



MCA-2019/03

**S.E.P.** TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

**INSTITUTO TECNOLÓGICO**  
de Tuxtepec

**"ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE  
UN YOGURT GRIEGO DE PITAYA (*Stenocereus  
stellatus*), ADICIONADO CON *Lactobacillus  
reuteri* Y FORTIFICADO CON CALCIO"**

**TESIS**

Para Obtener el grado de:  
**MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS**

PRESENTA

**I.B.Q. ZULEMA DEL ROSARIO SANDRIA MONTERO**

DIRECTOR:

**M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA**

CO-DIRECTORA:

**DRA. MARIA DE LOS ÁNGELES VIVAR VERA**

TUXTEPEC, OAXACA, JUNIO 2019

# COMITÉ TUTORIAL

M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA

DRA. MARIA DE LOS ÁNGELES VIVAR VERA

DRA. ARACELI PÉREZ SILVA

DR. JESÚS RODRÍGUEZ MIRANDA

S.E.P. TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO



# INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC

“Elaboración y caracterización de un yogurt griego de pitaya (*Stenocereus stellatus*) adicionado con *Lactobacillus reuteri* y fortificado con calcio.”

TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

IBQ. Zulema del Rosario Sandria Montero

DIRECTOR:

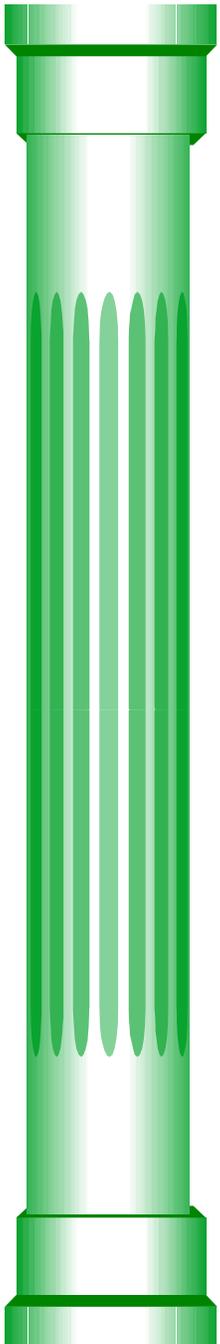
M.C. Ernestina paz Gamboa

CO-DIRECTOR INTERNO:

DRA. María de los Ángeles Vivar Vera

TUXTEPEC, OAXACA.

Junio, 2019.



# HOJA DE LIBERACIÓN



**SEP**  
SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
Instituto Tecnológico de Tuxtepec

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA  
División de Estudios Profesionales

Procedimiento para la Titulación  
Autorización de Presentación del Trabajo Profesional  
Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.5.1

SUBDIRECCION ACADÉMICA  
DIVISION DE ESTUDIOS  
PROFESIONALES

Tuxtepec, Oaxaca 14/JUNIO/2019  
OFICIO: No. 3148

**I.B.Q. ZULEMA DEL ROSARIO SANDRIA MONTERO**  
EGRESADA DE LA CARRERA DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS  
CON NÚMERO DE CONTROL M12350563  
**PRESENTE.**

POR MEDIO DE LA PRESENTE ME PERMITO COMUNICARLE QUE LA COMISIÓN REVISORA INTEGRADA POR LOS C.C. M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA, DRA. MARIA DE LOS ÁNGELES VIVAR VERA, DRA. ARACELI PÉREZ SILVA Y DR. JESÚS RODRÍGUEZ MIRANDA, REVISÓ Y APROBÓ EN SU TOTALIDAD EL TRABAJO PROFESIONAL DENOMINADO "ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN YOGURT GRIEGO DE PITAYA (*Stenocereus stellatus*) ADICIONADO CON *Lactobacillus reuteri* Y FORTIFICADO CON CALCIO." PRESENTADO POR USTED COMO PRODUCTO DE TESIS DEL LINEAMIENTO DE TITULACIÓN CORRESPONDIENTE, PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS.

POR LO ANTERIOR Y DE ACUERDO A LOS LINEAMIENTOS INSTITUCIONALES, SE LE DA TRÁMITE LEGAL PARA QUE PROCEDA A LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO PROFESIONAL.

**ATENTAMENTE**  
Excelencia en Educación Tecnológica®

**L.I. MARTHA MÓNICA HERNÁNDEZ CRUZ**  
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

C.c.p.-Coord. de titulación  
MMHC/has

SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA  
INSTITUTO TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS  
PROFESIONALES

REGISTRO SGC  
Código: ITTUX-EG-PO-4  
Revisión:  
Fecha de Autorización: 25Abr



Av. Dr. Victor Bravo Ahuja S/N, Col. 5 de Mayo CP. 68350, Tuxtepec, Oax. México.  
Tel. 01 (287) 8751044, Ext. 117 e-mail: it\_tuxtepec@tecnm.mx  
www.tecnm.mx | www.ittux.edu.mx





**“Elaboración y caracterización de un yogurt griego de pitaya (*Stenocereus stellatus*) adicionado con *Lactobacillus reuteri* y fortificado con calcio”.**

POR:

**IBQ. Zulema del Rosario Sandria Montero**

TESIS PROPUESTA AL  
**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC**

COMO REQUERIMIENTO PARCIAL PARA OBTENER EL  
GRADO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS**

**Enero, 2019**

## DEDICATORIA

### *A Dios*

*Por haberme permitido llegar hasta este punto de mi vida por otorgarme salud y bienestar por bendecir mi camino, por ayudarme a cumplir mis objetivos y rodearme de personas que creen en mí dándome sabios consejos y motivándome en lo largo de mi carrera. Gracias Dios.*

### *A mi Madre*

*No me puedo quejar dios me otorgo la mejor mama del mundo, pues tu eres un gran pilar en mi vida y en mis éxitos, hoy te quiero dar las gracias por todo lo que me has brindado por tus desvelos, tu esfuerzo, por tu manera de educarme hoy rinden esos frutos que están llegando, porque este es el principio de una mejor vida. Te adoro madre mía.*

### *A mi Padre (QEPD)*

*Te dedico estas palabras que van directo al cielo porque aunque tuviste que partir antes de tiempo hoy quiero decirte que ya lo logre ya soy maestra en ciencias, superándome por ti y por mi mama. Muchas gracias padre por ser el mejor hombre del mundo y cuidarme desde el cielo.*

### *A mi Pareja*

*Por estar conmigo en este periodo de mi vida tan importarte por estarme motivando en los momentos difíciles, siempre estar ahí para mí, por tu gran apoyo en este periodo de mi vida. Te amo Gio.*

## **AGRADECIMIENTOS**

### *Al conacyt*

*Gracias a esta institución por ser parte fundamental en este proyecto, ya que sin la beca de apoyo brindada por ustedes esto no hubiese sido posible. Gracias*

### *A mi asesora*

*Maestra gracias por ser una gran asesora, por tenerme mucha paciencia y siempre corregirme en las cosas que estaban mal, muchas gracias por formar en mi una mejor persona.*

### *A mis compañeros y maestros*

*Gracias a los maestros que me enseñaron a formarme como maestra en ciencias, sobre todo a la doctora Cecilia ya que ella fue quien me ayudo con mis tramites de la beca conacyt. A si mismo a los maestro avenamar y martha patricia. Tambien quiero agradecer al equipo reuterina "Miguel, Diego, Luis, Cielo, Sajith", por estar ahí siempre dando animos para que este proyecto saliera a flote.*

## RESUMEN

Sandria Montero, Zulema del Rosario. Maestría en Ciencias en Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. **“Elaboración y caracterización de un yogurt griego de pitaya (*Stenocereus stellatus*) adicionado con *Lactobacillus reuteri* y fortificado con calcio”**. Director(a) M.C. Ernestina Paz Gamboa, Co-Directora (ra). Dra. María de los Ángeles Vivar Vera.

Actualmente el ser humano ha adoptado malos hábitos alimenticios que causan un gran número de enfermedades como: gastritis, osteoporosis, cáncer de colon, para ello la industria alimentaria ha desarrollado alimentos con componentes bioactivos de origen natural (vitaminas, minerales, probióticos y prebióticos). El yogurt griego se caracteriza por poseer un contenido alto en proteínas y grasas debido al proceso de elaboración de este producto existen pérdidas significativas de Calcio. Como parte de la necesidad tanto de ganaderos de la región y productores de Totoltepec de Guerrero Puebla, para darle un valor agregado a sus materias primas, el objetivo de este proyecto es elaborar y caracterizar un yogurt griego de pitaya (*Stenocereus stellatus*) adicionado con *Lactobacillus reuteri* y fortificado con calcio. Se utilizó leche comercial y leche bronca, pectina, *L. reuteri* donado por el IT. Veracruz y pitaya en color purpura y se obtuvo en Totoltepec. Para la elaboración de yogurt se utilizó comercial descremada y leche bronca ajustada al 1.5% de grasa y 11% de sólidos totales (ST), se adicionó 0.2% de pectina, lactato de calcio en tres concentraciones (0.055, 0.05 y 0.045%) y 2% cultivo iniciador incubándose a 43°C/4h, y se drenó por 10 h/ 5°C y se adicionó mermelada de pitaya (5 y 10% endulzada con una mezcla de edulcorantes no calóricos. Se seleccionó el mejor tratamiento para su elaboración usando dos concentraciones de ST (11 y 15%) y dos horarios de drenado (8 y 10 h), evaluando sus propiedades tecnofuncionales (acidez, pH, sinéresis) y rendimiento y se seleccionó el tratamiento al 11% de ST y 10 h de drenado. Se encontró que al adicionar el 0.2% de *Lb. reuteri* tuvo menor sinéresis (29%) y acidez (3 g ácido láctico). Y al agregar lactato de calcio en concentraciones

de 0.05% y 0.55% se mantienen los valores de calidad. La adición de lactato de calcio mantuvo la cuenta viable  $10 \log \text{ UFC/mL}$ , el 10% mermelada redujo  $\leq 0.2 \log \text{ UFC/mL}$  en d 14, los valores fueron estables con el 5% de mermelada redujo  $\leq 0.1 \log \text{ UFC/mL}$  hasta el d 21 de almacenamiento. Los yogures con la adición de *Lb. reuteri* después del drenado, 0.55% de calcio y 5% de mermelada fueron los más aceptados sensorialmente. Se alcanzaron porcentajes de proteínas y grasas de (12%) y (10.5%), YG-UHT (18%) y (10.8%) YG-pasteurizada. El YG-UHT resulto tener una tonalidad blanca y las muestras con mermelada una tonalidad lila. Los yogures con leche pasteurizada fueron más duros y viscosos. Se observó que en proceso de elaboración se pierden cantidades de calcio, sin embargo con la fortificación se logra mantener los niveles de calcio deseados.

## ABSTRACT

Sandria Montero, Zulema del Rosario. Maestría en Ciencias en Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. **“Preparation and characterization of a Greek pitaya yogurt (*Stenocereus stellatus*) added with *Lactobacillus reuteri* and fortified with calcium”**. Director(a) M.C. Ernestina Paz Gamboa, Co-Director (ra). Dra. María de los Ángeles Vivar Vera.

Currently the human being has adopted bad eating habits that cause a large number of diseases such as: gastritis, osteoporosis, colon cancer, for this the food industry has developed foods with bioactive components of natural origin (vitamins, minerals, probiotics and prebiotics). Greek yogurt is characterized by having a high content of proteins and fats due to the production process of this product there are significant losses of calcium. As part of the need of both farmers in the region and producers of Totoltepec de Guerrero Puebla, to give added value to their raw materials, the goal of this project is to develop and characterize a Greek pitaya yogurt (*Stenocereus stellatus*) added with *Lactobacillus reuteri* and fortified with calcium. We used commercial milk and milk, pectin, *L. reuteri* donated by IT. Veracruz and pitaya in purple color and was obtained in Totoltepec. For the elaboration of yogurt, commercial skim milk and milk adjusted to 1.5% of fat and 11% of total solids (ST) were used, 0.2% of pectin was added, calcium lactate in three concentrations (0.055, 0.05 and 0.045%) and 2% starter culture was incubated at 43 ° C / 4h, and drained for 10 h / 5 ° C and pitaya jam was added (5 and 10% sweetened with a mixture of non-caloric sweeteners.) The best treatment for the preparation was selected using two concentrations of ST (11 and 15%) and two draining schedules (8 and 10 h), evaluating their technological and functional properties (acidity, pH, syneresis) and yield and selecting the treatment at 11% ST and 10 h drained

# INDICE

## Contenido

INTRODUCCIÓN .....	1
MARCO TEÓRICO .....	1
2.1 Leche.....	1
2.1.1 Composición nutricional de la leche .....	2
2.2 Consumo de leche en México. ....	3
2.2.2 Derivados Lácteos .....	5
2.3 Yogurt .....	7
2.3.1 Composición nutricional del yogurt .....	9
2.3.2 Clasificación del Yogurt. ....	11
2.3.3 Composición nutricional de tipos de yogurt .....	13
2.4 Yogurt Griego.....	14
2.4.1 Procesos de elaboración de yogurt griego.....	15
2.4.2 Composición nutricional del Yogurt griego.....	17
2.5. Hidrocolóides .....	19
2.5.1 Pectina .....	20
2.6 Fortificación de yogurt .....	21
2.6.1 Lactato de calcio .....	23
2.7 Pitaya ( <i>Stenocereus stellatus</i> ) .....	24
2.7.1 Clasificación botánica de la pitaya .....	24
2.7.2 <i>Stenocereus stellatus</i> .....	25
2.7.3 Contenido químico de la pitaya ( <i>Stenocereus stellatus</i> ).....	26
2.7.4 Principales estados productores de pitaya en México .....	26
2.8 Probióticos .....	27
2.9 <i>Lactobacillus reuteri</i> .....	30
2.9.1 Reuterina.....	32
ANTECEDENTES .....	33
JUSTIFICACIÓN .....	36
OBJETIVOS .....	45
Objetivo General .....	48
Objetivos Específicos.....	48

<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	50
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	53
<b>6.1 Materiales</b> .....	54
<b>6.2 Obtención de las materias primas</b> .....	53
<b>6.2.1 Recolección de pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>)</b> .....	54
<b>6.2.2 Selección de frutos de pitaya</b> .....	55
<b>6.2.3 Lavado del fruto</b> .....	45
<b>6.2.4 Obtención de la pulpa de pitaya</b> .....	56
<b>6.2.5 Escaldado</b> .....	57
<b>6.2.6 Almacenamiento de la pulpa</b> .....	58
<b>6.3 Obtención y conservación de la leche</b> .....	59
<b>6.3.1 Obtención de la leche</b> .....	63
<b>6.3.2 Desnatado y estandarización de la leche</b> .....	66
<b>6.3.3 Pasteurización de la leche</b> .....	67
<b>6.4 Producción de <i>Lactobacillus reuteri</i></b> .....	70
<b>6.4.1 Activación <i>Lactobacillus reuteri</i></b> .....	74
<b>6.4.2 Propagación de <i>L. reuteri</i></b> .....	75
<b>6.4.3 Obtención del paquete celular</b> .....	76
<b>6.5. Obtención del cultivo iniciador del Yogurt</b> .....	81
<b>6.5.1 Elaboración del cultivo stock</b> .....	86
<b>6.5.2 Elaboración del cultivo madre</b> .....	87
<b>6.5 Proceso de elaboración de Yogurt Griego</b> .....	88
<b>6.5.1 Preparación del Yogurt</b> .....	89
<b>6.5.2 Obtención del Yogurt Griego</b> .....	90
<b>6.6 Obtención de la mermelada de pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>)</b> .....	91
<b>6.6.1 Elaboración de la mermelada de pitaya</b> .....	92
<b>6.7 Análisis de materias primas</b> .....	100
<b>6.7.1 Obtención del rendimiento de la pulpa de pitaya</b> .....	104
<b>6.7.1 Análisis fisicoquímico</b> .....	11
<b>6.7.2 Análisis químico proximal de pulpa de pitaya</b> .....	11
<b>6.7.3 Análisis de la leche</b> .....	110
<b>6.7.3.1 Acidez y pH en leche</b> .....	11
<b>6.7.3.2 Análisis Químico proximal de leche fresca</b> .....	123
<b>7. Estrategia experimental</b> .....	113

<b>8. Análisis estadístico</b> .....	124
<b>9. Análisis de variables de respuesta</b> .....	125
<b>7.1.1 Determinación de pH</b> .....	126
<b>7.1.2 Determinación de Acidez del yogurt</b> .....	127
7.1.3 Determinación del porcentaje de sinéresis .....	130
7.2.1 Determinación de viabilidad de <i>L. reuteri</i> en Yogurt Griego .....	136
<b>7.2. Análisis Químico proximal de Yogurt Griego</b> .....	137
<b>7.2.1 Determinación de Humedad</b> .....	138
<b>7.2.2 Determinación de Cenizas</b> .....	139
<b>7.2.3 Determinación de Grasas</b> .....	140
<b>7.2.3 Determinación de Proteínas</b> .....	141
<b>7.4 Determinaciones Físicas del yogurt griego</b> .....	10
<b>7.4.1 Determinación de color</b> .....	10
7.4.2 Determinación de Textura .....	11
7.4.4 Cuantificación de calcio .....	1447
<b>7.5 Determinación de viscosidad en yogurt griego</b> .....	¡Error! Marcador no definido.48
<b>RESULTADOS</b> .....	1650
<b>8.1 Análisis fisicoquímico de la Pulpa de pitaya</b> .....	153
<b>8.1.1 Rendimiento de la fruta fresca de pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>)</b> ...	154
<b>8.1.2. Caracterización fisicoquímica de la pulpa fresca de pitaya</b> .....	155
<b>8.1.3. Caracterización fisicoquímica de la leche pasteurizada</b> .....	154
<b>8.2 Selección de los tratamientos Etapa I con diferentes horas de drenado y diferente concentración de solidos totales.</b> .....	156
<b>8.2.1 Rendimiento de yogurt griego elaborado con leche Pasteurizada y Ultra- pasteurizada</b> .....	156
<b>8.2.2 Evaluación de la propiedades tecno funcionales de yogurt griego elaborado con leche pasteurizada y ultra pasteurizada.</b> .....	158
<b>8.5 Evaluación sensorial en yogurt griego adicionado con</b> .....	26
<b>Lactato de calcio, mermelada de pitaya y <i>Lb.reuteri</i></b> .....	156
<b>8.5.2 Evaluación sensorial de yogurt griego (Segunda parte)</b> .....	30
<b>8.6 Evaluación del Análisis Químico Proximal en yogurt griego adicionado con Lactato de calcio, mermelada de pitaya y <i>L.reuteri</i></b> .....	34
<b>8.7 Evaluación de color en yogurt griego</b> .....	37
<b>8.8 Evaluación de perfil de textura en yogurt griego</b> .....	39

<b>8.9 Estimación de calcio en yogurt griego</b> .....	42
8.10 Determinacion de viscosidad en yogurt griego.....	44
<b>CONCLUSIONES</b> .....	46
CONCLUSIONES .....	3
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	4
RECOMENDACIONES .....	3
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	4
<b>ANEXOS</b> .....	9

## INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1</i> Microorganismos utilizados como probióticos .....	21
<i>Tabla 2</i> propiedades nutricionales de la carambola .....	27
<i>Tabla 3</i> Tiempo, temperatura y distribución de los tubos para su activación	38
<i>Tabla 4</i> Tiempo, temperatura y distribución de los tubos T3 en los matraces con caldo MRS, para su propagación .....	38
<i>Tabla 5</i> Composición de la capsula .....	41
<i>Tabla 6</i> Formulación 1:0.25 Sucralosa – Stevia .....	44
<i>Tabla 7</i> Proporciones de la preparación del yogurt con carambola .....	47
<i>Tabla 8</i> características de la muestras para la evaluación sensorial .....	50
<i>Tabla 9</i> Análisis químico proximal (métodos) .....	51
<i>Tabla 10</i> Evaluación de la viabilidad de encapsulados de <i>L. reuteri</i> en diferentes días de almacenamiento en forma libre y adicionado al yogurt al 9 y 11% de sólidos .....	55
<i>Tabla 11</i> Efecto del pH en las cápsulas añadidas al yogurt y en forma libre.	56
<i>Tabla 12</i> Químico proximal g/100g b.h. de yogurt al 9 y 11 % de sólidos adicionado con encapsulados de <i>L. reuteri</i> .....	57
<i>Tabla 13</i> codificación y formulación de las muestras .....	58
<i>Tabla 14</i> formulación del caldo MRS, para la activación del <i>L. reuteri</i> . .....	70
<i>Tabla 15</i> Formulación de caldo MRS para la propagación del <i>L. reuteri</i> . .....	70







# INTRODUCCIÓN

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad las leches fermentadas han ganado gran popularidad debido a los beneficios nutricionales que aportan en la dieta, entre estos productos se encuentra el yogurt, que se define como: un derivado lácteo obtenido por fermentación de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* y *Streptococcus lactis ssp. Thermophilus*), presenta una estructura en forma de gel debido a la coagulación de las proteínas lácteas principalmente la caseína por acción del ácido láctico secretado durante la fermentación [Tamime., 1999]. El yogurt es un producto altamente demandado por los consumidores por sus efectos de mejorar el ambiente intestinal, es considerado como un alimento saludable, debido a su elevada digestibilidad y biodisponibilidad de nutrientes, puede ser recomendado a personas con intolerancia a la lactosa, desordenes gastrointestinales, como cáncer de colon irritable, gastritis, diarrea, entre otras, [Weerathilake.,2014].

Se han desarrollado diversas formulaciones de yogurt, con una alta gama de ingredientes que incluyen leche, edulcorantes, estabilizantes, frutas, sabores y cultivos bacterianos. El proceso generalizado de elaboración del yogurt, comprende la modificación de la composición original de la leche por el proceso de pasteurización, la adición de bacterias ácido lácticas para el proceso de fermentación a temperaturas (40-45°C), enfriamiento, y la adición de frutas y aditivos. Los cultivos iniciadores del yogurt juegan un papel importante durante la producción de yogurt ya que son los responsables del desarrollo del ácido láctico, el sabor y el olor ácido característico en el yogurt. El yogurt se puede encontrar en diferentes presentaciones y se clasifica de acuerdo a su proceso de elaboración, como el contenido de grasa (entero, semidescremado y descremado), aroma y sabor (natural, frutado, aromatizado), adición de aditivos alimentarios ( concentrado) y consistencia de gel (batido, bebible y concentrado), [Tamime.,1999] dentro de estas dos últimas clasificaciones encontramos al yogurt griego (YG) el cual posee una consistencia más espesa y más cremosa en comparación con un yogurt tradicional, al yogurt griego también se le conoce como yogurt concentrado, colado, mediterráneo y “Labneh” conocido así en su lugar de origen el Medio Oriente, este

producto se ha desplazado por todo el mundo debido a sus atributos de textura y sabor, ya que es agradable para el consumidor, el proceso tradicional del yogurt griego implica el drenado del suero ácido por gravedad, utilizando bolsas de manta hasta alcanzar el nivel de sólidos deseados, en tiempos de drenado 18-24h a temperaturas de refrigeración [Bong y Moraru.,2014] ,existen métodos modernos para la fabricación de yogurt griego como el centrifugación y ultrafiltración que reducen los tiempos de espera [Desai y col.,2013], sin embargo estos métodos podrían generar un incremento en los costos de producción, de acuerdo al Codex Alimentarius.,[2003], el yogurt griego tiene un aumento en el contenido de proteína antes o después de la fermentación a un mínimo de 5.6% en comparación con el 2,7% de proteína que tiene un yogurt regular. El yogurt griego suele contener una gran cantidad de grasas saturadas, sin embargo se han desarrollado diferentes presentaciones de yogurt griego variando su contenido de grasa y esto depende del contenido de grasa que tenga la leche para su elaboración, el yogurt griego también es una fuente rica de vitamina (A) ya que una porción de 150 g servirían para proveer la quinta parte de la ingesta diaria recomendada [Weerathilake y col., 2014], pero carece de minerales como sodio, potasio, calcio y lactosa que se eliminan en su proceso de elaboración [Özer y col., 1999]. El yogurt actúa como vehículo ideal para el transporte de probióticos ya que se considera un alimento factible para la incorporación de bacterias probióticas y mantener las células viables para otorgar un beneficio a la salud, como combatir los trastornos intestinales a través de los efectos terapéuticos y beneficiosos asociados con ellas. De acuerdo con la FAO.,[2011] existe un alta gama de bacterias probióticas, entre las más comunes se encuentra el *Lactobacillus casei*, *Lactococcus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, este último probiótico es un bacteria mesófila que habita en el intestino de mamíferos y aves, y tiene la capacidad de sintetizar reuterina (3-hidroxi propionaldehído), un agente antimicrobiano de amplio espectro durante el metabolismo anaeróbico del glicerol, se ha estudiado como un conservante de alimentos. La producción in situ de *Lactobacillus reuteri* y glicerol en los alimentos se considera una alternativa como bioconservante [Ortiz y col., 2016]. Las últimas tendencias en el desarrollo e innovación de bebidas lácteas es la

utilización de sabores naturales poco convencionales, por lo que la industria alimentaria está incursionando en el uso de frutas poco explotadas, tal es el caso de la pitaya (*Stenocereus stellatus*), una fruta que por su elevado contenido de humedad es altamente perecedera. El genero *Stenocereus stellatus* se produce en los estados de Oaxaca y Puebla, [Suárez et al., 2007]. En la región de la Mixteca Baja, es la segunda región productora del país [Martínez et al., 2011]. Por lo que existe una gran producción de este fruto, y este a su vez puede servir como materia prima para adicionar algún producto. Por ello como parte de la necesidad de los productores del Municipio de Tortoltepec de Guerrero, Puebla, se propone este trabajo, cuyo objetivo fue elaborar un yogurt griego bajo en grasa sabor pitaya (*Stenocereus stellatus*), fortificado con calcio y adicionado con *Lactobacillus reuteri* y evaluar sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensorial. Con los resultados obtenidos en este proyecto se espera contribuir en la innovación de un nuevo producto, así como beneficiar a los productores de leche de la región y los productores de pitaya del municipio de Totoltepec de Guerrero Pue.



# MARCO TEÓRICO

## MARCO TEÓRICO

### 2.1 Leche.

La leche se define como la secreción de las glándulas mamarias de los mamíferos, su principal función natural es la nutrición de los recién nacidos. La Leche de algunos animales, especialmente vacas, búfalos, cabras y ovejas, también se utiliza para el consumo humano, ya sea como tal o en forma de una gama de productos lácteos [Walstra.,2006]. La coloración de la fresca es blanca con una tonalidad aporcelanada; cuando es muy rica en grasa presenta un coloración ligeramente crema, debido al caroteno contenido en la grasa de la leche, la leche pobre en grasa o descremada es ligeramente azulado, su sabor es ligeramente dulce y neutro y esto es debido por la parencia de lactosa [Keating., 2000]. La leche de algunos animales, especialmente vacas, búfalos, cabras y ovejas, también se utiliza para el consumo humano, ya sea como tal o en la forma de una gama de productos lácteos [Walstra.,2006]. La leche se considera un alimento básico y equilibrado ya que proporciona nutrientes esenciales y es una fuente importante de energía alimentaria, proteínas de alta calidad y grasas, puede contribuir considerablemente a la ingestión necesaria de nutrientes como el calcio, magnesio, selenio, riboflavina, vitamina B12 y ácido pantoténico [FAO.,2018] en la Tabla 1 se observa la composición de nutricional de la leche materna comparada con la leche de vaca.

**Tabla 1** Composición en leche humana y vaca

<i>Componente</i>	<i>Leche humana</i>	<i>Leche de vaca</i>
Calorías (cal/L)	750	701
Minerales (mEq/L) sodio, potasio, calcio, magnesio	50	150
Minerales aniones (mEq/L) fósforo, azufre, cloro	40	110
Oligoelementos (mcg/dL)		
Hierro	3 mg/dL	46mcg/dL
Cobre	1.1	10
Zinc	30	-
Proteínas (g/L)	23	32
Aminoácidos (g/L)	12.8	32
Nitrógeno no proteico (mg/L)	30-500	252
Lisozima (mg/L)	390	0.13
Hidratos de carbono (g/L)	60-70	47
Grasas (g/L)	35-45	38
<b>Vitaminas (mg/L)</b>		
Vitamina A	0.61	0.27

Caroteno	0.25	0.37
Tocoferol	2.4	0.6
Tiamina	0.142	0.43
Riboflavina	0.373	1.56
Vitamina B <sub>6</sub>	0.15	0.51
Ácido nicotínico	1.83	0.74
Vitamina B <sub>12</sub> (mcg/L)	0.5	6.6
Biotina (mcg/L)	2	22
Ácido fólico	24-30 mg/L	35-40 mg/L
Ácido pantoténico	2.5	3-4

**Fuente:** [García et al, 2011].

### 2.1.1 Composición nutricional de la leche

La leche es una emulsión de materia grasa, en forma globular, es un líquido que presenta analogías con el plasma sanguíneo. Este líquido es asimismo, una suspensión de materias proteicas en un suero constituido por una solución verdadera que contiene, principalmente, lactosa y sales minerales. Por lo tanto, existen en la leche cuatro tipos de componentes importantes: grasas, proteínas (caseína y albuminoides), lactosa y sales. A ellos se añaden otros componentes numerosos, presentes en cantidades mínimas: lecitinas, vitaminas, enzimas, nucleótidos, gases disueltos, etcétera [Alais., 1985].

La lactosa es el principal carbohidrato de la leche, es un disacárido constituido por una galactosa y una glucosa, unidos por un puente  $\beta$ 1-4 glucosídico. [Walstra., 2006]. El contenido de lactosa en la leche es de importancia debido a que es un constituyente esencial en la elaboración de productos lácteos fermentados ya que lactosa se fermenta rápidamente por las bacterias ácido lácticas (BAL), como *Lactococcus spp.* y *Lactobacillus spp.*, en ácido láctico para la elaboración de yogurt [Sevilla., 2009], por otro lado la leche aporta ácidos grasos de cadena larga cuyos precursores son el ácido linolénico y el ácido palmítico. Se conocen como ácidos grasos indispensables ya que no pueden ser sintetizados de novo por el ser humano y deben provenir de la dieta de la madre, estos ácidos grasos se convierten en ácidos grasos poliinsaturados (LC-PUFA's) tales como el ácido docosaenoico, vital en el desarrollo estructural y funcional de los sistemas visual-sensorial, perceptual y cognitivo del lactante; y el ácido araquidónico, que ayuda a modular las respuestas inflamatoria [García., 2011], las proteínas contenidas en la

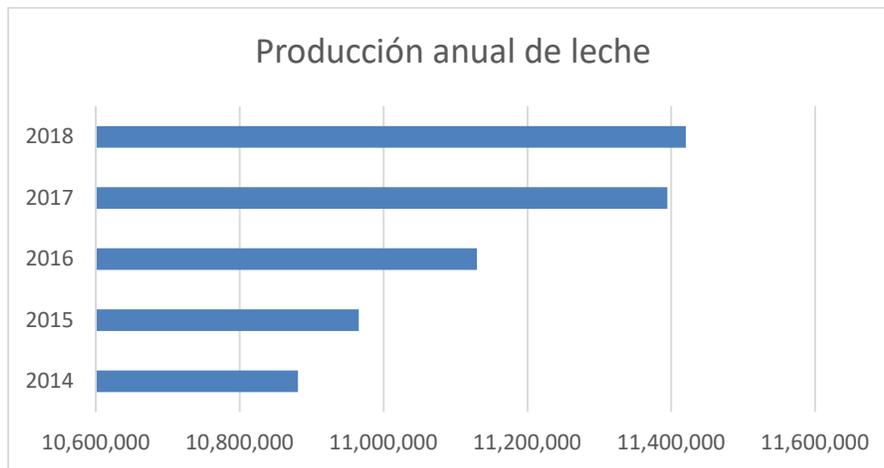
leche es del 3,5% (variando desde el 2.9% al 3.9%) y estas se clasifican en dos grandes grupos: caseínas (80%) y proteínas séricas (20%) [Agudelo et al., 2005], la caseína es la principal proteína de la leche y está compuesta de 20 aminoácidos, el punto isoeléctrico de las caseínas es de 4.6, en este nivel las cargas electronegativas de la micelas se encuentran neutralizadas, ya sea por la acción de un ácido o una sal, teniendo como consecuencia que la micelas se aglomeren entre sí y estas precipiten [Keating., 2000]. La leche de vaca contiene sodio, potasio, magnesio, calcio, manganeso, hierro, cobalto, cobre, fósforo, fluoruros, yoduros. Además, se reconoce la presencia de otros en cantidades vestigiales, como el aluminio, molibdeno y plata. En la membrana de los glóbulos grasos se encuentran en mayor concentración el calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, fósforo y zinc. Una parte de los metales, sobre todo los alcalinos y los halógenos, se encuentran libres en forma de iones en solución. El calcio, por el contrario, se halla en su mayor parte ligado a la caseína. Tan sólo un tercio del calcio y del magnesio se encuentra en disociación iónica. Además de los cloruros y fosfatos, deben mencionarse también los citratos, presentes en una cuantía media de 2.3 gr/Lt [Agudelo et al .,2005].

### **2.1.2 Consumo de leche en México.**

En México, la leche de ganado bovino es un producto prioritario en el subsector pecuario, en virtud de su importancia como alimento básico para la población infantil y su creciente consumo por otros grupos de edad [Espinoza et al .,2016],la cadena de lácteos en el mundo ha tenido como fuente primaria principal la leche de algunos mamíferos pertenecientes a las especies como vacas, búfalos, cabras, entre otra. Sin embargo a escala mundial, la leche de vaca es la que posee mayores niveles de producción y el 40% se consume en forma de leche fluida y el resto se utiliza en productos manufacturados. La demanda por este producto mantiene una tendencia al alza de manera progresiva. Se estima que el consumo de leche aumente 5 mil 670 millones de litros, es decir, 2.1% para el año 2019, [SIAP., 2018], Actualmente, el SIAP tiene estimada una población de 2.3 millones de vacas lecheras. Muchas de éstas producen fuera del sector de producción intensivo, por

lo que la producción promedio asciende a 4.5 litros por vaca por día (lt/vaca/día). [SIAP.,2018]. En la figura 1 se muestra como ha crecido la producción anual de leche en México, actualmente México ocupa en el octavo lugar de producción de leche a nivel mundial con una producción de leche de 650 mil litros más por día. En cuanto a producción de leche en México los estados con mayor producción al año 2018, el primer lugar lo ocupa Jalisco con 560,088, seguido de Durango 293,319 y Chihuahua con 266,318, el estado de Oaxaca genera un 32.182 de miles de litros de leche [Sagarpa.,2018]. La leche producida en la región del Papaloapan por lo regular es de consumo local y están destinadas para la elaboración de quesos entre ellos el queso fresco y el queso Oaxaca [Juárez et al., 2015]. La leche entera, es el producto ajustado o no en su contenido de grasa, apto para consumo humano, después de procesos que garantizan su inocuidad [NOM-155-SCFI-2012]. Debido a su alto valor nutritivo, alta actividad de agua (0.98) y pH neutro (6.6), la leche es un medio óptimo para el crecimiento microbiano, por lo que necesita ser sometida a procesos térmicos para su conservación [Samia et al. 2009]. Los procesos térmicos más comunes son la pasteurización y la ultra pasteurización; la pasteurización consiste en una relación tiempo/temperatura (72 °C/15 s) que destruye bacterias patógenas e inactiva algunas enzimas [NOM-155-SCFI-2012]. En la ultra pasteurización se emplea una temperatura de 138 °C de 2 a 4 s [USDA 2011] que avala la esterilidad comercial y el envasado aséptico.

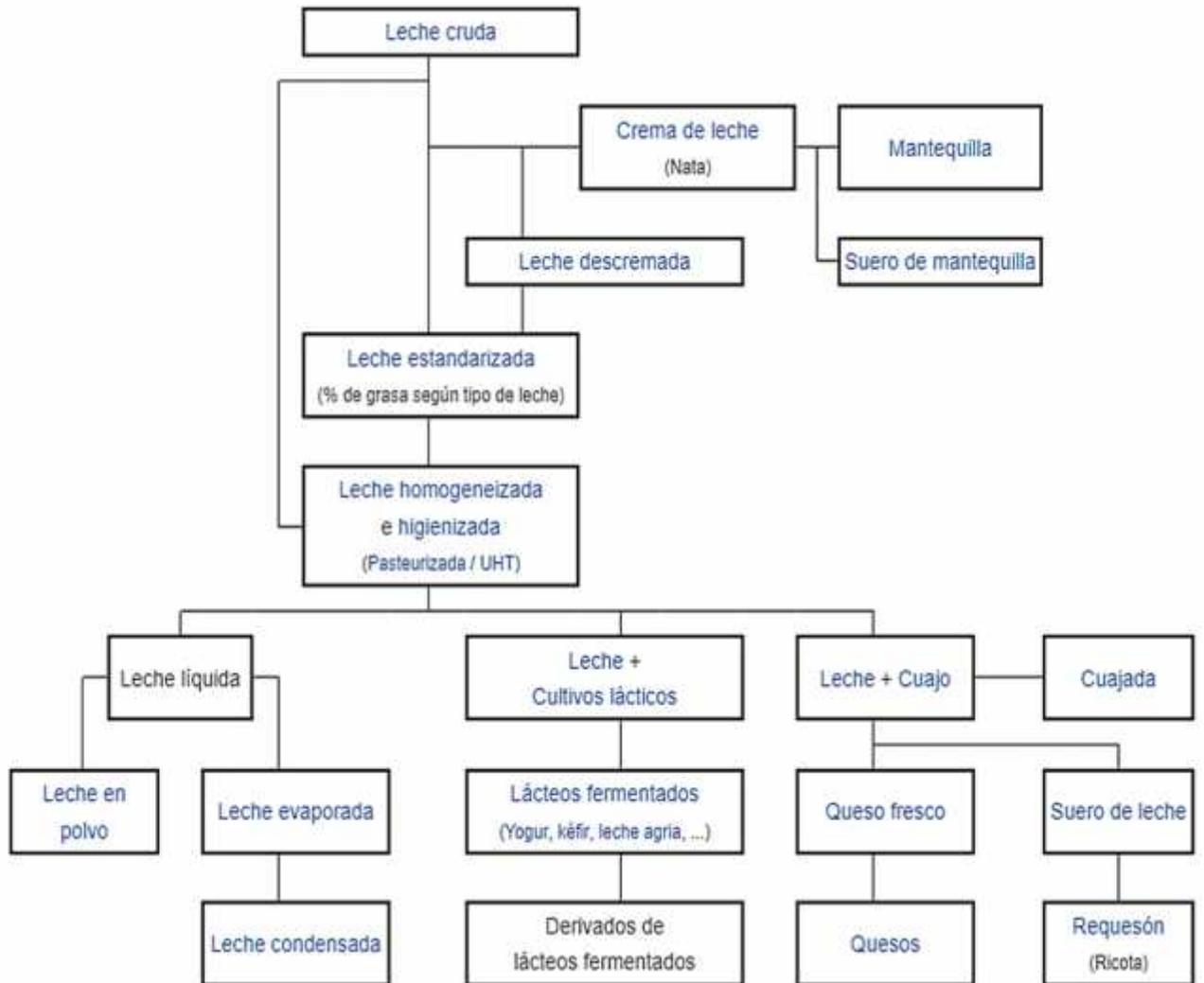
En un estudio de consumidores realizado en México, se encontró que 64.8 % de las personas adquieren leche entera, 19.7 % leche semidescremada o descremada y 4.9 % leche deslactosada. El pilar de la industria láctea es la calidad, basada en las características Fisicoquímicas y sensoriales, la cual determina los precios. Durante los procesos térmicos ocurren cambios fisicoquímicos y sensoriales que dependen de las condiciones y la tecnología empleada [Juárez et al., 2015].



**Figura 1.** Producción anual de leche en México **Fuente:** [SIAP.,2018]

## 2.2 Derivados Lácteos

Son aquellos alimentos que se elaboran a partir de la leche como yogurt, quesos, dulce de leche, helados. Dejamos a la nata y a la mantequilla para tratarlas dentro de los alimentos ricos en grasa, los productos lácteos proporcionan varios nutrientes importantes entre los que se encuentran las proteínas, vitaminas del complejo B y la vitamina D [Alais., 1985]. Los lácteos también se consideran las principales fuentes de calcio en la dieta. La leche empleada mayoritariamente en la elaboración de los lácteos procede de la vaca, aunque también puede consumirse leche procedente de otros mamíferos tales como la cabra o la de oveja y, en algunos países, búfala, la camella, yegua, y otros animales. El consumo de productos lácteos ha experimentado, desde la década de 1950, un considerable crecimiento en la demanda mundial que ha llevado a la industria a superar retos tecnológicos importantes [Saxelin et al., 2003]. Para los vegetarianos que consumen leche y productos lácteos, estos lácteos son una buena fuente de proteínas de alta calidad y vitaminas del grupo B que habitualmente se encuentran en la carne y otros alimentos de origen animal [FAO, 2018] Podemos encontrar una alta gama de productos lácteos como se detalla en la figura 2.



**Figura 2** Clasificación de los derivados lácteos. Fuente: [FAO, 2015]

Muchos de los lácteos que no han sido expuestos a un proceso de fermentación se comercializan en los mercados de Europa y América y se emplean como alimentos básicos, tal y como puede ser la leche, la mantequilla y la crema. Todos ellos son alimentos procesados de la leche, bien sea por separación de sus contenidos grasos, desecación (extracción del agua para la obtención de leches en polvo) [Pitts et al.,2013]. Una de las propiedades de la leche es que invita a la propia preservación: la propia leche tiene cultivos lácticos que permiten convertir sus azúcares en ácidos, permitiendo de esta forma que la leche pueda preservarse durante períodos mayores. Este proceso hace que las propiedades de la leche cambien sustancialmente dando lugar a una nueva gama de productos: productos

fermentados de la leche gracias a la acción de las bacterias de la familia *Lactobacillus* (bacterias del ácido láctico). Las leches fermentadas poseen un grado de fermentación medio y pueden dividirse en dos categorías: yogures y cremas de mantequilla, donde se incluyen las cremas agrias (como el Crème fraîche o el Smetana, muy popular en las cocinas). Se han demostrado numerosos efectos positivos sobre la flora intestinal del consumo de las leches fermentadas [Leporenta et al .,2001].

## 2.3 Yogurt

El yogurt es un derivado lácteo obtenido por fermentación de bacterias ácido lácticas de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* y *Streptococcus lactis ssp. thermophilus*, que presenta una estructura en forma de gel debido a la coagulación de las proteínas lácteas principalmente la caseína por acción del ácido láctico secretado durante la fermentación [Tamime ,2006], estas bacterias producen ácido láctico como principal metabolito y su metabolismo es homofermentativo, son microorganismos nutricionalmente exigente los cuales son capaces de hidrolizar los péptidos en la leche, crecen en temperaturas optimas de 42 °C – 45 °C, son anaerobias pero son anaerobios tolerantes y pueden formar colonias en presencia de aire [Parra.,2010]. El origen del yogurt se remonta al 6000 a.C. Cuando los habitantes en Asia Central, cuando comenzaron con la práctica de la ordeña en sus animales, en donde los productos lácteos fermentados incluido el yogurt, se descubrieron accidentalmente, ya que solían almacenar leche en bolsas de piel de oveja y evolucionaron durante siglos para producir diferentes variedades de yogurt con una diversidad de sabores, formas y texturas [Weerathilake et al., 2014].

La elaboración del yogurt es uno de los métodos más antiguos practicados por los seres humanos para la transformación de leche en productos con una vida útil prolongada. Este producto fermentado a través de las edades se puede atribuir a lo culinario habilidades de las personas nómadas que viven en esa parte del mundo [Tamime, 2000]. El yogurt tiene un elevado valor nutricional y es un producto muy demandado por los consumidores debido a los efectos de mejorar el ambiente

intestinal e incrementa la inmunidad del cuerpo. En recientes años, muchos investigadores han hecho varias formulaciones de yogures de diversos sabores como yogurt de cacahuete, con soya, con antioxidante, y de diversos sabores [Ming Ye et al., 2013]. Es considerado como un alimento saludable debido a su elevada digestibilidad y biodisponibilidad de nutrientes y también puede ser recomendado a personas con intolerancia a la lactosa, desordenes gastrointestinales tales como enfermedades inflamatorias del intestino e intestino irritable y pérdida de peso. [Weerathilake et al., 2014]. El yogurt está hecho con una variedad de ingredientes que incluyen leche, edulcorantes, estabilizantes, frutas, sabores y cultivos bacterianos. La leche es el principal ingrediente utilizado en la fabricación de yogurt. El proceso generalizado de elaboración de yogures comprende la modificación de la composición original de la leche, la pasteurización de la mezcla de yogurt, la fermentación a temperaturas termófilas (40-45°C), el enfriamiento y la adición de frutas y sabores [Tamime, 2000].

El yogurt se produce a partir de leche fresca con la fermentación de bacterias ácido lácticas, produciendo ácido láctico, donde la caseína se vuelve inestable y coagula hasta formar un gel firme, compuesto de hebras de micelas de caseína, con suero atrapado dentro de esta matriz, que está unida a través de enlaces de hidrógeno, formando una matriz proteica. La estructura del yogurt es el resultado del enlace disulfuro entre k-caseína y suero desnaturizado de las proteínas [Damin et al., 2009]. Los microorganismos de los cultivos iniciadores del yogurt juegan un papel importante durante la producción de yogurt, como el desarrollo de ácido láctico, el sabor y el olor ácido característico en yogurt. Los lactobacilos presentes en cultivos estárteres son: *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lb. ssp. lactis* y *Lb. Helveticus*, son bacterias son termófilas que crecen a temperaturas de 45 °C, producen ácido láctico en leche (como máximo 27 g/L-1), el tipo de ácido láctico que producen es D (-) ácido láctico [Sevilla et al., 2009].

La fermentación en el yogurt es un proceso de conservación que además de otorgarle un mayor tiempo de vida útil a los alimentos les brinda unas características sensoriales específicas y en algunos casos mayor digestibilidad y contenido nutricional, debido a la acción de los microorganismos. Los principales productos

finales en una fermentación son los responsables de la conservación de los alimentos, aunque también contribuyen al aroma, sabor y textura que en su mayoría son atribuidos a metabolitos secundarios [Damin et al.,2009]. El Yogurt a su vez, juega un papel importante en la nutrición humana debido a su valor nutricional a partir de proteínas, lactosa, calcio y vitaminas solubles en agua. Aunque es muy saludable y los efectos nutritivos son bien conocidos, la leche y sus productos son generalmente considerados como una fuente rica de componentes bioactivos [Ozturkoglu et al., 2016]. La incorporación de nuevos ingredientes como fibra, vitaminas, y calcio entre otros nutrientes, en la formulación del yogurt, cambia la estructura física y química original del gel, convirtiéndolo en un alimento funcional, por lo que es importante conocer sus efectos. Por ello la industria láctea está interesada en la incorporación de nutrientes a productos lácteos, debido al efecto benéfico sobre la salud humana; el consumo de yogurt se ha incrementado significativamente alrededor del mundo. Hoy en día, la fortificación de calcio es una práctica común, en presencia de nuevos componentes, tales como fibra y sales de calcio, la estructura del gel y otras propiedades del yogurt cambian [Aportela et al., 2005]. Aproximadamente el 85% de la producción mundial de leche se deriva de Bovinos (FAO, 2015), que es la leche más utilizada para yogurt. Los yogures de leche de vaca en proteínas están compuestos por 80% de caseínas ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2-caseínas,  $\beta$ -caseína y k-caseína) y 20% de proteína de suero formada por las cuatro principales proteínas solubles:  $\beta$ lactoglobulina ( $\beta$ -LG),  $\alpha$ -lactoalbúmina ( $\alpha$ -LA), proteína del suero sanguíneo (BSA) e inmunoglobulinas, estas proteínas representan el 50%, 20%, 10% y 10% de las proteínas de suero [Fazilah et al .,2018]. Las proteínas de suero cuando se exponen a altas temperaturas (>65 °C) pueden desnaturalizarse y coagularse irreversiblemente, a diferencia de las caseínas, que no se coagulan cuando se someten a un tratamiento de alta temperatura [Jovanovic et al., 2007].

### **2.3.1 Composición nutricional del yogurt**

El yogurt es un producto lácteo altamente nutritivo y de fácil digestión que es una rica fuente de más de diez nutrientes esenciales en particular, ciertos minerales y vitaminas. La composición nutricional del yogurt puede variar según las cepas de

cultivo iniciador utilizadas en la fermentación, el tipo de leche utilizada (leche entera, semidesnatada o desnatada), las especies que se obtiene (bovina, caprina, ovina), el tipo de sólidos lácteos, edulcorantes sólidos sin grasa, y frutas añadidas antes de la fermentación, así como la duración del proceso de fermentación [Weerathilake et al., 2014]. Por lo tanto, el yogurt es una rica fuente de proteínas lácteas, carbohidratos, minerales como calcio y fósforo, y vitaminas como riboflavina (B2), tiamina (B1), cobalamina (B12), folato (B9), niacina (B3) y vitamina R. Las proteínas lácteas disponibles en el yogurt son de alta calidad debido a su alto valor biológico y proporcionan casi todos los aminoácidos esenciales necesarios para mantener una buena salud [Ordinola et al., 2011]. El contenido de lactosa en la leche se reduce en un 20-30% durante el proceso de fermentación, ya que la lactosa se convierte en sus formas simples de glucosa y galactosa debido a la actividad metabólica de las bacterias del ácido láctico. El contenido de grasa del yogurt es altamente confiable en el contenido de grasa de la mezcla de yogurt original. De acuerdo con las especificaciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) por sus siglas en inglés, indican que el yogurt bajo en grasa y yogurt sin grasa, el contenido de grasa varía entre 0.5 a 3.25%. Las vitaminas y minerales que se encuentran en la leche y los productos lácteos están en forma biodisponible, donde están disponibles para su absorción y uso por el cuerpo. El yogurt y otros productos lácteos son una fuente excepcional de varias vitaminas B en particular, riboflavina y tiamina. El contenido de ácido fólico/ ácido fórmico del yogurt puede variar dependiendo de la composición de las bacterias del ácido láctico utilizadas, ya que algunas de las especies de BAL, como *S. thermophilus* y *Bifidobacteria*, sintetizan ciertas vitaminas, incluido el folato por sí mismas [Oliviera et al., 2002]. En la tabla 2 se pueden observar las características nutricionales del yogurt.

**Tabla 2** composición química de tres tipos de yogurt,

<i>Compuestos</i>	<i>Yogurt entero</i>	<i>Yogurt semidescremado</i>	<i>Yogurt con frutas</i>
Calorías	72	64	98
Proteínas	3.9	4.5	5.0
Grasas	3.4	1.6	.25
Carbohidratos	4.9	6.5	18.6
Calcio	145	150	176
Fosforo	114	118	153

Sodio	47	51	67
Potasio	186	192	254
Vitaminas	1.0	0.7	0.7

**Fuente:** [Vera et al,2011].

### 2.3.2 Clasificación del Yogurt.

En el mundo existen muchos tipos de yogurt y estos se puede clasificar con diversos criterios:

- Porcentaje de grasa (entero, semi o desnatado)
- Métodos de producción de gel ( sin batir, batidos , liquido)
- Aroma y sabor ( natural, con frutas, aromatizados)
- Tratamientos post-incubacion (tratados térmicamente, congelados , deshidratados o concentrados)

La legislación española clasifica a los yogures en 5 tipos, que reflejan los posibles ingredientes que puedan utilizarse: 1) natural, 2) azucarado, 3) edulcorado, 4) con frutas, zumos y/u otros productos naturales y 5) yogurt aromatizado [Ordoñez et al.,]

De acuerdo con [Tamime ,1991] el yogurt se clasifica de la siguiente manera:

**Yogurt natural:** Es el tradicional con un sabor ácido neutro es obtenido por fermentación láctica a partir de leche o de leche concentrada, desnatadas o no, o de nata, o de mezcla de dos o más de dichos productos», con o sin la adición de otros ingredientes lácteos como nata o leche en polvo, «que previamente hayan sufrido un tratamiento térmico u otro tipo de tratamiento, equivalente, al menos, a la pasteurización.

**Yogurt azucarado y edulcorado** Este tipo de yogurt es tal y como el yogur natural, pero además se le añade azúcares comestibles y edulcorantes autorizados.

**Yogurt con fruta, zumos y/u otros productos naturales:** Este tipo de yogur es el yogurt natural al que se le han añadido frutas, zumos y/o otros productos naturales. Se pueden utilizar como materias primas frutas y hortalizas (frescas, congeladas, en conserva liofilizadas o en polvo), puré de frutas, pulpa de frutas, mermelada, confitura, jarabes, zumos, miel, chocolate, cacao, frutos secos, coco, café, especias y otros alimentos procesados o no.

**Yogurt aromatizado:** Este tipo de yogur se presenta como «Yogur sabor a...» seguido del nombre de la fruta o producto al que corresponda el agente. Son yogures naturales a los que se han añadido aromas y otros ingredientes alimentarios con propiedades aromatizantes autorizados.

**Yogurt pasterizado después de la fermentación:** Este tipo de yogur también es llamado de larga conservación (dos a cuatro meses). Es el producto obtenido a partir del yogurt que, como consecuencia de la aplicación de un tratamiento térmico posterior a la fermentación equivalente a una pasterización, ha perdido la viabilidad de las bacterias lácticas específicas. Su almacenado, distribución y conservación pueden realizarse a temperatura ambiente.

De acuerdo con la **NOM-181-SCFI-2010** el yogurt se puede clasificar de acuerdo a su estructura física y a su contenido de grasa.

#### **Estructura física/consistencia.**

**Firme o clásico:** El coágulo se mantiene íntegro, con lo que su estructura es una masa continua semisólida. La coagulación de la leche se lleva a cabo en el recipiente de venta al consumidor.

**Batido:** El coágulo está roto por lo que la estructura es una masa casi líquida muy viscosa. La coagulación se realiza en depósito y, después de fermentada la leche, se rompe el coágulo antes de la refrigeración y envasados finales.

**Concentrado:** Es el yogurt de alta viscosidad, con un extracto seco inferior.

#### **Contenido en grasa**

**Normal o entero:** con más del 3% de grasa. Elaborados con leche con contenido normal de grasa. Medio o semidesnatado: entre el 0,5 y el 3% de grasa.

Elaborados con leche semidesnatada.

**Desnatado:** con un máximo de 0,5% de grasa. Elaborados con leche desnatada

**Enriquecido:** se les añade crema, aumentando así su valor energético, textura y sabor. Este es también el caso del denominado yogurt griego, enriquecido fundamentalmente en materia grasa.

### 2.3.3 Composición nutricional de tipos de yogurt

De acuerdo con la Comisión del Codex Alimentarius, el yogurt debe tener un contenido mínimo de proteína de 2.7% y un contenido máximo de grasa de 15% [Codex,2010]. Para lograr esto, las normas FAO / OMS especifican que la leche debe estandarizarse con el contenido mínimo de grasa de 8.2% y 3%, respectivamente, para la fabricación de yogurt. La composición promedio de la leche bovina está compuesta por un 4,5% de lactosa, un 3,3% de proteína, un 3,5% de grasa y un 0,7% de materia mineral. Por lo tanto, es obvio que la composición del yogurt varía según la variedad, por lo que la mezcla de yogurt debe estandarizarse de manera tal que produzca un producto final con no menos del 2.7% de proteína y menos del 15% de grasa de leche con una acidez titulable no inferior al 0,3% expresada como porcentaje de ácido láctico [Weerathilake et al., 2014]. Se agregan estabilizadores como pectina y gelatina a la mezcla de yogurt para lograr las propiedades características del yogurt, es decir, textura, sensación en la boca, apariencia, viscosidad e inhibir la separación del suero, existen diferentes tipos de este, en la tabla 3 se muestra la composición nutricional de las diferentes presentaciones de yogurt.

**Tabla 3** Composición química de diferentes tipos de yogurt

<i>Componente</i>	<i>Yogurt entero</i>	<i>Yogurt bajo en grasa</i>	<i>Yogurt bebible</i>	<i>Yogurt griego</i>
Energía (Kcal)	79	56	62	113
Proteína (g)	5.7	4.8	3.1	5.7
Carbohidratos (g)	7.4	7.4	13.1	4.8
Grasa (g)	3.0	1.0	trazas	10.2
Tiamina (mg)	0.06	0.12	0.03	0.13
Riboflavina (mg)	0.27	0.22	0.16	0.13

Vitamina B6 (mg)	0.10	0.01	0.05	0.7
Vitamina B12 (mg)	0.2	0.3	0.2	0.2
Potasio	280	228	130	184
Calcio	200	162	126	100
Fosforo	170	143	81	138

**Fuente:** [Weerathilake et al., 2014]

## 2.4 Yogurt Griego

Entre los diferentes tipos de yogurt que existen actualmente el mercado del yogurt griego es uno de los más consumidos en Europa y el resto del mundo, es conocido como yogurt concentrado, mediterráneo y popularmente como “labneh” en el Medio Oriente. Se consume como principal plato en el desayuno en muchos países del Medio Oriente, tales como Irak, Irán y el Líbano, pero también puede ser servido como un aderezo con ajo, hierbas secas (generalmente menta y perejil), pimientos rojos, o con pepino y aceite de oliva [Özer et al., 1999], el yogurt griego se remonta al año 5000 a.C., y es una variedad común en el Medio Oriente que se ha difundido en los países de Europa, y que goza de popularidad en los EEUU y México [Moreno et al., 2013]. El yogurt concentrado se obtiene mediante la eliminación de una parte de suero por medio de la filtración hasta un contenido de sólidos deseados. Además presenta un color entre blanco y crema, textura suave y un sabor ácido característico entre la crema y el queso cottage, además de tener poca producción de sinéresis [Tamime 1999]. Es un producto semisólido derivado del yogurt al drenar parte de su agua y componentes solubles en agua. El contenido total de sólidos y grasas del Labneh son típicamente de 23 a 25 g/100 g y 10g/100 g, respectivamente, y el producto se caracteriza por tener un color crema o blanco, cuerpo suave y liso, y un sabor y ligeramente ácido. Debido a su textura espesa, tiende a obtener estructuras de gel más fuerte en comparación con la de un yogurt natural [Kaaki et al., 2012].

El yogurt griego como se mencionó hay tenido gran demanda en especial en los Estados Unidos en los últimos años. El estimado de las ventas totales de yogurt griego se encuentran en el rango del 25% en el mercado, por lo que el negocio minorista de yogurt total oscila entre los USD 4 mil millones, y el mercado de yogurt

griego en más de USD 11 mil millones. Un estudio reciente del mercado en los Estados Unidos reveló que los líderes del mercado de ventas de yogurt griego fueron General Mills, Dannon, Chobani, Fage y otros, con 34, 32, 9, 4 y 22%, respectivamente [Palmer y Sakan, 2011]. Cuando el segmento de yogurt de estilo griego, los líderes del mercado fueron Chobani, Fage, Dannon, General Mills y otros, con 48, 22, 14, 5 y 10% respectivamente de cuota de mercado. Este reporte también observó que, si bien las ventas de yogures convencionales en los Estados Unidos habían madurado, el crecimiento del mercado fue impulsado completamente por la categoría de yogurt al estilo griego [Arun et al., 2013]. En México el 8.5 % de la población consume yogurt y su elaboración muestra una tasa promedio de crecimiento de 6.1 % desde 2010. En los últimos años, el consumo de yogurt griego ha aumentado y se ha establecido como un producto de alto valor nutritivo, esto debido a sus propiedades nutricionales posee un alto contenido de grasa y de proteína. En 2014, los productos estilo griego con un alto contenido de proteínas representan el 36.5% de las ventas de yogurt de los comercios minoristas [Orozco et al., 2018]. En los últimos años el consumo de yogurt griego ha aumentado esto debido a las propiedades nutricionales que posee superior a un yogurt regular, debido a que tiene un mayor contenido de proteína (mínimo 2.5 más) y 1.5 mayor concentración de minerales presentes que en la leche. De igual manera contiene un número mayor de bacterias ácido lácticas benéficas, menor contenido de lactosa debido a esto es muy beneficioso para las personas que son intolerantes a la lactosa y el contenido de grasa puede variar de acuerdo a la demandas en el mercado [Moreno,2013].

#### **2.4.1 Procesos de elaboración de yogurt griego.**

El yogurt griego es un producto semi-sólido fermentado derivado de yogurt por el drenaje de parte de su agua y componentes solubles en agua. El yogurt griego se produce tradicionalmente al colar el yogurt en una bolsa de manta hasta alcanzar el nivel deseado de sólidos totales. Sin embargo, los métodos modernos de fabricación incluyen uso de centrifugación, ultrafiltración y filtrado por gravedad (método tradicional de fabricación) [Desai,2013].

### **Centrifugación**

Se utilizan separadores para la eliminación de suero con el fin de obtener la cuajada suave en forma concentrada. Para la producción de yogurt griego este se concentra en una centrífuga de boquillas rociadoras, en la que el producto entra por la parte superior y va al fondo de la taza a través de un distribuidor y luego ingresa a los canales de discos, donde se separa en cuajada y suero. Utilizando separadores con capacidades de 1000 a 3000 kg / h (2200-6600 libras por hora). La configuración reduce a tiempos de espera largos y poca pérdida de producto [Arun et al, 2013].

### **Ultrafiltración**

Para el proceso de ultrafiltración se utilizan membranas para separar el suero del yogurt y las operaciones de membrana pueden ser por lotes o continuas utilizando temperaturas de 50 °C con el fin de minimizar crecimiento microbiano y mejorar el flujo de la membrana. El uso del procesamiento de membrana en el área de productos lácteos cultivados está restringido a concentración de leche desnatada para la fabricación de yogurt sin grasa. La lactosa y minerales se eliminan de la leche desnatada, aumentando el contenido de proteína. Este proceso puede concentrarse leche desnatada (9% de sólidos) a 12% de sólidos. Un mayor contenido de proteína en la leche concentrada da como resultado un gel ácido más firme en el yogurt. El uso del procesamiento de la membrana en el yogurt de griego consiste en concentrar la leche antes de la fabricación del yogurt o la concentración del yogurt para eliminar los sólidos del suero. Con este proceso se obtienen buenos rendimientos de producto [Arun et al, 2013].

### **Filtrado por gravedad (Método tradicional).**

Existen diferentes métodos para la fabricación del yogurt griego, tradicionalmente se elabora mediante filtración del yogurt natural por gravedad utilizando bolsas de tela, en donde se elimina gran parte del suero del yogurt natural hasta alcanzar la concentración deseada de sólidos totales, este proceso toma entre 15 - 20 horas a temperaturas menores de 10 °C. Esta separación se puede alcanzar por medio de

filtración por gravedad o bien filtración añadiéndole presión a las bolsas de tela en producciones en altos volúmenes, con la adición de presión se disminuye el tiempo de filtración hasta seis horas en el yogurt estilo griego. Este método requiere mayor mano de obra y posibles faltas de higiene durante el proceso y menores rendimientos debido a los residuos sobrantes en las bolsas de telas [Moreno.,2013]. En este proceso de elaboración del yogurt griego se obtienen grandes cantidades de suero láctico como resultado del proceso de drenaje, la producción de grandes cantidades de suero ácido ha provocado problemas económicos y ambientales. A pesar de que el suero ácido es un subproducto nutritivo, no puede ser fácilmente utilizado por la industria alimentaria debido al alto oxígeno biológico y el bajo pH (<4.5) que restringen aún más el uso de suero ácido. Además, hay regulaciones estrictas contra el uso del suero ácido de leche y se debe tener especial cuidado con su eliminación, la eliminación de suero ácido crea costos adicionales para la industria láctea. Algunas compañías destinan el suero ácido en la alimentación animal [Gyawali et al.,2016]. Así mismo la reducción de suero ácido durante la producción de yogurt podría directamente beneficiar a la industria del yogurt.

#### **2.4.2 Composición nutricional del Yogurt griego.**

El yogurt griego es un producto delicioso, aunque suele tener grandes cantidades de grasas y proteínas, y es una fuente rica de vitamina (A) ya que una porción de 150 g proporcionará una quinta parte de la ingesta diaria recomendada de vitamina (A) [Weerathilake et al, 2014].

La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos define el yogurt como "la comida producida cultivando uno" o más de los ingredientes lácteos opcionales crema, leche, leche parcialmente desnatada o leche desnatada, utilizada sola o en combinación con un cultivo bacteriano característico que contiene las

bacterias productoras de ácido láctico, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* [Desai,2013].

Por ello existen diferentes versiones de yogurt griego debido al tipo de leche que se utiliza en su elaboración y se pueden obtener yogures con mucha grasa y poca grasa, así como un valor de acidez de al menos 0.9% y 8.25% de sólidos lácteos no grasos [Desai,2013]. Tiene un aumento en el contenido de proteína antes o después de la fermentación hasta un mínimo de 5.6% en comparación con el yogurt regular, que tiene un contenido de proteína de mínimo 2,7%, aunque el yogurt griego tiene casi 2 veces más proteínas que un yogurt normal este carece de minerales como sodio, potasio, calcio y azúcar (carbohidratos). Por ello en la tabla 3 se comparan los valores nutricionales del yogurt natural y yogurt griego en una porción de 170 g.

**Tabla 4** Perfil nutricional de yogurt natural y yogurt griego.

<i>Tipo de yogurt</i>	<i>Proteínas (g)</i>	<i>Grasas (g)</i>	<i>Carbohidratos (g)</i>	<i>Colesterol (mg)</i>	<i>Sodio (mg)</i>	<i>Calcio (mg)</i>
Yogurt natural	7	9	6	55	80	320
Yogurt natural sin grasa	10	0.3	13	3	132	340
Yogurt griego natural	14	17	6	65	60	240
Yogurt griego sin grasa	17	2	7	0	68	240

**Fuente:** [Kilara et al 2013]

El yogurt griego suele ser más espeso y cremoso con una textura agradable, además de su sabor ácido, siendo estos atributos agradables al consumidor y con ello aumentado las ventas el mercado. Esto se logra debido al proceso de producción, lo que resulta la concentración de sólidos totales, principalmente proteínas y grasa, la composición del yogurt griego varía, contiene generalmente 23 - 25 g / 100 g de sólidos totales y 8 -11 g / 100 g de grasa con 1.4 – 2.8 g / 100 g de acidez. Los sólidos elevados contribuyen directamente a aumentar en el cuerpo viscoso, mientras mejora la cremosidad, y moderando el sabor ácido [Gangani et al., 2017]. También se le pueden adicionar ingredientes secos, incluidos productos, ingredientes proteicos u otros hidrocoloides, para proporcionar una mejor textura [Gyawali et al.,2016], así como reducir el suero ácido con alto ácido láctico

resultado del proceso de elaboración del yogurt y esto puede causar problemas ambientales graves a menos que se disminuyan utilizando sólidos lácteos no grasos como la proteína de la leche, concentrado en polvo o leche desnatada en polvo al inicio de la base láctea aumenta el nivel total de sólidos en el producto final.

Estas adiciones también afectan el valor nutricional y el desarrollo de la estructura, especialmente mejorar la textura, la viscosidad y sensación en la boca [Tamime,1999]. Sin embargo, aumentando los sólidos totales a más de 22 g / 100 g por adición de leche desnatada en polvo, dificulta el crecimiento de las bacterias ácido lácticas (LAB) debido al desarrollo de una mayor presión osmótica, aunque también esto se puede ver afectado por la composición de la leche, cepa bacteriana, cantidad de inóculo, temperatura y tiempo de incubación, y tiempo de enfriamiento de la leche [Gangani et al ., 2017].

## 2.5.Hidrocolóides

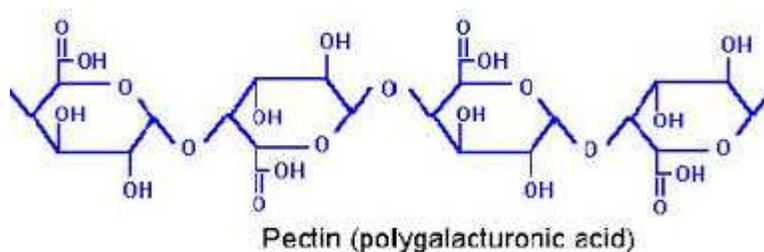
Los hidrocoloides son ampliamente utilizados en muchos productos alimenticios para mejorar calidad y vida útil. Son un grupo heterogéneo de cadena larga polímeros comúnmente utilizados para describir un rango de polisacáridos y proteínas, y se caracterizan por su capacidad para formar geles, soluciones viscosas y espesantes dispersas en agua. La presencia de una gran cantidad de grupos hidroxilos (-OH) aumenta notablemente la afinidad de los hidrocoloides al unirse con las moléculas de agua haciendo que estos hidrocoloides sean compuestos hidrofílicos [Milani et al., 2012].

Los polisacáridos y las proteínas están apropiadamente denominados "hidrocoloides" o "coloides hidrófilos" [Sanchez et al., 2014]. Las razones para usar hidrocoloides en productos lácteos son dobles debido a la unión del agua y las mejoras en textura que de lo contrario sufriría alguna alteración. En el yogurt, en particular tiene las variaciones en cuanto la viscosidad y el grado de sinéresis y se considera la producción de suero durante el almacenamiento sienta este uno de los defectos principales. Por lo tanto, los hidrocoloides (gomas y proteínas) a menudo se agrega para superar tales defectos [Gyawali et al ., 2016]. , algunos ejemplos de estos hidrocolides puede ser proteínas: suero de leche, leche en polvo, proteínas

de leche, caseinatos. Polisacáridos: alginatos, kappa-carragenina, goma xantana, goma guar, goma arábica, celulosa y pectina.

### 2.5.1 Pectina

La pectina es un polisacárido derivado del material vegetal, principalmente cáscaras de cítricos, cáscaras de manzana o remolacha azucarera y se utilizan como agente gelificante y estabilizante en muchas aplicaciones alimentarias. La pectina consiste en dos familias de polímeros, galacturonanos y ramnogalacturonanos que forman enlaces covalentes en cadenas lineales [Tasneem et al., 2014].



**Figura 3** Estructura química de la pectina

El grado de esterificación tiene un impacto importante en conformación y propiedades de solución de estos polímeros, el grado de esterificación de las pectinas se clasifican en dos categorías [Everet y McLeod., 2005]:

- Pectina baja metoxilo (LMP) que contiene menos del 50% ésteres metílicos
- Pectina de alto metoxilo (HMP) con más del 50% de ésteres metílicos

La pectina se puede aplicar como estabilizador en varios productos lácteos incluyendo el yogurt griego, particularmente para mejorar la estabilidad coloidal del yogurt. En general, una concentración de pectina 0.2 - 0.3% mejora la calidad de los atributos del yogurt como apariencia, cuerpo, textura, sabor y reducción en la separación del suero, aumento de la firmeza, prevención de la sinéresis, y vida útil extendida. También se ha encontrado que la pectina ejerce efectos prebióticos que ayudan a alimentar los probióticos y estimula su crecimiento [Sendra et al., 2008], se encontró que la adición de pectina de fibra cítrica en leches fermentada mejoraron el crecimiento y la supervivencia de las bacterias probióticas. Este efecto mejoró

que el probiótico hiciera transformación más rápida de lactosa en ácido láctico. Al agregar un estabilizador aniónico como la pectina también se ha demostrado para producir mayor capacidad de retención de agua, por lo que el uso de la pectina puede servir como un estabilizador en yogurt griego y así poder disminuir la pérdida de minerales en el producto [Sendra et al ,2008].

## 2.6 Fortificación de yogurt

Debido al proceso tradicional (filtrado por gravedad) de elaboración del yogurt griego se pierde gran parte de agua y de componentes soluble en agua como carbohidratos, minerales (sodio, potasio y calcio). Por ello se pueden agregar componentes que se pierden en el proceso a esto se le conoce como fortificación que se conoce como la adición de uno o más nutrientes a un alimento a fin de mejorar su calidad para las personas que lo consumen, en general con el objeto de reducir o controlar una carencia de nutrientes. Esta estrategia se puede aplicar en naciones o comunidades donde hay un problema o riesgos de carencia de nutrientes [Gyawali et al, 2016]. En algunos casos, la fortificación puede ser el procedimiento más fácil, económico y útil para reducir un problema de deficiencia, pero se necesita cuidado y también evitar su excesiva promoción como panacea general en el control de las carencias de nutrientes. La fortificación de los alimentos ofrece una estrategia importante para ayudar con las carencias de principales micronutrientes como yodo, vitamina A, hierro, niacina, tiamina, riboflavina, folato, vitamina C, zinc y calcio, mencionando algunos. Por lo tanto la industria láctea está interesada en procesos de fortificación en sus productos, el yogurt puede servir como vehículo ideal para el transporte de macronutrientes como el calcio debido a sus características intrínsecas de los productos fermentados, pH ácido, aumento de la viscosidad, con un estado sólido o semi-sólido, así como por su proceso de fabricación y/o conservación se modifica la aptitud para la incorporación de ingredientes funcionales [Garcia et al., 2011]. Alrededor de 227 g de yogurt contienen calcio equivalente a 30% de ingesta diaria de referencia (IDR) de 1000 mg de calcio por día para adultos en EE. UU., el Instituto de Medicina en el año 1997 recomendó 500 mg de calcio por día para niños de 1-3 años, 800 mg de calcio

por día para niños de 4 a 8 años y 1300 mg de calcio para niños de 9 a 18 años, 1000 mg por día entre 19 y 50 años y para mujeres en embarazo y el período de lactancia y 1200 mg por día. La ingesta de calcio en la dieta y su biodisponibilidad están asociados con el riesgo reducido de osteoporosis, hipertensión, colon cáncer, cálculos renales, apoplejía, obesidad, absorción de plomo y síndrome premenstrual [Gurmeet et al., 2008]. Los minerales como el calcio son sustancias orgánicas requeridas por el cuerpo para una variedad de funciones. En el hombre los minerales se encuentran entre el 4 – 15% de su peso corporal. El 50% corresponde a calcio, el 25% a fósforo y la otra parte corresponde a minerales como magnesio, sodio, potasio y cobre, entre otros. El 98% del calcio que tiene nuestro organismo se encuentra haciendo parte de los huesos, el 0,5% de los dientes y el resto se encuentra en circulación sanguínea y puede estar ligado a proteínas, en forma iónica o formando complejos con ácidos. El calcio específicamente tiene las siguientes funciones: constitución de fluidos y tejidos, regulación cardíaca, componente de los sistemas enzimáticos, conducción nerviosa, proliferación celular, estimulante de la secreción hormonal, contracción muscular, coagulación sanguínea y, la más importante, el mantenimiento de la estructura y calidad de la masa ósea. Hay evidencias científicas de beneficios adicionales del calcio en la prevención de cáncer colon rectal, la regulación de presión sanguínea y la concentración de lípidos en el suero [Valencia et al., 2011].

Por ello se ha llevado a la comercialización de alimentos y bebidas enriquecidos con calcio como los productos lácteos: helado, queso cottage, crema agria, leches fermentadas y yogurt. La biodisponibilidad de calcio del yogurt es incluso mayor que en la leche, el pH ácido del yogurt ioniza el calcio y facilita la absorción intestinal de calcio. Se adicionan sales como glutamato de calcio, caseinato de calcio y lactato de calcio para maximizar dichos beneficios en el producto [Nuñez et al., 2012]. De acuerdo con el codex alimentario establece que el valor máximo de fortificación con lactato de calcio en yogurt es de 10000 mg/kg.

### 2.6.1 Lactato de calcio

Las sales de calcio han sido ampliamente utilizadas como un aditivo en alimentos para lograr múltiples propósitos entre los que se tienen: su capacidad de interactuar con las pectinas y otros componentes de las paredes celulares de las frutas y vegetales para obtener productos firmes después de calentar, congelar o almacenar. Las sales de calcio han sido usadas para reducir el pardeamiento inducido por la enzima polifenasa y para reducir la esporulación causada por patógenos y son utilizadas para la elaboración de queso para mejorar la estructura [Valencia et al., 2011]. El lactato de calcio es una sal de calcio que suele utilizarse como conservante natural en la industria alimentaria. Se presenta como un polvo granulado de color blanco y olor suave. El lactato es la forma ionizada del ácido láctico y contiene 13% de  $\text{Ca}^{++}$  (65 mg de  $\text{Ca}^{++}$  en 500 mg) [Fernandez et al., 2012]. El lactato de calcio tiene buena solubilidad, es el más utilizado en bebidas claras a fin de conseguir los niveles necesarios para las reivindicaciones nutricionales sobre calcio. Al utilizar el lactato de calcio en altas concentraciones puede generar efectos amargos en altas concentraciones [Gerstner, 2002]. La concentración de lactatos aumenta cuando los tejidos, principalmente los musculares, tienen una demanda de energía que supera la disponibilidad de oxígeno en la sangre. El cuerpo humano produce lactato de calcio por la actividad de las bacterias presentes en el intestino grueso. Su ingesta no representa ningún peligro, por lo que no existe ningún riesgo en consumirlo [Aportela et al., 2005]. El lactato de calcio suele utilizarse en la industria alimentaria como conservante natural de hongos y levaduras, aunque también tiene aplicaciones en la fermentación de algunas frutas. También se utiliza como estabilizante de la estructura de frutas y verduras, debido a que el lactato de calcio es una sal orgánica con buenas propiedades de solubilidad se utiliza mucho en productos lácteos como: leche fortificada, bebidas fermentadas y yogurt entre otras. Comercialmente al lactato de calcio lo podemos encontrar con el código E-270 y es un regulador sintético [Fao, 2011]. El yogurt como se ha mencionado anteriormente sirve como vehículo ideal para la transportación del calcio, sin embargo la adición de estas sales pueden generar sabores indeseables para el consumidor, en la actualidad se han fabricado diversas presentaciones de yogurt y diversos sabores

agregando mermeladas sabor fresa , durazno , manzana, piña con coco estos sabores más comunes hablando de la industrialmente, pero en las últimas décadas se ha optado por procesar productos más naturales con menos azúcares y utilizando frutas de temporadas para dar un mejor aprovechamiento.

## 2.7 Pitaya (*Stenocereus stellatus*)

Las especies del género *Stenocereus* producen frutos llamados pitayas, con la característica que al madurar pierden sus espinas facilitando su comercialización y consumo [Barcnas et al., 2010]. De 22 a 24 especies del género *Stenocereus*, entre 17 a 20 se encuentran en México, y ocho de estas especies se encuentran cultivadas en el centro-sur del país. Para la región Mixteca baja se han consignado *S. pruinosus*. *Stenocereus stellatus* y *Stenocereus griseus* son especies nativas del sur de México, presentan una amplia variación morfológica y tienen uso múltiples que van desde el consumo del fruto y semilla [Luna et al., 2001].

### 2.7.1 Clasificación botánica de la pitaya

Actualmente existen diversas variedades de pitaya en nuestro país, tomando en cuenta las variantes como son el color, tamaño, grosor de la cascara, flor y la presencia y posición de las espinas, en la tabla 5, se muestra la clasificación taxonómica de la pitaya género *Stenocereus*.

**Tabla 5.** Clasificación taxonómica del género *Stenocereus*.

<i>Reino</i>	<i>Vegetal</i>
Subreino	Embriophyta
División	Angiospermae
Clase	Dicotiledoneae
Orden	Cactales
Familia	Cacteaceae
Subfamilia	Cantoideae
Tribu	Pachycereae

Subtribu	Stenocereinae
Genero	Stenocereus
Especie	Stenocereus spp

**Fuente:**[Pliego, 2009].

### 2.7.2 *Stenocereus stellatus*

La especie *Stenocereus stellatus* es una planta columnar generalmente ramificada desde su base llega a medir de 4 a 5 m de alto. Sus tallos presentan de 8 a 12 costillas rectas. Posee espinas grisáceas de 9 a 13 radicales y 3 centrales. Sus flores son de color blanco con tinte rosa, infundibuliformes miden de 5 a 6 cm de largo y nacen en las puntas de las ramas (a veces en corona). Florecen entre los meses de junio y julio [Flores et al., 2011]. Por otro lado este cactus columnar es muy resistente a la sequía el cual produce frutos comestibles llamados pitayas, los cuales representan una alternativa económica para los campesinos de la regiones semiáridas de México [Orozco et al., 2009] .A este tipo de variedad se le pueden dar nombres como xoconostle, son pequeños frutos con un diámetro de aproximadamente 3 cm, de color rojo y sabor ligeramente ácido maduran en agosto [Barcenás et al., 2010]. *Stenocereus stellatus* es una especie originaria de los estados de Morelos, Oaxaca y Puebla, se caracteriza por ser altamente endémica y micro-areal en el triángulo Tehuacán-Balsas y Tehuantepec [Flores et al., 2011].



**Figura 4** Cosecha de pitaya

### 2.7.3 Contenido químico de la pitaya (*Stenocereus stellatus*)

La demanda de frutos de cactus ha aumentado en todo el mundo debido a su delicioso sabor y a sus propiedades nutricionales. Sin embargo muchos de ellos se consumen en fresco regionalmente, no se ha realiza una caracterización total de sus nutrientes En la tabla 4 se muestra una caracterización proximal de los nutrientes de la pitaya *Stenocereus stellatus*.

**Tabla 6.** Composición química de la pitaya *Stenocereus stellatus* coloración morada.

<i>Componentes</i>	<i>%</i>
Humedad	86.65±0.13
Cenizas	0.55±0.00
Proteínas	1.30±0.02
Lípidos	0.47±0.08
Fibra cruda	1.39±0.00
Carbohidratos	9.5±0.02

**Fuente:** [Pérez et al., 2016].

### 2.7.4 Principales estados productores de pitaya en México

En la actualidad existe el interés comercial por los frutos que se obtienen de los cactus columnares tanto para mercados nacionales como internacionales, tal es el caso de la frutas conocidas regionalmente como pitayas es un nombre genérico que se le da a las especies de los cactus Mexicanos, tales como *Stenocereus griseus* y *Stenocereus stellatus* que se producen en Oaxaca y Puebla, *Stenocereus queretaroensis* en Querétaro, Jalisco y Michoacán [Suárez et al., 2007]. En México, el género *Stenocereus* está representado por aproximadamente 19 especies distribuidas desde la península de Baja California, pasando por la cuenca del pacifico al estado de Chiapas, y a lo largo de la Cuenca del Golfo desde Tamaulipas hasta Veracruz [Orozco et al., 2009]. *Stenocereus*, conocida como pitaya agria, crece de manera natural en México en los estados de Oaxaca, Puebla, Querétaro, actualmente se comercializa en los estados de Oaxaca, Puebla, Morelos Jalisco, Michoacán Guerrero, Querétaro, Guanajuato y Nayarit. *Stenocereus stellatus* se produce en la región del Sur de la Mixteca Baja tanto de Oaxaca como de Puebla

[Pliego, 2009]. En la región de la Mixteca Baja, se encuentran tres especies de pitayo; *S. griseus* (pitaya de mayo) seguida *S. stellatus* y *S. pruinosis* (copetla). La Mixteca Baja es la segunda región productora del país y abarca los estados de Oaxaca y Puebla figur [Martínez et al., 2011]. Por lo que existe una gran producción de este fruto, ya que puede servir como materia prima para adicionar algún producto.

En algunos países como México, pitaya se consume solo como fruta fresca; sin embargo, puede procesarse para alimentos como mermeladas, pulpa congelada, bebidas y helados. En algunas áreas de México, una bebida alcohólica, llamada 'ponche', es tradicionalmente hecho usando frutas poco maduras mezcladas con azúcar y mezcal. La fruta fresca de pitaya es muy apreciada en frutas exóticas mercados; sin embargo, su corta vida útil presenta un desafío para tratamientos poscosecha. No solo hay propuestas para el consumo y utilización industrial de la pulpa pero también diseños innovadores para incluir la piel pitaya o residuos productos nuevos, apoyando así a los productores locales. A pesar de los esfuerzos, el pitaya todavía se comercializa principalmente en y los mercados locales solo como fruta fresca, pero el antioxidante los compuestos son una excelente oportunidad para su el desarrollo como un alimento funcional en el mercado internacional. El uso de la pulpa se puede transformar en mermeladas para aplicar en yogurt otorgando un color y sabor característico, así mismo el yogurt puede ser un vehículo ideal para el transporte de probióticos que son microorganismo que ejercen un amplio beneficio a la salud y el yogurt es un alimento con las características adecuadas para la adición de dichos organismos vivos como lo son las bacterias ácido lácticas.

## 2.8 Probióticos

Las bacterias en los géneros de bacterias ácido lácticas (LAB) se clasifican por su morfología celular y por la vía de fermentación utilizada para fermentar la glucosa. Estos microorganismos podemos encontrarlos en diferentes alimentos fermentados tradicionales así como también podemos encontrarlos en el proceso de fermentación controlada [Rivera et al., 2010]. El consumo regular de

microrganismos probióticos está asociado con la regulación de la función intestinal, la mejora de la digestión de la lactosa, la estimulación del sistema inmune y la inhibición de patógenos [Maia et al., 2013].

Los probióticos son microorganismos vivos que confieren un beneficio a la salud del huésped cuando se suministra en cantidades adecuadas, el término “probióticos” fue introducido por primera vez en 1965 por Lilly y Stillwell; a diferencia de los antibióticos, los prebióticos fueron definidos como factores de origen microbiano que estimulan la proliferación de otros organismo y en 1989, Roy Fuller destacó el hecho que para considerarse probiótico, el microorganismo en cuestión debía estar presente en estado viable, e introdujo la idea de su efecto beneficioso sobre el huésped [WGO,2011].

Los probióticos son microbios vivos que pueden agregarse a la fórmula de muchos diferentes tipos de productos, incluyendo alimentos, medicamentos y suplementos dietéticos. Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las usadas más frecuentemente como probióticos, pero la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y algunas especies de *E. coli* y *Bacillus* también son utilizadas como probióticos.

Las bacterias ácido lácticas, entre las que se incluye la especie *Lactobacillus* que ha sido utilizadas para la conservación de alimentos por fermentación durante miles de años, pueden tener una doble función, actuando como agentes para la fermentación de alimentos y además potencialmente confiriendo beneficios a la salud. En términos estrictos, sin embargo, el término “probiótico” debería reservarse para los microbios vivos que en estudios controlados en humanos han demostrado conferir beneficios a la salud. La fermentación de alimentos ofrece perfiles de sabor característicos y reduce el pH, lo que impide la contaminación con posibles patógenos [Fernández et al 2015]. La fermentación se aplica en todo el mundo para la preservación de una serie de productos agrícolas sin procesar (cereales, raíces, tubérculos, frutas y hortalizas, leche, carne, pescado, etc.). La aplicación tecnológica de organismos probióticos en los productos lácteos fermentados tiene como objetivo combinar los beneficios potenciales para la salud de la bacteria con su habilidad para crecer en la leche, lo que resulta en una nutrición saludable y producto deseable para los consumidores. Una amplia variedad de especies y

géneros podrían se considerarán probióticos potenciales y las especies / subespecies más relevantes se agregarán con éxito en alimentos (particularmente al queso) incluyen especies del género *Lactobacillus* (*Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. casei ssp. rhamnosus*, *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii ssp. lactis*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*), y del género *Bifidobacterium* (*B. animalis*, *B. animalis ssp. lactis*, *B. infantis*, *B. longum*). Entre estos, *B. animalis* subsp. *lactis* y *Lb. reuteri* son los más propuestos para ser utilizados en la comida. El *B. animalis* es una especie con una buena tolerancia al oxígeno y ambientes ácidos y supervivencia prolongada en productos lácteos fermentados durante el almacenamiento. *Lactobacillus. reuteri* es una bacteria prometedora, en términos de rasgos probióticos, capaz de competir con algunos patógenos, para ejercer algunos beneficios para el anfitrión, para realizar una buena colonización, y para producir potentes moléculas antimicrobianas [Speranza et al.,2017]. Los productos lácteos, principalmente productos de leche fermentada, pueden complementarse con éxito con ambos prebióticos y probióticos, debido a su estructura cohesiva, pH y contenido de grasa, que protegen probióticos durante el paso a través del tracto gastrointestinal [Cruz et al., 2009]. Los productos lácteos pueden agruparse en categorías diferentes: yogurt, suero de leche, crema de leche, crema agria, leche de copos, koumiss, kéfir y quesos. Por lo tanto, aparte de declaraciones de propiedades saludables, cepas probióticas destinadas para uso en productos lácteos fermentadas debe ser seleccionado sobre la base de su efecto global en los productos [Fernández et al., 2015], en la tabla 6 se muestra las diferentes bacterias probioticas utilizadas en productos fermentados.

**Tabla 7** Diferentes tipos de bacterias probióticos.

<i>Lactobacillos</i>	<i>Cocos Gram positivos</i>	<i>Bifidobacterias</i>	<i>Levaduras</i>
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>B. adolescentes</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Lb. reuteri</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>B. animalis</i>	
<i>Lb. brevis</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>	<i>B. longum</i>	
<i>Lb. curvatus</i>		<i>B. thermophilus</i>	
<i>Lb. plantarum</i>			

**Fuente:** [Rodriguez, 2016].

Se han aplicado muchos métodos para mejorar supervivencia de cepas probióticas durante la fabricación y almacenamiento de leches fermentadas, y en particular yogurt, utilizando cepas que ejerzan por sí misma un espectro antibacteriano con el fin de alargar la vida de anaquel del yogurt entre estas bacterias podemos encontrar al *Lactobacillus reuteri*.

## 2.9 *Lactobacillus reuteri*

*Lactobacillus reuteri* es una bacteria mesófila (37 °C) Gram positiva que reside en el tracto gastrointestinal de humanos, así como cerdos, aves de corral y otros animales [Tobajas et al,2007]. Fue descrita por primera vez a principios de 1980 por Gerhard Reuter identificó a *Lb. reuteri*, se aislaron en el yeyuno y heces de humano y se identificó un organismo originalmente denominado como un *Lactobacillus fermentum* pasó a llamarse *Lb. reuteri* [Britton et al,2017], eligieron el nombre de la especie "reuteri", en honor a su descubridor [Casas et al,2000]. Las células de Reuteri son varillas dobladas, ligeramente irregulares, con extremos redondeados, generalmente 0.7 -1.0 × 2.0-3.0 mm de tamaño, ocurriendo individualmente, en parejas y en pequeños racimos con un crecimiento en 37°C. [Britton et al.,2017].

La fisiología del *Lb. reuteri* entran en uno de tres grupos basados en el tipo de vía metabólica utilizada para fermentar carbohidratos [Casas et al.,2000].

1°.- Homofermentativo este grupo poseen una fructosa difosfato (FDP) y una aldolasa , vía que dicta una conversión glucolítica de azúcares principalmente en ácido láctico en este grupo podemos encontrar : *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. helveticus*, *Lb. salivarius*).

2°.- Heterofermentativo en este grupo puede usar fructosa difosfato y una aldolasa, vía para fermentar ciertos azúcares, o vía fosfocetolasa para fermentar otros azúcares en este grupo podemos encontrar: *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus*

3°.- Heterofermentativo obligado este grupo solo tiene una fosfocetolasa para fermentar los azucares en este grupo podemos encontrar: *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. fermentum*, ***Lb. reuteri***.

El *Lactobacillus reuteri* también lo podemos encontrar con frecuencia en alimentos lácteos fermentados, es utilizado como un suplemento alimenticio y es ampliamente utilizado para mejorar la salud gastrointestinal y se le ha otorgado la presunción calificada de seguridad (QPS) de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) [Langa et al,2013]. Se ha demostrado que determinadas cepas de *Lb. reuteri* intervienen en la prevención y/o tratamiento de distintas patologías, como son los trastornos funcionales digestivos, distintos tipos de diarrea, enfermedad inflamatoria intestinal, se ha descrito que la ingesta diaria de *Lb. reuteri* ATCC 55730 disminuía el riesgo de contraer enfermedades relacionadas con el tracto gastrointestinal en un 60% de individuos sanos y en un 70% en niños tras su adición en fórmulas infantiles comparándolo con un placebo, reduciéndose los episodios y duración de la diarrea [Cabrejas et al.,2017], este efecto podría deberse a la inhibición competitiva por la adherencia de las bacterias, síntesis de compuestos antimicrobianos, competición por el consumo de nutrientes, estimulación de la respuesta inmune frente a patógenos o reducción del pH. También se han encontrado propiedades anti inflamatorias por parte de *Lb. reuteri*. [Cabrejas et al.,2017]. Las células en reposo de *Lb. reuteri* tiene la capacidad de convertir el glicerol en una sustancia de amplio espectro antimicrobiano, denominada reuterina. La reuterina es una sustancia neutra, soluble en agua, de naturaleza aldehídica, resistente a enzimas proteolíticas y lipolíticas, es capaz de inhibir microorganismos incluyendo Gram positivos y Gram negativos, bacterias, levaduras y hongos y es producida por *Lb. reuteri* durante el metabolismo anaeróbico del glicerol [Langa et al,2013]. Fue originalmente descrita en el laboratorio Dobrogosz a fines de la década de 1980, se demostró que una cepa porcina produce un compuesto en presencia de glicerol puede inhibir el crecimiento bacterias, hongos y protozoos e inactivar virus [Britton et al,2017]. La reuterina es identificada como 3-hidroxi propionaldehído (3-HPA) y es un intermedio en la conversión de glicerol a 1,3-propanodiol, el glicerol es primero convertido a 3-HPA por la enzima dependiente de la vitamina B12 glicerol deshidratasa, que se reduce aún más a 1,3-propanodiol, este último utiliza NADH y regenera NAD, que ha sido propuesto como

un posible mecanismo por el cual *Lb. reuteri* puede restablecer su estado redox para favorecer la glucólisis [Santos et al., 2008].

El deterioro microbiológico es un problema significativo en términos de vida útil y aceptabilidad de productos crudos y procesados y es un contribuyente clave para el desperdicio de los alimentos. Uno de los enfoques utilizados para prevenir el crecimiento de microorganismos no deseados en los alimentos es el uso de cultivos protectores vivos, como bacterias ácido lácticas entre ellas el *Lactobacillus reuteri* que sirven como sistema de preservación alimentarios formados por cepas de *Lactobacillus reuteri* productoras de reuterina acopladas con glicerol (que se requiere para la producción de reuterina para producir reuterina en *in Situ* fueron descritos por primera vez por Langa et al. (2013) para sistemas modelo yogur y queso.

### 2.9.1 Reuterina

La reuterina o 3-hidroxi propionaldehído (3-HPA) es una sustancia neutra, soluble en agua y de naturaleza aldehídica producida por *Lb. reuteri* durante el metabolismo anaeróbico del glicerol [Vollenweider et al., 2010]. Estudios sobre la estructura del 3-HPA revelaron que disuelto en agua se encuentra en un equilibrio compuesto por tres estructuras: monomérica, monomérica hidratada y dimérica cíclica (Sistema HPA)[Talarico y Dobrogosz, 1989]. La masa molecular de la reuterina es de 74,08 g/mol, mediante resonancia magnética nuclear ( $^{13}\text{C}$  RMN). La reuterina es efectiva en un amplio intervalo de pH (de 2 a 8), mostrándose más estable a pH ácido, mientras que a pH 11 se degrada inmediata e irreversiblemente. La concentración de reuterina es otro de los actores que influyen en su estabilidad. Según Vollenweider et al., [2003], cuando la concentración de reuterina es superior a 4,9 M la forma que predomina es el dímero y cuando la concentración baja de 1,4M predomina el HPA hidratado, forma que prevalece a concentraciones bajas, incluso menores de 0,03 M, que son las empleadas en la mayoría de las investigaciones en las que la reuterina se utiliza como antimicrobiano. Además del pH y la concentración de reuterina presente en el medio, la temperatura es otro factor que

influye en la estabilidad del 3-HPA [Doleyres et al., 2005]. La reuterina puede deshidratarse a acroleína en condiciones de temperatura elevadas, siendo mayor esta conversión cuánto mayor es el aumento en la temperatura. Su almacenamiento de 20 °C durante 7 días en stocks de 0,9-1,4 M no genera cambios químicos en su estructura y lo mismo sucede durante 150 d a 4 °C. Tampoco se observaron cambios en la actividad de la reuterina disuelta en agua a una concentración de 20 mM con un pH de 4,7 durante tres años a 4 °C [Lüthi-Peng et al., 2002].

La reuterina es activa frente a numerosos microorganismos patógenos y alterantes asociados a alimentos. Por sus características, se ha propuesto como bioconservante en la mejora de la calidad y seguridad de alimentos [Langa et al.,2013]. La reuterina (3-HPA) es un metabolito intermedio en la ruta de reducción del glicerol, intracelular es convertido a 3-hidroxi propionaldehído (3-HPA) por una deshidratasa dependiente de la coenzima B12, posteriormente, 3- HPA se reduce a 1,3-propanodiol (PDL) por un dependiente de NAD<sup>+</sup> oxidoreductasa, durante la utilización anaeróbica de glicerol, el *Lb. reuteri* únicamente excreta 3-HPA y 1,3-PDL en la fermentación del medio [Tobajas et al,2007]

El sistema 3-HPA fue primero aislado, purificado y identificado como una mezcla de equilibrio monomérico (b-HPA), hidratado monomérico (HPA-hidrato) y cíclico dimérico (HPA-dímero) formas de HPA, recientemente se ha demostrado que la forma aldehídica de reuterina es la bioactividad agente que causa una respuesta de estrés oxidativo al modificar el tiol en grupos de proteínas y moléculas pequeñas (Langa et al,2013).

En la actualidad la reuterina ha sido propuesta como un potencial aditivo alimentario para prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos y de deterioro. Sin embargo, la eficacia de la reuterina en los alimentos se puede limitar por principal factores ambientales tales como temperatura, pH y sal, y específicos. Se ha descrito que la reuterina mantiene su actividad a pH bajo, altas concentraciones de NaCl y también en temperaturas de refrigeración (Langa et al.,2013). La reuterina es efectiva en un amplio intervalo de pH (de 2 a 8), mostrándose más estable a pH ácido, mientras que a pH 11 se degrada inmediata e irreversiblemente, el uso de

reuterina para control de patógenos Gram-positivos y Gram-negativos ha sido investigado en leche, productos lácteos, productos cárnicos y en jugos.

En la mayoría de los estudios se ha demostrado que la reuterina tiene una mayor actividad antimicrobiana en Gram-negativo que en bacterias patógenas Gram-positivas [Arques et al, 2011].

El uso de antimicrobianos naturales en la industria alimentaria puede ayudar a reducir la adición de conservantes químicos, ofreciendo una alternativa para satisfacer la creciente demanda de alimentos naturales, alimentos listos para el consumo, mínimamente procesados y también para desarrollar nuevos productos alimenticios. Sin embargo, el producto químico y propiedades físicas de un alimento como el pH, enzimas, la grasa y los aditivos pueden limitar la actividad antimicrobiana de compuestos naturales [Arques et al, 2011]. En algunas Investigaciones se han estudiado los efectos sinérgicos de la acción combinada de conservantes naturales para aumentar la letalidad microbiana podría lograr una mejora en el nivel de seguridad del producto.

La adición directa de reuterina para controlar los patógenos transmitidos por los alimentos tales como *Salmonella sp.*, *Escherichia coli O157: H7*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* ha sido investigado en leche y productos lácteos [Arques et al, 2011].). Aunque la reuterina como conservante de alimentos no está legislado, la aplicación de *L.b reuteri* más glicerol (registrado como aditivo alimentario E 422) para la producción de reuterina in situ durante la fabricación y el almacenamiento de productos alimenticios es una alternativa para la adición de reuterina en los alimentos.



# **ANTECEDENTES**

### 3. ANTECEDENTES

**Gurmeet Singh., (2008)**, Evaluó y elaboró un yogurt de mango enriquecido con calcio con una mezcla de 50 mg Ca / 100 mL de lactato de calcio, este nivel se seleccionó mediante un estudio preliminar de evaluación sensorial. La Fortificación de yogurt con lactato de calcio aumentó significativamente la capacidad de retención de agua (WHC) en 2.99% el primer día de almacenamiento. Las curvas de flujo y viscosidad aparente final mostraron que el yogurt de fruta enriquecido con calcio tenía estructuras más fuertes y mostró menos comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento en comparación con el control. Además, las mediciones de viscosidad aparente a la tasa de cizallamiento mostraron una disminución significativa, menos en la viscosidad aparente inicial en el yogurt de frutas fortificado con calcio. Sin embargo, no se observó una diferencia significativa, en los valores del control y el yogurt de frutas fortificado con calcio que indicaba una relación similar y en los enlaces implicados en la formación de la estructura del gel de ambas muestras de yogurt. La estructura más firme se encontró en el yogurt de fruta fortificada con calcio y se le atribuye a la mayor extensión de la reticulación del fosfato de calcio coloidal entre las micelas de caseína debido al aumento contenido de calcio por fortificación. Además, las características de sabor, color, cuerpo y textura del control y el yogurt de fruta fortificado con calcio no mostraron diferencia significativa.

**Bong., (2014)**. Desarrollo y optimizó un proceso alternativo de elaboración de yogurt estilo griego (GSY), en donde se alcanzó el nivel deseado de proteína mediante la fortificación con concentrado de caseína micelar (MCC), obtenido a partir de la microfiltración de la leche. Utilizó dos concentraciones de MCC al 58 y 88% de proteína total para enriquecer la leche, alcanzando 9.80% (p/p) de proteína. El filtrado de GSY de contenido proteico similar fue utilizado como control. Las leches bases para el yogurt se inocularon con 0.02% (p/p) y 0.04%(p/p) de cultivo iniciador para fermentar hasta que se obtuvo un pH de 4.5. El GYS fortificado con MCC tuvo una acidificación más rápida en comparación con la muestra control,

independientemente del nivel de inoculación, y se atribuyó a la mayor cantidad de nitrógeno no proteico contenido en la leche fortificada con MCC. La frecuencia constante de cizallamiento en el análisis reológico mostró un adelgazamiento para todas las muestras de GSY que se ajustaban con el modelo de ley de la potencia. El análisis reológico dinámico a 5°C mostró una dependencia débil de frecuencia del módulo elástico ( $G'$ ) y el módulo viscoso ( $G''$ ) para todas las muestras GYS, con  $G' > G''$ , lo que indica una estructura de gel débil. Se encontraron diferencias en la magnitud de los parámetros viscoelásticos entre los 2 tipos de GYS, se encontraron, con  $G'$  de MCC-fortificado y GSY  $< G''$  de control, lo que indica un diferente grado de interacciones de proteínas en los 2 tipos de yogurt. También se notaron diferencias en la capacidad de retención de agua, que fue menor para el GSY fortificado por MCC en comparación con el control, atribuido al menor contenido de suero en el primero. A pesar de algunas diferencias en las características fisicoquímicas del producto final en comparación con GSY fabricado tradicional, el proceso alternativo desarrollado aquí es factible y es una alternativa al proceso tradicional de fabricación GSY, con beneficios ambientales y posiblemente financieros a la industria láctea.

**Ortiz Rivera., (2016)** Evaluó la actividad antimicrobiana de reuterina producida en una solución acuosa de glicerol en forma in vitro a partir de la cepa de *Lactobacillus reuteri* ATTC 53608 como parte un producto lácteo fermentado con cultivo iniciadores de (*Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*), para la inhibición (*Penicillium expansum*) de patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* entérica ssp y *Listeria monocytogenes*) y sustituto de patógeno, el microorganismo de (*Echerichia coli* DH5 $\alpha$ ). También evaluó la influencia de la temperatura de almacenamiento en 28 días a 4°C, de reuterina, color y la reología del producto fermentado respectivamente. Se obtuvieron concentraciones máximas de reuterina de 107.5 y 33.97 mM en solución acuosa de glicerol y el producto lácteo fermentado respectivamente. La reuterina permaneció estable en su periodo de vida en refrigeración. Los microorganismos Gram positivos fueron más resistentes a la reuterina en comparación con los

microorganismos Gram negativos. *Penicillium expansum* y *Lactobacillus reuteri* ATCC 53608, sobrevivieron a concentraciones de 10 y 8.5 mM respectivamente. *Echerichia coli* DHA5 $\alpha$  fue más sensible en reuterina a una concentración de 0.9 mM. La presencia de reuterina no tiene cambios relevantes en los parámetros de calidad del producto lácteo fermentado, incluyendo pH, acidez, solubilidad en sólidos, color y aspectos reológicos (almacenamiento, pérdida de módulos y viscosidad). El estudio demostró la viabilidad usando *Lactobacillus reuteri* ATCC 53608 como biopreservativo en un producto lácteo fermentado mediante la síntesis de reuterina, sin modificar drásticamente los parámetros de calidad.

# **JUSTIFICACIÓN**

## 4. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se han adquirido malos hábitos de alimentación debido al estilo de vida tan agitado que se ha adoptado en estos tiempos y al fácil acceso de comida rápida con poco valor nutricional, causando un deterioro en el organismo, y esto conlleva al desarrollo de enfermedades crónicas como la osteoporosis, gastritis, cáncer de colon, obesidad entre otras. Estas enfermedades se pueden desarrollar por la baja ingesta de nutrientes, como se mencionó actualmente la tendencia al consumo exagerado de carbohidratos y grasas que se encuentran disponibles en las comidas listas para consumir han ganado gran popularidad, por ello la industria alimentaria se está enfocando en desarrollar alimentos que aporten un beneficio a la salud y también que este elaborado con ingredientes naturales disminuyendo el uso de aditivos y conservadores. Esta gama de alimentos es conocida como alimentos funcionales y dentro de estos productos podemos encontrar los productos lácteos fermentados como es el yogurt, el cual es vehículo ideal para el transporte de macronutrientes, el yogurt se puede encontrar en diversas presentaciones como yogurt firme o clásico, yogurt batido o bebible y yogurt concentrado también conocido como yogurt griego, este último ha ganado gran popularidad en su consumo y estos es debido a sus atributos ya que un yogurt con una consistencia más cremosa, un sabor ácido y con un buen valor nutricional en especial por su contenido alto de proteínas. Sin embargo en el proceso tradicional (filtrado por gravedad) de elaboración de yogurt griego se llegan a producir grandes cantidades de suero láctico las cuales se desechan o se ocupan para alimento de ganado. Al elaborar este tipo de productos como es el yogurt, se ven beneficiados los productores locales de leche y productores de pitaya del municipio de Totoltepec de Guerrero Pue. Ya que con la adición de conservas de frutas temporada como es la pitaya la cual se encuentra disponible en diferentes tonalidades, es una fuente rica en antioxidantes y betalaínas, aparte de tener un sabor muy agradable, aunque su vida de anaquel de este fruto es corta debido a su alto contenido de humedad, por lo tanto existe una pérdida económica de los productores de pitaya. Por ello se pretende elaborar un producto en donde se ocupen ambas materias primas y

generar ingresos extras a los productos, por lo tanto el objetivo del presente proyecto es la elaboración de un yogurt griego, adicionado con *Lb. reuteri*, fortificado con calcio y saborizado con pitaya (*Stenocerreus stellatus*).

## **OBJETIVOS**

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

Elaborar un yogurt griego bajo en grasa sabor pitaya (*Stenocereus stellatus*), fortificado con calcio y adicionado con *Lactobacillus reuteri* y evaluar sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensorial.

### 5.2 Objetivos Específicos

1. Elaborar un yogurt griego bajo en grasa utilizando leche comercial y leche fresca pasteurizada, fortificado con calcio y adicionado con *Lb. reuteri* para evaluar sus propiedades tecnofunconales (sinéresis, pH, acidez) y seleccionar las mejores condiciones.
2. Evaluar la viabilidad del *Lactobacillus reuteri* durante el tiempo de almacenamiento en yogurt griego con y sin mermelada de pitaya y seleccionar el mejor tratamiento con la mejor viabilidad probiótica.
3. Realizar una evaluación sensorial para seleccionar los mejores tratamientos y a los mejores tratamientos determinar su análisis químico proximal
4. Determinar las propiedades físicas de las mejores formulaciones de yogurt griego
5. Determinar el contenido de calcio en las muestras de yogurt griego
6. Evaluar el contenido de reuterina producida en el yogurt griego



# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Materiales

- Pitaya (*Stenocereus Stellatus*) del municipio de Totoltepec de Guerrero, Puebla, en periodo de agosto-septiembre.
- La leche bronca de vaca donada por el rancho ChesCris ubicado en el ejido de Miztlan, Loma bonita, Veracruz., la fecha de recolección de leche fue en el periodo de septiembre-noviembre.
- Leche pasteurizada ajustada al (1.5%) de grasa, leche comercial baja en grasa, Lactato de calcio de grado alimentario, pectina grado alimentario, leche en polvo comercial baja en grasa (1.5%) como solidos totales, cultivo liofilizado de la serie JOINTEC (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruecki ssp. Bulgaricus*).
- *Lactobacillus reuteri* NRRL 1417 donada por el Instituto Tecnológico de Veracruz.

### 6.2 Obtención de las materias primas

#### 6.2.1 Recolección de pitaya (*Stenocereus stellatus*)

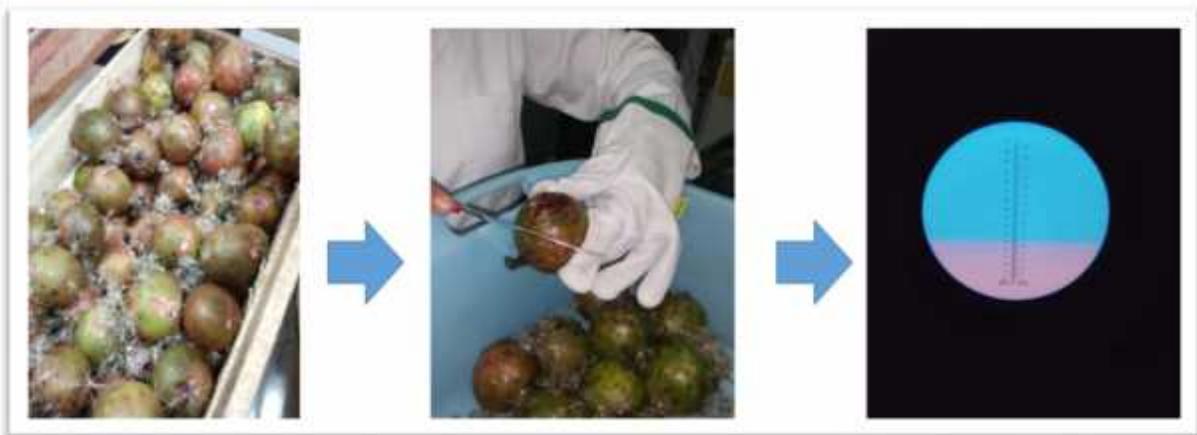
La pitaya fue cortada en los huertos del municipio de Totoltepec de Guerrero Puebla, se escogieron los frutos en tonalidad purpura-morada, los frutos obtenidos se empacaron en rejas de madera y se protegieron con tela maya, para posteriormente ser trasladados al laboratorio de desarrollo de nuevos productos ubicado en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Tuxtepec (figura 5).



**Figura5.** Recolección de *Stenocereus stellatus*.

### 6.2.2 Selección de frutos de pitaya

Para la selección de frutos se procedió a retirar las espinas utilizando guantes de carnaza, con la finalidad de evitar cualquier lesión en las manos, se seleccionaron los frutos que estaban entre los 8-10 °Bx, para lo cual se utilizó 1 g de muestra y se colocó en el refractómetro marca Atago® y se determinó la lectura.(figura 6)



**Figura6.** Separación manual de espina y selección de acuerdo con el ° Bx

### 6.2.3 Lavado del fruto

La pitaya fue lavada en contenedores de acero inoxidable que contenía una mezcla de solución clorada al 1%, (Ver figura 7).



**Figura 7** Lavado de del fruto

#### 6.2.4 Obtención de la pulpa de pitaya

La pulpa se obtuvo cortando la pitaya por mitad, retirándole la cascara y posteriormente se colocaron en las bolsas para sellar al vacío (Food Saver) inmediatamente después se procedió a sellarlas utilizando una selladora al vacío marca ORVD® modelo VM-16 .



**Figura 8** Obtención de la pulpa de pitaya y empackado al vacío

#### 6.2.5 Escaldado

Las bolsas de pulpa de pitaya obtenidas y selladas al vacío, se sometieron a un proceso de escaldado, utilizando un autoclave marca Geo-Lab® modelo 318, alcanzando una temperatura de 100°C, 15 lb, por un periodo 10 minutos (ver figura), terminando este proceso de escaldado se disminuye inmediatamente la temperatura con agua con hielo para favorecer el choque térmico.

### 6.2.6 Almacenamiento de la pulpa

La pulpa obtenida se almacena a temperaturas de congelación en una nevera marca TORO REY® aproximadamente de -18°C, hasta su utilización (ver figura 9).

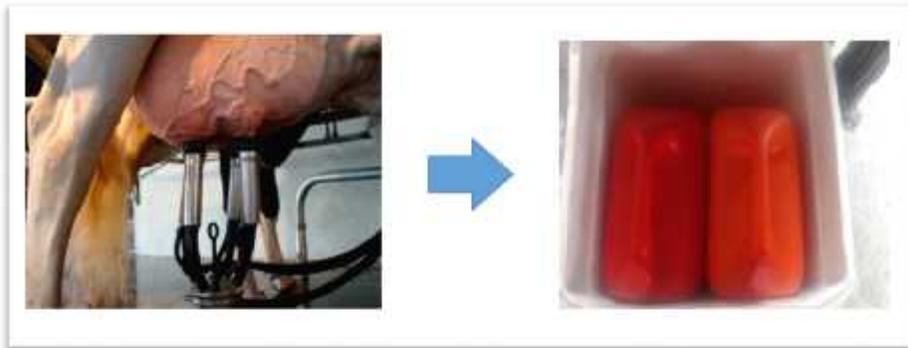


**Figura 9** Almacenamiento de la pulpa de pitaya

## 6.3 Obtención y conservación de la leche

### 6.3.1 Obtención de la leche

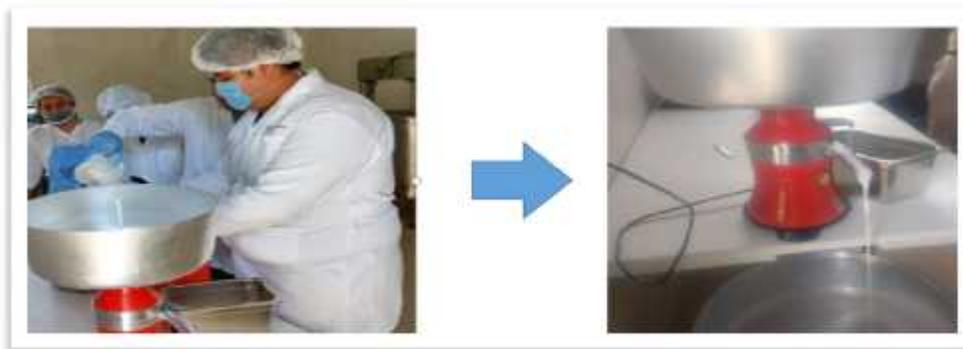
La leche de vaca se obtuvo en el rancho Chescriis ubicado en el ejido de Mixtlan, Loma Bonita Oaxaca. La leche se recolectó en bidones de plástico con capacidad de 15 L. Se mantuvieron en temperaturas de refrigeración utilizando hielo y una nevera.



**Figura 9** Ordeña y recolección de la leche

### 6.3.2 Desnatado y estandarización de la leche

Se procedió hacer el proceso de desnatado de la leche utilizando un desnatadora marca SEPARTOR (Motor-shic100) con el fin de ajustar el contenido de grasa al 1.5%. Se desnataron 10 L de leche bronca recién ordeñada y se ajustó a 1.5% de grasa utilizando el cuadro de PEARSON , para realizar dicho ajuste.



**Figura10** Proceso de desnatado de la leche.

### 6.3.3 Pasteurización de la leche

La leche se sometió a un proceso de pasteurización, en ollas de acero inoxidable y se calentó a baño María a una temperatura de 83°C por 30 minutos, transcurrido el tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente y se almacenó en bidones de plástico y se conservó a temperatura de refrigeración hasta su uso en un período no máximo de 7 d.



**Figura 11** Pasteurización de leche bronca

## 6.4 Producción de *Lactobacillus reuteri*

### 6.4.1 Activación *Lactobacillus reuteri*

En la activación del *Lb. reuteri* se prepararon tubos con 9 mL de medio MRS (Man, Rogosa y Sharpe) (ver anexo), previamente esterilizados (120°C, 15lb, 15 min), se procedió a inocular lo tubos con agar MRS en posición vertical, utilizandodos 2 azadas de *L. reuteri*, las azadas se distribuyeron en estría en agar MRS, ver figura 12, los tubos obtenidos se incubaron a 37°C en anaerobiosis por un tiempo de 18 h. Se toman 2 o 3 tubos como reserva para su próxima activación y se almacenaron en refrigeración.



**Figura 12** Actuvación del *Lactobacillus reuteri*.

Una vez obtenidos los tubos con *Lb. reuteri*, se le adicionó 1 mL de agua destilada estéril, con el fin de propagar las células probióticas, este mililitro se pasó a un segundo tubo que contenía 9 mL de caldo MRS, (figura 13) se incubó por 12 h en las mismas condiciones antes mencionadas y este tubo se codifico como T1, y se tomó 1 mL el cual se adiciono a otro tubo con caldo MRS y se incubo por 10 h , se codifico con T2, de este tubo nuevamente se tomó un mililitro y se pasó a otros tubos con 9 mL de caldo MRS, se inocularon por 8 h, estos tubos se codificaron como T3 y se reservaron para su propagación.



**Figura 13** Activación de *Lb.reuteri*

#### 6.4.2 Propagación de *L. reuteri*

De los tubos obtenidos codificados como T3 se utilizó 1 mL por cada 100 mL de caldo MRS en matraces Erlenmeyer previamente esterilizados (120°C, 15 lb, 15 min), se incubaron a 37°C en anaerobiosis por 18 h.



**Figura 14** Propagación de *L. reuteri*

### 6.4.3 Obtención del paquete celular

Para la obtención del paquete celular (Pellets), el medio MRS obtenido en la propagación del *Lb. reuteri* se vació en tubos cónicos y se centrifugaron a 3000 g x 15 minutos a una temperatura de 4 °C usando una centrifuga refrigerada marca Rotina® 310, los pellets obtenidos se lavaron 2 veces con una solución reguladora de fosfato Sorensen (anexo). El paquete celular obtenido se mantuvo en refrigeración para su conservación durante 10 días a una temperatura de 6 °C (Ver figura 15).



**Figura 15** Obtención del paquete celular

### 6.5. Obtención del cultivo iniciador del Yogurt

El liofilizado de la serie JOINTEC contiene *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruecki ssp. Bulgaricus*, se activó (cultivo Stock) y se propagó (cultivo madre).

#### 6.5.1 Elaboración del cultivo stock

Para realizar el cultivo stock (figura 16), se añadió el 11 % de sólidos totales (0.11 g de leche en polvo en 10 mL de agua destilada esta mezcla se añadió en tubos de ensaye de 18x150 mm con tapón de rosca y se esterilizaron a 121 °C a 15 lb por un periodo de 15 min, se dejaron enfriar a 37 °C. Para proceder a la inoculación se utilizaron 2 azadas del paquete celular JOINTEC (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruecki ssp. Bulgaricus*) los tubos se incubaron por 4 h a 43°C. El cultivo stock obtenido se almacena a una temperatura de 4 °C hasta su utilización en un periodo no mayor a 20 días.

### 6.5.2 Elaboración del cultivo madre

Para realizar el cultivo madre (figura 16), se pesaron 11 g de leche en polvo sveltys y se mezcla con 100 mL de agua utilizando un matraces Erlenmeyer, los cuales se sometieron a esterilización a 121 °C a 15lb por un periodo de 15 min, se dejaron enfriar a 43°C, y se inocula con 2 mL del cultivo stock elaborado previamente y se incubó durante 4 h a 43°C. Se almacenó a 4 °C hasta su utilización en un periodo no mayor a 20 días.



**Figura 15** Cultivo Stock y Cultivo madre

## 6.5 Proceso de elaboración de Yogurt Griego

### 6.5.3 Preparación del Yogurt

Para la elaboración del yogurt griego se utilizaron dos tipos de leche, leche fresca pasteurizada ajustada al 1.5% de grasa y leche baja en grasa comercial, se elaboraron lotes de 500 mL cada uno, los cuales se ajustaron al 11% de sólidos totales usando leche en polvo, se agitaron utilizando una barra magnética a 500 rpm y se precalentaron a 45 °C, para adicionar el 0.2% de pectina (previamente disuelta en leche). Algunos tratamientos se les agregó lactato de calcio en tres concentraciones (0.045%, 0.05% y 0.055%) de acuerdo con la estrategia experimental que se describe posteriormente. Los lotes obtenidos se inocularon con el 0.02% del cultivo madre obtenido previamente, los tratamientos elaborados se

incubaron a 43°C por 4 h, hasta alcanzar un pH de 4.6. En la figura 16 se muestra el proceso elaboración del yogurt firme o clásico.



**Figura16** Proceso de elaboración del yogurt.

#### 6.5.4 Obtención del Yogurt Griego

Para la obtención del yogurt griego, el yogurt firme obtenido anteriormente se traspasó a bolsas de manta para realizar el drenado del lacto suero por gravedad utilizando bolsas de manta con medidas de 20x30 cm con capacidad para 1.5 L (figura 17), el método empleado para la obtención del yogurt griego fue el tradicional también conocido como filtrado por gravedad, el drenado del lacto suero se hizo por un periodo de 10 h, en temperatura de refrigeración de -6 °C , transcurrido el tiempo se retiró el yogurt de las bolsas de manta y se colocó el recipientes de plástico con capacidad de 500 m, se almacenó en refrigeración. Los lotes de hicieron de acuerdo con la estrategia experimental en donde se añadieron tres concentraciones de Lactato de calcio (0.045%, 0.05% y 0.055%), dos concentraciones de *L.*

*reuteri* (0.5% y 0.2%) adicionado antes y después del drenado, y dos concentraciones de mermelada de pitaya (5% y 10%).



**Figura 17** Obtención del Yogurt Griego

## 6.6 Obtención de la mermelada de pitaya (*Stenocereus stellatus*)

Para la elaboración de la mermelada de pitaya se utilizaron frutos en un tonalidad purpura-morada con 9.8 °Bx, para endulzar la mermelada se utilizaron edulcorantes no calóricos Stevia y Sucralosa ambas en presentación comercial, se adicionaron en una concentración 1:0.25 Stevia-Sucralosa.

### 6.6.1 Elaboración de la mermelada de pitaya

Para la realizar la mermelada se utilizó pitaya previamente tratada para su conservación, la cual se mantenía a temperaturas de congelación en donde se tomó una bolsa de pitaya con un peso aproximadamente de 600 g y se procedió a descongelar a una temperatura de refrigeración (4-6 °C) por un lapso de 10 horas (toda la noche). Transcurrido el tiempo se abrió la bolsa de pulpa de piyata y el jugo obtenido se vertió el jugo en un recipiente de plástico y se reservó. La pulpa ya pesada se colocó en un reciente de acero inoxidable y se puso a cocción en baño maría hasta alcanzar una temperatura de 70 °C, se agregaron los edulcorantes no calóricos en relación (1:0.25 Stevia-Sucralosa) y el 1% de ácido cítrico, ver anexo () y (figura 18). La mermelada pitaya se movió constantemente hasta alcanzar 48 °Brix

en un tiempo aproximado de 2.30 h, la mermelada obtenida se almaceno en contenedores de platico y se mantuvo a temperatura de refrigeración 6 °C.



**Figura 18** Proceso de elaboración de mermelada de pitaya

## 6.7 Análisis de materias primas

### 6.7.1 Obtención del rendimiento de la pulpa de pitaya

Las partes que conforman la pitaya son pulpa y cascara, para la obtención del rendimiento se obtuvo mediante tres lotes de pitaya para conocer el % porcentaje de pulpa y merma.

$$\%R = \frac{P \quad d \quad p}{p \quad d \quad p} \frac{f}{i} \times 1$$

*Peso del producto final = pulpa y cascara*

*Peso del producto inicial = cantidad total de la fruta entera*

## 6.7.2 Análisis fisicoquímico

**Tabla 8.** Componentes fisicoquímicos utilizados en pulpa de pitaya fresca.

<i>Determinación</i>	<i>Método</i>
pH	Inmersión del electrodo
Solidos solubles (°Brix)	AOAC, 2005
Acidez titulable	AOAC, 2005

## 6.7.3 Análisis químico proximal de pulpa de pitaya

**Tabla 9.** Componentes del AQP evaluados en la pulpa de pitaya fresca.

<i>Determinación</i>	<i>Método</i>
Humedad por pérdida de peso	(925.10 AOAC, 1997) por pérdida de peso
Cenizas	(923.03. AOAC, 1997) por calcinación
Grasas en equipo Soxhlet	(920.39. AOAC, 1997) en equipo Soxhlet
Proteínas en equipo Kjendhal	(920.87, AOAC, 1997) en equipo Kjeldahl
Carbohidratos	(Por diferencia )

## 6.8 Análisis de la leche

Los análisis que se elaboraron a la leche se hicieron el mismo día del ordeño de la leche, los análisis realizados se elaboraron por triplicado.

### 6.8.1 Acidez y pH en leche

Se tomaron 10 mL de muestra de leche y se procedió a medir el pH utilizando un potenciómetro marca Ultra Basic®, calibrado previamente con solución amortiguadora buffer 4 y 7, en donde se introdujo el electrodo a la muestra de leche y se tomó la lectura final.

Para la determinación de acidez se tomaron 10 mL de muestra de leche y se diluyo con 10 mL de agua destilada, y añadir 2 gotas de fenolftaleína y se tituló con hidróxido de sodio al

0.1 N hasta la aparición de un color rosado pálido en la muestra. La acidez de la leche se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación. (NMX-F-420-1982.)

$$\text{Acidez g/L (ácido láctico)} = \frac{V \times N \times 90}{M}$$

En donde:

V = Volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gastado en la titulación de la muestra, en cm<sup>3</sup> N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

M = Volumen de la muestra, en cm<sup>3</sup>

90 = Equivalente del ácido láctico.

### 6.8.2 Análisis Químico proximal de leche fresca

**Tabla 10.** Componentes del AQP evaluados en la leche fresca

<i>Determinación</i>	<i>Método</i>
Humedad por pérdida de peso	(925.10 AOAC, 1997) por pérdida de peso
Cenizas	(923.03. AOAC, 1997) por calcinación
Grasas por el método Gerber	(NMX-F-420-1982) en equipo Gerber
Proteínas en equipo Kjendhal	(920.87, AOAC, 1997) en equipo Kjeldahl
Carbohidratos	(Por diferencia )

## 7. Estrategia experimental

La estrategia experimental consistió en cuatro etapas:

- ❖ **Etapa I**, se elaboraron lotes de yogurt griego con dos concentraciones de sólidos totales (11% y 15%) y dos tiempos de drenado (8 y 10 h), con dos tipos de leche Ultrapasteurizada y pasteurizada, teniendo como variables de respuesta: pH, sinéresis y acidez.
- ❖ **Etapa II**, se elaboraron lotes de yogurt griego con leche Ultrapasteurizada y pasteurizada, utilizando dos concentraciones de *Lactobacillus reuteri* (0.5% y 0.2%) y tres concentraciones de calcio (0.055%, 0.05% y 0.045%), las variables de respuesta fueron: pH, sinéresis y acidez para seleccionar los mejores tratamientos.
- ❖ **Etapa III**, en esta etapa se estudiaron los tratamientos seleccionados de acuerdo a las variables de respuesta de la segunda etapa, se utilizó el 0.2% de *Lactobacillus reuteri* la concentración de calcio (0.50% y 0.55%) y (5% y 10%) sus variables de respuesta fueron: viabilidad y análisis químico proximal.
- ❖ **Etapa IV**, en esta etapa se seleccionaron los mejores tratamientos y se evaluaron sus propiedades físicas color y textura, también se desarrolló una evaluación sensorial y se hizo la cuantificación de calcio y reuterina a los mejores tratamientos

**Tabla 11** Estrategia Experimental Etapa I

<i>Lotes</i>	<i>Tipo de leche</i>	<i>Horarios</i>		<i>Solidos totales</i>	
		8 h	10 h	11%	15%
1	Leche Ultra-pasteurizada	x		x	
2		x			x
3			x	x	
4			x		x
5	Leche pasteurizada	x		x	
6		x			x
7			x	x	
8			x		x

**Tabla 12** Estrategia Experimental ETAPA II

<i>lotes</i>	<i>Tipo de leche</i>	<i>con lactato de calcio</i>			<i>con Lb reuteri</i>		
		0.055%	0.05%	0.045%	0.5%	0.2%	
1 <sub>(control)</sub>	leche Ultra pasteurizada						
2		x			x		
3		x				x	
4				x		x	
5				x		x	
6					x	x	
7					x	x	
8						x	
9							x
10			x				
11				x			
12					x		
13 <sub>(control)</sub>		leche pasteurizada					
14	x				x		
15	x					x	
16				x		x	
17				x		x	
18					x	x	
19					x	x	
20						x	
21							x
22			x				
23				x			
24				x			

**Tabla 13** Estrategia Experimental Etapa III

Lotes	tipo de leche	con calcio		Con mermelada de pitaya		Adición de <i>L. reuteri</i>	
		0.055%	0.05%	10%	5%	DE	AD
1	Leche Ultrapasteurizada	X				X	
2		X					X
3		X		X			X
4		X		X			X
5		X				X	X
6		X				X	X
7				X			
8				X			
9				X	X		
10				X	X		
11				X		X	
12				X		X	
13 control							
14		X				X	
15		X					X
16		X		X		X	
17		X		X			X
18		X			X	X	
19	Leche Pasteurizada	X			X		X
20			X				
21			X				
22			X	X			
23			X	X			
24			X		X		
25			X		X		
26 control							

## 8. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos por triplicado, se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA) en Minitab versión 17 y una prueba de comparación de medias de Tukey  $\alpha=0.05$ .

## 9. Análisis de variables de respuesta

Se realizaron los análisis de las variables de respuestas, para las etapas I, II, III y IV para los yogures griegos obtenidos. Los análisis se realizaron en los días 1, 7, 14 y 21 de almacenamiento. Los análisis realizaron por triplicado.

### Etapas I y II

#### 9.1 Análisis tecnofuncionales

##### 9.1.1 Determinación de pH

Para la determinación de pH se utilizó un potenciómetro marca (Ultra-basic) el cual se calibró con soluciones buffer 4 y 7, se utilizaron 5 g de muestra, posteriormente se introdujo el electrodo del potenciómetro para tomar la lectura final.



**Figura 19** Lectura de pH en muestras de yogurt Griego

### 9.1.2 Determinación de Acidez del yogurt

Para la determinación de acidez expresada como g/100 mL de ácido láctico, de acuerdo por el método descrito por [Melethayaril et al, 2016]. Se pesaron 10 g de muestra de yogurt griego y se diluyó con 10 mL de agua destilada (p/p), se agitó por 5 min utilizando una barra magnética a 300 rpm, se le adicionó 1 mL de fenolftaleína y posteriormente se tituló con hidróxido de sodio al 0.1 N hasta su viraje a una tonalidad rosa pálido, figura (20). Se determinaron los g ácidos lácticos presentes en la muestra, utilizando la ecuación.

$$\% A = \frac{(N \times V)}{W} \times 100$$

Donde:

A= volumen en mililitros de NaOH requerido para la titulación.

N= Normalidad de NaOH 0.1 N

W= peso de la muestra expresada en gramo



**Figura 20** Prueba de acidez en muestras de yogurt griego

### 9.1.3 Determinación del porcentaje de sinéresis

La sinéresis expresada como el volumen de suero desprendido durante el almacenamiento, por el método descrito por [Gurmeet et al. 2008]. Para la determinación de sinéresis se tomaron 20g de la muestra y se centrifugaron, en una centrifugadora marca Rotina 310 a 2500 rpm a una temperatura de 20°C por un

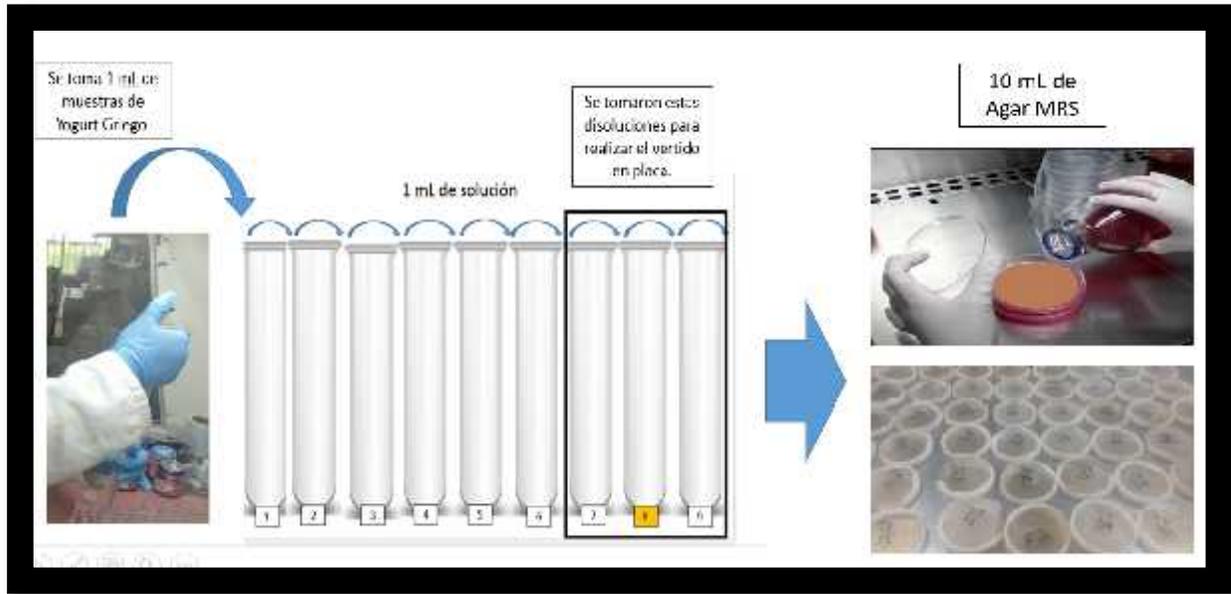
periodo de 10 min. Obteniendo suero como sobrenadante, se pesó y se obtuvo el porcentaje de sinéresis mediante la siguiente ecuación ( ).

$$S (\%) = 1 - \frac{P_{i d l m} - S_e}{P_{i d l m}}$$

## Etapa III

### 9.2. Determinación de viabilidad de *Lb. reuteri* en Yogurt Griego

Se determinó la cuenta viable de unidades formadoras de colonias (UFC) en los lotes obtenidos de yogurt griego reportados como *log de UFC/mL*, utilizando el método descrito por [Rodríguez., 2016]. Para determinar la viabilidad de *L.reuteri* en yogurt griego con el 0.2% de *L.b reuteri* con una cuenta viable inicial de 10 *log UFC/mL*. En donde el lactobacillus se adicionado antes y después del drenado del yogurt, y también se adicionó mermelada de pitaya en dos concentraciones al 5% y 10%. Para realizarla viabilidad del *Lb.reuteri* se pesaron 3 g de yogurt griego y se mezcló con 3 mL de solución buffer de fosfato (v/v) en pH 7, utilizando una barra magnética a 420 rpm por 5 min, de la mezcla obtenida se tomaron alícuotas de 1 mL y se diluyeron en agua peptona haciendo diluciones seriadas del 1 al 9. Las diluciones 7,8 y 9 fueron las seleccionadas en donde se tomó 1 mL de la muestra y se inocularán en medio MRS, utilizando la técnica de vertido en placa (Figura). Las cajas obtenidas se incubaron por 48 horas a 37°C, en anaerobiosis.



**Figura 21** Técnica de viabilidad de *Lb. reuteri* , vertido en placa.

### 9.3. Análisis Químico proximal de Yogurt Griego

Para la determinación del análisis químico proximal las muestras de yogurt griego se secaron en un estufa al vacío **marca** por un periodo de 6 horas a 60°C de acuerdo por los descrito **por buscar la referencia**

#### 9.3.1 Determinación de Humedad.

Para efectuar el análisis de humedad en yogurt griego, se pesó 2 g de muestra y se colocó en charolas de aluminio, la muestra se introdujo en una termo balanza marca SHULER SCIENTIFIC modelo SS-210-MA, por un periodo de 25 a 30 minutos de acuerdo con la humedad que contenga la muestra.



**Figura 22** Análisis de Humedad

### 9.3.2 Determinación de Cenizas

Para la determinación de cenizas en yogurt griego, se hizo la cuantificación de los minerales presentes en la muestra mediante la incineración, se ocuparon crisoles a peso constante y se pesaron 2 g de muestra, la cual se pre calcinó en una parrilla eléctrica hasta que deje de desprender humos y se a coloco en una mufla marca (Furnace 1300) y se programó a 600°C, ver la figura (22), las muestras se dejaron por un periodo de 4 horas. Trascurrido el tiempo se dejó a que bajara la temperatura a 70°C y la muestra obtenida se guardó en un desecador. Se aplicó la siguiente fórmula para el cálculo de cenizas.

$$\%C = \frac{B - A}{M} \times 100$$

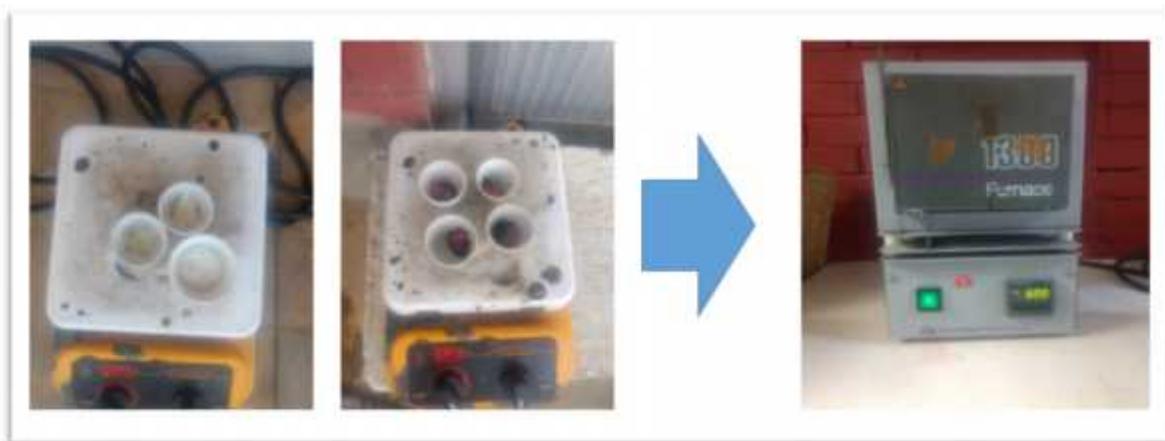
En donde:

% C= Porcentaje de cenizas

A= Peso del crisol vacío (g)

B= Peso del crisol con cenizas (g)

M= Peso de la muestra (g)



**Figura 23** Obtención de cenizas en muestras de yogurt griego.

### 9.3.3 Determinación de Grasas

La determinación de grasa en las muestras de yogurt, se realizó por el método de Gerber el cual consiste en separar la grasa dentro de un recipiente medidor (butirómetro), la muestra de leche al interactuar con el ácido sulfúrico y el alcohol isomálico por lo que existe una separación de los globulos de grasa [NMX-F-387-1982]. Para realizar la determinación se utilizó una centrifuga Gerber marca (Astor), un butirómetro con una escala de (0-7%), al cual se le adicionó 10 g de yogurt griego cuidadosamente sin ensuciar el cuello de butirómetro (figura 24) , posteriormente con la ayuda de una pipeta se agregó 10 mL de ácido sulfúrico lentamente evitando que el cuello del butirómetro se humedezca para evitar que los líquidos se mezclen, posteriormente se adiciono 1 mL de alcohol Isoamílico, el butirómetro se cerró y se agitó vigorosamente, hasta que la mezcla quede totalmente homogenizada. Los butirómetros obtenidos se centrifugaron por 5 minutos a 65 °C en la centrífuga gerber y la lectura se leyó en la escala del butirómetro.



**Figura 24** Determinación de grasas por el método Gerber.

### 9.3.4 Determinación de Proteínas

Para la determinación de proteína en el yogurt se utilizó un equipo de micro Kjeldahl el cual se efectuó en tres fases de acuerdo al método descrito por la [AOAC,2002].  
Digestión: Se pesó 0.2 g de muestra de yogurt griego, 0.8 g de mezcla digestora catalizadora (sulfato de potasio y óxido de mercurio), 4 mL de ácido sulfúrico concentrado el cual se adiciono lentamente por el cuello del matraz, enseguida se encendió el extractor y los tubos Kjeldahl se colocaron en parrillas eléctricas a 600°C por un periodo de 2 o 3 horas hasta que la muestra se vuelvan transparentes, los tubos se taparon con tapones de manta para evitar la fuga de gases. Neutralización: el residuo obtenido se disolvió con 10 ml de agua destilada, 13 ml de solución de hidróxido de sodio-tiosulfato de sodio y en un matraz Erlenmeyer se colocaron 25 ml de solución de ácido Bórico al 5% con 2 gotas de indicador (azul de metileno). Destilación: Para efectuar la destilación el tubo con muestra se colocó en el destilador micro Kjeldahl. Se inició la destilación por arrastre de vapor, recolectando aproximadamente de 75-100 mL del destilado. Titulación: Se valoró el destilado obtenido con solución de HCl 0.1 N. en donde se determinó el contenido de proteína en la muestra de yogurt griego. Se aplicó la siguiente fórmula para su cálculo.

$$\%N = \frac{(V2 - V1)(eqN)}{M} \times 100$$

En donde:

%N= porcentaje de nitrógeno total

V1= Volumen de HCl gastado en titular el blanco (mL)

V2= Volumen de HCl gastado en titular la muestra (mL).

eqN= 14.007

N= Normalidad de HCl (0.01)

M= pesos de la muestra (mg)

$$\%P.C = \%N \times f$$

En donde:

%P.C= porcentaje de proteína cruda

% N= porcentaje de nitrógeno total

F=Factor de conversión (F=6.38 proteína de leche o derivados)

## Etapa IV

### 9.4 Determinaciones Físicas del yogurt griego

#### 9.4.1 Determinación de color

Se determinará el color de las muestras utilizando la escala CIELAB, con un colorímetro UltraScan® vis (HunterLab, Hunter Associates Laboratory Inc., 11491 Sunset Hills Road Reston, Virginia U.S.A), se determinará luminosidad (L\*), color rojo-verde (a\*), y color amarillo-azul (b\*), se colocarán aproximadamente 10 g de muestra en un recipiente de cuarzo transparente con capacidad de 40 mL 20 mm x 55mm x 57 mm que permitirá el paso de la luz, obteniendo los parámetros anteriormente mencionados.



**Figura 25** Determinación de color en muestras de yogurt griego

#### **9.4.2 Determinación de Textura**

Se determinó un perfil de textura al yogurt griego en donde evaluaron los atributos de La dureza: (pico de fuerza de compresión (g) durante la penetración), Adhesividad (área de fuerza negativa ), Cohesividad (La relación de las áreas de fuerza positiva bajo la primera y segunda compresiones), Gomosidad (definido como el producto de la dureza por la cohesividad), elasticidad ( $\text{longitud } 2 / \text{longitud } 1$  (mm)) y masticabilidad (fue definido como el Producto de gomoso por elástico (que es la dureza por cohesividad por elástico), en las muestras de yogurt griego de atributos se determinaron con un analizador de texturas TA.XTplus (estable Micro Systems, Vienna Court, Reino Unido) utilizando una sola compresión con prueba de ciclo con una célula de carga de 5 kg . La sonda utilizada fue un cilindro delrin de 35 mm de diámetro codificado como P/0.5R. Antes de la prueba se fijó la velocidad a 1 mm/sy la profundidad de penetración, fue de 10 mm, en un tiempo de 10 segundos.La prueba se llevó a cabo inmediatamente después de retirar las muestras del refrigerador a 4 °C, la cuales estaban en un contenedor rectangular 4x9 cm con una capacidad de 125 g en donde cada muestra contenía 100 g de yogurt griego, los análisis se realizaron por duplicado para cada prueba.



**Figura 26** Análisis de perfil de textura en yogurt griego

#### 9.4.3 Determinación de viscosidad en yogurt griego

Para la determinación de la viscosidad y obtención de datos se utilizó un viscosímetro rotacional Brookfield® modelo DV3T con un rango de velocidad 100 Cp- 400, 000,000. Se realizaron ensayos para ver la medida del torque y escoger el husillo adecuado para la medición (el equipo tiene la capacidad de convertir de forma automática el torque medido, en viscosidad), en este estudio el número de husillo fue 0.6 y 0.7 (figura 27). Para determinar la viscosidad y el tipo de fluido con el que se trabaja, se midió la torsión necesaria para producir la rotación con la velocidad que se tiene que originar, siendo importante determinar estas características para este equipo, ya que varían en función de la geometría del aparato utilizado para caracterización del fluido. Después se procedió a medir la viscosidad en los tratamientos seleccionados, para realizar el análisis las muestras que contenían 300 mL de yogurt griego, se mantuvieron a una temperatura de 25 °C a. La velocidad de rotación programada fue de 50.0 rpm con un tiempo de 1 min. Los resultados se expresan en centipoise (cP).



**Figura 27** Determinación de viscosidad.

### 9.5 Análisis sensorial

Se efectuó una prueba de aceptación al consumidor a las muestras de yogurt griego, la prueba se aplicó a 50 participantes, la mayoría fueron estudiantes del tecnológico de Tuxtepec en un rango de edad de 21 a 24 años en la mayoría de los participantes, para la evaluación se utilizó un escala hedónica de 9 puntos que va de “me disgusta muchísimos” a “me gusta muchísimo” ver anexo (), la evaluación sensorial se efectuó en dos fases la primera fase se efectuó en la cafetería y la segunda fase en el laboratorio de alimentos, ambos ubicados en las instalaciones del tecnológico. Las muestras para la degustación se repartieron en cantidades de 5 g aproximadamente y se sirvieron en temperaturas de refrigeración. Como se mencionó anteriormente la evaluación se llevó a cabo en dos partes, en la primera parte se evaluaron las muestras de yogurt griego con lactato de calcio en concentraciones 0.05% y 0.055% y el *Lactobacillus reuteri* adicionado antes y después del drenado y como control se tuvieron las muestras sin adición del lactato de calcio, las muestras de yogurt fueron elaboradas con leche ultra pasteurizada y se evaluaron los atributos de Textura (Viscosidad y Firmeza), Olor (ácido), Sabor (Ácido y Dulce) y Aceptación general. En la segunda parte se evaluaron los mejores tratamientos de la primera parte, a

estas muestras se adiciono mermelada de pitaya al 5% y 10% las muestras de yogurt fueron elaboradas con leche pasteurizada y leche ultrapasteurizada. Se evaluaron los atributos de Textura (Homogenidad, arenosidad y viscosidad), Sabor (Ácido y Dulce) y Aceptación general.



**Figura 28** Evaluación sensorial

### 9.6 Cuantificación de calcio

Para la cuantificación de calcio se determinó por el método de permanganato descrito por [Davies yWhite 1962]. Se pesaron 2 g de yogurt y se agregaron 5 de solución de Ácidotricloroacético(TCA 20%, p/v), se agito vigorosamente durante 5 min. Y se deja reposar por 30 min. La mezcla se filtró a través de un papel Whatman No. 40 y se realizaron lavados con TCA, la solución filtrada obtenida se calentó a 60°C y se agregó 5 ml de solución de TCA 12%, 2 ml solución de oxalato de amonio, 2 gotas de solución de rojo de metilo y 2 ml de solución ácido acético, se procedió a mezclar la solución, se agregó lentamente la solución de amoníaco hasta que la mezcla quede de color amarillo pálido y luego adicionar unas gotas de solución de ácido acético (3 a 6 gotas) hasta el color es un rosa definido. Esta mezcla se dejó reposar por 4 horas a 20 °C, y el precipitado se reservó, se adicionaron 2 ml de solución de oxalato de amoniaco y se centrifugo durante 5 minutos a 3536 rpm y se eliminó el líquido sobrenadante, se repitió el mismo procedimiento tres veces. Al

oxalato de calcio obtenido se agregaron 2 ml de solución de ácido sulfúrico y 5 ml de agua destilada y se calentó en baño de agua a 100 °C. Cuando el oxalato de calcio se disolvió, se tituló con solución de permanganato de potasio, durante la titulación la temperatura debe estar a 60 °C, hasta obtener una coloración roja. Para una determinación del blanco, repita todo el procedimiento con 3 ml de 3 ml de agua. Cada mL de Permanganato de potasio 0.1N equivale a 6.4 mg de Oxalato de calcio [Duran et al 2013].



**Figura 29** Determinaciones de calcio por el método de permanganato.

# RESULTADOS

## 10. RESULTADOS

### 10.1 Análisis fisicoquímico de la Pulpa de pitaya

#### 10.1.1 Rendimiento de la fruta fresca de pitaya (*Stenocereus stellatus*).

**Tabla 14.** Rendimiento de las partes de la fruta fresca de pitaya (*Stenocereus stellatus*) con un estado de madurez de 9.8 °Bx.

<i>Fruta</i>	<i>Rendimiento</i>
Pulpa	81.27 ± 1.08
Cascara	19.23 ± 0.25

En la tabla14 se muestra el rendimiento de la fruta fresca de pitaya (*Stenocereus stellatus*) en un estado de madurez de 9.8 °Bx, el rendimiento obtenido fue de **81.27%** de pulpa, **19.23%** de cascara, a los 7 días después del corte, este rendimiento se obtuvo en 25 kg de fruta recolectada, estos valores son mayores a los reportados por Campos et al., 2011 quien obtuvo un rendimiento de pulpa de pitaya (*S.griseus*) del **77.91%** de pulpa y el **22.2 %** de cascara, estas diferencias se pueden atribuir a que la cáscara de la pitaya *Stenocereus stellatus* es más delgada que la de *Stenocereus griseus*, por lo tanto tiene mayor porcentaje de pulpa, sin embargo la pitaya *Stenocereus griseus* al presentar una cascara más delgada puede ser más sensible a presentar agrietamientos y daños en pos cosecha lo cual no podría influir en su calidad para su comercialización en el mercado. Sin embargo la pitaya es un fruto con alto contenido de pulpa, la cual puede ser una alternativa de aprovechamiento para la elaboración de jugos, néctares y mermeladas.

### 10.1.2. Caracterización fisicoquímica de la pulpa fresca de pitaya

**Tabla 15.** Análisis proximal y fisicoquímico de la pulpa de pitaya (*Stenocereus stellatus*) escaldada.

Análisis	Valores	
	( b. h.)	( b. s.)
Humedad%	87 ± 0.02	----
Cenizas%	0.43 ± 0.03	3.30 ± 0.24
Grasas %	0.66 ± 0.12	5.07 ± 0.14
Proteínas %	1.43 ± 0.36	11.0 ± 0.58
Carbohidratos %	10.48 ± 0.21	80.0 ± 0.24
Acidez ( % ácido cítrico )	0.40 ± 0.06	
pH	4.03 ± 0.15	
Solidos solubles (°Brix)	9.8 ± 0.14	

Los resultados reportados son los promedios ± desviación estándar de muestras analizadas por triplicado ± desviación estándar (p<0.05). \*Se determinó por diferencia, \*\*muestra liofilizada. b. h.=base húmeda y b. s.=base seca.

Se presentan los resultados obtenidos del análisis químico proximal y fisicoquímico de la pitaya (*S. stellatus*) escaldada, (en la tabla 15) se presenta un 87% de humedad, 3.30% de cenizas, 0.66% de grasa, 1.43% de proteínas y 10.48% de carbohidratos, valores similares a los reportados por **Pérez et al., [2016]** quien obtuvo valores en pulpa de pitaya *Steneocereus stellatus* en coloración purpura obtuvieron valores de humedad (86.65%), cenizas (0.47%), grasas (0.39%), proteínas (1.30%) y carbohidratos (9.65%). **Campos et al., [2011]** reportan valores de proteína de 1.06% y 10.75% de carbohidratos en pulpa de pitaya morada *Stenocereus spp* los cuales también presentan una similitud a lo obtenido en este estudio. Dentro de las propiedades fisicoquímicas se encontró una acidez titulable de 0.40% expresado como ácido cítrico estos valores resultaron inferiores a los

obtenidos por **Pérez et al.,[2016]**, quien reporto valores de acidez titulable de  $0.50 \pm 0.09$  en pulpa de pitaya *Stenocereus stellatus* coloración morada y 0.48% según lo reportado por [**García et al., 2016**]. Por otro lado se encontró un total de sólidos solubles de  $9.8^{\circ}\text{Bx}$  en la pulpa de pitaya (*S. stellatus*), valores muy similares a los encontrados por **Pérez et al., [2016]** quien obtuvo  $9.60^{\circ}\text{Bx}$ , los sólidos solubles y acidez están relacionadas con la madurez de la fruta y el dulzor de la misma, por lo que pueden llegar a ser un índice de calidad. La relación sólidos solubles y la acidez es un indicativo de buen sabor y aceptabilidad de la fruta. **Pérez et al.,[ 2016]** en su estudio encontró una relación de 9 a  $12^{\circ}\text{Bx}$  lo que significó que la pitaya presentaba un sabor agri-dulce. El pH obtenido en este estudio fue de 4.03 superior al obtenido por **Pérez et al., [2016]**, quien reporto un valor de pH de  $3.64 \pm 0.01$  en pulpa coloración morada de la especie *Stenocereus stellatus*.

## 10.2 Caracterización fisicoquímica de la leche pasteurizada

**Tabla 16.** Análisis proximal en leche pasteurizada

<i>Análisis</i>	<i>Leche pasteurizada</i>	
	( b. h.)	( b. s.)
Humedad%	$86.19 \pm 0.02$	-----
Cenizas%	$0.8 \pm 0.06$	$5.6 \pm 0.08$
Grasas %	$1.5 \pm 0.00$	$10.9 \pm 0.00$
Proteínas %	$5.8 \pm 0.05$	$39.9 \pm 0.10$
Carbohidratos %	$4.2 \pm 0.08$	$44.2 \pm 0.06$

**Tabla 17** Análisis fisicoquímico de la leche pasteurizada

<i>Análisis</i>	<i>Leche pasteurizada</i>
pH	6.5
Acidez (g/L ácido láctico)	1.5 g/L ácido láctico
Densidad	1.031 g/cm <sup>3</sup> .

Se evaluaron las características químicas de la leche representados en la (Tabla 16), se obtuvo una humedad del 86% valor similar con lo reportado con **Agudelo et al., [2005]** de 88% de humedad .En Cenizas de 0.8 valores similares con lo reportado con **Agudelo et al.,[2005]** y **Santillán et al.,[2014]** de 0.8 y 0.7 respectivamente. En cuanto a grasas la **NOM-155-SCFI-2001** menciona que el porcentaje en grasa en leche descremada es de 5 max valores dentro de los valores que dicta la NOM-155 ya que la leche se encuentra ajustada al 1.5% de grasa (Base húmeda). Sin embargo la leche proporciona por el rancho ChesCris tenía un 4.1% de grasa inicial (Base húmeda). En proteínas se obtiene buen nivel de proteínas de 39.9% de acuerdo con la **NOM-155-SCFI-2001** menciona que el porcentaje de proteína mínimo es de 30 g/L, teniendo un 9.9% por arriba del mínimo estipulado por la norma, comparando resultados con **Juárez et al., [2015]** quien evaluó las propiedades fisicoquímicas de leches comerciales y leche local, obtuvieron valores de grasa en base seca de (23.7%) en leche local, valores por encima con los obtenidos debido a que la leche en el estudio de **Juárez et al., [2015]** fue leche entera, también se comparó con dicho autor las proteínas obtenidas que fue de (29.10%) en leche entera, siendo un 10% mayor en lo obtenido en esta investigación. En carbohidratos el valor máximo estipulado por la NOM-155 es de 83 g/L, se obtuvo un 44.2% encontrándose por mitad de acuerdo con la norma. Estos valores se encuentran dentro de lo estipulado por las normas mexicanas oficiales, la buena calidad nutricional de esta leche se atribuye a la raza y

alimentación alterna que se les brinda a los rumiantes. Se evaluaron los parámetros físicos densidad 1.031 g/cm<sup>3</sup> y acidez 1.3 g/L ácido láctico ambos valores se encuentran dentro de los límites que marca la norma mexicana. Por otro lado **Walstra.,[2006]** menciona que al someter la leche en un proceso de conservación a temperaturas de pasteurización y ultra pasteurización pueden ocasionar cambios físicos y químicos en la leche como, la cantidad de fosfato coloidal aumenta, los iones de calcio disminuyen, la lactosa se isomeriza y se degrada parcialmente para producir lactulosa y ácidos orgánicos. La mayoría de las proteínas séricas se desnaturalizan por lo tanto se vuelven insolubles, parte de la proteína sérica (especialmente de  $\beta$ -lactoglobulina) se liga covalentemente a la  $\kappa$ -caseína y a algunas proteínas de la membrana de glóbulo graso, las enzimas quedan inactivadas y algunas vitaminas se degradan.

## Etapa I

### 10.3 Optimización de proceso de elaboración del yogurt griego en diferentes horas de drenado y diferentes concentraciones de sólidos totales.

En esta etapa se seleccionó la elaboración del Yogurt Griego con diferentes concentraciones de sólidos totales 11% y 15% y dos horas de drenado 8h y 10 h, utilizando leche pasteurizada y leche comercial Ultra pasteurizada, las muestras se eligieron en base a sus propiedades tecnológicas funcionales (pH, Acidez y % de sinéresis). La muestra seleccionada en etapa fue **11% de ST y 10 h de drenado**.

#### 10.3.1 Rendimiento de yogurt griego elaborado con leche Pasteurizada y Ultra-pasteurizada.

Se obtuvo un rendimiento de yogurt griego en promedio de 70.7% para los yogures elaborados con leche ultra pasteurizada y 78.62 con los elaborados con leche

pasteurizada siendo un 8% mayor rendimiento en estos yogures estos se puede atribuir a que la leche pasteurizada puede haber mayor presencia de proteínas, grasas ya que esta se utilizó al siguiente día de su ordeño. Las leches comerciales son sometidas a procesos de ultra filtración y tratamientos térmicos de ultra pasteurización, por que se puede ver afectada su composición química. Se obtuvo que a mayor tiempo de drenado había mayor rendimiento en yogurt griego y se observó que el yogurt tenía una estructura de gel más sólida y con mejor consistencia. De acuerdo con **Villeda et al., [2015]** obtuvieron con 8 h de desuerado y concentración 12.5 % de ST, un rendimiento de 81%, valores similares con lo encontrado en esta investigación los lotes elaborados con leche pasteurizada en los lotes con 10 h de drenado en ambas concentraciones de ST.

**Tabla 18** Rendimiento de yogurt griego con diferentes tipos de leche.

	<i>Tipo de leche</i>	<i>Sólidos totales</i> (%)	<i>Tiempo de drenado</i> (h)	<i>Rendimiento</i>
1	Leche Ultra-pasteurizada	11	8	65.50 ± 2.12
2		15	8	67.35 ± 0.21
3		11	10	72.70 ± 0.14
4		15	10	76.40 ± 0.56
5	Leche pasteurizada	11	8	73.50 ± 1.41
6		15	8	77.00 ± 2.12
7		11	10	80.00 ± 0.00
8		15	10	84.00 ± 0.00

### 10.3.2 Evaluación de la propiedades tecno funcionales de yogurt griego elaborado con leche pasteurizada y ultra pasteurizada.

Se evaluaron las propiedades tecno funcionales (pH, acidez y sinéresis) de los lotes obtenidos de yogurt griego en ambos tipos de leches.

En la acidez, se obtuvieron diferencias significativas en función al tiempo (21d) y entre cada uno de los tratamientos, excepto para el día 1 no hubo diferencia significativa entre los tratamientos. Las muestras de yogurt griego elaboradas con leche pasteurizada tienen un nivel de acidificación mayor y esto se refleja en los días 14 y 21 llegando a tener un 0.44% más ácido que las muestras con leche ultra pasteurizada, esto se atribuye a que las leches tratadas con tratamientos térmicos en temperaturas bajas existe menor pérdida de minerales, vitaminas y proteínas en leche [Walstra.,2006] y estos a su vez sirven para la producción de ácido láctico durante la fermentación. Se observó que las muestras con 8 h de drenado eran las que resultaban ser más ácidas, las muestra con 11% de ST y 10h son la que tienen menor acidez. De acuerdo con Al-Kadamany et al.,[2002] reportaron valores de  $1.9 \pm 0.10$  g ácido láctico/100 g de yogurt griego en el primer día de almacenamiento, valores similares con los encontrados en los yogures elaborados con leche pasteurizada, su sabor sabor ácido es en gran parte modulado por el diacetilo producido durante la fermentación. Comparando con Özer et al., [1999] reportaron que el yogurt griego tiene una acidez de 1.8 – 2 g de ácido láctico/100 g de yogurt usando el 23% de ST y 10 h de drenado, estos valores resultan ser similares para los primeros días de almacenamiento. A si mismo reporta que la acidez se pudo ver afectada por el metodo de elaboracion del yogurt ya que en ocasiones no se tiene un estrictamente controlado y puede haber la presencia de levaduras y hongos. Sin embargo la acidez es una caracterisca del yogurt griego llegando hasta 3 g de ácido lactico durante el almacenamiento [Özer et al., 1999]. Cabe mencionar que la acidez le proporciona al yogurt una mejor calidad final ya que las concentraciones altas de acidez contribuyen a la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas.

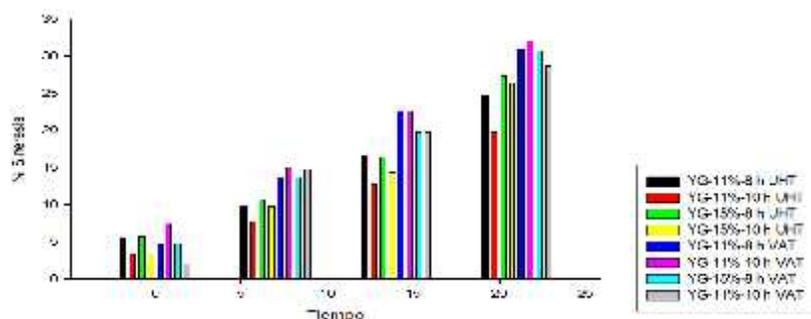
**Tabla 19** Acidez y pH de yogurt griego elaborado con diferente concentraciones de solidos totales y dos tiempos de drenado.

<i>Leches:</i>	<i>Leche Ultra- pasteurizada</i>				<i>Leche pasteurizada</i>			
Lotes	<b>Acidez (g Ácido láctico/mL)</b>							
	D 1	D 7	D 14	D 21	D 1	D 7	D 14	D 21
YG11%8h	1.12 ± 0.10 abD	1.95 ± 0.05 cdC	2.58 ± 0.10 cB	3.48 ± 0.10 bcA	0.96 ± 0.10 bD	1.71 ± 0.09 cC	3.21 ± 0.13 aB	3.72 ± 0.05 aA
YG11%10h	1.32 ± 0.22 abD	2.04 ± 0.05 bcC	2.58 ± 0.18 cB	3.00 ± 0.13 dA	1.29 ± 0.10 abD	1.74 ± 0.05deB	2.85 ± 0.05bcC	3.60 ± 0.09 abA
YG15%8h	1.38 ± 0.05 aD	2.22 ± 0.05 abC	2.73±0.0 5 bcB	3.32 ± 0.05 cdA	1.41 ± 0.13 aD	1.86 ± 0.13cdB	3.21 ± 0.05 aC	3.81 ± 0.05 aA
YG15%10h	1.56 ± 0.05 aD	2.34 ± 0.09 aC	2.64±0.0 5 bcB	3.16 ± 0.05 cA	1.53 ± 0.09 dD	1.80 ± 0.09deB	2.88 ± 0.09 bC	3.60 ± 0.09 abA
	<b>pH</b>							
YG11%8h	4.66 ± 0.00 bcA	4.34 ± 0.02bcB	4.26 ± 0.03 aC	4.00 ± 0.00 abD	4.77 ± 0.02 abA	4.57 ± 0.02 aA	4.11 ± 0.0abcB	3.96± 0.05 bC
YG 11%10h	4.76± 0.00 abA	4.26 ± 0.12bcB	4.20 ± 0.01bcBC	4.05 ± 0.02 aC	4.75 ± 0.10 abcA	4.44 ± 0.06 bB	4.22 ± 0.0abcC	4.00 ± 0.055abD
YG15%8h	4.63 ± 0.03 cA	4.23 ± 0.04bcB	4.07 ± 0.6 dC	3.99 ± 0.01 abC	4.81 ± 0.02 aA	4.46 ± 0.06 bB	4.08 ± 0.05cdC	4.00± 0.00 abC
YG15%10h	4.63 ± 0.03 cA	4.18 ± 0.07 cB	4.10 ± 0.01bcBC	3.96 ± 0.05 abC	4.69 ± 0.02 abcA	4.46 ± 0.14 bB	4.24 ± 0.06abC	4.01 ± 0.04 abD

Los resultados son el promedio ± la desviación estándar de análisis por triplicado. Letras minúsculas indican que hay diferencia significativa [p≤0.05] conforme a tratamientos.  
Letras mayúsculas indican que hay diferencia significativa [p≤0.05] conforme al tiempo de almacenamiento

En cuanto al pH se encuentran diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos y de acuerdo al tiempo de almacenamiento en la (tabla 19) se observa que las muestras elaboradas con leche ultra pasteurizada tienen un pH inicial de 4.6, mientras que las muestras elaboradas con leche pasteurizada tiene un pH inicial de 4.7, llegando a tener un intervalo de pH de 4.0 – 3.98. Autores como **Gangani et**

al., [2017], encontraron valores de pH de 4.46 a 4.03 en 15 días de almacenamiento, en yogurt griego elaborado con concentrado de proteína de leche y 23% de sólidos totales, valores similares al de este trabajo **Daumnezet al., [2017]** obtuvieron valores de pH de 3.78 en yogurt griego elaborado con leche UHT, valores por 2% debajo en lo comparado con mis valores mínimos en esta investigación. De acuerdo **Según Rojas., [2007]** este descenso de pH se relaciona con la fermentación ácido láctica de los cultivos iniciadores que favorecen la hidrólisis enzimática de la lactosa en glucosa y galactosa, siendo la glucosa formada, descompuesta a ácido láctico, este descenso no sólo tiene efecto durante la incubación, si no también durante el periodo de almacenamiento ya que no es posible detener completamente la actividad enzimática de los cultivos lácteos en temperaturas de refrigeración.



**Figura Sinéresis conforme al tiempo en yogurt griego en diferentes concentraciones de sólidos totales y diferentes horas de drenado**

En la figura se muestra los valores de sinéresis producida en el yogurt griego durante el periodo de almacenamiento, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y conforme el tiempo de almacenamiento llegando alcanzar porcentajes de sinéresis para el día 21 de 25% para muestras con leche comercial y 30% para leche bronca, sin embargo el valor menor de sinéresis fue para el tratamiento YG 11%10h con un 19.99% elaborado con leche pasteurizada. Los valores de sinéresis se pueden atribuir al incremento de la acidez y valores bajos

de pH que dan lugar a la liberación de suero, así como también al rompimiento del gel durante el traspaso del yogurt a las bolsas de mantas y a los tiempos de desuerado. Autores como **Gangani et al., [2017]** obtuvieron valores de  $29.52 \pm 1.43$  a los 15 días de almacenamiento, en sus formulaciones utilizaron una concentración de sólidos totales de 23% y 8 % de grasa, valores por encima a los resultados obtenidos entre un 12% y 8% en leche ultra-pasteurizada y pasteurizada, **Bong y Moraru.,[2014]** reportaron valores de 22% de sinéresis en un periodo de 28 d de almacenamiento, utilizando leche comercial para su elaboración y con un tiempo de drenado de 20 h, siendo estos valores similares a los obtenidos en los tratamientos con leche pasteurizada. El porcentaje de sinéresis es un atributo de calidad en el yogurt

## Etapa II

### 10.4 Selección de los tratamientos Etapa II con diferentes concentraciones de calcio y de *Lactobacillus reuteri*

La mejor formulación obtenida en la etapa anterior fue 10 h de drenado y 11% de sólidos totales, se elaboraron lotes de yogurt griego bajo esa formulación y se les adicionó lactato de calcio en tres concentraciones (0.055%, 0.05% y 0.045%) y *Lactobacillus reuteri* en dos concentraciones (0.5% y 0.2%). Utilizando leche pasteurizada y Ultra- pasteurizada.

#### 10.4.1 Evaluación tecno funcional de yogurt griego adicionado con 3 diferentes concentraciones de calcio y dos concentraciones del *Lb. reuteri*.

En la tabla 20 se muestran los resultados obtenidos en acidez y pH de los yogures griegos obtenidos con lactato de calcio y *Lb. reuteri*. Se hallaron diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos y conforme al tiempo para cada de los lotes obtenidos. Se observó que el pH disminuyó en el almacenamiento, se obtuvieron intervalos de pH inicial y final de 4.6 a 3.99 con leche ultra pasteurizada y 4.83 a 4.02 con leche pasteurizada, el descenso de pH se puede atribuir que al metabolismo propio de las bacterias iniciadoras de secretar ácido láctico, así mismo la adición de lactato puede producir una alteración en el equilibrio de las especies iónicas, entre la sal de calcio y el ácido láctico presente en el medio, ya que la sal de calcio libera iones de calcio, y se puede formar citrato de calcio y fosfato de calcio con los iones citrato y fosfato disponibles en la fase sérica, por lo tanto hay una liberación constante de iones H<sup>+</sup> que da como resultado la reducción del pH [Velez et al., 2012]. De acuerdo con Szajnar et al., [2017] reportan valores de pH en el día 1 de 4.9 y 4.7 en 24 h, con una disminución del 0.2% adicionando 80 mg lactato de calcio en yogurt firme, valores similares con los reportados en esta investigación en los yogures griegos elaborados con leche pasteurizada.

En cuanto al parámetro de acidez, las muestras presentan acidez mayor inicial. Son las muestras con lactato de calcio en concentraciones al 0.05% y 0.055% en yogures elaborados con leche ultra pasteurizada y al adicionar el 0.5% de *Lb. reuteri* en ambas leches. En los días 7 y 14 se hayaron diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo al día 21 se observa que las muestras de yogurt griego elaboradas con leche ultrapasteurizada son las que tienen los índices más altos de acidez comparado con las muestras con leche pasteurizada, obteniéndose diferencias significativas entre los tratamientos. La adición de lactato de calcio disminuye los niveles de acidez al tiempo de almacenamiento ya que se obtienen

valores menores de acidez comparado con la muestra control y las adicionadas con *Lb. reuteri*. De acuerdo con **Pirkul et al [1993]** menciona que el lactato de calcio es una sal cálcica del ácido láctico que se emplea en la industria alimentaria como conservante natural, también actúa como regulador de acidez por lo tanto la adición de esta sal no causa alteraciones en el producto. Sin embargo el aumento de acidez se puede deber a que a adición de sales de calcio solubles en leche da como resultado una disminución en el pH y de iones de calcio y ambos cambios alteran el equilibrio dinámico del calcio en la leche, y puede desestabilizar las proteínas de la leche y con calentamiento formar un gel en la leche y una mayor acidificación en productos como el yogurt **Lin et al ,[2017]**. Se observa que al adicionar *Lb. reuteri* en concentraciones al 0.5% se obtiene una acidez mayor comparado con las muestras con lactato de calcio, esto se puede atribuir a la acumulación de ácido láctico proveniente de las bacterias ácido lácticas a si mismo también puede ser a que el *Lactobacillus reuteri* en condiciones ácidas tiende a producir trazas de aldehídos y cetonas produciendo una acidificación en el medio **[Hekmat et al., 2009]**. Autores como **Gurmeet et al.,[2008]** obtuvieron valores de acidez 0.87 g ácido láctico /100 g de yogurt para el día 0, llegando a aumentar 1.71g ácido láctico /100 g de yogurt a los 14 días de almacenamiento, estos valores llegan a ser similares a los reportados en el día 7 de almacenamiento. La diferencia de valores se debe a que ellos en sus análisis utilizaron un yogurt firme añadido con fruta de mango y no utilizaron un proceso de filtrado como en esta investigación, sin embargo reportaron que la adición de lactato de calcio aumento la acidez a partir del primer día de almacenamiento. Por otro lado autores como **Maragkoudakis et al.,[2004]** obtuvieron valores de acidez 0.82 g/100 g YG para el día 1 y 2.19 g/100 g YG para el día 14, valores similares en el primer día 1 en las muestras con *Lb.reuteri* al 0.2. **Kaushik et al.,[2017]** Informó que los valores iniciales de pH fortificados con calcio en leche de soja era más alta que la leche de soja de control debido a cambio de pH durante la fortificación con calcio. Él además informó que la

reducción del pH fue considerablemente más lento en yogures de leche de soja fortificados con calcio que en las muestras control. Sin embargo, la leche de soja fortificada con calcio mostraron una titulación significativamente mayor, fenómeno similar en este trabajo

**Tabla20** Acidez y pH en muestras de yogurt griego con calcio y *Lb. reuteri*

Leches:	<i>Ultra pasteurizada</i>				<i>Pasteurizada</i>			
Lotes	<b>Acidez (g Ácido láctico/mL)</b>							
	D 1	D 7	D 14	D 21	D 1	D 7	D 14	D 21
CONTROL	0.87 ± 0.05 <sup>cD</sup>	1.60 ± 0.02 <sup>abcC</sup>	2.79 ± 0.09 <sup>aB</sup>	3.21 ± 0.05 <sup>aA</sup>	1.40 ± 0.18 <sup>aD</sup>	1.64 ± 0.05 <sup>abcC</sup>	2.13 ± 0.10 <sup>abB</sup>	2.94 ± 0.18 <sup>abA</sup>
YG 0.045%	0.86 ± 0.04 <sup>cD</sup>	1.86 ± 0.05 <sup>abC</sup>	2.64 ± 0.05 <sup>aB</sup>	2.96 ± 0.05 <sup>abA</sup>	0.66 ± 0.05 <sup>bD</sup>	1.44 ± 0.15 <sup>bcC</sup>	1.92 ± 0.10 <sup>abB</sup>	2.73 ± 0.22 <sup>bcA</sup>
YG 0.05%	1.14 ± 0.02 <sup>bD</sup>	1.92 ± 0.28 <sup>abC</sup>	2.91 ± 0.10 <sup>aB</sup>	3.08 ± 0.13 <sup>bA</sup>	0.72 ± 0.00 <sup>bcB</sup>	1.59 ± 0.05 <sup>bcB</sup>	1.89 ± 0.23 <sup>bB</sup>	2.64 ± 0.27 <sup>cA</sup>
YG 0.055%	1.38 ± 0.03 <sup>aD</sup>	1.95 ± 0.05 <sup>abC</sup>	2.76 ± 0.13 <sup>aB</sup>	3.00 ± 0.05 <sup>bA</sup>	0.75 ± 0.05 <sup>bA</sup>	1.35 ± 0.09 <sup>cC</sup>	1.95 ± 0.05 <sup>abB</sup>	2.73 ± 0.05 <sup>bcA</sup>
YG 0.5Lr	1.32 ± 0.22 <sup>aD</sup>	2.04 ± 0.05 <sup>bC</sup>	2.58 ± 0.10 <sup>aB</sup>	3.00 ± 0.90 <sup>bA</sup>	1.74 ± 0.22 <sup>aD</sup>	2.37 ± 0.05 <sup>aC</sup>	2.74 ± 0.18 <sup>aB</sup>	3.45 ± 0.90 <sup>aA</sup>
YG 0.2 Lr	0.96 ± 0.10 <sup>bcD</sup>	1.41 ± 0.05 <sup>cC</sup>	2.54 ± 0.05 <sup>aB</sup>	2.88 ± 0.10 <sup>bA</sup>	1.92 ± 0.10 <sup>aD</sup>	2.43 ± 0.09 <sup>aC</sup>	2.72 ± 0.10 <sup>aB</sup>	3.33 ± 0.10 <sup>aA</sup>
Lotes	<b>pH</b>							
CONTROL	4.66 ± 0.01 <sup>aA</sup>	4.41 ± 0.00 <sup>aA</sup>	4.27 ± 0.05 <sup>bB</sup>	3.56 ± 0.49 <sup>bcC</sup>	4.75 ± 0.10 <sup>abA</sup>	4.56 ± 0.05 <sup>aA</sup>	4.29 ± 0.04 <sup>aB</sup>	4.00 ± 0.00 <sup>aC</sup>
YG 0.045%	4.77 ± 0.18 <sup>bA</sup>	4.54 ± 0.06 <sup>abA</sup>	4.27 ± ±0.04 <sup>bbB</sup>	3.99 ± 0.03 <sup>aC</sup>	4.70 ± 0.13 <sup>abA</sup>	4.54 ± 0.08 <sup>aA</sup>	4.24 ± 0.04 <sup>aB</sup>	4.06 ± 0.11 <sup>aC</sup>
YG 0.05%	4.63 ± 0.06 <sup>aA</sup>	4.70 ± 0.07 <sup>aB</sup>	4.39 ± 0.05 <sup>aC</sup>	3.98 ± 0.05 <sup>aD</sup>	4.83 ± 0.05 <sup>bA</sup>	4.60 ± 0.01 <sup>aB</sup>	4.33 ± 0.05 <sup>aC</sup>	4.01 ± 0.01 <sup>aD</sup>
YG 0.055%	4.68 ± 0.02 <sup>aA</sup>	4.55 ± 0.04 <sup>aB</sup>	4.42 ± 0.02 <sup>aC</sup>	4.08 ± 0.02 <sup>aD</sup>	4.86 ± 0.05 <sup>bA</sup>	4.52 ± 0.07 <sup>aB</sup>	4.31 ± 0.10 <sup>aC</sup>	4.03 ± 0.05 <sup>aD</sup>
YG 0.5 Lr	4.66 ± 0.01 <sup>aA</sup>	4.28 ± 0.08 <sup>abcB</sup>	4.21 ± 0.12 <sup>cB</sup>	4.00 ± 0.12 <sup>aC</sup>	4.67 ± 0.01 <sup>aA</sup>	4.43 ± 0.08 <sup>aB</sup>	4.24 ± 0.12 <sup>aC</sup>	3.76 ± 0.12 <sup>bdD</sup>
YG 0.2 Lr	4.65 ± 0.00 <sup>aA</sup>	4.04 ± 0.12 <sup>cB</sup>	4.06 ± 0.01 <sup>bB</sup>	4.06 ± 0.02 <sup>aB</sup>	4.69 ± 0.00 <sup>aA</sup>	4.44 ± 0.12 <sup>aB</sup>	4.06 ± 0.01 <sup>bC</sup>	3.95 ± 0.02 <sup>abC</sup>

Los resultados son el promedio ± la desviación estándar de análisis por triplicado. Letras minúsculas indican que hay diferencia significativa [p≤0.05] conforme a tratamientos. Letras mayúsculas indican que hay diferencia significativa [p≤0.05] conforme al tiempo de almacenamiento.

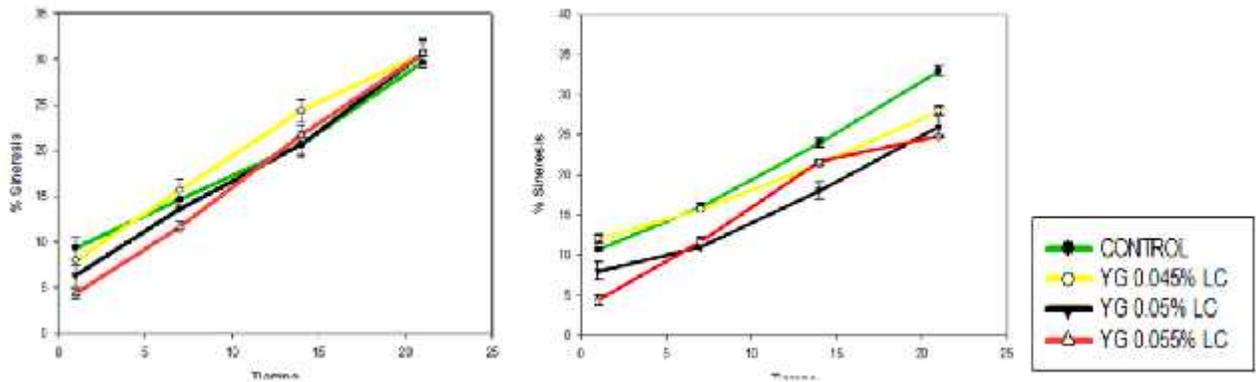
La sinéresis se refiere a la expulsión de suero del gel y se observa que la tendencia fue aumentar al tiempo de almacenamiento. La adición de calcio en las muestras de yogurt griego elaboradas con leche Ultra pasteurizada y pasteurizada causo diferencias significativas entre los tratamientos en los días 1 y 7 en la muestras con 0.045% de calcio para ambas leches, sin embargo en los día 14 y 21 no hay diferencias entre los tratamientos obtenidos, se observó que los yogures elaborados con leche pasteurizada en concentraciones 0.055% y 0.05% de lactato de calcio tenían menor cantidad de sinéresis generada en comparación con la muestra control, llegando alcanzar un 30% en promedio de sinéresis para todas las muestras a los 21 d. Por ello se deduce que a mayor concentración de lactato de calcio disminuyen los valores de sinéresis en el yogurt. El aumento de sinéresis se puede atribuir a los valores altos de acidez y pH bajos, así mismo la adición de calcio da como aumento de fosfato coloidal vinculado en la micelas de caseína por los tanto obtienen estructuras de gel más fuertes en el yogurt, ya que a un pH aún más bajo del yogurt el calcio añadido permanece en estado disuelto y disminuye la repulsión electrostática entre las micelas de caseína y esto podría fortalecer la estructura del gel de yogurt [Gurmeet et al. 2008]. De acuerdo con los resultados reportados por Gurmeet et al.,[2008] obtuvieron valores de sinéresis al 10.25% en el primer día de almacenamiento en un yogurt firme fortificado con lactato de calcio y adicionado con mango estos valores son superiores a los reportados en esta investigación, esto es debido al tipo de yogurt utilizado en esa investigación.

En cuanto a la adición de *Lb. reuteri*(figura 30),se obtienen diferencias significativas conforme al tiempo ya que la tendencia es al aumento de sinéresis durante el almacenamiento llegando a 28%, esta producción de sinéresis se puede atribuir a que el *Lb.reuteri* posee un metabolismo heterofermentativo, y esto da como resultado la producción de CO<sub>2</sub> y, presumiblemente, etanol y ácido acético y puede llegar a cambiar la estructura del medio [Champagne et al, 2016]. De acuerdo con lo reportado por Olson et al.,[2008] reportan valores de 26% de sinéresis en 4

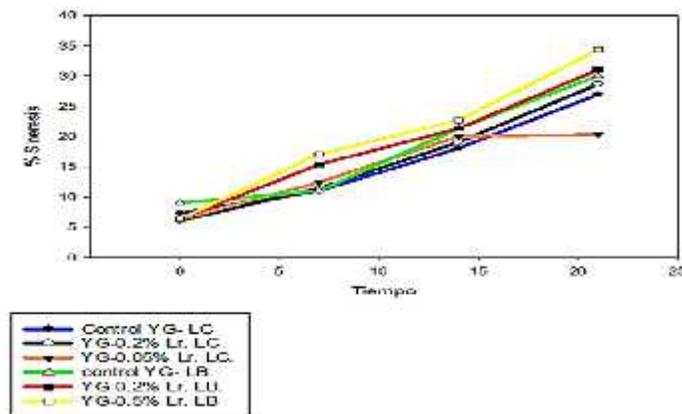
semanas de almacenamiento en un yogurt concentrado adicionado con *Lactobacillus acidophilus* en una concentración del 2%, valores por debajo de los reportados y esto se puede atribuir al tipo de bacteria utilizada en esta investigación y al proceso de centrifugación que ellos utilizaron para elaborar su yogurt.

### Leche pasteurizada

### Leche ultra pasteurizada



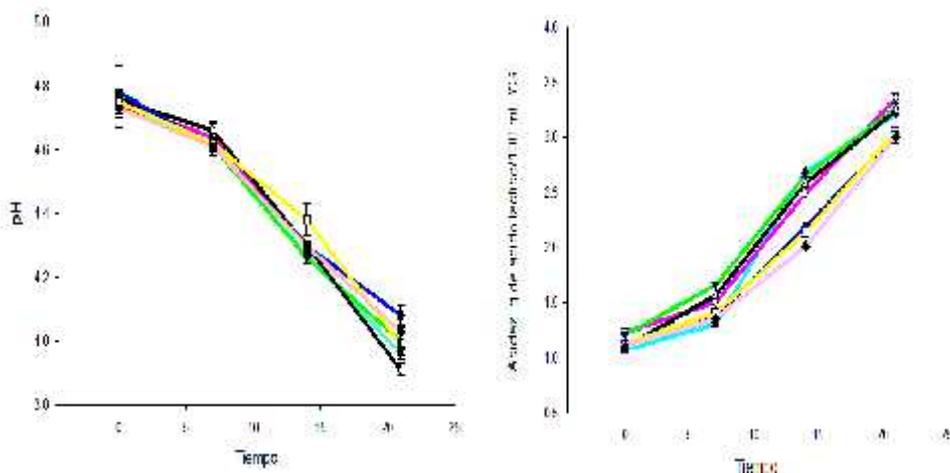
**Figura 30** porcentajes de sinéresis en yogurt griego adicionado con lactato de calcio en tres concentraciones.

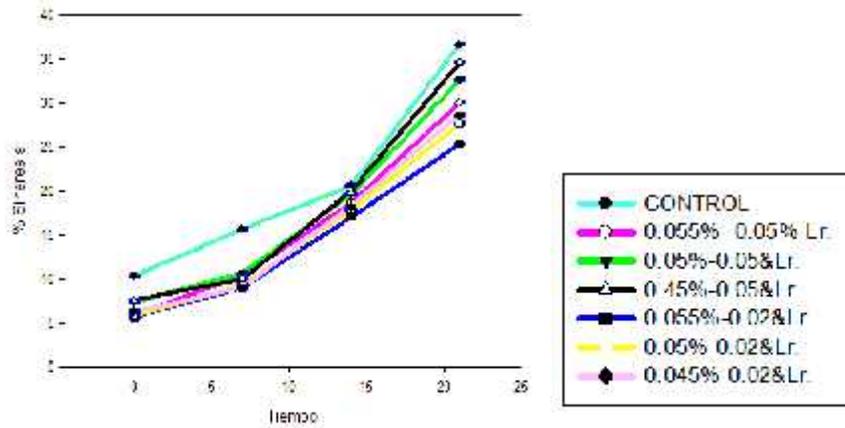


**Figura31** porcentajes de sinéresis en yogurt griego adicionado con *Lb.reuteri* en dos concentraciones

Se evaluaron las propiedades tecno funcionales en los yogures en donde se hizo la combinación del Lactato de calcio y *Lb. reuteri*, en los dos diferentes tipos de leche, en la figuras 32 y 33 se muestra los resultados obtenidos, en donde se obtuvieron diferencias significativas, la tendencia de la acidez fue aumentar y el pH fue en descenso. Al combinar el lactato de calcio y *Lb. reuteri* se observaron diferencias significativas al almacenamiento, sin embargo la combinación de ambos no logra causar diferencias entre los tratamientos en cuanto al pH. En la acidez se logra tener un aumento del 0.7% mayor en las muestras con leche pasteurizada y al hacer la combinación de ambos se genera un aumento de sinéresis al 8% comparado con los resultados anteriores sin hacer la combinación de estos. Aunque de acuerdo **Vélez-Ruiz et al [2001]** menciona que la grasa láctea puede reducir la sinéresis de yogurt.

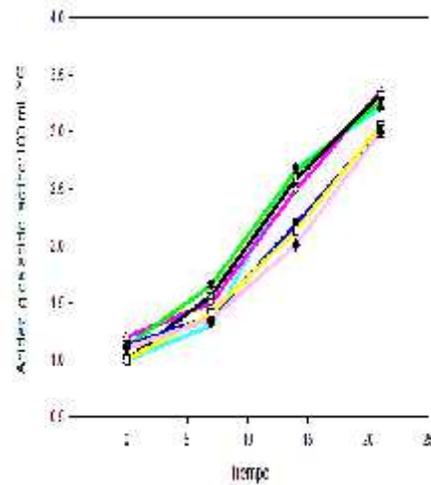
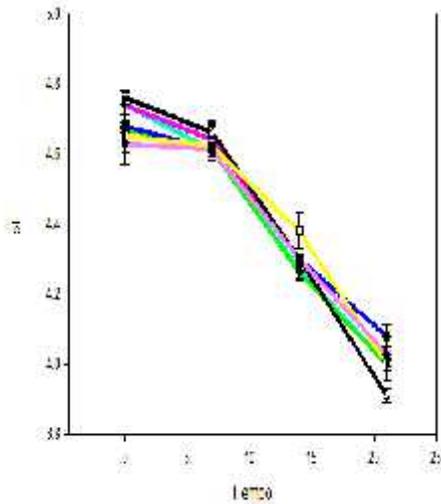
### Leche Ultra pasteurizada

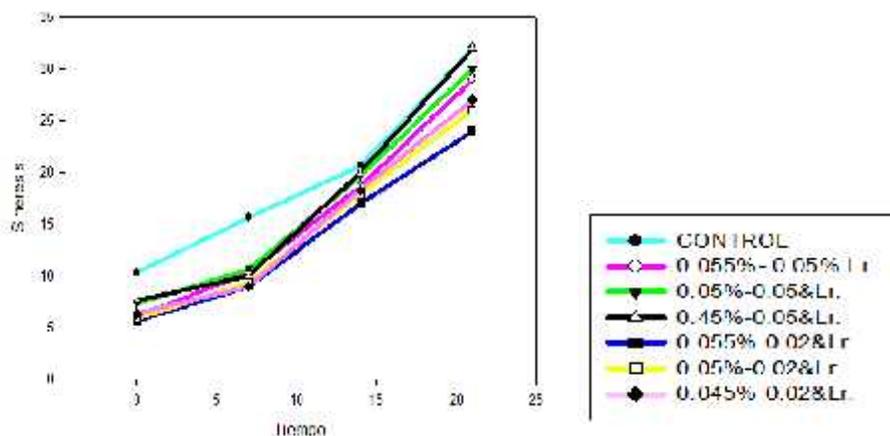




**Figura 32** pH, acidez y sinéresis de las muestras de yogurt griego adicionadas con Lactato de calcio y *Lb. reuteri*

### Leche Pasteurizada





**Figura 33** pH, acidez y sinéresis de las muestras de yogurt griego adicionadas con Lactato de calcio y *Lb. reuteri*

Se demostró que la adición del lactato de calcio genera cambios en cuanto a las propiedades tecnofuncionales en el yogurt griego, causando el aumento de pH y acidez, sin embargo al adicionar mayor concentración de lactato de calcio se tiene mayor retención de suero por lo que obtienen menores valores de porcentaje de sinéresis, siendo las mejores concentraciones de 0.05% y 0.55% de lactato de calcio comparado con la muestra control y al 0.045%. A si mismo al agregar *Lb. reuteri* la concentración al 0.5% causa mayores valores de acidez y sinéresis comparado con la muestra control, la concentración al 0.2% es la que mantiene los valores de pH y sinéresis similares a los obtenidos con las muestras de lactato de calcio. Por ello se concluye que la mejor concentración fue al 0.2% de *Lb. reuteri* y 0.05% y 0.055% de lactato de calcio.

## Etapa III

### 10.5 Evaluación de la viabilidad del *Lactobacillus reuteri* y diferentes concentraciones de calcio y mermelada de pitaya.

En esta etapa se evaluó la viabilidad *Lb. reuteri* en yogurt griego adicionado con mermelada de pitaya y calcio. El *Lactobacillus reuteri* se añadió antes del desuerado y después del desuerado. En este estudio se evaluó la viabilidad del *Lactobacillus reuteri* adicionado en un yogurt griego al 0.2% de *L. reuteri* a una cuenta inicial de  $10.3 \log \text{UFC/mL}$ , De acuerdo con **Speranza et al., [2017]** obtienen una cuenta viable inicial de aproximadamente  $8.5 \log \text{UFC / mL}$  aplicado en un queso crema.

#### 10.5.1 Viabilidad de *Lactobacillus reuteri* en yogurt griego con calcio.

La viabilidad del *Lactobacillus reuteri* en muestras de yogurt griego se obtuvieron conteos de células viables iniciales de  $10.4-10.2 \log \text{UFC/mL}$ , no encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos, ver (figura 34), en el día 7 se obtuvieron diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos, sin embargo al día 21 no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, obteniendo una cuenta final de  $9.2 - 9.9 \log \text{UFC/mL}$ , este descenso de UFC se puede deber a que los sólidos solubles presentes en el yogurt se fueron agotando con el tiempo de almacenamiento dejando a la bacteria prebiótica con pocas reservas de alimentación **[Rodríguez et al., 2012]**; estos valores oscilaron en un 24% a 13%, valores similares por lo encontrado por **[Desai et al., 2013]** quien tuvo valores de sólidos solubles de 15 a 23% en yogures griegos comerciales.

La adición de *Lb. reuteri* antes o después del desuerado no causa diferencia significativa conforme al tiempo, esto sugiere que *Lactobacillus reuteri* queda

atrapado en la estructura física del yogurt la cual es una red de agregados de caseína, glóbulos de grasa y suero cuyos poros más grandes son de aproximadamente 10µm [Walstra .,20006].La adición de calcio no causo ningún efecto negativo en el desarrollo de la bacteria probiótica y se observó que había mejor desarrollo de colonias en las muestras con mayor porcentaje de calcio. De acuerdo con **Kaushik et al [2017]** informaron que la fortificación con lactato de calcio aumentó los conteos de lactobacillus y observaron diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento de *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* en yogurt fortificado con lactato de calcio y el yogur fortificado con gluconato de calcio durante el almacenamiento, observaron que la adición de sales de calcio disminuía el crecimiento de *S. thermophilus* y favoreció el crecimiento de *L. bulgaricus* en el tiempo de almacenamiento, y observaron que el día 7 los conteos microbianos fueron significativamente más altos que los conteos obtenidos durante la tercera y quinta semana para ambas bacterias. Autores como **Thomas Vado., [2015]** obtuvieron valores de  $9.34 \pm 0.21$  log UFC/mL para el día 1 y  $9.40 \pm 0.03$  log UFC/mL para el 30 días de almacenamiento logrando mantener su conteo de células viables en yogurt tradicional, valores similares en lo obtenido en esta investigación con las muestras con 0.05% y 0.045% con el *Lb. reuteri* adicionado después del desuerado.**Thomas Vado., [2015]** menciona que el *Lactobacillus reuteri* logra adaptarse a medios ácidos como el yogurt. Por otro lado **Garde et al., [2016]** elaboraron queso crema donde adicionaron *Lactobacillus reuteri* y lograron obtener una cuenta viable de 7.45 log UFC/mL en el día 1.Comparado con lo reportado en esta investigación, dicho autores se tiene una reducción de 2 ciclos logarítmicos de acuerdo con valores reportados en este trabajo. **Garde et al., [2016]** indica que *Lb. reuteri* puede resistir a diferentes temperaturas y pH, por lo que puede sobrevivir bien el proceso de elaboración del queso crema. Comparando con **Speranza et al.,[2017]**obtiene una cuenta viable de 9 log UFC/mL en 28 días de almacenamiento en un queso crema fresco observaron que *Lb. reuteri* resulta ser

viable para ser aplicado como probiótico ya que a temperaturas de refrigeración mantiene sus características sensoriales.

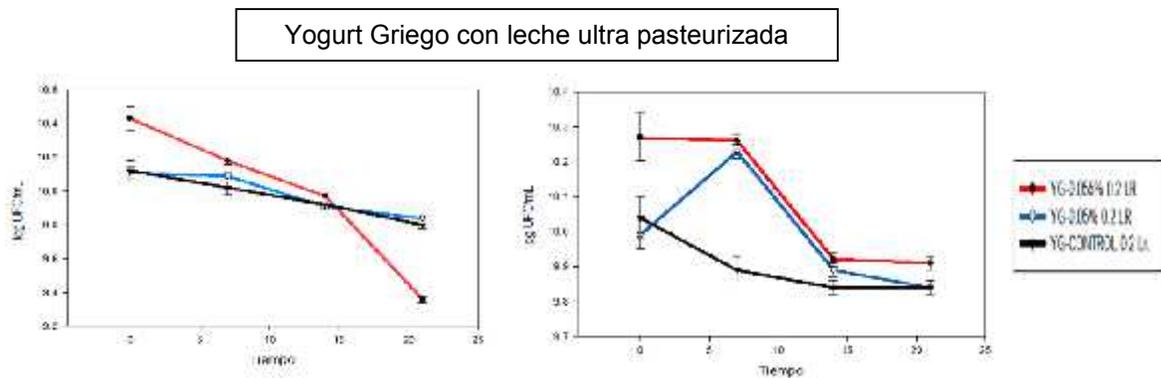


Figura 34 Viabilidad del *L. reuteri* antes del drenado Figura 34a Viabilidad de *L. reuteri* después del drenado

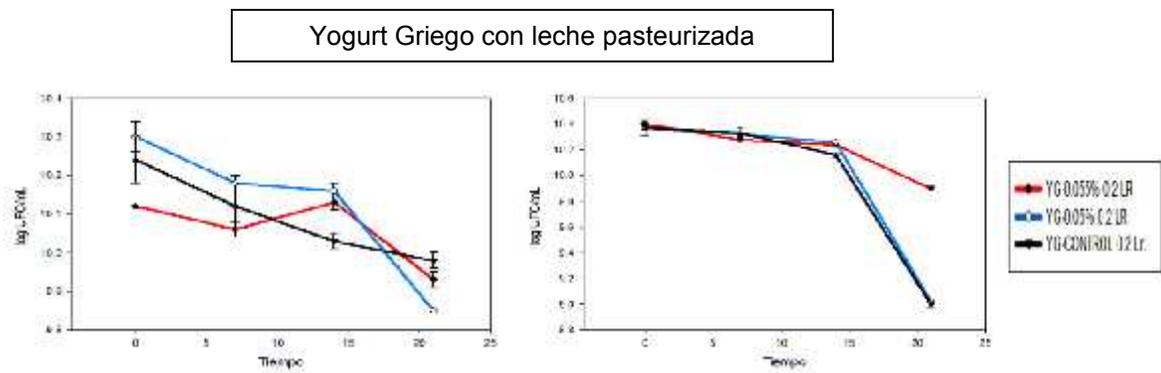
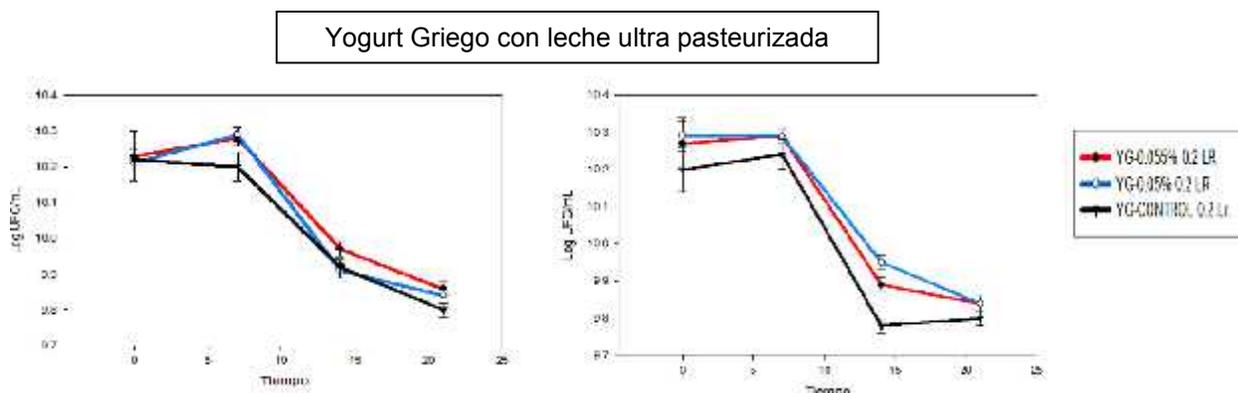


Figura 34b Viabilidad del *L. reuteri* antes del drenado Figura 34c Viabilidad de *L. reuteri* después del drenado

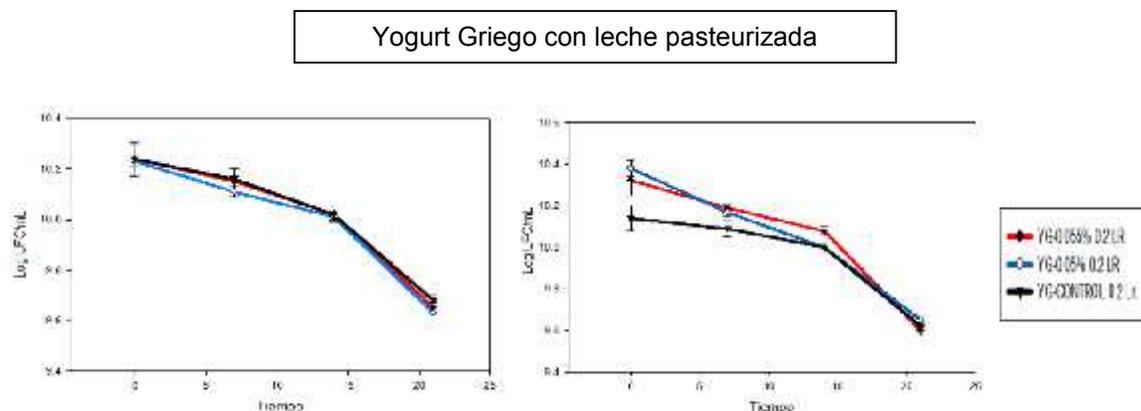
### 10.5.2 Viabilidad de *Lactobacillus reuteri* en yogurt griego con calcio y mermelada de pitaya

Al adicionar el 5% de mermelada de pitaya en yogurt griego, no se observan diferencias significativas entre los tratamientos durante el almacenamiento para los yogures elaborados con leche ultra pasteurizada y pasteurizada, sin embargo conforme al tiempo si hubo diferencias significativas en los yogures elaborados con leche ultra pasteurizada se observa que en los días 1 y 7 mantienen su cuenta viable de  $10 \log \text{ UFC/mL}$  este logra disminuir  $\leq 1 \log \text{ UFC/mL}$  en los días 14 y 21. Los yogures elaborados con leche pasteurizada tuvieron diferencias significativas conforme al tiempo ya que para el día 21 disminuyo  $\leq 1 \log \text{ UFC/mL}$  en todas las muestras. Se observa que las muestras elaboradas con leche pasteurizada logran mantener su cuenta viable hasta el día 14 de almacenamiento y se atribuye a la mayor cantidad de nutrientes que puede tener la leche pasteurizada, así mismo la cantidad de solidos solubles también se vio afectada estando en rango de 34% a 17% durante el almacenamiento, datos comparados con Sanhidere et al., [2013] obtuvieron valores iniciales de solidos solubles de 36% valores similares con este trabajo. Se deduce que la concentración al 0.2% de *Lactobacillus reuteri* resulta viable para ser utilizada como prebiótico en yogurt griego si se adiciona antes o después del drenado ya que no se encuentran diferencias significativas entre tratamientos y la adición mermelada de pitaya no causa alteraciones en la viabilidad del *Lb. reuteri*. Autores como **Perricone et al., [2014]** Reportan valores en jugos elaborados de manzana roja ( $8.22 \pm 0.07 \log \text{ UFC/mL}$ ), piña ( $8.60 \pm 0.4 \log \text{ UFC/mL}$ ), naranja ( $8.25 \pm 0.06 \log \text{ UFC/mL}$ ) frutos rojos ( $8.15 \pm 1.43 \log \text{ UFC/mL}$ ) donde observaron que la acidez alta y los pH bajos no afectaron el la viabilidad del *Lb. reuteri* y el medio más adecuado fue en jugo de piña. **Hekmat et al., [2009]** Elaboro una bebida fermentada de suero y observo que después de 28 d de almacenamiento en refrigeración el *Lactobacillus reuteri* tenía una buena estabilidad y viabilidad en productos lácteos fermentados de acuerdo con la recomendación de **FAO/WHO, 2002**  $10^7 \text{ UFC / mL}$ . También autores como **Mani López et al., [2014]** mencionan que la ingesta diaria de *Lb. reuteri* es importante para el consumidor y

que los yogures que contengan *Lb. reuteri* deben ser desarrollados y promovidos por la industria alimentaria ya que mantiene su cuenta viable  $\geq 10^7$  UFC / mL en 21 días.



**Figura 35** Viabilidad del *L. reuteri* antes del drenado **Figura 35a** Viabilidad de *L. reuteri* después del drenado



**Figura 36b** Viabilidad del *L. reuteri* antes del drenado **Figura 36c** Viabilidad de *L. reuteri* después del drenado

Al adicionar el 10% de mermelada en yogurt griego, se obtienen diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos durante el almacenamiento, las muestras con calcio logran mantener una buena cuenta viable, ya sea con el *L. reuteri* antes y después del desuerado comparado con la muestra control. En cuanto al tiempo de almacenamiento se obtienen diferencias significativas de igual manera la tendencia de la viabilidad es a disminuir, decayendo a partir del día 14 se

disminuye  $\leq 1$  log UFC/mL en los yogures obtenidos, llegando a mantener una cuenta viable de 9 log UFC/mL a los 21 días de almacenamiento. Se cree que a mayor concentración de mermelada de pitaya existe un efecto inhibitorio para el *Lactobacillus reuteri* y esto se puede atribuir a que al haber mayor porcentaje de azúcares puede existir una saturación de alimento en la bacterias, de igual manera la mermelada al estar endulzada con Stevia este a su vez puede tener cierto efecto inhibitorio en la viabilidad del *Lb. reuteri*. De acuerdo con **Lemus-Mondaca et al., [2012]** menciona que la Stevia tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de ciertas bacterias y otros organismos infecciosos. **[Mota et al., 2018]** reporta 8.6 log UFC/mL, los menores números de células viables de fueron *Lb. reuteri* con acetato, observaron un efecto inhibitorio por acumulación de este metabolito, ya que medida que el acetato aumenta hay mayor producción de glucosa y existir un reducción de bacterias llevando a una muerte celular. Sin embargo algunos estudios afirmaron que puede tener una influencia favorable en las tasas de crecimiento y los rendimientos energéticos de las bacterias del ácido lácticos. Por otro lado **[Fazilah et al., 2018]** menciona que la adición de cáscara liofilizada de piña y orujo aumentó el recuento de células de trescepas probióticas (*L. acidophilus*, *L. casei* y *Lactobacillus spp. paracasei*) por 0.3–1.4 ciclo de registro. Por ello al adicionar frutas en las formulaciones de yogurt, se puede crear un sabor atractivo al yogurt, mejorar su calidad, particularmente sus propiedades nutricionales.

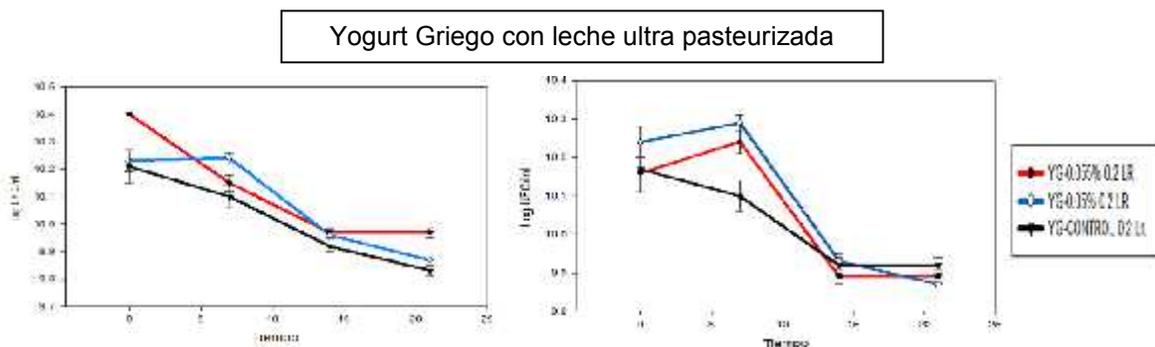


Figura 37 Viabilidad del *L. reuteri* antes del drenado Figura 37a Viabilidad de *L. reuteri* después del drenado

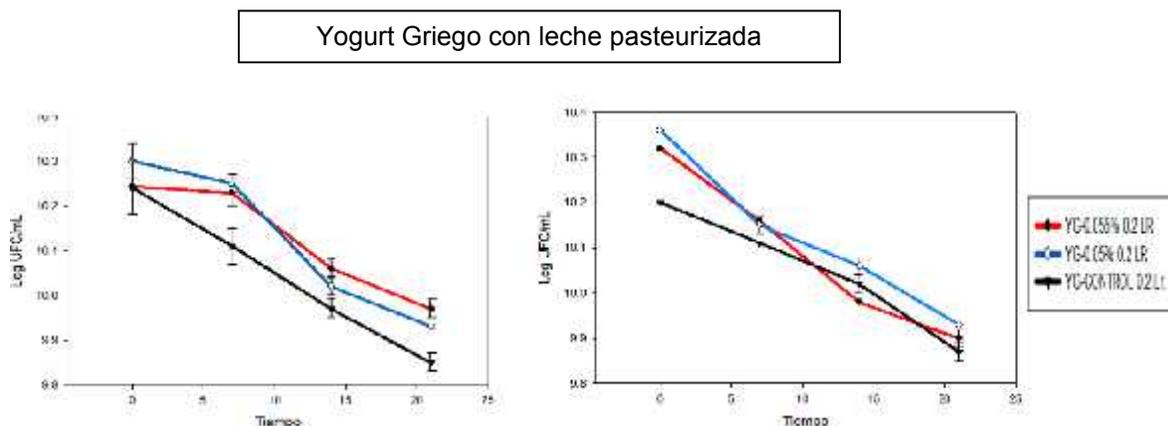


Figura 37b Viabilidad del *L. reuteri* antes del drenado Figura 37c Viabilidad de *L. reuteri* después del drenado

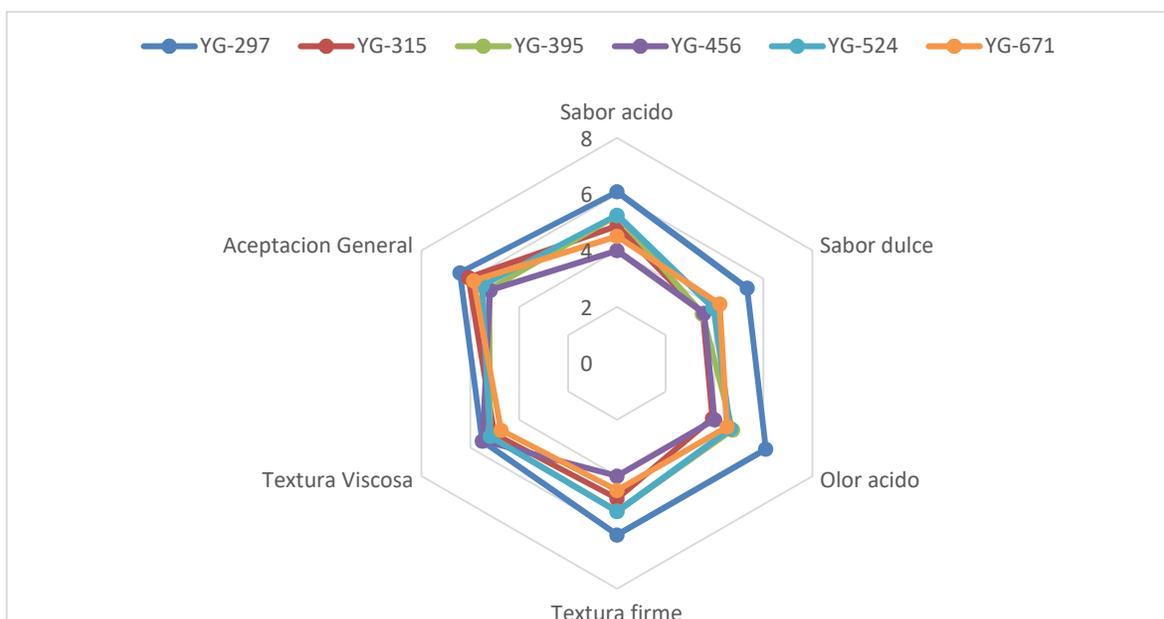
Se concluye que la adición de Lactato de calcio no afecta significativamente la viabilidad de *Lb. reuteri* en yogurt griego que es recomendable adicionar la mermelada de pitaya (*Stenocereus stellatus*) en concentraciones de 5 % ya que a estas condiciones favorece las condiciones de crecimiento del *Lb. reuteri*, así mismo la adición del probiótico antes o después del drenado resulta factible de ambas maneras.

## 10.6 Evaluación sensorial en yogurt griego adicionado con Lactato de calcio, mermelada de pitaya y *Lb.reuteri*

### 10.6.1 Evaluación sensorial de yogurt griego (Primera parte)

Las propiedades sensoriales de los productos lácteos dependen en gran medida sobre el equilibrio relativo de los compuestos de sabor derivados de Grasa, proteína o carbohidratos en la leche. El sabor distintivo De yogur es aportado por el ácido láctico y un complejo. Mezcla de compuestos aromáticos, que incluyen los volátiles, ya presentes en la leche y compuestos específicos producidos en la fermentación láctica [Sanlidere Aloçglu et al.,2013]. En esta investigación se evaluaron los parámetros sensoriales sabor, olor, textura y aceptación general en muestras de yogurt griego. Se evaluó el efecto de la adición del *Lb. reuteri* antes o después del drenado para descartar si no había algún resabio que afectara al yogurt sensorialmente y también se evaluó cual era la concentración de calcio que tenía mejor preferencia. En la figura 38 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación sensorial, en donde se evaluaron seis muestras de acuerdo a la siguiente relación: (456 YG-Control –*Lb.reuteri*–Antes del drenado), (395 YG - 0.055%LC,–*Lb.reuteri*–Antes del drenado), (524 YG- 0.05% LC –*Lb.reuteri* –Antes del drenado), (297 YG-Control-*Lb.reuteri*–Después del drenado), (315 YG-0.055%LC–*Lb.reuteri*–Después del drenado) y (671 YG-0.05%LC– *Lb.reuteri*–Después del drenado).

Se obtuvo en cuanto al atributo de textura las muestras con mayor firmeza fueron las 456 y 297 ambas muestras control, estadísticamente si se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos., ambas muestras con diferencias significativas. En cuanto a la viscosidad la muestra 424y 297 es la que tiene el mayor puntaje, pero estadísticamente no hay diferencias entre tratamientos. Se observa que la muestra 297 es quien mantiene la mejores características en cuanto a textura.



(456 YG-Control -*Lb. reuteri*-Antes del drenado), (395 YG -0.055%LC,-*Lb. reuteri*-Antes del drenado), (524 YG- 0.05% LC -*Lb. reuteri* -Antes del drenado), (297 YG-Control-*Lb. reuteri*-Después del drenado), (315 YG-0.055%LC-*Lb. reuteri*-Después del drenado) y (671 YG-0.05%LC- *Lb. reuteri*-Después del drenado)

**Figura 38** Evaluación sensorial primera parte

El atributo de olor ácido la muestra con mayor aceptación fue la 297 siendo estadísticamente diferente y con mayor aprobación en la demás muestras no se hallaron diferencias significativas. De acuerdo con la escala hedónica de 1 al 9 que iba del “me disgusta muchísimo al me gusta muchísimo”, ambos atributos de textura y el atributo de olor llegaron a tener una puntuación de 6, interpretado en la escala hedónica que fue del agrado ligeramente de los participantes. Sin embargo algunos participantes que el olor ácido era atractivo con cualidad del yogurt.

Los atributos de sabor ácido y dulce y la aceptación general, la muestra con mayor demanda fue la 297 ( YG-Control-*Lb.reuteri*-Después del drenado) siendo está más agradable para los consumidores. Se observó que las muestras 395 y 671 también fueron del agrado de los consumidores en cuando al sabor ácido, aunque en los comentarios se tienen algunas leyendas como “es muy ácido”y logra obtener un

puntaje de 5 de acuerdo con la escala se interpreta como “ni me gusta ni me disgusta”, sin embargo la acidez alta es un atributo del yogurt griego. A si mismo se sugirió servirse en temperaturas de refrigeración para resaltar las propiedades sensoriales del yogurt griego.

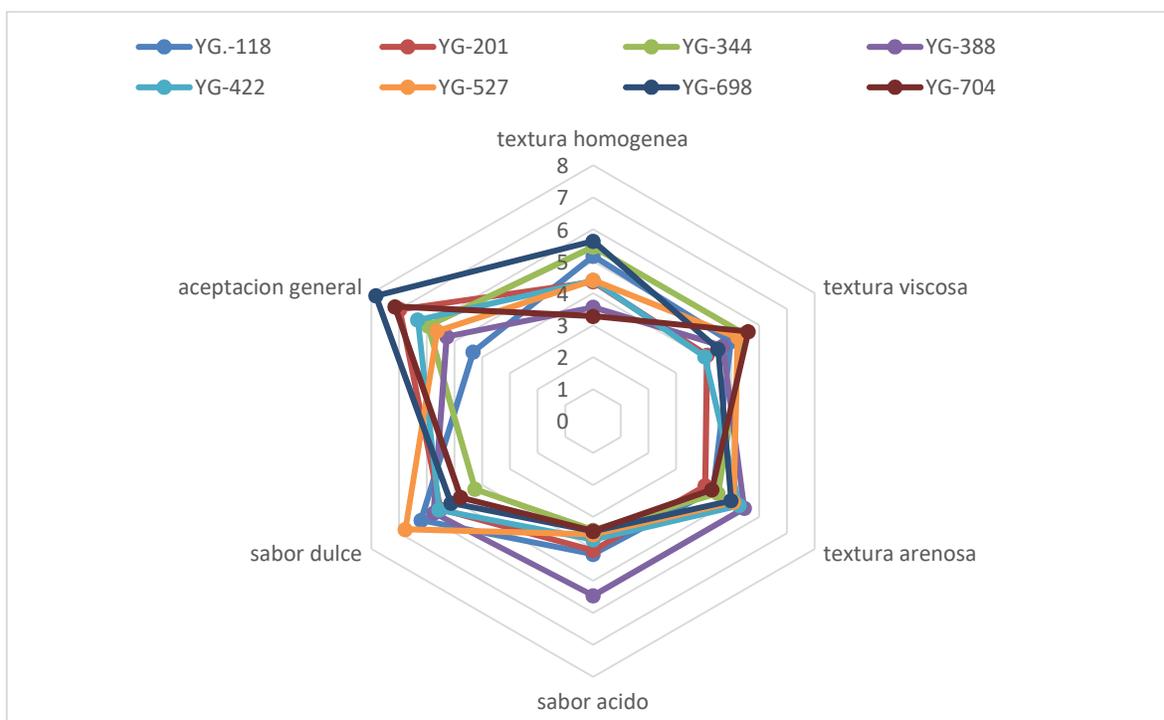
En cuanto al dulzor logra tener un puntaje 4 por lo que disgusta moderadamente, ya que ningún participante menciona que la muestra llegase a ser dulce la muestra seguida fue la 671, en los comentarios se sugirió la adición de edulcorantes o mermeladas con el fin de equilibrar el sabor acido con lo dulce.

En la aceptación general la muestra con mayor puntaje fueron la 297 y 315 con un puntaje de 6, seguida de la muestra 671 con un puntaje de 5, por lo que significa que las muestras llegaron a gustar ligeramente al consumidor, algunos comentarios fueron “la viscosidad y firmeza es muy agradable”, “el sabor es muy acido, agregar algún sabor”, “la apariencia es agradable”. De acuerdo con **Gurmeet et al., [2008]** observaron resultados similares, En su estudio ellos fortificación de yogurt natural con lactato a 50 mg Ca / 100 ml. No informaron cambios en las características sensoriales de yogurt natural fortificado con lactato de calcio del de control en cuanto a su consistencia, sabor, color y olor. El lactato de calcio puede impartir algunas notas amargas en productos lácteos en alta concentración. **Kaaki et al., [2012]** menciona junto con otro autores que los mayores puntajes en aceptabilidad de yogurt colado fueron las muestras, la razón principal de esto es probablemente que la textura de Labneh se ve favorecida por la grasa. A si mismo **[Lee., 2018]** menciona que al adicionar agente espesantes en este caso la pectina pueden llegar formar interacciones con la red tridimensional del gel formado retardando de esta forma la liberación de los componente asociados con el aroma. A si mismo menciona que la viscosidad y la consistencia de un yogurt se encuentran estrechamente relacionada con el nivel e interacciones de la proteína, donde tanto la cantidad como la proporción de sus fracciones tendrán influencia sobre la fuerza del gel formado. La adición del *Lactobacillus reuteri* no interfirió en las propiedades

sensoriales, así mismo se observó que la muestra con mayor concentración de calcio era la de mejor aceptación, por lo que eligió la concentración de 0.055% de lactato de calcio y la adición del *L. reuteri* después del drenado.

### 10.6.2 Evaluación sensorial de yogurt griego (Segunda parte)

Se evaluaron los parámetros sensoriales en yogurt griego fortificado con calcio al 0.055% y adicionado con mermelada de pitaya al 5 y 10%. Los atributos evaluados fueron textura homogénea, viscosa y arenosa, sabor dulce y ácido y la aceptación general. Se evaluaron ocho muestras, en donde las primera 4 muestras fueron elaboradas con leche ultra pasteurizada comercial, siguiendo la siguiente relación (**698** YG-Control– 5%de mermelada de pitaya), (**704**YG-0.055%LC– 5% de mermelada de pitaya), (**388** YG-Control –10 % de mermelada de pitaya), (**527** YG-0.055% LC –10% de mermelada de pitaya). Y las muestras elaboradas con leche fresca pasteurizada fueron las siguientes: (**201** YG-Control –5% de mermelada de pitaya), (**422** YG-0.055%LC –5% de mermelada de pitaya), (**118** YG-Control –10% de mermelada de pitaya), (**344** YG-0.055%LC –5% de mermelada de pitaya).



**698** YG-Control- 5% de mermelada de pitaya, **704** YG-0.055%LC- 5% de mermelada de pitaya, **388** YG-Control-10 % de mermelada de pitaya, **527** YG-0.055% LC -10% de mermelada de pitaya. Muestras elaboradas con leche fresca pasteurizada fueron las siguientes: **201** YG-Control -5% de mermelada de pitaya, **422** YG-0.055%LC-5% de mermelada de pitaya, **118** YG-Control -10% de mermelada de pitaya, **344** YG-0.055%LC -5% de mermelada de pitaya.

Figura 39 Evaluación sensorial de yogurt griego fortificado con calcio.

En la figura (39) se muestran los resultados obtenidos en la evaluación sensorial en donde se evaluó el efecto de la adición de la mermelada de pitaya en concentraciones al 5% y 10% de acuerdo a los atributos sensoriales y aceptación general. Se valoraron tres atributos de textura, el primero fue que tan homogénea era la muestra, en este parámetro se evalúa la dificultad en mezclar la mermelada de pitaya con el yogurt griego en donde la muestra con mayor aceptación fue la muestra 698 seguida de la muestra 344, obteniendo un puntaje de 5.5, interpretado en la escala significa "ni me gusta ni me disgusta", se encuentra diferencias

significativas entre tratamientos las demás muestras tuvieron puntajes de 3 y 4 , algunos comentarios expresados en cuanto a la homogeneidad fueron “ cuesta un poco de trabajo mezclar la mermelada con el yogurt”, “no logra quedar completamente homogéneo”. El segundo atributo de textura fue la viscosidad y se evaluó que tan viscosa llegaba hacer la muestra, en donde la muestra con mayor aceptación viscosidad fue 704 y 344 ambas muestras presentan diferencias significativas, logrando tener un puntaje de 5, interpretado como ni me gusta ni me disgusta”, las demás muestras se encuentran en un puntaje de 4, en cuanto a viscosidad los comentarios fueron “excelente viscosidad”, “muy viscosa pero agradable”. En el atributo de arenosidad, se evaluó la sensación arenosa que se tiene en el paladar a la hora de degustar el producto, en donde no se encontraron diferencias significativas, las muestras con mayor concentración de mermelada son las que presentan mayor arenosidad. El cuanto al atributo de sabor se evaluó el nivel de acidez y las muestras con mayor acidez fueron las muestras elaboradas con leche pasteurizada, sin embargo la muestra con mayor aceptación e acidez fue la muestra 388 logrando un puntaje 5, la demás muestran logran tener un puntaje de 3 y 4. En cuanto al dulzor se evaluó el nivel de dulzor en las muestras de yogurt encontrándose diferencias significativas entre tratamientos y las muestras con mayor concentración eran las que obtenían los niveles más altos de dulzor, sin embargo las muestras que más agradaron en cuanto a dulzor y acidez fueron las muestras con el 5% de mermelada de pitaya , en donde se obtuvieron los siguientes comentarios “ la muestra con más mermelada son muy dulces”, “el mucho el dulzor en algunas muestras”, “las muestras con menos mermelada tiene una combinación perfecta de acidez y dulce”. En la aceptación general se evaluó cual fue la muestra que más gusto a los participantes en donde la muestra 698 fue quien tuvo mayor puntaje de 8 interpretado en la escala hedónica significa que “gusta mucho”, la muestra en segundo lugar fue la muestra 704 con un puntaje de 7 interpretado como me “gusta moderadamente”, seguida de las muestras 201 y 422 quienes logran

tener una puntuación de 6, lo que significa que “gustaron ligeramente”. Las muestras con mayor aceptación fueron las que tenían el 5% de mermelada ya que esta concentración lograba equilibrar la acidez del yogurt y el dulzor de la mermelada, así mismo las muestras de yogurt elaboradas con leche ultra pasteurizada son quienes tienen mayor aceptación. Cabe mencionar que la adición de mermelada logra enmascarar el resabio a vaca de la leche fresca pasteurizada. Algunos comentarios generados en esta parte fueron “excelente producto para comercializar”, “tiene buena presentación”, “la mermelada logra dar un color rosa muy padre”, “en cuanto a apariencia y sabor es muy buena”.

### 10.7 Evaluación del Análisis Químico Proximal en yogurt griego adicionado con Lactato de calcio, mermelada de pitaya y *Lb.reuteri*

En esta sección se evalúa la composición química de los yogures griegos obtenidos se determinó el contenido de humedad, cenizas, grasas, proteínas y carbohidratos disponibles en los yogures griegos elaborados.

**Tabla 20** Evaluación de análisis químico proximal en yogurt griego

<i>Leches:</i>	<i>Leche pasteurizada</i>					<i>Leche Ultra pasteurizada</i>				
	<i>Humedad</i>	<i>Ceniza</i>	<i>Grasa</i>	<i>Proteína</i>	<i>Carbo.</i>	<i>Humedad</i>	<i>Ceniza</i>	<i>Grasa</i>	<i>Proteína</i>	<i>Carbo.</i>
Lotes	<i>ad</i>	<i>(b.s)</i>	<i>(b.s)</i>	<i>(b.s)</i>	<i>(b.s)</i>	<i>ad</i>	<i>(b.s)</i>	<i>(b.s)</i>	<i>(b.s)</i>	<i>(b.s)</i>
YG- control	66.0 ± 0.0 a	1.0 ± 0.0 a	11.2 ± 0.0 ab	19.4 ± 0.9 a	68.3 ± 0.8 a	68.3 ± 0.3 a	1.0 ± 0.1 a	11.8 ± 0.0 a	12.6 ± 0.5 a	75.0 ± 0.9 a
YG- 0.055%	63.4 ± 1.7 ab	1.1 ± 0.6 a	10.9 ± 0.6 b	18.7 ± 0.4 ab	70.0 ± 0.9 a	71.7 ± 0.9 a	0.9 ± 0.3 a	9.7 ± 0.5 b	13.1 ± 0.1 a	77.0 ± 0.9 a
YG-control- 5% Pitaya	60.9 ± 0.1 b	1.0 ± 0.0 a	11.4 ± 0.4 ab	19.0 ± 1.2 a	69.3 ± 1.0 a	68.3 ± 1.0 a	0.8 ± 0.0 a	10.2 ± 0.3 ab	11.4 ± 1.4 a	77.9 ± 0.2 a
YG-0.055%- 5% Pitaya	64.0 ± 1.4 ab	1.0 ± 0.0 a	11.0 ± 0.2 ab	17.9 ± 0.4 b	70.3 ± 0.8 a	70.3 ± 0.8 a	1.0 ± 0.1 a	10.6 ± 0.6 ab	13.7 ± 0.2 a	74.7 ± 0.1 a

Los resultados son el promedio ± la desviación estándar de análisis por triplicado. Letras minúsculas indican que hay diferencia significativa [p≤0.05] conforme a tratamientos. Letras mayúsculas indican que hay diferencia significativa [p≤0.05] conforme al tiempo de almacenamiento.

En la tabla 20 se muestran los resultados obtenidos en el análisis químico proximal en yogurt griego utilizando un control, un tratamiento con lactato de calcio (0.055%) y 0.2% de *Lb.reuteri*, y los tratamientos adicionados con calcio, *Lb. reuteri* y mermelada de pitaya en al 5%. Se evaluó la humedad de los yogures griegos obtenidos y se encontró que la humedad se encuentra en un intervalo de 60-68%, observándose mayor humedad en los yogures obtenidos con leche ultra pasteurizada se puede atribuir a que las leches comerciales pueden traer agua añadida en su formulación, sin embargo entre los tratamientos no hallaron

diferencias significativas. Autores como **Gangini et al .,[2017]** obtuvieron un  $65 \pm 0.1$  de humedad en yogurt griego con leche de vaca. Por otro lado **Serhan et al.,[2016]** tuvo un  $65 \pm 0.09$  de humedad en yogurt griego.

En la cuantificación de cenizas que es la estimación de minerales presente en la muestra se obtuvieron valores de 0.9- 1.0 en yogures elaborados con leche ultra pasteurizada y 0.9-1.2 yogures elaborados con leche pasteurizada y no se encuentran diferencias significativas entre tratamientos para ambos tipos de leche. Comparando con autores como **Abu-jdayil et al [2002]** obtuvo un  $1.35 \pm 0.06$  de cenizas y **Serhan et al.,[2016]** obtuvo el  $1.16 \pm 0.02$  de cenizas en sus formulaciones. Ambos valores similares con los obtenidos en yogures elaborados con leche pasteurizada.

El porcentaje de grasa fue muy similar para ambos tipos de leche encontrándose en un rango de 10.8 a 11.8, en donde no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, al adicionar la mermelada de pitaya puede aumentar ligeramente el porcentaje de grasa y esto es debido a los ácidos grasos presentes en la semilla de la pitaya. Autores como **Gangini et al .,[2017]** obtuvo un  $8.6 \pm 0.33$  de grasa valores por debajo en lo reportado en esta investigación, **Serhan et al.,[2016]** obtuvo el  $9.25 \pm 0.16$  , y **Farkyte et al [2017]** reporto valores de grasa 10.70, valores similares con lo reportado en esta investigación. De acuerdo con **Sumarmono et al., [2014]** reporto que detectaron 26 ácidos grasos en yogurt concentrado, compuestos por grasas saturadas e insaturadas, encontrándose en mayor concentración el ácido oleico, el ácido esteárico y el ácido palmítico fueron los principales ácidos grasos encontrados.

En cuanto a la evaluación de la proteína se observaron porcentajes altos de proteína en los yogures elaborados con leche pasteurizada en un intervalo de 17 a 19% en comparación con los yogures obtenidos con leche ultra pasteurizada ya que obtuvieron valores de 11.8 – 13.7%, sin embargo entre los tratamientos no se encontraron diferencias significativas. Comparando con autores como **Gangini et**

al.[2017] obtuvo un valor de proteína de  $9.98 \pm 0.33$  y **Kaaki et al.,[2012]** obtuvo un valor de  $8.63 \pm 0.06$ , valores por debajo comprado con esta investigación esto se puede atribuir a la calidad nutricional de la leche con la que se trabajó. Y comparado con y **Farkyte et al [2017]** reporta valores de 11.70 valores similares con lo reportado en esta investigación.

De acuerdo con los parámetros químicos obtenidos anteriormente se procedió a realizar un comparación con yogures que se encuentran a la venta actualmente y se obtuvo lo siguiente en cuanto al porcentaje de grasa cabe recordar que lo encontrado en este trabajo fue de 10 a 11%: **(Chobani: 1%), (Vitalinea: 01g), (Yoplait: 2.1 g), (Milboa gourmet: 9.8 g) y (Oikos: 1.9)**, se encuentran valores similares con el yogurt Milboa, la diferencia de contenido de grasa en yogurt comerciales y los yogures obtenidos se atribuye a que los yogures antes mencionados son bajos en grasa. Por otro el contenido de proteína en yogures comerciales es la siguiente **(Chobani: 38%), (Vitalinea: 5 g), (Yoplait: 10.2 g), (Milboa gourmet: 17.8 g) y (Oikos: 9.5)**, los yogures de la marca yoplait y Oikos resultan ser similares con lo obtenido ya que estuvo en un rango de 11 a 17%, por lo tanto los yogures elaborados se asemejan a la formulación de yogurt comercial Milboa, por que se concluye que los yogures obtenidos se pueden comercializar como yogurt griego gourmet debido a su alto contenido de proteínas.

### 10.8 Evaluación de color en yogurt griego

Los parámetros de color analizados en esta investigación fueron  $L^*$  (luminosidad de negro a blanco, 0 indica negro y 100 indica blanco),  $a^*$  (de rojo a verde, valores negativos indican verde y valores positivos indican rojo) y  $b^*$  (de azul a amarillo, valores negativos indican azul y valores positivos indican amarillo), se evaluaron dichos parámetros en yogurt griego control, con 0.055% de lactato de calcio y muestras con 5% de mermelada de pitaya en la Tabla 21. Se presentan los valores  $L^*$ , se observó que los yogures griegos elaborados con leche ultra pasteurizada son lo que mantiene el mayor porcentaje de luminosidad y esto se atribuir a los niveles de *b*-caroteno en vitamina A, glóbulos de grasa presente en la leche pasteurizada, ya que como esta no se sometió a un proceso de homogenización no hubo una reducción de diámetro de glóbulo de grasa como en la leche ultra pasteurizada [Walstra., 2006]. Se tiene que al adicionar el 5% de mermelada de pitaya la luminosidad de las muestras disminuye, tornándose la muestra a un color rosa en cuanto se mezcla el yogurt con la mermelada. Debido a esta tonalidad obtenida se determinó el parámetro  $a^*$  que va de rojo a verde, se muestra que la muestras de yogurt con lactato de calcio sin mermelada de pitaya, se obtienen valores negativos por lo que indican que se inclinan hacia una tonalidad verde, sin embargo las muestras con mermelada de pitaya son estadísticamente diferentes y obtienen valores positivos, por lo que indican que su tonalidad es dirigida hacia el color rojo, esto se atribuye a la tonalidad de la pitaya que es un tono purpura esto se atribuye a que la fruta de la pitaya poseen colorantes naturales, betalaínas, clorofilas, carotenoides y flavonoides [Mandujano., 2006]. En cuanto al parámetro  $b^*$  se tiene valores positivos por lo que todas las muestras se inclinan hacia el tono azul, esto se puede atribuir al proceso de estandarización de la leche esta tiende a obtener una coloración azulada [Walstra., 2006], sin embargo las muestras con mayor

intensidad de azul fueron las muestras con mermelada de pitaya, seguidas de las muestras obtenidas con leche pasteurizada.

**Tabla 21** Evaluación de color en muestras de yogurt griego naturales y con mermelada de pitaya

<i>MUESTRA</i>	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>
YG-L. Pas-control	77.1 ± 1.0ab	-0.29 ± 0.9 b	8.14± 1.3 a
YG-L. Pas-0.055%LC	70.1 ± 0.5 bc	-0.42 ± 0.1 b	7.24 ± 0.0 a
YG-L. Pas-0.055%LC-5% pitaya	65.3 ± 0.9 c	14.3 ± 1.4 a	0.33 ± 1.4 b
YG-L. UHT-control	81.7 ± 0.1 a	-0.87 ± 0.2 b	9.29 ± 0.1 a
YG-L.UHT-0.055%LC	71.1 ± 1.0 bc	-0.71 ± 0.2 b	7.97 ± 0.5 a
YG-L. UHT-0.055%LC-5% pitaya	62.5 ± 0.9 c	15.5 ± 0.3 a	-0.26 ± 0.2b

Los resultados son el promedio ± la desviación estándar de análisis por triplicado. Letras minúsculas indican que hay diferencia significativa [ $p \leq 0.05$ ]

conforme a tratamientos.

### 10.9 Evaluación de perfil de textura en yogurt griego

Se realizó un análisis de perfil de textura en donde se evaluaron los diferentes parámetros texturales tales como dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad en muestras de yogurt griego , en la tabla 22 se muestran los resultados obtenidos en esta investigación.

**Tabla 22** Análisis de textura en yogurt griego

<i>Tratamientos</i>	<i>Dureza</i> (N)	<i>Cohesividad</i>	<i>Adhesividad</i> (Kg m s-2)	<i>Elasticidad</i>	<i>Gomosidad</i> (Kg m s-2)	<i>Masticación</i> (Kg)
YG-L. Pas-control	37.8 ± 1.2 bc	0.63 ± 0.0 a	-15.89 ± 1.0 a	0.96 ± 0.0 cd	24.02 ± 0.7 ab	23.21 ± 0.6 c
YG-L. Pas-0.055%LC	59.4 ± 2.2 a	0.64 ± 0.2 a	-18.13 ± 0.9 a	1.04 ± 0.0 ab	38.22 ± 1.0 a	39.54 ± 0.9 a
YG-L. Pas-0.055%LC-5% pitaya	42.5 ± 2.7 b	0.83 ± 0.0 a	-15.89 ± 1.0 a	0.97±0.0a bc	35.50 ± 0.9 a	34.61 ± 0.4 ab
YG-L. UHT-control	18.5 ± 1.2 d	0.74 ± 0.1 a	-16.55 ± 1.0 a	0.93 ± 0.1 cd	13.80 ± 0.8 b	12.87 ± 0.9 c
YG-L.UHT-0.055%LC	24.7 ± 1.1 cd	0.72 ± 0.0 a	-19.56 ± 0.5 a	1.05 ± 0.4 a	18.06 ± 1.7 b	19.05 ± 1.5 c
YG-L. UHT-0.055%LC-5% pitaya	17.6 ± 0.4 d	0.67 ± 0.0 a	-19.56 ± 1.8 a	0.85 ± 0.0 d	11.93 ± 1.0 b	10.12 ± 0.5 c

Los resultados son el promedio ± la desviación estándar de análisis por triplicado. Letras minúsculas indican que hay diferencia significativa [p≤0.05]

conforme a tratamientos.

La dureza, definida como la cantidad de fuerza requerida para alcanzar un determinado el grado de deformación, es un parámetro comúnmente evaluado para determinar la textura del yogurt [Mousavi et al., 2019]. Los valores de dureza en las muestras estuvieron en el rango de 37.8 N a 59.4 N en muestras de yogurt griego

elaboradas con leche pasteurizada, teniendo el valor más alto en dureza con la muestra de yogurt griego con lactato de calcio, en cuanto los lotes elaborados con leche ultra pasteurizada el rango fue de 17.6 N a 24.7 N, se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, las muestras con leche pasteurizada son quienes muestran mayor dureza en su estructura, sin embargo también se observa que las muestras con adición del calcio proporciona una mayor dureza en las muestras y esto se puede atribuir a que los enlaces proteicos aumentan la elasticidad y dureza del gel [Damin et al., 2009], comparado con [Mousavi et al., 2019]. Obtuvieron valores de dureza en un rango de 21.68 N a 44.56 N en yogurt firme y observaron que al adicionar semillas de lino a muestras de yogurt llevaron a un aumento significativo en su dureza. Asimismo la dureza de leches fermentadas que contienen bacterias probióticas es altamente dependiente de la composición del cultivo arrancador, del contenido de proteínas del producto y el contenido de sólidos totales [Akalin et al., 2012] quien obtuvo valores de firmeza de 22 N a 34 N en un yogurt firme fortificado con caseinato de calcio, quienes observaron que al adicionar caseinato de calcio aumento la dureza del gel de yogurt.

La Gomosidad es considerada la energía requerida para desmenuzar un producto de consistencia semisólida este parámetro tiene un efecto indeseable en la apariencia y textura de un producto alimenticio de alto consumo como el yogurt [Mousavi et al., 2019]. Los resultados mostraron que la gomosidad del yogurt griego fue más alta para los yogures de leche pasteurizada en un intervalo de 38.22  $Kg\ m\ s^{-2}$  a 24.02  $Kg\ m\ s^{-2}$  y en yogures con leche ultrapasteurizada de 18.06  $Kg\ m\ s^{-2}$  a 11.93  $Kg\ m\ s^{-2}$ , teniendo diferencias significativas entre los tratamientos sin embargo la muestra control en leche pasteurizada llega ser similar estadísticamente a las muestras de yogurt con leche ultra pasteurizada. De acuerdo con [Azari-Anpar et al., 2016] obtuvo valores de 46  $Kg\ m\ s^{-2}$  a 51.33  $Kg\ m\ s^{-2}$ , valores por encima de lo encontrado en esta investigación esto se puede deber a los diferentes tipos de yogures utilizados en cada investigación, dicho autor también menciona que al

adicionar componente con mucílago a yogur reduce la adhesividad y la gomosidad del producto final. Por otro lado[Mousavi et al., 2019].Menciona que al adicionar linaza difería con las propiedades del yogurt probiotico, en este caso la adición de la mermelada podrá afectar en la gomosidad en especial por la semillas de la pitaya, ya que cuenta más trabajo deglutirla.

De acuerdo con la adherencia indica el poder requerido para vencer la fuerza del enlace entre la superficie del coágulo y la superficie de la material restante y la cohesión es la fuerza de los vínculos internos que forman la estructura de un producto [Mousavi et al., 2019].En cuanto a estos parámetros no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, se atribuye a la naturaleza de la matriz proteica es más responsable de cohesión en el yogurt griego [Akalin et al., 2012], quien obtuvo valores de 0.68 en cohesividad y en adhesividad  $-20.0 \text{ Kg m s}^{-2}$  a  $-32.0 \text{ Kg m s}^{-2}$  valores similares en este trabajo.

La elasticidad (elasticidad o recuperación) se define como la velocidad a la que el material deformado vuelve a su estado original (sin deformación después de que se elimina la fuerza externa [Azari-Anpar et al., 2017].

La masticabilidad es el tiempo (o la energía) requerido para masticar una muestra para reducir un estado listo para tragar; Está relacionado con la firmeza, la cohesión, y elasticidad[Azari-Anpar et al., 2017].Se observa que las muestras elaboradas con leche pasteurizadas tienen los valores altos en cuanto a la masticabilidad y esto se relaciona junto con su dureza y gomosidad ya que estas muestras fueron las más altas en estos parámetros.

### 10.10 Estimación de calcio en yogurt griego

Se determinó el contenido de calcio en las muestras de yogurt firme (antes de realizar el proceso de desuerado) y en yogurt griego en muestras control y las adicionadas con calcio. El éxito para la determinación de calcio depende principalmente del estricto cumplimiento de las condiciones prescritas para la precipitación del calcio [Davies and White., 1962]. En la tabla 23 se muestran los resultados obtenidos de la estimación de calcio en el día 1 y 15 de su elaboración.

Tabla 23 Estimación de calcio en muestra de yogurt griego

Tratamientos	Día 1		Día 15	
	Yogurt firme	Yogurt Griego	Yogurt Firme	Yogurt Griego
<b>Leche pasteurizada</b>				
Control	322.1 ± 2.8 d	247.2 ± 1.8 b	307.2 ± 3.9 c	243.4 ± 3.7 b
L. calcio (0.055%)	407.4 ± 9.7 c	349.8 ± 3.3 a	392.5 ± 0.7 b	332.1 ± 1.8 a
<b>Leche Ultra pasteurizada</b>				
Control	322.1 ± 9.7 d	258.13 ± 3.7 b	334.9 ± 3.7 c	256.0 ± 0.0 b
L. calcio (0.055%)	418.1 ± 7.3 c	349.87 ± 3.4 a	384.0 ± 4.6 b	328.5 ± 3.7 a

Los resultados expresan el contenido oxalato presente en la muestra, mL de Permanganato de potasio 0.1N equivale a 6.4 mg de Oxalato de calcio. Las letras significan diferencias estadísticas entre tratamientos.

Se observó que las muestras de yogurt firme tenían mayor contenido de calcio inicial de 322 mg/100 mL para ambas muestras control, y 407 mg/100 mL y 418 mg/100 mL para las muestras con lactato de calcio adicionado generando diferencias significativas entre los tratamientos debido a que ambos tenían diferente proceso de elaboración. Cuando el yogurt firme se sometió al proceso de drenado se perdieron cantidades de calcio en 72% aproximadamente en muestras control y un 60% en muestras con lactato de calcio, de acuerdo con los resultados se refuerza lo mencionado por Kaushik et al .,[2017]e n el proceso de elaboración del yogurt griego se llegan a perder minerales como sodio, potasio, calcio. Por otro lado Gurmeet et al., [2008] menciona que los ácidos grasos saturados y la fibra dietética

pueden reducir la biodisponibilidad del calcio formando complejos calcio insoluble. Se observa que a los 15 días de almacenamiento no existe una pérdida mínima de calcio de calcio, esto puede ser atribuido a la sinéresis generada durante el almacenamiento.

Observando que existen pérdidas de dicho mineral, haciendo la fortificación de calcio en yogurt se logró satisfacer 30% de la ingesta diaria de referencia (IDR) de 1000 mg de calcio por día para adultos en Estados Unidos de acuerdo con Instituto de Medicina, 1997, quien recomendó 500 mg de calcio por día para niños de 1 a 3 años, 800 mg de calcio por día para niños de 4 a 8 años y 1300 mg de calcio para niños de 9 a 18 años, 1000 mg por día entre 19 y 50 años incluyendo período de embarazo y lactancia y 1200 mg por día [Gurmeet et al., 2008]. Comprando resultados con autores como Gurmeet et al., [2008] obtuvo un 384.62mg/100 mL en un yogurt fortificado con 50 mg Ca / 100 ml, valores similares con lo reportado en este trabajo, dichos autores observaron que el lactato de calcio no intervenía en la consistencia, sabor, color y olor de yogurt, así mismo informaron no existía diferencias sensoriales en cuanto al yogurt fortificado con el control. Por otro lado Aportela et al., [2005] obtuvo 203 mg Ca / 100 ml en un yogurt tradicional sabor piña colada fortificado con 50 mg / 100 ml de citrato de calcio, valores por debajo por lo reportado y esto se atribuye a la diferencia de sales utilizadas en cada trabajo

### 10.11 Determinación de viscosidad en yogurt griego

Se determinó la viscosidad en las muestras de yogurt griego con calcio y con mermelada de pitaya en día 7 de almacenamiento, en la tabla 24 se tienen los valores obtenidos de viscosidad de acuerdo con viscosímetro de Brookfield®, en donde los resultados se expresan en cP.

Tabla 24 Viscosidad de yogurt griego datos expresados en centipoise (cP)

<i>Tratamientos (Yogur Griego)</i>	<i>Día 1 cP</i>	
	<i>Lche UHT</i>	<i>Leche pasteurizada</i>
Control	14.96 ± 0.7 b	39.84 ± 1.5 a
<i>L. calcio (0.055%)</i>	7.15 ± 0.0 c	42.93 ± 1.1 a
<i>L. calcio (0.055%) y 5% M. pitaya</i>	4.54 ± 0.0 c	9.61 ± 0.1bc

Los resultados son el promedio ± la desviación estándar de análisis por triplicado. Letras minúsculas indican que hay diferencia significativa [ $p \leq 0.05$ ] conforme a tratamientos.

Se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos obtenidos, se observó que los yogures elaborados con leche ultra pasteurizada tienen una viscosidad baja comparado con los elaborados con leche pasteurizada, la viscosidad menor se encuentra en los yogures adicionados con mermelada de pitaya, también se observa que el tratamiento control en yogurt con leche UHT es más viscoso que el adicionado con calcio, esto se puede atribuir a la sinéresis generada en yogurt por el almacenamiento. En cuanto los yogures elaborados con leche pasteurizada se tienen valores más altos en viscosidad, esto se puede deber a la presencia de los sólidos solubles presentes en la leche fresca, de acuerdo con **Abu-jdayil et al., [2002]**, ellos encontraron que las tasas relativas de aumento del gel se debe al contenido de proteínas presente en el medio, indican que el periodo de almacenamiento el reordenamiento de proteína continúa creando una red de pro

teinas por tanto este puede la causa de aumento de viscosidad en el yogurt, obtuvieron un viscosidad aparente en un 82.71 cP en yogurt griego elaborado con leche de cabra. Por otro lado **Mohameed et al., [2004]** obtienen valores de viscosidad de 49.81-63.98 cP en yogurt griego con una concentración de sólidos totales 20%, indican que la concentración de sólidos es un importante factor de calidad y puede afectar la aceptación final de Labneh por el consumidor, mencionan que la viscosidad baja puede deberse a la destrucción de las interacciones dentro de las estructuras del gel. Asimismo mencionan que el uso de una bolsa de tela retenía mayor contenido de proteínas y grasas,

## **CONCLUSIONES**

## 11. CONCLUSIONES

# RECOMENDACIONES

## 12. RECOMENDACIONES

# BIBLIOGRAFIA

## 13. BIBLIOGRAFÍA

1. A.O.A.C. (1997). Official Methods of Analysis (19<sup>th</sup> ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
2. A.O.A.C. (2005). Official Methods of Analysis (19<sup>th</sup> ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
3. Agudelo Gomez Davier Antonio, Beyoda Mejia Oswald. (2005) Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Revista Lasallista del Investigación, vol. 2, pág. 38-42 .
4. Al-Kadamany E., Toufeili I.,Khattar M., Abou-Jawdeh Y.,. Harakeh S, y Haddad T. (2002) Determination of Shelf Life of Concentrated Yogurt (Labneh) Produced by In-Bag Straining of Set Yogurt using Hazard Analysis, J. Dairy Sci. , vol. (85) 1023–1030
5. Arun Kilara ,Ramesh C. Chandan (2013) Greek-style yogurt and related products *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, Second Edition. Edited by Ramesh
6. Bong D. D and Moraru C. I. (2013) Use of micellar casein concentrate for Greek-style yogurt manufacturing: Effects on processing and product properties, American Dairy Science Association, vol (97) 1259–1269.
7. Cabrejas M., (2017). “Potencial probiotico de *Lactobacillus reuteri* y aplicación de reuterina como bioconservante alimentario”, Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Esp,
8. Casas Ivan A y Dobrogosz Walter J.
9. Codex Alimentarius, (2003). Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Committee on Pesticide Residues, 35th Session, Rotterdam, The Netherlands, 31 March - 5 April 2003
10. Cruz, A.G., Buriti, C., Souza, CBH, Faria, JAF, & Saad, SMI (2009). Probiotic cheese: American Dairy Science Association, vol (97) 1245–1252
11. D. T. Davies y J. C. D. White (1962) The determination of calcium and magnesium in milk and milk diffusate. Pag. 285-294
12. Dal Bello, B., Torri, L., Piochi, M., Zeppa, (2015). Healthy yogurt fortified with omega-3 from vegetable sources. American Dairy Science , pag.1-11
13. Damin M.R., Alcantara A.P. Nunes M.N. (2009) Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt, LWT - Food Science and Technology 42 (1744–1750).

14. Desai, N. T., Shepard, L., & Drake, M. A. (2013). Sensory properties and drivers of liking for Greek yogurts. *Journal of dairy science*, vol (96) 7454-7466.
15. FAO (2011) Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos, © World Gastroenterology Organisation.
16. FAO (2015). FAOSTAT: statistics division. Food and agriculture organization of the United Nations 2010. [cited 2015 July 31]. Available from: < <http://faostat.fao.org/> > . FAO/WHO (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint
17. FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy; World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland
18. Fazilah, NF, Ariff, AB, Khayat, ME, Rios-Solis, L., y Halim, M. (2018). Influencia de los probióticos, prebióticos, simbióticos y fitoquímicos bioactivos en la formulación de yogurt funcional. *Diario de alimentos funcionales*, 48, 387-399. doi: 10.1016 / j.jff.2018.07.039
19. Gangani Uduwerella, Jayani Chandrapala, Todor Vasiljevic (2017) Minimising generation of acid whey during Greek yoghurt manufacturing, *Journal of Dairy Research* , Vol. (84) 346–354.
20. Garde S., Gomez N., Delgado D., Gaya P. (2016)., “Influence on reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* couple with glicerol on biochemical, physical and sensory properties of semi- hard milk cheese”, *Food research international*, Vol. 16, 363-369,
21. Guggisberg, D., Piccinali, P., y Schreier, K. (2011). *Efectos de la sustitución de azúcar con las combinaciones de Stevia, Actilight™ y Stevia o Palatinose™ en las características reológicas y sensoriales del yogur con leche entera y baja en grasa. International Dairy Journal*, 21 (9), 636–644. doi: 10.1016 / j.idairyj.2011.03.010
22. Gurmeet S., Kasiviswanathan M, (2008).. “Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yogurt”. *Journal of dairy science*. LWT, vol 41, 1145-1152,
23. Gyawali Rabin, Ibrahim Salam A (2016) Effects of hydrocolloids and processing conditions on acid whey production with reference to Greek yogurt, *Trends in Food Science & Technology* 56 (61-76).
24. Hekmat S., Soltani H., Gregor R., (2009).”Growth and survival of *Lactobacillus reuteri* RC-14 and *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 in yogurt for use as a

- functional food”, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* vol. 10, 293–296.
25. Jovanovic, S., Barac, M., Macej, O., Vucic, T., & Lacnjevac, C. (2007). SDS–PAGE analysis of soluble proteins in reconstituted milk exposed to different heat treatments. *Sensors*, 7, 371–383.
  26. Kaaki D., Kebbe Baghdadi O., Najm N. E., y Olabi A. (2012) Preference mapping of commercial Labneh (strained yogurt) products in the Lebanese market, *J.Dairy Sci.* Vol. (95) 521–532.
  27. Kaushik R., and Arora S., (2017) “Effect of calcium and vitamin D2 fortification on physical, microbial, rheological and sensory characteristics of yogurt”. *International Food Research Journal* vol. 24, 1744-1752
  28. Knipschildt M. E., Robinson R. K., (2006) "Drying of Milk and Milk Products." en ed., *Modern Dairy Technology*, vol. 1, Elsevier Applied Science Publishers, London, , p. 131.
  29. Langa Susana. Landete José M, -Cabrejas Izaskun Martín, Rodríguez Eva, Arqués Juan L \*Margarita Medina (2013) In situ reuterin production by *Lactobacillus reuteri* in dairy products , *Food Control* Vol. (33) 200-206
  30. Lau lee (2018), *caracterización sensorial del yogurt griego disponible en el mercado costarricense, tesis de licenciatura en alimentos , universidad Rodrigo Facio, San José Costa Rica*
  31. Lemus-Mondaca R., Vega A., Zura L. (2012)., “*Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high potency natural sweetener: an exhaustive review on the biochemical, nutritional and functional aspects”. *Food Chemistry*, vol. 132, 1121–1132,
  32. Leporante K (2001), Developing fermented milks into functional foods" *Innov. Food Technol.*, 10, 46-47.
  33. Mani-López , E., Palou E., y López A., (2014) “Probiotic viability and stability in storage of yoghurts and fermented milks prepared with various mixtures of lactic acid bacteria”. *Journal of Dairy Science*, vol 97, 2578-2590.
  34. Melethayil G.H., Metzgei L.E, Hasmukh Apatel (2016) Influence of hidrodinamic cavtation on the reological propiedades and microstruture of formulated Greek-style yogurt. *Journal of Dairy Science*. Vol 99 , No.11.
  35. Milani, J., & Maleki, G. (2012). *Hydrocolloids in food industry* (pp. 17e38). Croatia: Food Industrial Processes Methods and Equipment, InTech
  36. Ming Ye, Li Ren, Yanna Wu, Yan Wang, Yong Liu. (2013). Quality characteristics and antioxidant activity of hickory-black soybean yogurt. *LWT Food Science and Technology* 51 (314-318).

37. Moreno Castillo Vivian Julissa (2013) Efecto de tres concentraciones de grasa y dos niveles de acidez en un yogur estilo griego, Tesis de licenciatura, Universidad de Zamora, Honduras.
38. Mota, MJ, Lopes, RP, Sousa, S., Gomes, AM, Delgadillo, I. y Saraiva, JA (2018). Crecimiento y fermentación de *Lactobacillus reuteri* bajo alta presión hacia la producción de 1,3-propanodiol. *Internacional de Investigaciones sobre Alimentos*.
39. Narayanan, P., Chinnasamy, B., Jin, L., y Clark, S. (2014). El uso de escalas casi correctas y el análisis de penalizaciones para determinar las concentraciones apropiadas de edulcorantes de stevia para el yogur de vainilla. *Journal of Dairy Science*, 97 (6), 3262–3272.
40. NMX-F-387-1982. Alimentos. leche fluida determinación de grasa butírica por el método de Gerber. foods. fluid milk determination of butterfat by the Gerber method.
41. NMX-F-511-1988 Alimentos determinación de acidez en leche reconstituida. foods. acidity determination in reconstituted milk. normas mexicanas. dirección general de normas.
42. NMX-F-737-COFOCALEC-2009. Sistema producto leche-alimentos-lácteos-determinación de la densidad en leche fluida y fórmula láctea-método de prueba. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el 24 de Noviembre de 2009.
43. NOM-155-SCFI-2012. Leche, denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Publicada en el Diario oficial de la Federación el 3 de mayo de 2012.
44. NOM-243-SSAI-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
45. Ochoa Velasco Carlos Enrique, García Vidal Verónica, Luna-Guevara Juan José, Luna-Guevara María Lorena, Hernández Carranza Paola, Guerrero-Beltrán José Ángel. (2012) Antioxidant, physicochemical and microbiological characteristics of fermented and unfermented drink of three varieties of dragon fruits (*Hylocereus spp*). *Scientia Agropecuaria*, vol 3 pag. 279 - 289
46. Oliveira, M. N., Sodini, I., Remeuf, F., Tissier, J. P., & Corrieu, G. (2002). Manufacture of fermented lactic beverages containing probiotic cultures. *Journal of Food Science*, 67, 2336–2341.
47. Orozco-Alvarez Carlos\*, Cruz-Enriquez Anayanci, Martínez-Pacheco Viridiana, García-Salas Sergio y Hernández-Sánchez Enrique (2018) “ ultrafiltración en la elaboración de yogur estilo griego”, *Journal of Food Science* Vol. 3, 344-351

48. Ortiz- Rivera Y, R. Sanchez, N Gutierrez, J. Leon ,C.acosta (2016). Production of reuterin in a fermented milk product by *Lactobacillus reuteri*: Inhibition of pathogens , spoilage microorganisms, and lactic acid bacteria. *American Dairy Science Association* , vol (100) 1-11
49. Ozer R. A. ,Stenning A. y Grandison K (1999) Rheology and Microstructure of Labneh (Concentrated Yogurt) *Journal of Dairy Science* Vol. (82) 4-12
50. Ozturkoglu-BudakS., Akal C. y Yetisemiyen A. (2016) Effect of dried nut fortification on functional, physicochemical, textural, and microbiological properties of yogurt, *J. Dairy Sci.* 99 (8511–8523).
51. Perez-Loredo M., Ochoa F., Huerta E., "Comparative analysis of betalain content in *Stenocereus stellatus* fruits and other cactus fruit using principal component analysis", *International Journal of Food Properties* , vol.6, 1090-1099,(2015).
52. Perricone M., Carbo M., Sisiglagia M., Sparza, Belibacua A., "Viability of *Lactobacillus reuteri* in fruit juices", *Journal of functional foods*", Vol. 10, 421-426, (2014)
53. Pitts E., "The European Market for Dairy Ingredients," *Journal of the Society for Dairy Technology* 48, 79-85 (2013).
54. PROFECO (2006) Leches y fórmulas lácteas *Revista Consumidor*. México, Octubre: 47-59. [http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est\\_06/leche\\_oct06.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_06/leche_oct06.pdf). Fecha de consulta 10 de julio de 2013.
55. Rodríguez, K. (2016). Encapsulación de *L. reuteri* y un concentrado de fibra dietaria de bagazo de carambola en una matriz de alginato-xantana recubiertas con quitosano. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. México
56. Samia MA, Elrahman A, Said AAMM, Ibtisam ME, Zubeir E, Owni OOA, et al. (2009) Microbiological and physicochemical properties of raw milk used for processing pasteurized milk in blue Nile Dairy Company (Sudan). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3: 3433-3437.
57. Santos F, Vera JL, van der Heijden R,(2008) The complete coenzyme B12 biosynthesis gene cluster of *Lactobacillus reuteri* CRL1098. *Microbiology*;154(Pt. 1):81–93.
58. Secretaría de Economía. (2012). Análisis del sector lácteo en México. Dirección General de Industrias Básicas. México. [http://www.economia.gob.mx/\\_les/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/informacionSectorial/analisis\\_sector\\_lacteo.pdf](http://www.economia.gob.mx/_les/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf). Fecha de consulta 10 de julio de 2013.
59. Sevilla Kleen Diana Lucia ( 2009). Ecología microbiana de yogur: determinación de la dinámica poblacional de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y

*Streptococcus thermophilus* por medio de técnicas tradicionales y moleculares.  
Tesis de Maestría . Tecnológico de Monterrey , Mexico.

60. SIAP 2017

61. Sumarmonoa Juni, Sulistyowati Mardiatia, Soenarto (2015) Fatty Acids Profiles of Fresh Milk, Yogurt and Concentrated Yogurt from Peranakan Etawah Goat Milk, *Procedia Food Science* 3 ( 2015 ) 216 – 222

62. Tamime A., “Society of Dairy Technology, y Wiley Inter Science *Fermented milks*”.Oxford; Ames, Iowa: Black well Science/SDT.(2006).

63. Tamime A.Y, Robinson R.K (2000) Yogurt Science and Techonology, segunda edición , editorial CRC.

64. Tamime, A, Society of Dairy Technology, y Wiley InterScience (1999). *Fermented milks*. Oxford; Ames, Iowa: Blackwell Science/SDT.

65. Thomas Vado D.A. “Efecto de *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus reuteri* en las propiedades físico-químicas y sensoriales del yogurt. Tesis de maestría. Universidad autónoma de Honduras, Zamorano, HND.

66. Tobajas M., Mohedano A.F., Casas J.A., Rodriguez J.J. (2007) A kinetic study of reuterin production by *Lactobacillus reuteri* PRO 137 in resting cells, *Biochemical Engineering Journal* vol.35, 218–225

67. USDA (2011) Milk for Manufacturing Purposes and its Production and Processing, Recommended Requirements. Agricultural Marketing Service. Dairy Programs. E.E.U.U. 50p.

68. Villeda Fuentes C.M (2015) Elaboración de yogurt estilo griego con diferentes porcentajes de ATECAL , leche en polvo y horas de desuerado.

69. Walstra Pieter, Wouters Jan. Geurt, T.M., Tom J. (2006) Dairy Science and Techonology, segunda edición, editorial Taylor y Francis.

70. Weerathilake W.A.D.V, Rasika D.M.D. \*, Ruwanmali J.K.U. and. Munasinghe M.A.D. (2014) The evolution, processing, varieties and health benefits of he evolution. *International Journal of Scientific and Research Publications*, Vol (4), 2250-3153.

71. WHO Report of a join FAO/IAEA/WHO Study Group effect of the viability of probiotic bacteria. WHO Technical Report Series, 890.(1999).

# ANEXOS

## 14. ANEXOS

### **Cálculo de la equivalencia del volumen de Permanganato de potasio para obtener gramos de Oxalato de calcio.**

FORMULA DE LA NORMALIDAD:

$$g(Mx) = N_{\text{(titulante)}} * V_{\text{(titulante)}} * Meq_{\text{(Mx)}}$$

DONDE:

Mx = Oxalato de calcio ( $CaC_2O_4$ )

Titulante = Permanganato de potasio 0.1 N ( $KMnO_4$ )

Peso molecular de ( $CaC_2O_4$ ) = 128 g/mol

$$Meq = \frac{PM_{(Mx)}}{2000} = \frac{128 \text{ g/mol}}{2000} = 0.064$$

SUSTITUYENDO LOS DATOS EN FORMULA:

$$g = (0.1N) (1.0mL) (0.064)$$

$$g = 6.4 \times 10^{-3} \text{ g de Oxalato de calcio (6.4 mg)}$$

Equivalencia:

Cada mL de Permanganato de potasio 0.1 N equivale a 6.4 mg de Oxalato de calcio

**Anexo . Medio de cultivo Man, Ragosa y Sharp (MRS)**

<b>Reactivos</b>	<b>g/1000 mL</b>
Peptona de caseína	10
Extracto de levadura	5
Extracto de carne	10
Fosfato de potasio	6
Citrato de amonio	2
Dextrosa	20
Tween 80	1
Acetato de sodio	5
Sulfato de magnesio	0.575
Sulfato de manganeso	0.12
Agar Bacteriológico	10.5

**Anexo . Solución Reguladora Buffer de Fosfatos de Sorensen**

Preparar dos soluciones de 0.1 M de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (14.2 g/L) y de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (13.61 g/L), mezclar en las siguientes proporciones: 9:1 v/v de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Este regulador tiene un pH de 7.6.





