

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



**Desarrollo y evaluación de una bebida refrescante fermentada
elaborada a base de suero
dulce de quesería**

P o r:

Hugo Fredy Sánchez Abúndez

T E S I S

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de :**

Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

**Buenavista, Saltillo, Coah., México,
Octubre del 2002**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

**Desarrollo y evaluación de una bebida refrescante fermentada
elaborada base de suero
dulce de quesería**

Por:

Hugo Fredy Sánchez Abúndez

T E S I S

Que se somete a consideración del H. Jurado examinador
como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS.

APROBADA POR:

MC. Oscar Noé Reboloso Padilla
Presidente

MC. Xochitl Ruelas Chacon
Sinodal

MC. J. Moisés Rodríguez del Ángel.
Sinodal

LCN. Laura Olivia Fuentes Lara
Suplente

Ing. José Rodolfo Peña Oranday
Coordinador de la División de Ciencia Animal.

Buenavista, Saltillo, Coah., México, Octubre del 2002.

**“ Dejad que el alimento sea
vuestra medicina
y
que la medicina sea vuestro
alimento”**

**Hipócrates. 390 a. de C.
Padre de la medicina**

Artículo I. DEDICATORIA

Sección 1.01 A NUESTRO DIOS PADRE:

Por haberme dado la dicha de ver la luz del día y por ser el arquitecto de mi propio destino que se construye diariamente, de facilitarme de culminar una meta mas de la vida profesional, y por darme una vida satisfactoria con mi familia y demás amistades.

Con mucho cariño, respeto y orgullo a mis padres:

Sra. Hermila Abundez Mejía.

Sr. Guillermo Sánchez Burgos. (†).

A **él**, a quien de conocerlo poco, se enseñó a luchar contra los obstáculos de la vida, para alcanzar las metas y propósitos y gozar de ello. **Padre**, quien eres ejemplo de seguir de con orgullo y admiración. En donde estés, muchas gracias de corazón

A **ella**, que día a día a luchado y se ha preocupado para que nosotros sus frutos seamos personas compartibles en cualquier circunstancia. Gracias **Madre**, por tu apoyo incondicional y tu confianza que has depositado en mí en todo momento; que con la ayuda de tus rezos y suplicas me han motivado para salir adelante ante todo.

A mis abuelitos:

Irene Burgos (†)

Justiniano Sánchez (†)

Esperanza Mejía (†)

Leonardo Abúndez (†)

Por sus consejos bondadosos y su amor incomparable.

A mis hermanos:

Gil, Genaro, Manuel, Javier, Alicia, Guillermo, Justiniano, Oscar y Heidy Merary, quienes siempre han estado a mi lado y han respetado mis decisiones en cualquier circunstancia, siempre orientándome por el correcto camino, además de poner su grano de arena para finalizar un eslabón mas de la vida profesional.

A ti hermano, que me has enseñado a triunfar en la vida estando lejos de los seres mas queridos: Oscar.

A mis tíos (as):

Paz, Eloy, Hortensia, Catalina y Felipe, por estar siempre atentos a mis necesidades y por su confianza.

A mi novia:

Por compartir conmigo las alegrías y sufrimientos, siempre alentándome para superarme y por su amor incomparable. A mi amor: Raquel G. A.

A mis compañeros de estudio:

Iván Eloy, Juan, Elisa, Josefina, Miguel, Hernán David y Albertina, que con ellos conviví unos de los mejores recuerdos de universitario y por sus amistades.

A mis amigos universitarios:

Alexander C., Alfonso D., Álvaro P., Edgar Q., Elías, Carlos, Gerardo S., J. Ángel E., J. Guadalupe N., Machuca, Ma. Del Carmen D. Rene O., Rufino P., y Saray R., Alejandra T., por sus valiosas amistades y apoyos durante mi estancia en la universidad.

A mis amigos de siempre:

Fco. Javier B, Javier C., J. Pablo E., J. Refugio M, Conrado S. , J. Antonio S., J. Alberto., S. Homero y Ricardo G., que siempre nos hemos apoyado incondicionalmente y por tener una amistad de buenos colegas.

Artículo II.

Artículo III.

Artículo IV.

Artículo V.

Artículo VI.

Artículo VII.

Artículo VIII.

Artículo IX.

Artículo X.

Artículo XI.

Artículo XII.

Artículo XIII.**Artículo XIV.****Artículo XV. AGRADecIMIENTO**

A mí querida “Alma Terra Mater” por darme la oportunidad de prepararme profesionalmente en sus áreas de estudio como Ing. en Ciencia y Tecnología de Alimentos, de la cual me siento orgullosamente.

Mis mas sinceros agradecimiento **al MC. Oscar Noé Reboloso Padilla** por su valiosa confianza y amistad que me brindo durante mis estudios profesionales, especialmente en la asesoría en la elaboración de la presente investigación, sobre todo como un buen amigo.

A la MC. Xochitl Ruelas Chacón por su ayuda en la asesoría de aportaciones y sugerencia en la evaluación sensorial de la bebida.

Al MC. Jaime Moisés Rodríguez Del Ángel por su disponibilidad y prestación para realizar el análisis estadístico en la investigación.

A la LCN: Laura Olivia Lara Fuentes, por su colaboración en el análisis fisico-químicos de la bebida y en la revisión en el presente trabajo

A los Dpto. de Nutrición y Alimentos, y Producción Animal por facilitar las instalaciones de sus laboratorios para realizar el presente trabajo.

Al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología por el financiamiento otorgado para desarrollar el presente trabajo de investigación.

Al personal que colabora en el Esc. Prim. "Miguel Hidalgo" de Buenavista, Saltillo, Coah., especialmente a los niños que generosamente participaron en la evaluación sensorial de la bebida.

A todas aquellas personas que participaron desinteresadamente en las evaluaciones sensoriales para el desarrollo del estudio.

A las familias, Granados Aguilar, Montoya Galván, Morales Gutiérrez, Magallanes por brindarme su confianza y motivarme en todo momento durante mis estudios profesionales.

INDICE DELCONTENIDO

	Pag.
Dedicatoria	
Agradecimientos	
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
I INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	4
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
II REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. BEBIDAS	5

2.1.1.	Introducción	5
2.1.2.	Bebidas refrescantes	6
2.1.3.	Contenido nutrimental	6
2.1.4.	Bebidas funcionales	7
2.2.	SUERO DE LECHE	8
2.2.1.	Antecedentes	8
2.2.2.	Características	10
2.2.3.	Composición proximal	10
2.2.4.	Contenido nutrimental	11
2.2.5.	Propiedades funcionales	11
2.2.6.	Usos y aplicaciones	12
2.3.	BACTERIAS LÁCTICAS.....	14
2.3.1.	Introducción	14
2.3.2.	Clasificación	15
2.3.3.	Características	16
2.4.	PROBIÓTICOS	18
2.4.1.	Introducción.....	18
2.4.2.	Definición	20
2.4.3.	Composición	20
2.4.4.	Características de calidad	22
2.4.5.	Efectos benéficos	22
2.4.5.	Mecanismos de acción	24
2.5.	FERMENTACIÓN ALIMENTARIA.....	25
2.5.1.	Introducción	25
2.5.2.	Características	26
2.5.3.	Tipos de fermentaciones	27
2.5.4.	Fermentación láctica	27
2.5.5.	División de la fermentación láctica	28
III	MATERIALES Y METODOS.....	29
3.1.	Lugar	29
3.2.	Suero	29

3.3.	Cultivos iniciadores	29
3.4.	Materiales	31
3.5.	Equipo	31
3.6.	Metodología	31
3.6.1.	Análisis fisico-químico del suero	31
3.6.2.	Selección del cultivo iniciador	32
3.6.2.1.	Cinética de fermentación preliminar del suero..	32
3.6.2.2.	Recuento de microorganismos viables	32
3.6.3.	Desarrollo de las formulaciones y su respectivo análisis sensorial	33
3.6.3.1.	Primera etapa de formulaciones preliminares ...	33
3.6.3.2.	Segunda etapa de formulaciones preliminares.	35
3.6.3.3.	Tercera etapa de formulaciones de la bebida (final)	36
3.6.4.	Análisis fisico-químico de la bebida terminada	37
3.6.5.	Cinéticas de fermentación finales	39
3.6.6.	Cinéticas de crecimiento microbiano	39
3.6.7.	Estabilidad de la viabilidad bacteriana de la bebida Fermentada	39
3.6.8.	Diseño experimental	40
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1.	Análisis fisico-químico del suero	41
4.2.	Selección del cultivo iniciador	42
4.3.	Formulaciones y análisis sensorial de la bebida Fermentada	47
4.3.1.	Resultados de la primera etapa de formulaciones preliminares	47
4.3.2.	Resultados de la segunda etapa de formulaciones preliminares	47
4.3.3.	Resultados de la tercera etapa de formulaciones de la bebida (final)	48

4.4.	Análisis físico-químico de la bebida terminada	54
4.5.	Cinéticas de fermentación finales del suero	55
4.6.	Cinéticas de crecimiento microbiano	59
4.7.	Estabilidad de la viabilidad bacteriana de la bebida fermentada	62
V	CONCLUSIONES	66
VI	RECOMENDACIONES	67
VII	LITERATURA CITADA	68
VIII	ANEXOS	75
8.1.	Cuestionarios de la evaluaciones sensorial	75
8.2.	Análisis de varianza	85

INDICE DE CUADROS.

No.	Tema	Pag.
2.1.	Información nutrimental de una bebida refrescante en el mercado actual (naranjada)	7
2.2.	Composición proximal del suero dulce de quesería de la fabricación de queso panela (%)	10
3.1.	Formulaciones preliminares para la bebida refrescantes fermentada	34
3.2.	Formulaciones finales para el desarrollo de la bebida refrescantes fermentada a base de suero	36
4.1.	Composición química del suero dulce de quesería de la fabricación de queso panela (%)	41
4.2.	Comparación de medias de producción de acidez en las cinéticas de fermentaciones preliminares del suero a $38\pm 1^{\circ}\text{C}/8\text{hrs.}$ con los tres cultivos iniciadores.....	43
4.3.	Comparación de medias de aumento de acidez por hora en las cinéticas de fermentaciones preliminares del suero a $38\pm 1^{\circ}\text{C}/8\text{hrs.}$ con los tres cultivos iniciadores	44
4.4.	Recuento de microorganismos viables del suero fermentado a $38\pm 1^{\circ}\text{C}/8$ horas de los tres cultivos iniciadores incubados $38\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ horas	45
4.5.	Resultados de la evaluación sensorial de la bebida con jueces no entrenados en la primera formulación preliminar	47
4.6.	Resultados de la evaluación sensorial de la formulación final de	

	la bebida con adultos jóvenes (no entrenados) (%), a) Características: sabor, resabio y esencia., b) Características : acidez y dulzura	50
4.7.	Tablas de medias del análisis sensorial de la bebida final con jóvenes adultos de acuerdo a las características de sabor, resabio y esencia	52
4.8.	Comparación de medias del análisis sensorial de la bebida final con jóvenes adultos de acuerdo a las características de acidez y dulzura	52
4.9.	Resultados de la evaluación sensorial de la formulación final de la bebida con infantes (6-12 años)	53
4.10.	Tablas de medias de la evaluación sensorial con infantes	53
4.11.	Análisis fisico-químico de la bebida refrescante fermentada a base de suero de quesería (%)	54
4.12.	Comparación de medias de producción de acidez en las fermentaciones finales a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/5$ hrs	57
4.13.	Comparación de medias de aumento de acidez por hora en las cinéticas de fermentaciones finales a $40+1^{\circ}\text{C}/ 5$ hrs	57
4.14.	Recuento de microorganismos viables en suero (fermentado a $40+1^{\circ}\text{C}/ 5$ hrs., e incubado a $40+1^{\circ}\text{C}/48$ hrs. (ufc/ml))	58
4.15.	Tablas de medias del recuento de microorganismos de las cinéticas de fermentaciones del suero (fermentado a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/ 5$ hrs., e incubado a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ hrs., (ufc/ml))	58
4.16.	Comparación de medias de crecimiento microbiano del suero (fermentado a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/ 5$ hrs., e incubado a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ hrs., en la dilución 10^{-4})	61
4.17.	Comparación de medias de crecimiento microbiano del suero fermentado a $40+1^{\circ}\text{C}/ 5$ hrs e incubado a $40+1^{\circ}\text{C}/48$ hrs., en la dilución 10^{-5})	61
4.18.	Tablas de medias de la estabilidad de la viabilidad microbiana en la bebida fermentada (incubación a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ hrs., en la dilución 10^{-4})	64

4.19.	Tablas de medias de la estabilidad de la viabilidad microbiana en la bebida fermentada (incubada a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ hrs., en la dilución 10^{-5})	64
-------	--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

No.	Tema	Pag.
3.1.	Diagrama de flujo de elaboración de queso fresco	30
3.2.	Diagrama de flujo de la preparación de la bebida fermentada a base de suero de leche	38
4.1.	Cinética de fermentación de acidez del suero dulce de queso a $38\pm 1^{\circ}\text{C}/8$ hrs. de los tres cultivos iniciadores empleados	42
4.2.	Curvas de acidificación de bacterias lácticas (en leche esterilizada), a) Cultivo de especies mesófilas, a 30°C y b) Cultivo de especies termófilas, a 42°C	46
4.3.	comportamiento de las cinéticas de fermentaciones finales del suero a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/ 5$ hrs. en cinco lotes	55
4.4.	Comportamiento del promedio general de los cinco lotes de suero durante las cinéticas de fermentaciones finales a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/ 5$ hrs	56
4.5.	Comportamiento de las cinéticas de crecimiento microbiano del suero (fermentado a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/ 5$ hrs e incubado a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ hrs., (ufc/ml))	60
4.6.	Comportamiento de la viabilidad de microorganismos en la bebida preparada (incubación a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ hrs., en la dilución 10^{-4} (ufc/ ml))	62
4.7.	Comportamiento de la viabilidad de microorganismos en la bebida preparada (incubación a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ hrs, en la dilución 10^{-5} (ufc/ ml))	63

RESUMEN

En las últimas dos décadas, se ha venido incrementando significativamente el consumo de bebidas refrescantes, dirigidas principalmente al consumidor infantil. Así también, la producción y consumo de alimentos funcionales, entre ellos los alimentos probióticos.

El suero es un subproducto agroindustrial de la industria quesera, que presenta excelentes nutrientes, con un sinfín de usos. El suero, es un medio de cultivo apropiado para el desarrollo y crecimiento de bacilos lácticos y bífidos, para el uso de bebidas fermentadas, con propiedades probióticas. Es por ello, el interés de desarrollar y evaluar una bebida refrescantes fermentada con este subproducto líquido perecedero.

La composición proximal del suero dulce obtenido, resultó similar a lo reportado en la literatura, (Reboloso, et al, 1995 y Spreer, 1991).

En la etapa preliminar se prepararon tres cultivos iniciadores: CI 1, CI 2 y CI 3 con tres repeticiones cada uno. El suero fue pasteurizado a 94°C / 1minuto, para inocularlo al 4% a 38±1°C, y llevado a incubación por 8 horas a esta misma temperatura, tomando lecturas de acidez cada hora y al finalizar se cuantifico el número de células viables usando medio de cultivo para cuenta estándar. Donde el CI 1 fue notablemente mejor que los otros dos, alcanzando un máximo de 72°D y presentando valores de ufc/ml de similares a los productos comerciales (10⁸), respectivamente.

Posteriormente, se realizó la preparación de formulaciones para la bebida y respectivamente su análisis sensorial, con pruebas tipo afectivas (de

preferencia) en las dos primeras etapas. En la primera etapa preliminar se prepararon seis muestras diferentes, la de mayor agrado fue la # 6 (15% de sacarosa y 1% de sabor (concentrado de naranja) con 53.84% de preferencia. Esta formulación (# 6) se utilizó para la fabricación de las formulaciones de la segunda etapa, donde solamente se prepararon tres diferentes muestras. El objetivo de esta etapa, fue observar si el edulcorante aplicado pre - post de fermentación, acelera o inhibe la velocidad de acidificación del suero, y por supuesto la aceptación del consumidor. En esta etapa, y de acuerdo a los resultados, la fórmula #1, fue la más preferida. En la tercera etapa (final) de formulaciones, se prepararon tres muestras, con la formulación más aceptada de la segunda etapa, cambiando solamente los sabores (naranja, manzana y fresa). Para su evaluación sensorial se empleó la prueba de nivel de agrado (con escala no estructurada) en evaluadores adultos y por medio de imágenes (caritas) en infantes. Los resultados de ambas evaluaciones sensoriales, no demuestran diferencia significativa entre la aceptación de cada sabor, y son de alto agrado por ambos tipos de consumidores.

La estabilidad de las células viables en la bebida, permanece aceptable por tres semanas posterior a la fermentación en refrigeración.

I INTRODUCCIÓN

Desde sus inicios, la humanidad ha sustentado una lucha continua contra el hambre, que es y seguirá siendo uno de los principales enemigos. Sin embargo, la importancia de la tecnología de los alimentos fue reconocida muy recientemente, y apenas hace unos 20 años se manifiesta en todo el mundo una verdadera preocupación por la implementación de nuevas metodologías para la producción, el procesamiento y la conservación de productos alimenticios.

Actualmente, el mundo está en constante evolución, el desarrollo de nuevos productos se ha vuelto una necesidad impostergable para las empresas y

quienes no lo hagan corren el riesgo de desaparecer, particularmente en el sector alimentario, porque los consumidores están modificando sus preferencias y expectativas a gran velocidad.

En cambio, una de las innovaciones mas recientes e importantes dentro de la industria alimentaría, ha sido el gran esfuerzo que ha impulsado la biotecnología para abrir nuevas fuentes de conservación de los alimentos o la mejora de estos, sobresaliendo las fermentaciones alimentarias.

La conservación de los alimentos mediante la fermentación de los mismos, es uno de los métodos mas viejos conocidos por el hombre. Aunque en muchos alimentos el crecimiento de microorganismos conduce a la alteración desfavorables de los productos alimentarios, algunas fermentaciones son muy deseables, entre ellas destacan las fermentaciones ácido-lácticas, de las que se hace uso en la fabricación de productos lácteos fermentados, tales como el queso, leches fermentadas, crema ácida, kéfir, etc. (Robinson, 1987b).

Este método no solo tiene la función de conservación de los alimentos y dar una gran variedad en la dieta, sino también, inhibe a los microorganismos patógenos que puedan contaminar al producto, entre ellos al peligrosísimo *Clostridium botulinum*, por su incapacidad de crecer en un pH de 4.6 o inferior. Otro aspecto importantes de esto productos fermentados es que pueden mejorar su valor nutritivo comparando con sus equivalentes no fermentados, así también de ser mas apetecibles por el consumidor por mejorar sus características organolépticas, como lo es el sabor, aroma, textura, y otros mas. (Potter y Hotchikis, 1995).

Recientemente, se investiga sobre sus efectos benéficos para la salud del consumidor por llevar bacterias lácticas que presentan propiedades probióticas, entre las que se puede citar; mantenimiento del balance de la microflora intestinal, estimulación del sistema inmune y mejorar el valor nutricional de los alimentos (Fox, 1988).

Esto ha traído el empleo de preparaciones microbianas vivas (bacterias y/o levaduras) como parte de las dietas tanto de humanos como de animales, para sus beneficios anteriormente puestos.

Por otro lado, según la Secretaría de Agricultura y Ganadería de Recursos de pesca y Alimentación (SAGARPA), señala que la producción de leche bovina ha aumentado de manera constante desde 1992, pero lo más significativo se ha dado en los últimos años; donde la producción de leche fluida en el año 2001 fue de 9,600 millones de litros, un 1.6% más que el año anterior, que fue de 9,400 millones de litros (De la Garza, 2002). En nuestro país existen focos de producción lechera en Aguascalientes, Estado de México, y parte de Chihuahua, pero los estados de mayor producción son Coahuila, Durango, Jalisco y Veracruz.

De la producción total de leche en México, el 50% se consume industrializada y envasada, y el restante como leche bronca. Entre los productos industrializados, después de la leche, destacan los quesos, sobresaliendo los frescos; enseguida el yogurt y finalmente en otros productos, (Salazar (a), 1999).

Nuestro país, a pesar de la enorme producción de leche, presenta actualmente un déficit del 25% de esta materia prima. Lo cual repercute a la importación de productos lácteos, sobresaliendo leche en polvo descremada de alrededor de 150 millones de toneladas, que se destina el 75% a la utilización de programas sociales y el resto al abasto de la industria privada; 45 millones de toneladas de quesos y 20 millones de toneladas de leche fluida y crema, (Garza, 2002 y Salazar (a), 1999).

El subproducto de la elaboración del queso es el suero, que al ser desechado al ambiente sin ningún tratamiento genera serios problemas ecológicos, y peor aún la pérdida de nutrientes de alta calidad; por ejemplo, sus proteína de alto valor biológico, lactosa, vitaminas y minerales, que lo hace un sustrato apropiado para el desarrollo de muy diversas especies de microorganismos con posibilidades de ser empleados como probióticos (Reboloso

et al., 1995). La concentración de proteínas en el suero es equivalente a 660.000 toneladas anuales de proteínas, lo doble de hace 25 años, de ahí la gran importancia que despierta el lactosuero para su uso en alimentos del hombre o para nuevos productos de éste.

Así también, en el última década, el consumo de bebidas refrescantes, sigue en aumento, sobretodo en el consumidor infantil. Nuestro país se hace acreedor de consumir la mayor cantidad de refrescos por persona en el mundo. Este tipo de bebidas, elaboradas básicamente a partir de agua, no aportan nutrientes al humano, a excepción de azúcares, solamente hidratan al cuerpo o quitan la sed, y en algunos productos también aportan electrolitos. En cuanto, a la demanda de alimentos funcionales (bebidas), también ha presentado un significativo incrementó en sus ventas, por sus aspectos benéficos a la salud.

JUSTIFICACIÓN

En México existe una alta producción de suero de leche, como subproducto de la industria quesera. Además en los últimos años se ha incrementado el consumo de bebidas, elaboradas a base de agua, sobre todo en la población infantil.

Por lo anterior, se propone la preparación de una bebida refrescante, empleando suero de quesería como materia prima principal y con propiedades probióticas.

La finalidad del desarrollo de la bebida es: a) mejorar ligeramente el valor nutricional, con la presencia de proteínas, y b) promover efectos benéficos para la salud del consumidor por la presencia de bacterias ácido lácticas.

OBJETIVO GENERAL

- Preparar una bebida fermentada empleando el suero de leche como materia prima principal.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar las características fisicoquímicas del suero de leche.
- Preparar la formulación para la bebida refrescante.
- Realizar recuentos microbianos de la bebida.
- Efectuar análisis sensorial de la bebida refrescante fermentada.
- Determinar la viabilidad microbiana en la bebida.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis fisico-químico del suero dulce.

El resultado del análisis proximal, se detalla en el cuadro 4.1.

Cuadro 4.1. Composición química del suero dulce de quesería de la fabricación de queso panela (%).

Componente	% (obtenidos)	Spreer ¹
Humedad	91.78	93 - 94
Extracto seco	8.22	6-7
Proteína (N x 6.38)	0.84	0.8-1
Grasa	0.27	--
Cenizas	0.70	0.5-0.7
Lactosa	6.42* *	4.5-5
Ácido láctico	0.11	Trazas
pH	6.93	6.45
Densidad a 15°C (gr/cm ³)	1.027	--

¹ Fuente: Spreer, 1991.

* El análisis se llevo acabo por triplicado.

* *Se cálculo por diferencia.

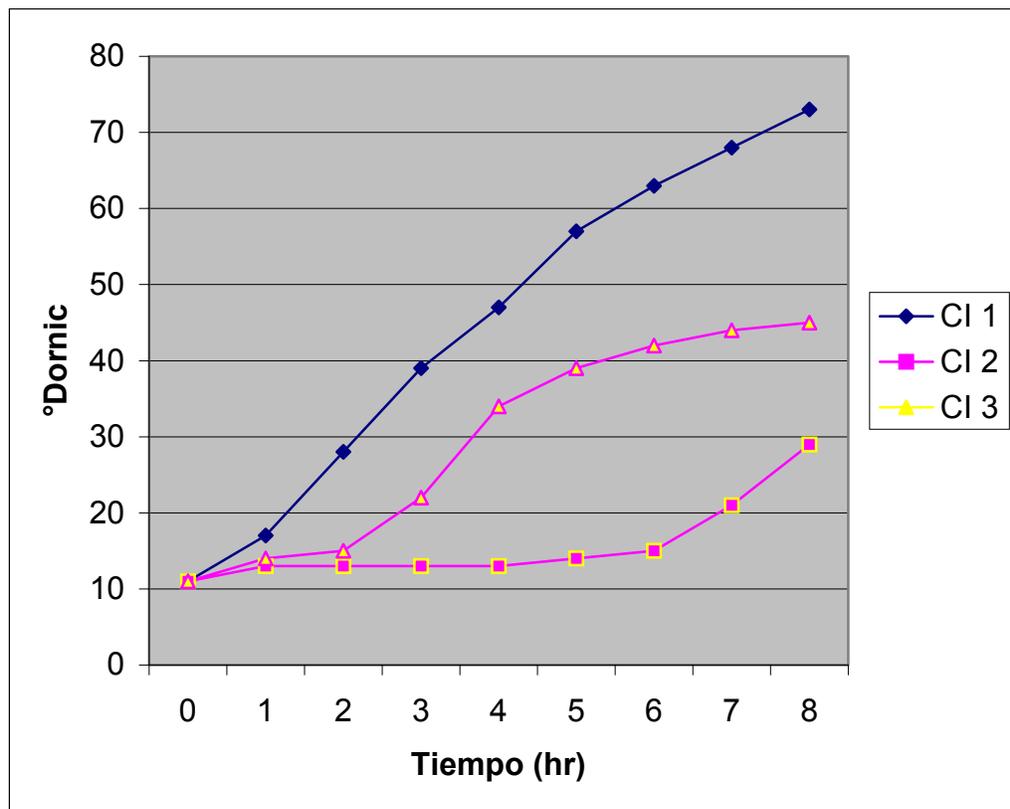
De acuerdo a la literatura citada, Reboloso et al., (1994), no existe gran variación al resultado obtenido, solamente que se tuvo 1% mas de lactosa, y por lo tanto, una menor cantidad de grasa. En tanto, a los datos de Spreer, (1991),

tampoco presenta gran diferencia entre los resultados obtenidos, a excepción de que reporta un menor contenido de humedad y por ello el porcentaje de lactosa es menor. Esto demuestra que el suero contiene los nutrientes esenciales y en cantidades adecuadas para el desarrollo de microorganismos benéficos por medio de una fermentación láctica, para la obtención de una bebida refrescante con propiedades probióticas.

4.2. Selección del cultivo iniciador

El figura 4.1. se muestra el promedio de tres repeticiones de las cinéticas de fermentación del suero con los tres tratamientos empleados.

Figura 4.1. Cinética de fermentación del suero dulce de quesería a $38\pm 1^\circ\text{C}/8\text{hrs.}$ de los tres cultivos iniciadores empleados



CI 1: *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*.

CI 2: *Lactobacillus casei shirota*.

CI 3: *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* y *Streptococcus diacetylactis*.

Por otro lado, de acuerdo al resultado obtenido del análisis de varianza, mostró que $F_{c^{**}}$ ($P \leq 0.01$), (anexo 8.2.3.), que indica que es altamente significativo, es decir, que hay diferencias de producción de ácido láctico entre los tratamientos, con un coeficiente de varianza (C.V.) de 25.65%. Para ello, se llevo a cabo el uso de comparación de medias para concretar cual es mejor, que se aprecia en el Cuadro 4.2. En el que se señala, que el CI 1 es mejor que el CI 2 y CI 3, debido a que produce mayor cantidad de ácido láctico en 8 horas de fermentación.

Cuadro 4.2. Comparación de medias de producción de acidez en las cinéticas de fermentaciones preliminares del suero a $38 \pm 1^\circ\text{C}/8\text{hrs.}$ de los tres cultivos iniciadores.

Tratamiento	Media ($^\circ\text{D}$)		
CI 1	49.0000	A	A
CI 3	31.8750	B	B
CI 2	17.0000	C	C
Nivel de significancia		0.05	0.01
Tukey		10.9443	14.4642

Así también, existe diferencia significativa $F_{c^{**}}$ ($P \leq 0.01$; anexo 8.2.2a, b y c), de aumento de producción de acidez por hora de los tratamientos, como se detalla en el Cuadro 4.3.

De acuerdo a los datos del Cuadro 4.3, el CI 1, LA mayor producción de ácido láctico se presento entre la segunda y tercera hora y la menor producción fue en las dos última horas y en la primera hora, mientras que el CI 2 fue todo lo contrario, es decir; mayor producción en la última hora, en seguida por la primera y penúltima hora, y de la segunda a la sexta hora fue mínima o nula la producción de ácido láctico. En tanto, el CI 3 en las hora intermedias sobresalió su aumento de producción de acidez, que fue a las cuatro horas, en seguida por la tercera y quinta hora, respectivamente, y fue menor la producción en la segunda y octava hora.

Una vez concluido el tiempo de fermentación del suero (8 horas), se refrigeró a para proseguir con el análisis microbiológico. Los medios de cultivo fueron: AL y ACE, sus resultados se muestran en el cuadro 4.4.

Cuadro 4.3. Comparación de medias de aumento de acidez por hora en las cinéticas de fermentaciones preliminares del suero a $38\pm 1^{\circ}\text{C}/8\text{hrs.}$ de los tres cultivos iniciadores.

	CI 1			CI 2			CI 3		
Lote (hora)	Media (aumento de °D)			Media (aumento de °D)			Media (aumento de °D)		
1	6.0	CD	CD	2.0	AB	A	3.0	CD	CD
2	11.0	A	A	0.0	B	A	1.0	D	D
3	11.0	A	A	0.0	B	A	7.0	B	B
4	8.0	BC	BC	0.0	B	A	12.0	A	A
5	10.0	AB	AB	1.0	B	A	5.0	BC	BC
6	6.0	CD	CD	1.0	B	A	3.0	CD	CD
7	5.0	D	D	6.0	AB	A	2.0	D	CD
8	5.0	D	D	13.0	A	A	1.0	D	D
N. de signif.	0.05	0.01		0.05	0.01		0.05	0.01	
Tukey	2.12	2.68		11.32	14.20		2.48	3.11	

En el recuento de microorganismos viables (cuadro 4.4.), los tres tratamientos presentaron un número satisfactorio, (10^6 ufc/ml) para poder emplearlos como alimentos probióticos. Reboloso et al, (1994), probó dos cultivos liofilizados comerciales; cuya composición es similar a la empleada en esta investigación, que exhibió resultados análogos al los obtenidos en el presente trabajo. Para el primer cultivo reporta en promedio de cinco lotes, de 5.3×10^6 y para el segundo 9.1×10^6 ufc/ml. Los productos con bajos contenidos de células viables pueden presentar una propiedad probiótica deficiente (Hoier E., 1992 citado por Reboloso et al., 1994). En los datos obtenidos de los tres cultivos se

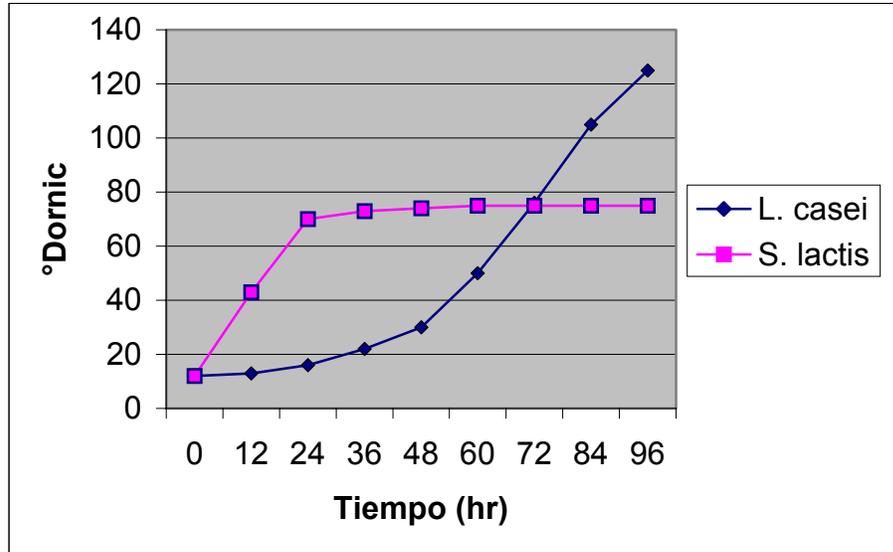
observan aproximaciones entre sus resultados, sin embargo, el CI 1 obtuvo una cuenta ligera mayor de ufc/ml que los otros dos cultivos iniciadores en el medio de cultivo de agar de Lee, mientras en el agar cuenta estándar solo fue superado con una mínima cantidad por el CI 3.

Cuadro 4.4 Recuento de microorganismo viables del suero fermentado a 38+1°C/8 horas de los tres cultivos iniciadores e incubados 38+1°C/48 horas

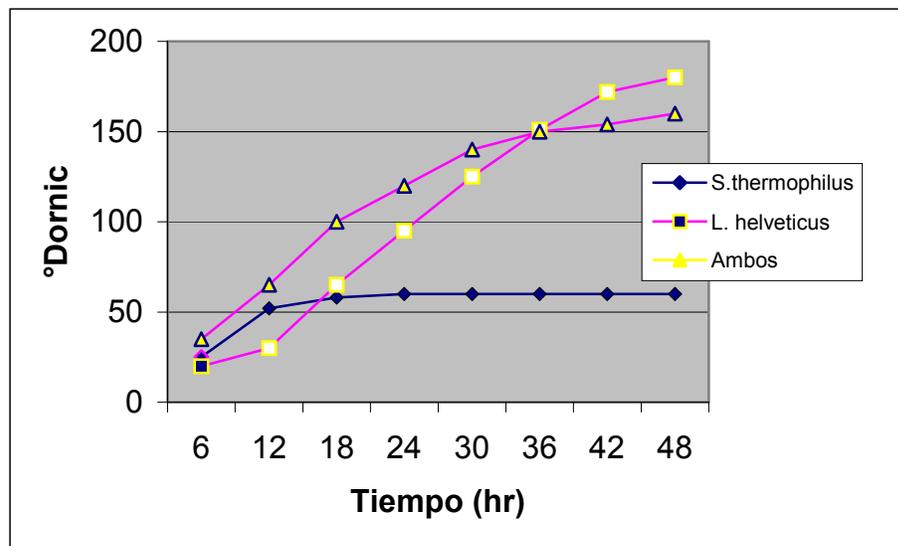
TRATAMIENTO	AGAR DE LEE		CUENTA ESTANDAR		
	Dilución	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
❖ CI 1		3.12 x 10 ⁶	39 x 10 ⁶	4.32 x 10 ⁶	77.00 x 10 ⁶
❖ CI 2		1.54 x 10 ⁶	5.3 x 10 ⁶	1.30 x 10 ⁶	6.70 x 10 ⁶
❖ CI 3		14.7 x 10 ⁶	-----	6.90 x 10 ⁶	84.8 x 10 ⁶

De acuerdo a los datos obtenidos de las fermentación, del análisis microbiológico y del análisis estadístico de los tratamientos, se llego a la decisión que el cultivo iniciador 1 (**CI 1**), presentó los mejores resultados para la preparación de una bebida refrescante fermentada. Esto es debido a que presentó una mayor velocidad de cinética de fermentación que los otros dos cultivos, pues el CI 2 solo llego a tener 0.29% de ácido láctico y el CI 3 que tan solo alcanzo 0.45% de ácido láctico. Las bacterias lácticas de los fermentos, CI 2 y CI 3 son bacterias mesófilas, cuya temperatura óptima de crecimiento es de 25 a 35°C, y algunos de estos microorganismos su crecimiento es lento al inicio, pero después su desarrollo es altamente exponencial, entre ellos el *L. casei* (Figura 4.2.a). Mientras que las bacteria del CI 1 son microorganismos termófilos, donde su temperatura óptima de crecimiento va de 37 a 45°C. En la figura 4.2.b, se muestra el crecimiento de dos bacterias lácticas termófilas. Mas adelante, este cultivo iniciador (CI 1), es propagado en suero de leche como cultivo madre, en donde se obtienen mucho mejores resultados satisfactorios, tanto en cinéticas de fermentación como en el recuento de bacterias viables en el suero fermentado

Figura 4.2. Curvas de acidificación de bacterias lácticas (en leche esterilizada), (Alais, 1980).



a) Cultivo de especies mesófilas, a 30°C



b) Cultivo de especies termófilas , a 42°C.

4.3. Formulaciones y análisis sensorial de la bebida fermentada

4.3.1. Resultados del análisis sensorial de la primera etapa de formulaciones preeliminares.

En el cuadro 4.5. se presentan los resultados obtenidos del análisis sensorial de este apartado.

Cuadro 4.5. Resultados de la evaluación sensorial de la bebida con jueces no entrenados en la primera formulación preliminar.

Formula	% de aceptación
1	0.00
2	23.07
3	7.69
4	0.00
5	15.38
6	53.84

Como se puede apreciar claramente, la formulación **# 6** fue de mayor agrado de aprobación por parte de los evaluadores no entrenados, con un 53.84% de aceptación. Esta formula consistió de 15% de azúcar invertida y 1% de sabor (concentrado de naranja), y la **# 2** es la que le sigue. Así también, se aprecia que las formulaciones 1 y 4 no tuvieron ninguna puntuación, ambas contenían el 5% de azúcar (sacarosa y azúcar invertida, respectivamente), esto origino una falta de sabor en ellas. La aceptación para el resto de la formulaciones fue regular.

4.3.2. Resultados del análisis sensorial de la segunda etapa de formulaciones preeliminarias.

Los resultados de la evaluación sensorial de la segunda etapa de formulaciones, se citan a continuación:

F1: Alcanzo un grado de aceptación de 31.25%, con una acidez de 60°D en 6 horas.

F2: Alcanzo una aceptación de 68.5%, con una acidez de 60°D en 8 horas con 45 minutos.

F3: Obtuvo 0% de aceptación. Presento una acidez de 67°D en un tiempo de 7 horas con 45 minutos.

Como se aprecia claramente, si hay heterogeneidad en tiempos de fermentación del suero, de acuerdo al momento de aplicación del edulcorante (pre o post-fermentación).

Por todo ello, se selecciono a la **F1** como la más apropiada, debido a que logró una sobresaliente cinética de fermentación en el menor tiempo. Este parámetro (tiempo) es muy importante en la industria alimentaria: lograr el menor tiempo de transformación en el proceso. Además de que su aceptación por parte de los consumidores fue regular.

La F2 se vio perjudicada por el largo tiempo de fermentación, quizá porque el azúcar inhibe la velocidad de crecimiento microbiano, y por lo tanto, la producción de ácido láctico.

4.3.3. Resultados del análisis sensorial de la tercera etapa de formulaciones (final).

En este apartado debe recordarse las diferencias de los cultivos madre; uno propagado en leche y el otro en suero de leche.

Este último logro una mejor cinética de fermentación de suero, pues en 5 horas de incubación, presentó 0.62% de ácido láctico, mientras que el suero con el cultivo propagado en leche, apenas alcanzó 0.60% de ácido láctico en un tiempo de 8 horas.

En cuanto al análisis microbiológico, las fermentaciones del suero utilizando, el cultivo madre propagado en suero presento un promedio de 6.0

$\times 10^7$ ufc/ml en el agar cuenta estándar, y el cultivo madre propagado en leche fue de 4.3×10^6 ufc/ml en el mismo medio de cultivo.

Esto permite definir, que el cultivo propagado en suero, para fines de fermento madre, es superior que el propagado en leche, por su alta capacidad de fermentación y lograr un mayor número de microorganismos, que ayuda a tener una calidad más alta como producto probiótico.

Respecto, a los resultados de los valores de la evaluación sensorial de las formulaciones finales, el juicio de los jóvenes adultos se cita en los cuadros 4.6a y 4.6b, mientras que el de los niños en el cuadro 4.9.

En ambos cuadros (Cuadro 4.6a y 4.6b), los tres sabores presentan similitudes entre sus resultados. De acuerdo a las características: de sabor, resabio y esencia poseen su mayor puntuación en la aceptación del producto, dándole las mas altas calificaciones, como: me gusto muchísimo, me gusto mucho, me gusto moderadamente. Así, 26% de los evaluadores optó por me gusto mucho y me gusto moderadamente, 22% me gusto mucho y 30% me gusto moderadamente, respectivamente para cada característica en el sabor naranja; en tanto, para el sabor manzana fue de 28% me gusto muchísimo, 30% me gusto mucho y 34% me gusto muchísimo, respectivamente del mismo orden de característica que el anterior, y por ultimo; 36% me gusto muchísimo, 22% me gusto mucho y 30% me gusto muchísimo para el sabor fresa, respectivamente de sus características de evaluación.

Así también, los resultados de las características de acidez y dulzura de la bebida son favorables, ya que sus mayores porcentajes de calificación por lo jueces, las evalúan como normales y muy pocos altos. En la característica de acidez, un 48 y 32% de jueces, la califican como normal para los sabores naranja y fresa respectivamente, y 30% como muy poco ácida para el sabor manzana; en la característica de dulzura, un 22% menciona que es alta en el sabor naranja, y 22% señala que es normal su dulzura para los sabores manzana y fresa.

Todo esto trae como consecuencia, que la bebida elaborada a base de suero, es de alto gusto para el consumidor adulto.

Cuadro 4.6a. Resultados de la evaluación sensorial de la formulación final de la bebida con adultos jóvenes (no entrenados) (%),

Caract.	sabor			resabio			esencia		
	naranja	manzana	fresa	naranja	manzana	fresa	naranja	manzana	Fresa
0	0.0	0.0	4.0	0.0	4.0	2.0	0.0	0.0	4.0
1	0.0	0.0	0.0	4.0	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0
2	0.0	0.0	0.0	2.0	4.0	4.0	0.0	2.0	0.0
3	2.0	0.0	0.0	6.0	0.0	2.0	2.0	0.0	2.0
4	2.0	6.0	4.0	4.0	4.0	8.0	4.0	6.0	0.0
5	2.0	4.0	4.0	6.0	10.0	8.0	4.0	6.0	10.0
6	8.0	6.0	6.0	10.0	14.0	8.0	6.0	2.0	4.0
7	16.0	16.0	6.0	14.0	14.0	10.0	18.0	16.0	14.0
8	26.0	20.0	22.0	20.	10.0	20.0	30.0	24.0	22.0
9	26.0	20.0	18.0	22.0	30.0	22.0	22.0	10.0	14.0
10	18.0	28.0	36.0	12.0	10.0	12.0	14.0	34.0	30.0

a) Características: sabor, resabio y esencia,

Cuadro 4.6b. Resultados de la evaluación sensorial de la formulación final de la bebida con adultos jóvenes (no entrenados) (%),

Caract.	Acidez			Dulzura		
	naranja	manzana	fresa	naranja	manzana	fresa
-5	0.0	4.0	2.0	0.0	0.0	2.0
-4	0.0	4.0	0.0	4.0	0.0	0.0
-3	8.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
-2	8.0	4.0	12.0	6.0	2.0	2.0
-1	6.0	4.0	8.0	4.0	6.0	6.0
0	48.0	24.0	32.0	6.0	22.0	22.0

1	18.0	30.0	20.0	10.0	18.0	22.0
2	6.0	4.0	8.0	14.0	16.0	10.0
3	6.0	16.0	10.0	20.0	20.0	10.0
4	0.0	8.0	6.0	22.0	10.0	14.0
5	0.0	0.0	0.0	12.0	4.0	10.0

b) Características : acidez y dulzura

De acuerdo al análisis de varianza (anexo 8.2.4a,b y c), no existe diferencia significativa entre los tratamientos (sabores), es decir $F \leq P$ a 0.01, en las características de sabor, resabio y esencia de la bebida de la evaluación sensorial con jóvenes adultos, pero no así en las características de acidez y dulzura, donde si hay diferencia entre sí (anexo 8.2.4d y e). En los cuadros 4.7. y 4.8. se señala la tabla de medias y comparación de medias de los tratamientos, respectivamente.

Cuadro 4.7. Tablas de medias del análisis sensorial de la bebida final con jóvenes adulto de acuerdo a las características: sabor, resabio y esencia

	Sabor	Resabio	Esencia
Tratamiento	Media	Media	Media
1- naranja	8.0600	7.0800	7.8200
2 - manzana	8.1200	7.0600	8.0400
3 - fresa	8.1200	6.8600	7.8000

Cuadro 4.8. Comparación de medias del análisis sensorial de la bebida final con jóvenes adulto de acuerdo a las características de acidez y dulzura.

	Acidez			Dulzura		
Tratamiento	Media			Media		
1- naranja	2.819201	B	B	2.990601	B	B
2 - manzana	2.908601	A	A	3.072001	A	A
3 - fresa	2.879201	A	A	3.062201	A	A
N. de signif.		0.05	0.01		0.05	0.01
Tukey		0.0544	0.0682		0.0443	0.0555

En cuanto, a los resultados obtenidos de la evaluación sensorial con los infantes, se muestran en el cuadro 4.9.

Cuadro 4.9. Resultados de la evaluación sensorial de la formulación final de la bebida con infantes* (%).

Valor	Naranja	Manzana	Fresa	
-2	0.00	0.00	0.00	Me disgustó mucho
-1	0.00	0.00	0.00	Me disgustó poco
0	3.125	3.125	3.125	Indiferente
1	0.00	7.812	0.00	Me gusto poco
2	96.875	89.062	96.875	Me gusto mucho

* 6 a 12 años de edad.

En tanto, al análisis de varianza de la evaluación sensorial con los infantes, (anexos 8.2.5), no se presento diferencia significativa entre los

tratamientos (sabores) en ninguno de los niveles de significancia (0.05 y/o 0.01), es decir $F \leq P$. Por ello, solamente se muestra la tabla de medias de los tratamientos, cuadro 4.10.

Cuadro 4.10. Tablas de medias de la evaluación sensorial con infantes

Tratamiento	Media
1- naranja	2.627187
2 - manzana	2.597500
3 - fresa	2.627187

Por lo anterior se puede concluir que los tres tratamientos (sabores) tienen el grado aceptable por el consumidor infantil, evaluándolo como “muy buena” la bebida.

Por todo lo anteriormente expuesto, se concluye finalmente que la bebida fermentada a base de suero, presenta un alto grado de aceptación, tanto en el consumidor infantil como en el adulto.

4.4. Análisis físico-químico de la bebida terminada.

En el cuadro 4.11. se muestran los valores derivados del análisis físico-químico de la bebida fermentada a base de suero.

Cuadro 4.11. Análisis físico-químico de la bebida refrescante fermentada a base de suero de quesería (%).

Componente / sabor	Naranja	Manzana	Fresa	Promedio
Humedad	83.90	84.44	83.93	84.09
Extracto seco	16.09	15.51	16.07	15.89
Proteína	0.71	0.85	0.86	0.81
Grasa *	ND	ND	ND	ND
Cenizas	0.24	0.22	0.24	0.23
Lactosa	4.02	3.22	3.37	3.54

° Brix a 20°C	18.80	18.90	19.1	18.93
Densidad (gr/cm³)	1.07	1.07	1.07	1.07
pH a 18° C	3.65	3.67	3.59	3.64
Acidez	0.67	0.67	0.67	0.67

* ND: No determinable, menor de 1%

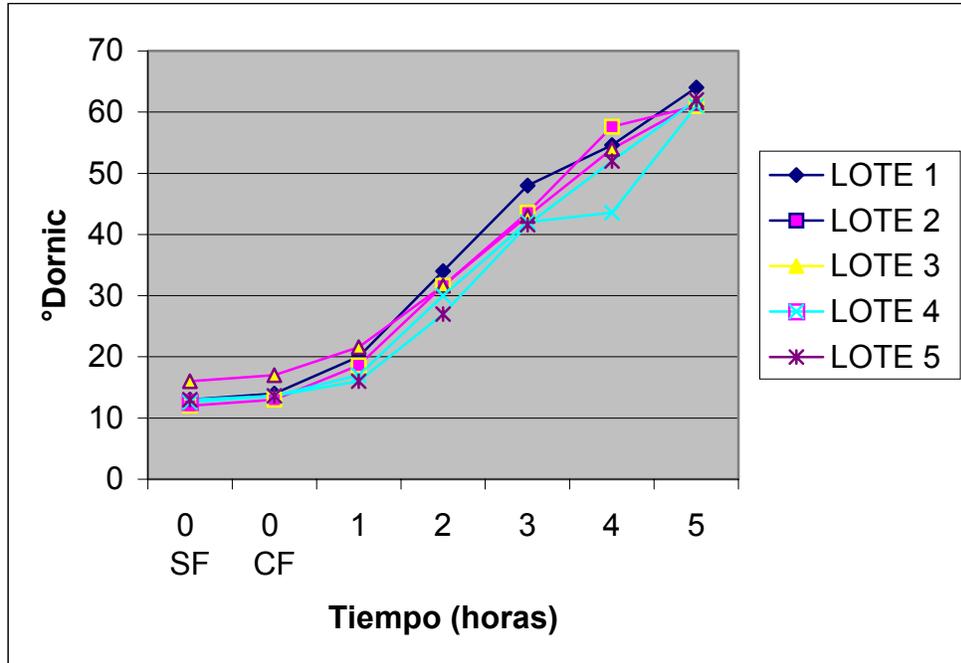
- Cada análisis se realizó por duplicado.

Obviamente, como se puede observar existe un incremento de sólidos totales, debido a la adición de azúcares a la bebida y por ello también aumenta su densidad. Hay un 45.04% menos de lactosa en la bebida desarrollada, que es mayor al contenido que reporta Rasic, (1987), y Bourgeois y Larpent, (1995), donde mencionan un decrecimiento del contenido de lactosa de 20-30% o más en productos lácteos fermentados, como en el caso del yogurt. También el contenido de cenizas disminuyó y de igual forma la grasa. El pH del producto es muy bajo, esto beneficia porque evita el desarrollo de microorganismos patógenos. Exhibe un bajo contenido de azúcares con respecto a muchas otras bebidas refrescantes que se comercializan actualmente.

4.5. Cinéticas de fermentaciones finales del suero

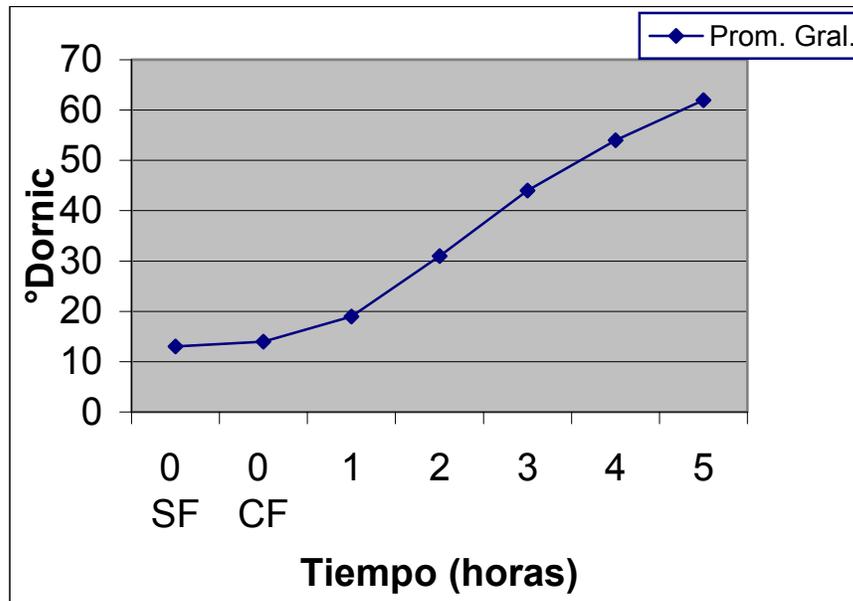
Las cinéticas de fermentación se llevaron a cabo mediante fermentaciones de cinco lotes de suero con cinco horas de incubación. En la figura 4.3. se aprecia su resultado de la actividad fermentativa, y una más (Figura 4.4.) el promedio de los cinco lotes. En el cuadro 4.14. se hace mención al resultado del recuento microbiano de dichas fermentaciones.

Figura 4.3. Comportamiento de las cinéticas de fermentaciones finales del suero a 40±1°C/ 5 hrs., en cinco lotes *



* Se realizaron tres repeticiones por cada lote.

Figura 4.4. Comportamiento del promedio general de los cinco lotes de suero durante las cinéticas de fermentaciones finales a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ / 5 hrs.



SF: Sin Fermento

SC: Con Fermento

De acuerdo al resultado derivado del diseño estadístico (anexos 8.2.7.), se obtuvo, $F > P$ a 0.05, que indica altamente significativo con un C.V. de 4.49%. Por lo tanto, se realizó la prueba de comparación de medias de producción de ácido láctico (Cuadro 4.12.), y aumento de éste entre cada hora, que se muestra en el Cuadro 4.13.

El Cuadro 4.12. muestra que el lote 1 presentó mejores características de fermentación (mayor producción de ácido láctico), mientras los lotes 2,3,4 son estadísticamente iguales en ambos niveles de significancia. A 0.01% de nivel de significancia se observa que la diferencia entre los lotes no es muy grande, debido a que todos entran en la categoría A. Por lo tanto existe alta confiabilidad de estabilidad entre los lotes.

Cuadro 4.12. Comparación de medias de producción de acidez en las fermentaciones finales a 40+1°C/5 hrs.

Lotes	Media (°D)		
1	39.166680	A	A
2	37.833332	AB	AB
3	38.333332	AB	AB
4	36.333332	AB	AB
5	35.500000	B	AB
Nivel de significancia		0.05	0.01
Tukey		2.9016	3.6287

Cuadro 4.13. Comparación de medias de aumento de acidez por hora en las cinéticas de fermentaciones finales a 40+1°C/ 5 hrs.

Lote (hora)	Media (aumento de °D)		
1	5	C	C
2	12	A	A
3	13	A	A

4	10	AB	AB
5	8	BC	BC
Nivel de significancia		0.05	0.01
Tukey		3.1786	3.9751

Como se puede observar (cuadro 4.13.), existe diferencia de aumento de producción de acidez por hora, en donde la 2 y 3 hora hay mayor producción, mientras que en la primera hora hay menos producción de ácido láctico, que es la fase de adaptación de los microorganismos al sustrato. También cabe señalar, que en las dos últimas horas, su aumento de producción de acidez es alta. De la segunda a la quinta hora, los microorganismos se encuentran en la fase de crecimiento exponencial.

Cuadro 4.14. Recuento de microorganismos viables en suero (fermentado a 40+1°C/ 5 hrs., e incubado a 40+1°C/48 hrs. (ufc/ml))

Lote	Dilución 10 ⁻⁴	Dilución 10 ⁻⁵
1	6.032 x 10 ⁷	1.056 x 10 ⁸
2	5.683 x 10 ⁷	1.314 x 10 ⁷
3	6.526 x 10 ⁷	1.551 x 10 ⁷
4	5.976 x 10 ⁷	1.439 x 10 ⁷
5	5.505 x 10 ⁷	1.476 x 10 ⁷
Promedio	5.944 x 10 ⁷	1.387 x 10 ⁷

Los resultados proyectados del recuento de microorganismo de las fermentaciones finales, también se le aplicó el análisis de varianza (Anexos 8.2.9.), en donde Fc resultó no significativo (NS) ($P \leq 0.01$); o sea, que hay igualdad entre un tratamiento y otro en el número de ufc/ml. El C.V. es de 10.76%. Obviamente, no es necesario realizar la prueba de comparación, por que no hay diferencia significativa en el número de células viables por mililitro entre

los lotes. En el siguiente cuadro 4.15. solo se detalla la tabla de media de los tratamientos.

Cuadro 4.15. Tablas de medias del recuento de microorganismos de las cinéticas de fermentaciones del suero (fermentado a $40\pm 1^\circ\text{C}$ / 5 hrs., e incubado a $40\pm 1^\circ\text{C}$ /48 hrs., (ufc/ml))

Tratamiento	Media
1	87960000.0000
2	94115000.0000
3	110180000.0000
4	101830000.0000
5	101325000.0000

Notoriamente se percibe que no existe gran diferencia de conteo de ufc/ml del análisis microbiológico entre las medias de los tratamientos.

Rasic, (1979) y Robinson, (1987), menciona que existe un crecimiento considerable de poblaciones de cultivos bacterianos de 100-1000 millones de células por gramo en el yogurt con una acidez de 90 a 120°D. En un estudio llevado a cabo por Gilliliand, 1978, donde suministró leche no fermentada que contenía *L. acidophilus* (8×10^8 y 5×10^6), a personas saludables intolerantes a la lactosa. Los resultados fueron similares y positivos en las dos dosis, es decir que las bacterias mejoraron la utilización de la lactosa en los individuos en ambas concentraciones. En comparación a los resultados obtenidos del recuento microbiano del presente estudio, pueden presentar los mismos efectos positivos, debido a que tienen cantidades de microorganismos (10^7 y 10^8) análogos a los autores anteriormente descritos.

En tanto, la cinética de fermentación presentó diferencia de producción de ácido láctico de un lote a otro, y en su recuento de microorganismos viables no lo hubo, lo cual nos ayuda a tener un producto más homogéneo.

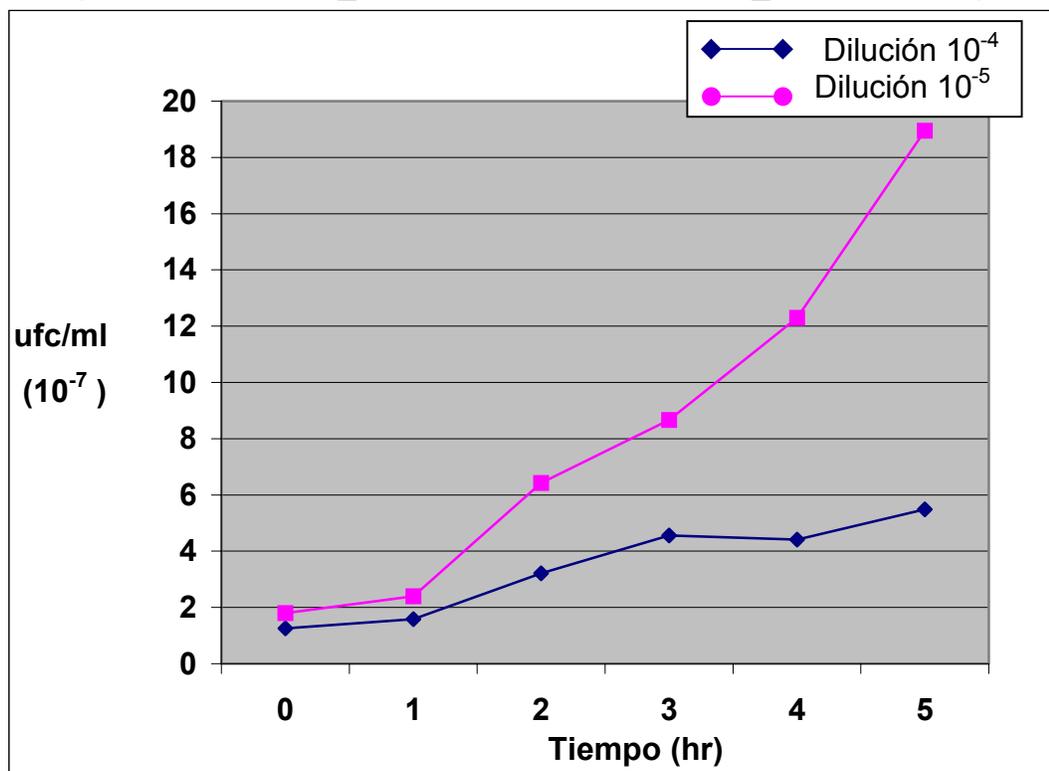
La figura 4.3. y el cuadro 4.14. muestran que el suero fermentado a cinco horas de incubación se favorece con la acidez apropiada y el número de células viables para lograr una bebida fermentada con actividad probiótica, respectivamente.

4.6. Cinéticas de crecimiento microbiano.

En la figura 4.5. se muestra el crecimiento de los microorganismos por cada hora a las diluciones de 10^{-4} y 10^{-5} .

De acuerdo a la figura 4.5. se percibe que el crecimiento de los microorganismos es logarítmicamente exponencial, y se observa mas claramente en la dilución 10^{-5} . Así también, presenta un numero satisfactorio de células viables a las cinco horas de incubación del suero, en las condiciones que se realizó.

Figura 4.5. Comportamiento de las cinéticas de crecimiento microbiano del suero (fermentado a $40\pm 1^\circ\text{C}$ / 5 hrs e incubado a $40\pm 1^\circ\text{C}$ /48 hrs., (ufc/ml))



Por otro lado, para una mayor claridad en los resultados del análisis de varianza de las cinéticas de crecimiento microbiano, estas se realizaron por separado los resultados de las diluciones 10^{-4} y 10^{-5} .

En la dilución 10^{-4} , el análisis de varianza nos dice que es altamente significativo, es decir, que ahí un tratamiento (repetición) mejor que otro (Anexo 8.2.11.), ya que Fc resultado ($P > 0.01$) con un C.V. de 17.70%. Para ello, es necesario realizar la prueba de comparación de medias, que se muestra en el cuadro 4.16.

Cuadro 4.16. Comparación de medias de crecimiento microbiano del suero (fermentado a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ / 5 hrs., e incubado a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ /48 hrs., en la dilución 10^{-4})

Tratamiento	Media (ufc/ml)		
1	23700000.0000	B	B
2	36750000.0000	A	A
3	40781668.0000	A	A
Nivel de significancia		0.05	0.01
Tukey		9465246	12856146

Se observa que los tratamientos 2 y 3 son iguales y los mejores en ambos niveles de significancia.

En la dilución 10^{-5} , el análisis de varianza (anexo 8.2.12) nos dice que Fc ($P \leq 0.01$), por lo tanto es NS, o sea, que no hay diferencia significativa en el número de ufc/ml entre las repeticiones, pero si existe significancia a 0.05, cuyo C.V. es de 17.70%. Para ello, fue necesario realizar la prueba de comparación de medias, que se muestra en el cuadro 4.17.

Cuadro 4.17. Comparación de medias de crecimiento microbiano del suero (fermentado a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ / 5 hrs., e incubado a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ /48 hrs., en la dilución 10^{-5})

Tratamiento	Media		
1	49466668.0000	B	A
2	107683328.000	A	A
3	92316672.0000	AB	A
Nivel de significancia		0.05	0.01
Tukey		58135292	78962112

Como anteriormente se menciona, existe diferencia significativa en el nivel de 0.05, siendo el tratamiento 2 el que presenta mayor número de colonias por muestra. En tanto, al nivel de 0.01 no hay diferencia significativa en el números de microorganismos entre los tratamientos (repeticiones).

4.7. Estabilidad de la viabilidad bacteriana de la bebida fermentada

El resultado de estabilidad de las células viables de las tres muestras, se observa en las figuras 4.6 y 4.7. Que de acuerdo a esto, se puede enunciar que la bebida fermentada tiene un vida de anaquel de mínimo tres semanas posterior de su fermentación, ya que a partir de esa fecha el numero de microorganismos que presenta la bebida es muy despreciable, para considerarlo como un producto probiótico.

Figura 4.6. Comportamiento de la viabilidad de microorganismos en la bebida preparada (incubación a $40\pm 1^{\circ}\text{C}/48$ hrs., en la dilución 10^{-4} (ufc/ ml))

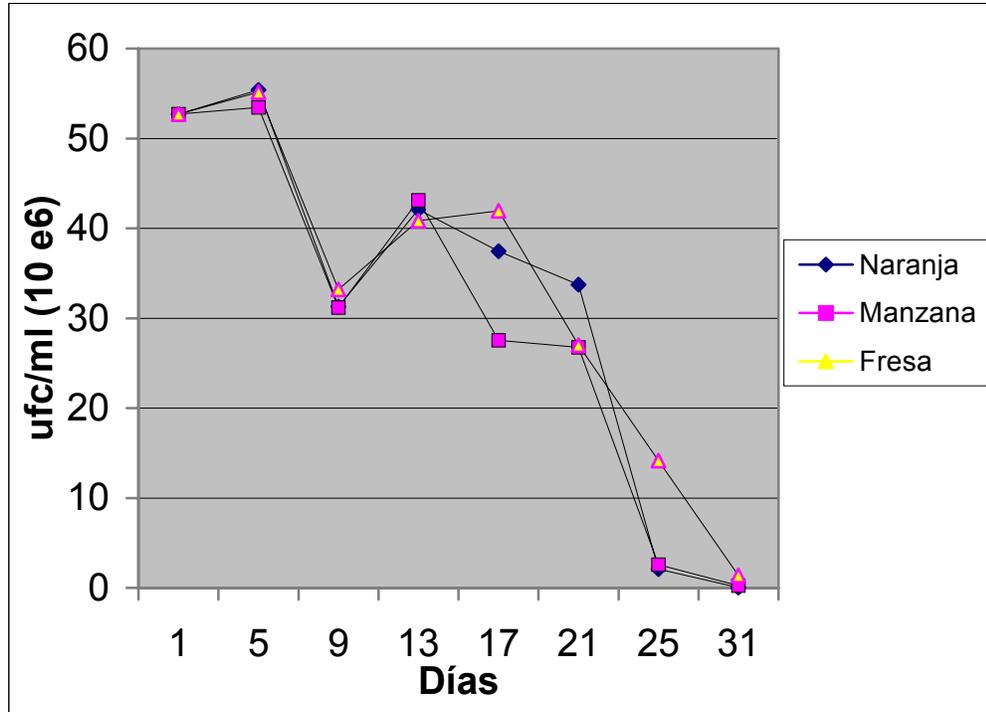
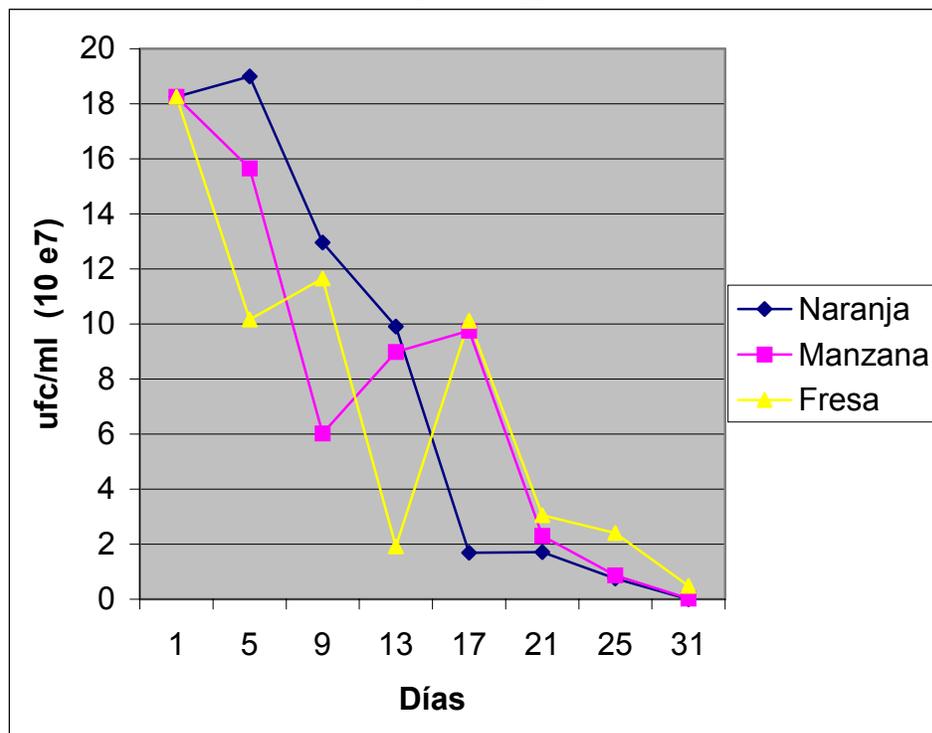


Figura 4.7. Comportamiento de la viabilidad de microorganismos en la bebida preparada (incubación a $40 \pm 1^\circ\text{C}/48$ hrs, en la dilución 10^{-5} (ufc/ ml))



En las dos figuras presentadas, existe una similitud de tendencia de los microorganismos. En la figura 4.6. se observa un decrecimiento de células viables a partir del quinto día hasta el noveno posterior de la fermentación, donde su permanencia es semiconstante hasta el veintiunavo día y de esta fecha su tendencia de decrecimiento es mas notablemente, En tanto, en la figura 4.7. se presenta un decrecimiento mas marcadamente de los microorganismos de inmediato, hasta el noveno, treceavo y diecisieteavo día posterior de la fermentación de los sabores manzana, fresa y naranja respectivamente, y de este día al veintiunavo día es semiconstante, para posteriormente su curvas de decrecimiento es mas lento y similares entre ellos, hasta el último día (treintavo día).

Nuevamente, el análisis estadístico se realizó por separado considerando las dilución 10^{-4} y 10^{-5} .

En ambas diluciones, no se presento diferencia significativa entre los tratamientos en ninguno de los niveles de significancia (0.05 y/o 0.01), es decir $F \leq P$, (anexo 8.2.14 y 8.2.15). En seguida, solo se muestra la tabla media de los tratamiento, pues no es necesario realizar la prueba de comparación de medias, debido a que no existe significancia en el conteo de ufc/ml entre un tratamiento y otro, cuadros 4.18. y 4.19.

Cuadro 4.18. Tablas de medias de la estabilidad de la viabilidad microbiana en la bebida fermentada (incubación a $40 \pm 1^\circ\text{C}/48$ hrs., en la dilución 10^{-4})

Tratamiento	Media (ufc/ml)
1	28871428.0000
2	26412858.0000
3	32307142.0000

Cuadro 4.19. Tablas de medias de la estabilidad de la viabilidad microbiana en la bebida fermentada (incubada a $40 \pm 1^\circ\text{C}/48$ hrs., en la dilución 10^{-5})

Tratamiento	Media (ufc/ml)
-------------	----------------

1	65757148.0000
2	62292856.0000
3	56750004.0000

Se concluye de acuerdo al análisis experimental, que ninguno de los sabores aplicado a la bebida presento diferencia significativa entre ellos en el número de ufc/ml, es decir, que los tres sabores presentaron el mismo orden de decrecimiento de las células viables y el mismo periodo de estabilidad de los mismos, por lo tanto es igual aplicar uno u otro sabor.

Artículo XVI.V CONCLUSIONES

- a) El suero de quesería, permitió la fermentación con bacterias probióticas, tanto en velocidad de fermentación como en número de bacterias viables.

b) Se mostró que el CI 1, presentó una mayor comportamiento de actividad fermentadora en el suero, comparando con los otros dos cultivo iniciadores, bajo las mismas condiciones. Así también, fue mejor su cinética de fermentación, cuando se propago en suero, que en leche.

c) Los tres cultivos iniciadores obtuvieron resultados similares entre sí, en el recuento microbiano, que fue de 10^6 , sobresaliendo muy ligeramente el CI 1. Los resultados dados son aceptables de acuerdo con algunos productos comerciales.

d) Cuando el CI 1, se propagó en suero de leche para uso de fermento madre, disminuyó el tiempo de fermentación de 8 a 5 horas, en una temperatura de $40 \pm 1^\circ\text{C}$, para lograr una acidez entre $62-65^\circ\text{D}$, y adquirir un número de ufc/ml de 10^7 y de 10^8 a las diluciones de 10^{-4} y 10^{-5} , respectivamente.

e) La formulación de mayor grado de aceptación por parte de los evaluadores (infantil y adultos), fue la que presentó 15% de azúcar natural (sacarosa) y 1% de sabor (no importando cual sea: naranja, manzana o fresa), ambos adicionados posterior de la fermentación.

f) El período de la viabilidad de los microorganismos en la bebida con actividad probiótica, es de mínimo tres semanas posterior de la fermentación, en condiciones de refrigeración, tiempo aceptable para productos lácteos fermentados.

g) El suero de quesería presentó las condiciones y propiedades específicas para el desarrollo de una bebida rfrescante fermentada, como materia prima principal.

VI RECOMENDACIONES

En relación a los resultados obtenidos en esta investigación, se resalta la importancia de dar nuevas alternativas al uso del suero, sobresaliendo entre ellos

el desarrollo de bebidas fermentadas, con la finalidad de aprovechar al máximo sus componentes nutricionales, que presentan grandes beneficios al consumidor.

Por otro lado, también será importante comparar cinéticas de fermentaciones de producción de ácido láctico con otras bacterias probióticas, sobretodo con algunas especies del género *Bifidobacterium* y *Bacillus*.

Por último, se recomienda probar el producto a animales de laboratorio, con el objetivo de comprobar su efecto “terapéutico”, y poderlo llevarlo así, a la practica a nivel industrial y casero.

VII LITERATURA CITADA

Accolas J. P. y J. Auclair, (1983), Thermophilic lactic starter, *J. Food Science Technology*, 7:27.

Alais Ch., (1980), *Ciencia de la leche: principios de técnica lechera.*, Ed. Compañía Continental, S. A. de C. V., pag. 281,284,289,292-293.

Amiot J., (1991), *Ciencia y Tecnología de la Leche*, Ed. Acribia S. A., Zaragoza, España, pag. 359-360.

Amos A. J., A. E. Billington, J. R. Burrell, J. M. Colquhoun, J. McN. Dalgleish, J. G. Davis, D. Duckinson, G. Evans, R. Gane, F. Gerrard, E. G. B. Gooding,

C. E. Ingrans, (1968), Manual de industrias de los alimentos, Ed. Acribia, Zaragoza, España, pag. 656-657.

AOAC, (1980), Official methods of analysis. Dairy products. Associations of official analytical Chemists, Washington, D.C. USA.

Barbés M. C., (2001), Microbiota y Aparato digestivo, Rev. Especialidades. Enfermedades digestivas, 93:325-327.

Bourgeois C. M. y L. P. Larpent, (1995), Microbiología alimentaria, 2da. edición, Ed. Acribia, S. A, Zaragoza, España, pag.213.

Bourges R. H., (1998), Características del suero de leche y sus derivados en relación con la nutrición, Rev. Leches y Carnes , 13(2): 19-22.

Chambers J. M., (1979), Industrial application of whey/lactose, J. Dairy Science, 62(1):112-116.

Clark P. A., L. N. Cotton, y J. H. Martin, (1993), Selection of bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods: II –Tolerance to simulated pH of human stomachs, J. Cultured Dairy Products, 28(11):11-14.

Clark W. S., (1979), Our industry today: Whey processing and utilization, J. Dairy Science, 62(1): 96-98.

De la Garza T. H., (2002), La actividad de la industria alimenticia en México: Memorias del 1er. Seminario internacional de alimentos, U A de C, Saltillo, Coah.

Defiguerrredo P. M. y F. Splittstoesser, Food Microbiology: Public health and spoilage aspect, Ed. The Avi Pub. Com., INC., Westport, Connecticut, USA, pag. 408.

Desrosier N. W., (1976), Conservación de alimentos, 6ta. Impresión, Ed. CECSA, , México, D.F., pag. 289.

Desrosier N. W., (1997), Elementos de Tecnología de alimentos, Ed. CECSA, 12ba. impresión, México, D.F., pag.454 a 457.

Escalante L. A., (2001), El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana, Rev. Enfermedades Infecciosas y Microbiología, 21(3): 106-1441.

Evans E. W., (1980), Whey research, J. Soc. Dairy Technology, 33(3):95-100.

Fernández E. E., (1981), Microbiología sanitaria. Agua y alimentos, Vol 1, UDUG/ Universidad de Guadalajara, México, D.F.

Fox S. M. , (1988), Probiotics: Intestinal inoculants for production animals, Veterinary medicine, 83 (3): 806-830.

Gandhi D. H. Y R. S. Patel, (1994), Technology and keeping quality of fermented whey concentrate, J. Cultured Dairy Products, 29(2):25-27.

Gaona R. H., (1998), Alimentos probióticos lácteos, Memorias del VI Seminario de Producción Animal: "La Tecnología de los Productos Lácteos hacia el Siglo XXI", UAAAN, pag.38-44.

García G. M., Quintero R. A., López-Murguía C. A., (1993), Biotecnología alimentaria, 1ra. edición., Ed. Limusa, México, D.F. Pag. 197.

Gilliland S. E. Y H. S. Kim, (1984), Effect of viable starter culture bacteria in yogurt on lactose utilization in humans, J. Dairy Science, 67 (1): 1-6.

Gilliliand S. E., (1985), Influence of bacterial starter cultures on nutritional value of foods: Improvement of lactose digestion by consuming foods containing lactobacilli, *J. Cultured Dairy Products*, 19:28-33.

Gilliliand S. E., (1989), Acidophilus milk products: A review of potential benefits to consumers, *J. Dairy Science*, 72 (10): 2483-2494.

Gilliliand S. E., (1998), Probiotics in Dairy Foods: Potential Health Benefits, *Memorias del VI Seminario de Producción Animal: "La Tecnología de los Productos Lácteos hacia el Siglo XXI"*, UAAAN, pag.2-9.

Gilliliand S. E., M. L. Speck, G. F. Nauyor, Jr., (1978), Influence of Consuming nonfermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora of healthy males, *J. Dairy Science*, 61 (1): 1-10.

Grasselli M, Navarro del C. A. A., Fernández L. H. M., Miranda M. V., Camperi S. A. y Cascone O.; (1997); ¿Qué hacer con el suero del queso?; *Rev. Ciencia Hoy*; Volumen 8 - Nº 43 -Nov/Dic.

Holcomb J. E. y J. F. Frank, (1991), Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in soft-serve frozen yogurt, *J. Cultured Dairy Products*, 26:, 4-5.

Hughes D. B. y D. G. Hoover, (1995), Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk, *J. Dairy Science*, 78 (2): 268-276.

Huginin A., (1999), Productos de suero en yogurt y productos lácteos fermentados, U.S. Dairy export council, pag. 1-8.

Jagwon G. y W. Dawiel, (1991), *Biotechnología, introducción con experimentos modelos*, 1ra. edición, Ed. Acribia, S.A., Zaragoza, España, pag. 37 y 240.

Jelen P., (1983), Reprocessing of whey and other dairy wastes for use as food ingredients, *Rev. Food technology*, 37 (2): 81-84.

Kennedy, J. P., (1985), Utilization of whey, *J. Cultured Dairy Products*, 20(2):13-15.

Khedkar C. D., J. M. Mantri y G. D. Khedkar, (1994), Nutritional significance of lactose hydrolysis in fermented dairy products: A Review, *J. Cultured Dairy Products*, 29(5):13-18.

Kosikowski F. V., (1979), Whey Utilization and whey products, *J. Dairy Science*, 62(7): 1149-1160.

Kot E. y A. Bezkorovainy, (1999), Binding of ferric iron to the cell walls and membranes of *Bifidobacterium thermophilus*: Effect of free radicals, *J. Agricultural food chemistry*, 47 (11):4606-4610.

Lazarte R. y A. Morales, (2001), Probióticos, *Rev. Hospital Clínico, Universidad de Chile*, 12 (2): pag 83-88.

Lee B. H., (2000), *Fundamentos de Biotecnología de los Alimentos*, Ed. Acribia S, A., Zaragoza, España, pag. 240-241.

Lin M-Y. y Ch-L. Yen, (1999), Inhibition of lipid peroxidation by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium longum*, *J. Agricultural food chemistry*, 47 (9):3661-3664.

Madrid V. A., (1994), *Nuevo manual de tecnología quesera*, Ed. Mundi-Prensa S. A., Madrid, España, pag.209.

Matalon, M E. y W. E. Sandine, (1986), *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* and yogurt: A Review, *J. Cultured Dairy Products*, 21(11):6-12.

Mathur B.N. Y K. M. Shahani, (1979), Use of total whey constituents for human food, *J. Dairy Science*, 62: 99-105.

Montes R. G., T. M. Bayless, J. M. Saavedra y J. A. Perman, (1995), Effect of milk inoculated with *Lactobacillus acidophilus* or a yogurt starter culture in lactose-maldigesting children, *J. Dairy Science*, 78 (8): 1657-1664.

Nickerson J. T. y A. J. Sinskey, (1978), *Microbiología de los alimentos y sus procesos de elaboración*, Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, España, pag. 18-19.

Nielsen J. W. y S. E. Gilliliand, (1992), The lactose hydrolyzing enzyme from *Lactobacillus acidophilus*, *J. Cultured Dairy Products*, 27(2): 22-28.

O'Sullivan D. J., (2001), Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria, *J. Agriculture food chemistry*, 49 (4): 1751-1760.

Ouwehand A. C., S. Tölkkö y S. Salminen, (2001), The effect of digestive enzymes on the adhesion of probiotic bacteria in vitro, *J. Food Science: Food microbiology and safety*, 66 (6): 856-869.

Pedrero y Pangborn, (1989), *Evaluación sensorial de los alimentos*, 1ra Ed. Alhambra Mexicana, S. A. de C. V., México, D. F. pag. 103-108.

Perdigón G., S. Álvarez, M. Rachid, G. Agüero y N. Gobbato, (1995), Immune system stimulation y probiotics, *Journal Dairy Science*, 78(7): 1597-1606.

Potter N. N. y J. H. Hotchikiss, (1995), *Ciencia de los alimentos*, Ed. Acribia, Zaragoza, España, pag. 291-294, 481-482.

Rasij J. L. (1987), Nutritive value of yogurt, *J. Cultured Dairy Products*, 22(8):6-9.

Reboloso P O. N; Pérez M. C; y Leal T. G.; (1994); Producción de probióticos para alimentación animal a partir de residuos agroindustriales:

suero de quesería, Memorias: V Reunión Bienal de Nutrición Animal, Buenavista, Saltillo, Coah.

Reddy G. J., B. V. R. Rao, K. S.R. Reddy y D. Venkayya, (1987), Development of a whey beverage, J. Dairy Science, 40(4):445-450.

Robinson R. K., (1987a), Microbiología lactológica: Microbiología de la leche, Vol 1, Ed. Acribia, S. A., Zaragoza, España, pag 55-56.

Robinson R. K., (1987b), Microbiología lactológica: Microbiología de los productos lácteos, Vol 2, Ed. Acribia, S. A., Zaragoza, España, pag.108-111, 240 y 505-511.

Rodríguez del A. J. M, (1991), Métodos de investigación pecuaria, Ed trillas S. A. de C. V., 1ra. Edición, México, D. F., pag. 55-59, 67, 83-85 y 88.

Romero E., (2001), Derivados de frutas, S. A. de C. V.: "Refrescos con sabor a calidad", Rev. Bebidas mexicanas, 10(4): 4-7.

Romo E. (1998), Aplicaciones de productos de lactosuero en EUA; posibles aplicaciones en México, Memorias del VI Seminario de Producción Animal: "La Tecnología de los Productos Lácteos hacia el Siglo XXI", UAAAN, pag.10-19.

Salazar T. A., (1999a), Industria blanca: Aspectos fundamentales sobre la industrialización la leche y algunos derivados, Rev. Tecnología de alimentos: ATAM, 34(5):18-24.

Salazar T. A., (1999b), Bebidas del nuevo milenio: Nutracéuticas e isotónicas, diversificación de mercado de bebidas, (entrevista a Q.F.B. Hugo Carreño) Rev. Tecnología de alimentos: ATAM, 34(7):29-29.

Sanders M.E., (2002). Probióticos: Eficiencia y aplicaciones en productos lácteos, Rev. Lácteos y cárnicos, 16(6): 45.

Savaiano D. A. y Levitt M.D., (1987), Milk intolerance and microbe-containing dairy foods, *J. Dairy Science*, 70: 397-407.

Spreer E. (1991), *Lactología industrial*, Ed. Acribia S. A, 2da. Edición, Zaragoza, España, pag. 527-530.

Verman A. H. Y J. P. Sutherland, (1997), *Bebidas: tecnología, química y microbiología*, Ed. Acribia, Zaragoza, España, p 77-81.

Walzen R.L., (1999), Propiedades saludables de las proteínas de suero y fracciones del suero, *Monografías: Productos y bebidas nutrimentales*, U. S. Dairy Exports Council, pag. 1-8.

Welch C., (1987), Nutritional & therapeutic aspects of *Lactobacillus acidophilus* in dairy products, *J. Cultured Dairy Products*, 23-26.

Wright C. T. y T. R. Klaenhanmer, (1984), Phosphated milk adversely affects growth, cellular, and fermentative ability of *Lactobacillus bulgaricus*, *J. Dairy Science*, 67(1):44.

VIII ANEXOS

(a)

(b) ANEXO 8.1. Cuestionario de evaluación sensorial

Anexo 8.1.1. Cuestionario de evaluación sensorial de la primera etapa de formulaciones preliminares.

Hoja de respuesta:

Evaluación sensorial de una bebida refrescante fermentada.

Instrucciones: indique con una x en el cuadro donde se presenta la muestra que mas le agrado.

Muestra	1	2	3	4	5	6
Preferencia						

Sugerencias: _____

Gracias

Nota: El cuestionario de evaluación de la segunda etapa formulaciones, fue de solamente de tres muestras.

Artículo XVII. Anexo 8.1.2.

Evaluación sensorial de la bebida fermentada en adultos.

5.- Sabor de la esencia, le parece:

Sección 17.01 MUESTRA No. 1

1.- El sabor del producto, le parece:

2.- De acuerdo a lo ácido, lo considera:

3.- Y en cuento a lo dulce:

4.- El resabió, lo siente:

Sección 17.02 MUESTRA No. 2

1.- El sabor del producto, le parece:

2.- De acuerdo a lo ácido, lo considera:

3.- Y en cuento a lo dulce:

4.- El resabió, lo siente:

5.- Sabor de la esencia, le parece:

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Sección 17.03 MUESTRA No. 3

1.- El sabor del producto, le parece:

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

2.- De acuerdo a lo ácido, lo considera:

Bajo			Bueno				Alto			
-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5

3.- Y en cuenta a lo dulce:

Bajo			Bueno				Alto			
-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5

4.- El resabió, lo siente:

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

5.-Sabor de la esencia, le parece:

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Observaciones y/o sugerencias:

Instrucciones: Marque o subraye la respuesta que mas le parezca adecuadamente para cada muestra

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Bajo			Bueno				Alto			
-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5

Bajo			Bueno				Alto			
-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Bajo			Bueno				Alto			
-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Bajo			Bueno				Alto			
-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5

Malo			Indiferente				Bueno			
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Gracias

La interpretación de las características de sabor, resabio y esencia; se presenta de la siguiente manera:

0 = me disgusta muchísimo
 1 = me disgusta mucho
 2 = me disgusta moderadamente
 3 = me disgusta poco
 4 = me disgusta muy poco
 5 = indiferente

6 = me gusta muy poco
 7 = me gusta poco
 8 = me gusta moderadamente
 8 = me gusta mucho
 10 = me gusta muchísimo

En tanto, a las características de acidez y dulzura es de la siguiente manera:

-5 = altamente bajo	1 = muy poco alto
-4 = muy bajo	2 = ligeramente alto
-3 = moderadamente bajo	3 = moderadamente alto
-2 = ligeramente bajo	4 = muy alto
-1 = muy poco bajo	5 = altamente alto
0 = normal	

Para su calificación de las características, se tomo el promedio de cada una, de acuerdo a la evaluación que se le dio cada juez no entrenado y se realizo el análisis de varianza a cada característica, con la finalidad de observar si existe o no diferencia significativa entre los sabores .

Anexo 8.1.3. Resultados de la evaluación sensorial de la bebida final con jueces adultos jóvenes no entrenados (50 individuos).

Juez	a			b			c			d			e		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	3	4	0	1	0	0	3	2	0	-3	-5	-5	-2	-3	-5
2	4	4	0	1	0	1	4	4	0	-3	-5	-3	-1	-2	-3
3	5	4	4	2	2	1	4	4	3	-3	-4	-2	-1	-1	-2
4	6	5	4	3	2	2	5	4	5	-3	-4	-2	-1	-1	-1
5	6	5	5	3	4	2	5	5	5	-2	-3	-2	-1	-1	-1
6	6	6	5	3	4	3	6	5	5	-2	-2	-2	-1	0	-1
7	6	6	6	4	5	4	6	5	5	-2	-2	-2	0	0	0
8	7	6	6	4	5	4	6	6	5	-2	-1	-2	0	0	0
9	7	7	6	5	5	4	7	7	6	-1	-1	-1	0	0	0
10	7	7	7	5	5	4	7	7	6	-1	0	-1	0	0	0
11	7	7	7	5	5	5	7	7	7	-1	0	-1	0	0	0
12	7	7	7	6	6	5	7	7	7	0	0	-1	0	0	0
13	7	7	8	6	6	5	7	7	7	0	0	0	0	0	0
14	7	7	8	6	6	5	7	7	7	0	0	0	0	0	0
15	7	7	8	6	6	6	7	7	7	0	0	0	0	0	0
16	8	7	8	6	6	6	7	7	7	0	0	0	0	0	0
17	8	8	8	7	6	6	7	8	7	0	0	0	0	1	0
18	8	8	8	7	6	6	8	8	8	0	0	0	0	1	1
19	8	8	8	7	7	7	8	8	8	0	0	0	0	1	1
20	8	8	8	7	7	7	8	8	8	0	0	0	0	1	1
21	8	8	8	7	7	7	8	8	8	0	0	0	0	1	1
22	8	8	8	7	7	7	8	8	8	0	1	0	0	1	1

23	8	8	8	7	7	7	8	8	8	0	1	0	0	1	1
24	8	8	9	8	7	8	8	8	8	0	1	0	0	1	1
25	8	8	9	8	7	8	8	8	8	0	1	0	0	1	1
26	8	8	9	8	8	8	8	8	8	0	1	0	1	2	1
27	8	9	9	8	8	8	8	8	8	0	1	0	1	2	1
28	8	9	9	8	8	8	8	8	8	0	1	0	1	2	1
29	9	9	9	8	8	8	8	9	9	0	1	1	1	2	2
30	9	9	9	8	8	8	8	9	9	0	1	1	1	2	2
31	9	9	9	8	9	8	8	9	9	0	1	1	1	2	2
32	9	9	9	8	9	8	8	9	9	0	1	1	1	2	2
33	9	9	9	8	9	8	9	9	9	0	1	1	1	3	2
34	9	9	10	9	9	9	9	10	9	0	1	1	2	2	3
35	9	9	10	9	9	9	9	10	9	0	1	1	2	2	3
36	9	9	10	9	9	9	9	10	10	1	1	1	2	2	3
37	9	10	10	9	9	9	9	10	10	1	2	1	2	2	3
38	9	10	10	9	9	9	9	10	10	1	2	1	2	2	3
39	9	10	10	9	9	9	9	10	10	1	3	2	2	3	4

Continuación

2

40	9	10	10	9	9	9	9	10	10	1	3	2	2	3	4
41	9	10	10	9	9	9	9	10	10	1	3	2	3	3	4
42	10	10	10	9	9	9	9	10	10	1	3	2	3	3	4
43	10	10	10	9	9	9	9	10	10	1	3	3	3	3	4
44	10	10	10	9	9	9	10	10	10	1	3	3	3	4	4
45	10	10	10	10	9	10	10	10	10	2	3	3	4	4	4
46	10	10	10	10	10	10	10	10	10	2	3	3	4	4	5
47	10	10	10	10	10	10	10	10	10	2	4	3	4	4	5
48	10	10	10	10	10	10	10	10	10	3	4	4	4	4	5
49	10	10	10	10	10	10	10	10	10	3	4	4	4	4	5
50	10	10	10	10	10	10	10	10	10	3	4	4	4	4	5

Característica a evaluar:

1. Sabor general
2. Resabio
3. Esencia
4. Acidez
5. Dulzura

Sabor de la bebida:

1. **Naranja**
2. **Manzana**
3. **Fresa**

Los datos obtenidos de las características de acidez y dulzura de la evaluación sensorial en adultos, es necesario transformarlos para realizar el análisis de varianza, con la siguiente formula:

Transformación $\sqrt{Y_{ij} + k}$ $k=8$ ejemplo: $\sqrt{-3 + 8} = 2.23$

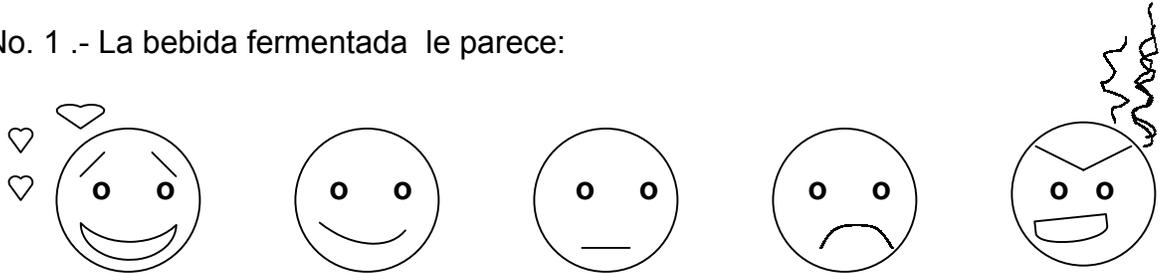
	d			e				d			e		
	1	2	3	1	2	3		1	2	3	1	2	3
1	2.23	1.73	1.73	2.45	2.23	1.73	26	2.82	3.00	2.82	3.00	3.16	3.00
2	2.23	1.73	2.23	2.64	2.45	2.23	27	2.82	3.00	2.82	3.00	3.16	3.00
3	2.23	2.00	2.45	2.64	2.64	2.45	28	2.82	3.00	2.82	3.00	3.16	3.00
4	2.23	2.00	2.45	2.64	2.64	2.64	29	2.82	3.00	2.82	3.00	3.16	3.16
5	2.45	2.23	2.45	2.64	2.64	2.64	30	2.82	3.00	2.82	3.00	3.16	3.16
6	2.45	2.45	2.45	2.64	2.82	2.64	31	2.82	3.00	2.82	3.00	3.16	3.16
7	2.45	2.45	2.45	2.82	2.82	2.82	32	2.82	3.00	2.82	3.00	3.16	3.16
8	2.45	2.64	2.45	2.82	2.82	2.82	33	2.82	3.00	2.82	3.00	3.16	3.16
9	2.64	2.64	2.64	2.82	2.82	2.82	34	2.82	3.00	2.82	3.16	3.32	3.32
10	2.64	2.82	2.64	2.82	2.82	2.82	35	2.82	3.00	2.82	3.16	3.32	3.32
11	2.64	2.82	2.64	2.82	2.82	2.82	36	3.00	3.16	2.82	3.16	3.32	3.32
12	2.82	2.82	2.64	2.82	2.82	2.82	37	3.00	3.16	2.82	3.16	3.32	3.32
13	2.82	2.82	2.82	2.82	2.82	2.82	38	3.00	3.32	2.82	3.16	3.32	3.46
14	2.82	2.82	2.82	2.82	2.82	2.82	39	3.00	3.32	3.16	3.16	3.32	3.46
15	2.82	2.82	2.82	2.82	2.82	2.82	40	3.00	3.32	3.16	3.16	3.32	3.46
16	2.82	2.82	2.82	2.82	2.82	2.82	41	3.00	3.32	3.16	3.32	3.32	3.46
17	2.82	2.82	2.82	2.82	3.00	2.82	42	3.00	3.32	3.16	3.32	3.32	3.46
18	2.82	2.82	2.82	2.82	3.00	3.00	43	3.00	3.32	3.32	3.32	3.32	3.46
19	2.82	2.82	2.82	2.82	3.00	3.00	44	3.00	3.32	3.32	3.32	3.46	3.46
20	2.82	2.82	2.82	2.82	3.00	3.00	45	3.16	3.32	3.32	3.46	3.46	3.46
21	2.82	2.82	2.82	2.82	3.00	3.00	46	3.16	3.32	3.32	3.46	3.46	3.60
22	2.82	3.00	2.82	2.82	3.00	3.00	47	3.16	3.46	3.32	3.46	3.46	3.60
23	2.82	3.00	2.82	2.82	3.00	3.00	48	3.32	3.46	3.46	3.46	3.46	3.60
24	2.82	3.00	2.82	2.82	3.00	3.00	49	3.32	3.46	3.46	3.46	3.60	3.60
25	2.82	3.00	2.82	2.82	3.00	3.00	50	3.32	3.46	3.46	3.60	3.60	3.60

Anexo 8.1.4. Evaluación sensorial de una bebida refrescante fermentada en infantes

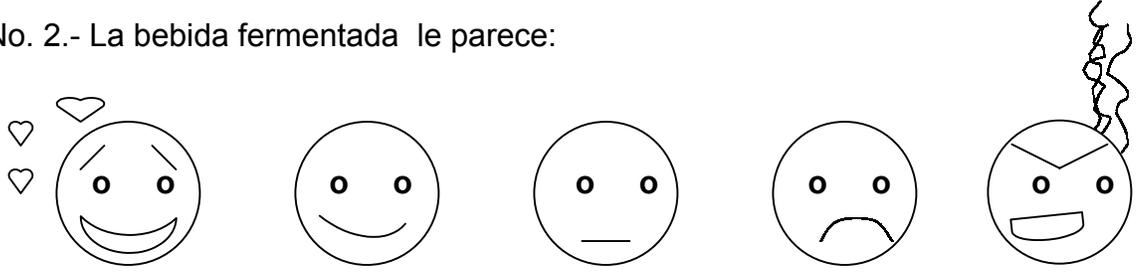
Nombre: _____ Edad: _____

Instrucciones: Pruebe la muestra y marque con una X la carita , según su nivel de agrado:

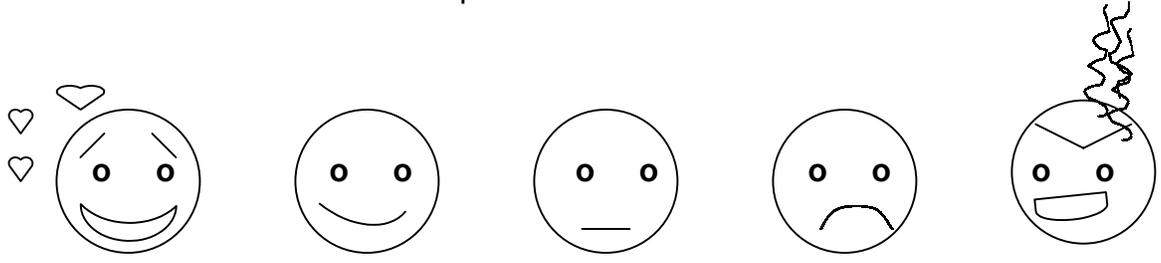
No. 1 .- La bebida fermentada le parece:



No. 2.- La bebida fermentada le parece:



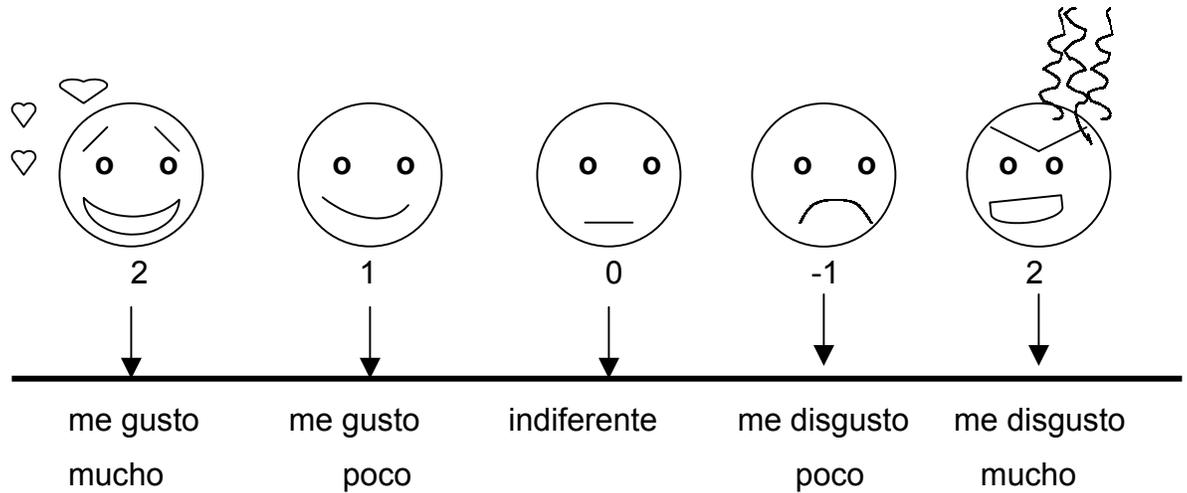
No. 3 .- La bebida fermentada le parece:



Comentarios y/o observaciones :

Muchas gracias:

Respuestas de la evaluación sensorial de la bebida en infantes.



La forma de calificación, fue por porcentaje que se le dio a cada carita. Y también se aplicó el análisis de varianza a este apartado.

Anexo 8.1.5. Resultados de la evaluación sensorial de la bebida final con jueces infantiles no entrenados (32 individuos)

Juez	Datos reales			Datos transformados		
	Naranja	Manzana	Fresa	Naranja	Manzana	Fresa
1	2	2	2	2.64	2.64	2.64
2	2	2	2	2.64	2.64	2.64
3	2	2	2	2.64	2.64	2.64
4	2	2	2	2.64	2.64	2.64
5	2	2	2	2.64	2.64	2.64
6	2	2	2	2.64	2.64	2.64
7	2	2	2	2.64	2.64	2.64
8	2	2	2	2.64	2.64	2.64
9	2	2	2	2.64	2.64	2.64
10	0	2	2	2.64	2.64	2.64
11	2	2	2	2.64	2.64	2.64
12	2	2	0	2.64	2.64	2.23
13	2	2	2	2.64	2.64	2.64
14	2	2	2	2.64	2.64	2.64
15	2	2	2	2.64	2.64	2.64
16	2	2	2	2.64	2.64	2.64
17	2	2	2	2.64	2.64	2.64
18	2	2	2	2.64	2.64	2.64
19	2	2	2	2.64	2.64	2.64
20	2	2	2	2.64	2.64	2.64
21	2	2	2	2.64	2.64	2.64
22	2	2	2	2.64	2.64	2.64
23	2	1	2	2.64	2.45	2.64
24	2	1	2	2.64	2.45	2.64
25	2	2	2	2.64	2.64	2.64
26	2	2	2	2.64	2.64	2.64
27	2	1	2	2.64	2.45	2.64
28	0	1	2	2.23	2.45	2.64
29	2	2	2	2.64	2.64	2.64
30	2	2	2	2.64	2.64	2.64
31	2	2	2	2.64	2.64	2.64
32	2	1	2	2.64	2.45	2.64

Para la transformación de los resultados de la evaluación sensorial, fue necesario transformarlos para poder ser empleados el análisis sensorial, con la siguiente fórmula:

Transformación $\sqrt{Y_{ij} + k}$ $k=5$ ejemplo: $\sqrt{2 + 5} = 2.64$

8. 2. Análisis de varianza

Anexo 8.2.1. Resultados obtenidos de las cinéticas de fermentaciones preliminares del suero con los tres cultivos iniciadores.

t \ r	C I 1				C I 2				C I 3			
	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.	1	2	3	Prom.
0	11	11	11	11	11	11	11	11	1	11	11	11
1	16	18	16	17	13	13	13	13	14	14	14	14
2	27	29	29	28	13	13	13	13	15	16	16	16
3	39	39	39	39	13	13	13	13	22	23	23	23
4	46	48	48	47	13	14	14	14	34	34	34	34
5	56	58	58	57	13	14	14	14	37	40	41	39
6	61	64	62	62	13	18	14	15	41	42	44	42
7	67	68	68	68	19	28	15	21	44	44	44	44
8	73	75	71	73	31	37	19	24	45	45	45	45

t = tiempo (hora)

r = repetición

Anexo 8.2.2a. Análisis de varianza del cultivo iniciador 1.

Variable: Acidez del suero fermentado (°D)

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	9.082031	4.541016	8.3849**	0.004
Bloques	7	8296.292969	1185.184692	2188.4092**	0.000
Error	14	7.582031	0.541574		
Total	23	8312.957031			

** Altamente significativo.

C. V. = 1.50%

Anexo 8.2.2b. Análisis de varianza del cultivo iniciador 2

Variable: Acidez del suero fermentado (°D)

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	50.333496	25.166748	1.6287 ^{NS}	0.230
Bloques	7	707.291992	101.041710	6.5389**	0.002
Error	14	216.333008	15.452357		
Total	23	973.958496			

** Altamente significativo.

NS = No Significativo.

C. V. = 24.25%

Anexo 8.2.2c. Análisis de varianza del cultivo iniciador 3

Variable: Acidez del suero fermentado (°D)

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	6.250000	3.125000	4.2003*	0.036
Bloques	7	3437.958984	491.136993	660.1294**	0.000
Error	14	10.416016	0.744001		
Total	23	3454.625000			

* Significativo.

** Altamente significativo.

C. V. = 2.71%

Anexo 8.2.3. Análisis de varianza de las fermentaciones preliminares del suero con los tres cultivos iniciadores.

Variable: Acidez del suero fermentado (°D)

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	4102.750000	2051.375000	29.3079**	0.000
Bloques	7	3346.958984	478.136993	6.8311**	0.002

Error	14	979.919016	69.994003
Total	23	8429.625000	

** Altamente significativo.

C. V. = 25.64%

Anexo 8.2.4a. Análisis de varianza de la evaluación sensorial de la bebida con jóvenes adultos.

Variable: sabor

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	0.1200117	0.060059	0.1611 ^{NS}	0.852
Bloques	49	510.833984	10.425183	27.9557**	0.000
Error	98	36.545898	0.372917		
Total	149	547.50000			

** Altamente significativo.

NS = No Significativo.

C. V. = 7.54%

Anexo 8.2.4b. Análisis de varianza de la evaluación sensorial de la bebida con jóvenes adultos.

Variable: Resabio

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	1.48	0.74	5.2345 ^{NS}	0.007
Bloques	49	926.67	18.91	133.7759**	0.000
Error	98	13.85	6.32		
Total	149	942.00			

** Altamente significativo.

NS = No Significativo.

C. V. = 5.37%

Anexo 8.2.4c. Análisis de varianza de la evaluación sensorial de la bebida con jóvenes adultos.

Variable: Esencia

FV	GL	SC	CM	F	P > F
----	----	----	----	---	-------

Trats.	2	1.773438	0.886719	3.0788 ^{NS}	0.049
Bloques	49	577.075195	11.817862	41.0334 ^{**}	0.000
Error	98	28.224609	0.288000		
Total	149	609.073242			

^{**} Altamente significativo. NS = No Significativo.

C. V. = 6.80%

Anexo 8.2.4d. Análisis de varianza de la evaluación sensorial de la bebida con jóvenes adultos

Variable: Acidez

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	0.205811	0.102905	7.4170 ^{**}	0.001
Bloques	49	16.066528	0.327888	25.2261 ^{**}	0.000
Error	98	1.273804	0.012998		
Total	149	17.546143			

^{**} Altamente significativo.

C. V. = 3.97

Anexo 8.2.4e. Análisis de varianza de la evaluación sensorial de la bebida con jóvenes adultos

Variable: Dulzura

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	0.196411	0.098206	11.3998 ^{**}	0.000
Bloques	49	14.200806	0.289812	33.6417 ^{**}	0.000
Error	98	0.844238	0.008615		
Total	149	15.241455			

^{**} Altamente significativo.

C. V. = 3.05%

Anexo 8.2.5. Análisis sensorial de la evaluación sensorial de la bebida con infantes
Variable: agrado

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	0.018921	0.009460	1.5206 ^{NS}	0.225
Bloques	31	0.231201	0.007458	1.1987 ^{NS}	0.267
Error	62	0.385742	0.006222		
Total	95	0.635864			

NS = No Significativo.

C. V. = 3.01%

Anexo 8.2.6. Resultados de las cinética de fermentaciones finales del suero.

Artículo	Artículo XIX. Tiempo (hora)					
Artículo	Artículo XXI.	Artículo X.				
ote	:00	:00	:00	:00	:00	:00
	Sección 21. F – S D					
Artículo	Artículo XXV.	Artículo X.				
	3 - 14	0	4	8	5	4
Artículo	Artículo XXX.	Artículo X.				
	2 - 13	9	2	4	8	1
Artículo	Artículo XLII.	Artículo X.				
	6 - 17	2	2	3	4	2
Artículo	Artículo XLIX.	Artículo L.				
	3 - 14	7	0	2	4	1
Artículo	Artículo LVI.	Artículo L.				
	3 - 14	6	7	2	2	2
Artículo	Artículo LXIII.	Artículo L.				
rom.	3 - 14	9	1	4	4	2

Artículo LXIX. * Promedio de tres repeticiones por lote.

Artículo LXX. S F = Sin fermento

C F = Con Fermento

Artículo LXXI. Anexo 8.2.7. Análisis de varianza de las cinéticas de fermentaciones finales del suero.

Variable: Acidez del suero fermentado (°D).

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	4	53.535156	13.383789	4.7406**	0.008
Bloques	5	9289.367188	1857.873413	658.0638**	0.000
Error	20	56.464844	2.823242		
Total	29	9399.367188			

** Altamente significativo.

C. V. = 4.49%

Anexo 8.2.8. Resultados obtenidos de ufc/ml en las cinéticas de fermentaciones finales del suero.

Lote	Dilución	
	10^{-4}	10^{-5}
1	6.032×10^7	11.560×10^7
2	5.683×10^7	13.140×10^7
3	6.526×10^7	15.510×10^7
4	5.976×10^7	14.390×10^7
5	5.505×10^7	14.760×10^7
Promedio	5.944×10^7	13.870×10^7

Artículo LXXII.

Artículo LXXIII.

Artículo LXXIV. Anexo 8.2.9. Análisis de varianza del recuento de microorganismos de las cinéticas de fermentaciones finales del suero.

Variable: ufc/ml.

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	4	568241353129984	1420603382822496	1.2497 ^{NS}	0.417
Bloques	1	1.571172051320832 $\times 10^{16}$	1.5711720513208320 $\times 10^{16}$	138.2189**	0.001
Error	4	454691007758336	113672751939584		
Total	9	1.673465287409664 $\times 10^{16}$			

** Altamente significativo.

NS = No Significativo.

C. V. = 10.76%

Anexo 8.2.10. Resultados de ufc/ml de las cinéticas de crecimiento microbiano en suero fermentado.

Tiempo	Repetición					
	1		2		3	
	Dil. 10^{-4}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-5}
0:00			1.52×10^7	2.41×10^7	9.89×10^6	1.18×10^7
1:00	6.10×10^6	3.80×10^6	2.51×10^7	4.42×10^7	1.64×10^7	2.38×10^7
2:00	1.77×10^7	3.50×10^7	3.94×10^7	8.08×10^7	3.97×10^7	7.70×10^7
3:00	3.78×10^7	6.15×10^7	3.87×10^7	1.60×10^8	6.01×10^7	3.83×10^7
4:00	3.24×10^7	7.35×10^7	4.49×10^7	1.55×10^8	5.51×10^7	1.40×10^8
5:00	4.82×10^7	1.23×10^8	5.72×10^7	1.82×10^8	6.35×10^7	2.63×10^8

Artículo LXXV.

Artículo LXXVI. Anexo 8.2.11. Análisis de varianza del recuento de crecimiento de microorganismos en la dilución 10^4 .

Variable: ufc/ml.

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	956676047896576	478338023948288	13.3962**	0.000
Bloques	5	516497305134944	10329945968447616	28.9299**	0.000
Error	10	357068548603904	35706856538112		
Total	17	6478717647847424			

** Altamente significativo.

C. V. = 17.7%

Artículo LXXVII. Anexo 8.2.12. Análisis de varianza del recuento de crecimiento de microorganismos en la dilución 10^5 .

Variable: ufc/ml.

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	1.092287492784128 $\times 10^{16}$	5461437463920640	4.0545*	0.51
Bloques	5	6.537549250874573 $\times 10^{16}$	1.3075098072252242 $\times 10^{16}$	9.7068**	0.002
Error	10	1.346999669279949 $\times 10^{16}$	13469997222967040		
Total	17	8.97683641293865 $\times 10^{16}$			

* Significativo.

** Altamente significativo.

C. V. = 44.14%

Anexo 8.2.13. Resultados de ufc/ml en la estabilidad de la viabilidad microbiana en la bebida final.

Día	Naranja		Manzana		Fresa	
	Dilución	Dilución	Dilución	Dilución	Dilución	Dilución
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-5}
1	5.27×10^7	1.82×10^8	5.27×10^7	1.82×10^8	5.27×10^7	1.82×10^8
5	5.54×10^7	1.90×10^8	5.34×10^7	4.56×10^8	5.51×10^7	1.01×10^8

9	3.13×10^7	1.29×10^8	3.12×10^7	6.02×10^7	3.32×10^7	1.16×10^8
13	4.21×10^7	9.91×10^7	4.31×10^7	8.98×10^7	4.08×10^7	1.92×10^7
17	3.74×10^7	1.69×10^7	2.75×10^7	976×10^7	4.19×10^7	1.01×10^8
21	3.37×10^7	1.71×10^7	2.67×10^7	2.30×10^7	2.70×10^7	3.05×10^7
25	2.10×10^6	7.55×10^6	2.58×10^6	8.70×10^6	1.41×10^7	2.40×10^7
31	2.50×10^4	0.00×10^5	2.60×10^5	2.50×10^5	1.38×10^6	4.68×10^6

Anexo 8.2.14. Análisis de varianza de la estabilidad de la viabilidad microbiana de la bebida final, en la dilución 10^{-4} .

Variable: ufc/ml.

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	122710436872192	61355218436096	3.0258 ^{NS}	0.085
Bloques	6	5961827997450240	993637999575040	49.0019**	0.000
Error	12	243330298413056	20277524168704		
Total	20	6327868732735488			

** Altamente significativo.

NS = No Significativo.

C. V. = 15.42%

Anexo 8.2.15. Análisis de varianza de la estabilidad de la viabilidad microbiana de la bebida final, en la dilución 10^{-5} .

Variable: ufc/ml.

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Trats.	2	289008349347840	144504174673920	0.115 ^{NS}	0.891
Bloques	6	5.060041846344909 $\times 10^{16}$	8433402898284544	6.7411**	0.003
Error	12	1.501260291663462 $\times 10^{16}$	1251050287792128		

Total	20	6.590202972943155 $\times 10^{16}$
-------	----	---------------------------------------

** Altamente significativo.

NS = No Significativo.

C. V. = 57.42%