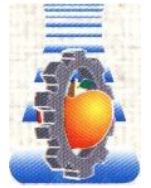




**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN**  
**ALIMENTOS**



**CARRERA: INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**TEMA**

---

**“UTILIZACIÓN DE PROBIÓTICOS (*Lactobacillus plantarum*) EN LA  
ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA DE SOYA”.**

---

**Trabajo de Investigación (Graduación). Modalidad: Seminario de  
Graduación. Presentando como Requisito Previo a la Obtención del Título de  
Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a  
través de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos**

**AUTOR:**

**Juan R. Guerrero Tibanquiza**

**TUTOR:**

**Ing. Danilo Morales**

**AMBATO – ECUADOR**

**2011**

Ing. Danilo Morales

## **TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

### **CERTIFICA:**

Que el presente Trabajo de Investigación: **“UTILIZACIÓN DE PROBIÓTICOS (*Lactobacillus plantarum*) EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA DE SOYA”** desarrollado por el Señor GUERRERO TIBANQUIZA JUAN ROLANDO; observa las orientaciones metodológicas de la Investigación Científica.

Que ha sido dirigida en todas sus partes, cumpliendo con las disposiciones en la Universidad Técnica de Ambato, a través del Seminario de Graduación.

Por lo expuesto:

Autorizo su presentación ante los organismos competentes para la respectiva calificación.

Ambato, 20 de junio del 2011

---

Ing. Danilo Morales

**TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

## AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Trabajo de Investigación “**UTILIZACIÓN DE PROBIÓTICOS (*Lactobacillus plantarum*) EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA DE SOYA**”, corresponden a Juan Rolando Guerrero Tibanquiza y del Ing. Danilo Morales Tutor del trabajo de Investigación, y del patrimonio intelectual del mismo a la Universidad Técnica de Ambato.

---

Rolando Guerrero

**Autor del Trabajo de Investigación**

---

Ing. Danilo Morales

**Tutor del Trabajo de Investigación**

## **A CONSEJO DIRECTIVO DE LA FCIAL**

El Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación “**UTILIZACIÓN DE PROBIÓTICOS (*Lactobacillus plantarum*) EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA DE SOYA**”, presentado por el Señor Juan Rolando Guerrero Tibanquiza y conformada por : Ing. Liliana Acurio y al Ing. Edwin Santamaría Miembros del Tribunal de Defensa y Tutor del Trabajo de Investigación Ing. Danilo Morales y presidido por el Ingeniero Romel Rivera, Presidente de Consejo Directivo, Ingeniera Mayra Paredes E., Coordinadora del Décimo Seminario de Graduación FCIAL-UTA, una vez escuchada la defensa oral y revisado el Trabajo de Investigación escrito en el cuál se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas por el Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación, remite el presente Trabajo de Investigación para uso y custodia en la Biblioteca de la FCIAL.

---

**Ing. Romel Rivera**  
**Presidente Consejo Directivo**

---

**Ing. Mayra Paredes E.**  
**Coordinadora Décimo Seminario de Graduación**

---

**Ing. Liliana Acurio**  
**Miembro del Tribunal**

---

**Ing. Edwin Santamaría**  
**Miembro del Tribunal**

## **DEDICATORIA**

A Dios todopoderoso por darme la vida y la oportunidad de culminar una meta.

A mis padres Juan y Enriqueta, quienes con mucho amor se sacrificaron por verme triunfar en la vida y por el ejemplo de superación.

A mis hermanas Magali y Maritza, que son el incentivo en la realización de mis sueños.

Rolando

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Técnica de Ambato, y en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, por el permanente apoyo y la oportunidad de formarme profesionalmente a través de su personal docente.

Al Ingeniero Danilo Morales, Director de la Tesis, por sus amistad, confianza y su apoyo incondicional brindado en la ejecución del presente trabajo.

A los Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, en especial para los ayudantes de la promoción 2011, por su apoyo incondicional y por su amistad.

Rolando

## RESUMEN

Una fermentación láctica durante 8 horas a 37°C, con inóculo de *Lactobacillus plantarum* y azúcar (sacarosa), permitió elaborar una bebida de soya con efectos probióticos.

El proceso experimental constó de seis tratamientos y dos réplicas, lo que implicó un total de doce experimentos.

Los parámetros de control seguidos a través del proceso de la fermentación láctica fueron: pH, acidez y °Brix, que pudieron ser comparados con valores reportados en bibliografía.

Se realizó un análisis sensorial mediante un diseño de bloques completos con 10 catadores semi-entrenados previamente seleccionados en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, determinando como mejor tratamiento a la bebida de soya probiótica con 0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar (sacarosa).

El análisis microbiológico del mejor tratamiento determinó la viabilidad de bacterias probióticas ( $1 \times 10^8$  ufc, de bacterias probióticas) y ausencia de *Escherichia coli*, Coliformes Totales, Mohos y Levaduras.

El tiempo de vida útil del producto elaborado (0.03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de sacarosa) es de 18 [días] de acuerdo al conteo (mohos y levaduras).

## ÍNDICE GENERAL

Certificación .....	i
Autoría.....	ii
Aprobación.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento.....	v
Resumen.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>2</b>
1. EL PROBLEMA.....	2
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN.....	2
1.2.2 ANÁLISIS CRÍTICO.....	6
1.2.3 PROGNOSIS.....	7
1.2.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	8
1.2.5 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	8
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	9
1.4 OBJETIVOS.....	10
1.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	10
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>11</b>



MARCO TEÓRICO.....	11
2.1 ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN.....	11
2.1.1 La soya.....	11
2.1.1.1 Clasificación de la soya.....	11
2.1.1.2 Descripciones y características físicas de la soya.....	12
2.1.1.3 Composición química de la semilla de soya.....	13
2.1.1.4 Información nutricional de la soya.....	14
2.1.1.5 Usos de la soya.....	15
2.1.1.6 Leche de soya .....	16
2.1.1.7 Beneficios de la leche de soya.....	17
2.1.1.8 Comparación de la leche de vaca y soya .....	17
2.1.1.9 Fermentación ácido láctica de la leche de soya.....	18
2.1.2.1 Descripción del proceso para la obtención de leche de soya.....	19
2.1.2.2 Probióticos .....	20
2.1.2.3 Evolución de la definición de probiótico.....	20
2.1.2.4 Actividad de los probióticos en el hombre.....	22
2.1.2.5 Criterios para la evaluación de los probióticos en los alimentos.....	22
2.1.2.6 Mecanismo de acción de los probióticos.....	23
2.1.2.7 Características de los probióticos.....	23
2.1.2.8 Beneficios de los probióticos.....	24
2.1.2.9 El grupo de bacterias potencialmente probióticos.....	24

2.1.3.1	<i>Lactobacillus plantarum</i> .....	25
2.2	FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA.....	27
2.3	FUNDAMENTACIÓN SOCIOLÓGICA.....	27
2.4	FUNDAMENTACIÓN LEGAL .....	27
2.5	CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.....	28
2.6	FUNDAMENTACIÓN TÉCNICA.....	28
2.7	HIPÓTESIS.....	29
2.8	SEÑALAMIENTO DE VARIABLES.....	29
2.8.1	VARIABLE INDEPENDIENTE.....	29
2.8.2	VARIABLE DEPENDIENTE.....	30
	<b>CAPÍTULO III</b> .....	30
	MARCO METODOLÓGICO.....	30
3.1	MODALIDAD BÁSICA DE INVESTIGACIÓN.....	33
3.2	NIVELES O TIPOS.....	33
3.3	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	34
3.4	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	40
3.5	RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	42
3.6	PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	42
	<b>CAPITULO IV</b> .....	43
	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	43
4.1	MATERIA PRIMA.....	43
4.2	RESPUESTAS EXPERIMENTALES.....	43

4.2.1	Análisis de pH.....	43
4.2.2	Análisis de acidez Total .....	44
4.2.3	Análisis de grados Brix.....	45
4.3	Determinación de las mejores combinaciones experimentales.....	46
4.4	Análisis sensorial.....	46
4.5	Determinación del mejor tratamiento.....	48
4.6	Análisis microbiológico en el mejor tratamiento.....	49
4.7	Determinación del tiempo de vida útil en el mejor tratamiento.....	49
4.8	Verificación de hipótesis.....	52
 <b>CAPÍTULO V.....</b>		<b>53</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>		<b>53</b>
 <b>CAPÍTULO VI.....</b>		<b>56</b>
<b>PROPUESTA.....</b>		<b>56</b>
6.1	Datos informativos.....	56
6.2	Antecedentes de la propuesta.....	57
6.3	Justificación.....	59
6.4	Objetivos.....	59
6.4.1	Objetivo General.....	59
6.4.2	Objetivos Específicos.....	60
6.5	Análisis de factibilidad.....	60
6.6	Fundamentación.....	60
6.7	Metodología.....	64
6.8	Administración.....	65
6.9	Previsión de la evaluación.....	66
	Bibliografía.....	67

## ÍNDICE DE ANEXOS

### **ANEXO A: CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA, DIAGRAMA DE FLUJOS Y HOJAS DE CATACIÓN**

**TABLA A1.**Caracterización de materia prima.

**ANEXO A2** Diagrama de flujo de la obtención de la leche de soya.

**ANEXO A3.** Diagrama de flujo de la elaboración de la bebida probiótica de soya.

**ANEXO A4.** Hoja de catación.

### **ANEXO B: RESPUESTAS EXPERIMENTALES (PH, ACIDEZ, °BRIX, ANÁLISIS SENSORIAL).**

#### **PH**

**TABLA B1.** Valores de pH de la bebida probiótica de soya en función del tiempo. Tratamiento a1b1.

**TABLA B2.** Valores de pH de la bebida probiótica de soya en función del tiempo. (Tratamiento a1b2).

**TABLA B3.** Valores de pH de la bebida probiótica de soya en función del tiempo. (Tratamiento a2b1).

**TABLA B4.** Valores de pH de la bebida probiótica de soya en función del tiempo. (Tratamiento a2b2).

**TABLA B5.** Valores de pH de la bebida probiótica de soya en función del tiempo. (Tratamiento a3b1).

**TABLA B6.** Valores de pH de la bebida probiótica de soya en función del tiempo. (Tratamiento a3b2).

### **ÁCIDO LÁCTICO**

**TABLA B7.** Porcentaje de ácido láctico producido durante el tiempo de fermentación. (Tratamiento a1b1).

**TABLA B8.** Porcentaje de ácido láctico producido durante el tiempo de fermentación. (Tratamiento a1b2).

**TABLA B9.** Porcentaje de ácido láctico producido durante el tiempo de fermentación. (Tratamiento a2b1).

**TABLA B10.** Porcentaje de ácido láctico producido durante el tiempo de fermentación. (Tratamiento a2b2).

**TABLA B11.** Porcentaje de ácido láctico producido durante el tiempo de fermentación. (Tratamiento a3b1).

**TABLA B12.** Porcentaje de ácido láctico producido durante el tiempo de fermentación. (Tratamiento a3b2).

### **GRADOS BRIX**

**TABLA B13.** Valores de °Brix tituable de la bebida probiótica de soya en función del tiempo de fermentación. (Tratamiento a1b1).

**TABLA B14.** Valores de °Brix tituable de la bebida probiótica de soya en función del tiempo de fermentación. (Tratamiento a1b2).

**TABLA B15.** Valores de °Brix tituable de la bebida probiótica de soya en función del tiempo de fermentación. (Tratamiento a2b1).

**TABLA B16.** Valores de °Brix titulable de la bebida probiótica de soya en función del tiempo de fermentación. (Tratamiento a2b2).

**TABLA B17.** Valores de °Brix titulable de la bebida probiótica de soya en función del tiempo de fermentación. (Tratamiento a3b1).

**TABLA B18.** Valores de °Brix titulable de la bebida probiótica de soya en función del tiempo de fermentación. (Tratamiento a3b2).

### **ANÁLISIS SENSORIAL**

**TABLA B19** .Datos obtenidos en el análisis sensorial de la bebida probiótica de soya correspondiente al olor.

**TABLA B20.** Datos obtenidos en el análisis sensorial de la bebida probiótica de soya correspondiente a la acidez.

**TABLA B21.** Datos obtenidos en el análisis sensorial de la bebida probiótica de soya correspondiente al sabor.

**TABLA B22.** Datos obtenidos en el análisis sensorial de la bebida probiótica de soya correspondiente a la textura.

**TABLA B23.** Datos obtenidos en el análisis sensorial de la bebida probiótica de soya correspondiente a la aceptabilidad.

### **ANEXO C. ANÁLISIS DE VARIANZA (PH,ACIDEZ,°BRIX, ANÁLISIS SENSORIAL).**

**TABLA C1.** Análisis de varianza para el pH de la bebida de soya con la utilización de probióticos (*Lactobacillus plantarum*) al finalizar la fermentación.

**TABLA C2.** Análisis de varianza para la acidez expresada en % de ácido láctico en la elaboración de la bebida de soya con la utilización de probióticos (*Lactobacillus plantarum*) al finalizar la fermentación.

**TABLA C3.** Análisis de varianza para los ° Brix de la bebida de soya con la utilización de probióticos (*Lacobacillus plantarum*).

**TABLA C4.** Análisis de varianza para el olor.

**TABLA C5** Análisis de varianza para la acidez.

**TABLA C6** Análisis de varianza para sabor.

**TABLA C7** .Análisis de varianza para textura.

**TABLA C8** .Análisis de varianza para aceptabilidad.

#### **ANEXO D: ANÁLISIS EN EL MEJOR TRATAMIENTO**

**TABLA D1.** Contaje de *Escherichia coli*, coliformes totales, mohos y levaduras en el mejor tratamiento.

**TABLA D2.** Contaje de bacteria probióticas en el mejor tratamiento.

**TABLA D3.** Contaje de mohos y levaduras en el mejor tratamineto .

**TABLA D4.** Datos de pH en el mejor tratamiento.

**TABLA D5.** Datos de acidez en el mejor tratamiento.

**TABLA D6** .Ecuaciones de la cinética de primer orden para el cálculo del tiempo de vida útil.

## **ANEXO E: GRÁFICAS**

**GRÁFICO E1.** Variación de pH durante el tiempo de fermentación.

**GRÁFICO E2.** Variación de acidez titulable durante el tiempo de fermentación.

**GRÁFICO E3.** Variación de acidez titulable expresada en % de ácido láctico durante el tiempo de fermentación.

**GRÁFICO E4.** Variación de °Brix durante el tiempo de fermentación.

**GRÁFICO E5.** Variación de pH durante el tiempo de almacenamiento del mejor tratamiento para el cálculo de tiempo de vida útil.

**GRÁFICO E6.** Acidez expresada en porcentaje de ácido láctico durante el tiempo de almacenamiento del mejor tratamiento para el cálculo de tiempo de vida útil.

**GRÁFICO E7.** Crecimiento microbiano durante el tiempo de almacenamiento del mejor tratamiento, para el cálculo de tiempo de vida útil.

## **ANEXO F: ANÁLISIS ECONÓMICO**

**TABLA F1.** Materiales directos e indirectos.

**TABLA F2.** Equipos y utensilios.

**TABLA F3.** Suministros.

**TABLA F4.** Personal.

**TABLA F5.** Costo de producción.

**TABLA F6** Punto de equilibrio.

## **ANEXO G: FOTOGRAFÍAS**



**Fotografía 1.** Materia prima: soya y productos obtenidos para la elaboración de la leche de soya

**Fotografía 2.** Algunos materiales utilizados

**Fotografía 3.** Licuado de la soya para la obtención de la leche

**Fotografía 4.** Pesado del inóculo de *Lactobacillus plantarum*

**Fotografía 5.** Incubadora a 37°C

**Fotografía 6.** Muestras inoculando a 37°C

**Fotografía 7.** Control de pH

**Fotografía 8.** Control de acidez

**Fotografía 9.** Petrifilm para el conteo de bacterias lácticas viables

**Fotografía 10.** Petrifilm para el conteo de bacterias lácticas viables

**Fotografía 11.** Petrifilm en el autoclave

**Fotografía 12.** Petrifilm con bacterias lácticas viables



## INTRODUCCIÓN

Desde hace algunas décadas las enfermedades crónicas han llegado a ser las causales más frecuentes de mortalidad en el mundo. Paralelamente, algunas investigaciones científicas han podido establecer que tales enfermedades están asociadas, en mayor o menor medida, a desórdenes en la dieta y falta de actividad física, entre otros factores (Revista de la Facultad de Química Farmacéutica.1998).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) los desórdenes causados por una alimentación inadecuada dan origen al sobrepeso y la obesidad, que constituyen en la actualidad una epidemia mundial a la que el Ecuador no resulta ajeno. Por esta razón como profesionales en la rama alimenticia debemos preocuparnos por proponer y elaborar alimentos funcionales, que sean nutritivos y saludables para curar y evitar enfermedades en el ser humano.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), define los probióticos como microorganismos vivos que ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped cuando son suministrados en cantidades adecuadas. Los efectos fisiológicos pueden ocurrir mediante dos mecanismos: por efecto directo de las células vivas, o indirectamente, por vía de los metabolitos producidos por estas células, lo cual es conocido como Efecto Biogénico.

La soya ha sido considerada uno de los descubrimientos más importantes en nutrición en los últimos cincuenta años. Según Pérez *et al* (1990), aparte de su contenido en calcio, el grano de soya es una proteína de alta calidad: es el único de origen vegetal de igual calidad que la de proteína animal.

El trabajo de investigación está enfocado a cubrir las expectativas y requerimientos de la industria alimenticia, proponiendo alimentos proteínicos con adición de probióticos y que beneficie al consumidor actual.

## CAPÍTULO I

### EL PROBLEMA

#### 1.1 Tema de Investigación

“UTILIZACIÓN DE PROBIÓTICOS (*Lactobacillus plantarum*) EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA DE SOYA”

#### 1.2 Planteamiento del Problema

##### 1.2.1 Contextualización

Según Chukeatirore (2003), el mercado de los alimentos probióticos está en pleno crecimiento en el mundo. Cada una de las marcas líderes aplica *Lactobacillus* que los diferencian de las otras, aunque todos apuntan hacia lo mismo: microorganismos vivos que ayudan a recomponer la flora intestinal.

Según Rodríguez (2009), el país líder indiscutible de probióticos es Japón, ya que con las investigaciones del Dr. Shirota, en el año 1930 se logra aislar un *Lactobacilo*, capaz de resistir acidez gástrica, de sales biliares, condiciones de transporte y conservación, hasta llegar vivo al intestino delgado, donde ejerce su función y se llama *Lactobacillus casei shirota*.

Según Guevara *et al.* (2005), en años recientes se presenta un creciente interés por agentes probióticos que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal del consumidor permitiendo controlar microorganismos patógenos por medio de la estimulación del sistema inmune, acidificando el contenido intestinal y aportando bacterias benéficas, además de las levaduras que aportan vitaminas y enzimas bacterianas que colaboran en una mejor degradación del alimento consumido,

actuando como promotores de crecimiento, ya que su acción sobre el intestino favorece una mayor absorción y utilización de nutrientes .

Según Sánchez y Zapata (2002), se han descubierto que estos microorganismos juegan un papel de desplazamiento contra otros microorganismos porque compiten por nutrientes y espacio para su desarrollo, eliminando microorganismos patógenos sin tener la necesidad de utilizar antibióticos; de esta manera se ha incrementado su uso en la producción animal para promover un mejor crecimiento, conversión alimenticia y salud, entre otros.

Según Isolauri (1998), las bebidas con microorganismos benéficos tienen cada vez más presencia en los anaqueles. Por ejemplo, el producto Actimel®, de “The Dannon Company” alcanzó ventas aproximadas mundiales de 1,8 billones de dólares en el 2007. Actualmente, la gran mayoría de los productos probióticos existentes se comercializan en forma líquida, principalmente como bebida láctea fermentada. La industria de bebidas probióticas ha tenido un crecimiento exponencial, gracias a que la tendencia en estas últimas décadas se ha dirigido hacia la alimentación saludable, por su comprobado efecto positivo en la calidad de vida de las personas que las consumen. Recientemente, Nestlé comenzó la distribución de leche en polvo enriquecida con probióticos. Conceptualmente, este producto se reconstituiría al momento de consumo, siendo estable como sólido en polvo.

Según Estrada (2005), las bacterias más utilizadas en la elaboración de bebidas probióticas son del género *Lactobacillus*, su presencia en el tubo digestivo es considerada benéfica, por tener un papel protector o terapéutico. Se cree que algunas especies de este género pueden estar involucradas en la prevención de la enfermedad de Crohn's, el cáncer de colon, la disminución del colesterol, previenen o reducen los efectos de la diarrea, constipación, infecciones alimentarias e infecciones urinarias.

En los últimos años el consumidor ecuatoriano, realiza compras reflexivas, basando su decisión final en un estudio más detallado del origen, los beneficios y lo saludable que puede ser un producto.

Según Murillo (2008), antes la gente ecuatoriana utilizaba cualquier insumo que satisfacía sus exigencias primarias, ahora, cuando hacen una compra intentan que sus productos satisfagan varias de sus necesidades”.

Según Orbe (2008), en los países más desarrollados, algunos consumidores efectivamente pueden decidir la compra de un producto por cuán responsablemente fue elaborado, porque tienen la capacidad adquisitiva para hacerlo; en un país en desarrollo, como el nuestro, es un fenómeno mucho menos recurrente y por tanto, el mercado de productos ambiental o socialmente responsables es un nicho bastante pequeño. No obstante, hay muchas iniciativas en los propios países en desarrollo, como en el Ecuador, de buscar una serie de certificaciones verdes, ambientales o sociales a fin de que estos sean más atractivos en un mercado desarrollado”.

Además, en el Ecuador existen pocas industrias lácteas que expenden bebidas lácteas probióticas entre ellas están: La industria láctea Toni S.A., ubicada en la provincia del Guayas (Km 7 ½ vía a Daule), la empresa Alpina ubicada en Guayaquil-Ecuador, (Cdla. Vernaza Norte) y la industria Llanolac ubicada en la provincia de Pichincha, (Quito-Ecuador) (Fajardo Calle Paccha, Lote N° 7 y Puruhaes).

Según Orbe (2008), la soya que se consume en el Ecuador es, en su mayoría, importada debido a los escasos cultivos que existen en el país y a la calidad de la semilla nacional. Por tal motivo, varias instituciones especializadas en estudios agrarios trabajan en la elaboración de nuevas variedades que puedan ganar mercado. Desafortunadamente, las condiciones climáticas desfavorables para los sembríos provocan una escasa producción, la misma que cubre solamente el 10% de la demanda nacional. Se estima que este año existen alrededor de 50 mil hectáreas de soya cultivadas. Cada una produce alrededor de 1 500 kilos, cuando el mínimo, que se debe dar es [3000 kilos / hectárea].

Según datos del Banco Central del Ecuador (BCE).2009, el país importó 437.89 mil [Kg] de soya, lo que representa unos \$866.90mil.

Además, una de las razones por las que la soya es un producto de crecimiento comercial en el país es la variedad de derivados que se puede obtener. Entre los principales productos a base de soya, se encuentra la leche. El litro de este producto se comercializa a ¢75, es decir, ¢10 más que la leche de vaca.

De igual forma, las salchichas y la carne vegetal tienen costos que van desde los \$2. Según varios consumidores, estos precios son similares a los productos tradicionales del mercado.

Las condiciones agroecológicas que caracterizan a ciertas provincias de la Costa permitirían incrementar este cultivo, especialmente en Manabí.

Según la Revista Líderes (2008), el primer paso para que el sector de la leche de soya crezca en producción y consumo es que exista una culturización sobre la alimentación en el Ecuador.

En la provincia de Tungurahua no existen empresas lácteas que elaboren este tipo de bebidas probióticas, aunque el consumo de la bebida de leche de soya se está incrementando cada vez más especialmente en el cantón Ambato, puesto que la población se ha incrementado, la demanda de la soya y de la leche es más elevada comparada con los demás cantones de la provincia. Además no existe información de las propiedades nutritivas de la soya.

Igualmente en bebidas probióticas la mayoría de productos que se expenden en el mercado provincial son bebidas lácteas obtenidas de la leche como materia prima como es el caso del yogurt probiótico.

### 1.2.2 Análisis Crítico

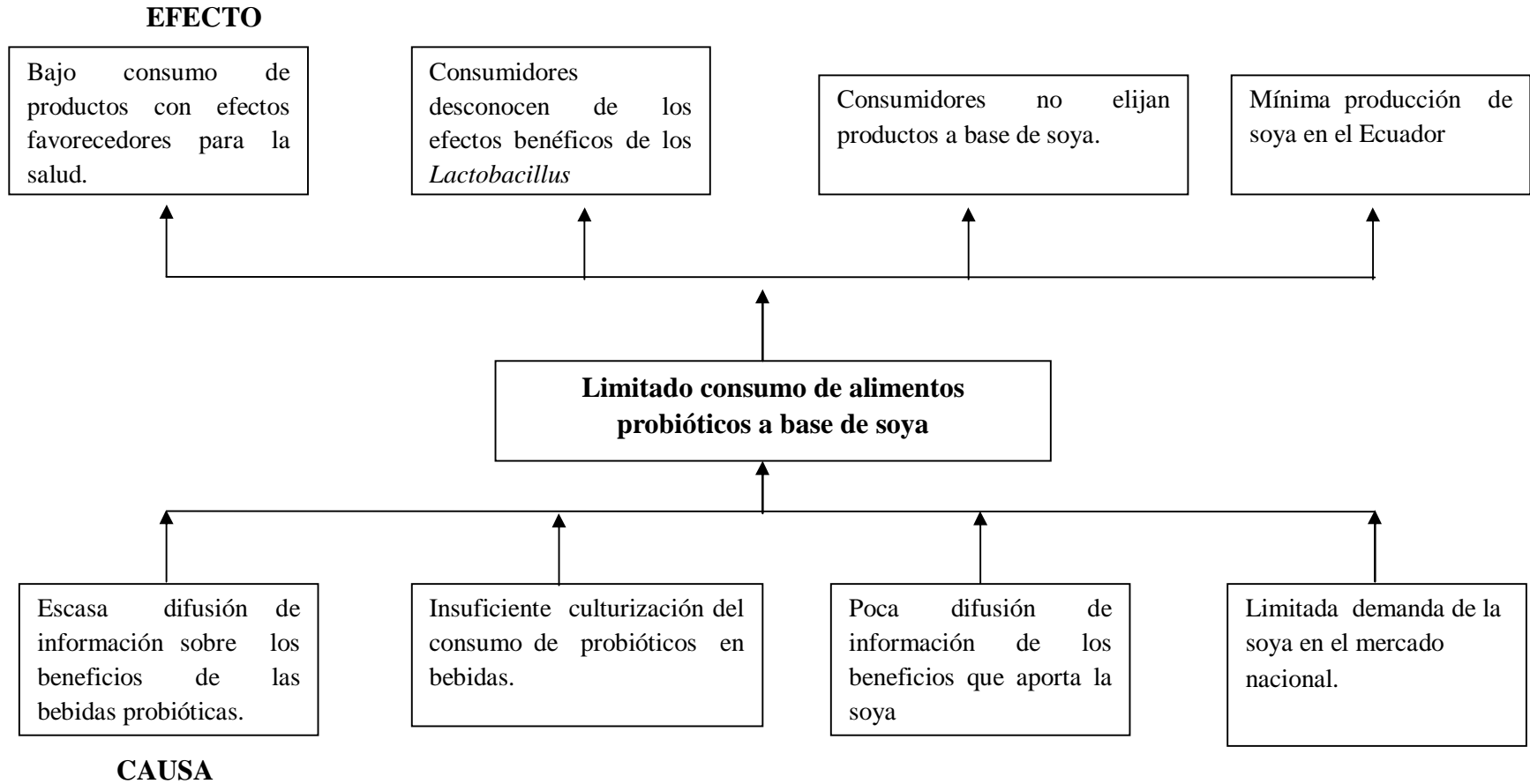
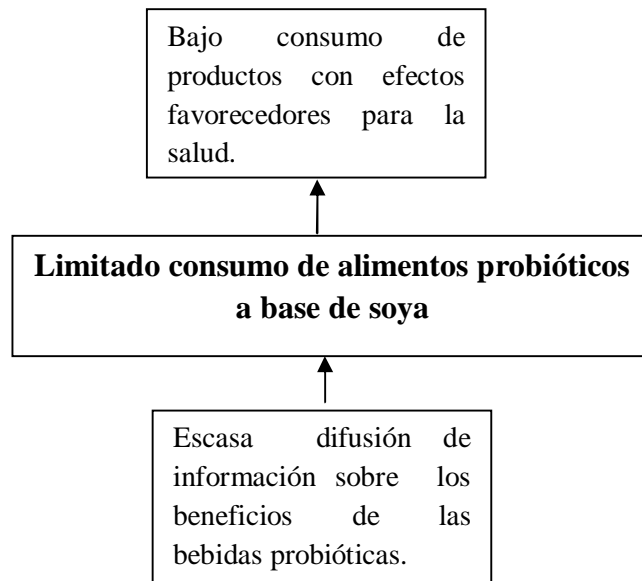


Gráfico 1. Árbol del Problema

Elaborado por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando



Gráfico 1.1: Relación Causa-Efecto del Análisis Crítico.



La poca difusión de información de los múltiples beneficios de consumir bebidas probióticas hace algunos años atrás ha hecho que la gente no consumiera productos realmente saludables, aunque actualmente la mayoría de personas en el Ecuador ya se están preocupando por su salud y recurren a muchas fuentes de información de alimentos que realmente son saludables. Por esta razón en este proyecto se investigó acerca de los probióticos en bebidas utilizando soya, por sus propiedades nutritivas y así a más de proveer alimentos saludables ayudará a la economía del país, ya que la demanda de soya será mayor y así se mejorará la producción tanto de soya como de productos probióticos o derivados de la misma.

### 1.2.3 Prognosis

- El desconocimiento de los beneficios que proporciona la bebida de soya con probióticos para su salud incide en la baja generación de ingresos y fuentes de empleo, por la falta de apoyo a los agros productores de soya y escasas empresas que se dediquen a la elaboración de este tipo de bebidas.
- Además, se desaprovechará la calidad nutritiva de la soya que siendo utilizada contra la malnutrición en el país ofrecería una solución dinámica.

#### **1.2.4 Formulación del Problema**

¿La escasa difusión de información sobre los beneficios de las bebidas probióticas a base de soya, incide en el bajo consumo de productos con efectos favorecedores para la salud?

¿La insuficiente culturización del consumo de bebidas probióticas a base de soya, implica que las personas desconozcan el efecto benéfico de los *Lactobacillus* en la flora intestinal y la pérdida de un alimento nutritivo?

¿La poca difusión de información de los beneficios que aporta la soya hace que los consumidores no elijan productos a base de soya?

¿La limitada demanda de la soya en el mercado nacional incide en la mínima producción de soya en el Ecuador?

#### **1.2.5 Delimitación de la Investigación**

**Categoría:** Investigación en tecnología de lácteos y Biotecnología.

**Subcategoría:** Bebida fermentada probiótica a base de soya y *Lactobacillus plantarum*.

**Área:** Agroindustrial.

**Sub-área:** Diseño y desarrollo de procesos y productos en los Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Delimitación Temporal:** El trabajo de investigación se realizó desde noviembre 2010 hasta Marzo 2011.

**Delimitación Espacial:** Los ensayos se realizaron a escala laboratorio en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

### 1.3 Justificación

Considerando la composición nutricional de la soya, se debería aprovechar su alto nivel nutritivo y elaborar productos a partir de la leche obtenida de la misma; y más aun si se le da un valor agregado que ayude a la buena nutrición, como son los probióticos, que son microorganismos que actúan directamente en la flora intestinal eliminando microorganismos patógenos causantes de enfermedades, generalmente gástricas.

Además, al elaborar la bebida probiótica de soya y expender en el mercado provincial, los consumidores conocerán los beneficios que proporciona para su salud, puesto que las personas actualmente están preocupándose por nutrirse bien y verse más saludables. Al ingresar al mercado la demanda crecerá cada vez más, ayudando así a que empresas alimenticias se dediquen a la elaboración de este tipo de bebidas probióticas generando empleo y mejorando la economía del país.

Dentro del desarrollo de nuevos productos alimenticios probióticos, es de relevante importancia el aprovechamiento de subproductos de esta industria alimenticia; como en el caso del aprovechamiento de la leche de soya para producir biomasa probiótica de *Lactobacillus plantarum* liofilizada, destinándole a este subproducto un fin económicamente atractivo.

## **1.4 Objetivos:**

### **1.4.1 Objetivo General**

Elaborar una bebida de soya probiótica utilizando *Lactobacillus plantarum*.

### **1.4.2 Objetivos Específicos:**

- Obtener leche de soya para la elaboración de la bebida probiótica.
- Utilizar el cultivo de *L.plantarum* para la elaboración de la bebida de soya probiótica.
- Evaluar el producto mediante análisis sensorial.
- Realizar análisis físico-químicos y microbiológicos del mejor tratamiento.
- Calcular el tiempo de vida útil del mejor tratamiento en función del pH, acidez y conteo de mohos y levaduras..
- Proponer una metodología para la elaboración de la bebida de soya probiótica.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de Investigación

##### 2.1.1 LA SOYA

Según el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), 2003, la soya (*Glycine max* L) es una oleaginosa de alto valor nutritivo con múltiples usos tanto para el consumo humano como animal y tiene una demanda importante en el país, siendo el mayor consumidor el sector de la avicultura debido a que la torta de soya representa alrededor del 15% al 20% de la composición de los alimentos balanceados. Las tasas de conversión del grano de soya son: un 70% del grano se transforma en pasta de soya y un 18% en aceite; el resto de usos de la soya para elaborar carne, leche o harinas es marginal.

##### 2.1.1.1 CLASIFICACIÓN DE LA SOYA.

Según el INTA (2003), el nombre de género *Glycine* fue introducido originalmente por Linnaeus (1737) en la primera edición de *Genera Plantarum*. La palabra *glycine* deriva del griego - *glykys* (dulce) y se refiere, probablemente al dulzor de los tubérculos comestibles con forma de pera (*apios* en Griego) producidos por la enredadera leguminosa o herbácea trepadora, *Glycine apios*, que ahora se conoce como *Apios americana*. La soya cultivada primero apareció en *Species Plantarum*, Linnaeus, bajo el nombre de *Phaseolus max* L. La combinación, *Glycine max* (L.) Merr., fue propuesta por Merrill en 1917, ha llegado a ser el nombre válido para esta planta.

Como otras cosechas de larga domesticación, el parentesco de la soya moderna con las especies de soya que crecen en forma silvestre ya no puede ser trazada con ningún grado de certeza. Es una variedad cultural con un amplio número de cultivares.

Además, el género *Glycine* Wild. se divide en dos subgéneros: *Glycine* y *Soya*. El subgénero *Soya* Moench incluye la soya cultivada, *G. max* (L.) Merr., y la soya silvestre: *G. soya* Siebold & Zucc. Ambas especies son anuales. La soya crece sólo bajo cultivo mientras que *G. soya* crece en forma silvestre en China, Japón, Corea, Taiwán y Rusia. *Glycine soya* es el ancestro silvestre de la soya: el progenitor silvestre. En la actualidad, el subgénero *Glycine* consiste de la menos 16 especies silvestres perennes: por ejemplo, *Glycine canescens*, y *G. tomentella* Hayata que se encuentra en Australia y Papúa Nueva Guinea

#### **2.1.1.2 DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA SOYA**

Según el INTA (2003), la soya varía en crecimiento, hábito, y altura. Puede crecer desde 20 cm hasta 2 metros de altura y tarda por lo menos 1 día en germinar.

Las vainas, tallos y hojas están cubiertas por finos pelos marrones o grises. Las hojas son trifoliadas, tienen de 3 a 4 prospectos por hoja, y los prospectos son de 6-15 [cm] de longitud y de 2-7 [cm] de ancho. Las hojas caen antes de que las semillas estén maduras. Las flores grandes, autofértiles nacen en la axila de la hoja y son blancas, rosas o púrpuras.

El fruto es una vaina pilosa que crece en grupos de 3-5, cada vaina tiene 3-8 [cm] de longitud y usualmente contiene 2-4 (raramente más) semillas de 5-11 [mm] de diámetro.

La soya se da en varios tamaños y la cáscara de la semilla es de color negro, marrón, azul, amarillo, verde o abigarrado. La cáscara del poroto maduro es dura, resistente al agua y protege al cotiledón e hipocótilo (o "germen") de daños. Si se rompe la cubierta de la semilla, ésta no germinará. La cicatriz, visible sobre la semilla, se llama hilum (de color negro, marrón, gris y amarillo) y en uno de los

extremos del hilum está el micrópilo, o pequeña apertura en la cubierta de la semilla que permite la absorción de agua para brotar.

Algo para destacar es que las semillas que contienen muy altos niveles de proteína, como las de soya, pueden sufrir desecación y todavía sobrevivir y revivir después de la absorción de agua.

### **2.1.1.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA SEMILLA DE SOYA**

INTA (2003), juntos, aceite y contenido de proteínas cuentan con el 60% aproximadamente del peso seco de la soya; proteína 40% y aceite 20%. El resto se compone de 35% de carbohidratos y cerca del 5% ceniza. Los cultivares comprenden aproximadamente 8% cáscara de semilla, 90% cotiledones y 2% ejes de hipocótilo o germen.

La soya es un **alimento muy rico en proteína**. Algunos de sus derivados se consumen en sustitución de los productos cárnicos, ya que su proteína es de muy buena calidad, casi equiparable a la de la carne. Los adultos necesitan ingerir con la dieta 8 aminoácidos (los niños 9) de los 20 necesarios para fabricar proteínas. Las proteínas más completas, es decir, con todos los aminoácidos necesarios, suelen encontrarse en los alimentos de origen animal. Sin embargo la soya aporta los 8 aminoácidos esenciales en la edad adulta, aunque el aporte de metionina sea algo escaso; pero esto puede compensarse fácilmente incluyendo cereales, huevos o lácteos en la alimentación diaria.

La mayoría de la proteína de soya es un depósito de proteína relativamente estable al calor. Esta estabilidad al calor permite resistir cocción a temperaturas muy elevadas a derivados de la soya tales como el tofu o llamado también queso de soya (se lo obtiene coagulando leche de soya y, a continuación, presionando el requesón resultante en cuadritos), el jugo de soya y las proteínas vegetales texturizadas para ser hechas.

Los principales carbohidratos solubles, sacáridos, de soya madura son: el disacárido sacarosa (2,50–8,20%), el trisacárido rafinosa (0,10–1%) compuesto

por una molécula de sucrosa conectada a una molécula de galactosa, y el tetrasacárido estaquiosa (1,40-4,10%) compuesto por una sucrosa conectada a dos moléculas de galactosa. Los oligosacáridos rafinosa y estaquiosa protegen la viabilidad de la semilla de soya de la desecación pero no son digeribles y por lo tanto contribuyen a la flatulencia y molestias abdominales en humanos y otros animales monogástricos. Los oligosacáridos no digeridos son degradados en el intestino por microbios nativos produciendo gases tales como dióxido de carbono, hidrógeno, metano, etc.

#### **2.1.1.4 INFORMACIÓN NUTRICIONAL DE LA SOYA.**

Según el INTA (2003), la soya es rica en **proteínas** ya que contienen todos los aminoácidos esenciales, con la ventaja de que carece de compuestos purínicos por lo que no da lugar a la formación de ácido úrico, dándole un valor dietético incalculable.

Contienen casi el doble de proteínas que contiene el queso, el doble de proteínas de la carne roja y 10 veces las proteínas de la leche.

Es fuente de proteína vegetal ya que la cantidad de proteínas que esta leguminosa contiene oscila entre el 30 y el 45%. Por lo tanto, tiene casi dos veces más proteínas que la carne, una vez y media más que el grano común, las lentejas, las arvejas o el maní; tres veces más que el trigo integral, los demás cereales y el huevo; diez veces más que la leche. Las proteínas vegetales, tienen bajo nivel de aminoácidos con contenido de azufre (cistina y metionina), a los cuales se debe el aumento de la excreción de calcio, lo que conlleva a una mejor asimilación de este mineral en el cuerpo.

**Grasas.**-prácticamente son de forma digestible total, por su alto contenido en ácidos grasos insaturados, siendo los ácidos linoleicos (40 – 50%) y oleico (17 – 20%) los predominantes, seguidos de linolénico, palmítico, esteárico en proporciones entre 10 – 5%, cuya característica principal es que permiten



emulsionar, es decir mezclar las grasas del organismo con el agua para facilitar su expulsión, que ayuda a prevenir la formación de colesterol.

La grasa de la soya es de muy buena calidad. Entran en su constitución ácidos grasos no saturados, esenciales en una alimentación equilibrada.

**Carbohidratos.**- varían entre el 10 y el 17%. Una cantidad mucho menos que ésta, apenas del 2% está bajo la forma de almidón absorbible para ser utilizado por el organismo humano. Por ser pobre en hidratos de carbono, esta leguminosa puede ser empleada sin restricciones y con éxito en la alimentación de los diabéticos

**Vitaminas.**-su mayor aporte se deriva a las vitaminas A y C cuya participación por cada 100 [g] de granos de soya es 4,5 [mg] y 2,3 [mg] respectivamente.

**Minerales.**-en 100 [g] de grano de soya, seco y crudo, se hallan 5 [g] de minerales, representados principalmente por el sodio, el potasio, el calcio y el fósforo.

La harina del grano de soya contiene calcio y fósforo en proporción más elevada que la leche y que el trigo integral.

Contiene dos veces más calcio y cinco veces más fósforo que la leche de vaca.

- Tiene carotina, tiamina, riboflavina, ácido nicotínico y ácido ascórbico.
- Fuente económica de calorías

#### **2.1.1.5 USOS DE LA SOYA**

Según el INTA (2003), la soya es utilizada por su aporte proteínico también como alimento para animales, en forma de harina de soya, área en la que compite internacionalmente con la harina de pescado.

Aunque con un notable diferencial inferior en su precio, la cotización internacional de la soya es paralela a la de la harina de pescado. Cuando escasea la soya, sube automáticamente el precio de la harina de pescado y viceversa.

El gran valor proteínico de la legumbre (posee los ocho aminoácidos esenciales) lo hace un gran sustituto de la carne en culturas veganas. De la soya se extraen subproductos como la leche de soya o la carne de soya.

Es alimento de consumo habitual en países orientales como China y Japón, tanto fresca (como vainas cocidas) como procesada. De ella se obtienen distintos derivados como el aceite de soya, la salsa de soya, los brotes de soya, el [tōfu](#), [nattō](#) o miso. Del grano de soya se obtiene el *poroto tausí* que es el frijol de soya salado y fermentado, muy usado en platos chinos. Algunos derivados:

- Leche de soya: producto tradicional asiático conseguido por semilla molida, extraído en caliente en agua y cocido.
- Tofu o queso de soya: leche de soya coagulada con sales de magnesio o vinagre; la humedad es variable según las preparaciones y crianza;
- Tempeh: semilla decorticado, cocido en agua y fermentado durante 24-48 horas de una seta; se tienen formas que son rebanadas y fritas.
- Productos fermentados, salsas y bebidas, típicos de la cocina oriental.

#### **2.1.1.6 LECHE DE SOYA**

Según Rackis (1974), es el líquido extraído de los granos de soya que han sido remojados, prensados y colados: el líquido que fluye es la leche de soya. Sin fortificar la leche de soya es una excelente fuente de hierro, proteínas y vitamina B, también podemos hallarla con calcio agregado. Encontraremos la leche con diferentes variedades y sabores (chocolate, vainilla, almendras y algarrobo) o con gusto natural. La leche de soya es común comprarla en envases asépticos, los cuales se conservan y pueden ser guardados muchos meses. Una vez abierta deberá ser puesta en refrigerador y ser usada durante los próximos 5 a 7 días. La

leche de soya no contiene lactosa, brindando una buena alternativa para la gente que tiene intolerancia a la lactosa y puede ser usada en cualquiera de las formas que se usa la leche de vaca.

Además, la leche de soya dejó en el olvido su sabor desagradable, y hoy comparte sus cualidades nutricionales con niños y adultos. Sobre la mesa, su imagen se fortalece como los huesos que se nutren por el calcio que ésta les proporciona. Y es que la leche de soya es superior a la de vaca por su mayor contenido de hierro, yodo y zinc. Pero su contenido de este mineral, es sólo un pequeño eslabón en la cadena de propiedades alimenticias que proporciona.

Según Pérez J (1990), la soya ha sido considerada uno de los descubrimientos más importantes en nutrición en los últimos cincuenta años. "Aparte de su contenido en calcio, el grano de soya es una proteína de alta calidad: es el único de origen vegetal de igual calidad que la de proteína animal.

#### **2.1.1.7 BENEFICIOS DE LA LECHE DE SOYA:**

- Ayuda a reducir las enfermedades cardiovasculares.
- Ayuda a mantener la línea, puesto que a diferencia de la leche de vaca esta no contiene tanta grasa.
- Debido a que contiene el doble de calcio que la leche previene la osteoporosis.
- Es fuente de proteínas vegetales.
- Es de fácil digestión.
- Ideal para las personas intolerantes a la lactosa.

(Rackis, .1974)

#### **2.1.1.8 COMPARACIÓN DE LA LECHE DE VACA Y SOYA**

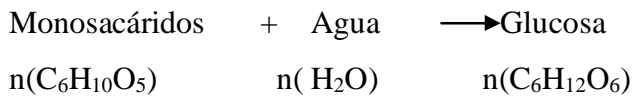
Composición de la leche de soya y de la leche de vaca por cada 240g.

Ver (Anexo A Cuadro1)

### 2.1.1.9 FERMENTACIÓN ÁCIDO LÁCTICA DE LA LECHE DE SOYA

Según Escobar y Garzón (1989), la leche de soya contiene en su mayoría moléculas de monosacáridos, disacáridos y en general polisacáridos, la fermentación ocurre por la acción de las enzimas extra celulares, transformándose en glucosa, continuando con la vía *Embden Meyerhof* y *Parnas* para producir el ácido pirúvico, el cual a su vez es convertido en ácido láctico.

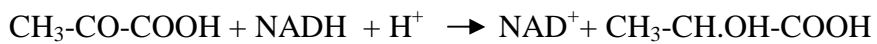
El proceso se describe de la siguiente forma:



#### VÍA EMBDEN MEYERHOF



#### ACCIÓN MICROBIANA



## **2.1.2.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE LECHE DE SOYA**

### **a) Recepción de la materia prima**

La leche de soya es una dispersión estable de las proteínas de soya en agua, semejante, en apariencia, a la leche de vaca.

Para la elaboración de la leche de soya hay que tomar en cuenta algunos factores como: la eliminación del sabor afrijolado y la inactivación de factores biológicamente activos como los inhibidores de tripsina, para ello se realiza una inspección a cada uno de los granos con el fin de evitar cambios en el sabor u olor de la bebida a obtener.

### **b) Remojo**

Los granos de soya son sometidos a remojo en agua fría aproximadamente por un lapso de 48 horas con el fin de facilitar el pelado.

### **c) Descascarillado**

En este punto se procede primero a reemplazar el agua por una más fresca, posteriormente se procedió a pelar cada uno de los granos de soya.

### **d) Pre cocción.**

Los granos de soya se someten a pre cocción por un lapso de tiempo de 30 minutos, con el fin de eliminar el amargor propio de la soya.

### **e) Mezclado**

Se procede a mezclar con en una relación de 1:6 (soya: agua).

### **f) Licuado**

Se procede a licuar la mezcla soya/agua.

### **g) Filtrado**

Para este proceso se utiliza lienzos, con el fin de eliminar la fracción sobrante en el lienzo así como algunas partículas indeseables, que pueden causar problemas durante la elaboración de la bebida.

### **h) Pasteurización**

Sometemos a una temperatura de 61 - 67°C por 60 minutos.

### **i) Enfriamiento**

Llevamos el producto a enfriar a una temperatura de 36-37°C.

### **Empaque**

Se coloca la leche de soya en envases de 1 litro.

### **Almacenamiento**

Se lleva a bodegas el producto envasado, y se almacena a 2°C.

### **Distribución**

Distribuir a mayoristas y minoristas para hacer llegar nuestro producto al consumidor final.

(Obtenida de la Revista Soya. Disponible en: [http://www.engormix.com/MA-balanceados/formulacion/articulos/elaboracion\\_leche\\_de\\_soyar-t2519/800-p0.htm](http://www.engormix.com/MA-balanceados/formulacion/articulos/elaboracion_leche_de_soyar-t2519/800-p0.htm)).

## **2.1.2.2 PROBIÓTICOS**

En los últimos años se ha creado un creciente interés tanto por la comunidad científica como por parte de la población por el papel de los probióticos en la salud humana (Desmazeaud, 1996; Guarner y Schaafsma, 1998).

La asociación sin duda más conocida como probióticos con derivados lácteos fermentados, es la que corresponde a *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, tradicionalmente utilizada en la producción de yogur. En la actualidad el abanico de cepas se ha incrementado con otros microorganismos que pueden estar presentes en la microflora intestinal, como por ejemplo, otras especies de *Lactobacillus*, especies de *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, cepas de *Escherichia coli* (Dominguez-Bello, et al 2008).

Los probióticos son microorganismos vivos que al administrarse en cantidades adecuadas, confieren efectos beneficiosos en la salud, demostrados en estudios controlados con humanos. (FAO, 2002).

## **2.1.2.3 EVOLUCIÓN DE LA DEFINICIÓN DE PROBIÓTICO**

Según Felley, *et al* (2001), el primer estudio que demostraba los efectos beneficiosos de los microorganismos que fermentaban los alimentos fue realizado

por el microbiólogo ucraniano y Premio Nobel en Medicina Ilya Metchinikoff en 1908 quien señaló que estos microorganismos o sustancias producidas en alimentos fermentados (como el yogur) podían influir en el balance de la microflora intestinal, y en parte eran los responsables de la conocida longevidad de los habitantes de Bulgaria. Desde entonces y hasta el día de hoy ha crecido el interés por estos alimentos que contienen microorganismos beneficiosos para la salud, y más concretamente por los productos lácticos fermentados.

Según Spanhaak *et al.* (1998), entre otros, demostraron que *Lactobacillus casei Shirota* en Yakult (leche fermentada japonesa) era capaz de colonizar el epitelio intestinal, y en consecuencia, delimitar el área de adherencia al intestino de otros microorganismos indeseables. Según Saavedra (1994), asimismo actúa frente a infecciones intestinales en niños desencadenadas por Rotavirus, y también en procesos tumorales en ratones. Estos efectos pueden ser debidos a las glicoproteínas secretadas por las propias bacterias.

En este orden de ideas, podemos señalar que la ingestión de bacterias vivas a través del consumo de productos fermentados, actúan sobre la composición o la actividad de la microflora autóctona, y por tanto puede modificar y favorecer el estado de salud del huésped.

Según Salminen, *et al.* (1998), la definición del término PROBIÓTICO proviene del griego (pro=a favor de; biótico=vida), y ha ido variando con el tiempo.

Se utilizó por primera vez el término de **probiótico** por Lilly y Stillwell en el año 1965, refiriéndose a “sustancia que estimula el crecimiento de otros microorganismos”. Éste termino se ha redefinido posteriormente como “agente microbiano viable que al utilizarse en animales o en el hombre aporta efectos beneficiosos en el huésped mejorando el balance de la microflora intestinal”.

En 1970 un **microorganismo probiótico** se definía como “microorganismo que se utiliza como suplemento en la alimentación animal, para aumentar rendimiento y disminuir estrés”.

En el 2001 la WHO (World Health Organization) definió **probiótico** como “microorganismo vivo que cuando se administra en cantidades adecuadas confiere beneficios en el huésped”.

En el informe conjunto de la FAO ( Food and Agriculture Organization) y la WHO del 2002 el término **probiótico** se definió como “microorganismo vivo que ingerido en las cantidades adecuadas confiere un beneficio saludable al huésped.”

#### **2.1.2.4 ACTIVIDAD DE LOS PROBIÓTICOS EN EL HOMBRE**

Según De Roos y Katan, (2000), todo tipo de yogur o de leche fermentada que contenga los cultivos iniciadores tradicionales *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, facilita la digestión de la lactosa en individuos con intolerancia a este compuesto ya que posee una actividad  $\beta$ -galactosidasa que actúa durante la fermentación del producto.

En general se considera que los probióticos tienen acción terapéutica permitiendo mejorar el estado de salud y la dinámica nutritiva.

#### **2.1.2.5 CRITERIOS PARA LA EVALUACIÓN DE LOS PROBIÓTICOS EN LOS ALIMENTOS**

Según Castro y De Rovetto, (2006), los requisitos que ha de cumplir un microorganismo para ser considerado como probiótico son:

- Formar parte de la microflora del intestino humano.
- No ser ni patógeno ni toxigénico.
- Mantenerse viable en medio ácido del estómago y en contacto con la bilis en el duodeno.
- Poseer capacidad de adhesión a las células epiteliales del tracto gastrointestinal.



- Adaptarse a la microflora intestinal sin desplazar a la microflora nativa ya existente.
- Producir sustancias antimicrobianas.
- Tener capacidad para aumentar de forma positiva las funciones inmunes y las capacidades metabólicas.

Según Bernet *et al.* (1994), Sarem-Damjerdii *et al.* (1995), Reid y Burton (2002), las metodologías para evaluar estos requisitos han sido aportadas por diversos investigadores y entre ellas destacan: adherencia al epitelio gastrointestinal para reducir o prevenir la colonización por patógenos.

#### **2.1.2.6 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS**

Según Isolauri *et al.* (1998-2001); Collado (2007), entre los mecanismos de acción de los probióticos descritos por algunos investigadores entre ellos:

- Producción de sustancias antimicrobianas como por ejemplo ácido láctico, peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriosinas .Estos compuestos reducen el número de células patógenas viables.
- Disminución del pH intestinal favoreciendo el crecimiento de microorganismos beneficiosos.
- Aumento de la resistencia a la colonización por competir con patógenos para unirse a los sitios de adhesión en la superficie del epitelio gastrointestinal.
- Competición por nutrientes.

#### **2.1.2.7 CARACTERÍSTICAS DE LOS PROBIÓTICOS:**

Según Isolauri *et al.* (1998-2001); Collado (2007), existen varias características de los probióticos que permiten su uso en seres humanos:

- Son inocuos, de hecho la mayoría de ellos se aíslan en la propia flora fecal humana, por lo tanto, no dañan al individuo.

- No colonizan en forma permanente, sino que ejercen su efecto mientras se consumen y después son eliminados por el peristaltismo.
- Tienen una actividad específica en el tubo digestivo, que puede ser inmune, nutricional, metabólica o protectora, que son las funciones de la flora natural, es decir, los probióticos estimulan, mejoran la flora fecal normal.
- Tienen la capacidad de mantenerse vivos en el tubo digestivo, a diferencia del resto de las bacterias que ingresan al organismo, venciendo las defensas antibacterianas naturales del aparato digestivo, entre ellas la acidez gástrica, el moco intestinal y gástrico, las enzimas intestinales y las sales biliares.

#### **2.1.2.8 BENEFICIOS DE LOS PROBIÓTICOS:**

Según Isolauri *et al.* (1998-2001); Collado (2007), entre los principales beneficios de lo probióticos se hallan:

- Permite la absorción íntegra de ciertos nutrientes.
- Mejora la digestión de los alimentos, en especial de productos lácteos.
- Regula la presencia de otras bacterias que son nocivas para la salud.
- Alivia la inflamación intestinal.

#### **2.1.2.9 EL GRUPO DE BACTERIAS POTENCIALMENTE PROBIÓTICOS**

Según Kleerebezem *et al.* (2003), éste grupo está integrado por diversas especies incluyendo géneros como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*.

Dentro de este grupo el género del que se describen mayor cantidad de especies con características probióticas es *Lactobacillus*, que tienen propiedades beneficiosas para la salud.

## **CUADRO DE DENOMINACIONES A NIVEL DE LA INDUSTRIA DE LOS MICROORGANISMOS DE MAYOR APLICACIÓN COMO PROBIÓTICOS.**

(Anexo A Cuadro 2)

### **2.1.3.1 LACTOBACILLUS PLANTARUM**

**Clasificación científica de *Lactobacillus plantarum*.** (Anexo Cuadro 3).

Según Magonova *et al.* (2007), es una bacteria gram positiva, no esporulada, aerotolerante que puede crecer desde 15°C hasta 37°C y produce ambos isómeros del ácido láctico tanto el D como L. *Lactobacillus plantarum* es la bacteria más común usada en los proceso de inoculación para la producción de alimentos.

Según Kleerebezem *et al.* (2003), la actividad que tiene *Lactobacillus plantarum* para producir sustancias antimicrobianas le ayuda a sobrevivir en el tracto gastrointestinal. Estas sustancias antimicrobianas han mostrado un efecto bastante significativo sobre bacterias gram positivas y gram negativas (Magonova *et al.*, 2007). Otros microorganismos tolerantes al oxígeno acumulan cantidades milimolares de manganeso, el cual es usado por *Lactobacillus plantarum* como una pseudo catalasa para bajar los niveles de oxígeno y de esta manera impedir el crecimiento de estos organismos.

Según Santos y Llopis (2005), entre las últimas investigaciones sobre *Lactobacillus plantarum* es la que ha demostrado que es altamente eficaz en la prevención de alergias relacionadas con la soya. Investigadores de la Universidad de Illinois llevó a cabo dos estudios en 2008. Se fermenta semillas de soya, harina, o una comida con una variedad de microorganismos. Fermentados y productos de soya fermentados se introdujeron en el plasma de sangre de personas alérgicas a la soya. *Lactobacillus plantarum* permitido a la mayor reducción de la inmuno-reactividad a los productos de soya. En muchos casos, era tanto como una reducción del 99 por ciento. El proceso también se incrementó el número de aminoácidos esenciales en la soya, junto con los nuevos péptidos beneficioso, proporcionando un impulso adicional de salud. A pesar de una alergia a la soya

sólo afecta a un número reducido de la población, ese número se espera que crezca la soya sigue convertido en un ingrediente más común en una amplia gama de productos alimenticios.

Según Santos y Llopis (2005), un estudio realizado en 2001 por investigadores suecos en la Universidad de Lund explora las propiedades y el uso de *Lactobacillus plantarum* 299v. Esta cepa particular, se origina en la mucosa intestinal humana. Sujetos en animales con esta cepa bacteriana han demostrado mejorar el estado del hígado y una reducción de la inflamación de la mucosa. *Lactobacillus plantarum* 299v reduce la hinchazón abdominal en pacientes con síndrome de intestino irritable. También aumentó la cantidad de ácidos carboxílicos en las heces y la disminución de las concentraciones de fibrinógeno en la sangre. Además, los científicos llevar a cabo el estudio indica que la fermentación del ácido láctico, como la que se utiliza con *Lactobacillus plantarum*, es la forma más segura de conservar los alimentos.

Además, otro estudio realizado por investigadores polacos en ese mismo año mostró resultados similares. Con 40 pacientes con SII (Síndrome del Intestino Irritable), para el estudio de cuatro semanas, los investigadores pusieron la mitad en la misma cepa, *Lactobacillus plantarum* 299v, y la otra mitad un placebo. Al final del estudio, los investigadores reportaron una diferencia significativa en los resultados de los dos grupos. Los pacientes con *Lactobacillus plantarum* mostraron una normalización de la frecuencia de las heces.

Según Santos y Llopis (2005), cuando una colonia sana de *Lactobacillus plantarum* vive en los intestinos, que evita que las bacterias nocivas se adhieran a la mucosa y compite por los nutrientes que las malas bacterias necesitan para sobrevivir. Sin alimentos y habitación que no a vivir, las bacterias dañinas pasan inofensivamente a través del cuerpo.

Como con la mayoría de los probióticos, suplementos de *Lactobacillus plantarum* están disponibles en tiendas de alimentos saludables y en línea. Otra forma de introducir una mayor cantidad de esta bacteria saludable para el sistema digestivo

es la conservación de alimentos mediante un cultivo iniciador, también disponible en la mayoría de las tiendas de alimentos.

## **2.2 Fundamentación Filosófica**

El proyecto de investigación tiene un fundamento de carácter académico científica con clara predisposición dialéctica en la que predomina el análisis, la síntesis, la inducción y la deducción. El análisis porque permite desglosar las partes del tema investigativo y someterlo al crisol de la ciencia. Es sintético por cuanto se abstracta el conocimiento para poder llegar a generalizaciones. Es inductivo porque vamos de lo particular a lo general en el proceso de investigación y por último es deductivo por cuanto en algunas etapas de la investigación se ha iniciado de lo general a lo particular. Entonces, el proyecto de investigación se basa en la aceptación de un alimento por el consumidor para ello se debe destacar: el color, aroma sabor además para el producto sea de calidad debe cumplir propiedades: nutricionales, higiénicas, organolépticas y funcionales.

## **2.3 Fundamentación Sociológica**

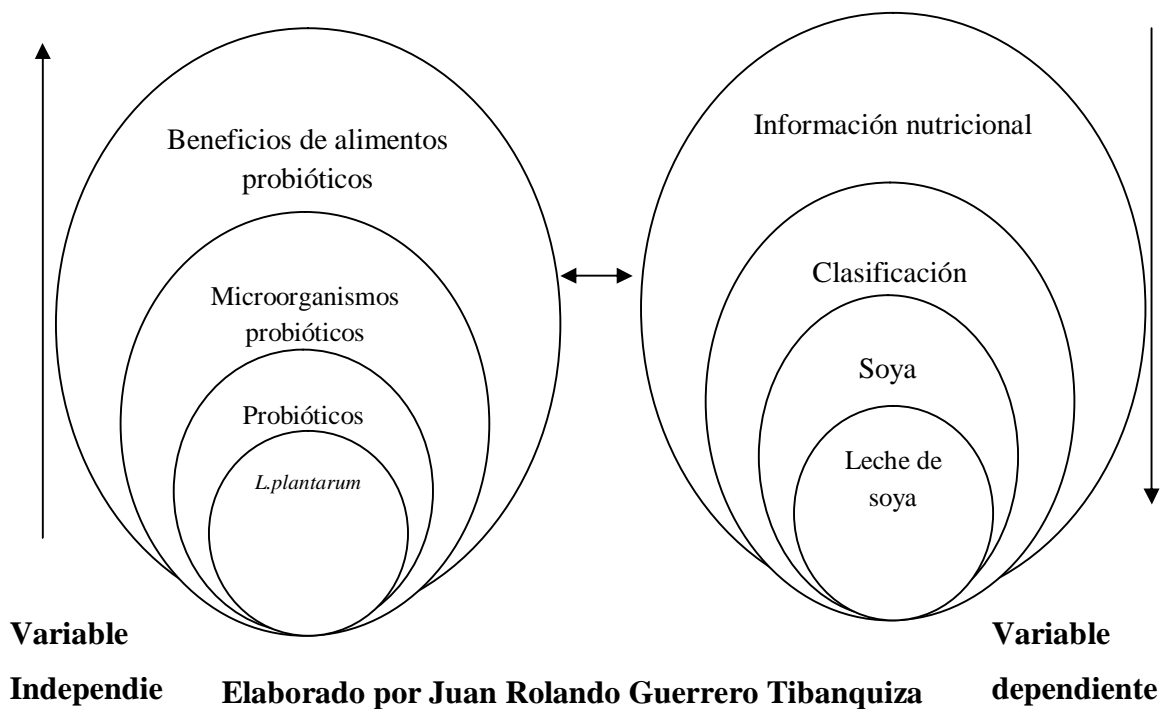
El proyecto de investigación científica está diseñado para que se beneficie a las personas, porque es razón y fundamento de toda investigación; el ser humano necesita tener a su alcance nuevos elementos para su bienestar por ello el trabajo planteado.

## **2.4 Fundamentación Legal**

Para que un alimento pueda ser denominado probiótico según la Lactic Acid Bacteria Beverages Association por el método de conteo de cepas probióticas CCHR HANSEN deberá contener como mínimo:  $\geq 1 \times 10^8$  bacterias viables por [g] o [ml]. Así mismo, el nivel óptimo para la salud todavía no ha sido establecido. La mínima dosis con efecto benéfico depende del alimento con el cual se consume el probiótico y las cepas utilizadas.

- Determinación de acidez según la norma INEN 162.
- Determinación de pH, mediante el método de la AOAC 11.036.
- Determinación de mohos y levaduras según Norma INEN 172.
- Determinación de bacterias lácticas viables mediante el método Conteo cepas probióticas CHR HANSEN
- Agua potable Requisitos Norma INEN 1108

## 2.5 Categorías Fundamentales



## 2.6 Fundamentación Técnica

El proyecto de investigación tiene una fundamentación técnica porque se utilizará materiales y equipos tanto para la obtención de la leche de soya como para la elaboración de la bebida probiótica, estos materiales y equipos serán facilitados por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (F.C.I.AL) de la Universidad Técnica de Ambato (U.T.A).

## **2.7 Hipótesis:**

Ho (**Hipótesis nula**): La cantidad de ácido láctico producido por *L.plantarum* durante la fermentación no influye en la aceptabilidad del producto

Hi (**Hipótesis alternativa**): La cantidad de ácido láctico producido *L.plantarum* influye en la aceptabilidad del producto

## **2.8 Señalamiento de Variables.**

### **2.8.1 Variable Independiente.**

Incorporación de inóculo de *L. plantarum* como probiótico.

### **2.8.2 Variable Dependiente.**

Aceptabilidad del la bebida

## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

Para la elaboración de la bebida se utilizó la leche de soya, que es líquidos obtenidos de los granos de la misma, adquiridos en el mercado Modelo del cantón Ambato provincia del Tungurahua.

Diagrama de flujo de la obtención de la leche de soya (Anexo A2)

El estudio se lleva acabo con los siguientes requerimientos:

- a) Producto especie a ser estudiada (leche de soya con probióticos)
- b) Disponibilidad de Laboratorio y equipos.

#### **3.1\_OBTENCIÓN DE LECHE DE SOYA**

##### **a) Recepción y selección de la materia prima**

Se pesó 1 [kg] de grano de soya, en una balanza analítica se seleccionó los granos en buen estado y se eliminó los granos en mal estado, ya que pueden alterar al sabor u olor de la bebida, obteniendo 997.4 [gr] en peso de grano de soya en grano seco.

##### **b) Remojo**

Se remojó los granos de soya en una bandeja de plástico durante 48 horas, cambiando el agua cada 3 horas, con el fin de facilitar el descascarillado. El peso de los granos de soya en este proceso incrementó a 1.245 [Kg], debido a la hidratación de los granos de soya.



### **c) Descascarillado**

Se reemplazó el agua por una más fresca, posteriormente se procedió a pelar manualmente cada uno de los granos de soya. Se utilizó coladeras con el fin de facilitar el descascarillado.

### **d) Pre cocción.**

Los granos de soya fueron colocados en una olla y posteriormente sometidos a pre cocción por un lapso de 30 minutos en una cocina industrial, con el fin de eliminar el sabor afrijolado y la inactivación de factores biológicamente activos como los inhibidores de tripsina que pueden alterar al sabor de la bebida.

### **e) Mezclado y Licuado**

Se licuó en una licuadora industrial modelo de 15 litros, motor 1/2 hp, con 1400 rpm; con agua en una relación 6 veces mayor en relación al peso en seco de los granos

Esto con el fin de obtener la textura adecuada de nuestra bebida.

### **f) Filtrado**

El producto obtenido se filtró dos veces por medio de una coladera con lienzo con el fin de obtener leche de soya libre de partículas de gran tamaño.

### **g) Pasteurización**

La leche de soya obtenida fue pasteurizada en una cocina industrial a 60°C por 30 minutos para eliminar microorganismos que pueden alterar al producto final y así obtener un producto inocuo.

### **h) Enfriamiento**

Se llevó el producto a enfriar en una refrigeradora a una temperatura de 36-37°C para su posterior dosificación.

### 3.2 ELABORACIÓN DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA.

#### a) Dosificación para la elaboración de la bebida probiótica de soya.

Una vez obtenida la leche de soya, para la elaboración de la bebida probiótica, se parte calculando la cantidad de **inóculo** (*L.plantarum*) y **azúcar** (sacarosa) a dosificar en cada muestra. El contenido de cepa probiótica a dosificar en las diferentes pruebas esta dada por la ficha técnica del proveedor, la misma que indica que la **cantidad a utilizar es de 5 gramos para 500 litros**. A nivel de laboratorio se realiza pruebas de 1 [lt] se utiliza 0,01 [g]; 0,02 [g]; 0,03 [g] de inóculo.

La leche de soya no contiene lactosa (azúcar de la leche de vaca), se adicionó sacarosa para producir la fermentación, la misma que se descompone en glucosa y fructosa. El *Lactobacillus plantarum* es capaz de fermentar lactosa, glucosa, sacarosa y fructosa.

La dosis de sacarosa se determinó por medio de un análisis comparativo de la composición de la leche de vaca vs leche de soya del Anexo A cuadro 1.

Como se demuestra en el cuadro la leche de vaca contiene 11.47 [g]. De carbohidratos y la leche de soya tan solo 4,32 [g] por cada 240 [g]. Esto es el contenido de lactosa (azúcar propia de la leche) que promueve el proceso de fermentación. Entonces se compensa con sacarosa, puesto que la diferencia es de 7.15 [g/240g] de producto, que corresponde al 3%, se utilizó el 2,6% y 3,4% de azúcar (sacarosa).

Una vez medida la cantidad exacta de azúcar e inóculo, se procedió a calentar la leche de soya en una cocina industrial a 37-40°C y se adiciona el azúcar y el inóculo correspondiente para cada prueba, la fermentación se realiza en una incubadora en condiciones de temperatura de 37°C, durante 8 horas, se realiza un control constante de de Brix, pH y acidez. Cuando el pH llega a 4,2 - 4,3 se corta

la fermentación enfriando el producto a 2°C, se empaca en envases de 1[lt] y se conserva a temperatura de 2°C.

#### **Materiales y Reactivos:**

- 1 [Kg] de granos de soya
- Agua
- Cultivo probiótico (*Lactobacillus plantarum*)
- Azúcar
- licuadora
- Balanza
- Coladera
- Lienzo
- Hornilla
- Olla
- Espátula
- Balanza digital Boeco sensibilidad 0.001g
- Incubadora memmert

### **3.3 Modalidad Básica de Investigación**

La investigación tiene un sustento bibliográfico, documental y de campo: es bibliográfico porque se consultará libros, textos, revistas, folletos, internet; es documental porque se revisará archivos y documentos que faciliten el desarrollo de la investigación. Es de campo porque se elaborara en el lugar mismo que se produce el objeto de estudio.

### **3.4 Niveles o Tipos**

El proyecto de investigación tiene los siguientes niveles explorativos, descriptivo, correlacional o asociación de variables; es exploratorio porque permite desarrollar temas nuevos o poco conocidos, es descriptivo porque desarrolla ampliamente criterios y contenido y es correlacional o asociación de variables porque permite comparar la variable independiente con la variable dependiente.

### 3.5 Población y Muestra.

El proceso experimental consta de seis tratamientos y dos replicas, lo que implica un total de 12 experimentos. Se determinará pH, acidez titulable y °Brix durante el proceso de fermentación de todos los tratamientos a diferentes concentraciones de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y azúcar.

Se realiza un Diseño experimental A\*B

**Factor de estudio:** Cantidad de inóculo de *Lactobacillus plantarum* (g) y porcentaje de azúcar (%)

**Factor A:** Inóculo de *Lactobacillus plantarum*.(g)

**Factor B:** Azúcar (%)

**TABLA N.1**

**FACTOR DE ESTUDIO (CANTIDAD DE INÓCULO Y AZÚCAR A UTILIZAR EN EL DISEÑO EXPERIMENTAL)**

<b>FACTOR A [g]</b>	<b>FACTOR B [%]</b>
0,01	2,6
0,02	3,4
0,03	

Elaborado por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando

**TABLA N.2**  
**TRATAMIENTOS APLICADOS AL DISEÑO EXPERIMENTAL**

<b>COMBINACIÓN DE NIVELES</b>		
	<b>A</b>	<b>B</b>
<b>a1b1</b>	0,01 g	2,6%
<b>a1b2</b>	0,01 g	3,4%
<b>a2b1</b>	0,02 g	2,6%
<b>a2b2</b>	0,02 g	3,4%
<b>a3b1</b>	0,03 g	2,6%
<b>a3b2</b>	0,03 g	3,4%

Elaborado por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando

**TABLA N.3**  
**FORMULACIÓN PARA LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA**

<b>INGREDIENTES</b>	<b>Porcentaje (%)</b>	<b>Peso (g)</b>
Inóculo	1	0,01
	2	0,02
	3	0,03
Azúcar	2,6	26,83
	3,4	35,38
Leche de soya		1000

Elaborado por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando

### **3.5.1 ANÁLISIS DURANTE EL ENSAYO**

En los ensayos se determinaran los valores de pH, acidez titulable, °Brix durante el tiempo de fermentación cada 60 minutos durante 8 horas. Los análisis se realizaran en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

### **3.5.2 DETERMINACIÓN DEL pH**

La determinación del pH es muy importante en la elaboración de una bebida fermentada puesto que al disminuir los valores de pH durante la fermentación láctica son inhibidos los organismos indeseables como son las bacterias gram negativas y las formadoras de esporas, por lo tanto, la rapidez con que las bacterias ácido lácticas se establecen y los microorganismos indeseables son excluidos. Eventualmente las bacterias ácido – lácticas ganan predominio por disminución del pH” (FRAZIER, W. C 1978)

Para esta determinación se utiliza el pHmetro Checker 0.00-1400, previamente calibrado con solución buffer de 7,00. Se toma la muestra del líquido en un vaso de precipitación y se introduce el electrodo tomando la lectura directamente.

### **3.5.3 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE**

Según FRAZIER *et al* (1978), es de suma importancia la determinación de acidez en la elaboración de la bebida ya que mediante este análisis se conoce la cantidad de ácido láctico producido durante la fermentación de la bebida probiótica láctea.

La acidez titulable se determinará de acuerdo a la norma INEN 162, por el método potenciómetro. Se toma 1 [ml] de la bebida de soya y se coloca en un matraz de 10 [ml], se adicionaron 3 gotas de fenolftaleína y se titula con NaOH 0,1 N.

### 3.5.4 DETERMINACIÓN DE BRIX

Según FRAZIER *et al* (1978), los grados Brix (símbolo °Bx) miden el coeficiente total de [sacarosa](#) disuelta en un líquido. La escala Brix se utiliza en el sector de alimentos, para medir la cantidad aproximada de azúcares en productos especialmente alimenticios.

Para la medición de los grados Brix se colocan unas gotas del líquido a medir sobre el prisma del refractómetro RHB-50 ATC, rango 0 a 50°Brix y se toma lectura en un lugar con gran visibilidad.

### 3.5.5 ESTUDIO DE ACEPTABILIDAD

El análisis sensorial puede ser definido como un método experimental mediante el cual los jueces perciben y califican, caracterizando y/o mensurando las propiedades sensoriales de las muestras adecuadamente presentadas bajo condiciones ambientales preestablecidas bajo un patrón de evaluación acorde al posterior análisis estadístico.

Para la aceptabilidad se utilizó los tres tratamientos que mayor porcentaje de ácido láctico produjeron siendo éstas los tratamientos: (a2b2, a3b1, a3b2).

Las pruebas sensoriales constituyeron los siguientes atributos: olor, sabor, acidez, textura y **aceptabilidad**.

Los resultados se estimaron con un panel de catadores cuyo número fue de 10 personas, 5 hombres y 5 mujeres estudiantes semi – entrenados, se utilizó una escala hedónica de 1 a 5 para apreciar cada uno de los atributos mencionados. La Tabla de puntuación se representa en el ANEXO A4.

### 3.5.6 ANÁLISIS DEL MEJOR TRATAMIENTO

- Determinación de acidez según la norma INEN 162.
- Determinación de pH, mediante el método de la AOAC 11.036.
- Determinación de mohos y levaduras según Norma INEN 172.
- Determinación de bacterias lácticas viables mediante el método Conteo cepas probióticas CHR HANSEN

### 3.5.7 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL

La determinación del tiempo de vida útil se realiza con el mejor tratamiento, obtenido del análisis sensorial. Se evalúa en la pérdida de calidad por el descenso de pH, el incremento de acidez titulable y el recuento microbiológico.

Para el cálculo del orden de la reacción se utiliza la ecuación de las vidas medias, (Alvarado, J, 1996) :

$$n = \frac{[\log(t_3 - t_2) - \log(t_2 - t_1)]}{[\log A_1 - \log A_2]} + 1$$

**Donde :**

$n$  = Orden de la reacción.

$\log A_1$  = Log de la concentración al tiempo 1.

$\log A_2$  = Log de la concentración al tiempo 2.

$t$  = Tiempo

Para el cálculo del tiempo de vida útil del producto se utiliza la ecuación de la cinética de primer orden (Labuza, T.1982):

$$Y = a + bx = \ln A = \ln A_0 + kt$$



**Donde:**

$\ln A$  = Es valor final de pH, acidez, recuento de microorganismos.

$\ln A_0$  = Es valor de a de la ecuación.

$k$  = Es valor de b de la ecuación

$t$  =Es el tiempo de vida útil.

### **3.5.8 RECUESTO DE COLONIAS LÁCTICAS (MÉTODO HANSEN)**

Usar una dilución 1:10 con un diluyente estándar, luego añada el caldo MRS (De Man Rogosa Sharpe) a una concentración 4 veces más (4x) .Coloque las placas con la película clara hacia arriba y procure no apilar Muchas veces. Incube las placas a 30-35 °C durante 24h.

#### **3.5.8.1 INTERPRETACIÓN Y LECTURA**

Para leer la placa, sólo cuente todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.

### 3.4 Operacionalización de variables.

Variable Independiente.

Cuadro N.-3 Concentración de probiótico (*Lactobacillus plantarum*)

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Ítems Básicos	Téc-Instrumentos
Microorganismos vivos que actúan directamente en la flora intestinal	Fermentaciones lácticas  Probióticos	Acidez  pH  °Brix	La concentración de ácido láctico afecta la acidez, pH y°Brix del producto ?	Norma INEN 162.  AOAC 11.036.

Elaborado por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando

**Operacionalización de variables.**

Variable Dependiente.

Cuadro N.- 4 Aceptabilidad de la bebida de soya

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Ítems Básicos	Téc-Instrumentos
Aceptabilidad de la bebida de soya	<p>Análisis Sensorial</p> <p>Análisis Físico-Químicos</p> <p>Análisis Microbiológicos</p>	<p>Sabor, aroma, textura</p> <p>pH, acidez</p> <p>Contaje</p>	<p>Su sabor ,aroma color determina la aceptabilidad.</p> <p>pH ,acidez afectan al producto</p> <p>La concentración de <i>Lactobacillus plantarum</i> influye en la aceptabilidad</p>	<p>Escalas hedónicas de calificación</p> <p>Norma INEN 162.</p> <p>AOAC 11.036.</p>

Elaborado por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando

### **3.5 Recolección de información**

La información recolectada es bibliográfica para determinar la metodología para el proyecto de investigación de libros, revistas, artículos técnicos, e internet.

### **3.6 Procesamiento de la información**

Los datos se procesaron utilizando programas de computadora que permitan el cálculo de los diferentes análisis cuantitativos. Se utilizó Microsoft Excel e Infostat.

## CAPITULO IV

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 MATERIA PRIMA

##### GRANOS DE SOYA (*Glycine max* L)

Los granos de soya fueron adquiridas en el Mercado “Modelo” del cantón Ambato perteneciente a la Provincia de Tungurahua. El peso a utilizar es de 1 [kg].

##### LECHE DE SOYA

Del proceso de obtención de la leche de soya se obtuvo la cantidad de 6000 [ml]. En la Tabla A1 se registra el peso de la soya utilizada y la cantidad de leche obtenida.

#### 4.2 RESPUESTAS EXPERIMENTALES

##### 4.2.1 ANÁLISIS DE PH

“La determinación del pH es muy importante en la elaboración de una bebida fermentada puesto que al disminuir [los valores](#) de [pH](#) durante la fermentación láctica son inhibidos los organismos indeseables como son las bacterias gram negativas y las formadoras de esporas, por lo tanto, la rapidez con que las bacterias ácido lácticas se establecen y los microorganismos indeseables son excluidos. Eventualmente las bacterias ácido – lácticas ganan predominio por disminución del pH” (FRAZIER, W. C et al ,1978)

Tanto la concentración de inóculo de *Lactobacillus plantarum* como el porcentaje de azúcar en cada una de las muestras está estrechamente relacionado con el progreso de la acidificación del producto.

El pH se ubicó entre 7,6- 4,3 y la relación existente entre el descenso de pH con relación al tiempo de fermentación pueden observarse en las Tabla B1 - B6. Las curvas características de este fenómeno se representan en la Gráfica E1.

Los cambios en los valores de pH se deben a la acción de las bacterias lácticas sobre los carbohidratos existentes en la bebida.

Para el caso de pH, el Análisis de varianza al finalizar la fermentación se presenta en la Tabla C1. En donde se establece que a un nivel de  $\alpha$  0,05; existe diferencia estadística significativa para los factores A (concentración de inóculo) y B (porcentaje de azúcar) existiendo una diferencia mayor significativa en el Factor A. Por lo que la concentración de inóculo incide en el descenso de pH.

Aplicadas las diferentes pruebas de diferenciación ANOVA se tiene que el mejor tratamiento es a3b2 (0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar) ya que la media es alta (-0.44).

#### **4.2.2 ANÁLISIS DE ACIDEZ TOTAL**

Los datos para la variable acidez expresada como porcentaje de ácido láctico, se encuentra reportada en las Tablas B7 - B12 para cada tratamiento experimental, determinada por titulación cada 60 minutos durante 8 horas, tiempo necesario para la obtención de la bebida. Los valores de acidez se incrementan con relación al tiempo de fermentación pasando del rango comprendido entre 0,05% ác.láctico (a1b1) y 0,37% ác.láctico (a3b2).

La acidez en el transcurso del tiempo de fermentación expresado en porcentaje de ácido láctico tiene un incremento (ver Gráfica E2). La acidez esta relacionada con el tiempo de fermentación, es decir es directamente proporcional, lo que se explica por el incremento del ácido secretado por el *Lactobacillus plantarum*.

En la Tabla C2 de Análisis de Varianza para acidez durante la fermentación, determina que existe diferencia significativa en cada uno de los tratamientos, naturalmente por la relación de factores de estudio para cada uno de ellos. Determinándose de esta manera que la concentración de inóculo de *Lactobacillus plantarum* es altamente significativo sobre las respuestas experimentales. Se tiene que el mejor tratamiento es a3b2 (0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar) por tener un porcentaje mayor de ácido láctico.

#### 4.2.3 ANÁLISIS DE GRADOS BRUX

Los datos de °Brix se encuentra reportadas en las Tabla B13 - B18 donde se observa que el proceso de fermentación empezó desde 25° Brix en los niveles **b1** (2,6% de azúcar) y 35°Brix en los niveles **b2** (3,4% de azúcar) siendo el tiempo de fermentación para todos los tratamientos de 8 horas. Durante el tiempo de fermentación se ha registrado una disminución de los °Brix dependiendo del factor A (cantidad de inóculo de *L. plantarum*) incorporado a la leche de soya.

Al analizar la Gráfica E3 .Se observa claramente que el descenso de los °Brix depende de la cantidad de *Lactobacillus plantarum* incorporado a la leche de soya, pues aquellos niveles **a1** (0,01 g de *Lactobacillus plantarum*) se observa que los valores de °Brix no disminuyen, comparados con el resto de tratamientos que tienen mayor concentración de inóculo donde el descenso es notable, debido a la acción de *Lactobacillus plantarum* que convierten los azúcares en ácido láctico durante la fermentación.

En la Tabla C3 se reporta el Análisis de Varianza de los °Brix durante la fermentación, se observa que existe significancia en el factor A y B, en todas las interacciones. En la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05; en la interacción AB existe una notable diferencia entre los dos factores, siendo el factor A más significativo, se tiene que el mejor tratamiento es a3b2 (0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3.4 % de azúcar), puesto que en este tratamiento existe mayor consumo de azúcar.

### **4.3 DETERMINACIÓN DE LAS MEJORES COMBINACIONES EXPERIMENTALES.**

Con el análisis estadístico aplicado sobre la acidez y el pH, para los diferentes tratamientos se establece como alternativas de procesos a tres combinaciones experimentales que serán sometidas a un análisis sensorial para poder establecer el mejor tratamiento.

Para esto se utilizaron los tratamientos de mejor respuesta experimental de acuerdo al análisis estadístico ANOVA de las variables: acidez, °Brix y pH, siendo estos:

- $a_3b_2$ = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar
- $a_3b_1$ = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar
- $a_2b_2$ = 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

### **4.4 ANÁLISIS SENSORIAL**

El análisis sensorial se realizó con 10 catadores semientrenados previamente seleccionados en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (F.C.I.AL). Los tres mejores tratamientos obtenidos fueron evaluados con un porcentaje igual de grados Brix (35°Brix) a fin de comparar atributos sensoriales y de aceptabilidad aplicando escalas hedónicas para cada atributo analizado (ANEXO A4).

#### **OLOR**

Los valores promedios asignados por los 10 catadores participantes en el análisis sensorial, para el atributo “olor” en los tres mejores tratamientos varían entre 2.9 y 5, (Ver Tabla B19), estos valores en la escala hedónica indica que la mayoría de



catadores consideran que el olor de la bebida se encuentra en el rango de “agradable” y “característico”.

El análisis de varianza (Tabla C4) para el atributo en estudio determina que existe diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %, siendo el mejor tratamiento en cuanto a olor a3b2 (0.03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3.4 % de azúcar) por tener promedios más elevados.

## **ACIDEZ**

En la Tabla B20 se encuentran los valores promedios asignados por los 10 catadores participantes en el análisis sensorial, para el atributo “acidez” en los tres mejores tratamientos varían entre 1,9 y 3,2; por lo que representando en la escala hedónica indica que la acidez de las bebida están en el rango de “normal característica” y “falta de acidez”

El análisis de varianza (Tabla C5) para el atributo en estudio determina que existe diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %, Aplicada la respectiva prueba de diferenciación de Tukey, se determina que el valor promedio más elevado para el atributo en estudio, es de 3,20 que corresponde al tratamiento a3b2 (0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar) que en la escala hedónica se interpreta como “normal característica”.

## **SABOR**

En cuanto al atributo “sabor” los valores tabulados (Ver Tabla B 21) se encuentran entre desagradable =2 y muy agradable = 5.

El análisis de varianza (Tabla C6) para el atributo en estudio determina que existe diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %, aplicada la respectiva prueba de diferenciación de Tukey, se determina que el valor promedio más elevado para el atributo “sabor”, es de 4.7 que corresponde al tratamiento a3b2 (0.03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3.4 % de azúcar) que en la escala hedónica se interpreta como “muy agradable”.

## **TEXTURA**

En la Tabla B22 se encuentran los valores promedios asignados por los 10 catadores participantes en el análisis sensorial, para el atributo “textura” en los tres mejores tratamientos varían entre 3,2 y 4,5; por lo que representando en la escala hedónica indica que la textura de las bebidas están en el rango de “neutral” y “muy buena”

El análisis de varianza (Tabla C7) para el atributo en estudio determina que existe diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %. Aplicada la respectiva prueba de diferenciación de Tukey, se determina que el valor promedio más elevado para el atributo en estudio, es de 4,5 que corresponde al tratamiento a3b2 (0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar) que en la escala hedónica se interpreta como “muy buena” .

## **ACEPTABILIDAD**

En el caso del atributo “aceptabilidad”, los datos de las medias determinan en la escala hedónica que se encuentran entre “ni gusta ni disgusta” y “gusta mucho” pues estos valores están entre 3 y 4,8. (Tabla B23)

El análisis de varianza (Tabla C8) determina que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos a un nivel de  $\alpha$  0,05 siendo el valor más alto de 4,8 para el tratamiento a3b2 (0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar), valor que en la escala hedónica se traduce como “gusta mucho”

## **4.5 DETERMINACIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO**

Analizado todos los atributos sensoriales de las distintas muestras de la bebida de soya probiótica incorporando *Lactobacillus plantarum* y azúcar, se puede establecer que en general y a criterio de los catadores los tres tratamientos evaluados presentan características sensoriales distintas entre sí.

En base a todos los atributos en donde se presentan significancia estadística se concluye que la combinación experimental con mayor aceptación entre los

panelistas es a3b2 (0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar)

#### **4.6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN EL MEJOR TRATAMIENTO.**

El análisis microbiológico en el mejor tratamiento se reporta en la Tabla D1 para *Escherichia coli*, coliformes totales, mohos y levaduras en cada caso ausencia de unidades formadoras de colonias, con lo que se puede afirmar que el producto fue elaborado bajo todos los requerimientos de las buenas prácticas de manufactura y por tanto puede ser calificado como un producto apto para el consumo humano.

En cuanto a la cantidad de *Lactobacillus* vivos identificados mediante el método HANSEN fue de  $1.2 \times 10^8$  UFC lo que denota que dicho microorganismo se encuentra presente en el producto obtenido y que este cumple con el requerimiento mínimo para conferir su efecto como se puede observar en la Tabla D2 la cantidad de microorganismos viables para bebidas probióticas.

#### **4.7 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL EN EL MEJOR TRATAMIENTO**

El mejor tratamiento a3b2 (0,03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar) fue almacenada durante 25 días, con el fin de caracterizar su comportamiento.

La determinación del tiempo de vida útil se lleva a cabo tomando en consideración la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico, pH y el incremento microbiano. Al aplicar la ecuación de las vidas medias (Alvarado, J, 1996) describen una cinética de primer orden.

***Acidez.***

En el caso de acidez los valores las lecturas van incrementándose en relación con el tiempo lo que indicaría que la fermentación no se detiene durante el almacenamiento. (Ver Tabla D5)

$$\text{Ln (Acidez)} = -0.116 + 0.016 t$$

Con un valor de  $r^2 = 0.983$

Con un valor de  $r = 0.99$  (n=1 orden)

Con los cálculos realizados se obtiene un valor de vida útil de 25 días.

## *pH*

Los valores de pH, va decreciendo durante el periodo de almacenamiento, como se observa en la Tabla D4. Desde 4.30 hasta 4.19; valores que frecuentan productos lácteos fermentados.

$$\text{Ln (pH)} = 1.460 - 0.001 t$$

Con un valor de  $r^2 = 0.981$

Con un valor de  $r = 0.990$  (n= 1 orden)

Con los cálculos realizados se obtiene un valor de vida útil de 25 días.

### ***Análisis microbiológico de mohos y levaduras***

Según Beekens y Luquet, (1990) la presencia de levaduras en bebidas fermentadas no debe ser mayor de 100 [ufc/gr]; y los mohos no mayores a 10 [ufc/ml]. La presencia de microorganismos durante el almacenamiento del mejor tratamiento de control va creciendo, (Tabla D2)

El análisis del mejor tratamiento se reporta en la **Tabla D3** para mohos y levaduras, con el crecimiento de 10 [ufc/ ml] en los primeros días, hasta 70 [ufc/ml]. A los 20 días, con lo que se puede afirmar que el producto fue elaborado bajos todos los requerimientos de las BMP (Buenas Prácticas de Manufactura) por tanto puede ser calificado como un producto apto para el consumo humano.

$$\text{Ln (Mohos y Levaduras)} = 1.460 - 0.001 t$$

Con un valor de  $r^2 = 0.863$

Con un valor de  $r = 0.966$  (n=1orden)

Con los cálculos realizados se obtiene un valor de vida útil de 18 días.

### **4.8 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS**

De acuerdo a los análisis de los resultados se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula. Entonces llegamos a comprobar que la cantidad de inóculo de *Lactobacillus plantarum* influye en la aceptabilidad del producto, puesto que la diferencia con respecto a la concentración de inóculo es altamente significativa.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### **CONCLUSIONES:**

- El presente estudio permitió la utilización del *Lactobacillus plantarum* como probiótico en la elaboración de una bebida de soya. Fomentando el consumo de alimentos realmente saludables y la información necesaria para aquellas personas que aún no conocen del beneficio de consumir bebidas probióticas.
- Para la elaboración de la bebida de soya probiótica se parte de la obtención de la leche a partir de los granos de soya, se tomó en cuenta algunos factores como la eliminación del sabor afrijolado y la inactivación de factores biológicamente activos como los inhibidores de tripsina, con el fin de evitar sabores indeseables en el producto. Una vez obtenida la leche de soya se inocula con *Lacobacillus plantarum* con el fin de elaborar nuestra bebida probiótica.
- La fermentación se realizó durante 8 horas, a través de los cuales se registraron datos de: pH, acidez y °Brix. En todos estos indicadores del proceso de fermentación se registraron cambios, el aumento de acidez expresada en ácido láctico y la disminución de pH están relacionados con la producción de ácido láctico. A medida que transcurría el tiempo de fermentación los °Brix fueron disminuyendo debido a que los *Lactobacillus plantaum* utilizaron la sacarosa como fuente de energía para la producción de ácido láctico.

- En los análisis estadísticos se establece diferencias significativas en las respuestas experimentales con las que se determina el mejor tratamiento siendo el **a3b2** (0,03g de de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar). Los tratamientos cuyos datos tanto de pH.acidez y grados Brix resultaron cercanos al mejor tratamiento fueron a3b1(0,03g de de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar) y a2b2(0,02g de de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar).
  
- Mediante las pruebas de Análisis Sensorial de los tres mejores tratamientos utilizando un diseño de bloques completos se concluye que el mejor tratamiento es **a3b2** (0,03g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar).
  
- En la bebida determinada como mejor tratamiento: a3b2 (0,03g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de azúcar) se realiza análisis físico-químicas: pH , acidez en porcentaje de ácido láctico , grados Brix y análisis microbiológico: coliformes.*E.coli* y bacterias vivas de *Lactobacillus*.
  
- El tiempo de vida útil del producto elaborado (0.03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3,4 % de sacarosa) es de 18 [días] de acuerdo al conteo (mohos y levaduras).

#### **RECOMENDACIONES:**

- Se recomienda realizar trabajos de investigación del aprovechamiento del olor y sabor en frutas como mora, fresa, naranjilla, para contrarrestar el leve sabor a vegetal en bebidas de soya probióticas.
  
- Realizar estudios de comparación del efecto de los probióticos en bebidas lácteas con bebidas sin probióticos.
  
- Se recomienda realizar investigaciones de la viabilidad de los microorganismos probióticos en bebidas almacenadas.



- Realizar más investigaciones de la producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* en cultivos batch y continuo.
- Se recomienda realizar estudios de evaluación de la fermentación láctica en bebidas de soya con probióticos.
- Utilizar los desechos (torta) de soya (*Glycyne max L*) y la biomasa como productos de desecho del proceso de obtención de leche de soya para la elaboración de alimentos de animales, de igual manera como sustrato para la siembra de hongos comestibles con el fin de evitar la contaminación ambiental.

## **CAPÍTULO VI**

### **PROPUESTA**

#### **6.1 DATOS INFORMATIVOS**

##### **Título**

“Desarrollar una tecnología para el uso de probióticos (*Lactobacillus plantarum*) en la elaboración de una bebida de soya en industrias lácteas del Ecuador”.

##### **Institución ejecutora**

Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

##### **Beneficiarios**

Industrias lácteas

Pequeños agricultores de soya

Consumidores en general

##### **Ubicación**

Provincia Tungurahua, Cantón Ambato

##### **Tiempo estimado para la ejecución**

6 meses

## Equipo técnico responsable

Ing. Danilo Morales	Tutor de investigación
Rolando Guerrero	Autor de la investigación

## Costo

El presente proyecto proporciona información técnica de los probióticos en bebidas a base de soya, el estudio tuvo un costo aproximado de \$ 1750,00.

## 6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Según el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), 2003, la soya (*Glycine max L*) es una oleaginosa de alto valor nutritivo con múltiples usos tanto para el consumo humano como animal y tiene una demanda importante en el país, siendo el mayor consumidor el sector de la avicultura debido a que la torta de soya representa alrededor del 15% al 20% de la composición de los alimentos balanceados. Las tasas de conversión del grano de soya son: un 70% del grano se transforma en pasta de soya y un 18% en aceite; el resto de usos de la soya para elaborar carne, leche o harinas es marginal

Según Salminen, *et al.* (1998), la definición del término PROBIÓTICO proviene del griego (pro=a favor de; biótico=vida), y ha ido variando con el tiempo.

Se utilizó por primera vez el término de **probiótico** por Lilly y Stillwell en el año 1965, refiriéndose a “sustancia que estimula el crecimiento de otros microorganismos”. Éste termino se ha redefinido posteriormente como “agente microbiano viable que al utilizarse en animales o en el hombre aporta efectos beneficiosos en el huésped mejorando el balance de la microflora intestinal”.

El *Lactobacillus plantarum* según Magonova *et al* (2007), es una bacteria gram positiva, no esporulada, aerotolerante que puede crecer desde 15°C hasta 37°C y produce ambos isómeros del ácido láctico tanto el D como L. *Lactobacillus*

*plantarum* es la bacteria más común usada en los proceso de inoculación para la producción de alimentos

Según Kleerebezem, *et al* (2003), la actividad que tiene *Lactobacillus plantarum* para producir sustancias antimicrobianas le ayuda a sobrevivir en el tracto gastro intestinal. Estas sustancias antimicrobianas han mostrado un efecto bastante significativo sobre bacterias gram positivas y gram negativas.

Según Magonova *et al* (2007), otros microorganismos tolerantes al oxígeno acumulan cantidades milimolares de manganeso, el cual es usado por *Lactobacillus plantarum* como una pseudo catalasa para bajar los niveles de oxígeno y de esta manera impedir el crecimiento de estos organismos

Además entre las últimas investigaciones sobre *Lactobacillus plantarum* es la que ha demostrado que es altamente eficaz en la prevención de alergias relacionadas con la soya.

Según Orbe (2008), en el Ecuador existen pocas industrias lácteas que expenden bebidas lácteas probióticas entre ellas están: La industria láctea Toni S.A., ubicada en la provincia del Guayas (Km 7 ½ vía a Daule), la empresa Alpina ubicada en Guayaquil-Ecuador, (Cdla. Vernaza Norte) y la industria Llanolac ubicada en la provincia de Pichincha, (Quito-Ecuador) (Fajardo Calle Paccha, Lote N° 7 y Puruhaes).

### **6.3 JUSTIFICACIÓN**

El mercado hoy en día es más exigente por lo que las empresas de lácteos deben tener una capacidad de respuesta más rápida con estructuras y operaciones acordes a los nuevos requerimientos de los consumidores. De tal manera que el producto elaborado al adicionar probióticos (*Lactobacillus plantarum*) en la leche de soya se transforma en una bebida probiótica rica en proteínas logrando satisfacer los nuevos requerimientos de los consumidores.

Al añadir probióticos (*Lactobacillus plantarum*) en una bebida láctea de soya, facilita la absorción de todos los nutrientes que contiene esta oleaginosa. Impulsando así a que las industrias lácteas no solo produzcan para responder a necesidades crecientes de la demanda sino hacerlo de manera diferente mediante la innovación de nuevos productos lácteos , puesto que al informar al consumidor que los probióticos (*Lactobacillus plantarum*) actúan de forma benéfica en la flora intestinal la demanda crecerá, ya que el producto probiótico responde a todas las necesidades del consumidor siendo ésta una estrategia tanto para la innovación como para la competitividad.

Por eso las industrias lácteas deberán utilizar como probióticos al *Lactobacillus plantarum*, pues es una bacteria que produce gran cantidad de ácido láctico beneficiando al producto por mejorar sus características organolépticas como al propio consumidor.

## **6.4 OBJETIVOS**

### **6.4.1 Objetivo General:**

- Desarrollar una tecnología adecuada para el uso de probióticos (*Lactobacillus plantarum*) en la elaboración de una bebida de soya con el fin de mejorar la producción y comercialización en industrias lácteas del Ecuador.

### **6.4.2 Objetivos Específicos:**

- Establecer una metodología adecuada para la elaboración leche de soya.
- Elaborar una bebida probiótica utilizando concentraciones de materia prima de acuerdo a normas, para garantizar la salud del consumidor final.
- Evaluar la aceptabilidad en función de olor, sabor y textura.
- Realizar un análisis económico del mejor tratamiento.

## **6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD**

Mediante la presente investigación se realizó la determinación del mejor tratamiento de acuerdo al análisis sensorial del producto elaborado siendo ésta el tratamiento que contienen 0.03 gramos de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3.4% de azúcar. En el cual se realiza el análisis de factibilidad correspondiente.

Con el fin de conocer la manufactura de la utilización de probióticos (*Lactobacillus plantarum*) es preciso realizar un análisis de factibilidad que incorpore la nueva tecnología, la cual permitirá aprovechar de mejor manera la materia prima utilizada para su elaboración.

El análisis económico se efectúa con la finalidad de obtener una bebida de óptimas características sensoriales y con un precio de venta al público accesible para ingresar en el mercado, que sea rentable produciendo ganancias a las industrias lácteas.

Sin embargo, el análisis económico es realizado únicamente para la mejor formulación (tratamiento a3b2), obteniéndose un valor de precio de venta al público de un litro de bebida.

## **6.6 FUNDAMENTACIÓN**

Este tipo de investigación tiene un enfoque crítico pro-positivo que resulta de gran importancia en la intervención de problemáticas sociales, y la investigación será dirigida directamente con un tipo de diseño experimental.

Con el presente proyecto se ofrece al producto la posibilidad de mejorar su calidad con la finalidad de ingresar al mercado internacional.

La aplicación de las propiedades físico – químicas es de gran importancia durante el proceso de fermentación; dando que el control de pH, acidez influye directamente en las características organolépticas del producto, como también la concentración de inóculo de bacterias probióticas influye en la efectividad de la bebida.

## **6.6.1 VARIABLES CONTROLADAS DURANTE EL PROCESO.**

### **6.6.1.1 pH**

Según FRAZIER *et al* (1978), la determinación del pH es muy importante en la elaboración de una bebida fermentada puesto que al disminuir los valores de pH durante la fermentación láctica son inhibidos los organismos indeseables como son las bacterias gram negativas y las formadoras de esporas, por lo tanto, la rapidez con que las bacterias ácido lácticas se establecen y los microorganismos indeseables son excluidos. Eventualmente las bacterias ácido – lácticas ganan predominio por disminución del pH.

### **6.6.1.2 ACIDEZ**

Según FRAZIER *et al* (1978), es de suma importancia la determinación de acidez en la elaboración de bebidas lácteas pues mediante este análisis se conoce la cantidad de ácido láctico producido durante la fermentación.

### **6.6.1.3 BRIX**

Según FRAZIER *et al* (1978), los grados Brix (símbolo °Bx) miden el coeficiente total de sacarosa disuelta en un líquido. La escala Brix se utiliza en el sector de alimentos, para medir la cantidad aproximada de azúcares en productos especialmente alimenticios.

### **6.6.1.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO**

#### **a) Recepción de la materia prima**

Para la elaboración de la bebida probiótica de soya se parte de la obtención de leche de soya, se selecciona los granos en buen estado y eliminamos los granos en mal estado.

**b) Remojo**

Posteriormente se remoja los granos de soya durante 48 horas, cambiando el agua cada 3 horas.

**c) Descascarillado**

Se reemplazó el agua por una más fresca posteriormente se procede a pelar cada uno de los granos de soya.

**d) Pre cocción.**

Los granos de soya se someten a pre cocción por un lapso de 30 minutos con el fin de eliminar el sabor afrijolado y la inactivación de factores biológicamente activos como los inhibidores de tripsina que pueden alterar al sabor de la bebida.

**e) Mezclado y Licuado**

Se licua con una relación 6 veces mayor en relación al peso en seco de los granos

**f) Filtrado**

El producto obtenido se filtra dos veces por medio de una coladera en el cual se coloca lienzo con el fin de obtener todo el suero de leche de la soya.

**g) Pasteurización**

La leche de soya obtenida se pasteuriza a una temperatura de 60°C por 30 minutos para eliminar microorganismos que pueden alterar al producto final y así obtener un producto inocuo.

**h) Enfriamiento**

Se lleva el producto a enfriar a una temperatura de 36-37°C para su posterior dosificación.

**i) Dosificación para la elaboración de la bebida probiótica de soya.**

Una vez obtenida la leche de soya, para la elaboración de la bebida probiótica se parte calculando la cantidad de inóculo y azúcar a dosificar en cada muestra. El contenido de cepa probiótica a dosificar depende de la casa comercial.



Una vez medida la cantidad exacta de azúcar e inóculo, se procede a calentar la leche de soya a una temperatura de 37-40°C y se adiciona el azúcar y el inóculo correspondiente para cada prueba, se inocula a una temperatura de 37°C durante 8 horas, se realiza un control constante de pH y acidez cuando el pH llega a 4.2-4.3 cortar la fermentación enfriando el producto a 2°C, se empaca en envases de 1 litro y se conserva a temperatura de 2 °C.

## 6.7 METODOLOGÍA

**Cuadro 6.7.1 Modelo Operativo (Plan de acción)**

Fases	Metas	Actividades	Responsable	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formulación de la propuesta	Conocer la tecnología adecuada para el uso de probióticos en la elaboración de bebida de soya con el fin de mejorar la producción y comercialización tanto de bebidas probióticas como de los granos de soya.	Revisión bibliográfica y antecedentes sobre la utilización de probióticos en bebidas lácteas.	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$380	2 meses
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Implementar el desarrollo de la propuesta.	Elaboración del producto.	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$450	1 mes
3. Implementación de la propuesta	Ejecución de la propuesta a 100%	Aplicación de la tecnología en la producción de bebidas probióticas.	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$325	1 mes
4. Evaluación de la propuesta	Comprobar los resultados mediante hojas de registro y procesamiento de la información.	Comprobación con datos experimentales	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 250	2 meses

**Elaborado por:** Juan Rolando Guerrero Tibanquiza.

## 6.8 ADMINISTRACIÓN

La ejecución de la investigación estará coordinada por los responsables de la misma Ing. Danilo Morales y Egdo. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

**Cuadro 6.8.1. “Administración de la Propuesta”.**

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Implementar una tecnología para la utilización de probióticos en una bebida de soya	Bebidas de soya con saborizantes y colorantes sin probióticos. Bebidas lácteas sin bacterias probióticas	Ofrecer productos novedosos con buenas prácticas de manufactura bajo Normas de calidad  Optimizar recursos durante la obtención de la leche de soya  Brindar y satisfacer las necesidades del consumidor final con productos nutricionales	Elaborar la bebida de soya mejorando la formulación para un producto probiótico que contiene 0.03 g de inóculo ( <i>Lactobacillus plantarm</i> ).	Investigador: Rolando Guerrero

**Elaborado por:** Juan Rolando Guerrero Tibanquiza.

## 6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

**Cuadro 6.9.1 “Previsión de la Evaluación”**

<b>PREGUNTAS BÁSICAS</b>	<b>EXPLICACIÓN</b>
¿Quiénes solicitan evaluar?	Productores de bebidas lácteas.
¿Por qué evaluar?	Proporcionar información para mejorar la tecnología y corregir errores, de producción de este tipo de producto.
¿Para qué evaluar?	Para determinar el efecto de la concentración de inóculo de bacterias probióticas en bebidas de soya.
¿Qué evaluar?	Tecnología utilizada Materias primas Resultados obtenidos Análisis realizados Producto terminado.
¿Quién evalúa?	El investigador Si es en una planta : Gerente Jefe de Producción Control de Calidad
¿Cuándo evaluar?	Todo el tiempo desde que inicia el proceso hasta que termina. Durante el proceso de fermentación láctea, dentro de la tecnología de elaboración de la bebida.
¿Cómo evaluar?	Mediante instrumentos de evaluación y análisis.
¿Con qué evaluar?	Experimentales Normas establecidas Normas Nacionales, Internacionales. Codex alimentario.

**Elaborado por:** Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

## **.BIBLIOGRAFÍA**

- Alvarado, J. de D., 1996. Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos., Editorial Artes Gráficas de Radio Comunicaciones.Ambato-Ecuador.Pp.73-85.
- Álvarez .M y Aguirre .E .Desarrollo y Evaluación de Néctares y Jugos Probióticos de Larga Vida de Anaquel que no Requieren Refrigeración Biotecnología FEMSA , Tecnológico de Monterrey.
- Association of Oficial Analytical Chemist.Oficial Methods of Analysis of the AOAC.16 th.ed.Washington 1995.
- Banco Central del Ecuador (BCE), 2009. Exportaciones de soya. Base de datos de la biblioteca. Obtenida de:
- Bernet M.F., Brassart D., Neeser J.R. y Servin A.L. 1994. *Lactobacillus acidophilus* LA 1 binds to culture human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut*. 35(4):483-489.
- Castro L.A. y De Rovetto, C.2006.Probioticos: utilidad clínica. Colombia Médica.37 (4): 208-314.
- Collado M.c., Meriluto J. y Salminen S. 2007. Role of comercial probiotic strains against human pathogen adhesión to intestinal mucus. *Letters in Applied Microbiology*. 45: 454-460.
- Chukeatirote E.2003.Potential use of probiotics. *Songklanakarín Journal of Science Technology*,25(2):275-282.
- De Roos N.M. y Katan M.B. 2000. Effects of probiotic bacteria on diarrhoea, lipid metabolism and carcinogenesis: A review of papers published between 1988 and 1998. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71: 405-411.
- Escobar, B y Garzón E. Microbiología de microorganismos probióticos. Zaragoza España.1ª Edición.90-121 pp.

- Estrada A. Efecto de los Probióticos *Lactobacillus acidophilus* y *bifidobacterium bifidum* en las Características Físico químicas y Sensoriales del yogur de fresa en zamorano. - Tegucigalpa, Honduras 2005.
- FAO/OMS.2002.Probioticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación 85.Consulta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de los Probióticos en los Alimentos, incluida la Leche en Polvo con Bacterias Vivas del Ácido Láctico.
- Felley C.P., Corthesy-Theulaz I., Rivero J.L., Sipponene P., Kaufmann B.P., Wiesel P.H., Brassart D., Pfeifer A., Blum A.L. y Michetti P. 2001. Favourable effect of acidified milk (LC-1) on *Helicobacter gastritis* in man. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 13(1): 25- 29.
- Frazier, W.C. et al. 1978. Food Microbiology by McGraw-Hill Book Co., New York p.427.
- Guevara, J., Morales, R., Quintero, L. (2005). Evaluación de la utilización de probióticos en la fase de levante del ciclo de producción de la mojarra roja 68 (*Oreochromis sp.*). Lima-Perú.25-26 pp.
- INEN 013.1983.Lече y productos Lácteos. Determinación de la Acidez Titulable . 1ª Edición. Instituto Ecuatoriano de Normalización Quito-Ecuador
- Isolauri E., Joensuu J., Suomalainen H., Loumalat M. y Vesikari T.1995. Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei GG*. *Vaccine*. 13 (3): 310 – 312.
- Isolauri E., Salminen E. y Salminen S.1998.Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (S. Salminen, A.von Wright y A. Owehand,).255-268 pp.
- Isolauri E., Arvola T., Sutas Y., Moilanen E. y Salminen S.2000.Probiotics in the management of atopic eczema. *Clinical and Experimental Allergy*. 30: 1604-1610.

- Isolauri E., Sutas Y., Kankaana P., Arvilommi H. y Salminen S. 2001. Probiotics: effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73(suppl):444S-450S.
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 2003. [Impacto del monocultivo de soja](#).
- Kleerebezem M., Klaenhammer T., Altermann E., Bolotin A., Cano R., Chaillou S., Deutscher J., Gasson M., Van de Gutche M., Guzzo J., Hartke O., Hawkins T., Hols P., Kuipers O., Lubbers M., y Seizen R. 2003. Discovering lactic acid bacteria by genomics. *Antonie van Leeuwenhoek*. 82: 29-58.
- Magonova, S., Larsen, R., & Pogliano, K. (2007). *Lactobacillus brevis*. Chile. Extraído el 4 de marzo, 2011, de [http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Lactobacillus brevis](http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Lactobacillus_brevis).
- Murillo, F. Producción de bebidas probióticas en el Ecuador. Revista Diario Hoy. Octubre 2008. Disponible en: <http://www.hoy.com.ec/especiales/2008/ecuadorsi-2008/ecuadorsi27.htm>. Obtenida el 25 de abril del 2011.
- Orbe, J. Producción de bebidas probióticas en el Ecuador. Revista Diario Hoy. Ecuador. Octubre 2008. Disponible en: <http://www.hoy.com.ec/especiales/2008/ecuadorsi-2008/ecuadorsi27.htm>. Obtenida el 25 de abril del 2011.
- Pérez, L. y Yepez R. Limitada oferta de productos elaborados a base de soya (*Glycine max L.*) y su escaso consumo en la ciudad de Ambato. Tesis. Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato –Ecuador.
- Pérez J. 1990. Estudio de comparación de la leche de soya y de la leche de vaca. Colegio Científico de [Albert Einstein. Zaragoza España](#).
- Rackis, J. J.,” Biological and physiological factors in soybeans,” *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 51: 161A-170A, January 1974. segunda. Editorial Acribia Zaragoza- España.

- Reid G. y Burton J. 2002. Use of *Lactobacillus* to prevent infection by pathogenic bacteria. *Microbes and Infection*. 4 (3): 319-324.
- Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. ISSN 0121- 4004 Vol. 15 número 2.1998.
- Revista Líderes. La leche de soya tiene más acogida. Disponible en: <http://www.revistalideres.ec/2010-05-03/Mercados/AnalisisSectorial/LD100426P17ENPERSPECTIVA.aspx>. Consultado el 20 de marzo del 2011.
- Revista Soya Noticias, 1995. Disponible en: [http://www.engormix.com/MABalanceados/formulacion/articulos/elaboracion\\_-\\_leche\\_de\\_soyar-t2519/800-p0.htm](http://www.engormix.com/MABalanceados/formulacion/articulos/elaboracion_-_leche_de_soyar-t2519/800-p0.htm). Consultado el 5 de abril del 2011.
- Rodríguez, D y Ruiz, F.1998.Producto Dietético Tipo Yogurt a partir de clara de huevo, Leche de Vaca y Soya (*Glycine max*).Tesis.Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato – Ecuador.
- Rodriguez. M Aislamiento y selección de cepas del género *Lactobacillus* con capacidad probiótica e inmunomoduladora.Tesis doctoral Universidad Autónoma de Barcelona,3-54pp.
- Saltos, L .Rana. E. Aprovechamiento del grano de soya para el desarrollo de alimentos funcionales Guayaquil-Ecuadorpp.:30-31
- Salazar, M .Bermeo del P. El uso de la proteína hidrolizada de soya para bebidas hidratantes .Ambato- Ecuador .pp.5-18.
- Velasteguí, C. Carrasco A. Elaboración de leche de soya (*Glycine max*).enmascarada con saborizantes de vainilla y fresa. Tesis. Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato –Ecuador.
- Saavedra J.M.1994. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *The Lancet*.344:1046-1049.



- Salminen S., Bouley C., Boutron- Ruault M.C., Cummings J.H., Franck A., Gibson, G.R., Isolauri E., Moreau M.C., Roberfroid M. y Rowland, I.1998. *Functional food science and gastrointestinal physiology and function*. British Journal of Nutrition. 80 (suppl).147S- 171S.)
- Sánchez, D., Zapata, L. (2002). Los probióticos en la acuicultura. México.
- Santos J.,Llopis M. (2005). El uso de agentes probióticos en el Síndrome del Intestino Irritable *Lactobacillus plantarum*. Hospital Universitario. Vall d´ Hebron. 121-125 pp.
- Sarem –Damjerdii L.O.,Sarem F.,Marchal L. y Nicolas J.P. 1995. *In vitro* colonization ability of human colon mucosa by exogenous *Lactobacillus* strain. *FEMS Microbiology Letters*,131: 133-137.
- Spanhaak S., Havenaar R. y Schaafsma G. 1998.The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *European Journal Clinical Nutrition*.12: 899-907.



# **ANEXOS**

# **ANEXO A**

**CUADROS DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS,  
CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA,  
DIAGRAMA DE FLUJO Y HOJAS DE CATACIÓN**

## CUADRO 1 COMPARACIÓN DE LA LECHE DE VACA Y SOYA

Composición de la leche de soya y de la leche de vaca por cada 240 g(Un vaso)		
	Leche de vaca entera	Leche de soya
Calorías	148,84kcal	79,20 kcal
Proteínas	8,05 g	6,72 g
Grasa	8,05 g	4,56 g
<b>Carbohidratos</b>	<b>11,47 g</b>	<b>4,32 g</b>
Sodio	119,56 mg	28,80 mg
Vitamina A	307,44 UI	76,80 UI
Vitamina C	2,20 mg	0,00 mg
Grasas saturadas	5,08 g	0,50 g
Colesterol	34,16 mg	0,00 mg

Fuente: [www.botanical-online.com/soyaleche.htm](http://www.botanical-online.com/soyaleche.htm)

## CUADRO 2 DENOMINACIONES A NIVEL DE LA INDUSTRIA DE LOS MICROORGANISMOS DE MAYOR APLICACIÓN COMO PROBIÓTICOS

Microorganismos de mayor aplicación como probióticos	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i>
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>paracasei</i>	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>tolerans</i>
<i>Lactobacillus casei</i> <i>immunitis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
<i>Lactococcus</i> spp.	<i>Bifidobacterium lactis</i>
<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Bifidobacterium</i> spp.
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Streptococcus</i> spp.
<i>Bacillus</i> spp.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Saccharomyces boulardii</i>	<i>Saccharomyces</i> spp.

Fuente: Kleerebezem, et al., 2003

**CUADRO 3 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA DE *Lactobacillus plantarum*.**

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
División	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilli</i>
Orden	<i>Lactobacillales</i>
Familia	<i>Lactobacillaceae</i>
Género	<i>Lactobacillus</i>
Especie	<i>L. plantarum</i>

Fuente: Kleerebezem, et al., 2003

**TABLA A1.CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA.**

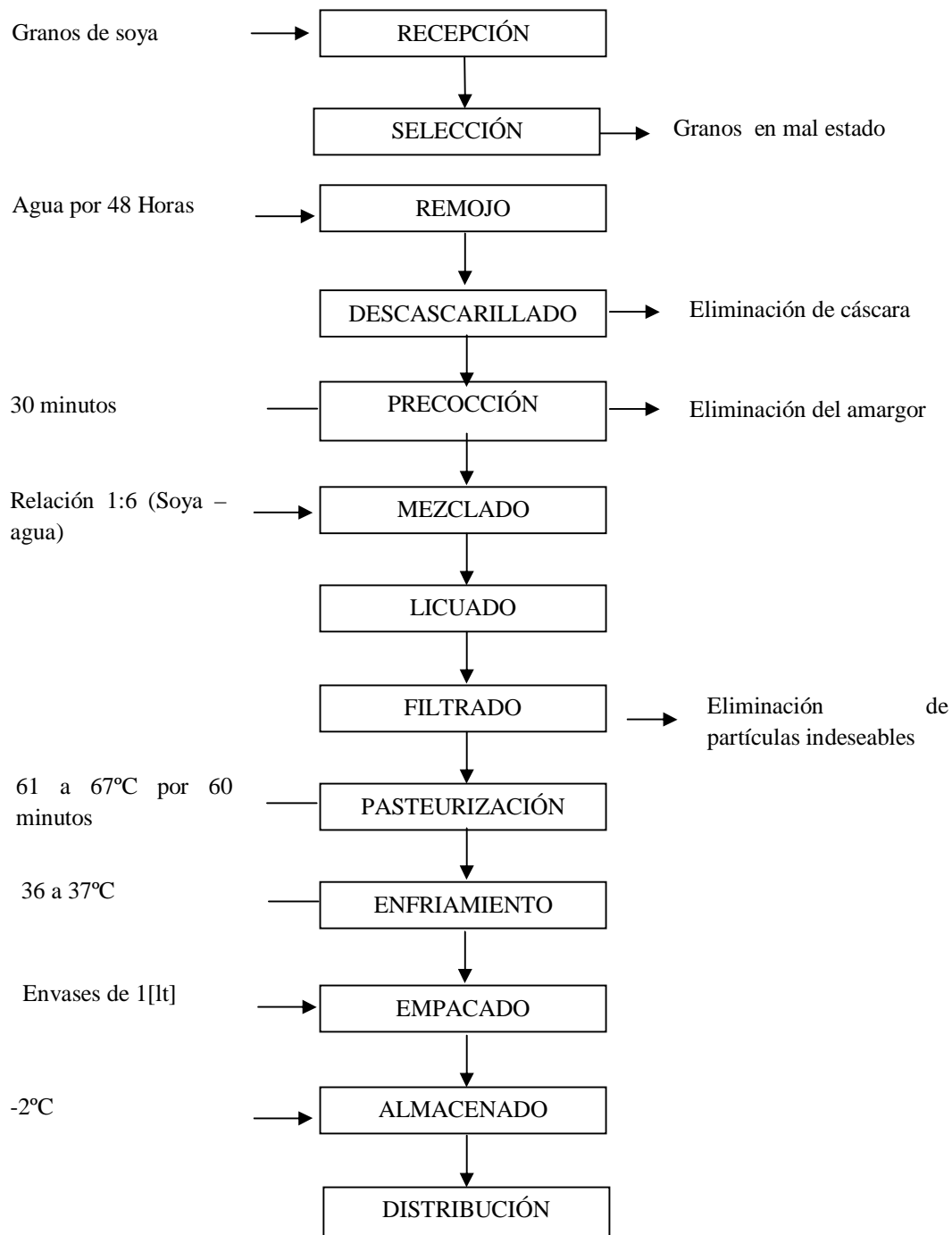
---

<b>Materia Prima</b>	<b>Cantidad</b>
Peso de los granos de soya (g)	1000
Leche de soya obtenida (ml)	6000

---

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

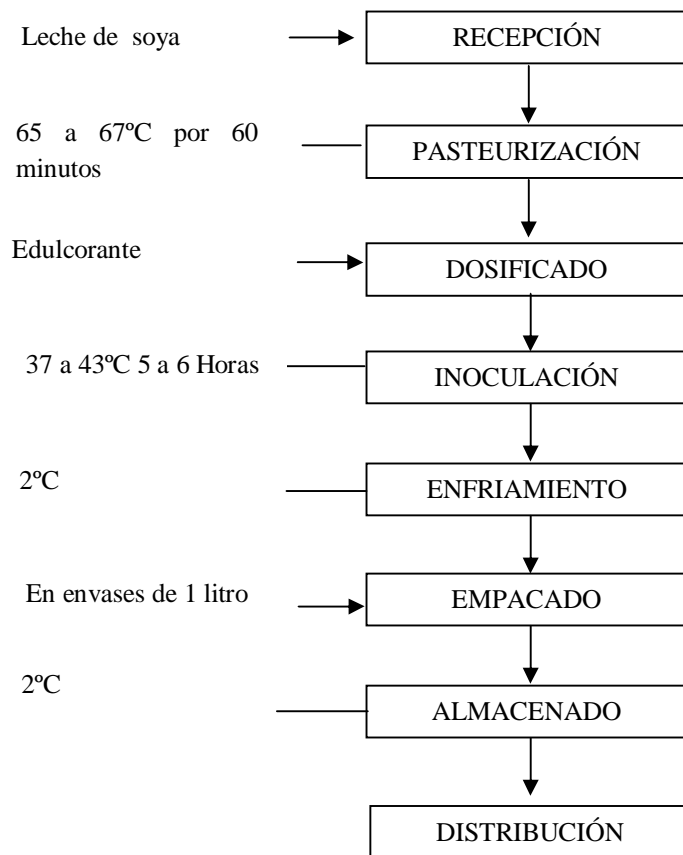
## ANEXO A2 DIAGRAMA DE FLUJO DE LA OBTENCIÓN DE LA LECHE DE SOYA



Elaborado por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando



### ANEXO A3. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA



Elaborado por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando



## ANEXO A4. HOJA DE CATACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA

La presente encuesta nos servirá para determinar las características sensoriales del producto. Sírvase contestar con toda sinceridad.

		Muestra		
		225	119	354
<b>1.Olor</b>	5.Agradable			
	4.Poco Agradable			
	3.Característico			
	2.Desagradable			
	1.Muy desagradable			
<b>2.Acidez</b>	5.Muy ácido-desagradable			
	4.Medianamente ácido			
	3.Normal característica			
	2.Suficiente			
	1.Falta acidez			
<b>3.Sabor</b>	5.Muy Agradable			
	4.Agradable			
	3.Ni agrada ni Desagrada			
	2.Desagradable			
	1.Muy desagradable			

**4.Textura**

- 5.Muy buena
- 4.Buena
- 3.Neutral
- 2.Malo
- 1.Muy malo


**5.Acceptabilidad**

- 5.Gusta mucho
- 4.Gusta levemente
- 3.Ni gusta ni disgusta
- 2.Disgusta levemente
- 1.Disgusta mucho


**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

# **ANEXO B**

**RESPUESTAS EXPERIMENTALES  
(PH, ACIDEZ, °BRIX, ANÁLISIS SENSORIAL)**

## pH

**TABLA B1. VALORES DE pH DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A1B1.**

<b>pH</b>			
<b>Tiempo (Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
0	7,6	7,7	7,6
1	7,6	7,6	7,6
2	7,5	7,5	7,5
3	7,5	7,5	7,5
4	7,4	7,4	7,4
5	7,4	7,4	7,4
6	7,3	7,3	7,3
7	7,3	7,2	7,2
8	7,2	7,1	7,1

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a**  $b_1 = 0,01$  g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B2. VALORES DE pH DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN . TRATAMIENTO A1B2.**

pH			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	7,6	7,7	7,6
1	7,5	7,5	7,5
2	7,5	7,5	7,5
3	7,5	7,5	7,5
4	7,4	7,4	7,4
5	7,4	7,4	7,4
6	7,4	7,3	7,3
7	7,3	7,2	7,2
8	7,3	7,0	7,1

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a**  $b_2 = 0,01$  g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B3. VALORES DE pH DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN . TRATAMIENTO A2B1.**

<b>pH</b>			
<b>Tiempo (Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	$\bar{x}$
0	7,6	7,7	7,7
1	7,5	7,5	7,5
2	7,4	7,4	7,4
3	7,4	7,4	7,4
4	7,3	7,3	7,3
5	7,3	7,3	7,3
6	7,3	7,2	7,3
7	7,2	7,0	7,1
8	7,2	6,9	7,1

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a<sub>2</sub>b<sub>1</sub>**= 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B4. VALORES DE pH DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN . TRATAMIENTO A2B2.**

<b>pH</b>			
<b>Tiempo</b>			
<b>(Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	$\bar{x}$
0	7,6	7,7	7,7
1	7,5	7,5	7,5
2	7,4	7,4	7,4
3	7,4	7,3	7,4
4	7,2	7,2	7,2
5	7,1	7,1	7,1
6	6,8	6,9	6,9
7	6,7	6,7	6,7
8	6,5	6,4	6,5

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a**  $2b_2 = 0,02$  g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio



**TABLA B5. VALORES DE pH DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN . TRATAMIENTO A3B1.**

pH			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	7,6	7,7	7,7
1	7,4	7,4	7,4
2	7,2	7,4	7,3
3	7,0	7,3	7,2
4	6,7	6,8	6,8
5	6,5	6,5	6,5
6	6,2	6,3	6,3
7	5,6	5,7	5,7
8	5,0	5,3	5,2

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a 3b<sub>1</sub>**= 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B6. VALORES DE pH DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN . TRATAMIENTO A3B2.**

pH			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	7,6	7,7	7,7
1	7,2	7,3	7,3
2	7,0	7,0	7,0
3	6,4	6,5	6,5
4	5,9	6	6,0
5	5,2	5,7	5,5
6	4,6	5,3	5,0
7	4,3	4,8	4,6
8	4,3	4,3	4,3

Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

**a<sub>3</sub>b<sub>2</sub>**= 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

## PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO.

**TABLA B7. PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO PRODUCIDO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A1B1.**

<b>Acidez % de ácido láctico</b>			
<b>Tiempo</b>			
<b>(Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	$\bar{x}$
0	0,05	0,05	0,05
1	0,06	0,07	0,07
2	0,08	0,08	0,08
3	0,08	0,08	0,08
4	0,08	0,08	0,08
5	0,09	0,09	0,09
6	0,09	0,09	0,09
7	0,09	0,09	0,09
8	0,09	0,09	0,09

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a** **b**<sub>1</sub> = 0,01 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1 = Réplica 1

R2 = Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B8. PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO PRODUCIDO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A1B2.**

<b>Acidez % de ácido láctico</b>			
<b>Tiempo</b>			
<b>(Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	$\bar{x}$
0	0,05	0,05	0,05
1	0,07	0,08	0,07
2	0,08	0,09	0,08
3	0,09	0,09	0,09
4	0,09	0,09	0,09
5	0,09	0,09	0,09
6	0,09	0,09	0,09
7	0,09	0,09	0,09
8	0,09	0,09	0,09

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a** **1b**<sub>2</sub> = 0,01 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1 = Réplica 1

R2 = Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B9. PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO PRODUCIDO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A2B1.**

<b>Acidez % de ácido láctico</b>			
<b>Tiempo (Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	$\bar{x}$
0	0,05	0,05	0,05
1	0,08	0,08	0,08
2	0,09	0,09	0,09
3	0,09	0,09	0,09
4	0,09	0,09	0,09
5	0,09	0,09	0,09
6	0,09	0,10	0,10
7	0,10	0,10	0,10
8	0,10	0,11	0,11

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a**  $\mathbf{2b_1}$  = 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B10. PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO PRODUCIDO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A2B2.**

<b>Acidez % de ácido láctico</b>			
<b>Tiempo (Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
0	0,05	0,05	0,05
1	0,09	0,08	0,08
2	0,09	0,09	0,09
3	0,09	0,09	0,09
4	0,09	0,09	0,09
5	0,09	0,10	0,10
6	0,10	0,12	0,11
7	0,12	0,14	0,13
8	0,13	0,15	0,14

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a<sub>2</sub>b<sub>2</sub>**= 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B11. PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO PRODUCIDO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A3B1.**

<b>Acidez % de ácido láctico</b>			
<b>Tiempo</b>			
<b>(Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	$\bar{x}$
0	0,05	0,05	0,05
1	0,09	0,09	0,09
2	0,10	0,09	0,10
3	0,10	0,10	0,10
4	0,11	0,11	0,11
5	0,12	0,12	0,12
6	0,12	0,14	0,13
7	0,16	0,17	0,16
8	0,16	0,21	0,18

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a 3b<sub>1</sub>**= 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B12 PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO PRODUCIDO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A3B2.**

<b>Acidez % de ácido láctico</b>			
<b>Tiempo (Hora)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	$\bar{x}$
0	0,05	0,05	0,05
1	0,11	0,12	0,11
2	0,15	0,14	0,14
3	0,18	0,17	0,18
4	0,20	0,20	0,20
5	0,24	0,23	0,24
6	0,27	0,27	0,27
7	0,30	0,31	0,31
8	0,33	0,37	0,35

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a<sub>3</sub>b<sub>2</sub>**= 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio



## GRADOS BRIX

**TABLA B13 VALORES DE °BRIX TITULABLE DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A1B1.**

°Brix			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	25	25	25
1	25	25	25
2	25	25	25
3	25	25	25
4	25	25	25
5	25	25	25
6	25	25	25
7	25	25	25
8	25	25	25

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a**  $b_1 = 0,01$  g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B14 VALORES DE °BRIX TITULABLE DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A1B2.**

°Brix			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	35	35	35
1	35	35	35
2	35	35	35
3	35	35	35
4	35	35	35
5	35	35	35
6	35	35	35
7	35	35	35
8	35	35	35

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a** 1**b**<sub>2</sub>= 0,01 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B15 VALORES DE °BRIX TITULABLE DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A2B1.**

°Brix			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	25	25	25
1	25	25	25
2	25	25	25
3	25	25	25
4	25	25	25
5	25	25	25
6	25	25	25
7	24	24	24
8	24	24	24

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a 2b<sub>1</sub>**= 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B16. VALORES DE °BRIX TITULABLE DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A2B2.**

°Brix			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	35	35	35
1	35	35	35
2	35	35	35
3	35	35	35
4	35	35	35
5	34	34	34
6	33	34	34
7	33	34	34
8	33	34	34

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a 2b<sub>2</sub>**= 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B17 VALORES DE °BRIX TITULABLE DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A3B1.**

°Brix			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	25	25	25
1	25	25	25
2	24	25	25
3	23	25	24
4	22	24	23
5	22	24	23
6	22	23	23
7	22	23	23
8	22	23	23

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a 3b<sub>1</sub>**= 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

**TABLA B18 VALORES DE °BRIX TITULABLE DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN. TRATAMIENTO A3B2.**

°Brix			
Tiempo (Hora)	R1	R2	$\bar{x}$
0	35	35	35
1	35	34	35
2	34	33	34
3	32	30	31
4	30	25	28
5	28	25	27
6	25	22	24
7	23	22	23
8	22	21	22

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**a** 3**b**<sub>2</sub>= 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

R1= Réplica 1

R2= Réplica 2

$\bar{x}$  = Promedio

## ANÁLISIS SENSORIAL

**TABLA B19 .DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA CORRESPONDIENTE AL OLOR.**

Tratamiento	Panelista.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(a2b2)	3	3	3	2	2	4	4	3	2	3
(a3b1)	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4
(a3b2)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Promedio = 3.93**

**(a2b2)** = 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

**(a3b1)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

**(a3b2)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

**TABLA B20. DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA CORRESPONDIENTE A LA ACIDEZ.**

Tratamiento	Panelista.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(a2b2)	3	3	4	3	3	3	3	3	4	3
(a3b1)	2	2	2	2	2	3	2	3	2	3
(a3b2)	2	1	2	1	1	3	3	2	2	2

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Promedio=2.46**

**(a2b2)** = 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

**(a3b1)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

**(a3b2)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar



**TABLA B21. DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA CORRESPONDIENTE AL SABOR.**

Tratamiento	Panelista.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(a2b2)	5	5	5	5	4	5	4	5	5	4
(a3b1)	3	4	3	4	4	5	4	3	3	4
(a3b2)	3	3	3	2	2	4	3	2	3	3

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Promedio =3.73**

**(a2b2)** = 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

**(a3b1)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

**(a3b2)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

**TABLA B22. DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA CORRESPONDIENTE A LA TEXTURA.**

Tratamiento	Panelista.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(a2b2)	5	4	4	5	5	4	4	5	5	4
(a3b1)	3	3	3	3	4	4	3	4	3	4
(a3b2)	3	4	3	3	3	4	3	4	2	3

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Promedio =3.70**

**(a2b2)** = 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

**(a3b1)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

**(a3b2)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

**TABLA B23. DATOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE SOYA CORRESPONDIENTE A LA ACEPTABILIDAD.**

Tratamiento	Panelista.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
(a2b2)	1	5	5	5	5	5	5	4	4	5	5
(a3b1)	2	3	4	4	4	4	4	4	3	3	4
(a3b2)	3	3	3	3	3	4	4	3	2	2	3

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Promedio =3.83**

**((a2b2)** = 0,02 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

**(a3b1)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 2,6 % de azúcar

**(a3b2)** = 0,03 g de inóculo (*Lactobacillus plantarum*) y 3,4 % de azúcar

# **ANEXO C**

**ANÁLISIS DE VARIANZA  
(PH, ACIDEZ, °BRIX,  
ANÁLISIS SENSORIAL)**

**pH**

**TABLA C1. ANÁLISIS DE VARIANZA DE PH DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN.**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,25	6	0,04	100,42	<0,0001
REPLICAS	2,7E-04	1	2,7E-04	0,64	0,4594
FACTOR A	0,23	2	0,11	269,79	<0,0001
FACTOR B	0,02	1	0,02	35,69	0,0019
FACTOR A*FACTOR B	0,01	2	0,01	13,30	0,0100
Error	2,1E-03	5	4,2E-04		
Total	0,26	11			

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Prueba de diferenciación Tukey para la variable dependiente pH**

**Alfa=0,05 DMS=0,08761**

*Error: 0,0004 gl: 5*

FACTOR A	FACTOR B	Medias	n	E.E.	
a3	b2	-0,44	2	0,01	A
a3	b1	-0,30	2	0,01	B
a2	b2	-0,14	2	0,01	C
a2	b1	-0,07	2	0,01	C D
a1	b1	-0,06	2	0,01	C D
a1	b2	-0,05	2	0,01	D

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )*

**TABLA C2. ANÁLISIS DE VARIANZA DE ACIDEZ EXPRESADA EN PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN.**

**Cuadro de Análisis de Varianza para la variable dependiente acidez.**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,4E-03	6	2,4E-04	82,16	0,0001
REPLICAS	8,3E-06	1	8,3E-06	2,84	0,1527
FACTOR A	9,8E-04	2	4,9E-04	167,16	<0,0001
FACTOR B	2,1E-04	1	2,1E-04	71,02	0,0004
FACTOR A*FACTOR B	2,5E-04	2	1,2E-04	42,39	0,0007
Error	1,5E-05	5	2,9E-06		
Total	1,5E-03	11			

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Prueba Tukey para la variable dependiente acidez**

**Alfa=0,05 DMS=0,00731**

*Error: 0,0000 gl: 5*

FACTOR A	FACTOR B	Medias	n	E.E.
a3	b2	0,03	2	1,2E-03 A
a3	b1	0,01	2	1,2E-03 B
a2	b2	0,01	2	1,2E-03 B C
a2	b1	4,5E-03	2	1,2E-03 C
a1	b2	3,5E-03	2	1,2E-03 C
a1	b1	3,5E-03	2	1,2E-03 C

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

*Letras distintas indican diferencias significativas( $p \leq 0,05$ )*

**TABLA C3. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA VARIACIÓN DE °BRIX DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN.**

**Cuadro de Análisis de Varianza para la variable dependiente °Brix.**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,37	6	0,90	170,42	<0,0001
REPLICAS	8,3E-04	1	8,3E-04	0,16	0,7069
FACTOR A	3,04	2	1,52	289,66	<0,0001
FACTOR B	0,91	1	0,91	172,75	<0,0001
FACTOR A*FACTOR B	1,42	2	0,71	135,13	<0,0001
Error	0,03	5	0,01		
Total	5,40	11			

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Prueba de diferenciación Tukey para la variable dependiente Brix.**

**Alfa=0,05 DMS=0,30920**

*Error: 0,0053 gl: 5*

FACTOR A	FACTOR B	Medias	n	E.E.	
a3	b2	-1,91	2	0,05	A
a3	b1	-0,39	2	0,05	B
a2	b2	-0,24	2	0,05	B C
a2	b1	-0,11	2	0,05	B C
a1	b2	0,00	2	0,05	C
a1	b1	0,00	2	0,05	C

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

*Letras distintas indican diferencias significativas( $p \leq 0,05$ )*

**TABLA C4. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL OLOR**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24,60	11	2,24	12,32	<0,0001
TRATAMIENTOS	22,07	2	11,03	60,80	<0,0001
PANELISTAS	2,53	9	0,28	1,55	0,2044
Error	3,27	18	0,18		
Total	27,87	29			

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,48619**

*Error: 0,1815 gl: 18*

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
a3b2	5,00	10	0,13	A
a3b1	3,90	10	0,13	B
a2b2	2,90	10	0,13	C

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )*



**TABLA C5 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA ACIDEZ**

---

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12,33	11	1,12	3,93	0,0050
TRATAMIENTOS	8,87	2	4,43	15,55	0,0001
PANELISTAS	3,47	9	0,39	1,35	0,2799
Error	5,13	18	0,29		
Total	17,47	29			

---

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,60947**

*Error: 0,2852 gl: 18*

---

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
a3b2	3,20	10	0,17 A
a3b1	2,30	10	0,17 B
a2b2	1,90	10	0,17 B

---

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )*

**TABLA C6 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA SABOR**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21,93	11	1,99	6,05	0,0004
TRATAMIENTOS	18,07	2	9,03	27,40	<0,0001
PANELISTAS	3,87	9	0,43	1,30	0,3012
Error	5,93	18	0,33		
Total	27,87	29			

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,65524**

*Error: 0,3296 gl: 18*

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
a3b1	4,70	10	0,18	A
a3b1	3,70	10	0,18	B
a2b2	2,80	10	0,18	C

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )*

**TABLA C7 .ANÁLISIS DE VARIANZA PARA TEXTURA**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12,77	11	1,16	3,78	0,0062
TRATAMIENTOS	9,80	2	4,90	15,94	0,0001
PANELISTAS	2,97	9	0,33	1,07	0,4271
Error	5,53	18	0,31		
Total	18,30	29			

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,63277**

*Error: 0,3074 gl: 18*

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
a3b2	4,50	10	0,18 A
a3b1	3,40	10	0,18 B
a2b2	3,20	10	0,18 B

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )*

**TABLA C8 .ANÁLISIS DE VARIANZA PARA ACEPTABILIDAD**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21,30	11	1,94	12,16	<0,0001
TRATAMIENTOS	16,47	2	8,23	51,70	<0,0001
PANELISTAS	4,83	9	0,54	3,37	0,0135
Error	2,87	18	0,16		
Total	24,17	29			

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,45545**

*Error: 0,1593 gl: 18*

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
a3b2	4,80	10	0,13 A
a3b1	3,70	10	0,13 B
a2b2	3,00	10	0,13 C

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )*

# **ANEXO D**

## **ANÁLISIS EN EL MEJOR TRATAMIENTO**

**TABLA D1. CONTAJE DE E.COLI,COLIFORMES TOTALES,MOHOS Y LEVADURAS EN EL MEJOR TRATAMIENTO.**

Dilución  $10^{-1}$

<b>ENSAYOS</b>	<b>UNIDADES</b>	<b>RESULTADOS</b>
E.Coli	ufc/g	Ausencia
Coliformes Totales	ufc/g	Ausencia
Mohos y Levaduras	ufc/g	Ausencia

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**TABLA D2 CONTAJE DE BACTERIA PROBIÓTICAS EN EL MEJOR TRATAMIENTO**

**DETERMINACION DE BACTERIAS PROBIOTICAS EN LA BEBIDA DE SOYA PROBIÓTICA.**

Resultado	Rango permitido(UFC/ml)		Método utilizado
	Min	Max	
$1,2 \times 10^8$	$1 \times 10^8$	-----	Caldo MRS

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**TABLA D3. CONTAJE DE MOHOS Y LEVADURAS EN EL MEJOR TRATAMINETO .**

**Dilución  $10^{-1}$**

TIEMPO(días)	Contaje	Ufc/ml	Ln
0	0	0	
5	1	10	2,30258509
10	3	30	3,40119738
15	4	40	3,68887945
20	7	70	4,24849524

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**TABLA D4. DATOS DE pH EN EL MEJOR TRATAMIENTO, PARA EL CÁLCULO DE TIEMPO DE VIDA ÚTIL.**

TIEMPO(días)	PH	Ln pH
0	4,300	1,45861502
5	4,29	1,45628673
10	4,27	1,45161383
15	4,25	1,44691898
20	4,22	1,43983513
25	4,2	1,43508453

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**TABLA D5. DATOS DE ACIDEZ EN EL MEJOR TRATAMIENTO , PARA EL CÁLCULO DE TIEMPO DE VIDA ÚTIL.**

<b>TIEMPO(días)</b>	<b>%Ác.Láctico</b>	<b>Ln %Ác.Láctico</b>
0	0,351	-1,046969056
5	0,367	-1,002393431
10	0,437	-0,827822084
15	0,593	-0,52256088
20	0,654	-0,424647928
25	0,744	-0,295714244

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**TABLA D5 .ECUACIONES DE LA CINÉTICA DE PRIMER ORDEN, PARA EL CÁLCULO DE TIEMPO DE VIDA ÚTIL.**

<b>Ecuación de primer orden n=1</b>		<b>r</b>	<b>K(1/días)</b>	<b>V. Útil</b>
<b>ln A=ln A<sub>0</sub>+kt</b>				
<b>PH</b>	ln (PH)=1,460-0,001t	0,981	-0,001	25
<b>ACIDEZ</b>	ln (ACIDEZ)=-0,116+0,016t	0,983	0,016	25
<b>MOHOS Y LEVADURAS</b>	ln (MOHOS.LEV)=1,878+0,122t	0,934	0,122	18

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**



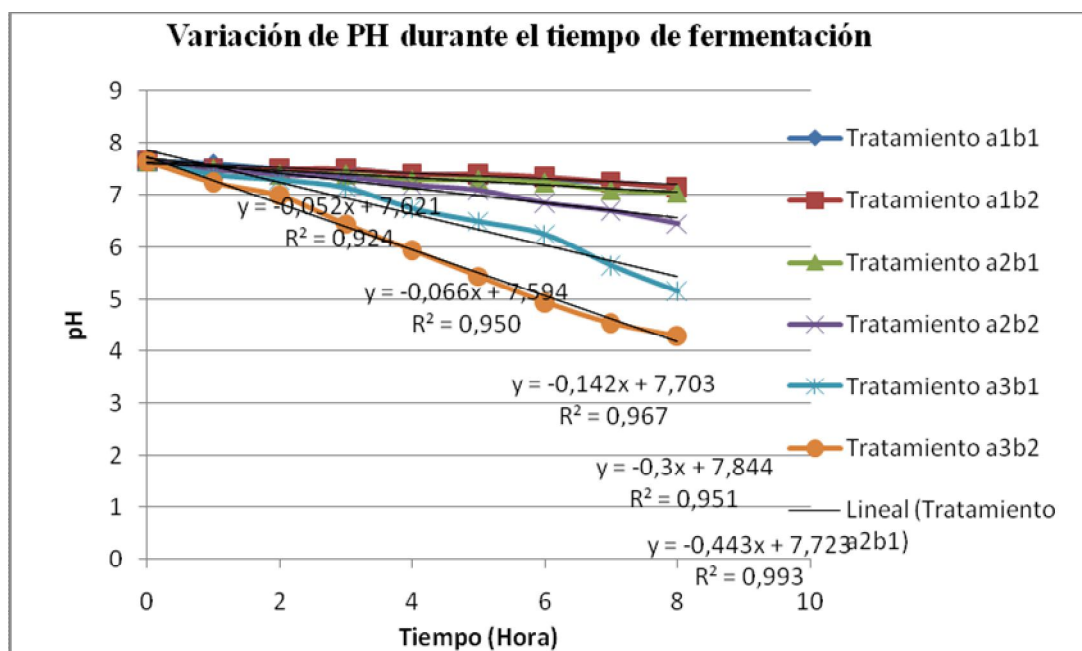
# **ANEXO E**

## **GRÁFICAS**

**GRAFICO E1. VARIACIÓN DE PH DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN.**

Tiempo(Hora)	Tratamiento					
	a1b1	a1b2	a2b1	a2b2	a3b1	a3b2
0	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7
1	7,6	7,5	7,5	7,5	7,4	7,3
2	7,5	7,5	7,4	7,4	7,3	7,0
3	7,5	7,5	7,4	7,4	7,2	6,5
4	7,4	7,4	7,3	7,2	6,8	6,0
5	7,4	7,4	7,3	7,1	6,5	5,5
6	7,3	7,4	7,3	6,9	6,3	5,0
7	7,2	7,3	7,1	6,7	5,7	4,6
8	7,2	7,2	7,1	6,5	5,2	4,3

Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

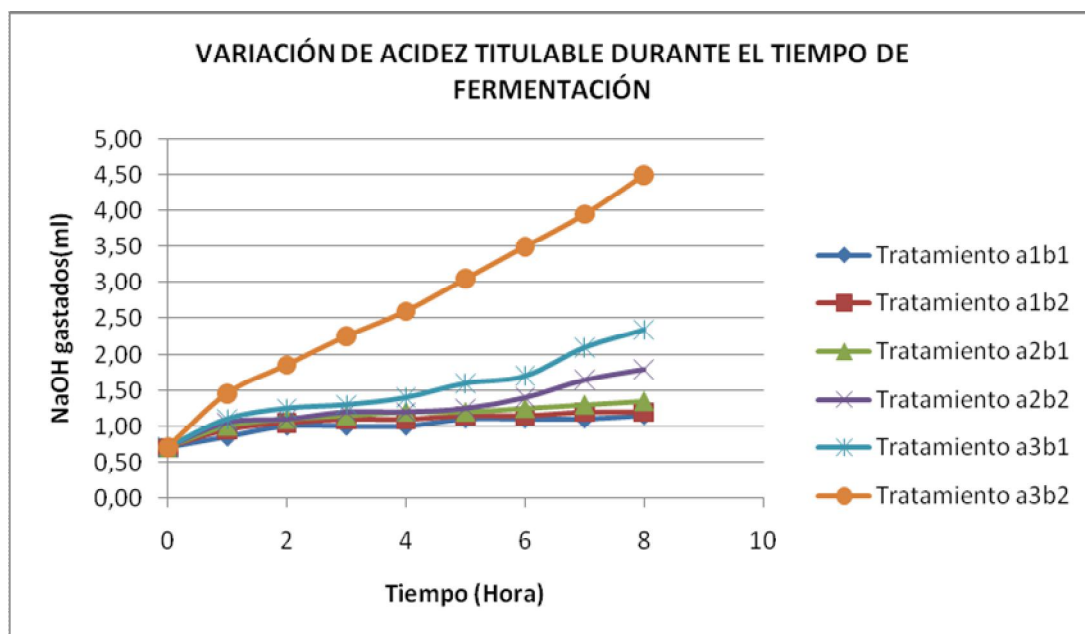


Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

**GRAFICO E2. VARIACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN.**

Tiempo(Hora)	Tratamiento					
	a1b1	a1b2	a2b1	a2b2	a3b1	a3b2
0	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
1	0,85	0,95	1,00	1,05	1,10	1,45
2	1,00	1,05	1,10	1,10	1,25	1,85
3	1,00	1,10	1,15	1,20	1,30	2,25
4	1,00	1,10	1,20	1,20	1,40	2,60
5	1,10	1,15	1,20	1,25	1,60	3,05
6	1,10	1,15	1,25	1,40	1,70	3,50
7	1,10	1,20	1,30	1,65	2,10	3,95
8	1,15	1,20	1,35	1,80	2,35	4,50

**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

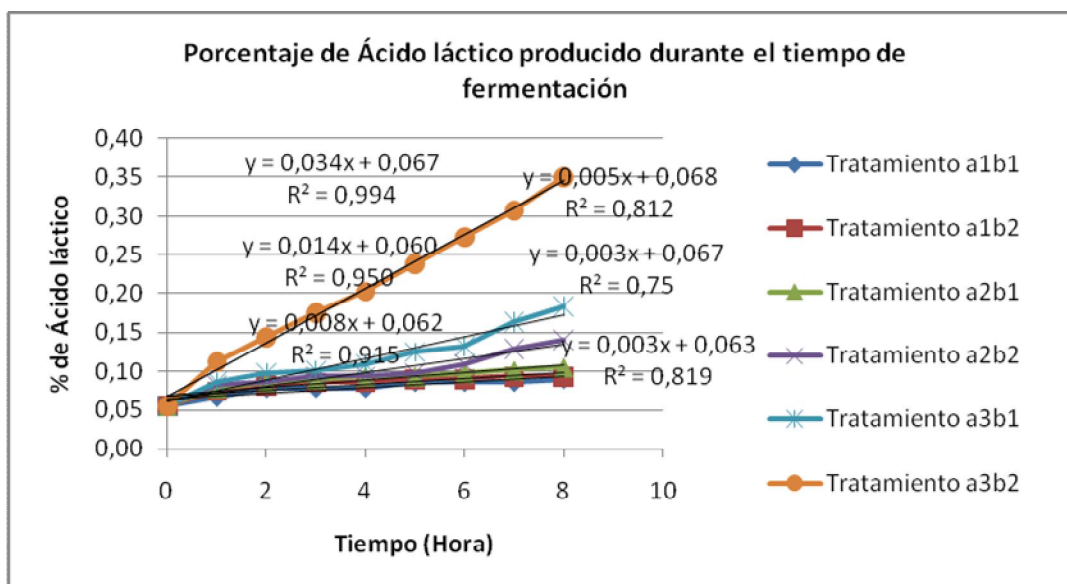


**Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**GRAFICO E3. VARIACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE EXPRESADA EN % DE ÁCIDO LÁCTICO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN.**

Tiempo (Hora)	Tratamiento					
	a1b1	a1b2	a2b1	a2b2	a3b1	a3b2
0	0,054	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055
1	0,066	0,074	0,078	0,082	0,086	0,113
2	0,078	0,082	0,086	0,086	0,097	0,144
3	0,078	0,086	0,090	0,094	0,101	0,175
4	0,078	0,086	0,094	0,094	0,109	0,203
5	0,086	0,090	0,094	0,097	0,125	0,238
6	0,086	0,090	0,097	0,109	0,133	0,273
7	0,086	0,094	0,101	0,129	0,164	0,308
8	0,090	0,094	0,105	0,140	0,183	0,351

Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

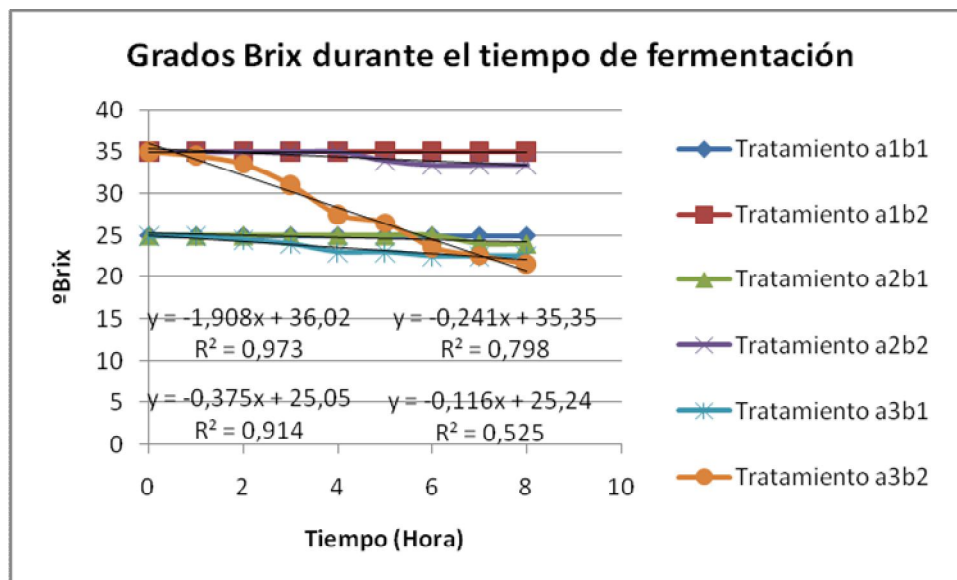


Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

**GRAFICO E4. VARIACIÓN DE GRADOS BRIX DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACIÓN.**

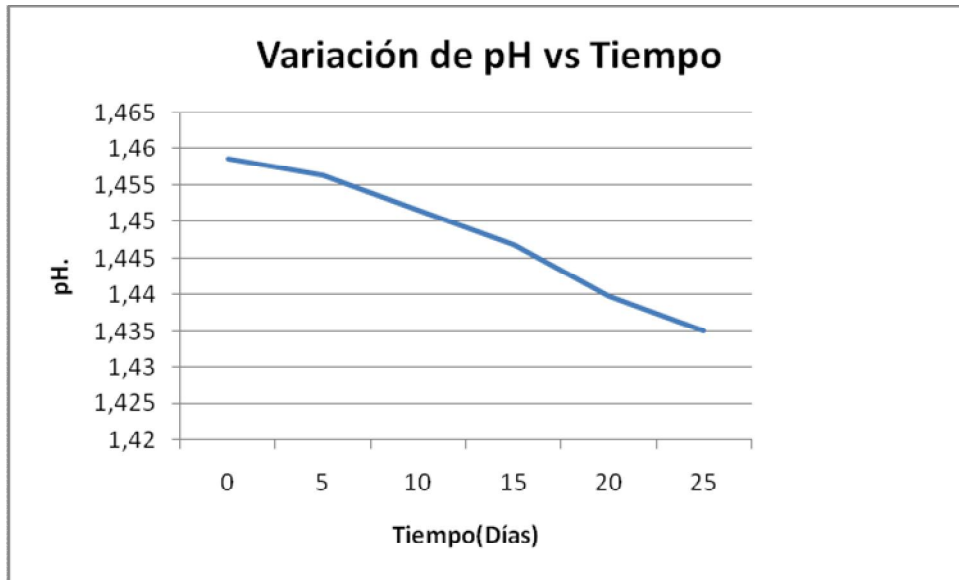
Tiempo	Tratamiento					
	a1b1	a1b2	a2b1	a2b2	a3b1	a3b2
0	25	35	25	35	25	35
1	25	35	25	35	25	35
2	25	35	25	35	25	34
3	25	35	25	35	24	31
4	25	35	25	35	23	28
5	25	35	25	34	23	27
6	25	35	25	34	23	24
7	25	35	24	34	23	23
8	25	35	24	34	23	22

Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

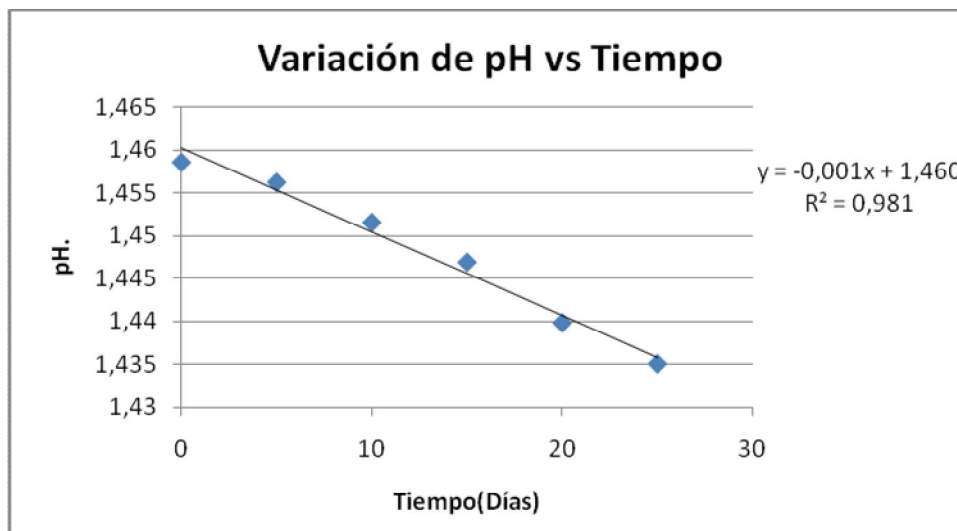


Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza

**GRÁFICO E5 .VARIACIÓN DE PH DURANTE EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DEL MEJOR TRATAMIENTO PARA EL CÁLCULO DE TIEMPO DE VIDA ÚTIL.**

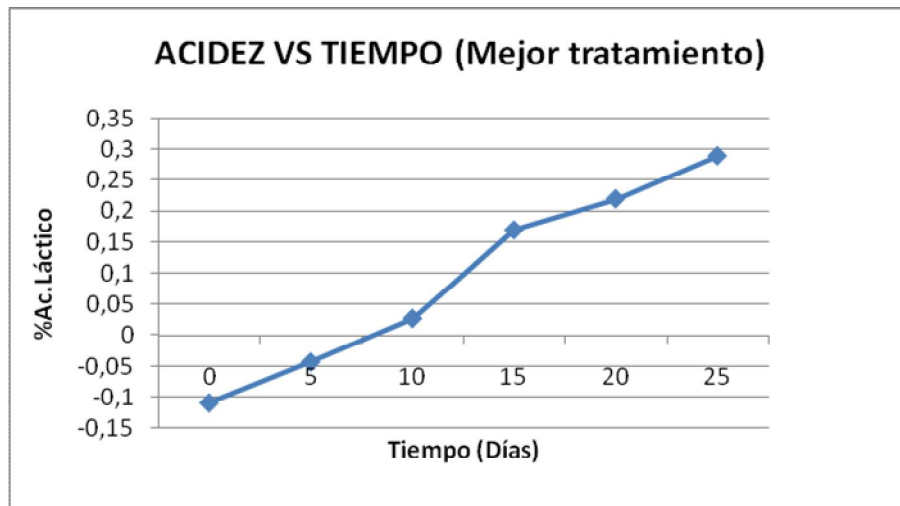


**Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

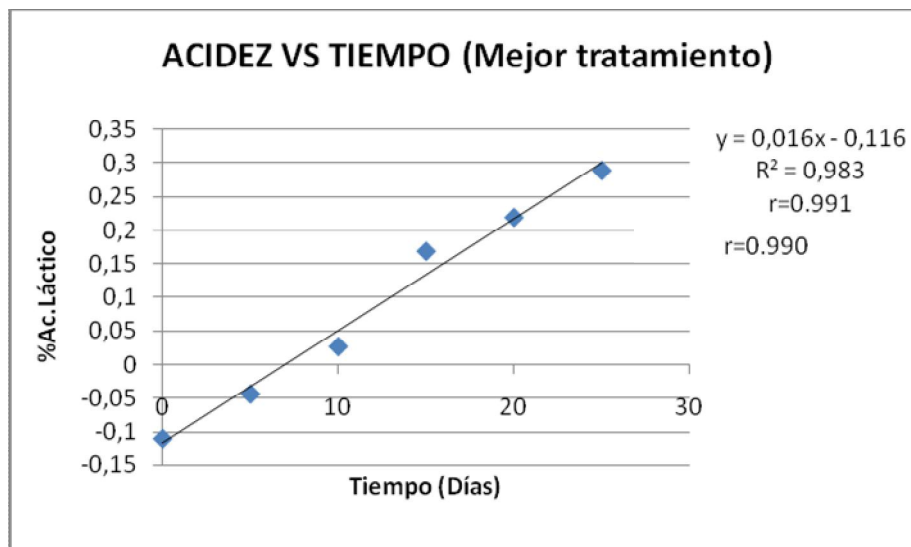


**Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**GRÁFICO E6 .ACIDEZ EXPRESADA EN PORCENTAJE DE ÁCIDO LÁCTICO DURANTE EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DEL MEJOR TRATAMIENTO PARA EL CÁLCULO DE TIEMPO DE VIDA ÚTIL.**

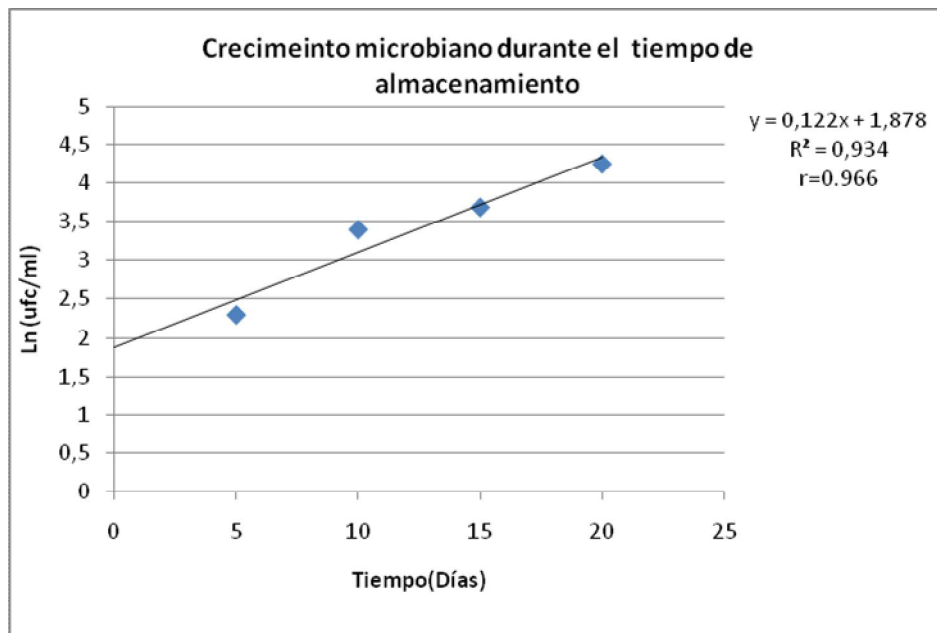


**Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**



**Elaborado por: Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**

**GRÁFICO E7 .CRECIMIENTO MICROBIANO DURANTE EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DEL MEJOR TRATAMIENTO PARA EL CÁLCULO DE TIEMPO DE VIDA ÚTIL**



**Elaborado por. Juan Rolando Guerrero Tibanquiza**



**ANEXO F**

**ANÁLISIS ECONÓMICO**

## ANÁLISIS ECONÓMICO

### GENERALIDADES

El análisis económico tiene como objetivo establecer la posibilidad de obtener una bebida probiótica de soya utilizando (*Lactobacillus plantarum*), de los valores obtenidos dependerá la factibilidad de instalar una planta industrial de este tipo de bebida.

El análisis económico se realiza con 50 envases de 1000 cc, del mejor tratamiento **a3b2** ( 0.03 g de inóculo de *Lactobacillus plantarum* y 3.4 % de azúcar) dando como resultado un valor de precio de venta para el público de la bebida de 1000 cc de \$1.78 dólares , con la inversión de un valor de \$1.37 dólares de materiales directos e indirectos para la producción de un envase, lo cual significa que en una producción de tamaño industrial bajarán los costos de materia prima a medida que aumente la producción.

**TABLA F1.-MATERIALES DIRECTOS E INDIRECTOS.**

Descripción	Unidad	Cantidad	Precio unitario (\$)	Valor Total (\$)
Soya	Kg	10,00	1,00	10,00
Azúcar	kg	2,00	0,70	1,40
Inóculo( <i>Lact. plantarum</i> )	g	1,50	1,50	2,25
Agua	kg	50,00	0,05	2,50
Envases (1000 ml)	U	50,00	0,13	6,50
			<b>TOTAL(\$)</b>	<b>22,65</b>

**TABLA F2.-EQUIPOS Y UTENSILIOS.**

Descripción	Costo(\$)	Vida útil (años)	Costo Hora(\$)	Uso (Horas)	Costo (uso)
Balanza analítica	250,00	10,00	0,01	1,00	0,013
pH-metro	50,00	10,00	0,00	1,00	0,003
Incubadora	1000,00	10,00	0,05	8,00	0,400
Mesas con cubiertas de acero	70,00	5,00	0,01	1,00	0,007
Licuadora	20,00	5,00	0,00	1,00	0,002
Refrigerador	600,00	10,00	0,03	1,00	0,030
Utensilios	15,00	10,00	0,00	4,00	0,003
<b>TOTAL</b>					<b>0,46</b>

**TABLA F3.-SUMINISTROS**

Descripción	Unidad	Consumo	Precio unitario (\$)	Valor Total(\$)
Agua	m3	0,60	0,60	0,36
Luz	KW-h	0,30	0,11	0,03
<b>TOTAL</b>				<b>0,39</b>

**TABLA F5 COSTO DE PRODUCCIÓN**

Materiales	22,65
Equipos	0,46
Suministros	0,39
Personal	45
<b>TOTAL</b>	<b>68,50</b>

**TABLA F4.-PERSONAL**

Hombre	Sueldo(\$)	Costo día (\$)	Costo Hora(\$)	Horas Utilizadas	Total
2	240	12	1,5	15	45
<b>TOTAL</b>					<b>45</b>

<b>CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN</b>	50,00	Envases (1000cc)
<b>COSTO UNITARIO (por envase)</b>	1,37	
<b>PRECIO DE VENTA (costo unitario + 30% utilidad)</b>	1,781	
<b>INGRESOS TOTALES</b>	89,05	

## TABLA F6.-PUNTO DE EQUILIBRIO

**Total(\$)** 68.5

**PE** 61,32

**%PE** 68,87

<b>Descripción</b>	<b>Costos fijos(\$)</b>	<b>Costos variables(\$)</b>
Materiales		22,65
Equipos	0,46	
Suministros		0,39
Personal	45	
<b>Sub Total(\$)</b>	<b>45.45</b>	<b>23,04</b>

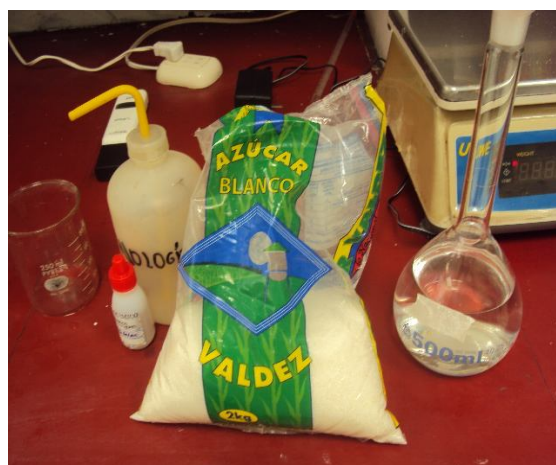
**ANEXO G**  
**FOTOGRAFÍAS**

**Fotografía 1. Materia prima: soya y productos obtenidos para la elaboración de la leche de soya**



**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**

**Fotografía 2. Algunos materiales utilizados**



**Fotografía 3. Licuado de la soya para la obtención de la leche**



**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**

**Fotografía 4. Pesado del inóculo de *Lactobacillus plantarum***



**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**



**Fotografía 5. Incubadora a 37°C**



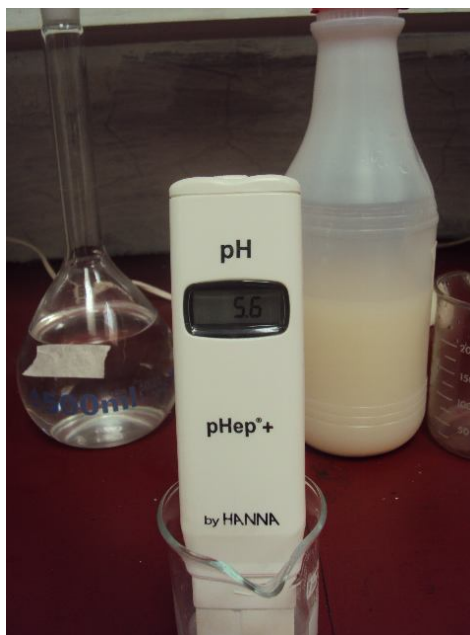
**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**

**Fotografía 6 Muestras inoculando a 37°C**



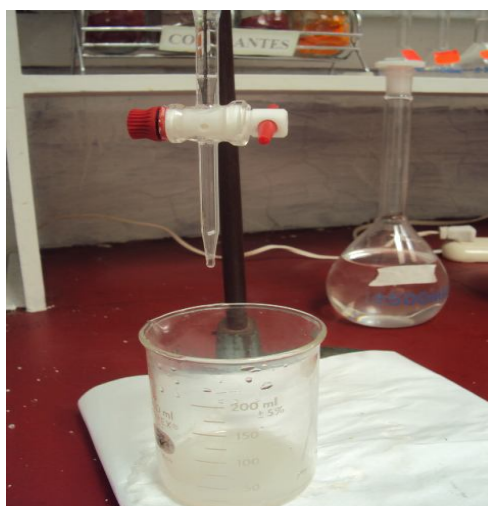
**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**

### Fotografía 7 Control de pH



Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.

### Fotografía 8 Control de acidez



Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.

**Fotografía 9 Petrifilm para el conteo de bacterias lácticas viables**



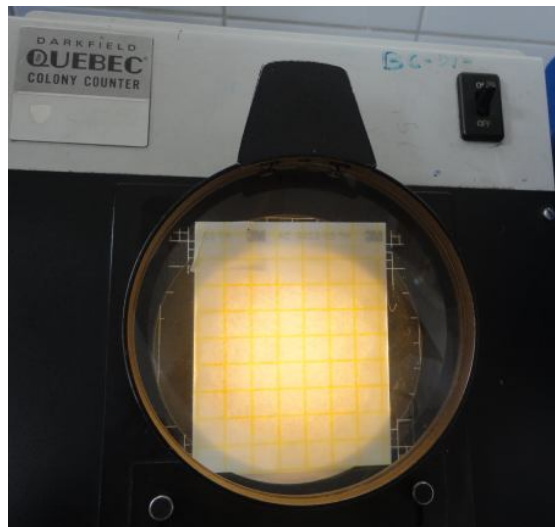
**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**

**Fotografía 10 Petrifilm para el conteo de bacterias lácticas viables**



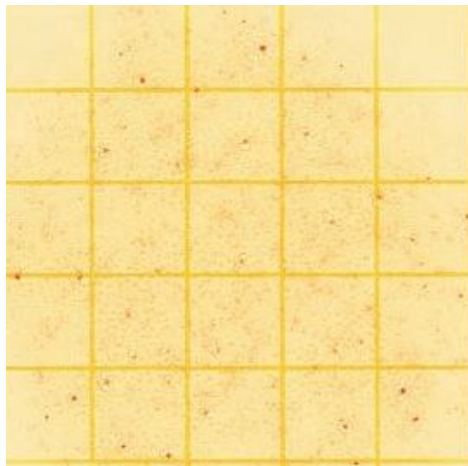
**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**

**Fotografía 11 Petrifilm en el autoclave**



**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**

**Fotografía 12 Petrifilm con bacterias lácticas viables**



**Fotografiada por: Guerrero Tibanquiza Juan Rolando.**

