	El yogurt y sus efectos saludables	14
2.2.8	Las Bacterias en el Yogurt	14
2.2.8.1	Streptococcus thermophilus	15
2.2.8.2	Lactobacillus delbrueckii subespecie bulgaricus	15
2.2.8.3	Lactobacillus acidophilus	15
2.2.8.4	Bifidobacterium	16
2.2.9	Tipos de Cultivo	16
2.2.9.1	Yo – mixtm 300 lyo 10 dcu	17
2.3	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	18
2.3.1	Proceso Para la Elaboración de Yogurt	19
2.3.1.1	Recepción de la materia prima	19
2.3.1.2	Filtrado	19
2.3.1.3	Pre calentamiento	19
2.3.1.4	Aumento de sólidos	19
2.3.1.5	Agregar azúcar	19
2.3.1.6	Tratamiento térmico	20
2.3.1.7	Enfriamiento	20
2.3.1.8	Inoculación	20
2.3.1.9	Agitación	21
2.3.1.10	Incubación	21
2.3.1.11	Enfriamiento	24
2.3.1.12	Homogenización del gel	24
2.3.1.13	Frutado	24
2.3.1.14	Envasado	24
2.3.1.15	Etiquetado	24
2.3.2	Defectos del Yogurt	25
2.3.2.1	Defectos del sabor	25

2.3.2.2	Defectos de textura	26
2.4	MÉTODOS PARA EL ANÁLISIS DEL YOGURT	27
2.4.1	Análisis Bromatológico del Yogurt T1 (1 %)	27
2.4.1.1	Determinación del pH	27
2.4.1.2	Determinación de sólidos solubles	27
2.4.1.3	Determinación de la acidez	28
2.4.1.4	Determinación de la humedad.....	28
2.4.1.5	Determinación de cenizas	29
2.4.1.6	Determinación de proteína	29
2.4.1.7	Determinación de fibra	30
2.4.1.8	Determinación de grasa	31
2.4.1.9	Determinación de carbohidratos totales	33
2.4.2	Análisis Microbiológico del Yogurt T1 (1 %)	34
2.4.2.1	Recuento de coliformes totales	34
2.4.2.2	Confirmación de E. coli.....	36
2.4.2.3	Recuento de mohos y levaduras	37
2.6	EDULCORANTES (ESTEVEIA)	39
2.6.1	Estevia Rebaudiana Bertoni	39
2.6.1.1	La estevia en Ecuador.....	41
2.6.2	Aspectos Botánicos de la Estevia.....	42
2.6.2.1	Taxonomía	42
2.6.2.2	Compuestos químicos de las hojas	43
2.6.2.3	Perfil químico nutricional de las hojas	43
2.6.2.4	Esteviósido	45
2.6.2.5	Propiedades de los steviosidos	46
2.6.2.6	Reglamentación y toxicidad de la estevia.....	47
2.6.2.7	Usos y aplicaciones de la estevia.....	47
2.6.2.8	Mercado de alimentos y bebidas.....	48
2.6.2.9	Mercado de los subproductos	48
2.6.2.10	Beneficios para la salud	48
2.7	TRABAJOS SIMILARES	50
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	51
3.1	MATERIALES.....	51
3.1.1	Materiales de Campo	51

3.1.2	Materiales de Oficina.....	51
3.1.3	Materiales para la Degustación	51
3.1.4	Materiales de Laboratorio.....	51
3.1.5	Reactivos.....	52
3.1.6	Cultivo	52
3.1.7	Edulcorante	52
3.2	MÉTODOS	53
3.2.1	Ubicación.....	53
3.2.2	Selección y Tamaño de la Muestra	53
3.2.3	Identificación de Grupos.....	53
3.2.4	Descripción de los Tratamientos	53
3.2.5	Diseño Experimental	54
3.2.6	Variables de Estudio.....	55
3.2.6.1	Características físico-químicas de la leche materia prima.....	55
3.2.6.2	Características sensoriales del yogurt.....	55
3.2.7	Análisis Bromatológico y Microbiológico del Yogurt	55
3.2.8	Elaboración de Yogurt con Estevia.....	56
3.2.9	Análisis e Interpretación de los Datos	56
4.	RESULTADOS	57
4.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA LECHE.....	57
4.2	ENCUESTA POR ESCALA HEDÓNICA, (ANEXO 1)	58
4.3	ACEPTABILIDAD MEDIANTE LA PRUEBA DE FRIEDMAN	59
4.4	ENCUESTA POR ATRIBUTOS DE CALIDAD (ANEXO 2).....	60
4.5	T 1 (1 %) COMPARADO CON EL YOGURT ENDULZADO CON SACAROSA	63
5.	DISCUSIÓN	64
5.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA LECHE	64
5.1.1	Grasa.....	64
5.1.2	Porcentaje de Sólidos no Grasos	64
5.1.3	Densidad	65
5.1.4	Lactosa.....	65
5.1.5	Sales Minerales	66
5.1.6	Proteína.....	66
5.1.7	Porcentaje de Agua Adicionada	66

5.1.8	Temperatura de la Muestra	67
5.1.9	Punto de Congelación	67
5.1.10	pH.....	68
5.1.11	Conductividad Eléctrica	69
5.1.12	Promedio de Acidez (°D)	69
5.2	CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL YOGURT	69
5.2.1	Aceptabilidad.....	69
5.2.2	Sabor.....	70
5.2.3	Textura	70
5.3	ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL YOGURT	71
5.3.1	pH.....	71
5.3.2	Sólidos Solubles.....	71
5.3.3	Acidez.....	71
5.3.4	Humedad.....	72
5.3.5	Cenizas	72
5.3.6	Proteína.....	72
5.3.7	Fibra	73
5.3.8	Grasa.....	73
5.3.9	Carbohidratos Totales	73
5.4	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL YOGURT	73
5.4.1	Coliformes Totales.....	73
5.4.2	E. Coli.....	74
5.4.3	Mohos y Levaduras	74
6.	CONCLUSIONES.....	75
7.	RECOMENDACIONES	77
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	78
9.	ANEXOS	82

ÍNDICE DE CUADROS

<u>Cuadro</u>		<u>Pág.</u>
Cuadro 1.	Composición química de la leche de distintas especies (%).....	4
Cuadro 2.	Composición nutricional del yogurt.....	10
Cuadro 3.	Concentración de vitaminas de leche y yogurt.....	10
Cuadro 4.	Superficies y localización de Estevia en Ecuador, 2008.	42
Cuadro 5.	Taxonomía de la estevia.	42
Cuadro 6.	Compuestos químicos de las hojas de Estevia.....	43
Cuadro 7.	Análisis químico proximal foliar de estevia	44
Cuadro 8.	Contenido de vitaminas en estevia/100 g	44
Cuadro 9.	Análisis foliar de estevia en minerales	45
Cuadro 10.	Tratamientos	54
Cuadro 11.	Cantidad de litros de yogurt en (litros)	54
Cuadro 12.	Promedio de las características físico - químicas de la leche.....	57
Cuadro 13.	Evaluación de la aceptabilidad del yogurt en (%)	58
Cuadro 14.	Sabor del yogurt en (%)	60
Cuadro 15.	Textura del yogurt en (%)	61
Cuadro 16.	Comparación del yogurt T1 (1 %) con las Normas Inen 2395:2011.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Pág.</u>
Figura 1.	Diagrama de flujo de elaboración de yogurt.	18
Figura 2.	Curva de crecimiento y acidificación de una bacteria láctica.	22
Figura 3.	Producción de ácido láctico durante la fermentación láctica.	22
Figura 4.	Lactobacillus bulgaricus.	23
Figura 5.	Streptococcus thermophilus.	23
Figura 6.	Hojas de la planta Estevia Rebaudiana Bertoni	40
Figura 7.	Flores de la planta Estevia Rebaudiana Bertoni.	40
Figura 8.	Cristales de estevia.	40
Figura 9.	Estructura química del esteviósido	46
Figura 10.	Promedio de las características físico-químicas de la leche	58
Figura 11.	Evaluación de la aceptabilidad del yogurt	59
Figura 12.	Sabor del yogurt en (%).....	60
Figura 13.	Textura del yogurt en (%).....	61

TITULO

**“CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA DE YOGURT
CON DIFERENTES DOSIFICACIONES DE EDULCORANTE NATURAL ESTEVIA
(*Stevia rebaudiana bertonii*)”**

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en la ciudad de Loja, en la Planta piloto de procesamiento de Lácteos de La Quinta Experimental Punzara de la Universidad Nacional de Loja. Con el propósito de elaborar y realizar el control de calidad del yogurt con diferentes dosis de estevia. Se elaboró el yogurt con las siguientes dosis de estevia: T1 (1 %); T2 (0.75 %) y T3 (0.5 %), se utilizó 150 litros de leche de vaca que se producen en la Quinta Punzara. Se usó como cultivo iniciador YO – MIX™ 300 LYO 10 DCU, el cual está compuesto por *streptococcus thermophilus*, *lactobacillus delbruckii subps. Bulgaricus*. Una vez que estuvo listo el producto se realizó la evaluación sensorial con los estudiantes del 8^{vo} módulo de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, evaluando los atributos de calidad utilizando la escala hedónica para establecer el de mayor aceptabilidad y proceder a realizar los análisis bromatológicos y microbiológicos establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas, estos análisis se los realizaron en el Laboratorio de Aguas y Alimentos “MSV” ubicado en la ciudad de Cuenca. Como consecuencia se determinó que la formulación de mayor aceptabilidad fué el T1 con 1 % de estevia. Los resultados del análisis bromatológico y microbiológico confirmaron que el yogurt endulzado con estevia es apto para su consumo ya que estos valores están dentro de los límites permitidos por la norma INEN de calidad. Se concluye que la utilización de extracto de estevia en polvo representa una alternativa como edulcorante en el yogurt, que ofrece beneficios como la disminución en la ingesta de calorías. Se recomienda su consumo no solo para personas que llevan una dieta estricta en calorías o diabéticas, sino también por las personas que gozan de buena salud por su alto aporte nutritivo, como forma de prevención de enfermedades crónicas degenerativas.

ABSTRACT

This work was carried out in the city of Loja, in the pilot dairy processing plant of the Experimental Farm of the National University of Loja. The aim of this thesis was to develop and implement quality control of yogurt using different doses of stevia. The yogurt was prepared with the following doses of stevia: T1 (1%); T2 (0.75%) and T3 (0.5%). 150 liters of cow milk produced in the Punzara Farm was used. A YO - 300 LYO MIXTM DCU 10 starter culture was used, which is comprised of *Streptococcus thermophiles* and *Lactobacillus delbruckii* subsp. *Bulgaricus*. Once the product was ready, sensory evaluation was carried out by students from the 8th module of the Veterinary Medicine degree program in order to evaluate the quality attributes using the hedonic scale to establish the maximum acceptability and carry out bromatological and microbiological analyses as established by the Ecuadorian Technical Standard INEN 2395: 2011 for fermented milks. These analyses were conducted in the "MSV" Water and Food Laboratory of located in the city of Cuenca. As a result it was established that the preparation of maximum acceptability was the T1 sample with 1% stevia. The results of the bromatological and microbiological analyses confirmed that the yogurt sweetened with Stevia was indeed suitable for consumption because these values were within the limits permitted by the INEN quality standard. It was therefore concluded that the use of stevia extract in powder format provided a viable alternative sweetener in yogurt resulting in benefits such as reduced calorie intake. Consumption is recommended not only for people who lead a strict calorie diet or diabetics, but also by people who are healthy due to its high nutritional content and as a preventative of chronic degenerative diseases.

1. INTRODUCCIÓN

Los productos lácteos son alimentos con excelentes cualidades nutritivas, esenciales para la salud en todas las etapas de la vida, juegan un papel tan importante en el mundo actual que dejar de consumirlos traería implicaciones serias en la nutrición y por lo tanto en el desarrollo integral del ser humano. Actualmente el consumo de productos bajos en calorías tiene la misma importancia como la tiene el consumo de un alimento común, estos tipos de alimentos se consumen cada vez más ya sea por seguir una dieta baja en calorías que no incluyan edulcorantes artificiales, por problemas de salud serios como la diabetes y enfermedades que tengan que ver con el exceso de azúcar o por solo tener la posibilidad de ingerir calorías de forma inteligente y placentera sin remordimientos posteriores.

Por este hecho se le da la importancia al uso de edulcorantes bajos en calorías en este tipo de productos dietéticos o "light". La gran ventaja que tiene el consumo de estos productos, es que ahorran calorías para perder peso o ayudan a mantener el peso como parte de un modo de vida saludable y en forma. Es así que para obtener productos lácteos bajos en calorías, sin efectos colaterales para la salud y que satisfaga las necesidades del consumidor tenemos la estevia, una planta que posee un poder edulcorante de casi trescientas veces más que el azúcar de caña.

La estevia, es un producto natural que permite endulzar alimentos, no tiene calorías, está aprobado por el Codex Alimentarius como producto apto para diabéticos e hipertensos y para personas con problemas de obesidad; y además puede ser consumida en cualquier edad. Este tipo de productos puede ser una opción tanto para los consumidores que llevan una dieta estricta en calorías como para personas que sufren de diabetes o problemas de azúcar en algunos casos.

En Loja las industrias que se dedican a la elaboración de productos lácteos solo producen yogurt con azúcar de caña, por lo que la fabricación con endulzante natural estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) sería muy beneficioso para personas que tienen complicaciones con el azúcar ofrecer este tipo de yogurt natural de gran valor nutritivo destinado a personas con diabetes. Con el desarrollo de esta investigación permite profundizar los conocimientos de las bondades que tienen este

tipo de productos dietéticos para la sociedad local y nacional. Por lo expuesto, en la presente investigación el objetivo fue elaborar yogurt con diferentes dosificaciones de edulcorante natural estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*), para esto es necesario la realización de un análisis en cuanto a parámetros físico-químicos, sensoriales, microbiológicos y bromatológicos para obtener un producto de calidad apto para su consumo, que cumpla con las normas y leyes INEN vigentes.

Para la ejecución de esta investigación se han planteado los siguientes objetivos:

- Realizar el control de calidad de la materia prima por medio de las características fisicoquímicas de la leche para la elaboración de yogurt Grasa, SNG, Densidad, Lactosa, Sales, Proteína, Agua Adicionada, Temperatura, Punto de Congelación, pH, Conductividad, Acidez.
- Determinar la dosificación de estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*) para la elaboración de yogurt.
- Efectuar la evaluación sensorial del yogurt con las diferentes dosificaciones de estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*).
- Realizar el control bromatológico y microbiológico del producto que tuvo mayor aceptación en la evaluación sensorial.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 MATERIA PRIMA

2.1.1 La Leche

De Brito, (1997), define a la leche, como una emulsión de grasas en agua, estabilizada por una dispersión coloidal de proteínas en una solución de sales, vitaminas, péptidos, lactosa, oligosacáridos, caseína y otras proteínas. La leche también contiene enzimas, anticuerpos, hormonas, pigmentos (carotenos, xantofilas, riboflavina), células (epiteliales, leucocitos, bacterias y levaduras), CO₂, O₂ y nitrógeno. Por eso desde el punto de vista químico la leche constituye un sistema complejo. La leche es el líquido secretado por las glándulas mamarias, cuyo fin es servir de alimento al recién nacido (Spreer, 1991).

2.1.2 Propiedades

2.1.2.1 Propiedades físicas

La leche de vaca tiene una densidad media de 1,032 g/ml. Es una mezcla muy compleja y de tipo heterogénea, como un sistema coloidal de tres fases:

- Solución: los minerales así como los carbohidratos se encuentran disueltos en el agua.
- Suspensión: las sustancias proteicas se encuentran con el agua en suspensión.
- Emulsión: la grasa en agua se presenta como emulsión.

Contiene una proporción importante de agua, cerca del 87 %. El resto constituye el extracto seco que representa 130 g por litro, entre los que está 35 a 45 g de materia grasa. Otros componentes principales son los glúcidos lactosa, las proteínas y los lípidos. Los componentes orgánicos (glúcidos, lípidos, proteínas y vitaminas), los componentes minerales (Ca, Na, K, Mg, Cl) y el agua. La leche contiene diferentes grupos de nutrientes. Las sustancias orgánicas (glúcidos, lípidos, proteínas) están presentes en cantidades más o menos iguales y constituyen la principal fuente de

energía. Estos nutrientes se reparten en elementos constructores, las proteínas y en elementos energéticos, los glúcidos y los lípidos. La leche contiene también elementos funcionales, iones minerales (Ca, P, K, Na, Mg), vitaminas y agua (Briones, 2005).

2.1.2.2 Propiedades químicas

El componente mayoritario de la leche de vaca es el agua (87.5%) y el resto (12.5%) está constituido principalmente por: lípidos, proteínas y carbohidratos sintetizados en la glándula mamaria, además de pequeñas cantidades de compuestos minerales, vitaminas, enzimas, gases, entre otros. La mayoría del material lipídico se presenta en forma de pequeños glóbulos rodeados de una membrana que separa la grasa de la fase acuosa. Las proteínas mayoritarias, las caseínas, están en forma de agregados denominados micelas. El estado físico de los lípidos y caseínas afecta profundamente a las características de la leche entera y de él derivan importantes consecuencias durante el procesado de la leche (Silva, 1999).

Para la producción de yogur se ha utilizado leche de distintas especies animales. En el Cuadro 1 se presentan las principales diferencias en la composición de la leche de distintas especies. Por esta razón, en función del tipo de leche utilizado, se pueden presentar variaciones en la calidad del yogur. Por ejemplo, las leches con un elevado contenido en grasa (como la de oveja, búfala o rena) dan lugar a un yogur “rico” y “cremoso”, con un excelente “cuerpo”, en comparación con el yogur elaborado a partir de leches de bajo contenido en grasa o de leches desnatadas (Tamime *et al.*, 1991).

Cuadro 1. Composición química de la leche de distintas especies (%)

Especies	Agua	Grasa	Proteína	Lactosa	Cenizas
Asna	89.0	2.5	2.0	6.0	0.5
Búfala	82.1	8.0	4.2	4.9	0.8
Camella	87.1	4.2	3.7	4.1	0.9
Vaca	87.6	3.8	3.3	4.7	0.6
Cabra	87.0	4.5	3.3	4.6	0.6
Yegua	89.0	1.5	2.6	6.2	0.7
Rena	63.3	22.5	10.3	2.5	1.4
Oveja	81.6	7.5	5.6	4.4	0.9

Fuente: Tamime *et al.*, (1991).

La lactosa de la leche es la fuente de energía para los microorganismos estárter del yogur, pero las proteínas desempeñan un importante papel en la formación del coágulo y por lo tanto la consistencia y viscosidad del producto es directamente proporcional a la concentración de proteína presente. El yogur elaborado a partir de leche de yegua o burra no enriquecida es menos viscoso que el elaborado a partir de oveja o rena.

Aunque el sabor del yogur es resultado de complejas reacciones bioquímicas debidas a la actividad de los microorganismos, el sabor de la leche varía de unas especies a otras, lo cual se refleja en el producto final. No obstante, puesto que la mayor parte de los países disponen de grandes cantidades de leche de vaca se hará un especial énfasis en la utilización de esta para la elaboración de yogur. Sin embargo, también existen grandes diferencias en la composición de la leche de vaca. Los principales constituyentes de la leche son: agua, grasa, proteína, lactosa y minerales (cenizas).

2.1.3 Los Minerales

Entre los minerales que contiene la leche unos están en mayor cantidad y representan los constituyentes mayores entre los cuales están: calcio, fósforo, potasio cloro y sodio que tienen una gran importancia nutricional y a nivel industrial. Los minerales que se encuentran en menor cantidad o constituyentes menores son: zinc, cobre, hierro, yodo y manganeso, estos aunque están en menor cantidad son también importantes en la dieta alimenticia y algunos como el cobre y el zinc actúan como catalizadores en la reacciones de oxidación de las grasas.

Los minerales se encuentran en la leche en una proporción entre 0.6 – 0.8% del peso de la leche. Estos se pueden determinar mediante las cenizas obtenidas de la incineración de la leche a temperaturas muy altas. Sin embargo los compuestos obtenidos después de la incineración sufren una reacción de oxidación que hace que cambien su forma química natural, lo que se demuestra, reacción alcalina de las cenizas y en la reacción ácida de la leche. Otro ejemplo es que el fósforo en la leche se encuentra en formas de fosfatos, o fosfolípidos como el de la lecitina y el de la ceniza está en forma de anhídrido fosfórico (P_2O_5). Los minerales que se

encuentran en mayor cantidad en las cenizas son: K₂O con 25.02 %, P₂O₅ con 24.30 %, CaO con 20.0 %, Cl con 14.30 %, Na₂O con 10.00 %. El contenido de calcio es necesario para la coagulación de la leche con el cuajo, reacción que ocurre en la elaboración del queso (Briones, 2005).

2.1.4 Las Vitaminas

La leche contiene vitaminas como la A, D, E, K, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, carotenos, nicotinamida, biotina, ácido fólico, su concentración está sujeto a grandes oscilaciones. El calostro posee una extraordinaria riqueza vitamínica, contiene de 5 a 7 veces más vitamina C y de 3 a 5 veces más vitaminas B₂, D y E que la leche normal. También influye la Época del año, tiempo atmosférico, ambiente y la alimentación; este último factor repercute especialmente en los carotenos y en la vitamina A como consecuencia de la abundante ingestión de carotenos cuando la base de la alimentación son forrajes frescos.

La vitamina E por su parte es 10 % más abundante en Épocas en que el ganado tiene acceso a forraje más toscos, lo cual posiblemente dependa del mayor contenido graso de la leche en verano. Por lo general, la concentración de las vitaminas hidrosolubles se conserva constantemente. En la vitamina C se observan fluctuaciones dependiendo de la alimentación. Son variadas las influencias de la manipulación de la leche sobre su contenido vitamínico ya que en el simple almacenamiento se producen pérdidas de vitaminas, dependientes de la temperatura y de las radiaciones lumínicas (Gómez, 2005).

2.1.5 Leche Fermentada

Es el producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, elaborado a partir de la leche por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de vencimiento. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables. Comprende todos los productos naturales, incluida la leche fermentada líquida, la

leche acidificada y la leche cultivada y al yogur natural, sin aromas ni colorantes (NTE INEN 2395:2011).

2.2 EL YOGURT (YOGUR O YOGURT)

Es el producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivaris* subsp. *thermophilus*, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias benéficas que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables y activas desde su inicio y durante toda la vida útil del producto. Puede ser adicionado o no de los ingredientes y aditivos indicados en esta norma (NTE INEN 2 395:2009).

El yogurt es un producto acidificado y coagulado que se obtiene a partir de la fermentación de la lactosa (azúcar de la leche) en ácido láctico por acción de microorganismos. El yogurt es la más conocida de las leches fermentadas y la de mayor consumo a nivel mundial (Early, 1998).

El proceso de fermentación se origina por microorganismos tales como *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* que transforman la lactosa en ácido láctico, lo que le da al yogurt su textura y su sabor distintivo. Los *Lactobacillus bulgaricus*, son bacilos microaerófilos, grampositivos y catalasa negativos. Estos *Lactobacillus* homofermentativos forman 2.7 % de ácido láctico en el proceso de fermentación de los azúcares. Se desarrolla en temperaturas entre los 42 y 45° y genera la disminución del Ph. *Streptococcus thermophilus*, es una bacteria que se desarrolla a temperaturas de 37 a 40°, puede resistir 50° hasta 65°, por lo que se le considera termo resistente. Durante el proceso de fermentación, el producto principal que genera es el ácido láctico (Bauman *et al.*, 1997).

2.2.1 Composición Nutricional del Yogurt

Desde el punto de vista nutricional y de salud, el yogurt aporta nutrientes adicionales a los de producto frescos como las frutas, al ser un alimento derivado de la leche, lo hace rico en vitaminas y minerales. Las proteínas producidas por las bacterias

lácticas hacen del yogurt un producto con mayor valor biológico, las grasas y la lactosa resultan más dirigibles para el consumo de personas que presenten problemas de intolerancia a productos lácteos. Esto lo hace recomendable para el consumo de gente de todas las edades, ya que aporta nutrientes importantes que son fáciles de asimilar. Existen varias características nutricionales que hacen del yogurt un alimento de suma importancia para la salud (García *et al.*, 2004).

2.2.2 Carbohidratos Disponibles

Al hablar de carbohidratos nos referimos a los nutrientes que el cuerpo puede asimilar y estos representan la fuente de energía del ser humano. “El yogurt natural contiene trazas de diversos mono y disacáridos, pero la lactosa sigue siendo el azúcar dominante, incluso después de la fermentación el yogurt contiene 4 - 5 % de la lactosa” (Vázquez *et al.*, 2005).

2.2.3 Proteínas

El yogurt a diferencia de la leche, contiene un alto nivel de proteínas y esto se da debido a que uno de los ingredientes de su elaboración es la leche en polvo, dando como resultado la presencia de un elevado valor biológico y tanto las caseínas como las proteínas del lacto suero tienen una concentración alta de aminoácidos esenciales. La caseína en el yogurt se presenta en su forma descalcificada, formando unas micelas cuya estabilidad puede llegar a alterarse durante la fermentación llevando a la obtención de un pH 4.6 – 4.7; Por esta razón las proteínas son resistentes al medio gástrico y llegan mejor a los lugares de acción enzimática. Las proteínas de la leche, además de enmascarar la acidez del yogurt son las que nos proporciona una mejor consistencia y viscosidad del producto sea suave, cremoso y mejor aroma (Vázquez *et al.*, 2005).

2.2.4 Lípidos

Uno de los componentes importantes del yogurt son los lípidos, gracias a ellos se logra viscosidad, textura apariencia requerida para el yogurt, además los lípidos ayudan a evitar la sinéresis. A pesar de que el yogurt se elabore con leche

desnatada, la materia prima a ser usada deberá contener de 3 a 4 % de grasa láctea. “El Codex Alimentarius especifica un contenido de grasa mínimo de 3 % para el producto entero y menor de 0,5 para el yogurt descremado”. Los lípidos del yogurt no son grasas malas, estos nos ayudan a mantener una dieta equilibrada, además son una fuente de energía y sirven como protección de órganos vitales. Los lípidos son una grasa estructural que al juntarse con las proteínas forman una parte de las membranas celular muy importante para el cerebro. Por esto es esencial integrar a nuestra alimentación el yogurt, ya que brinda un aporte raso esencial para mantener una dieta equilibrada, lo cual es un aspecto importante en la alimentación infantil, ya que la carencia de esto puede causar desnutrición (García *et al.*, 2004).

2.2.5 Vitaminas y Minerales

El yogurt es una fuente importante de calcio y fosforo, aporta una cantidad mayor y de fácil absorción que otros productos lácteos, lo cual ayuda a las personas que son intolerantes a la lactosa y a su vez al crecimiento y fortalecimiento de estructura ósea. El contenido de vitaminas y minerales puede variar según la calidad de materia prima que se utilice, la modificación de calor que se efectuó en el momento del proceso, la cepa utilizada y del tipo de fermentación realizada.

En el momento de fermentación se produce una alteración de las vitaminas B1 y B2 y una pérdida de vitaminas B12 y C, produciendo la formación de ácido fólico. En este punto de la elaboración, la composición mineral permanece estable. Se ha determinado que el contenido de vitaminas en el yogurt relacionado con el contenido de vitaminas de la leche cruda depende mayoritariamente de los procesos de fortificación y de elaboración (Vázquez *et al.*, 2005).

Cuadro 2. Composición nutricional del yogurt.

Compuesto (Unidades/100 gr.)	Leche entera	Yogurt Entero
Calorías	67.5	72
Proteínas (gr.)	3.5	3.9
Grasa (gr.)	3.8	3.4
Carbohidratos (gr.)	4.75	4.9
Calcio (mg.)	119	145
Fosforo (mg.)	94	114
Sodio (mg.)	50	47
Potasio (mg.)	152	186

Fuente: Tamime *et al.*, (1991).

Cuadro 3. Concentración de vitaminas de leche y yogurt.

Vitaminas (Unidades /100gr.)	Leche entera	Yogurt Entero
Vitamina A (UI)	148	140
Tiamina B1 (ug.)	37	30
Riboflavina B2 (ug)	160	190
Piridoxina B6 (ug)	46	–
Cianocobalamina B12 (ug)	0.39	–
Vitamina C (mg)	1.5	–
Vitamina D (UI)	1.2	–
Vitamina E (UI)	0.13	–
Ácido Fólico (ug)	0.25	–
Ácido Nicotínico (ug)	480	–
Ácido Pantoténico (ug)	371	–
Biotina (ug)	3.4	1.2
Colina (mg)	12.1	–

Fuente: Tamime *et al.*, (1991).

2.2.6 Cambios Físicos

Varias investigaciones han determinado que las propiedades físicas del yogurt son afectadas por el tipo de procesamiento térmico, dentro de ellos la viscosidad aparente, capacidad de retención de agua índice de hidratación proteica, entre otros (Mori, 1989).

2.2.6.1 Viscosidad

La leche es mucho más viscosa que el agua. Esta mayor viscosidad se debe, por completo a la materia grasa en estado globular y las macro moléculas proteicas, la viscosidad disminuye con la elevación de la temperatura. Toda modificación que actúa en las grasas o las proteínas tendrá un efecto particular en la viscosidad, La homogenización eleva la viscosidad de la leche, así como los factores que producen variaciones en el estado de hidratación de las proteínas (coagulación del agua ligada) también son causas de los cambios de viscosidad. La contaminación de ciertos microbios aumenta la viscosidad de la leche especialmente los strepto coccus lácticos de la llamada "Leche filante" Algunas especies de bacterias lácticas producen tal cantidad de polisacáridos que aumentan considerablemente la viscosidad de la leche fermentadas. La coagulación por acidificación para la preparación de leche ácida, se logra mediante el agregado de unidores a la leche, es decir, inoculándolas con cultivos de bacterias lácticas; estos microorganismos transforman la lactosa en ácido láctico cuando el pH se acerca a su valor isoeléctrico aumenta la viscosidad, por lo que se obtiene fácilmente productos más espesos, con textura de gel, tal como el yogurt las condiciones las condiciones necesarias para la formación del gel, establece un delicado balance en la precipitación. Dentro de los factores que afectan la viscosidad del yogurt están los siguientes:

- Contenido de grasa.
- Temperatura de incubación a mayor temperatura la viscosidad disminuye.
- Velocidad de enfriamiento.
- Por efecto de calentamiento.
- Por efecto de la contaminación de sólidos en la leche.

Los cambios en la viscosidad del yogurt, depende de una serie de factores propios de las proteínas tales como el tamaño molecular, forma, carga superficial, tipo de las proteínas, concentración, solubilidad y capacidad de retención de agua, y estas a su vez, están influenciados por los factores del medio ya mencionados; otro factor importante es el calcio que queda retenido en las caseínas, cuya proporción con la superficie micelar influye en la formación del gel (Mori, 1989).

2.2.7 Cambios Químicos

2.2.7.1 Acidez y pH

La acidez de una solución se expresa corrientemente como $\text{pH} = -\text{Log OH}^+$, en donde OH^+ es la actividad del ion del hidrogeno en mol por litro, siendo la consecuencia de la ionización de grupos que ligan o liberan protones (iones +). La acidez medida por el valor del pH es importante factor para el control de muchos procesos, tanto naturales como de fabricación. En general, los micro organismos, son más sensibles a los iones hidrogeno que a los fermentos de los mohos. La mayor parte de microorganismos tiene límites de pH máximos y mínimos para su desarrollo y rango óptimo para su crecimiento más rápido. Además que el pH es un factor importante para la conservación y la estabilidad de ciertos geles, el contenido de ácidos de un alimento es un ensayo de los más sencillos para el control y la formulación. El rango básico de la curva de titulación es importante debido al amplio uso de la acidez titulable para caracterizar los productos lácteos. La razón fundamental del empleo de la acidez titulable es el detectar la leche acidificada y algunos métodos estándar la acidez se expresa incluso como porcentaje de ácido láctico. Muchos procesos cambian la acidez de la leche así tenemos la temperatura, proceso fermentativo con microorganismos acidificantes, lipólisis que da lugar a una disminución del pH y aumento en la acidez titulable, entre otros (Mori, 1989).

2.2.7.2 Materia grasa

Los procesos fabriles aplicados a la leche incluyen diversos tratamientos que pueden alterar la composición y las propiedades del glóbulo graso. La refrigeración es un tratamiento muy corriente determina la migración desde los glóbulos grasos al plasma de la leche, de los fosfolípidos, xantinoxidasa, cobre natural, proteínas y probablemente de otras sustancias, donde quizá intervenga el debilitamiento de los enlaces hidrófobos a temperaturas bajas. La agitación ejerce diversos efectos: puede causar la coalescencia de los glóbulos grasos que lleva a la liberación de material de la membrana ya que disminuye el área superficial de la grasa. La acidificación da lugar a la precipitación de parte de la caseína en los glóbulos grasos; durante la acidificación emigra a los glóbulos grasos parte del cobre

adicionado al plasma pero no el segregado naturalmente por la leche. Los glóbulos grasos sintéticos de la leche recombinada nunca contienen restos de la membrana original (Mori, 1989).

2.2.7.3 Contenido proteico

Las proteínas sufren una desnaturalización como consecuencia de ciertos tratamientos físicos y/o químicos; entre ellos tenemos: el calentamiento a altas temperaturas así como los ácidos y las bases suficientemente concentradas, solventes orgánicos, como el alcohol y las concentraciones grandes de solutos, ejerciendo una acción hidrolítica sobre las mismas. Esta hidrólisis es la degradación consecutiva a la ruptura de enlaces di sulfurados o peptídicos; por lo tanto, existe una liberación de fragmentos moleculares más o menos largos.

La acidificación de la leche provoca la destrucción de las micelas sin fraccionar la caseína, cuya precipitación es total hacia su punto isoeléctrico, es decir cuando se acerca al pH 4.7; si esta acidificación se desarrolla progresivamente en el medio se forma un coágulo homogéneo a causa de la fermentación láctica.

Existe una variación dentro de los componentes aminoácidos del yogurt; se cita los cambios que ocurren en los aminoácidos de la proteína del yogurt elaborado con leche fresca y la aplicación de un producto elaborado con leche en polvo. Se evaluó también el contenido proteico de varios yogurt estabilizados con proteínas, en el siguiente cuadro podemos notar que la proteína total del yogurt esta aproximadamente en 5 gr. de proteína por cada 100 gr. de yogurt. Contenido proteico de varios yogurts estabilizados con proteínas (Mori, 1989).

2.2.7.4 Carbohidratos

Los cambios en los carbohidratos del yogurt, están generalmente relacionados con la fermentación de la lactosa por las bacterias del yogurt. La fermentación de la lactosa constituye un hecho esencial en la elaboración del yogurt. El ácido láctico y productos secundarios afectan profundamente las características organolépticas del producto. Aún más la fermentación del ácido láctico afecta favorablemente al valor nutritivo fisiológico del yogurt. Las bacterias lácticas utilizan la lactosa como principal

fuentes de energía; esta no es empleada directamente sino previamente degradada en glucosa y galactosa mediante un proceso de fosforilación.

La glucosa obtenida sufre una glicólisis según la ruta Embded - Meyerhof rindiendo finalmente ácido láctico, mientras la galactosa, por su parte también se transforma por la ruta Tagatosa, convergiendo en la ruta EM. Estudios en los cambios cuantitativos en azúcares durante la fermentación y almacenamiento en yogurt; al evaluarse el proceso de desdoblamiento de la lactosa en glucosa y galactosa, afirmando que la β -galactosidasa, es el principal responsable de dicha formación, así mismo establece que el contenido de monosacáridos aumenta conforme disminuye la lactosa (Speere, 1979).

2.2.7.5 El yogurt y sus efectos saludables

El yogurt es un producto que ocupa un papel importante en la dieta de los consumidores, causándoles muchos beneficios para su salud, ya que reduce bacterias perjudiciales presentes en el intestino tales como las bacterias del grupo Bacteroides y Prevotella, especialmente Bacteroides vulgatus, la cual está asociada a procesos cancerígenos y enfermedades inflamatorias intestinales (Gutiérrez, 2006).

Las bacterias presentes en el yogurt resisten valores de pH bajos, lo cual permite destruir la micro flora indeseable. “El efecto del yogurt se ve reforzado por la capacidad de *L. bulgaricus* para implantarse en el intestino y llegar a convertirse en la flora dominante, modificación que aseguraría la ausencia continuada de microorganismos de la putrefacción, incluso consumiendo poco yogurt, lo cual determinaría una mayor vitalidad de los consumidores” (Tamime *et al.*, 1991).

2.2.8 Las Bacterias en el Yogurt

El yogurt se produce a partir de la fermentación de la leche y es alto en energía, hidratos de carbono, azúcares, proteínas, vitamina A, vitamina B2 y calcio. Se asocia con numerosos beneficios para la salud, incluida la buena salud de las encías, pérdida de peso y el tratamiento de las infecciones gastrointestinales

2.2.8.1 Streptococcus thermophilus

Streptococcus thermophilus (o *Streptococcus salivarius* subespecie *Thermophilus*) es una bacteria estreptocócica sin esporas, no patogénica, inmóvil. Se encuentra comúnmente en los productos lácteos fermentados. *Streptococcus thermophilus* se emplea típicamente para producir yogur, queso, leche y otros productos lácteos. Alivia los síntomas de intolerancia a la lactosa, acidez y otros trastornos gastrointestinales. Produce ATP (trifosfato de adenosina) desde la respiración aeróbica (en presencia de oxígeno) y es capaz de producir compuestos de nitrógeno a partir de la hidrólisis de las proteínas a base de leche

2.2.8.2 Lactobacillus delbrueckii subespecie bulgaricus

Lactobacillus delbrueckii subespecie *bulgaricus* (a veces referido como *Lactobacillus bulgaricus*) es una bacteria del yogur que puede fermentar eficazmente la lactosa para producir ácido láctico. Fermenta la leche para producir acetaldehído, que da al yogur su aroma característico. El cultivo de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* se utiliza para producir diferentes tipos de yogur, incluyendo el yogur regular, yogur orgánico, yogur kéfir, el yogur griego y el yogur búlgaro. Este microorganismo beneficioso ayuda a descomponer la lactosa, promueve el desarrollo de otras cepas de bacterias y mantiene la resistencia contra las enfermedades. También gestiona eficazmente los niveles saludables de colesterol y metaboliza lípidos. *Lactobacillus bulgaricus* inhibe microorganismos nocivos, patógenos de que multipliquen en el intestino

2.2.8.3 Lactobacillus acidophilus

Lactobacillus acidophilus es una bacteria beneficiosa que existe naturalmente en la boca y el tracto gastrointestinal de los animales y los seres humanos. Se utiliza comercialmente para producir yogur acidófilo. *Acidophilus* es un tipo específico de yogur que disminuye la flatulencia, mal aliento, mejora el daño del tracto intestinal causado por los antibióticos y mantiene la salud y la higiene de los intestinos. *Lactobacillus acidophilus* también se utiliza para producir leche acidófila dulce, que

se prescribe a los pacientes intolerantes a la lactosa. También se añade a la leche para reducir su nivel de pH (Briones, 2005).

2.2.8.4 Bifidobacterium

La bifidobacteria es una bacteria inmóvil, anaeróbica, probiótica que se añade normalmente en el yogur, postres congelados, leche en polvo y suero de leche. Se trata de una bacteria del ácido láctico y, naturalmente, se produce en la vagina y el tracto gastrointestinal humano. De acuerdo con Environmental Illness Resource, bifidobacterium disminuye los efectos secundarios y daños causados por los antibióticos, regula los movimientos intestinales, trata la diarrea causada por antibióticos, mantiene el equilibrio del pH de los intestinos, inhibe el crecimiento de bacterias productoras de nitrato en el intestino y sintetiza vitaminas (complejo B) (Ramesh *et al.*, 2006).

2.2.9 Tipos de Cultivo

Los cultivos son los organismos esenciales para la elaboración del yogurt, están conformadas, principalmente por bacterias lácticas, que se añaden a la leche para que inicien la fermentación. Al ser organismos vivos se debe tener suma precaución al momento de su conservación. La liofilización es el método más seguro que existe para conservar los cultivos. Ya que es un proceso mediante el cual el agua es retirada del producto congelado por sublimación bajo presión reducida (vacío). De acuerdo al tipo y número de cultivos estos se clasifican en las siguientes categorías.

- **Cultivos de cepa única:** Formada por una cepa de una determinada especie.
- **Cultivo definido múltiple:** Formado por varias cepas conocidas de una especie determinada.
- **Cultivo definido mixto:** Formado por varias cepas conocidas de distintas especies.
- **Cultivo indefinido o artesano:** Formado por numerosas especies y cepas, total o parcialmente desconocidas.

En el mercado actual se puede encontrar una amplia variedad de cultivos, los más conocidos son: Yo – Mix, Choozit y Yolp (Vera, 2011).

2.2.9.1 Yo – mixtm 300 lyo 10 dcu

Es una mezcla de bacterias lácticas (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*). Estos cultivos han sido cuidadosamente seleccionados y combinados para dar una acidificación muy rápida. Además nos ofrece un producto con una destacada textura y cremosidad, características apropiadas. Brinda una acidificación rápida de pH 4,60 a 4,50 continuando con una acidificación lenta para llegar a un pH más bajo. Esta característica permite un control del pH bueno para un producto de calidad óptima constante (YO – MIX, ficha técnica, 2015).

2.3 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

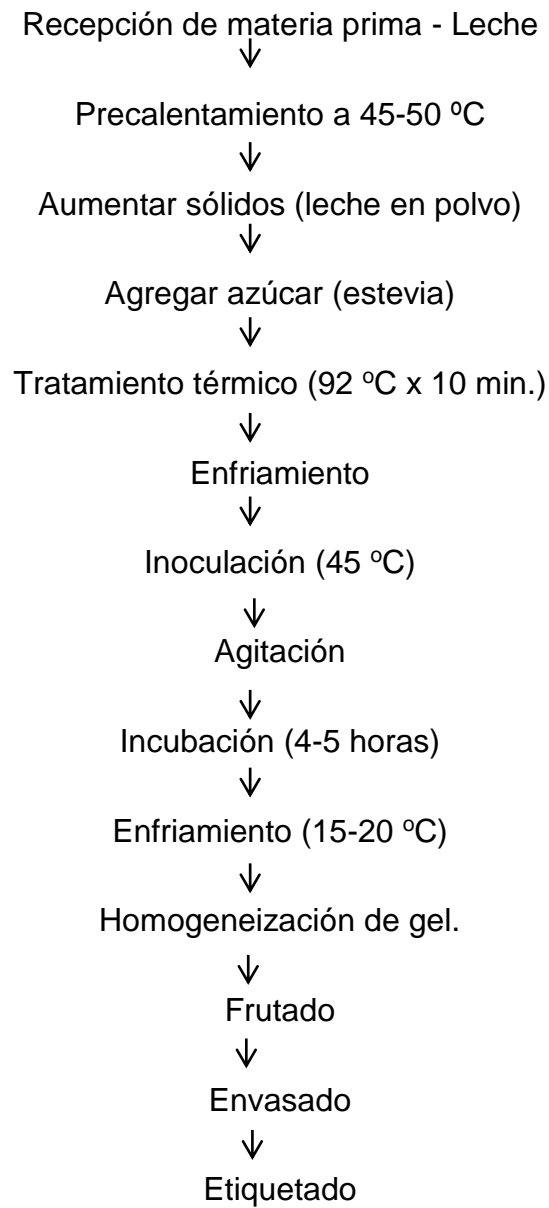


Figura 1. Diagrama de flujo de elaboración de yogurt.

Fuente: Franco, 2000.

2.3.1 Proceso Para la Elaboración de Yogurt

2.3.1.1 Recepción de la materia prima

La leche debe estar libre de antibióticos, desinfectantes, mastitis, agua por lo que se realiza las pruebas correspondientes al momento de la recepción, debe tener una densidad media de 1.032 con una amplitud de 1,30 a 1,038. A partir de estos datos se puede comprobar si la leche esta adulterada. El control de la densidad se realiza mediante aerómetros especiales, el termo – lactodensímetro. La leche debe ser sometida a un análisis para ver si es buena para el proceso. Deben hacerse pruebas de acidez, porcentaje de grasa, antibiótico y sensorial (Luquet *et al.*, 1991).

2.3.1.2 Filtrado

Consiste en eliminar sustancias extrañas presentes en la leche cruda mediante cernideros o tamices de telas (Early, 1998).

2.3.1.3 Precalentamiento

Se realiza a una temperatura de 45 - 50 °C para facilitar la siguiente operación (Franco, 2000).

2.3.1.4 Aumento de sólidos

En la industria es muy frecuente la utilización de leche en polvo, entera o desnatada para el enriquecimiento de la leche destinada a la elaboración de yogur de consistencia espesa y suave. La proporción de leche en polvo añadida a la mezcla base puede oscilar de un 1 a un 6 %, recomendándose por lo general valores del 3-4 %, ya que si se añaden porcentajes superiores ello puede conferir al yogur “sabor a polvo” (Tamime *et al.*, 1991).

2.3.1.5 Agregar azúcar

Se agregará 4 – 5 % de azúcar, agitando constantemente hasta su completa

disolución. La sacarosa es un carbohidrato muy abundante en el reino vegetal y se conoce vulgarmente como “azúcar”. Su fórmula empírica es $C_{12}H_{22}O_{11}$. El azúcar refinado se obtiene comercialmente a partir de la caña de azúcar o de la remolacha azucarera. Es aconsejable añadir el azúcar antes de proceder al tratamiento térmico, ya que así se garantiza la destrucción de las formas vegetativas de los microorganismos contaminantes, mohos y levaduras e incluso de algunas esporas. No obstante, si es preciso añadir el azúcar después de la formación del coágulo tienen que adoptarse las medidas necesarias para evitar la distribución heterogénea del mismo y una excesiva disminución de la consistencia del producto. La función principal de la sacarosa es proporcionarle un sabor agradable al producto y crear un ambiente favorable para la proliferación de los microorganismos (Franco, 2000). En esta investigación se utilizó edulcorante natural en polvo, Stevia Rebaudiana Bertoni.

2.3.1.6 Tratamiento térmico

Subir la temperatura a 92 °C y mantenerla por 10 minutos aunque el calentamiento de la leche por ebullición ha sido utilizado en el proceso de elaboración de yogur como método para conseguir incrementar la concentración de extracto seco lácteo en la mezcla base, los efectos del tratamiento térmico se pueden resumir fundamentalmente en los siguientes. Destrucción y/o eliminación de microorganismos patógenos y otros microorganismos indeseables; producción de factores estimulantes o inhibidores de los cultivos estarter del yogur; cambios en las propiedades físico-químicas de los componentes de la leche (Tamime *et al.*, 1991).

2.3.1.7 Enfriamiento

Se bajará la temperatura de 92 a 45 °C, debido a que a esta temperatura será ideal el desarrollo de las bacterias ácido lácticas.

2.3.1.8 Inoculación

Esta operación se realizará con bacterias lácticas de resiembra al 2 % o cultivo directo, utilizando como inóculo cultivos de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

2.3.1.9 Agitación

Esta operación se realizará por un período de 10 minutos para que se pueda distribuir perfectamente el cultivo inoculado (Franco, 2000).

2.3.1.10 Incubación

La fermentación tiene lugar por lo general a temperaturas de 40 - 44 °C, es decir, en las condiciones óptimas de crecimiento del cultivo mixto (método de incubación corto). En algunos casos el período de incubación puede ser de sólo 2 h y media, para cultivos lácticos activos (3 %) con una relación bacilos/cocos adecuada. No obstante, también puede recurrirse a métodos de incubación largos, a 30 °C durante toda una noche (18 horas) o hasta alcanzar la acidez deseada. La leche se deja en reposo durante el período de incubación, lo que determina la formación de un gel continuo semisólido, resultado de las siguientes modificaciones físicas y químicas de la leche.

El cultivo láctico utilizado en la elaboración de yogur metaboliza la lactosa presente en la leche para cubrir sus necesidades energéticas, dando lugar a la formación de ácido láctico y de otros compuestos importantes. La producción gradual de ácido láctico comienza a desestabilizar los complejos de caseína-proteínas del lactosuero desnaturalizadas, por solubilización del fosfato cálcico de los citratos. Los agregados de micelas de caseína y/o las micelas aisladas se van asociando y coalescen parcialmente a medida que el pH se aproxima a su punto isoeléctrico, es decir, 4.6 -4.7. Es probable que la interacción de la α -Lactoalbumina / β -Lactoglobulina con la κ -caseína a través de los grupos SH con la formación de puentes disulfuro proteja parcialmente a las micelas frente a una compleja desestabilización o ruptura, por lo que la red del gel o matriz queda formada por una estructura regular que atrapa en su interior al resto de los componentes de la mezcla base, incluyendo la fase acuosa (Tamime *et al.*, 1991).

El crecimiento del estreptococo se ve estimulado por la presencia en el medio de aminoácidos y péptidos liberados en la acción proteolítica del lactobacilo sobre las proteínas de la leche. A su vez el desarrollo del lactobacilo esta favorecido por el ácido fórmico y CO₂ producidas por las células de estreptococo en la fase de crecimiento

logarítmico. Estos microorganismos son los responsables de proporcionar el sabor y la textura del yogurt (Early, 1998).

Mantello, (2007), cita que los factores para la incubación del yogurt deben ser los siguientes: Temperatura 42 °C y 45 °C, Cantidad de Cultivo 2 % al 3 %, Tiempo de Incubación de 2.5 a 3 horas.

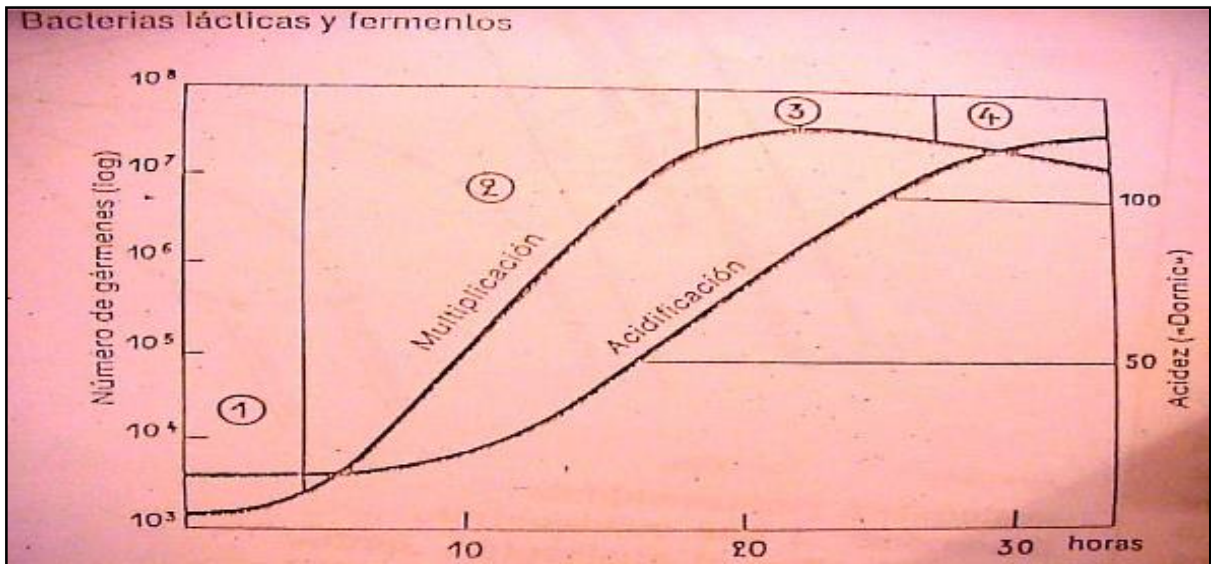


Figura 2. Curva de crecimiento y acidificación de una bacteria láctica.
Fuente: Mateos, 2005.

- (1) Fase de latencia o adaptación (2) Fase logarítmica (crecimiento activo)
(3) Fase máxima o estacionaria (4) Fase decreciente. (Mateos, 2005).

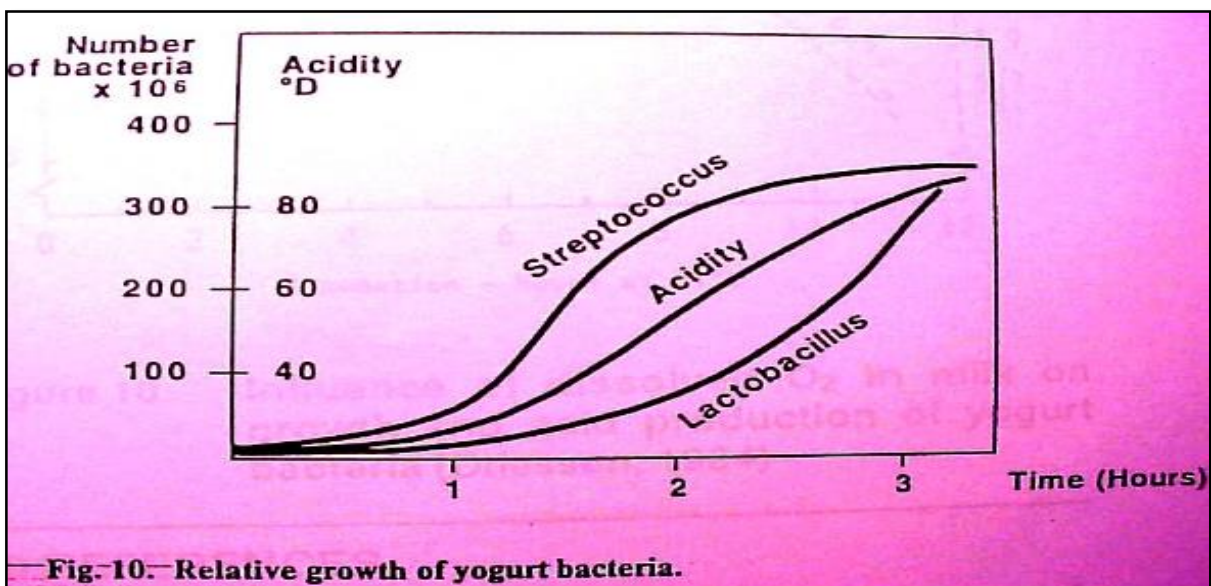


Figura 3. Producción de ácido láctico durante la fermentación láctica.
Fuente: Mateos, 2005.

Durante la fermentación el crecimiento bacteriano es rápido para llegar a más de 100 millones por gramo. La masa bacteriana llega a un 1 % de la masa de leche fermentada (Mateos, 2005).

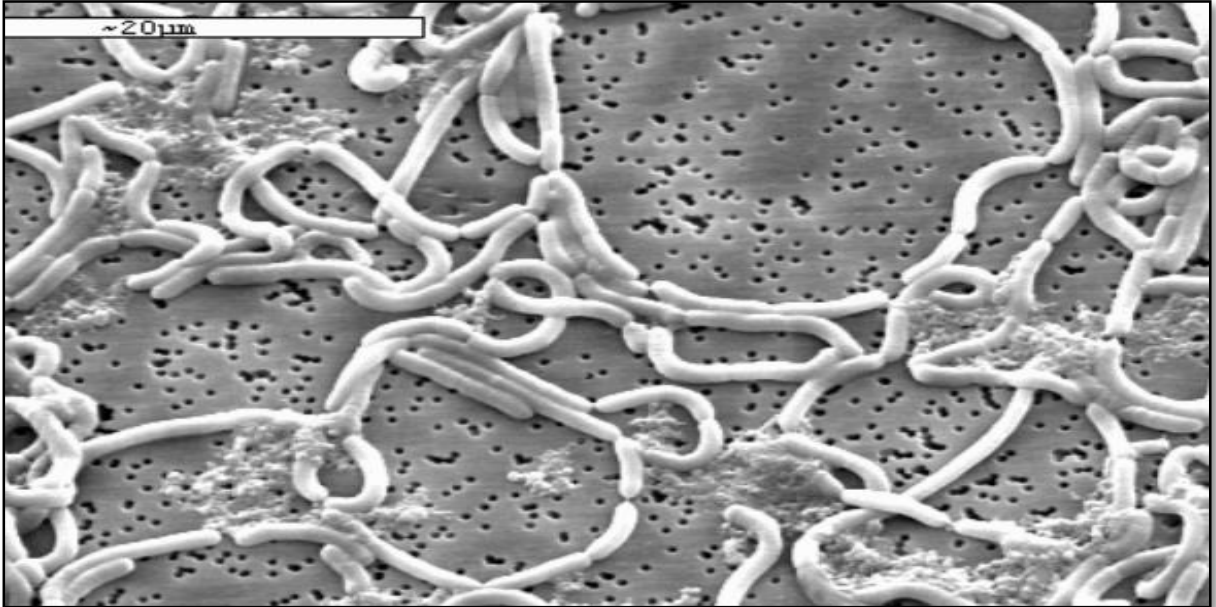


Figura 4. *Lactobacillus bulgaricus*.
Fuente: Mateos, 2005.



Figura 5. *Streptococcus thermophilus*.
Fuente: Mateos, 2005.

2.3.1.11 Enfriamiento

Una vez que se haya alcanzado la acidez deseada se detendrá el proceso de fermentación disminuyendo la temperatura ya que los microorganismos causantes de la misma, no son capaces de crecer a temperaturas inferiores a 10 °C. Se procede a llevar al yogurt a refrigeración a una temperatura de 5 °C o 4 °C, esto nos brinda un efecto positivo ya que aumenta la firmeza del gel del yogurt (Hernández, 2003).

2.3.1.12 Homogenización del gel

Esta operación se realizara por un periodo de 5 – 10 minutos para homogenizar la consistencia del yogurt (Franco, 2000).

2.3.1.13 Frutado

Normalmente se añaden al yogurt agentes aromatizantes (frutas, aromas naturales y sintéticos) (Tamime *et al.*, 1991).

2.3.1.14 Envasado

El yogurt deberá ser vendido al consumidor, como máximo, dentro de los veintiocho días siguientes, contados a partir de su fabricación. El envasado es una etapa muy importante del proceso de elaboración del yogurt, ya que es una forma de asegurar la distribución del producto hasta el consumidor final en adecuadas condiciones y con un mínimo costo (Tamime *et al.*, 1991).

2.3.1.15 Etiquetado

En los envases y etiquetas debe figurar la denominación del producto, cantidad neta del producto, fecha de caducidad o de consumo preferente, condiciones especiales de conservación y lote de fabricación. A pesar de que en la etiqueta no es obligatorio que figure su contenido calórico y nutricional, son muchos los fabricantes que así lo indican (Tamime *et al.*, 1991).

2.3.2 Defectos del Yogurt

2.3.2.1 Defectos del sabor

Black (1990), señala que los defectos del sabor del yogurt son corrientes, de la misma manera que lo son para cualquier producto lácteo. Quizá la falla más corriente sea la ausencia del sabor y aroma típicos. Dando por supuesto que el cultivo madre contenga el equilibrio deseado de cocos y bacilos, la formación insuficiente de sabor en el producto final suele ser resultado de producción inadecuada de ácido. La formación óptima de sabor no se alcanza sino hasta que la acidez llega a alrededor del 0.85 %, pero la maduración muy por encima del 0.95 % da un producto demasiado ácido.

Los compuestos aromáticos se forman en una escala considerablemente amplia de acidez. La ausencia del sabor y aroma típicos del yogurt puede ser también resultado del empleo de cepas de *Lactobacillus bulgaricus* que produzcan cantidades excesivamente pequeñas de sustancias aromáticas y de sabor (Black, 1990). Los sabores poco puros y los amargos del yogurt son resultado, a veces, de haber utilizado leche de poca calidad o un iniciador contaminado. Ciertas cepas de *Lactobacillus bulgaricus* pueden dar sabor amargo. La producción lenta de ácido por cultivos de yogurt ha podido hacerse remontar a bacteriófagos que atacan las células de *Streptococcus thermophilus*. Se han obtenido cultivos resistentes a los fagos, pero el cuerpo del yogurt hecho con estos cultivos no tiene la firmeza deseada (Cotecsu, 1984).

Cabrera (2001) señala que el sabor es el factor más importante de la calidad desde el punto de vista de la aceptación del consumidor. Los defectos causados por el material saborizante pueden considerarse como:

- Mucho sabor, debido a dosis excesiva de material saborizante o al empleo de aromas de poca calidad. En ambos casos puede impartir al yogur un gusto picante o amargo.
- Poco sabor, debido a falta de material saborizante o a alguna sustancia que interfiere el sabor.

- Sabor áspero (agrio), defecto debido al empleo de sustancias aromatizantes de poca calidad, aunque puede ser debido en algunos casos a exceso de sabor y a la fracción terpénica de algunos aromas.
- Sabor no natural (artificial), cuando el sabor no es característico del tipo de yogur. Puede ser debido al empleo de algunos aromas sintéticos, como el de vainilla o a imitaciones poco perfectas. Para reforzar algunos yogures frutales se emplea zumo de limón debido a su acidez, pero si junto al zumo se añade algo de la esencia de la corteza impartirá sabor a limón que no se desea y la mezcla tendrá un sabor no natural, aunque no desagradable.

También si se emplean frutos y zumos de fruta fermentados pueden impartir sabores desagradables. Los sabores naturales de frutos frescos y sanos se distinguen perfectamente de los obtenidos con aromas artificiales.

2.3.2.2 Defectos de textura

La textura se refiere al grano o a la más fina estructura del producto y depende del tamaño, forma y disposición de las pequeñas partículas. La textura ideal debe 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 los productos lácteos.

Este defecto es debido al exceso de materia grasa, por una incorrecta homogeneización, especialmente por falta de agitación durante la adición, poco contenido de sólidos de suero y/o una acidez alta. La textura arenosa la causa la cristalización de la lactosa, defecto que puede controlarse reduciendo los sólidos de suero, sustituyendo parte del azúcar por dextrosa, manteniendo temperaturas de almacenaje bajas y uniformes, controlando la acidez (Cabrera, 2001).

2.4 MÉTODOS PARA EL ANÁLISIS DEL YOGURT

2.4.1 Análisis Bromatológico del Yogurt T1 (1 %)

2.4.1.1 Determinación del pH

Método: Asociación de Químicos Analíticos Oficiales, (AOAC) 2006.

Fundamento: el término pH indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución. Se realiza mediante lectura directa en pH metro, a la temperatura de la muestra (<http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/Tecnoll/guia.pdf>).

2.4.1.2 Determinación de sólidos solubles

Método: Esta variable se realiza según las especificaciones de la norma Norma técnica Peruana (NTP).

- Los crisoles previamente esterilizados y secos se los codifica y pesa, ya obtenido el peso de los mismos se procede a colocar de 5 a 10 gramos de cada muestra de yogur en dichos crisoles.
- Se ubica en la estufa a 105 °C.
- Después de una hora de secado se retira los crisoles de la estufa.
- Se los tapa y coloca para enfriar en el desecador, luego se procede a pesarlos con su contenido.
- Con los pesos obtenidos durante el proceso de desecación se reemplaza en la fórmula que se describe a continuación y de esta manera se obtiene los porcentajes de sólidos totales para todas las repeticiones de cada tratamiento.

$$ST = 100 \frac{m_2 - m}{m - m_1}$$

En donde

ST = sólidos totales

m = peso del crisol

m1 = peso de muestra

m2 = peso del crisol más muestra

(<http://es.slideshare.net/rogermigueljaimeshuerta/analisis-de-yogurt>).

2.4.1.3 Determinación de la acidez

Método: AOAC, 947.05

Reactivos:

- Solución de Na OH 0.1 N valorada.
- Solución de fenolftaleína 0.5 % en etanol 95 %.

Medir con pipeta aforada, 10.0 ml de muestra y colocarlos en una cápsula de Porcelana. Añadir 1 ml de fenolftaleína. Titular con bureta de 10.0 ml con Na OH 0.1 N hasta aparición de color rosa débil persistente, utilizar como contraste el interior blanco de la cápsula (<http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/Tecnoll/guia.pdf>).

2.4.1.4 Determinación de la humedad

Método: AOAC, 925.10

Pesar exactamente alrededor de 2 g de muestra en el pesa filtro con tapa, previamente calentado a 130 ± 3 °C, enfriado a temperatura ambiente en desecador y pesado. Destapar el pesa filtro y secarlo con su contenido y la tapa 1 hora en estufa provista de abertura de ventilación a 130 ± 3 °C (el período de secado de 1 hora comienza cuando la temperatura de la estufa es realmente 130 °C). Cubrir el pesa filtro dentro de la estufa, pasar al desecador, destapar allí y pesar tapado en cuanto llegue a temperatura ambiente. Informar la pérdida de peso como porcentaje de humedad.

Nota: es importante que se respete el tiempo de 1 hora y que durante el mismo no se abra la estufa (<http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/bromato/guialab.pdf>).

2.4.1.5 Determinación de cenizas

Método: AOAC, 923.03

Se consideran como tal el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica, generalmente a 500 - 550 °C. Su composición rara vez corresponde a la de las materias minerales del producto debido a pérdidas por volatilización, descomposición e interacción entre constituyentes. Pesar exactamente de 3 a 5 g de muestra bien mezclada en una cápsula de 6 cm de diámetro, previamente calcinada hasta peso constante en mufla a 550 °C.

Incinerar sobre tela de amianto hasta carbonización y luego en mufla a 550 °C. Enfriar en desecador y pesar tan pronto alcance la temperatura ambiente. Repetir la operación hasta llegar a peso constante. El resultado se expresa en porcentaje de sustancia seca.

Nota 1: Si las cenizas quedan con trazas de carbón, humedecerlas con 3 - 5 gotas de agua, romper las partículas de carbón con una varilla de punta chata, enjuagarla y evaporar cuidadosamente a sequedad sobre un triángulo colocado sobre la tela metálica, antes de calcinar.

Nota 2: Esta determinación debe realizarse por duplicado. Para informar considerar ambos duplicados y evaluar la reproducibilidad (el error relativo debe ser menor del 3 %) (<http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/bromato/guialab.pdf>).

2.4.1.6 Determinación de proteína

Método: KJELDAHL NTP

- Se coloca 5 ml de muestra en un tubo de digestión (25 + 26 mg de nitrógeno en fresco con yogur).
- Se agrega en el tubo de digestión los siguientes reactivos: 7 g de (K₂SO₄) sulfato de potasio, 5 mg de (Se) selenio en polvo, 7 ml de (H₂SO₄) ácido sulfúrico concentrado al 98 %, 5 ml de (H₂O₂) peróxido de hidrogeno al 35 %, se mezcla.

- Se procede a la digestión para ello se calienta a 420 °C por 30 minutos.
- Transcurrido este tiempo se deja enfriar los tubos de digestión a 50 - 60 °C.
- Se adiciona a cada tubo 50 ml de amonio disuelto en agua destilada.
- Luego se procede a la destilación para ello se ubica en posición el destilador de vapor unido al frasco de recolección Erlenmeyer que contiene 25 ml de solución de ácido bórico al 4 %.
- Se ubica en posición el destilador de vapor unido al tubo de digestión con una muestra digerida.
- Se adiciona 50 ml de (NaOH) hidróxido de sodio al 35 %. El destilador de vapor tiene un mecanismo automático por lo que recolecta 100 ml de destilado por muestra.
 - Finalmente se procede a la titulación para ello se adiciona 10 gotas de indicador y se titula con (HCl) ácido clorhídrico 0.2 Normal (<http://es.slideshare.net/rogermigueljaimeshuerta/analisis-de-yogurt>)

2.4.1.7 Determinación de fibra

Método: De Weende.

- Pesar 2 g de muestra seca y desengrasada y colocar en el vaso de Berzellius con núcleos de ebullición y 250 ml de ácido sulfúrico 1.25 %.
- Colocar el vaso en el equipo y ajustar al condensador, subir la parrilla y calentar hasta ebullición.
- Mantener la ebullición por media hora exacta, contados partir de que empieza a hervir.
- Desconectar el vaso del condensador, enfriar y filtrar al vacío.
- Lavar el vaso y el residuo del papel con 250 ml de agua destilada caliente.
- El residuo trasvasar cuantitativamente al vaso de Berzellius y añadir 250 ml de NaOH 1.25 %.
- Colocar el vaso en el equipo y ajustar al condensador, subir la parrilla y calentar hasta ebullición.
- Mantener la ebullición por media hora exacta, contados a partir de que empieza a hervir.

- Desconectar el vaso del condensador, enfriar y filtrar por crisol Gooch conteniendo una capa de lana de vidrio y previamente tarado.
- Lavar el vaso y el residuo del papel con 250 ml de agua destilada caliente.
- Lavar por último con 15 ml de hexano o etanol.
- Colocar el crisol de Gooch en la estufa a 105 °C durante toda la noche, luego enfriar en desecador y pesar.
- Colocar el crisol de Gooch en la mufla a 600 °C por media hora, enfriar en desecador y pesar.

Cálculos

$$\% F = [(P1 - P)/m] \times 100$$

En donde:

% F= fibra cruda o bruta en muestra seca y desengrasada expresada en porcentaje en masa.

P1 = masa del crisol más el residuo desecado en la estufa en g.

P = masa del crisol más las cenizas después de la incineración en mufla en g.

M = masa de la muestra seca y desengrasada tomada para la determinación en g.

(<http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/bromato/guialab.pdf>)

2.4.1.8 Determinación de grasa

Método: De Gerber (INEN 12)

Este método volumétrico, muy difundido en el control de rutina de leche, en especial, y de productos lácteos en general, consiste en la separación de la materia grasa por disolución en ácido sulfúrico de todos los componentes, seguida por centrifugación en tubos especialmente calibrados. El método emplea también alcohol amílico, que ayuda a romper la emulsión de las grasas y previene la carbonización de las mismas.

Reactivos:

- H₂SO₄ para Gerber (dens. 1.813 – 1.817 a 20 - aprox. 90 %)
- Alcohol amílico puro (dens. 0.809 – 0.813 a 20°), libre de grasa, comprobado por un ensayo en blanco.

Medir con pipeta 11 ml de H₂SO₄ para Gerber e introducirlos en el butirómetro evitando mojar las paredes internas del cuello. Luego, agregar con rapidez 11.0 ml de leche con pipeta aforada, cuidando que forme un estrato encima del ácido y no se mezclar inmediatamente agregar 1 ml de alcohol amílico. Se tapa el butirómetro con el tapón especial correspondiente y se agita en forma efectiva pero con cuidado, teniendo en cuenta que se produce una fuerte elevación de la temperatura. Se coloca el butirómetro en un baño de agua a 65 - 70 °C por 5 - 10 min. (Con el tapón hacia abajo).

Retirado del baño, se seca exteriormente y se centrifuga 3 - 5 min. La centrifuga consiste en un plato chato en el cual, mediante tubos metálicos, se adaptan los butirómetros dispuestos de forma tal que los tapones de cierre queden dirigidos hacia afuera y la porción graduada hacia el eje de la centrifuga. Se vuelve al baño de agua por 4 - 5 min, se lee inmediatamente el espesor de la capa de grasa acumulada en la parte superior calibrada del butirómetro.

Por ajuste adecuado del tapón de cierre, se puede hacer coincidir la base de la columna de grasa con el cero de la escala. Leyendo a la altura del menisco de la columna de grasa, se obtiene directamente el porcentaje de grasa de leche. Si no es posible ajustar la superficie inferior de la columna de grasa a cero, se ajusta a la marca de porcentaje completo más próxima, y se tiene en cuenta al efectuar la lectura del menisco superior. La lectura del butirómetro corresponde a porcentaje g de grasa por 100 cm³ de leche.

Si se verificara agüado en la leche analizada, deberá recalcularse el % de grasa para determinar si existe desgrasado respecto del tenor graso especificado en el CAA (Comisión del Codex Alimentarius) para la leche analizada. Para proteger la mano del calor que se desprende, conviene tomar el butirómetro con un trapo, sujetando con el dedo pulgar el tapón de goma, con firme presión. Los tres líquidos del interior se mezclan volteando varias veces el butirómetro. En algunos casos, se

forman coágulos albuminoides que persisten; los mismos se eliminan agitando (siempre con precaución) fuertemente, después de un tiempo prudencial.

Nota 1: Siendo dificultosa la separación de los glóbulos pequeños de grasa en leches "homogeneizadas", se recomienda volver a centrifugar después de calentar en baño de 65 - 70 °C, procediendo así hasta que la lectura alcance un máximo.

Nota 2: Se recomienda la realización de éste ensayo por duplicado simultáneo, sirviendo cada butirómetro como mutuo contrapeso para el equilibrio de la centrífuga. (<http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/Tecnoll/guia.pdf>)

2.4.1.9 Determinación de carbohidratos totales

Método: Del fenol-sulfúrico.

Preparar una solución o suspensión de la muestra en agua, procurando que los carbohidratos se encuentren en el intervalo de sensibilidad del método (10 - 100 µg/ml). En tubos de ensayo perfectamente etiquetados, colocar 1 ml de la solución o suspensión acuosa de la muestra. Para cada tubo adicionar 0.6 ml de una solución acuosa de fenol al 5 %. Mezclando perfectamente, adicionar cuidadosamente 3.6 ml de ácido sulfúrico concentrado, homogeneizar.

Nota. Realizar todo el procedimiento para un tubo antes de seguir con el siguiente. Dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente (aproximadamente 30 min.) y determinar la intensidad del color naranja obtenido en un colorímetro a 480 nm, frente a un blanco preparado de la misma manera utilizando agua. Calcular la cantidad de carbohidratos presentes en la muestra a partir de una curva patrón preparada con el carbohidrato de interés en el intervalo del método (10 – 100 µg de glucosa/ml), tratada de la misma manera que el problema. (http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf)

2.4.2 Análisis Microbiológico del Yogurt T1 (1 %)

2.4.2.1 Recuento de coliformes totales

Método: Número más Probable (NMP).

Prueba presuntiva.

Todas las operaciones deberán efectuarse en absolutas condiciones de asepsia.

- Agitar vigorosamente la muestra por lo menos 20 veces para lograr una distribución uniforme de los microorganismos.
- Dependiendo del origen de la muestra y el contenido bacteriano esperado preparar diluciones.
- Para preparar las diluciones, con una pipeta estéril tomar una alícuota de 1 ml de la muestra original y llevarlo a uno de los tubos conteniendo 9 ml de agua de dilución estéril, obteniendo de esta manera una dilución de 10 - 1.
- Agitar el tubo de la dilución 10 - 1 y con otra pipeta estéril tomar una alícuota de 1 ml y llevarlo a otro tubo con 9 ml de agua de dilución estéril para obtener una dilución de 10 - 2.
- Proceder de la misma manera hasta obtener una dilución de 10 - 3 o hasta donde sea necesario.
- Inocular asépticamente con 1 ml de muestra por triplicado, tubos de fermentación conteniendo caldo lactosado o caldo lauril triptosa, a partir de las últimas 3 diluciones y conservar todas las anteriores en refrigeración por si se requiere su utilización posterior.
- Incubar todos los tubos a una temperatura de 35 °C durante 24 horas.
- Después de 24 horas de incubación efectuar una primera lectura para observar si hay tubos positivos, es decir, con producción de ácido, si el medio contiene un indicador de pH, turbidez y producción de gas en el interior de la campana Durham.
- Al hacer esta verificación es importante asegurarse que la producción de gas sea resultado de la fermentación de la lactosa, en cuyo caso se observará turbidez en el medio de cultivo, y no confundir con burbujas de aire.

- Para evitar este tipo de confusiones es recomendable revisar las campanas Durham antes de proceder a la inoculación y desechar aquellos tubos cuyas campanas contengan burbujas de aire ó de alguna manera eliminar éstas y así poder utilizarlos.
- De los tubos que en la primera lectura den positivos, ya se pueden hacer las pruebas confirmatorias para coliformes totales y coliformes fecales.
- En caso de no apreciarse crecimiento en el resto de los tubos, continuarán en incubación 24 horas más.
- Después de 48 horas ($\pm 2h$) a partir de la inoculación, se hace la lectura final.
- Si pasadas 48 h tampoco se aprecia crecimiento ni producción de gas, los tubos se toman como negativos.

Interpretación:

- Si el total de tubos son negativos: El examen se da por terminado, reportando la ausencia de coliformes totales y fecales en la muestra analizada.
- Todos aquellos tubos que den positivos para prueba presuntiva se anotarán convenientemente y se procederá a realizar la prueba confirmatoria para coliformes totales y fecales.

Prueba confirmatoria para coliformes totales:

- A partir de cada uno de los tubos que han resultado positivos en la prueba presuntiva, agitándolos para homogeneizar, inocular con tres asadas tubos conteniendo caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (LBVB).
- Incubar durante 48 ± 3 h a 35 ± 0.5 °C.
- Después de la incubación observar la presencia de turbidez y de gas.
- Si se observa turbidez y producción de gas: La prueba se considera positiva, debiendo anotar el número de tubos positivos para posteriormente hacer el cálculo del NMP.
- Si en ninguno de los tubos se observa producción de gas, aun cuando se observe turbidez: Se consideran negativos, estableciéndose el Código 0,0,0 para efecto del cálculo del NMP.

- Si todos los tubos dan negativos ó todos dan positivos, con base en los grados de dilución analizados, considerar la necesidad de repetir el análisis a partir de grados de dilución menores (mayores volúmenes de muestra) ó mayores (menores volúmenes de muestra), respectivamente (http://www.upemor.edu.mx/labo/tarchivos/archivos/HEAL/practica_7.pdf)

2.4.2.2 Confirmación de E. coli

Método: NTE INEN 1529 - 8

En situaciones que justifiquen el esfuerzo y sean necesarias la confirmación de E. coli y la diferenciación de las especies del grupo coliforme fecal, realizar los ensayos para indol, rojo de metilo, Voges Praskauer y citrato sódico (Pruebas IMVIC), de la siguiente forma:

De cada tubo de caldo BGBL (Caldo lactosado biliado verde brillante) que sea positivo para coliformes fecales, sembrar por estría un asa en una placa individual de agar eosina azul de metilo o agar VRB (Violeta Rojo y Bilis Agar) previamente seca e identificada. Incubar las placas invertidas a 35 – 37 °C por 24 horas. Para confirmar la presencia de E. coli de cada placa escoger 2 – 3 colonias bien aisladas y típicas (negra o nucleadas con brillo verde metálico de 2 – 3 mm de diámetro) y sembrar en estría en tubos de agar PCA (recuento en placa agar) o agar nutritivo inclinado e incubar los cultivos a 35 – 37 °C por 24 horas. Hacer extensiones a partir de los cultivos en agar PCA o nutritivo inclinado y teñido por el método de Gram, si se comprueba la pureza de los cultivos de sólo bacilos Gram negativos no esporulados, utilizar éstos para la prueba IMVIC.

Prueba para indol. Sembrar en un tubo de agua triptona un asa de cultivo puro, incubar 24 horas a 35 – 37 °C. Añadir al tubo 0.5 ml del reactivo de Kovacs. La aparición de un color rojo oscuro en la superficie del reactivo, indica una prueba positiva. En la prueba negativa el reactivo conserva el color original.

Prueba del rojo de metilo (RM). Sembrar en un tubo de caldo MR - VP un asa de cultivo puro incubar 24 horas a 35 – 37 °C, añadir a cada tubo aproximadamente 3

gotas de la solución de rojo de metilo, agitar; si el cultivo se torna rojo la prueba es positiva y negativa si hay viraje a amarillo.

2.4.2.3 Recuento de mohos y levaduras

Método: NTE INEN 1529-10

Utilizando una sola pipeta estéril, pipetear por duplicado alícuotas de 1 ml de cada una de las diluciones decimales en placas Petri adecuadamente identificadas. Iniciar por la dilución de menor concentración. Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas, aproximadamente 20 ml de agar sal-levadura de Davis (SLD) fundido y templado a 45 ± 2 °C. La adición del medio de cultivo no debe pasar más de 15 minutos, a partir de la preparación de la primera dilución. Delicadamente, mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo, imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, 5 veces en una dirección; hacerla girar cinco veces en sentido de las agujas del reloj.

Volver a imprimir movimientos de vaivén en una dirección que forme ángulo recto con la primera y hacerla girar 5 veces en sentido contrario a las agujas de reloj. Utilizar una placa para el control de la carga microbiana del ambiente, la cual no debe exceder de 15 colonias/placa, durante 15 minutos de exposición. Este límite es mantenido mediante prácticas adecuadas de limpieza y desinfección.

Como prueba de esterilidad del medio, en una placa sin inóculo verter aproximadamente 20ml del agar. Dejar las placas en reposo hasta que se solidifique el agar. Invertir las placas e incubarlas entre 22 y 25 °C, por cinco días. Examinarlas a los dos días de incubación y comprobar si se ha formado micelio aéreo.

Las primeras colonias que se desarrollan son las de levaduras, que suelen ser redondas, cóncavas, estrelladas. La mayoría de las colonias jóvenes de levaduras son húmedas y algo mucosas, también pueden ser harinosas, blanquecinas y algunas cremosas y rosadas. En ciertos casos, apenas cambian al envejecer, otras veces se desecan y encogen. Las colonias de mohos tienen un aspecto algodonoso característico. Cuando el micelio aéreo de los mohos amenace cubrir la superficie de

la placa, dificultando las lecturas posteriores; pasados dos días, realizar recuentos preliminares en cualquier placa que se pueda distinguir las colonias.

A los cinco días, seleccionar las placas que presenten entre 10 y 150 colonias y contarlas sin el auxilio de lupas. A veces pueden desarrollarse colonias pequeñas, éstas son de bacterias acidófilas y, por tanto, deben excluirse del recuento. Las colonias de levaduras deben ser comprobadas por examen microscópico. Contar las colonias de mohos y levaduras en conjunto o separadamente. Si las placas de todas las diluciones contienen más de 150 colonias, contar en las placas inoculadas con la menor cantidad de muestra.

Cálculos:

Cálculo del número (N) de unidades propagadoras (UP) de mohos y/o levaduras por centímetro cúbico o gramo de muestra. Calcular según la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\text{número total de colonias contadas o calculadas}}{\text{cantidad total de muestra sembrada}}$$

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1 m_2) d}$$

Dónde:

$\sum C$ = suma de las colonias contadas o calculadas en todas las placas elegidas.

n_1 = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada.

n_2 = número de placas contadas de la segunda dilución seleccionada.

d = dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos, por ejemplo 10 - 2

V = volumen del inóculo sembrado en cada placa.

2.6 EDULCORANTES (ESTEVIA)

2.6.1 Estevia Rebaudiana Bertoni

La *Estevia Rebaudiana Bertoni* o *Ka'a He'ê* (nombre nativo), es una planta de origen paraguayo, que junto a otras 154 variedades conforman el género *Stevia*. La *Estevia Rebaudiana Bertoni* es la única especie que contiene componentes dulces en sus hojas, denominados de forma genérica como steviolglicósidos (Rojas, 2009). La estevia es una planta arbustiva que alcanza una altura de 40 a 100 cm. (Capaste, 2010). Posee una raíz perenne, abundante, que apenas ramifica y no profundiza (Rojas, 2009). Sus tallos poseen un alto contenido de antioxidantes, siendo 5 a 6 veces mayor que el del té verde (Tokohu, 2010).

En la Figura 6 y 7 se observan las hojas y flores de la Estevia. Las primeras son de un color verde intenso, pequeñas y en promedio miden 5 cm de largo y 2 cm de ancho. Las flores son hermafroditas y se ubican en capítulos pequeños de 7 - 15 mm (CAPASTE, 2010). El fruto es un aquenio delgado y plumoso que es fácilmente diseminado por el viento (Rojas, 2009).



Figura 6. Hojas de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni
Fuente: Rojas, 2009.



Figura 7. Flores de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni.
Fuente: Rojas, 2009.



Figura 8. Cristales de estevia.
Fuente: Salgado, 2014.

La hoja seca de estevia contiene de 9 a 13 % de steviolglicósidos, el tallo posee menos de 3 % y la raíz no contiene. En la inflorescencia el contenido de steviolglicósidos en las hojas se reduce al 3 % del peso seco. En promedio posee un período vegetativo de tres meses donde alcanza la madurez fisiológica, disminuye el contenido de fibra, se acentúa el color verde y aroma, y debido a la aparición de steviolglicósidos las hojas presentan un mayor dulzor (Rojas, 2009). El cultivo de estevia se considera un cultivo perenne, siempre y cuando se realicen las prácticas adecuadas para mantener el sistema radicular y así lograr un rebrote luego de cada cosecha (Funcfos, 2010).

2.6.1.1 La estevia en Ecuador

La estevia es un cultivo introducido a nuestro país desde Colombia; se presume que las primeras plantas entraron por la frontera norte del Ecuador desde el Putumayo, hacia los sectores de Nueva Loja y Francisco de Orellana; sin embargo, el material vegetativo para las primeras plantaciones comerciales fue importado desde empresas colombianas dedicadas a la propagación y cultivo de ésta planta desde el valle de El Cauca, llegando a costar cada plántula entre 12 a 15 centavos de dólar americano.

Los sembríos de estevia rebaudiana en Ecuador se caracterizan por ser pequeños; van desde pocos metros cuadrados, cultivados por agricultores pertenecientes a asociaciones y asesorados por entidades gubernamentales u ONGs, cuyo producto final se lo comercializa como hoja seca, hasta 15 hectáreas como el existente en la península de Santa Elena, con fines de comercialización en forma de cristales; estos cultivos se encuentran distribuidos en diferentes regiones y pisos climáticos, como muestra el siguiente cuadro (Landázuri *et al.*, 2009).

Cuadro 4. Superficies y localización de Estevia en Ecuador, 2008.

Superficie de las plantaciones	Provincia	Localidades	Altitud m.s.n.m
< a 1 Ha.	Tsachilas	Vía Santo Domingo Quevedo Rio Verde	510
	Pichincha	Tababela Guayllabamba	2400
	Manabí	Puerto la Boca	1
	Zamora	Paquisha	900
	Francisco de Orellana	Joya de los Sachas	244
	Loja	Quinara	1640
	Sucumbios	Lago Agrio	300
	Carchi	El Chota	1560
15 Ha.	Guayas	Cerecita	50

Fuente: Landázuri *et al.*, (2009).

2.6.2 Aspectos Botánicos de la Estevia

2.6.2.1 Taxonomía

Cuadro 5. Taxonomía de la estevia.

División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Sub-clase	Asteridae
Orden	Campanulales (Asterales)
Familia	Asteraceae (compositae)
Género	Stevia
Especie	Rebaudiana

Fuente: Funcfos, (2010).

2.6.2.2 Compuestos químicos de las hojas

Las hojas de estevia de la variedad criolla, poseen un alto contenido de clorofila, (3 veces mayor al de otras plantas) y se postula que es el precursor en la síntesis de los steviolglicósidos. Dentro de estos compuestos se encuentran el steviósido (6 – 8 % de la hoja seca) y rebaudiósido A o reb-A (3 – 5 % de la hoja seca), este último más dulce y menos amargo que el primero, el cual se intenta aislar para su uso en edulcorantes. Se encuentran en menor cantidad los ent-kaureno glicósidos, algunos compuestos no dulces y otros que proporcionan sabor desagradable y amargo (Rojas, 2009). Los cuales deben ser removidos durante la elaboración del edulcorante (Olmedo, 2009), (Kennelly, 2002); (Stevia-paraguay, 2010); (Pasquel, 1999).

Cuadro 6. Compuestos químicos de las hojas de Estevia

Tipo de Compuesto	Nombre
Compuestos dulces (entkaureno glicósidos)	Rebaudiósidos C, D y E y dulcósido A.
Compuestos no dulces	Esterebinas de la A a la H.
Compuestos amargos y de sabor desagradable	Esteroles, triterpenoides, aceites esenciales, flavonoides, lactonas, cariofileno y el espatulenol.

Fuente: Rojas, (2009)

2.6.2.3 Perfil químico nutricional de las hojas

El perfil químico proximal de la hoja de estevia seca, revela presencia de proteínas, grasa, carbohidratos y micronutrientes, nutrientes que en conjunto aportan 275 kcal/100 g de hoja seca, valor calórico 31 % menor que el de la sacarosa (Rojas, 2009).

Cuadro 7. Análisis químico proximal foliar de estevia

Componentes	Hojas de estevia seca (%)
Humedad	8.46
Proteína	18.2
Grasa	4.77
Fibra cruda	10.77
Cenizas	7.83
Carbohidratos	49.97
Energía estimada, kcal	275

Fuente: Sato, (2003).

Cuadro 8. Contenido de vitaminas en estevia/100 g

Vitaminas	Hojas de Estevia
β -Caroreno, ug	1700
Vitamina E, mg	1.6
Vitamina B1, mg	0.04
Vitamina B2, mg	-
Niacina, mg	1.3
Vitamina C, mg	-

Fuente: Sato, (2003).

Cuadro 9. Análisis foliar de estevia en minerales

Mineral	Hojas de estevia
Calcio, %	0.61
Fósforo, %	0.34
Magnesio, %	0.5
Potasio, %	3.45
Sodio, %	0.03
Hierro, ppm	702
Cobre, ppm	17
Manganeso, ppm	68
Zinc, ppm	85
Boro, ppm	47

Fuente: Sato, (2003)

2.6.2.4 Esteviósido

El esteviósido es uno de los azúcares obtenidos naturalmente de la *Stevia rebaudiana*. Se trata de un glúcido diterpeno de masa molecular 804.80; es una molécula muy compleja que contiene 38 carbonos, 60 hidrógenos y 18 oxígenos, su punto de fusión es de 238 °C (Soto, 2002). Los esteviosidos contrarrestan la fatiga, facilita la digestión y las funciones gastrointestinales, nutre el hígado, el páncreas y el bazo. A pesar de ser de sabor dulce, no aumenta la concentración de glucosa en la sangre ni causa otros problemas secundarios.

Las investigaciones científicas han confirmado que el esteviósido es no-tóxico en experiencias de laboratorio controladas que han sido enfocadas hacia consecuencias a corto plazo de la ingestión de muy grandes cantidades de *estevia* y hacia consecuencias a largo plazo de la ingestión de cantidades moderadas de *estevia*.

Se halló que el esteviósido es no tóxico hacia conejos, cobayos y aves de corral y que son excretados por los animales sin que el esteviósido se modifique en el tracto intestinal de los animales (Salgado, 2014)

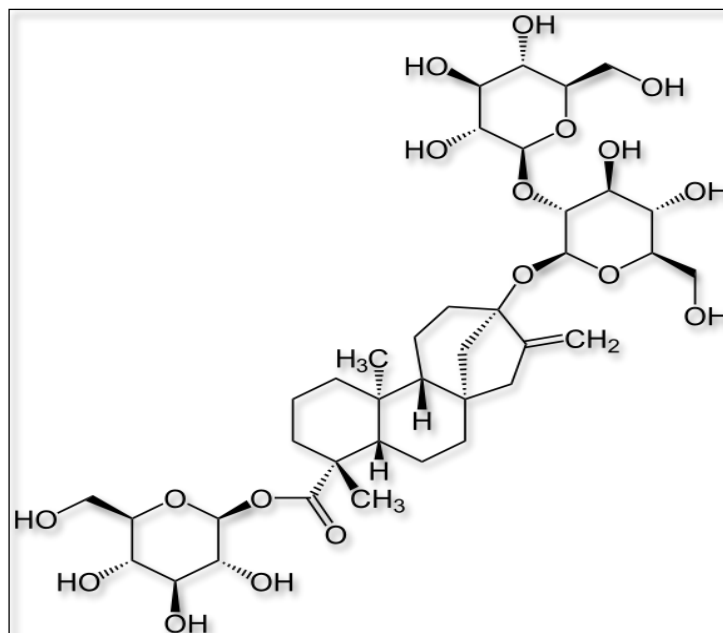


Figura 9. Estructura química del esteviósido
Fuente: Kinghorn, 2002

2.6.2.5 Propiedades de los steviolósidos

- Origen natural: Los steviolglicósidos se producen en las hojas de Estevia de donde se aíslan y purifican sin realizar modificaciones químicas.
- Contenido calórico: Los steviolglicósidos no se metabolizan ni se acumulan en el cuerpo por lo que su aporte calórico es nulo (FDA, 2010).
- Dulzor: El reb-A es 250 a 450 veces más intenso en dulzor que la sacarosa, mientras que el esteviósido lo es unas 300 veces más.
- Solubilidad: El esteviósido es menos soluble en agua que el reb-A, 1 gramo de esteviósido se disuelve en 800 ml de agua, mientras que 1 gramo de reb-A se disuelve en 80 ml de agua (Kinghorn, 2002).
- Estabilidad: A 120 °C el esteviósido es estable por una hora, sin embargo sobre 140°C se observó su descomposición (Kroyer, 1999).
- Por otra parte el reb-A es estable en distintas matrices alimentarias durante varias semanas de almacenamiento. En el caso de las bebidas carbonatadas el

reb-A es estable en los rangos de pH de 4 a 6 y a temperaturas de 5 °C a 25 °C, hasta por 26 semanas (Cargill, 2008).

2.6.2.6 Reglamentación y toxicidad de la estevia

La FDA permitió en 1995 el uso de la estevia como suplemento dietético y en diciembre del 2008 aprobó su uso en alimentos y bebidas asignándole la categoría Generalmente Reconocido Como Seguro (GRAS), lo cual fue respaldado por una serie de estudios toxicológicos que demostraron que los steviolglicósidos no afectan a la salud de las personas (Kraska, 2009). Por otra parte, estudios realizados en animales indican que la ingesta de distintas dosis de steviolglicósidos no influye en el crecimiento, no altera los exámenes hematológicos ni bioquímicos de sangre y no provocan cambios en el peso de órganos.

En relación a los efectos sobre la reproducción, la administración de extracto acuoso de estevia no afecta la actividad sexual, la fertilidad y tampoco las características de los órganos reproductivos (Kinghorn, 1985). En cuanto a la ingesta límite de steviolglicósidos se determinó una dosis letal 50 % (LD50) de 15 gramos por kilogramo de peso corporal (McMurty, 2009).

En junio de 2008, el Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JEFCA) estableció que los edulcorantes que contengan hasta un 95 % de steviolglicósidos (reb-A y steviósido principalmente) son seguros para el consumo humano en un rango de 0 - 4 mg/kg peso/día (Williams, 2009).

2.6.2.7 Usos y aplicaciones de la estevia

El uso más importante que tiene la estevia en la actualidad es el de la industria alimenticia y el de bebidas, principalmente como edulcorante y saborizante. El mercado de la salud ocupa el segundo lugar en orden de importancia. Y en el tercero están los sub - productos de la planta, después de que las hojas hayan sido seleccionadas para la industria del té o para las industrias extractivas. Se detallan sus diferentes usos y aplicaciones (Salinas, 2006).

2.6.2.8 Mercado de alimentos y bebidas

Salinas (2006), cita como la estevia es utilizada en los alimentos:

- El edulcorante de estevia es resistente al calor (hasta 200 °C), es estable al ácido, incoloro y no fermenta.
- Refuerza sabores y olores.
- No tiene calorías y es natural.
- Es un edulcorante no tóxico y no adictivo.
- Es potente, 250 a 300 veces más dulce que el azúcar en su forma procesada.
- Es un edulcorante de mesa para el té, el café, etc.
- Fuente de antioxidantes.
- Enaltecedor de bebidas alcohólicas (agente de envejecimiento y catalizador).
- Productos potenciales: aditivo para bebidas gaseosas, jarabes de frutas, refrescos, jugos de fruta, helados, yogures, sorbetes, pasteles, bizcochos, tortas, panes dulces, tartas, panificados, mermeladas, salsas, curtidos, jaleas, postres, chicles, dulces, confiterías, frutos de mar, verduras, dietas para bajar de peso, dietas diabéticas, enaltecedor del sabor, color y olor.

2.6.2.9 Mercado de los subproductos

Salinas, (2006), describe los siguientes subproductos:

- Producción animal: raciones balanceadas, animales de granja, caballos de carreras, piscicultura.
- Cosméticos: cremas, lociones, jabones.
- Agricultura: cultivos y céspedes.
- Ambiente: descontamina de la dioxina y los químicos peligrosos.
- Suelo: desinfectante de bacterias, hongos filamentosos y algas marinas

2.6.2.10 Beneficios para la salud

Salinas (2006), indica los siguientes beneficios:

- Recomendado para los Diabéticos

- Antimicrobiana, el extracto de estevia eliminó E coli, salmonella, Estafilococcus, bacilos, y no afectó bacterias útiles, lo que indica una acción selectiva.

Así mismo (Elizalde, 2010) cita:

- Reduce la obesidad.
- Reduce la ansiedad.
- Cardiotónico, regula la presión y los latidos del corazón.
- Acción digestiva, es diurética y antiácida, así ayuda a eliminar las toxinas.
- Antirreumática.
- Anti caries. compatible con el flúor, detiene el crecimiento de las plaquetas y evita la caries.
- Combate la ansiedad, acción sobre el sistema nervioso.
- Antioxidante.
- Efecto dérmico revitalizando las células epiteliales, ayuda en la rápida cicatrización de las heridas.
- Previene caries y enfermedades de encías.
- Muy soluble en agua fría o caliente, resistente a las altas temperaturas.

2.7 TRABAJOS SIMILARES

Galvis, E., (2009), Realizó la “Evaluación de la Utilización de Estevia en yogurt” llegando a las siguientes conclusiones:

- La adición de estevia como edulcorante, a las dosis estudiadas, no cambia las características de pH, acidez y viscosidad aparente del yogurt.
- Es posible obtener yogurt endulzado con estevia, con iguales características fisicoquímicas al endulzado tradicionalmente con sacarosa y reducir en un 11,57 % el aporte calórico de este alimento.
- La edulcoración con estevia-sacarosa, produjo mejor calidad sensorial en cuanto al aroma y sabor del yogurt. En cuanto a la adición de probiótico no hubo ninguna diferencia que afectara alguna de las características sensoriales estudiadas en cuanto a color, aroma y sabor, acidez y textura.
- La utilización del extracto de estevia en polvo, representa una alternativa como edulcorante en el yogurt, que ofrece beneficios como la disminución en la ingesta de calorías.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materiales de Campo

- Mandil
- Guantes
- Libreta de apuntes
- Esferográficos
- Cámara fotográfica
- Termo congelador
- Botas
- Cubre boca
- Cofia

3.1.2 Materiales de Oficina

- Computadora
- Libreta de apuntes
- Calculadora
- Impresora
- Hojas de papel tamaño INEN A4

3.1.3 Materiales para la Degustación

- Vasos desechables
- Agua purificada
- Servilletas
- Encuestas (anexo 1 y 2)

3.1.4 Materiales de Laboratorio

- 150 litros de leche de vaca

- Envases para las muestras del yogur
- Mechero de bunsen
- Termómetro
- Agitadores
- Pipeta
- Espátula
- Olla de presión
- Cernidero
- Lactoscan
- Balanza
- Probeta
- Termo lactodensímetro
- Acidómetro
- Vasos de precipitación

3.1.5 Reactivos

- Fenolftaleína
- Hidróxido de sodio 0.1 N

3.1.6 Cultivo

- Fermento YO – MIX™ 300 LYO 10 DCU (anexo 4)

3.1.7 Edulcorante

- Como edulcorante se usó estevia rebaudiana en polvo suministrada por los Laboratorios Vitafarma Cia. Ltda. de Ecuador (anexo 6).

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Ubicación

La presente investigación se realizó en la Planta Piloto de Procesamiento de Lácteos de La Quinta Experimental Punzara perteneciente al Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, ubicada al sur – oeste de la Hoya de Loja, a una altitud de 2100 m.s.n.m., con una precipitación anual de 759.7mm, la misma que se encuentra dentro de la formación ecológica Bosque seco Montano bajo, tiene una temperatura promedio de 18 °C, humedad relativa es del 60 % y el viento tiene una dirección norte - sur con una velocidad de 3.5 m/s (Estación Meteorológica La Argelia, 2013).

3.2.2 Selección y Tamaño de la Muestra

Para la elaboración de yogurt se utilizó 150 litros de leche de vaca de la Quinta Experimental Punzara, con una dosificación de estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*) en polvo, al 1 %, 0.75 %, 0.5 %, cada muestra se la realizó con 12.5 litros de leche.

3.2.3 Identificación de Grupos

Se identificó cada grupo mediante la colocación de un letrero en cada vasija o contenedor del yogurt, haciendo constar en el mismo el número de tratamiento, el número de repetición y la dosis de estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*).

3.2.4 Descripción de los Tratamientos

En el presente trabajo investigativo, se evaluó tres tratamientos con cuatro repeticiones. Los tratamientos que se experimentaron se describen a continuación:

➤ **Tratamiento 1 (1 %)** Estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*).

En el Tratamiento T1, se utilizó un total de 50 litros de yogurt, con tres unidades experimentales de 12.5 litros cada una.

➤ **Tratamiento 2 (0.75 %)** Estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*).

En el Tratamiento T2, se utilizó un total de 50 litros de yogurt, con tres unidades experimentales de 12.5 litros cada una.

➤ **Tratamiento 3 (0.5 %)** Estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*).

En el Tratamiento T3, se utilizó un total de 50 litros de yogurt, con tres unidades experimentales de 12.5 litros cada una.

3.2.5 Diseño Experimental

Se utilizó el diseño estadístico de Friedman con tres tratamientos y cuatro repeticiones.

Cuadro 10. Tratamientos

TRATAMIENTO	DOSIS DE ESTEVIA	REPETICIONES			
		R1	R2	R3	R4
T1	1 %	T1	T1	T1	T1
T2	0.75 %	T2	T2	T2	T2
T3	0.5 %	T3	T3	T3	T3

Cuadro 11. Cantidad de litros de yogurt en (litros)

TRATAMIENTO	DOSIS DE ESTEVIA	REPETICIONES				TOTAL
		R1	R2	R3	R4	
T1	1 %	12.5	12.5	12.5	12.5	50
T2	0.75 %	12.5	12.5	12.5	12.5	50
T3	0.50 %	12.5	12.5	12.5	12.5	50
TOTAL		37.5	37.5	37.5	37.5	150

3.2.6 Variables de Estudio

Para la presente investigación se tomó en cuenta las siguientes variables:

3.2.6.1 Características físico-químicas de la leche materia prima

Para determinar las características físico-químicas de la leche se utilizó el lactoscan, los indicadores analizados fueron: Grasa, sólidos no grasos, densidad, lactosa, sales, proteína, agua adicionada, temperatura, punto de congelación, pH, conductividad, acidez. Estos resultados se evaluaron mediante estadística descriptiva.

3.2.6.2 Características sensoriales del yogurt

Se realizaron pruebas exploratorias de aceptación con 10 personas pertenecientes al 8^{vo} Módulo, de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, de la Universidad Nacional de Loja y aplicando dos diferentes tipos de test, el primero por escala hedónica para la evaluación de la aceptabilidad y el segundo por método de atributos de calidad (anexo 1 y 2), para establecer la formulación de mayor aceptabilidad por el consumidor.

Para ello las tres formulaciones de yogurt con estevia (T1 1 %; T2 0.75 %; T3 0.5 %) se repartieron en vasos de plástico y se nombraron con su respectiva clave: T1 (Nº 100), T2 (Nº 200), T3 (Nº 150) de acuerdo a la concentración asignada para realizar la degustación respectiva. El estudio de las características sensoriales se las realizó una vez que estuvo listo el producto. La Evaluación sensorial se la realizó utilizando el diseño estadístico de Friedman, que se utiliza para productos nuevos con prueba de ranking.

3.2.7 Análisis Bromatológico y Microbiológico del Yogurt

Una vez que estuvo listo el producto se envió la muestra que tuvo mayor aceptabilidad T1 (1 %), al Laboratorio de Análisis de Alimentos y Aguas "MSV" ubicado en la ciudad de Cuenca (anexo 3), las variables que se analizaron son las

siguientes: Análisis Bromatológico: pH, sólidos solubles, acidez, humedad, cenizas, proteína, fibra, grasa, carbohidratos totales; Análisis Microbiológico: coliformes totales, E. coli, mohos y levaduras, también se evaluó mediante estadística descriptiva.

- Las unidades de pH del yogurt se realizó mediante el método de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) 2006.
- El porcentaje de sólidos solubles se realizó mediante las especificaciones de la norma Norma técnica Peruana (NTP).
- El porcentaje de acidez del yogurt fue realizado por el método AOAC, 947.05
- El porcentaje de humedad del yogurt se analizó con el método AOAC, 925.10
- El porcentaje de cenizas del yogurt fue realizado por el método AOAC, 923.03
- El porcentaje de proteína del yogurt fue realizado por el método KJELDAHL NTP
- El porcentaje de fibra se determinó mediante el método de Weende.
- El porcentaje de grasa se realizó por medio del método de Gerber.
- Para determinar el porcentaje de carbohidratos totales se realizó mediante el método del fenol-sulfúrico
- Los coliformes totales se determinaron por el método del Número más Probable (NMP)
- La E. coli se determinó por medio del método de la NTE INEN 1529 – 8
- Los mohos y levaduras se determinaron por el método de la NTE INEN 1529 - 10

3.2.8 Elaboración de Yogurt con Estevia

Para ejecutar esta investigación se elaboró formulaciones de estevia (*stevia rebaudiana bertonii*) aplicando fórmulas matemáticas: T1 (1 %) 125 g /12.5 litros; T2 (0.75 %) 93.75 g/12.5 litros; T3 (0.5 %) 62.5 g/12.5 litros.

3.2.9 Análisis e Interpretación de los Datos

Realizados todos los análisis de las variables propuestas, se procedió a ordenar y clasificar los resultados obtenidos para luego ser interpretados, realizándose un análisis descriptivo. En base a ello se elaboró el informe final de la investigación.

4. RESULTADOS

Se utilizó para la degustación tres muestras de yogurt con diferentes dosificaciones de estevia (*stevia rebaudiana bertonii*) en polvo, 1 %, 0.75 %, 0.5 % que se identificaron con claves para disimular ante los catadores.

Las encuestas se diseñaron con dos diferentes test, la primera con la escala hedónica y la segunda con el de atributos de calidad (anexo 1 y 2) y se aplicaron a 10 estudiantes del 8 ^{vo} módulo, de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, de la Universidad Nacional de Loja.

4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA LECHE

Cuadro 12. Promedio de las características físico - químicas de la leche

VARIABLES	T1 (1 %)	T2 (0.75 %)	T3 (0.5 %)	PARÁMETRO INEN NTE 0009
Grasa	3.52	3.46	3.81	3
S.N.G.	7.23	7.34	7.31	8.2
Densidad	1.03	1.03	1.03	1.033
Lactosa	4.04	4.09	3.98	4.7
Sales	0.61	0.63	0.60	0.68
Proteína	2.76	2.85	2.73	2.9
Agua Adicionada	4.29	2.36	4.11	0
T ⁰ . Leche	26.15	24.71	23.30	15
Punto de Congelación	- 0.46	- 0.47	- 0.45	- 0.536
pH	6.67	6.62	6.64	6.65
Conductividad	5.78	5.95	5.79	5.49
Acidez	17.50	18.25	17.25	17

En el cuadro anterior se muestra los promedios de las características físico - químicas de la leche de los tres tratamientos para la elaboración de yogurt con estevia, comparando con el parámetro de la INEN NTE 0009 para leche cruda. Para una mejor comprensión de grafica en la siguiente figura.

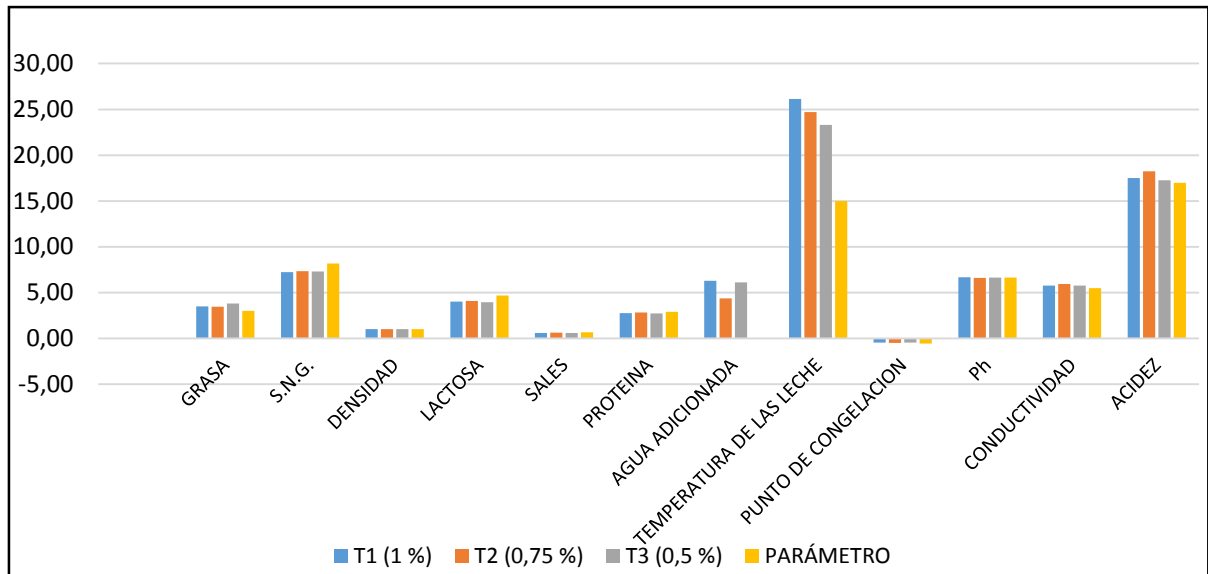


Figura 10. Promedio de las características físico-químicas de la leche

4.2 ENCUESTA POR ESCALA HEDÓNICA, (ANEXO 1)

Cuadro 13. Evaluación de la aceptabilidad del yogurt en (%)

TRATAMIENTOS	5	4	3	2	1
T 1 (1 %) 100	37.5	57.5	5	-	-
T 2 (0.75 %) 200	2.5 %	30.0 %	55.0 %	12.5 %	-
T 3 (0.5 %) 150	2.5 %	5.0 %	40.0 %	35.0 %	17.5 %

➤ Equivalencia de la escala:

5 Me agrada muchísimo

2 Me desagrada mucho

4 Me agrada mucho

1 Me desagrada muchísimo.

3 Me agrada más o menos

En el cuadro 13 se observa los porcentajes de la evaluación de aceptabilidad de yogurt endulzado con diferentes dosificaciones de estevia (*stevia rebaudiana bertonii*) en la que resalta el tratamiento 1 (1 %), con 57.5 % y que aplicando la

escala hedónica corresponde a me agrada mucho lo que se confirma con la encuesta de atributos de calidad que es la de mayor aceptabilidad , continuando con el tratamiento 2 (0.75 %) que tiene 55 % de aceptabilidad que corresponde a me agrada más o menos, le sigue el tratamiento 3 (0.5 %) con 40 % de aceptabilidad que así mismo corresponde a me agrada más o menos, a continuación el tratamiento 1 (1 %) posee una aceptabilidad de 37.5 % y corresponde a me agrada muchísimo, para tener una mejor visión se lo grafica en la siguiente figura.

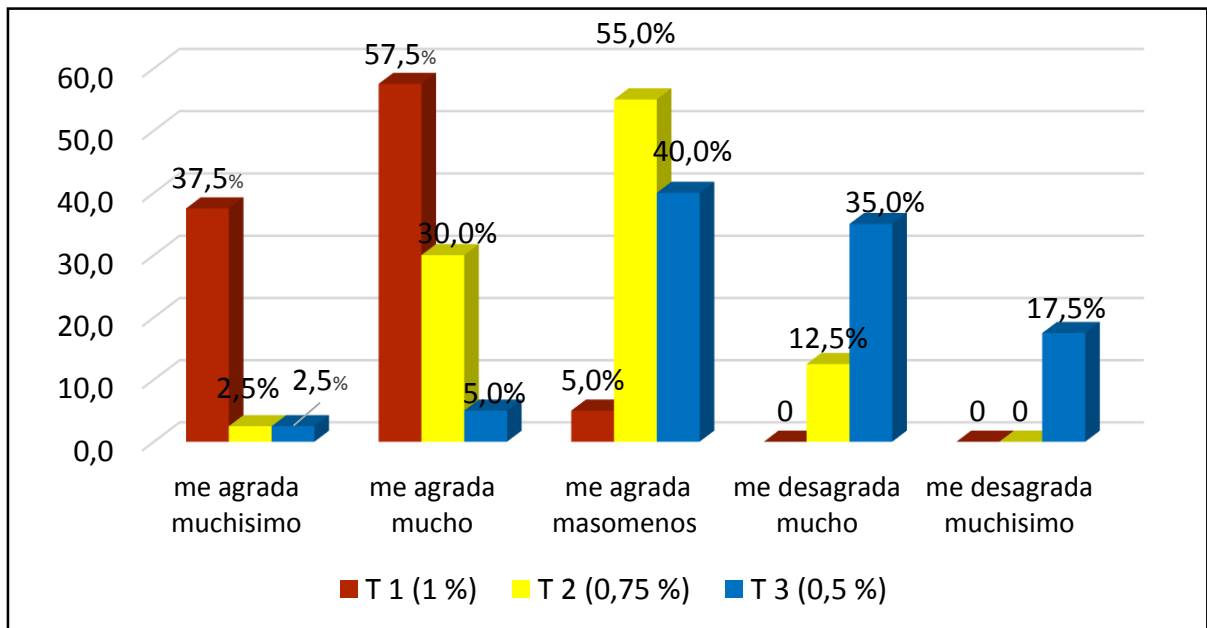


Figura 11. Evaluación de la aceptabilidad del yogurt

4.3 ACEPTABILIDAD MEDIANTE LA PRUEBA DE FRIEDMAN

Prueba de Friedman

T 1 (1 %)	T 2 (0.75 %)	T 3 (0.5 %)	T ²	p
2.90	1.95	1.15	64.26	<0.0001

Mínima diferencia significativa entre suma de rangos = 3.247

Tratamiento	Suma (Ranks)	Media (Ranks)	n	
T 3 (0.5 %)	11.50	1.15	10	A
T 2 (0.75 %)	19.50	1.95	10	B
T 1 (1 %)	29.00	2.90	10	C

Interpretación: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p < 0.050$) Mediante la prueba de Friedman se puede determinar que la aceptación del

yogurt endulzado con diferentes dosificaciones de estevia (*stevia rebaudiana bertonii*) es estadísticamente diferente entre los tres tratamientos teniendo mejor aceptación el tratamiento uno, en segundo lugar se ubica el tratamiento dos y finalmente el tratamiento tres.

4.4 ENCUESTA POR ATRIBUTOS DE CALIDAD (ANEXO 2)

Cuadro 14. Sabor del yogurt en (%)

ATRIBUTOS DE CALIDAD	INDICADORES	T 1 (1 %)	T 2 (0.75 %)	T 3 (0.5 %)
Sabor	Muy agradable (5)	65 %	17.5 %	5 %
	Agradable (3)	35 %	62.5 %	40 %
	Desagradable (1)	0 %	20 %	55 %

En el cuadro 14 se observa que el tratamiento 1 (1 %) alcanza el más alto porcentaje de aceptabilidad en el sabor con 65 %, seguido del tratamiento 2 que alcanza el 62,5 % que corresponde a agradable y por último el 55 % desagradable que corresponde al tratamiento 3, lo que se representa de una mejor manera en la siguiente figura.

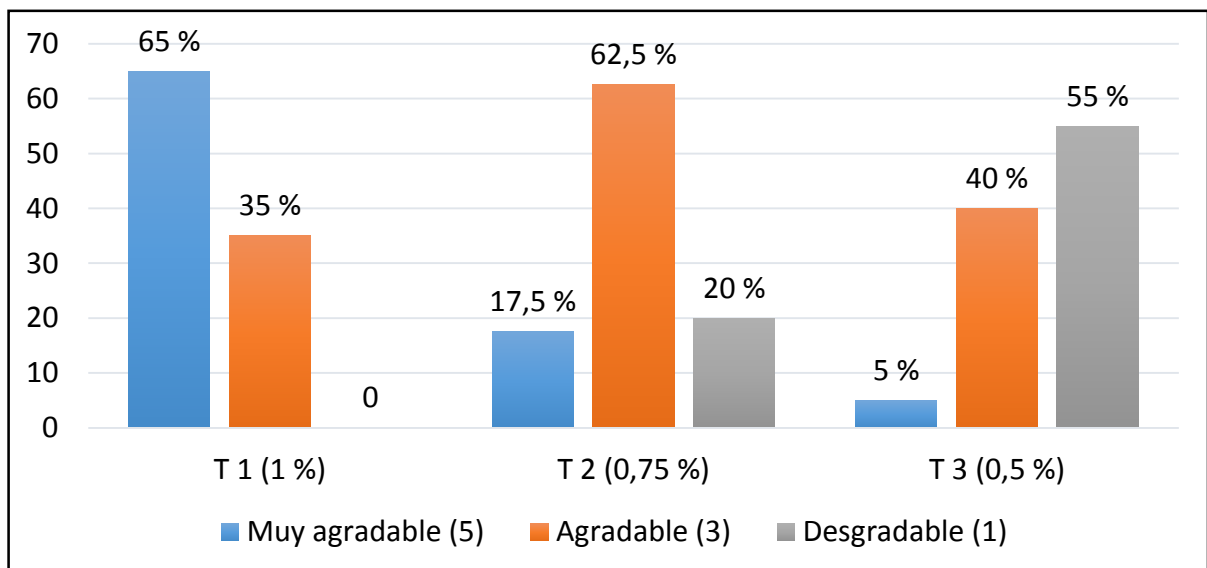
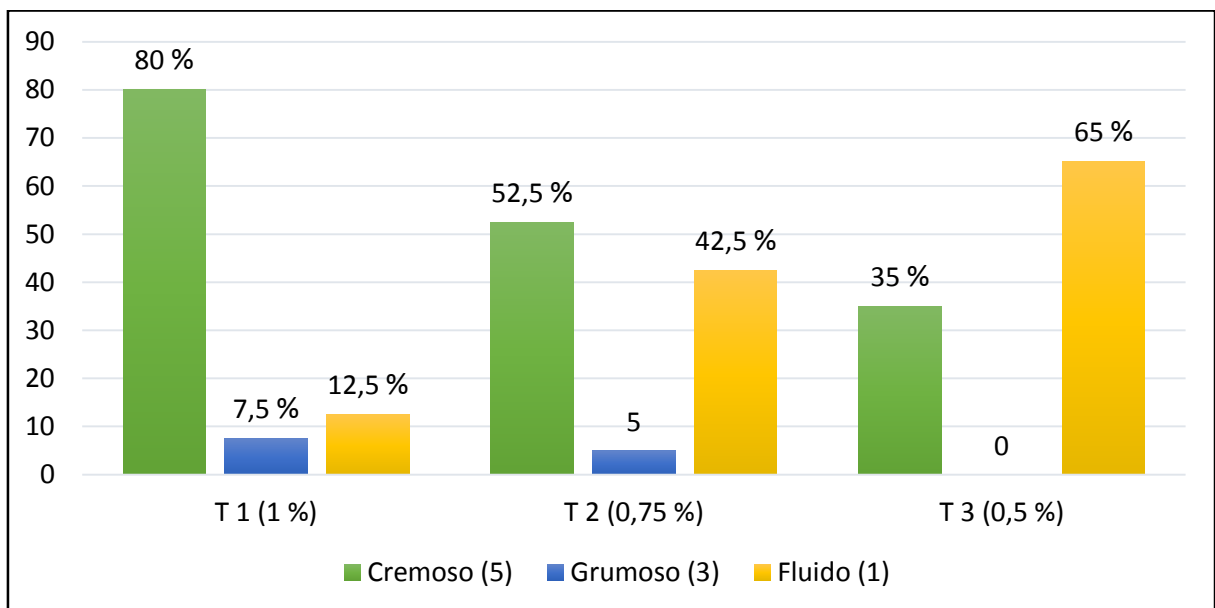


Figura 12. Sabor del yogurt en (%)

Cuadro 15. Textura del yogurt en (%)

ATRIBUTOS DE CALIDAD	INDICADORES	T 1 (1 %)	T 2 (0.75 %)	T 3 (0.5 %)
Textura	Cremoso (5)	80 %	52.5 %	35 %
	Grumoso (3)	7.5 %	5 %	0 %
	Fluido (1)	12.5 %	42.5 %	65 %

En el cuadro 15 se refleja que el yogurt del tratamiento 1 (1 %) tiene el mayor porcentaje de aceptabilidad con 80 % con la característica cremoso, el porcentaje más alto del yogurt grumoso presenta el 7.5 % que corresponde al Tratamiento 1 (1 %) y el yogurt fluido el porcentaje más alto es el tratamiento 3 con 65 % lo que se representa de una mejor manera en la siguiente figura.

**Figura 13.** Textura del yogurt en (%)

Cuadro 16. Comparación del yogurt T1 (1 %) con las Normas Inen 2395:2011

REQUISITOS NTE INEN 2395:2011				RESULTADOS EXPERIMENTALES
PARAMETROS DE LA NTE INEN	RANGO		UNIDAD	YOGURT CON ESTEVIA (1 %)
	MIN	MAX		
FÍSICO				
pH	4	5	Unidades de pH	4.25
Sólidos solubles	12	--	%	12.8
QUÍMICO				
Acidez	0.6	1.5	% (ác. Láctico)	0.82
Humedad	85.1	--	%	87.2
Cenizas	0.7	--	%	0.7
Proteína	2.7	--	%	3
Fibra	0.8	--	%	0.04
Grasa	2.5	--	%	3.6
Carbohidratos t.	--	--	%	11
MICROBIOLÓGICO				
Coliformes t.	--	10	UFC/ml	< 10
E. coli	--	< 10	UFC/ml	< 10
Mohos y levaduras	--	10	UFC/ml	< 10

En el Cuadro anterior se observa el análisis físico, químico y microbiológico del yogurt endulzado con estevia que se comparó con las normas establecidas por el INEN obteniendo los resultados antes expuestos. En el análisis físico, el resultado del pH del yogurt con endulzado con estevia es 4.25; Para los sólidos solubles su resultado es 12.8 %; dentro de los análisis químicos se determinó la acidez del yogurt; el resultado fue de 0.82; En el análisis proximal se determinó humedad, obteniéndose 87.2 %; en la determinación de las cenizas su resultado es 0.7 %; Para la proteína del yogurt el resultado es 3 %; La fibra se obtuvo en poca cantidad con un 0.04 %; en la grasa se obtuvo un 3.6 %; los carbohidratos totales presentaron un 11 %. En el análisis microbiológico los datos obtenidos de coliformes totales reportan < 10 UFC/ml; E. coli presenta < 10 UFC/ml, mientras que mohos y levaduras dio un conteo < 10 UFC/ml.

4.5 T 1 (1 %) COMPARADO CON EL YOGURT ENDULZADO CON SACAROSA

El tratamiento 1 (1 %) se lo utilizó para diferenciarlo del yogurt endulzado con sacarosa comercial en lo que se refiere a los azúcares totales, a continuación se detalla los valores.

El porcentaje de azúcares totales del yogurt endulzado con estevia fue de 3.2 mientras que el endulzado con azúcar tiene 15 %. Constatando que el yogurt elaborado con estevia es bajo en azúcares, apto para personas que llevan una vida dietética estricta así como para personas que gozan de una vida saludable ya que aporta otros nutrientes importantes para la salud.

5. DISCUSIÓN

5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA LECHE

5.1.1 Grasa

En esta investigación se puede apreciar que los niveles de grasa en los tres tratamientos sobrepasa ligeramente el parámetro establecido por la norma INEN que es de 3 %, así el T1 obtuvo 3.52 %, el T2 presento 3.46 % y el T 3 alcanzó 3.81 % de grasa, esto puede deberse a que los animales estaban en ordeño y se encontraban en los primeros días de parto. Según Santos (1996) la leche de bovino tiene 3,5 % de materia grasa. Esta no se ve afectada por la cantidad de alimento, sino que disminuye solo si se reducen de manera simultánea los carbohidratos y el material nitrogenado.

También depende de la composición del alimento, ya que si la cantidad de celulosa es baja o nula, habrá un descenso en la cantidad de grasa debido a que la fermentación en el rumen es defectuosa y disminuye la producción de ácido acético y también de otros ácidos volátiles que son principales formadores de ácidos grasos.

Los factores climáticos juegan también un papel muy importante ya que se observa una disminución de la materia grasa en los meses de verano y un ligero incremento en los meses de invierno. El ordeño juega un papel muy importante en la producción de grasa ya que mientras más cortos sean los periodos entre ordeños, menos será la cantidad de leche, pero en cambio la producción de grasa aumentará.

5.1.2 Porcentaje de Sólidos no Grasos

Los porcentajes de solidos no grasos (S.N.G.) obtenidos en esta investigación, no varían mayormente con relación a lo que ordena la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0009, la cual cita un valor medio de 8.2 %, en las muestras de leche obtenidas en los tres tratamientos los S.N.G. se encuentran ligeramente bajos, así tenemos: T1 (1 %) con 7.23 %; T2 (0.75 %) con 7.34 % y el T3 (0.5 %) con 7.31 % de S.N.G.

Novoa (1983) en su texto aspectos nutricionales en la producción de leche, nos dice que los sólidos no grasos comprenden las proteínas, la lactosa y las cenizas. Así mismo comenta que los sólidos no grasos de la leche se encuentran en promedio de 11.20 %, pero que pueden variar desde 6.85 % hasta 11.70 %.

Estos valores de (S.N.G.) también puede variar en función del tipo de alimentación suministrada a los animales; pero el tipo de variación es mucho menor de lo observado en relación al porcentaje de grasa. Esta variación parece estar relacionada con el nivel de energía, una vez que, el aumento de este valor en la dieta de vacas de alta producción puede conducir a un aumento de hasta 0.2 % en el porcentaje de S.N.G. Es importante destacar que la variación de S.N.G. es cíclico, sobre todo por la variación del nivel de proteína de la leche, lo que evidencia la importancia de este parámetro para la evaluación del rendimiento industrial del producto utilizado como materia prima (González *et al.*, 2010).

5.1.3 Densidad

Los datos obtenidos en el presente trabajo con respecto a la densidad de la leche son de 1.033 Kg/l en los tres tratamientos. La Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0009, indica una densidad relativa de 1.029 Kg/l. a 1.033 Kg/l., a una temperatura de 15 °C, los valores del presente trabajo están dentro de estos.

5.1.4 Lactosa

Alais (1981) menciona que la lactosa es el único glúcido libre en cantidades importantes y que se encuentra presente en todas las leches, es un azúcar muy raro en la naturaleza. La lactosa se sintetiza en la mama a partir de la glucosa del plasma sanguíneo y en los rumiantes a partir de los ácidos volátiles. La lactosa es el factor que limita la cantidad de leche producida en la mama, es el componente más lábil frente a la acción microbiana. El contenido de lactosa es inversamente proporcional al contenido de sales. Los niveles de lactosa obtenidos en este trabajo se acercan a los parámetros normales. Tenemos en el T1 (1 %) es de 4.04; T2 (0.75 %) es de 4.09 y el T3 (0.5 %) es de 3.98 % de lactosa. La Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0009, cita que la leche posee un porcentaje de lactosa de 4.7 %.

5.1.5 Sales Minerales

Las sales de la leche para la realización de este trabajo se encuentran cerca del parámetro normal que es de 0.68 %; Tenemos en el T1 (1 %) 0.61 %; T2 (0.75 %) 0.63 % y el T3 (0.5 %) 0.60 % de sales minerales.

Alais (1981) aclara que las sales son un conjunto de aniones y cationes que deben ser considerados como tal, ya que estudiarlos por separado no sería conveniente. La alimentación de la hembra durante la lactación influye poco sobre el contenido en minerales de la leche, incluso cuando se produce una carencia, cosa frecuente para el calcio y el fósforo en las grandes productoras, esta carencia influye a la larga sobre la producción que se reduce pero no sobre la composición mineral de la leche

5.1.6 Proteína

La Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0009, indica que el nivel de proteína mínimo es 2.9 %; observamos que en los tres tratamientos descritos, los niveles de proteína están ligeramente bajos referente a este rango, en el caso de T1 (1 %) 2.76 %; T2 (0.75 %) 2.85 % y el T3 (0.5 %) 2.73 %.

Revilla (1996) manifiesta que dentro de los compuestos más complejos es el formado por las proteínas. Desde el punto de vista nutricional las proteínas constituyen la parte más importante de la leche por ser vitales para la vida; desde el aspecto industrial la proteína juega un papel preponderante en la manufactura de quesos ya que forma casi el 30 % de estos productos, las proteínas de la leche están formados por 78 % de caseína, 17 % proteínas del suero y 5 % sustancias nitrogenadas no proteicas.

5.1.7 Porcentaje de Agua Adicionada

El parámetro que hace referencia la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0009 es de 0 % de agua añadida, observamos que en los tres tratamientos en los que se realizó el ensayo tenemos un promedio considerable de agua añadida de 4.29 % en el T1; 2.36 % en el T2 y 4.11 % en el T3.

Este porcentaje de agua encontrada en los análisis puede deberse a la falta de vaciado de las mangueras de la ordeñadora y en un menor porcentaje a residuos de agua existente en los tanques que se transporta la leche, el agua no afectaría directamente en la elaboración del yogurt ya que en la cocción se evapora en su gran mayoría.

Martínez (1999) cita que la adición de agua en la leche altera el punto de congelación de esta al diluirse las concentraciones de sólidos hidrosolubles como la lactosa y las sales minerales disueltas en el agua. Al adicionar agua su punto de congelación se acerca a cero.

5.1.8 Temperatura de la Muestra

La temperatura de la muestra es importante para determinar la acidez, se observa que la leche para elaborar el yogurt llegó a una temperatura de 26.15 °C para el T1; 24.71 °C para el T2 y 23.30 °C para el T3.

La temperatura a la que generalmente se toma la acidez de la leche es a 15 °C, como la leche llegó a una temperatura superior, se procedió a realizar la corrección a la temperatura de 15 °C.

5.1.9 Punto de Congelación

En lo que respecta al punto de congelación, según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0009, la leche se congela a una temperatura mínima de - 0.536 °C y máxima de - 0.512 °C, en nuestro estudio la leche en los tres tratamientos se encuentra un poco por encima del rango que indica la norma, así tenemos el T1 con - 0.46, T2 con - 0.47, T3 con - 0.45; probablemente por el porcentaje de agua añadida encontrada en la leche.

Alais (1981) nos habla que el punto de congelación de la leche se congela por debajo de los 0 °C debido a que las sustancias disueltas rebajan el punto de congelación de los disolventes puros. El punto de congelación según Alais, es de -

0.55 °C y de – 0.53 °C la leche desnatada no cambia el punto de congelación, y varía según la región, según la comida que ingieren los animales, el tiempo de lactancia, el clima y el tiempo en que se toma la muestra, es decir si es tomada al principio o al final de la lactancia.

Un punto de congelación que se aproxima a cero hace sospechar de agua añadida. El punto de congelación de la leche puede variar por diversas causas fisiológicas como el tipo de alimentación y el estado de lactación, así como las enfermedades que padezca la vaca, como es el caso de la mastitis. Otro factor que afecta el punto de congelación puede ser el contenido microbiano de la leche.

5.1.10 pH

Observamos que el pH se encuentra dentro de los límites ya que el parámetro normal es de 6.65, tenemos en el T1 el pH es de 6.67; en el T2 es de 6.62 y 6.64 en el T3. Alais (1981) manifiesta de una relación iónica cercana a la neutralidad, la leche de vaca tiene una reacción débilmente acida, con un pH comprendido entre 6.6 y 6.8; como consecuencia de la caseína y de los aniones fosfórico y cítrico principalmente, también menciona que el pH no es un valor constante, sino que puede variar en el curso del ciclo de la lactación y bajo la influencia de la alimentación. En lo que se refiere a la leche de vaca, deben considerarse como anormales los valores de pH inferiores a 6.5 o superiores a 6.9.

Así mismo Alais menciona, que, valores de pH 6.9 a 7.5 son medidos en leches mastíticas debido a un aumento de la permeabilidad de las membranas de la glándula mamaria originando una mayor concentración de iones Na y Cl y una reducción del contenido de lactosa y de P inorgánico soluble. El pH es altamente dependiente de la temperatura. Las variaciones de la temperatura causan muchos cambios en el sistema buffer de la leche, principalmente se ve afectada la solubilidad del fosfato de calcio. El pH disminuye en promedio 0.01 unidades por cada °C que aumenta, fundamentalmente a causa de la insolubilización del fosfato de calcio. Esta variación es muy importante considerando el estrecho rango de variación del pH de la leche. El pH también puede ser diferente entre muestras de leche fresca de vacas individuales reflejando esto, variaciones en la composición. A pesar de todos estos

cambios, el pH varía en un rango muy reducido y valores de pH inferiores a 6.5 o superiores a 6.9 ponen en evidencia leche anormal.

5.1.11 Conductividad Eléctrica

La conductividad eléctrica se encuentra ligeramente alta, ya que el parámetro es de 5.49 y tenemos 5.78 para el T1; 5.95 para el T2 y 5.79 para el T3. Alais (1981) explica que la conductividad eléctrica de la leche esta entre 40^{-4} y 50^{-4} . Esto se debe a la presencia de electrolitos minerales en la leche como cloruros, fosfatos y nitratos principalmente y de iones coloidales secundariamente, estos disminuyen la resistencia el paso de la corriente. La leche con agua rebaja la conductividad y su alteración por acidificación la eleva.

5.1.12 Promedio de Acidez (°D)

El parámetro normal según la Norma INEN para la acidez de la leche es de 17 °Dornic, que es el valor máximo. Observamos que la acidez de la leche en los tres tratamientos los valores no difieren mayormente de este rango, así tenemos el T1 con 17.50 °Dornic, T2 con 18.25 °Dornic y el T3 con 17.25 °Dornic.

Alais (1981) manifiesta que habitualmente se conoce como acidez de la leche es el resultado de la valoración; se añade a la leche el volumen necesario de solución alcalina valorada para alcanzar el punto de viraje de un indicador, generalmente fenolftaleína que vira del incoloro a la rosa hacia un pH de 8.4.

5.2 CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL YOGURT

5.2.1 Aceptabilidad

La mejor aceptabilidad del yogurt endulzado con estevia lo obtuvo el tratamiento 1 (1 %) con el 57 % de catadores que dijeron que el yogurt les agrada mucho, el T2 (0.75 %) obtuvo una aceptación del 55 % con calificación de me agrada más o menos y el T3 (0.5 %) con un 40 % de aceptabilidad así mismo con calificación de me agrada más o menos.

5.2.2 Sabor

Gagñay (2010) en su trabajo, señala que el yogurt elaborado con diferentes niveles de Estevia Rebaudiana Bertoni obtuvo menos aceptación que el yogurt natural, debido a que la estevia no es muy agradable que influye negativamente en el sabor del producto, aunque manifiesta que los productos tienen una calificación regular, esto posiblemente se atribuye a que la estevia no es un saborizante si no un endulzante que no aporta en la aceptabilidad del consumidor y se asigne una calificación buena, muy buena o excelente.

Lo que se asemeja con el presente trabajo que se obtuvo porcentajes de calificaciones del T1 (1 %) con 65 % muy agradable, T2 (0.75 %) con 62.5 % agradable y T3 (0.5 %) con 55 % desagradable.

5.2.3 Textura

Gagñay (2010) en su investigación menciona que el yogurt elaborado con diferentes niveles de Estevia Rebaudiana Bertoni obtuvo mayor aceptación que el yogurt natural, debido a que la estevia le da una textura al paladar sintiéndose una cierta crocancia y/o presencia de gránulos agradables al sentido del gusto, mientras que en un yogurt sin la utilización de este producto natural no presenta esta característica que influye negativamente a la percepción de los catadores. Los porcentajes que se obtuvieron en este trabajo fueron: T1 (1 %) con 80 % con calificación cremoso, la mayor calificación del yogurt grumoso igual pertenece al T1 (1 %) con 7.5 % y el T3 (0.5 %) con 65 % pertenece al yogurt fluido.

El T1 (1 %) con 80 % de calificación cremoso, se puede justificar que tiene una buena aceptación en cuanto a la textura ya que la grasa obtenida en el análisis bromatológico fue de 3.6 %, un valor levemente alto referente a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 cuyo valor es de 2.5 %.

García *et al.* (2004) señala que uno de los componentes más importantes son los lípidos, gracias a ellos se logra viscosidad, textura, apariencia, requerida para el yogurt.

5.3 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL YOGURT

5.3.1 pH

Galvis (2009) en su trabajo obtuvo un porcentaje de pH de 4.4; y afirma que la adición de edulcorante estevia y cultivo utilizado para la elaboración de yogurt no afectan las características químicas como el pH. Valor similar a los obtenidos por Salazar (2012) quien obtuvo un valor de 4.6 %; datos que no difieren de los obtenidos en este trabajo que se obtuvo un valor de 4.25 %; cuyo dato se encuentra dentro de los parámetros normales, según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas cuyos rangos son mínimo 4 % y máximo 5 %.

5.3.2 Sólidos Solubles

Los sólidos solubles presentaron un valor de 12.8 %, ya que son relacionados con la humedad como lo afirma Galvis (2009) en su trabajo debido a que estos corresponden analíticamente, al residuo que permanece después de la eliminación de la humedad. La dosis de estevia como edulcorante fue 100 veces menor que la sacarosa comercial, por lo tanto el aporte de sólidos solubles disminuye significativamente en los tratamientos con estevia. La Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 menciona que el valor mínimo para sólidos solubles en leches fermentadas debe ser de 12 % lo que no presenta mayormente diferencias con el presente trabajo.

5.3.3 Acidez

Galvis (2009) en su trabajo obtuvo un porcentaje de acidez de 0.75; y afirma que la adición de edulcorante estevia y cultivo utilizado para la elaboración de yogurt no afectan las características químicas como la acidez.

Valor similar a los obtenidos por Salazar (2012) quien obtuvo un valor de 1.20 %; datos que no difieren de la presente investigación que se obtuvo un valor de 0.82 %; cuyo dato se encuentra dentro de los parámetros normales, según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas cita que los rangos son

mínimo 0.6 % y máximo 1.5 %. Esta acidez proporcionada por el ácido láctico hace que se formen pequeños coágulos de caseína (proteína de la leche) lo que le da al yogurt su textura especial.

5.3.4 Humedad

Salazar (2012) obtuvo en su trabajo un 84.55 % de humedad por otro lado Galvis, (2009) en su experimento cita un porcentaje de humedad de 87.59 %; estos datos no difieren mayormente con la presente investigación en donde se obtuvo un porcentaje de humedad de 87.2 %.

Según este estudio la humedad está ligeramente superior a los valores citados por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 la cual cita un valor de 85,1 %. El contenido de humedad y los sólidos solubles, están relacionados, debido a que estos corresponden analíticamente, al residuo que permanece después de la eliminación de la humedad.

5.3.5 Cenizas

En este trabajo se obtuvo un valor de 0.7 % de cenizas que corresponde a los minerales propios del yogurt natural, valores que se asemejan a los citados por Salazar (2012) que presenta 0.72 % de cenizas y Según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas, el rango mínimo para cenizas es de 0.7 %.

5.3.6 Proteína

Salazar (2012) en su experimento consiguió valores de proteína de 3.4 %. En este estudio se obtuvo un valor de 3 % de proteína, que está un poco elevada ya que se suman a estas las proteínas de la leche, estas presentan un excelente valor biológico, ya que tanto las caseínas como las proteínas del lactosuero: lactoalbumina y lactoglobulina, tienen una elevada proporción de aminoácidos esenciales. Según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas, el rango mínimo para proteína es de 2.7 % sin especificar el valor máximo.

5.3.7 Fibra

Salazar (2012) encontró valores de fibra de 0.6 % lo que difiere con los obtenidos en el presente trabajo ya que se obtuvo un porcentaje de fibra de 0.04 % debido a que se utilizó yogurt natural de tipo I de leche entera sin implementar otros componentes, Según La Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas el porcentaje de fibra mínima debe ser de 0.8 %.

5.3.8 Grasa

La grasa presentó un valor de 3.6 % que es un valor levemente alto comparándolo con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas que señala un valor de 2.5 % de grasa como valor mínimo sin describir su valor máximo, esto puede deberse a que en este trabajo se utilizó yogurt natural tipo I de leche entera. Comparando estos valores con los de Salazar (2012) que menciona 3.20 % de grasa, no difiere mayormente ya que también utilizó yogurt natural tipo I de leche entera. García *et al.* (2004) menciona que uno de los componentes más importantes son los lípidos, gracias a ellos se logra viscosidad, textura, apariencia, requerida para el yogurt.

5.3.9 Carbohidratos Totales

La presencia de carbohidratos totales en el yogurt endulzado con estevia de mayor aceptación obtuvo un valor de 11 %. Galvis (2009) en su investigación cita un 3 % de carbohidratos, datos que difieren mayormente con el presente trabajo, esto puede deberse a que los animales de la Quinta punzara en ordeño se encontraban en los primeros días de parto o recibían suplementos alimenticios y forrajes de buena calidad.

5.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL YOGURT

5.4.1 Coliformes Totales

La Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas cita un

valor máximo de 10 UFC/ml de coliformes totales. Salazar (2012) en su experimento reporta datos de 5 UFC/ml de coliformes totales; que no se diferencia mayormente de este trabajo en donde se encontraron < 10 UFC/ml, ya que la elaboración de yogurt fue lo más aséptica posible cumpliendo con las reglas exigentes avalando que el producto es apto para su consumo.

5.4.2 E. Coli

En la presente investigación los datos obtenidos de E. coli en el yogurt fueron de < 10 UFC/ml que están dentro de la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas cuyo valor máximo para E. coli es de 10 UFC/ml. Salazar (2012) en su trabajo cita que hay ausencia de E. coli en el yogurt porque trabajo aplicando las BPM y BPH, esenciales para elaborar alimentos para garantizar calidad e inocuidad.

5.4.3 Mohos y Levaduras

Gagñay (2010) en su trabajo menciona que no se presentaron mohos y levaduras ya que el producto fue elaborado cuidadosamente aplicando las BPM en la elaboración del yogurt. En la presente investigación se obtuvieron < 10 UFC/ml, según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2395: 2011 para leches fermentadas los mohos y levaduras deben presentarse en un número máximo de 10 UFC/ml, lo que concuerda con los valores obtenidos en el presente trabajo. Así mismo estos resultados no difieren mayormente con los obtenidos por Salazar (2012) que cita un valor de 10 UFC/ml para los mohos y levaduras ya que el proceso de elaboración del yogurt fue todo aséptico y recolectado en frascos estériles y se aplicó las BPM y las BPH, que son condiciones esenciales en la elaboración de alimentos para garantizar calidad e inocuidad.

6. CONCLUSIONES

Con los resultados y discusión expuestos se llega a las siguientes conclusiones:

- Se pudo determinar que la leche de los tres tratamientos para la elaboración de yogurt están dentro de los parámetros que establecen las normas INEN NTE 0009 para leche cruda.
- El Tratamiento 1 que contiene 1 % de estevia resulto ser el de mayor aceptación.
- En el sabor del yogurt el tratamiento 1 (1 % de estevia) alcanzó el más alto porcentaje de aceptabilidad con 65 % que lo calificó de muy agradable.
- En la textura del yogurt el T1 (1 % de estevia) obtuvo la mayor preferencia con un 80 % que lo calificó de cremoso.
- El pH del yogurt en estudio con 4.25, cumple con lo establecido por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN cuyos rangos son mínimo 4 % y máximo 5 %.
- El porcentaje de sólidos solubles del yogurt estudiado con 12.8 %, supera levemente el valor que cita la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de 12 %.
- La acidez del yogurt evaluado con 0.82 %, está dentro de lo permitido por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de 0.6 % a 1.5 %.
- El porcentaje de humedad del yogurt en estudio con 87.2 % está superando ligeramente el valor que manifiesta la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de 85.1 %.
- Los valores de cenizas del yogurt estudiado se encuentra dentro del límite permitido con 0.7 %; debido a que la Norma Técnica Ecuatoriana INEN permite el valor máximo de 0.7 %.

- El porcentaje de proteína presentado por el yogurt es de 3 % y se encuentra dentro de lo permitido por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de mínimo 2.7 % sin especificar el valor máximo.
- La fibra presentó 0.04 % y se encuentra por debajo de lo permitido por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de 0.8 %.
- El porcentaje de grasa del yogurt en estudio con 3.6 % se encuentra dentro de lo permitido por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de 2.5 % como valor mínimo sin especificar el valor máximo.
- Los coliformes totales del yogurt presentaron < 10 UFC/ml y se encuentra dentro del límite de la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de 10 UFC/ml.
- La presencia de E. coli en el yogurt estudiado fue de < 10 UFC/ml y se encuentra dentro del límite de la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de < 10 UFC/ml.
- Los mohos y levaduras en el yogurt presentaron un valor de < 10 UFC/ml y se encuentra dentro del límite de la Norma Técnica Ecuatoriana INEN que es de 10 UFC/ml.

7. RECOMENDACIONES

Una vez expuestos los resultados, discusiones y conclusiones se llega a las siguientes recomendaciones:

- Controlar que se haga un correcto vaciado del agua contenida en las mangueras de la ordeñadora y secar adecuadamente los tanques para la recolección de la leche para evitar que se evidencie como porcentajes de agua añadida a la leche.
- Elaborar yogurt endulzado con estevia en polvo al 1 %.
- Para la elaboración del yogurt se debe aplicar las buenas prácticas de manufactura en el proceso, para contribuir el aseguramiento de la producción de alimentos saludables e inocuos para el consumo humano.
- Realizar la prueba de aceptabilidad en pacientes con diabetes.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Alais C. 1981. Principios de técnica lechera. México, DF. , Continental. p. 191-192.
- Bauman, Guillermo y Longo, Emiliano. (1997). El Yogurt un Alimento Esencial. <http://www.monografias.com/trabajos38/yogurt/yogurt.shtml>. Descargado 03/04/2015.
- Black, M. 1990. Producción casera de mantequilla, quesos y yogurs. Ediciones Aura. Barcelona, España.
- Briones Rodríguez, E. C. (2005). Proceso de elaboración de yogur y su presentación en página web.
- Cabrera, J. 2001. Defectos en los helados, disponible en: <http://www.geocities.com/Colosseum/Bench/3901/20Defectos.htm>
- CAPASTE. (2010). Cámara Paraguaya de la Stevia. Recuperado el 10 de Julio de 2010.
- Cargill. (2008). Cargill GRAS Notification for Rebaudioside A. Washington, DC.
- Cotecsu, T. 1984. Compendio de Elaboración de Productos Lácteos.
- De Brito, M. 1997. La Leche, Alimento indispensable, Sao Paulo, Brasil, Editora y Consultoria em Nutrição Ltda. p. 66.
- Elizalde, T., & Xavier, E. (2010). Proyecto de inversión para la elaboración de un edulcorante natural hecho a base de stevia en la provincia de el oro.
- Early, Ralph. (1998). Tecnología de los Productos Lácteos. Editorial Acribia. Zaragoza - España.
- Estación Meteorológica La Argelia, 2013.
- FDA. (2010). Food and Drug Administration Fecha de consulta: 8 de abril de 2015. Disponible en: www.fda.gov.
- Franco, F. M. J. (2000). "Manual de taller de lácteos ICAP", Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Santiago Tulantepec, Pág. 34, 35, 36.
- Funcfos. (2010). Manual de la stevia. Cundinamarca: Fundación Colombiana para el Desarrollo y Fomento Social.
- Gagñay; Luis, (2010). Efecto de Diferentes Niveles de Stevia rebaudiana como Edulcorante en la Elaboración de Yogurt Tipo II.
- Galvis, Elizabeth. (2009). Evaluación de la Utilización de Stevia en Yogurt.
- García, Quintero, & López, 2004, pág. 166. Biotecnología Alimentaria. México D.F: Editorial Limusa S.A.

- Gonzales G., Molina, B., & Coca, R. (2010). Calidad de la Leche Cruda. Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz.
- Gómez, D. A. A., & Mejía, O. B. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de Investigación*, 2(1).
- Gutiérrez, Daniel. (2006). El Yogurt Estrategia Natural para la Salud. <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/339/1/El-yogurt-Estrategia-natural-para-la-salud.html>. Descargado 06/04/2015.
- Hernández, A. (2003). *Microbiología Industrial*. Editorial EUNED.
- Holdridge, L. R. 1967. «Life Zone Ecology». Tropical Science Center. San José, Costa Rica. (Traducción del inglés por Humberto Jiménez Saa: «Ecología Basada en Zonas de Vida», 1a. ed. San José, Costa Rica: IICA, 1982).
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. Leches fermentadas requisitos norma INEN NTE 2395:2009 primera revisión.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. Leches fermentadas requisitos norma INEN NTE 2395:2011 primera edición, segunda revisión.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. Leche cruda requisitos norma INEN NTE 9:2012 Quinta revisión.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y e. coli norma INEN NTE 1 529-8
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables norma INEN NTE 1529-10
- Kraska, R. M. (2009). *Comprehensive Gras assessment of Rebaudioside A (97%), Food Usage Conditions for General Recognition of Safety*. California: GRAS Associates.
- Kennelly, E. (2002). Sweet and non-sweet constituents of *Stevia rebaudiana*. In D. Kinghorn, *Stevia, The genus Stevia* (p. 82). Londres: Taylor & Francis.
- Kinghorn, A. (2002). Overview. In D. Kinghorn, *Stevia, The Genus Stevia* (p. 2). London: Taylor & Francis.
- Kroyer, G. (1999). The low calorie sweetener stevioside: stability and interaction with food ingredients. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 32, 509–512.
- Landázuri, Pablo., & Tigrero, Juan. (2009). *Stevia rebaudiana bertonii*, una planta medicinal. *Stevia rebaudiana Bertonii*, una planta medicinal. Fecha de consulta: 15 de abril de 2015. Disponible en:

<http://www.vitafarmaecuador.com/paginternas/paradescargas/boletinespe.pdf>

- Luquet, F; Keilling, J y De Wilde, R. (1991). Leche y Productos Lácteos Vaca – Oveja – Cabra. Editorial Acribia. Zaragoza - España.
- McMurty, J. (2009). Notice to the U.S. Food and Drug Administration (FDA) that the use of Rebiana (Rebaudioside A) derived from *Stevia rebaudiana*, as a Food Ingredient is Generally Recognized as Safe (GRAS). New York: New York Medical College.
- Mantello, Sergio. (2007). Materias Primas: Yogurt: Siembra del Fermento. Fecha de consulta: 8 de abril de 2015. Disponible en: <http://www.mundohelado.com/materiasprimas/yogurt/yogurt05.htm>.
- Martínez E. 1999, Dinámica del sistema lechero mexicano en el marco regional y global, p366.
- Mateos, Antonio (2005). Tecnología de Leches Fermentadas.
- Mori Nuñez, Carlos (1989) Estudio de la calidad de Yogurt Afianzado, bajo diferentes niveles de recombinación de la leche.
- Novoa A. 1983. Aspectos nutricionales en la producción de leche. Vol1. CATIE. Departamento de producción animal, p65. Consultado el 20 de abril del 2015.
- Olmedo, D. (2009). Módulo I Farmacognosia. Panamá: Dpto. de Química Medicinal y Farmacognosia.
- Pasquel, A. M. (1999). Extracción de stevia usando CO2 presurizado. Revista Conocimiento, Vol 5, 107-118.
- Ramesh et al., 2006, Tipos de Bacterias del Yogurt. Fecha de consulta: 16 de abril de 2015. Disponible en: http://www.ehowenespanol.com/tipos-bacterias-del-yogur-lista_310186/.
- Revilla A. 1996, tecnología de la leche. Consultado el 20 de abril del 2014.
- Rojas, S. (2009). STEVIA, Edulcorante Orgánico del Siglo XXI. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Salazar Altamirano, M. L. (2012). Elaboración y Control de Calidad de Yogurt con Zapallo Endulzado con Stevia para Pacientes Diabéticas.
- Salinas, C. (2006). Empresa productora de Stevia. La Paz (Bolivia): Universidad Católica Boliviana (Tesina no publicada).

- Salgado, A. T. (2014). Stevia de la Naturaleza a la Mesa. Fecha de consulta: 8 de abril de 2015. Disponible en: <http://stevia-planta-dulce.blogspot.com/2014/08/el-endulzante-del-futuro-stevia.html>
- Sato, N. 2003. The miracles and mysteries of Stevia. The Antioxidizing Plant. Tokyo: Seishun Shuppanasha.
- Santos, M. 1996. Leche y sus derivados. México: Trillas
- Speere, E. (1979) Lactología Industrial.
- Spreer, E. (1991). Lactología industrial: leche, preparación y elaboración, máquinas, instalaciones y aparatos, productos lácteos. Acribia.
- Silva, G. (1999). "Manual del 15º Curso Nacional de Fabricación de quesos naturales". PROUNILAC. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Tulancingo de Bravo, Hidalgo.
- Soto, A. E., & Del Val, S. (2002). Extracción de los principios edulcorantes de la Stevia rebaudiana. Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos. Buenos Aires, AR, 20.
- Tamime, A.Y.; Robinson, R.K. (1991). "Yogur Ciencia y Tecnología" Editorial Acribia. España.
- Tokohu, U. (2010). Stevia Guaraní. Fecha de consulta: 8 de abril de 2015. Disponible en: <http://www.steviaguarani.com.py/salud005.html>.
- Vázquez, Cos, & López, (2005), pág. 8. Alimentación y Nutrición. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Vera, María, (2011). "Elaboración y Aplicación Gastronómica del Yogur".
- Williams, G. (2009). Notice to the U.S. Food and Drug Administration (FDA) that the use of Rebiana (Rebaudioside A) derived from Stevia rebaudiana, as a Food Ingredient is Generally Recognized as Safe (GRAS). New York: New York Medical College.
- <http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/Tecnoll/guia.pdf>.
- <http://es.slideshare.net/rogermigueljaimeshuerta/analisis-de-yogurt>.
- <http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/bromato/guialab.pdf>
- http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/fundamentosytecnicasdeanalisisdealimentos_12286.pdf
- http://www.upemor.edu.mx/labo/tarchivos/archivos/HEAL/practica_7.pdf

9. ANEXOS

ANEXO 1

PRIMERA ENCUESTA APLICANDO LA ESCALA HEDÓDICA PARA LA ACEPTABILIDAD DEL YOGURT ENDULZADO CON DIFERENTES DOSIFICACIONES DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana bertonii*).

Nombre:.....

Fecha:.....**Hora:**.....

Producto: yogurt elaborado con diferentes dosificaciones de estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*)

Sírvase degustar las tres muestras de yogurt que le presentamos y califíquelas de acuerdo a la siguiente escala:

Clasificación de muestra

Nº	Escala	100	150	200
5	Me agrada muchísimo			
4	Me agrada mucho			
3	Me agrada más o menos			
2	Me desagrada mucho			
1	Me desagrada muchísimo			

Comentarios:

.....
.....
.....

Gracias.

ANEXO 2**SEGUNDA ENCUESTA DE ATRIBUTOS DE CALIDAD PARA LA ACEPTABILIDAD DEL YOGURT ENDULZADO CON DIFERENTES DOSIFICACIONES DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana bertonii*).****Nombre:**.....**Fecha:**.....**Hora:**.....Producto: yogurt elaborado con diferentes dosificaciones de estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*)

Sírvase degustar las tres muestras que se presentan y califique sus factores o atributos de calidad de acuerdo a los siguientes indicadores y valores que constan entre paréntesis:

Clasificación de muestra

ATRIBUTOS DE CALIDAD	INDICADORES	CALIFICACIÓN		
		100	150	200
Sabor	Muy agradable (5)			
	Agradable (3)			
	Desagradable (1)			
Textura	Cremoso (5)			
	Grumoso (3)			
	Fluido (1)			

Comentarios:

.....

Gracias.

ANEXO 3**ANÁLISIS BROMATOLÓGICO Y MICROBIOLÓGICO DEL YOGURT**

Análisis de alimentos en general •
Asesoría en buenas prácticas de manufactura •

INFORME DE RESULTADOS**Informe N° 093-1****TIPO DE MUESTRA:** Yogurt endulzado con stevia**CODIGO DE LA MUESTRA:** 153**TIPO DE ENVASE:** Botella de vidrio**CLIENTE:** Ángel Narváez**DIRECCIÓN:** Loja**FECHA DE RECEPCIÓN:** 19/03/2015**FECHAS DE ANALISIS:** 19/01/2015 - /03/2015**CONDICIONES DE AMBIENTALES**

Temperatura: 20.6°C

Humedad relativa: 61%

MUESTREO: POR EL CLIENTE

ENSAYOS FISICOQUIMICOS	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADOS
Acidez (Exp. Ácido láctico)	AOAC 947.05	%	0.82
pH	AOAC 32.018	Unidades de pH	4.25
Sólidos totales	AOAC 926.08; 927.05; 990.20	%	12.8
Grasa	AOAC 989.05	%	3.6
Proteína	AOAC 920.87	%	3.0
Densidad	Densitometría	g/ml	1.0345
Carbohidratos totales	calculo	%	11
Fibra bruta	ICC-STANDARD 113	%	0.04
Cenizas	AOAC 945.43; 935.42; 930.30	%	0.7
Humedad	AOAC 926.08; 927.05; 990.20	%	87.20
Azúcares totales	HPLC	%	3.2

Datos tomados del cuaderno de registro de LABORATORIO RL2-71 PÁGINA 043 ORDEN 20150319

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.

Este informe no será reproducido excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico.

Tiempo de permanencia de las muestras en el laboratorio: Muestras perecibles 8 días calendario; Muestras no perecibles 30 días calendario. Si desea repetición de algún parámetro, se debe generar una solicitud en el periodo estipulado.

Dra. Sandra Guaraca

Tiempo de Almacenamiento del informe: Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra.

FECHA DE EMISIÓN 02/04/2015

Dirección: Av. de Las Américas y Turjhuaco
(Redondel Miraflores - 3er Piso)
Cel.: (07) 4045127 • **Cel.:** 0995 354 172
E-mail: sandraegm@hotmail.com



Análisis de alimentos en general •
Asesoría en buenas prácticas de manufactura •

INFORME DE RESULTADOS

Informe N° 093

TIPO DE MUESTRA: Yogurt endulzado con Stevia

CODIGO DE LA MUESTRA: 153

TIPO DE ENVASE: Botella de vidrio

CLIENTE: Ángel Narváez

DIRECCIÓN: Loja

FECHA DE RECEPCIÓN: 19/03/2015

FECHAS DE ANALISIS: 19/03/2015 -27 /03/2015

CONDICIONES DE AMBIENTALES

Temperatura: 20.6°C

Humedad relativa: 61%

MUESTREO: POR EL CLIENTE

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADOS
Mohos y levaduras	AOAC 990.12	UFC/ml	<10 UFC/ml
Coliformes Totales	AOAC 991.14	UFC/ml	<10 UFC/ml
E. COLI	AOAC 991.14	UFC/ml	<10 UFC/ml

Datos tomados del cuaderno de registro de LABORATORIO RL2-71 PÁGINA 043 ORDEN 20150319

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.

Este informe no será reproducido excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico.

Tiempo de permanencia de las muestras en el laboratorio: Muestras perecibles 8 días calendario; Muestras no perecibles 30 días calendario. Si desea repetición de algún parámetro, se debe generar una solicitud en el periodo estipulado.

Dra. Sandra Guaraca

Tiempo de Almacenamiento del informe: Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra.

FECHA DE EMISIÓN 06/04/2015

Dirección: Av. de Las Américas y Turuhuaico
(Redondel Miraflores - 3er Piso)
Cel.: (07) 4045127 • Cel.: 0995 354 172
E-mail: sandraegm@hotmail.com

ANEXO 4**FICHA TÉCNICA DEL CULTIVO**

CULTURES DIVISION
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 1 / 2

Valid from: August 31, 2011

DANISCO

First you add knowledge...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 207175-6.0EN**Material no. 50577****YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU**

YO-MIX™ Yogurt Cultures

Description

A blend of defined strains of lactic bacteria for direct vat inoculation of milk, milk bases and other food applications.

The culture is a freeze-dried powder.

Usage levels

Product	Dose
yogurt	10 - 20 DCU / 100 l of vat milk
Fermented milk	10 - 20 DCU / 100 l of vat milk
yogurt	38 - 75 DCU / 100 gallons of vat milk
Fermented milk	38 - 75 DCU / 100 gallons of vat milk

Temperature: 33°C to 43°C

The quantities of inoculation indicated should be considered as guidelines.

Directions for use

Sanitize sachet with chlorinated water or appropriate sanitizer before opening (blot dry with a paper towel if necessary to prevent clumping around sachet opening).

Once sachet has been opened add culture directly to the pasteurized mix. Agitate for approx. 30 minutes on low speed.

Recommended incubation temperature: 35 - 45°C (95-113°F), depending upon set time desired by manufacturer.

Composition

Streptococcus thermophilus
Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus
Carrier:
Sucrose
Maltodextrins

Properties

- Freeze dried form facilitates the storage and handling of cultures.
- YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU is a blend of selected strains for direct vat inoculation of manufacturing milk, these strains have been carefully chosen and combined to answer your specific needs in term of acidification, texture and taste.
- Cultures in the YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU gives quick acidification to pH 4.60 - 4.50 and then, a slower acidification to reach lower pH. This characteristic allows a good pH control for a constant optimised quality product.

Physical/chemical specifications**Quantitative/Activity standard**

Test medium:
Sterilised reconstituted milk (10% solids)
Heated 20 min at 110 °C. Standardised to pH 6.60

Temperature: 42 °C
Inoculation rate: 20 DCU / 100 l
Delta pH: 1.35
Time to reach the delta <= 3.5 hours
pH:

Microbiological specifications

Microbiological quality control - standard values and methods

Non-lactic acid bacteria	< 500 CFU/g
Enterobacteriaceae	< 10 CFU/g
Yeasts and Moulds	< 10 CFU/g
Enterococci	< 100 CFU/g
Coagulase-positive staphylococci	< 10 CFU/g
Listeria monocytogenes	neg. / 25 g
Salmonella spp.	neg. / 25 g

Analytical methods available upon request

Storage

18 months from date of production at <= 4 °C

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

CULTURES DIVISION
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 2 / 2

Valid from: August 31, 2011

DANISCO

First you add knowledge...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 207175-6.0EN

Material no. 50577

YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU

YO-MIX™ Yogurt Cultures

Packaging

Sachets made with three layers of material (polyethylene, aluminium, polyester).

Quantity

Selling unit: 1 carton containing 50 sachets.

Purity and legal status

YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU complies with all EU food legislations.

Other local regulations should always be consulted concerning the status of this product, as legislation regarding its use in food may vary from country to country.

Safety and handling

SDS is available on request.

Kosher status

KOSHER O-U-D

Halal status

certified by Halal Food Council of Europe (HFCE)

Allergens

Below table indicates the presence of the following allergens and products thereof:

Yes	No	Allergens	Description of components
	X	wheat	
	X	other cereals containing gluten	
	X	crustacean shellfish	
	X	eggs	
	X	fish	
	X	peanuts	
	X	soybeans	
	X	milk (including lactose)	
	X	nuts	
	X	celery	
	X	mustard	
	X	sesame seeds	
	X	sulphur dioxide and sulphites (> 10 mg/kg)	
	X	lupin	
	X	molluscs	

Local regulation has always to be consulted as allergen labelling requirements may vary from country to country.

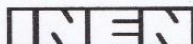
Additional information

ISO 9001 certified
ISO 22000 certified
FSSC 22000 certified

GMO status

YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU does not consist of, nor contains, nor is produced from genetically modified organisms according to the definitions of Regulation (EC) 1829/2003 and Regulation (EC) 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003.

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

ANEXO 5**NTE INEN 2395:2011**CDU: 637.146
ICS: 67.100.01CIU: 3112
AL 03.01-442

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	LECHES FERMENTADAS. REQUISITOS	NTE INEN 2395:2011 Segunda revisión 2011-07
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las leches fermentadas, destinadas al consumo directo.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a las leches fermentadas naturales: yogur, kéfir, kumis, leche cultivada o acidificada; leches fermentadas con ingredientes y leches fermentadas tratadas térmicamente.</p> <p>2.2 No se aplican a las bebidas de leches fermentadas</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p>3.1.1 <i>Leche Fermentada natural.</i> Es el producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, elaborado a partir de la leche por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de vencimiento. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables. Comprende todos los productos naturales, incluida la leche fermentada líquida, la leche acidificada y la leche cultivada y al yogur natural, sin aromas ni colorantes.</p> <p>3.1.2 <i>Producto natural.</i> Es el producto que no está aromatizado, no contiene frutas, hortalizas u otros ingredientes que no sean lácteos, ni está mezclado con otros ingredientes que no sean lácteos.</p> <p>3.1.3 <i>Yogur.</i> Es el producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> y <i>Streptococcus salivaris</i> subsp. <i>thermophilus</i>, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias benéficas que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables y activas desde su inicio y durante toda la vida útil del producto. Puede ser adicionado o no de los ingredientes y aditivos indicados en esta norma.</p> <p>3.1.4 <i>Kéfir.</i> Es una leche fermentada con cultivos ácido lácticos elaborados con granos de kéfir, <i>Lactobacillus</i> kéfir, especies de géneros <i>Leuconostoc</i>, <i>Lactococcus</i> y <i>Acetobacter</i> con producción de ácido láctico, etanol y dióxido de carbono. Los granos de kéfir están constituidos por levaduras fermentadoras de lactosa (<i>Kluyveromyces marxianus</i>) y levaduras no fermentadoras de lactosa (<i>Saccharomyces omnispurus</i>, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Saccharomyces exiguus</i>), <i>Lactobacillus casei</i>, <i>Bifidobacterium sp</i> y <i>Streptococcus salivarius subs. Thermophilus</i>, por cuales deben ser viables y activos durante la vida útil del producto.</p> <p>3.1.5 <i>Kumis.</i> Es una leche fermentada con <i>Lactococcus Lactis subsp cremoris</i> y <i>Lactococcus Lactis subsp lactis</i>, los cuales deben ser viables y activos en el producto hasta el final de su vida útil, con producción de alcohol y ácido láctico.</p> <p>3.1.6 <i>Leche cultivada, o acidificada.</i> Es una leche fermentada por la acción de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (leche acidificada) o <i>Bifidobacterium sp.</i>, u otros cultivos lácticos inoocuos apropiados, los cuales deben ser viables y activos durante la vida útil del producto.</p> <p>3.1.7 <i>Leche fermentada tratada térmicamente.</i> Es el producto definido en el numeral 3.1.1 y 3.1.9, que ha sido sometido a tratamiento térmico, después de la fermentación. Los cultivos de microorganismos no serán viables ni activos en el producto final.</p>		
(Continúa)		
DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos procesados, leches fermentadas, requisitos		

3.1.8 Leche fermentada con ingredientes. Son productos lácteos compuestos, que contienen un máximo del 30 % (m/m) de ingredientes no lácteos (tales como edulcorantes, frutas y verduras así como jugos, purés, pastas, preparados y conservantes derivados de los mismos, cereales, miel, chocolate, frutos secos, café, especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inocuos) y/o sabores. Los ingredientes no lácteos pueden ser añadidos antes o luego de la fermentación.

3.1.9 Leche fermentada concentrada. Es una leche fermentada cuya proteína ha sido aumentada antes o luego de la fermentación a un mínimo del 5,6%. Las leches fermentadas concentradas incluyen productos tradicionales tales como Stragisto (yogur colado), Labneh, Ymer e Ylette.

3.1.10 Leche fermentada adicionada con microorganismos probióticos. Es el producto definido en el numeral 3.1.1 al cual se le han adicionado bacteria vivas benéficas, que al ser ingeridas favorecen la microflora intestinal.

3.1.11 Microorganismo probiótico. Microorganismo vivo, que suministrado en la dieta e ingerido en cantidad suficiente ejerce un efecto benéfico sobre la salud, más allá de los efectos nutricionales.

4. CLASIFICACIÓN

4.1 De acuerdo a sus características las leches fermentadas, se clasifican de la siguiente manera:

4.1.1 Según el contenido de grasa en:

- a) Entera.
- b) Semidescremada (parcialmente descremada).
- c) Descremada.

4.1.2 De acuerdo a los ingredientes en:

- a) Natural,
- b) Con ingredientes,

4.1.3 De acuerdo al proceso de elaboración en:

- a) Batido,
- b) Coagulado o aflanado,
- c) Tratado térmicamente
- d) Concentrado,
- e) Deslactosado.

4.1.4 De acuerdo al contenido de etanol, el Kéfir se clasifica en:

- a) suave
- b) fuerte

5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

5.1 La leche que se utilice para la elaboración de leches fermentadas debe cumplir con la NTE INEN 09, y posteriormente ser pasteurizada (ver NTE INEN 10) o esterilizada (ver NTE INEN 701) y debe manipularse en condiciones sanitarias según el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud Pública.

(Continúa)

5.2 Se permite el uso de otras leches diferentes a las de vaca, siempre que en la etiqueta se declare de que mamífero procede.

5.3 Las leches fermentadas, deben presentar aspecto homogéneo, el sabor y olor deben ser característicos del producto fresco, sin materias extrañas, de color blanco cremoso u otro propio, resultante del color de la fruta o colorante natural añadido, de consistencia pastosa; textura lisa y uniforme.

5.4 A las leches fermentadas pueden agregarse, durante el proceso de fabricación, crema previamente pasteurizada, leche en polvo, leche evaporada, grasa láctea anhidra y proteínas lácteas.

5.5 Los residuos de medicamentos veterinarios y sus metabolitos no deben superar los límites establecidos por el Codex Alimentario CAC/LMR 2 en su última edición.

5.6 Los residuos de plaguicidas, pesticidas y sus metabolitos, no deben superar los límites establecidos por el Codex Alimentario CAC/LMR 1 en su última edición.

5.7 Se permite el uso de vitaminas, minerales y otros nutrientes específicos, de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1334-2.

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos específicos

6.1.1 A las leches fermentadas podrán añadirse: azúcares o edulcorantes permitidos, frutas frescas enteras o en trozos, pulpa de frutas, frutas secas y otros preparados a base de frutas. El contenido de fruta adicionada no debe ser inferior al 5 % (m/m) en el producto final.

6.1.2 Se permite la adición de otros ingredientes como: hortalizas, miel, chocolate, cacao, coco, café, cereales, especias y otros ingredientes naturales. Cuando se utiliza café el contenido máximo de cafeína será de 200 mg/kg, en el producto final. El peso total de las sustancias no lácteas agregadas a las leches fermentadas no será superior al 30% del peso total del producto.

6.1.3 La leche fermentada con frutas u hortalizas, al realizar el análisis histológico deben presentar las características propias de la fruta u hortaliza adicionada.

6.1.4 Las leches fermentadas, ensayadas de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con lo establecido en la tabla 1.

TABLA 1. Especificaciones de las leches fermentadas

REQUISITOS	ENTERA		SEMIDESCREMADA		DESCREMADA		METODO DE ENSAYO
	Min %	Max %	Min %	Max %	Min %	Max %	
Contenido de grasa	2,5	---	1,0	<2,5	---	<1,0	NTE INEN 12
Proteína, % m/m En yogur, kéfir, kumis, leche cultivada	2,7	--	2,7	--	2,7	--	NTE INEN 16
Alcohol etílico, % m/v En kéfir suave En kéfir fuerte Kumis	0,5 -- 0,5	1,5 3,0 ---	0,5 -- 0,5	1,5 3,0 ---	0,5 -- 0,5	1,5 3,0 ---	NTE INEN 379
Presencia de adulterantes ¹⁾	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 1500
Grasa Vegetal	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 1500
Suero de Leche	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 2401

* Expresado como ácido láctico

1) Adulterantes: Harina y almidones (excepto los almidones modificados) soluciones salinas, suero de leche, grasas vegetales.

6.1.5 Las leches fermentadas deben cumplir con los requisitos del contenido mínimo del cultivo del microorganismo específico (*Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivaris* subsp. *thermophilus*; *Lactobacillus acidophilus*, según sea el caso), y de bacterias prebióticas, hasta la fecha de vencimiento, de acuerdo con lo indicado en la tabla 2.

TABLA 2. Cantidad de microorganismos específicos en leche fermentada sin tratamiento térmico posterior a la fermentación

PRODUCTO	Yogur, kumis, kéfir, leche cultivada, leches fermentadas con ingredientes y leche fermentada concentrada Mínimo	kéfir y kumis Mínimo
Suma de microorganismos que comprenden el cultivo definido para cada producto	10 ⁷ UFC/g	
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/g	
Levaduras		10 ⁴ UFC/g

6.1.6 Requisitos microbiológicos

6.1.6.1 Al análisis microbiológico correspondiente las leches fermentadas deben dar ausencia de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas.

6.1.6.2 Las leches fermentadas, ensayadas de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos microbiológicos en leche fermentada sin tratamiento térmico posterior a la fermentación

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Coliformes totales, UFC/g	5	10	100	2	NTE INEN 1529-7
Recuento de <i>E. coli</i> , UFC/g	5	<1	-	0	NTE INEN 1529-8
Recuento de mohos y levaduras, UFC/g	5	200	500	2	NTE INEN 1529-10

En donde:

n = Número de muestras a examinar.

m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

6.1.6.3 Cuando se analicen muestras individuales se tomaran como valores máximos los expresados en la columna m.

6.1.6.4 Las leches fermentadas tratadas térmicamente y envasadas asépticamente deben demostrar esterilidad comercial de acuerdo a NTE INEN 2335

6.1.7 Aditivos. Se permite el uso de los aditivos establecidos en la NTE INEN 2074 para estos productos

6.1.8 Contaminantes. El límite máximo de contaminantes no deben superar los límites establecidos por el Codex Stan 193-1995

6.2 Requisitos complementarios

6.2.1 Las leches fermentadas, siempre que no se hayan sometido al proceso de esterilización, deben mantenerse en refrigeración durante toda su vida útil.

(Continúa)

6.2.2 Las unidades de comercialización de este producto debe cumplir con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

7. INSPECCIÓN

7.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 04.

7.2 Aceptación o rechazo. Se acepta el lote si cumple con los requisitos establecidos en esta norma; caso contrario se rechaza.

8. ENVASADO Y EMBALADO

8.1 Las leches fermentadas deben expendirse en envases asépticos, y herméticamente cerrados, que aseguren la adecuada conservación y calidad del producto.

8.2 Las leches fermentadas deben acondicionarse en envases cuyo material, en contacto con el producto, sea resistente a su acción y no altere las características organolépticas del mismo.

8.3 El embalaje debe hacerse en condiciones que mantenga las características del producto y aseguren su inocuidad durante el almacenamiento, transporte y expendio.

9. ROTULADO

9.1 El Rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en el RTE INEN 022

(Continúa)

ANEXO 6

FICHA TÉCNICA DE LA ESTEVIA (*Stevia Rebaudiana Bertoni*)



Presentación

Composición:
Dextrosa, Maltodextrina,
Extracto de Hojas
de Stevia Rebaudiana

Información Nutricional	
Tamaño por porción: 1 sobre (1 gramo)	
Porción por envase: 200	
Cantidad por porción:	
Energía (calorías) 0	
	% Valor Diario*
Grasa Total 0g	0%
Ácidos Grasos Saturados 0g	0%
Colesterol 0mg	0%
Sodio 0mg	0%
Carbohidratos Totales menos de 1g	0%
Proteínas 0g	0%
* Porcentaje de Valores Diarios basados en una dieta de 8380KJ (2000 calorías)	
Reg. San. N°.: 8610INHGAN0113	
Consérvase en un lugar fresco y seco. Tiempo máximo de consumo 2 años	

Información Nutricional

ANEXO 6**FOTOS TOMADAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN****Foto 1.** Inicio trabajo de campo.**Foto 2.** Estevia en polvo.**Foto 3.** Recepción de la materia prima.**Foto 4.** Análisis de la materia prima.



Foto 5. Avance del trabajo de tesis.



Foto 6. Cultivo YOMIX.



Foto 7. Muestras con su clave.



Foto 8. Degustaciones.