



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**

**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**



**CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

---

**“UTILIZACIÓN DE ENZIMAS AMILASAS (*FungamyI*) EN LA FERMENTACIÓN ÁCIDO-LÁCTICA DE UNA COLADA DE MOROCHO (*Zea mays*, variedad *Morochon*) CON MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y *Lactobacillus casei*”**

---

**Trabajo de Graduación. Modalidad: Trabajo estructurado de Manera Independiente (TEMI). Presentado 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 Ciencia e Ingeniería en Alimentos**

**Autor: Darío Israel Ojeda Sánchez**

**Tutora: Ing. Gladys Navas Miño**

**Ambato – Ecuador**

**2014**

## APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. Gladys Navas Miño

Siendo el Tutor del Trabajo de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI) bajo el tema: “Utilización de enzimas amilasas (*Fungamyl*) en la fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*) con microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y (*Lactobacillus casei*)”, realizado por el egresado Dario Israel Ojeda Sanchez; tengo a bien afirmar que el estudio es idóneo y reúne los requisitos de un trabajo de graduación de la carrera de Ingeniería en Alimentos; y el señor egresado posee los méritos académicos suficientes para ser sometido a la evaluación del Jurado Examinador que sera designado por el Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Ambato, Abril del 2014

---

Ing. Gladys Navas Miño

TUTORA

## AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Trabajo de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI): “UTILIZACIÓN DE ENZIMAS AMILASAS (*Fungamyf*) EN LA FERMENTACIÓN ÁCIDO-LÁCTICA DE UNA COLADA DE MOROCHO (*Zea mays*, variedad *Morochon*) CON MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y (*Lactobacillus casei*)”, corresponde exclusivamente a Dario Israel Ojeda Sánchez y como patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

---

Dario Israel Ojeda Sánchez

AUTOR

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de Graduación de acuerdo a las disposiciones emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Abril del 2014

Para constancia firman:

---

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

---

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

---

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

## DEDICATORIA

*A Jehová mi Dios y su hijo Jesucristo, quienes me dieron la fe, la fortaleza, la salud y la esperanza para terminar este trabajo.*

*A mis padres en especial a mi mamita querida Estela y a mis hermanos Pilar, Belén y Danilo que son pilares fundamentales, ya que con su amor, confianza, esfuerzo y sacrificio incondicional me han brindado lo mejor para culminar mi carrera estudiantil.*

*Con todo mi cariño y amor*

*Dario Israel Ojeda Sánchez*

## *AGRADECIMIENTO*

*A Jehová mi Dios, Padre eterno por haberme creado y por todos los beneficios que recibido de su infinita generosidad.*

*A mi señor Jesucristo por ser la inspiración en todas mis obras, mi todo, y todavía más.*

*A mi madre por apoyarme en todo momento, por los valores que me ha inculcado, a mis hermanos por ser parte importante de mi vida, a mis abuelitos por acogerme en su casa.*

*A mi tío Jesús, a mi tía Celis por su apoyo desinteresado, son ejemplo de superación y admiración.*

*A la Universidad Técnica de Ambato, en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos ya que mediante el personal docente me permitió formarme profesionalmente, que Dios los bendiga, y les dé sabiduría, para que continúen formando profesionales.*

*A la Ing. Gladys Navas, directora de tesis, quien con su orientación y ayuda, guio esta investigación.*

*Gracias amigos por confiar y creer en mí y haber hecho de mi etapa universitaria un trayecto de vivencias que nunca olvidaré: Javy, Albita, Vale, Clausen, Rorro, Christian, Maya, Santy, Mela, JuanPa, Lucho, MaFer, JoseLu, Patty, Xime, Gemelitas, Verito, Blanquita, Diego, Cristina, Freddy, Kathy, Andrés.*

*En fin, a todas aquellas personas que de una u otra forma, y de manera desinteresada, me brindaron toda la ayuda necesaria con la finalidad de lograr el desarrollo de un buen trabajo de graduación.*

*Darío Israel Ojeda Sánchez*

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

### CAPÍTULO I

#### PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.	TEMA DE INVESTIGACIÓN .....	1
1.2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	1
1.2.1.	Contextualización .....	1
1.2.2.	Análisis crítico .....	10
1.2.2.1.	Árbol de problemas .....	11
1.2.3.	Prognosis .....	11
1.2.4.	Formulación del problema .....	12
1.2.5.	Preguntas directrices .....	12
1.2.6.	Delimitación del objeto de investigación.....	13
1.3.	JUSTIFICACIÓN.....	13
1.4.	OBJETIVOS.....	15
1.4.1.	Objetivo general.....	15
1.4.2.	Objetivos específicos .....	15

### CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1.	ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS .....	16
2.2.	FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA .....	19
2.3.	FUNDAMENTACIÓN LEGAL .....	20
2.4.	CATEGORÍAS FUNDAMENTALES .....	21
2.4.1.	Marco teórico de la variable independiente .....	22
2.4.1.1.	Alimento funcional.....	22
2.4.1.2.	Probióticos .....	22
2.4.1.2.1.	<i>Lactobacillus casei</i> .....	23
2.4.1.2.2.	Cultivo lácteo SLB 953 .....	24
2.4.1.3.	Enzimas .....	24
2.4.1.4.	Alfa-amilasas.....	25
2.4.2.	Marco Teórico de la Variable Dependiente.....	25

2.4.2.1.	Fermentación ácido láctica .....	25
2.4.2.2.	Reología.....	26
2.4.2.2.1.	Fluidos newtonianos .....	27
2.4.2.2.2.	Fluidos no newtonianos .....	28
2.4.2.2.3.	Viscosímetro rotacional Brookfield LVTD .....	32
2.4.2.3.	Ley de la potencia.....	33
2.4.2.4.	Análisis fisicoquímicos .....	38
2.4.2.5.	Análisis sensorial .....	39
2.4.2.6.	Análisis microbiológicos: Unidades Formadoras de Colonia (UFC).. .....	39
2.4.2.7.	Estimación de la vida útil microbiológica: uso de herramientas predictivas.....	40
2.5.	HIPÓTESIS .....	42
2.5.1.	Hipótesis nula (Ho) .....	42
2.5.2.	Hipótesis alternativa (Ha).....	42
2.6.	SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS .....	42

### CAPÍTULO III METODOLOGÍA

3.1.	ENFOQUE.....	43
3.2.	MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN .....	43
3.3.	NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	44
3.4.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	45
3.4.1.	Diseño experimental .....	45
3.5.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	49
3.6.	RECOLECCIÓN DE DATOS .....	51
3.7.	PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	51
3.7.1.	Diagrama de flujo para el proceso de elaboración de la bebida ..... fermentada de morocho ( <i>Zea mays</i> , variedad <i>Morocho</i> ) .....	52
3.7.2.	Proceso de elaboración.....	53

**CAPÍTULO IV  
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

<b>4.1.</b>	<b>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....</b>	<b>55</b>
<b>4.1.1.</b>	<b>Análisis pH durante el proceso de fermentación.....</b>	<b>55</b>
<b>4.1.2.</b>	<b>Análisis acidez durante el proceso de fermentación.....</b>	<b>56</b>
<b>4.1.3.</b>	<b>Análisis reológicos de la bebida .....</b>	<b>57</b>
<b>4.1.3.1.</b>	<b>Viscosidad aparente .....</b>	<b>58</b>
<b>4.1.3.2.</b>	<b>Índice de comportamiento de flujo (n) .....</b>	<b>59</b>
<b>4.1.3.3.</b>	<b>Índice de consistencia (K).....</b>	<b>60</b>
<b>4.1.4.</b>	<b>Evaluación sensorial .....</b>	<b>61</b>
<b>4.1.4.1.</b>	<b>Color.....</b>	<b>62</b>
<b>4.1.4.2.</b>	<b>Aroma.....</b>	<b>63</b>
<b>4.1.4.3.</b>	<b>Sabor.....</b>	<b>63</b>
<b>4.1.4.4.</b>	<b>Viscosidad.....</b>	<b>64</b>
<b>4.1.4.5.</b>	<b>Aceptabilidad .....</b>	<b>64</b>
<b>4.1.5.</b>	<b>Análisis de los mejores 4 tratamientos.....</b>	<b>65</b>
<b>4.1.6.</b>	<b>Análisis microbiológico.....</b>	<b>66</b>
<b>4.1.7.</b>	<b>Determinación de vida útil .....</b>	<b>66</b>
<b>4.1.8.</b>	<b>Análisis proximal .....</b>	<b>67</b>
<b>4.2.</b>	<b>VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS .....</b>	<b>68</b>

**CAPÍTULO V  
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

<b>5.1.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>69</b>
<b>5.2.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>72</b>

**CAPÍTULO VI  
PROPUESTA**

<b>6.1.</b>	<b>DATOS INFORMATIVOS .....</b>	<b>73</b>
<b>6.1.1.</b>	<b>Título .....</b>	<b>73</b>
<b>6.1.2.</b>	<b>Institución ejecutora.....</b>	<b>73</b>
<b>6.1.3.</b>	<b>Beneficiarios .....</b>	<b>73</b>
<b>6.1.4.</b>	<b>Ubicación.....</b>	<b>74</b>
<b>6.1.5.</b>	<b>Tiempo estimado de ejecución.....</b>	<b>74</b>

6.1.6.	Equipo técnico responsable .....	74
6.2.	ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA .....	74
6.3.	JUSTIFICACIÓN.....	75
6.4.	OBJETIVOS.....	77
6.4.1.	Objetivo general.....	77
6.4.2.	Objetivos específicos .....	77
6.5.	ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD.....	77
6.6.	FUNDAMENTACIÓN .....	78
6.7.	METODOLOGÍA .....	79
6.7.1.	Tecnología de la elaboración.....	79
6.8.	ADMINISTRACIÓN .....	82
6.9.	PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN .....	83

## CAPÍTULO VII MATERIALES DE REFERENCIA

BIBLIOGRAFÍA .....	84
ANEXOS .....	92

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Panorama mundial de Maíz 2013.....	3
Tabla 2: Producción de maíz en los países de la CAN para el periodo 2000-2009 (TM).....	6
Tabla 3: Área de maíz cultivada en la Sierra del Ecuador .....	7
Tabla 4: Comparación de PIB de maíz suave seco, PIB nacional, y PIB agrícola en el Ecuador en el período 2002-2009.....	8
Tabla 5: Balance alimentario y consumo de maíz en el Ecuador en el período 2002-2009 .....	10
Tabla 6: Microorganismos usados como probióticos .....	23
Tabla 7: Modelos Reológicos para viscosidad de alimentos independientes del tiempo .....	31
Tabla 8: Factores que multiplican a las lecturas del viscosímetro y dimensiones de rotores en el Viscosímetro Brookfield.....	33
Tabla 9: Reporte de los doce tratamientos y el control, producto de la combinación de los factores A, B, C. ....	47
Gráfico 1. Participación del maíz blanco en el consumo humano en los países en desarrollo.....	4
Gráfico 2. Distribución de la producción de maíz a nivel CAN para el periodo 2000-2009 (%)......	5
Gráfico 3. Rendimiento en el cultivo de maíz en la CAN para el período 2000-2008 (TM/Ha) .....	6
Gráfico 4. Zonificación del cultivo de maíz suave seco en el Ecuador en 2009 .....	9

Gráfico 5. Árbol de problemas .....	11
Gráfico 6. Categorías fundamentales .....	21
Gráfico 7. Esfuerzo cortante ( $\sigma$ ) vs velocidad de corte ( $\gamma$ ): Reogramas de fluidos Newtonianos y no Newtonianos independientes del tiempo.....	28
Gráfico 8. Esfuerzo cortante ( $\sigma$ ) vs velocidad de corte ( $\gamma$ ): Reogramas de fluidos no Newtonianos dependientes del tiempo .....	30
Gráfico 9. Viscosímetro Brookfield LVTD con accesorios para control de temperatura.....	32
Gráfico 10. Diagrama de Flujo de Bebida fermentada de morocho. ....	52
Cuadro 1. Variable Independiente: utilización de enzimas amilasas (Fungamyl) y microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus) y Lactobacillus casei. ....	49
Cuadro 2. Variable Dependiente: fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (Zea mays, variedad Morocho) tratada enzimáticamente.....	50
Cuadro 3. Modelo operativo (Plan de Acción) .....	81
Cuadro 4. Modelo operativo (Plan de Acción) .....	82
Cuadro 5. Previsión de la evaluación .....	83
<b>ANEXO A RESPUESTAS EXPERIMENTALES .....</b>	<b>93</b>
<b>ANÁLISIS pH Y ACIDEZ DURANTE LA INCUBACIÓN .....</b>	<b>94</b>
Tabla A1. Datos de pH y Acidez para el tratamiento testigo (0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i> ).....	94
Tabla A2. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub> .....	94
Tabla A3. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub> .....	95
Tabla A4. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub> .....	95
Tabla A5. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub> .....	96
Tabla A6. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub> .....	96
Tabla A7. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub> .....	97
Tabla A8. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub> .....	97
Tabla A9. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub> .....	98
Tabla A10. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub> .....	98
Tabla A11. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub> .....	99
Tabla A12. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub> .....	99
Tabla A13. Datos de pH y Acidez para el tratamiento a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub> .....	100
<b>RESPUESTAS EXPERIMENTALES PARA PROPIEDADES REOLÓGICAS ...</b>	<b>101</b>
Tabla A14. Valores de porcentaje de lectura (%FS) en el viscosímetro rotacional brookfield en los tratamientos resultantes en la fermentación ácido-láctica de la colada de morocho.....	101

Tabla A15. Valores viscosidad aparente $\mu_f$ [Pa·s] de la colada fermentada de morocho .....	102
Tabla A16. Valores de esfuerzo de cizalla $\tau$ [Pa] de la colada fermentada de morocho.....	104
Tabla A17. Valores de índice de comportamiento de flujo (n) e índice de consistencia (K) [mPa·s] de la colada fermentada de morocho según modelo ley de la potencia. ....	105
Tabla A18. Valores de índice de comportamiento de flujo (n) e índice de consistencia (K) [mPa·s] de la colada fermentada de morocho calculados según Alvarado (1996). ....	106
<b>EVALUACIÓN SENSORIAL.....</b>	<b>107</b>
Tabla A19. Resultados de pruebas sensoriales de la colada fermentada de morocho.....	107
<b>ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO .....</b>	<b>109</b>
Tabla A20. Resultados recuento total mohos y levaduras mohos y levaduras (ufc/gr) $\times 10^{-2}$ de los mejores 4 tratamientos de la colada fermentada de morocho.....	109
Tabla A21. Resultados recuento total de aerobios mesófilos (ufc/gr) $\times 10^{-3}$ de los mejores 4 tratamientos de la colada fermentada de morocho.....	109
<b>DETERMINACIÓN DE VIDA ÚTIL.....</b>	<b>110</b>
Tabla A22. Recuento de mohos y levaduras en el tratamiento T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub> para la determinación de vida útil de la colada fermentada de morocho. ....	110
Tabla A23. Recuento de mohos y levaduras en el tratamiento T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub> para la determinación de vida útil de la colada fermentada de morocho. ....	110
Tabla A24. Recuento de mohos y levaduras en el tratamiento T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub> para la determinación de vida útil de la colada fermentada de morocho. ....	111
Tabla A25. Recuento de mohos y levaduras en el tratamiento T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub> para la determinación de vida útil de la colada fermentada de morocho. ....	111
Tabla A26. Cálculo de tiempo de vida útil.....	112
<b>ANÁLISIS PROXIMAL.....</b>	<b>113</b>
Tabla A27. Análisis proximal del mejor tratamiento T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub> . ....	113
<b>ANEXO B ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>114</b>
<b>ANÁLISIS pH DURANTE LA INCUBACIÓN.....</b>	<b>115</b>
Tabla B1. Análisis de varianza para % de enzima, % de leche y tipo de microorganismos probióticos, en relación al pH durante el tiempo de incubación. ....	115
Tabla B2. Prueba de comparación de Tukey para el % de enzima. ....	115
Tabla B3. Prueba de comparación de Tukey para % de leche. ....	115

Tabla B4. Prueba de comparación de Tukey para el tipo de microorganismo ..	116
Figura B.1. Interacción entre el % de leche y % de enzima .....	116
Figura B.2. Interacción entre el tipo de microorganismo y % de enzima.....	117
Figura B.3. Interacción entre el tipo de microorganismo y % de leche.....	117
<b>RESPUESTAS EXPERIMENTALES PARA PROPIEDADES REOLÓGICAS ...</b>	<b>118</b>
Tabla B5. Análisis de varianza para % de enzima, % de leche y Tipo de microorganismos probióticos, en relación al índice de consistencia por el método ley de la potencia.....	118
Tabla B6. Prueba de comparación de Tukey para el % de enzima. ....	118
Tabla B7. Prueba de comparación de Tukey para % de leche. ....	118
Tabla B8. Prueba de comparación de Tukey para el tipo de microorganismo. .	119
Figura B.4. Interacción entre el % de leche y % de enzima .....	119
Figura B.5. Interacción entre tipo de microorganismo y % enzima. ....	120
Figura B.6. Interacción entre el tipo de microorganismo y % de leche.....	120
Tabla B9. Análisis de varianza para % de enzima, % de leche y tipo de microorganismos probióticos, en relación al índice de consistencia según Alvarado (1996).....	121
Tabla B10. Prueba de comparación de Tukey para el % de enzima. ....	121
Tabla B11. Prueba de comparación de Tukey para el % de leche. ....	121
Tabla B12. Prueba de comparación de Tukey para el tipo de microorganismo.	122
Figura B.7. Interacción entre el % de leche y % de enzima .....	122
Figura B.8. Interacción entre tipo de microorganismo y % enzima. ....	123
Figura B.9. Interacción entre el tipo de microorganismo y % de leche.....	123
<b>ANÁLISIS SENSORIAL.....</b>	<b>124</b>
Tabla B13. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación al color. ...	124
Tabla B14. Prueba de múltiple rangos para color por tratamientos. ....	124
Figura B.10. Comparación tratamientos en relación al color. ....	125
Tabla B15. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación al Aroma..	125
Tabla B16. Prueba de múltiple rangos para aroma por tratamientos. ....	126
Figura B.11. Comparación tratamientos en relación al aroma. ....	126
Tabla B17. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación al sabor. ...	127

Tabla B18. Prueba de Múltiple Rangos para Sabor por Tratamientos.....	127
Figura B.12. Comparación tratamientos en relación al sabor.....	128
Tabla B19. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a la viscosidad.....	128
Tabla B20. Prueba de múltiple rangos para viscosidad por tratamientos. ..	129
Figura B.13. Comparación tratamientos en relación a viscosidad. ....	129
Tabla B21. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a la aceptabilidad. ....	130
Tabla B22. Prueba de múltiple rangos para aceptabilidad por tratamientos.....	130
<b>ANEXO C GRÁFICOS</b> .....	<b>132</b>
Figura C.1. Promedio pH vs. Tiempo (min) durante el proceso de fermentación.....	133
Figura C.2. Promedio pH vs. Tiempo (min) durante el proceso de fermentación (Cont.).....	133
Figura C.3. Promedio acidez vs. Tiempo (min) durante el proceso de fermentación.....	134
Figura C.4. Promedio acidez vs. Tiempo (min) durante el proceso de fermentación (Cont.).....	134
Figura C.5. Relación entre el velocidad de deformación y viscosidad aparente $\mu_r$ [Pa $\times$ s].....	135
Figura C.6. Relación entre el esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación tratamientos $a_{0b_0c_0}$ , $a_{0b_0c_1}$ y $a_{0b_0c_2}$ como fluido Pseudoplástico ley de la potencia. ....	136
Figura C.7. Relación entre el esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento $a_{0b_1c_0}$ , $a_{0b_1c_1}$ y $a_{0b_1c_2}$ como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.....	136
Figura C.8. Relación entre el esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento $a_{1b_0c_0}$ , $a_{1b_0c_1}$ y $a_{1b_0c_2}$ como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.....	137
Figura C.9. Relación entre el esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento $a_{1b_1c_0}$ , $a_{1b_1c_1}$ y $a_{1b_1c_2}$ como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.....	137
Figura C.10. Relación entre los logaritmos del esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento $a_{0b_0c_0}$ , $a_{0b_0c_1}$ y $a_{0b_0c_2}$ como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.....	138
Figura C.11. Relación entre los logaritmos del esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento $a_{0b_1c_0}$ , $a_{0b_1c_1}$ y $a_{0b_1c_2}$ como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.....	138

Figura C.12. Relación entre los logaritmos del esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento $a_1b_0c_0$ , $a_1b_0c_1$ y $a_1b_0c_2$ como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.....	139
Figura C.13. Relación entre los logaritmos del esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento $a_1b_1c_0$ , $a_1b_1c_1$ y $a_1b_1c_2$ como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.....	139
Figura C.14. Relación entre el porcentaje de Full Scale y velocidad de deformación de los 12 tratamientos como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).....	140
Figura C.15. Relación entre los logaritmos de viscosidad aparente y velocidad de cizallamiento tratamientos $a_0b_0c_0$ , $a_0b_0c_1$ y $a_0b_0c_2$ como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).....	141
Figura C.16. Relación entre los logaritmos de viscosidad aparente y velocidad de cizallamiento del tratamiento $a_0b_1c_0$ , $a_0b_1c_1$ y $a_0b_1c_2$ como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).....	141
Figura C.17. Relación entre los logaritmos de viscosidad aparente y velocidad de cizallamiento del tratamiento $a_1b_0c_0$ , $a_1b_0c_1$ y $a_1b_0c_2$ como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).....	142
Figura C.18. Relación entre los logaritmos de viscosidad aparente y velocidad de cizallamiento del tratamiento $a_1b_1c_0$ , $a_1b_1c_1$ y $a_1b_1c_2$ como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).....	142
<b>ANEXO D MÉTODOS EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS .....</b>	<b>143</b>
Anexo D.1. Manual de uso del Viscosímetro Rotacional Brookfield LVTD ..	144
Anexo D.2. HOJA PARA EVALUACIÓN SENSORIAL .....	145
Anexo D.3. Norma INEN 2395-2. Leches Fermentadas. Requisitos .....	146
Anexo D.4. Guía de siembra de Levaduras y Mohos .....	154
Anexo D.5. Guía de siembra para Recuento de Aerobios .....	161
<b>ANEXO E: FOTOGRAFÍAS .....</b>	<b>167</b>

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como propósito principal comparar el efecto de la utilización de enzimas amilasas (Fungamyl) en la fermentación ácido láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morochon*) con microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgarius*, *Streptococcus thermophilus*) y (*Lactobacillus casei*).

Se estableció que un 0,05% de enzima (Fungamyl) incrementó la viscosidad aparente y el índice de consistencia, mientras que en características sensoriales (color, aroma sabor y aceptabilidad) un 0,03% de enzima permitió obtener la mayor aceptabilidad.

El tipo de microorganismos probióticos utilizados, también repercutió en las características reológicas, además de influir en la presentación y las características tanto sensoriales como microbiológicas.

El tiempo de vida útil de la bebida fermentada almacenada a temperatura de 4 °C fue de 7 días para los tratamientos a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*) y a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593). Sin embargo, para los tratamientos a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593) y a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y *Lb. Casei*) el tiempo estimado de vida útil fue de 5 días.

El trabajo realizado proporciona información sobre el bioproceso en la elaboración de esta bebida fermentada utilizando la enzima (Fungamyl) y microorganismos probióticos de importancia por sus beneficios conocidos.

## CAPÍTULO I

### PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

Utilización de enzimas amilasas (*Fungamyl*) en la fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*) con microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y *Lactobacillus casei*.

#### 1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

##### 1.2.1. Contextualización

##### 1.2.1.1. Contexto macro

El maíz, (*Zea mays L.*), es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia de las Poáceas (*Gramíneas*), tribu *Maydeas*, y es la única especie cultivada de este género. Otras especies del género *Zea*, comúnmente llamadas teosinte y las especies del género *Tripsacum* conocidas como arrocillo o maicillo son formas salvajes parientes de *Zea mays*. Son clasificadas como del Nuevo Mundo porque su centro de origen está en América.

El grano de maíz, sobre todo el blanco, es un cereal importante para el consumo humano, especialmente en África y América Latina. Es evidente que la demanda de este maíz continuará aumentando en el futuro. La Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estima que serán necesarias 60 millones de toneladas adicionales en el año 2030.

Por otro lado, dado que se espera que el nivel de vida continuará aumentando, sobre todo en muchos países asiáticos, la demanda de maíz como alimento animal también presentará una alta tasa de crecimiento. En este aspecto, la FAO estima que la demanda de maíz para alimentación animal aumentará de los 165 millones de toneladas actuales a casi 400 millones en 2030, o sea un aumento de 235 millones de toneladas (240%) (Ripusudan, 2001).

Para Septiembre 2013, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) estima que la Producción Mundial de Maíz 2013/14 será de 956,67 millones de toneladas, cerca de 0,47 toneladas menos de lo estimado el mes pasado.

En el 2012 la Producción Mundial de Maíz fue de 860,06 millones de toneladas. Los 956,67 millones de toneladas estimados para el 2013 podrían significar un incremento de 96,61 millones de toneladas o un 11,23% en la producción de maíz alrededor del mundo (AgroPanorama, 2013).

En la Tabla 1 se observa el panorama mundial con respecto a producción, importación y exportación de maíz.

**Tabla 1:** Panorama mundial de Maíz 2013

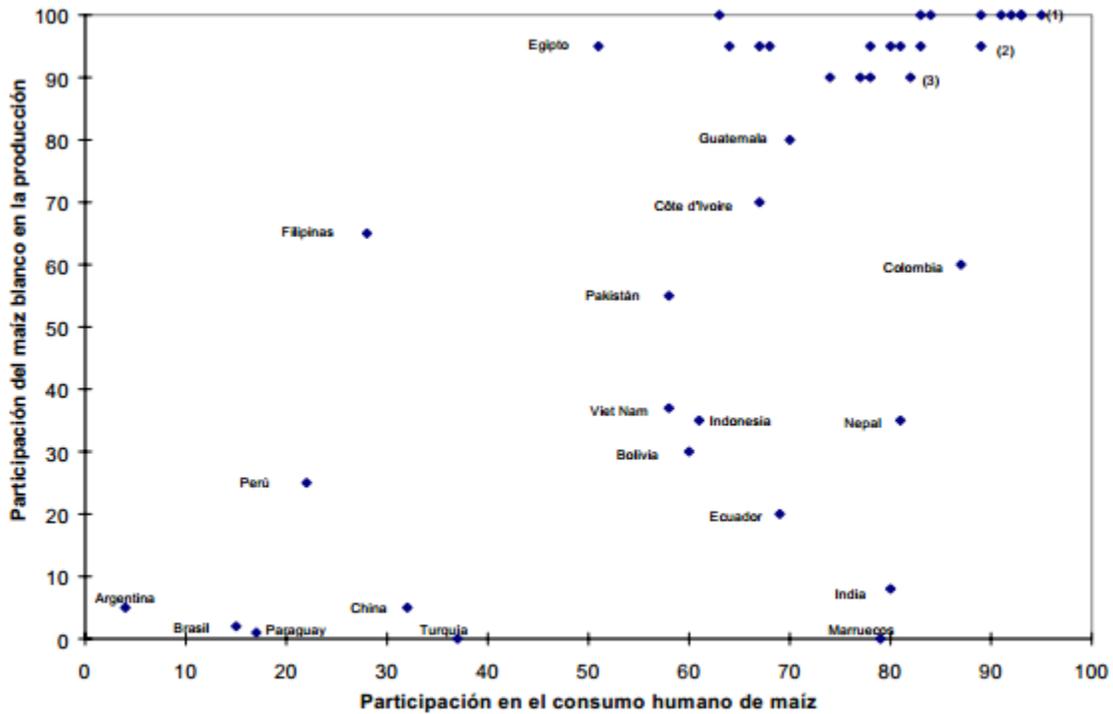
PRINCIPALES PRODUCTORES (MILES DE TM)				
EE.UU. 1	CHINA 2	BRASIL 3	U. EUROPEA 4	UCRANIA 5
355.330	211.000	70.000	65.285	29.000
PRINCIPALES IMPORTADORES (MILES DE TM)				
JAPÓN 1	MÉXICO 2	COREA DEL SUR 3	U. EUROPEA 4	CHINA 5
15.500	10.500	9.000	8.000	7.000
PRINCIPALES EXPORTADORES (MILES DE TM)				
EE.UU. 1	BRASIL 2	UCRANIA 3	ARGENTINA 4	INDIA 5
36.000	20.500	18.000	16.000	3.500

**Fuente:** Elaborado por Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios (ASERCA) con datos del último reporte del USDA, Noviembre 2013.

En el Gráfico 1 se muestra la participación del maíz blanco en el consumo humano en los países en desarrollo, siendo evidente la relación positiva entre la importancia del maíz como producto de consumo humano directo y la participación del maíz blanco en la producción total de maíz en los países en desarrollo.

Nótese que se indican los nombres de los países con valores atípicos significativos. Ninguno de ellos está situado en África al sur del Sahara o en América Central, las dos zonas de importancia fundamental en la producción de maíz blanco del mundo en desarrollo.

**Gráfico 1.** Participación del maíz blanco en el consumo humano en los países en desarrollo.



- 1) De izquierda a derecha: Uganda, Tanzania, Angola, Kenya, Somalia, Malawi, (Mozambique, Etiopía, Zambia) y Lesotho.  
 2) De izquierda a derecha: México, Benin, Zimbabwe, El Salvador, Nicaragua, Zaire, Honduras y Camerún.  
 3) De izquierda a derecha: Nigeria, Ghana, Togo y Venezuela.

**Fuente:** FAO, 1997

La mayor parte del maíz blanco se consume directamente como alimento y pequeñas cantidades se destinan a otros usos. El maíz blanco se come en diversas formas, que varían de una región a otra y en una misma región. En África generalmente se hierven o cuecen las comidas preparadas con maíz, mientras que en América se las hornea o fríe (FAO, 1997).

### 1.2.1.2. Contexto meso

El maíz ha sido uno de los primeros cultivos en los Andes centrales. Galinat, (1972), citado por Tapia (1990), determinó una antigüedad de 4000 años en muestras de marlos (qoronta) encontrados en Ayacucho, lo que sería el estado más silvestre de la raza más primitiva y progenitora del "maíz confite morocho" y de muchas razas indígenas peruanas. Manrique, (1987) citado por Tapia, (1990), hace una exhaustiva descripción de todos los restos de plantas

prehistóricas de maíz en el Perú que evidencian esa antigüedad y que permiten diferenciar las épocas del proceso agrícola.

En el Gráfico 2 se observa la distribución de la producción a nivel de la Comunidad Andina de Naciones (CAN), en primer lugar se encuentra Colombia con aproximadamente el 35,09% de la producción, seguido de Perú con el 31,08%, Bolivia tiene una participación de aproximadamente 17% y Ecuador tiene una participación de 16,42%.

**Gráfico 2.** Distribución de la producción de maíz a nivel CAN para el periodo 2000-2009 (%)



**Fuente:** Faostat.fao.org

**Elaboración:** Estadísticas Agropecuarias (ESAG, 2010 citado por INEC, 2010)

En la Tabla 2 se observa los valores de producción de maíz en los países de la CAN para el periodo 2000 al 2009 en toneladas métricas (TM).

**Tabla 2:** Producción de maíz en los países de la CAN para el periodo 2000-2009 (TM)

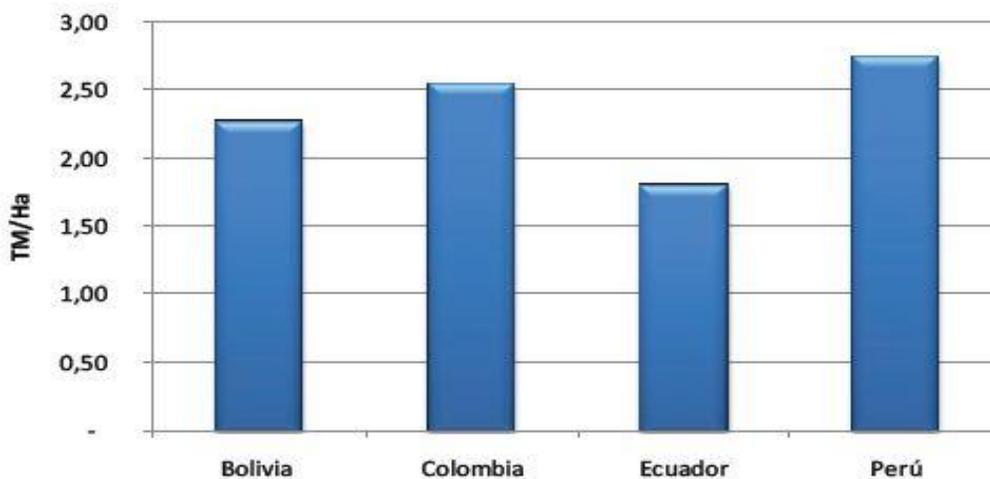
País	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Bolivia	653.271	677.829	672.772	691.643	538.091	738.352	894.436	770.365	1.001.803	813.586
Colombia	1.204.471	1.191.901	1.263.544	1.513.950	1.623.214	1.588.316	1.531.145	1.733.290	1.726.546	1.636.639
Ecuador	611.269	337.057	583.361	625.424	785.191	788.837	733.627	944.952	804.503	811.385
Perú	1.240.969	1.310.920	1.290.862	1.353.812	1.200.047	1.240.780	1.268.975	1.368.244	1.480.896	1.544.120
<b>Total CAN</b>	<b>3.709.980</b>	<b>3.517.707</b>	<b>3.810.539</b>	<b>4.184.829</b>	<b>4.146.543</b>	<b>4.356.285</b>	<b>4.428.183</b>	<b>4.816.851</b>	<b>5.013.748</b>	<b>4.805.730</b>

**Fuente:** Faostat.fao.org

**Elaboración:** (ESAG, 2010 citado por INEC, 2010)

En el Gráfico 3 se observa que en el caso de la CAN, Perú tiene el mejor rendimiento en la producción de maíz con 2,73 TM/ha. Colombia le sigue muy de cerca con 2,53 TM/ha, Bolivia por su parte produce 2,23 TM/ha, Ecuador por su parte posee el rendimiento más bajo de la región con 1,79 TM/ha anuales (INEC, 2010).

**Gráfico 3.** Rendimiento en el cultivo de maíz en la CAN para el período 2000-2008 (TM/Ha)



**Fuente:** Faostat.fao.org

**Elaboración:** (ESAG, 2010 citado por INEC, 2010)

### 1.2.1.3. Contexto micro

Ecuador anualmente produce un promedio de 717.940 TM de maíz duro seco y 43.284 TM de maíz duro suave. En el caso del primero, la producción se encuentra altamente polarizada en la costa y en el caso del segundo el producto es altamente polarizado en la sierra (INEC, 2010).

El maíz suave se cultiva en el Ecuador para el autoconsumo o para el mercado interno nacional, el mismo que se siembra en toda la Sierra del Ecuador.

De acuerdo a Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP, 2011, citado por Bravo, 2013), en las provincias de la Sierra norte (Carchi, Imbabura y Pichincha) se consumen maíces de tipo amarillo harinoso, en las provincias de la Sierra Central (Chimborazo y especialmente Bolívar) se cultivan los maíces blancos harinosos y en el Austro (Cañar y Azuay), se siembra un maíz blanco amorochado llamado Zhima.

En la Tabla 3, se presenta información del área cosechada en 2011 en la sierra ecuatoriana. En Loja, el grueso de la producción de maíz es amarillo duro destinado a la agroindustria, por lo que el valor incluido en este cuadro no es representativo de lo que pasa en la Sierra. (Bravo, 2013)

**Tabla 3:** Área de maíz cultivada en la Sierra del Ecuador

Provincia	Superficie cosechada (Ha)
Carchi	964
Imbabura	6.789
Pichincha	13.199
Cotopaxi	38.840
Tungurahua	4.682
Chimborazo	12.906
Bolívar	31.620
Cañar	3.252
Azuay	28.270
Loja	61.184
Total	201.706

Fuente: BRAVO, 2013

Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC, 2010), en el caso del maíz suave seco, la evolución del producto interno bruto (PIB) es creciente y equivalente a una tasa promedio mensual de 5,45%. La producción de maíz contribuye en el PIB agrícola con un promedio de 0,07% y en el PIB Nacional su participación es ínfima (véase Tabla 4).

**Tabla 4:** Comparación de PIB de maíz suave seco, PIB nacional, y PIB agrícola en el Ecuador en el período 2002-2009

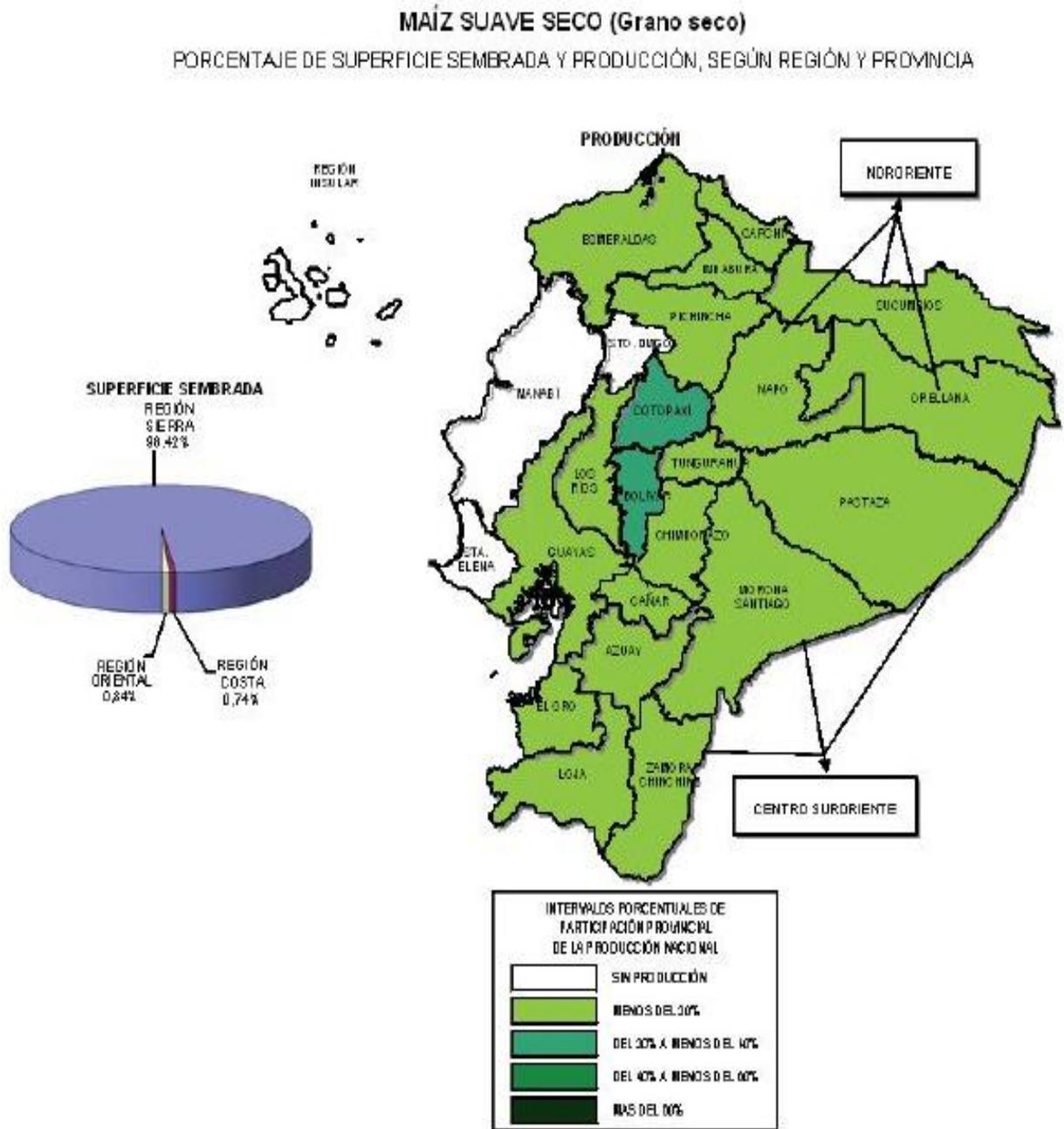
Año	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
PIB maíz suave seco (millones de USD)	1,66	2,03	2,45	1,81	2,51	1,16	1,48	2,40
PIB nacional (millones de USD)	24.899,48	28.635,91	32.642,23	37.186,94	41.763,23	45.789,37	54.685,88	58.659,98
PIB agrícola (millones de USD)	2.047,91	2.209,72	2.218,63	2.642,81	2.790,04	3.026,98	3.448,63	3.548,80
Participación en PIB nacional	0,01%	0,01%	0,01%	0,00%	0,01%	0,00%	0,00%	0,00%
Participación en el PIB agrícola	0,08%	0,09%	0,11%	0,07%	0,09%	0,04%	0,04%	0,07%

**Fuente:** Faostat.fao.org

**Elaboración:** (ESAG, 2010 citado por INEC, 2010)

De acuerdo al Gráfico 4, las provincias donde hay una mayor presencia de cultivo son: Bolívar y Cotopaxi, abarcando el 31,81% y 21,78% de la producción nacional respectivamente; la tercera provincia en importancia es Azuay con 19,37% del total nacional.

**Gráfico 4.** Zonificación del cultivo de maíz suave seco en el Ecuador en 2009



**Fuente y elaboración:** “Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)”, 2002-2009. (citado por INEC, 2010)

Como se puede ver en la Tabla 5 el consumo per cápita promedio de maíz en el Ecuador es de 82,86 116 Kg/persona/año<sup>1</sup>. El consumo por habitante ha crecido a una tasa promedio del 1,4% anual en el periodo analizado (INEC, 2010).

**Tabla 5:** Balance alimentario y consumo de maíz en el Ecuador en el período 2002-2009

Año	Producción (TM)	Exportaciones (TM)	Importaciones (TM)	Consumo aparente (TM)	Población Nacional	Consumo per cápita (kg)
2002	336.428	73.001,65	416.788,34	680.214,69	12.660.728,00	53,73
2003	625.424	64.914,77	331.520,93	892.030,16	12.842.578,00	69,46
2004	785.191	38.291,52	457.710,70	1.204.610,18	13.026.891,00	92,47
2005	788.837	32.845,78	417.866,57	1.173.857,79	13.215.089,00	88,83
2006	733.627	39.034,77	483.320,83	1.177.913,06	13.408.270,00	87,85
2007	944.952	16.714,65	553.160,45	1.481.397,80	13.605.485,00	108,88
2008	804.503	18.382,11	327.952,81	1.114.073,70	13.805.095,00	80,70
2009	811.385	26.163,10	348.681,33	1.133.903,23	14.005.449,00	80,96
Promedio	728.793	38.668,54	417.125,25	1.107.250	13.321.198	82,86

**Fuente:** Banco Central del Ecuador (BCE), Corporación de Promociones de Exportaciones e Inversiones (CORPEI), ESPAC

**Elaboración:** (ESAG, 2010 citado por INEC, 2010)

### 1.2.2. 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.

El presente trabajo de investigación pretende incentivar el aprovechamiento de la harina del grano del maíz blanco (*Zea mays* variedad *Morocho*), mediante la elaboración de una bebida fermentada de colada de morocho, utilizando la enzima amilasa (*Fungamy*) y probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y *Lactobacillus casei*, para obtener un alimento funcional con excelentes características nutricionales y que sea de agrado al consumidor.

### 1.2.2.1. Árbol de problemas

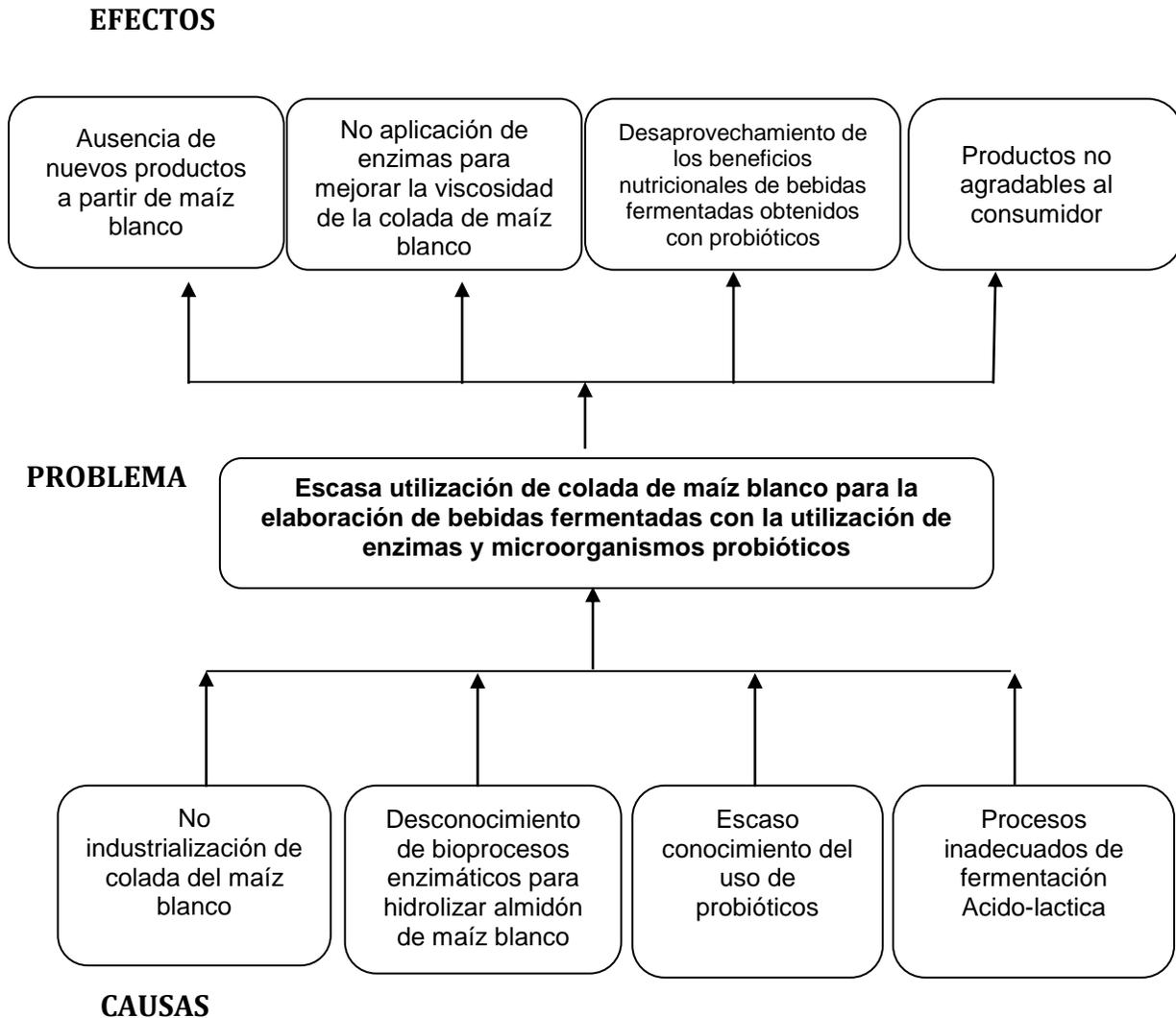


Gráfico 5. Árbol de problemas

Elaborado por: Dario I. Ojeda S., 2014

### 1.2.3. Prognosis

El no conocer las propiedades funcionales de los almidones procedentes de cereales, ha provocado un bajo consumo; el estudio permitirá aprovechar la calidad nutritiva del maíz blanco, siendo utilizado como recurso contra la

malnutrición en el país, obteniéndose información válida y confiable que servirá como soporte para posteriores investigaciones.

En el caso de no llevarse a cabo el estudio se estaría evitando la disponibilidad de un producto que satisfaga las necesidades nutricionales de los consumidores y la utilización de una materia prima disponible en nuestro entorno como es la colada de maíz blanco.

#### **1.2.4. Formulación del problema**

¿Cómo influye la utilización de enzimas amilasas (*Fungamyl*) y microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y *Lactobacillus casei* en la fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*)?

**Variable independiente:** utilización de enzimas amilasas (*Fungamyl*) y microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y *Lactobacillus casei*.

**Variable dependiente:** fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*) tratada enzimáticamente, siendo sus principales indicadores el comportamiento reológico y los atributos organolépticos de la bebida fermentada.

#### **1.2.5. Preguntas directrices**

- ¿Cuál es el efecto de la adición de enzimas amilasas en la extracción de colada de morocho?
- ¿Cómo se verán afectadas las propiedades reológicas de la bebida fermentada a base de colada de morocho?

- ¿Cómo afecta el tipo de microorganismo probiótico en el desarrollo de las características sensoriales de la bebida fermentada a base de colada de morocho?
- ¿Cuál es el tiempo de vida útil de la bebida fermentada a base de colada de morocho?

### **1.2.6. Delimitación del objeto de investigación**

**Área:** Biotecnología

**Subárea:** Alimentos funcionales

**Categoría:** Fermentación

**Subcategoría:** Fermentación ácido láctica

**Delimitación Temporal:** El trabajo de investigación se realizará desde Mayo 2013 – Febrero 2014

**Delimitación Espacial:** Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. Ambato-Tungurahua, Ecuador.

### **1.3. JUSTIFICACIÓN**

Los alimentos proporcionan al hombre la fuente de energía necesaria para vivir y para las reacciones químicas que se producen en su cuerpo, así como las sustancias químicas necesarias para el crecimiento, para la restauración de las células dañadas o gastadas y para la reproducción (Banwart, 1982).

En la actualidad existe una proporción creciente de la población mundial más preocupada que nunca antes por su estado de salud. Esto se debe probablemente a un progresivo conocimiento sobre las enfermedades

responsables de la mayor cantidad de muertes en el mundo desarrollado, y cuya prevención y tratamiento depende en gran medida de la alimentación y del estilo de vida (Wildman, 2001).

La industria alimenticia en el Ecuador tiene un mercado amplio y creciente debido al aumento de la población urbana, lo que genera la necesidad de satisfacer a estos núcleos cada vez más numerosos. Frente a esta demanda, es necesaria la aplicación de una tecnología adecuada que permita conservar a la materia prima con sus mejores características durante un tiempo prolongado (Masaquiza y Poveda, 1992).

Las bacterias del género *Lactobacillus* se distinguen por su capacidad de atravesar en gran número la barrera gástrica y sobrevivir durante el tránsito intestinal, lo que permite desarrollar sus efectos beneficiosos en el intestino. Entre dichos efectos beneficiosos de los *Lactobacillus* destaca el mantenimiento de la flora intestinal, la modulación de la renovación celular a nivel del epitelio intestinal, la contribución a la conservación del equilibrio del sistema inmunológico, y la mejoría de la diarrea infantil (Diplock et al., 1999).

Dentro del desarrollo de nuevos productos alimenticios probióticos, es de relevante importancia el aprovechamiento de subproductos de esta industria alimenticia, la investigación realizada proporcionara una nueva información sobre la tecnología para la elaboración de bebida fermentada a base de colada de morocho, los datos a obtenerse sobre las propiedades reológicas y la utilización de *Lactobacillus* influirá en mejorar las características tanto sensoriales como microbiológicas, para satisfacer las necesidades del consumidor.

## 1.4. OBJETIVOS

### 1.4.1. Objetivo general

- Comparar el efecto de la utilización de enzimas amilasas (*Fungamy*) en la fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*) con microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y *Lactobacillus casei*.

### 1.4.2. Objetivos específicos

- Establecer el porcentaje de enzima amilasa que permite obtener mejores resultados en la obtención de la bebida fermentada de colada de morocho.
- Determinar las propiedades reológicas de la bebida fermentada de colada de morocho, en función a su formulación a la temperatura de almacenamiento de  $4^{\circ}\text{C}\pm 2$ .
- Analizar la influencia de los microorganismos probióticos en la calidad de la bebida fermentada de colada de morocho con la aplicación de análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales a los mejores tratamientos.
- Determinar el tiempo de vida útil en base a UFC y análisis proximal del mejor tratamiento.
- Proponer la producción a escala industrial de una bebida fermentada a partir de morocho (*Zea mayz*, variedad *Morocho*) tratado enzimáticamente con alfa-amilasas y utilizando microorganismos probióticos.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Se pueden citar o mencionar trabajos realizados en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato acerca de estudios reológicos de alimentos que servirán de soporte para la presente investigación.

Peñaloza (1978), comparó la optimización de parámetros de la fermentación láctica para yogurt utilizando *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, en donde muestra según los resultados que mientras aumenta la acidez de la bebida desciende el pH, además reporta que la velocidad de agitación influye sobre la velocidad específica de crecimiento de los microorganismos en forma inversamente proporcional y que la fase de adaptación es menor cuando la agitación y temperatura de incubación aumentan.

Ortega (1995), mencionó que el comportamiento de los almidones durante su cocción puede estudiarse de modo aceptable con la ayuda de reómetros, pues la razón de calentamiento y de agitación en estos instrumentos es de fácil y rápido control, además, con las previsiones necesarias se puede lograr una buena sensibilidad en el método.

En los almidones estudiados por Ortega, se comprueba el comportamiento Pseudoplástico, caracterizado por la disminución de la viscosidad y el coeficiente de consistencia de la suspensión a medida que se incrementa la velocidad de rotación (incremento del esfuerzo de cizalla con el aumento de la velocidad de cizalla). Por la naturaleza del experimento, no se verificó el comportamiento tixotrópico que ya ha sido reportado para estos productos.

Además comprueba que el comportamiento reológico de una suspensión de almidón depende de la forma de las partículas que la contienen, de la forma de empaque de las partículas y de la concentración.

Ortiz y Gutiérrez (1998), en base al uso de parámetros reológicos como índices de control durante la elaboración de leche acidófila, concluyeron que la leche semidescremada con bajo nivel de caseinato de sodio y un alto porcentaje de iniciador, así como la leche descremada y entera con bajos niveles de caseinato de sodio y de iniciador, presentaron el mejor comportamiento reológico.

La leche acidófila se mantuvo mejor almacenada a 5°C por un tiempo máximo de 5 días, presentando un cambio mínimo en el índice de consistencia que tendió a subir y se mantuvo hasta los 7 días, con ausencia de microorganismos patógenos. La adición de caseinato de sodio en polvo, causa un incremento de la concentración de la proteína como también de la viscosidad y con ello de la consistencia de la leche acidófila.

Finalmente Ortiz y Gutiérrez revelan que utilizando las propiedades reológicas, como índices de control de proceso de elaboración, se puede establecer e tiempo mínimo y máximo de incubación de productos fermentados (yogurt, leche acidófila, kéfir, etc.)

Cacéres y Freire (2002), investigaron el uso de una alfa-amilasa para la disminución de la viscosidad aparente en la edulcoración de la colada escolar "CE", en donde se utilizaron varias cantidades de enzimas que mostraron

efecto sobre la viscosidad de forma proporcional a la concentración; además el incremento de viscosidad aumentó ligeramente los umbrales de detección del azúcar y del aspartame, siendo posible afirmar que la mayor viscosidad favorece el contacto entre las moléculas responsables del dulzor y los órganos receptores.

Para Paredes (2002), en su estudio "Obtención de una bebida tipo yogurt utilizando avena (*Avena sativa*) más leche entera de vaca con empleo de dos cepas liofilizadas de microorganismos", el análisis reológico de la bebida tipo yogurt muestra que es un fluido no Newtoniano, donde la curva de fluidez y la viscosidad varía en función de la gradiente de desplazamiento.

En la investigación realizada por Del Pozo y Valencia (2004), sobre la "evaluación del efecto de las diastasas de malta y jora; y de alfa amilasa (Fungamyl 2500 BG) sobre las cadenas de almidón del Maíz (*Zea mays var. Morochon*)", observaron similitud entre los resultados al analizar el comportamiento de las enzimas de malta y jora a una concentración al 0,08% y temperatura de 50°C; al utilizar Fungamyl 2500BG en una concentración al 0,05% y temperatura de 50°C, se redujo notablemente los tiempos de reacción a 150 minutos para la malta y jora a 75 minutos para Fungamyl 2500BG, así como se incrementó el porcentaje de desdoblamiento de almidones de 72% para malta y jora a 90% para Fungamyl 2500BG.

Culqui (2008), evaluó el efecto de la enzima fungamyl como una enzima alfa-amilasa obtenida de un selecto medio de *Aspergillus orizae*, notó que actúa sobre la amilopectina a partir de las cadenas exteriores pero también rompe las uniones alfa (1-4) entre los puntos de ramificación. Sin embargo la acción se detiene, unas pocas unidades antes de alcanzar un punto de ramificación; resulta así que los productos de la alfa-amilólisis de la amilopectina son glucosa, maltosa y oligosacáridos que contiene cinco o más monómeros.

Mayorga (2010), realizó un estudio de las propiedades reológicas y funcionales del maíz nativo racimo de uva (*Zea mays*), concluyendo que puede ser

considerado como un alimento funcional con propiedades nutritivas, antioxidantes y funcionales, siendo los componentes de mayor interés el almidón y el aceite.

Proaño (2012), evaluó el uso de probióticos (*Lactobacillus plantarum* & *Lactobacillus casei*) y enzimas amilasas “Fungamyl” & pectinasas “AFPL” para la fermentación ácido láctica de Camote (*Ipomoea batatas L.*); mostrándose que el uso de probióticos y enzimas influyó significativamente tanto en las propiedades físicas como en las bioquímicas y microbiológicas, mejorando características sensoriales y dando un efecto inhibitorio a microorganismos patógenos.

## **2.2. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA**

La presente investigación se basa en el paradigma positivista, que según Hernández et al., (2008), tiene como escenario de investigación de laboratorio a través de un diseño pre estructurado y esquematizado; su lógica de análisis está orientada a lo confirmatorio, reduccionista, verificación, inferencial e hipotética deductivo mediante el respectivo análisis de resultados. Teniendo como fundamento experiencias. Además la realidad es única y fragmentable en partes que se puede manipular independientemente.

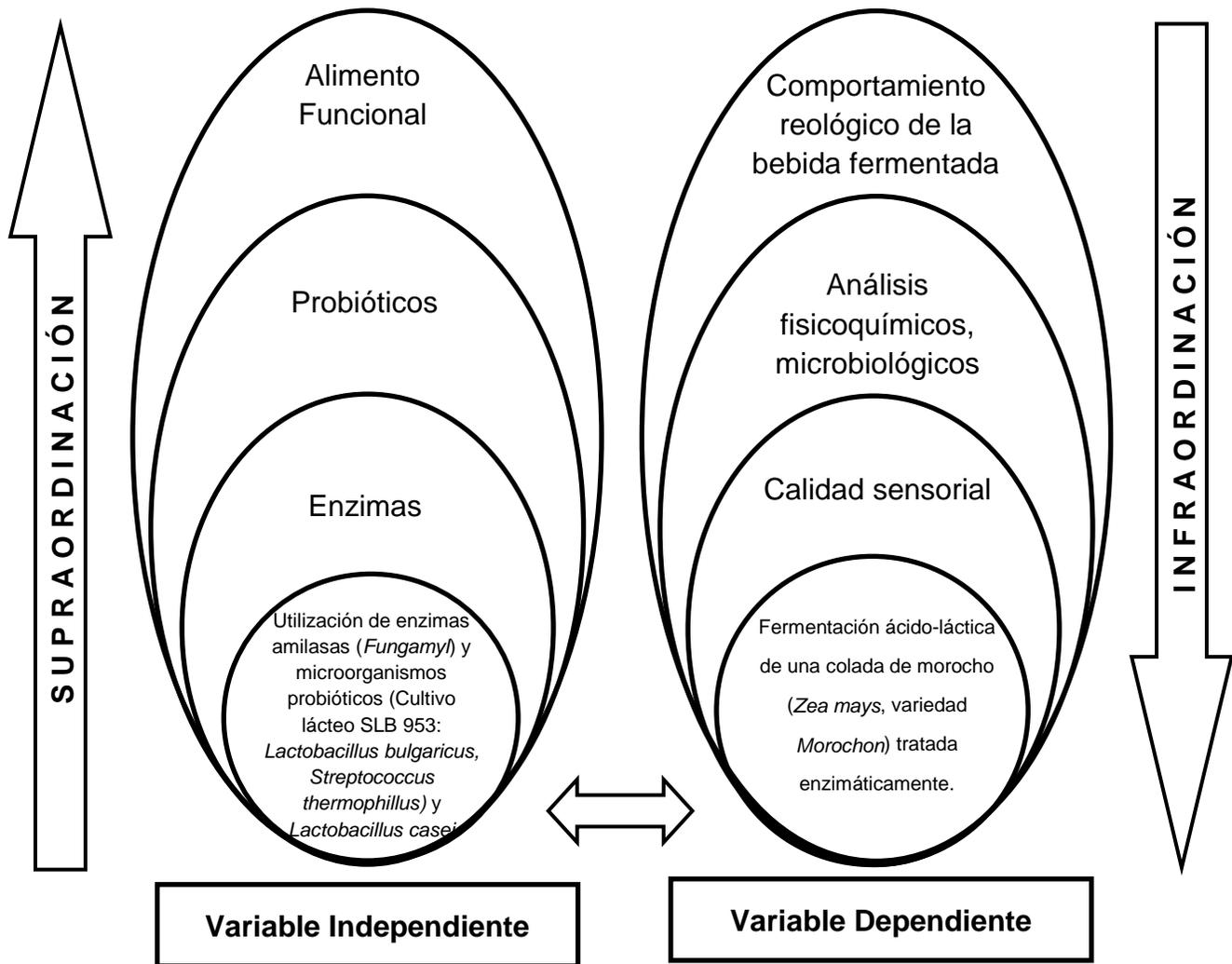
Al tratarse de una investigación experimental, donde se busca la explicación, predicción y control de fenómenos físicos y químicos; el enfoque del estudio se lo puede relacionar a una dirección positivista, donde la generalización científica se basa en leyes naturales inmutables, según lo mencionado por Herrera et al., (2008).

### **2.3. FUNDAMENTACIÓN LEGAL**

La información de las siguientes normas servirá de soporte para el desarrollo del presente proyecto de investigación:

- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2395) Leches Fermentadas.
- MERCOSUR (C/RES 1997) Reglamento Técnico de Identidad y Calidad de Leches Fermentadas.
- Norma Venezolana (COVENIN 658:1997) Leche y sus Derivados. Determinación de la Acidez Titulable.
- A.O.A.C Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 1529-11:98) Control Microbiológico de Alimentos Mohos y Levaduras Viables Detección.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2608:2012) Bebida de Leche Fermentada Requisitos.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 13) Determinación de la Acidez Titulable.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 14). Determinación de Solidos Totales y Cenizas.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 1 529-5) Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos.

## 2.4. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES



**Gráfico 6.** Categorías fundamentales

Elaborado por: Dario I. Ojeda S., 2014.

## **2.4.1. Marco teórico de la variable independiente**

### **2.4.1.1. Alimento funcional**

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano, para elevar su calidad de vida. Esta tendencia se ha enfocado a desarrollar nuevos productos bajo el concepto de alimentos funcionales, definidos como “productos que contienen un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo y que proporcionan un mejor estado de salud y bienestar, con un efecto añadido por encima de su valor nutrimental”. Entre los alimentos funcionales se encuentran los probióticos, que son cultivos vivos de microorganismos añadidos a los alimentos que ejercen efectos fisiológicos benéficos en concentraciones óptimas (Siuta, 2001).

### **2.4.1.2. Probióticos**

Entre los alimentos funcionales se encuentran los probióticos, que son microorganismos vivos añadidos a un alimento que ejercen un efecto beneficioso sobre la salud humana. Los efectos más destacables se pueden resumir en: a) la mejora de la respuesta inmunitaria; b) el mantenimiento de la microbiota del colon, reduciendo la cantidad de diversas enzimas procarcinógenas en las heces; c) el tratamiento de la diarrea del viajero y la secundaria a la terapia antibiótica; d) el control de los rotavirus y de la colitis inducida por *Clostridium difficile*; y e) la prevención de las úlceras relacionadas con *Helicobacter pylori*. Otros aspectos más controvertidos incluyen la reducción de la absorción del colesterol, la prevención de las caries, y la prevención y el tratamiento de las infecciones del tracto urinario (Alvarez y Oberhelman, 2001).

Entre los microorganismos comúnmente empleados como probióticos se encuentran las bacterias ácido-lácticas, que agrupan una gran cantidad de géneros que incluyen un considerable número de especies.

Las cepas utilizadas generalmente pertenecen a especies de los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Bacillus* como se observa en la Tabla 6 (Vaughan et al., 2002).

**Tabla 6:** Microorganismos usados como probióticos

Lactobacillus spp.	Bifidobacterium spp. Lactococcus spp.	Streptococcus spp.	Enterococcus spp.	Bacillus spp.	Otras especies
L. acidophilus	B. bifidum L. lactis	S. thermophilus	E. faecium	B. subtilis	Saccharomyces
L. lactis	B. longum L. cremoris	S. lactis	E. faecalis	B. coagulans	cerevisiae
L. bulgaricus	B. infantis L. diacetylactis				Saccharomyces
L. rhamnosus GG	B. breve				boulardii
L. casei	B. lactis				Leuconostoc spp.
L. kefir	B. adolescentis				
L. brevis					
L. reuteri					
L. helveticus					
L. plantarum					
L. johnsonii					
L. salivarius					

Fuente: Vaughan et al., 2002

#### 2.4.1.2.1. *Lactobacillus casei*

Probiotic (2009), indica que *Lactobacillus casei* es una bacteria beneficiosa que se encuentra naturalmente en la boca y los intestinos de los seres humanos; produce ácido láctico que ayuda a reducir los niveles de pH en el sistema digestivo e impide el crecimiento de bacterias dañinas. *Lactobacillus casei* se pueden encontrar en "productos lácteos crudos o fermentados y en vegetales frescos o fermentados".

Esta cepa destaca por ser la única cepa probiótico de origen latinoamericano comercializada a nivel internacional. De acuerdo con algunos informes: Los científicos han encontrado *Lactobacillus casei* que poseen propiedades beneficiosas que apoyan la salud humana. Es capaz de mejorar y promover la

digestión. Algunas cepas ayudan a controlar la diarrea, mientras que otras cepas tienen un efecto antiinflamatorio en el intestino.

Otros efectos beneficiosos incluyen la reducción de intolerancia a la lactosa, aliviar el estreñimiento, e incluso la modulación del sistema inmune. Las bacterias son vitales para el desarrollo adecuado del sistema inmunológico, a la protección contra los microorganismos que pueden causar la enfermedad, la digestión y la absorción de los alimentos y nutrientes "asegurar que el cuerpo tiene una cantidad adecuada de *Lactobacillus casei* que habita el cuerpo es importante. Esto puede especialmente cierto para los individuos que sufren de la enfermedad de Crohn y niños críticamente enfermos que sufren de diarrea.

#### **2.4.1.2.2. Cultivo lácteo SLB 953**

Spreer (1991), indica los microorganismos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* como especies bacterianas termófilas. Con respecto a las temperaturas óptimas de crecimiento, éstas oscilan entre 37 a 42°C para *S. thermophilus* y 42 -45°C para *L. bulgaricus*. Además, vale la pena destacar que en la simbiosis existente entre estos dos microorganismos, el *S. thermophilus* es quien inicia la fermentación láctica y la que desarrolla muy intensamente hasta un pH de 5.5. La acidez, el consumo de oxígeno y la liberación de sustancias volátiles, por ejemplo ácido fórmico, que produce y crea las condiciones ideales para que se desarrolle el *L. bulgaricus*.

#### **2.4.1.3. Enzimas**

Las enzimas son catalizadores muy potentes y eficaces, químicamente son proteínas. Como catalizadores, los enzimas actúan en pequeña cantidad y se recuperan indefinidamente, no llevan a cabo reacciones que sean energéticamente desfavorables, no modifican el sentido de los equilibrios químicos, sino que aceleran su consecución.

Las enzimas son grandes proteínas que aceleran las reacciones químicas. En su estructura globular, se entrelazan y se pliegan una o más cadenas polipeptídicas, que aportan un pequeño grupo de aminoácidos para formar el sitio activo, o lugar donde se adhiere el sustrato, y donde se realiza la reacción.

Una enzima y un sustrato no llegan a adherirse si sus formas no encajan con exactitud (Benavides y Pozo, 2008).

#### **2.4.1.4. Alfa-amilasas**

Según García et al., (2008), las alfa-amilasas son hidrolasas que tienen la función de degradar complejos de carbohidratos, son una familia de enzimas que rompen el almidón (polisacárido), primero en cadenas cortas y luego en glucosa libre, su origen es fúngico (*Aspergillus oryzae*), bacteriano (*B. stearothermophilus*, *B. subtilis*), de cereales y del páncreas.

### **2.4.2. Marco Teórico de la Variable Dependiente**

#### **2.4.2.1. Fermentación ácido láctica**

El ácido láctico se obtiene por síntesis química o por vía fermentativa. En la actualidad se prefiere la vía fermentativa, debido a la necesidad de obtener puro. La principal desventaja de la producción por la vía fermentativa es el alto costo que ocasionan su aislamiento y purificación, por esta razón las investigaciones se han enfocado en la disminución del costo de producción e incrementar la pureza.

Los factores limitantes en la producción por la vía fermentativa son principalmente, la baja concentración de bacterias lácticas en el sistema y la inhibición del crecimiento por el producto. Las bacterias lácticas están conformadas por un amplio grupo de bacterias no esporuladas, Gram positivas y que metabolizan un amplio rango de azúcares para producir principalmente ácido láctico (Mora y García, 2007).

El ácido láctico es de amplio uso en la industria; debido a sus características benéficas, se utiliza en la industria alimentaria (en bebidas y como conservante), en farmacia, medicina, textilera, en la industria del cuero y para la producción de plásticos biodegradable. El Food Chemical Codex en el año 1996 especificó el uso del ácido láctico en alimentos con una pureza del 88% (Lopera et al., 2009).

#### **2.4.2.2. Reología**

Una definición más moderna expresa que la Reología es la ciencia de la deformación de la materia, se ocupa preferentemente de la deformación de los cuerpos aparentemente continuos y coherentes, pero con frecuencia trata también de la fricción entre sólidos, del flujo de polvos, e incluso de la reducción a partículas o molturaciones (Muller, 1973)

Alvarado (1996) indica que la reología es la ciencia de la deformación y flujo de materia, el comportamiento reológico de un fluido es caracterizado por la relación entre el esfuerzo de cizalla requerido para inducir una determinada velocidad de deformación de cizalla.

La reología es una parte de la mecánica de medios continuos. Una de las metas más importantes en reología es encontrar ecuaciones constitutivas para modelar el comportamiento de los materiales. Dichas ecuaciones son en general de carácter tensorial (Ramirez, 2006).

Las necesidades de conocer la reología en la industria de los alimentos son múltiples. Entre otras se pueden citar:

- Diseño de tuberías y selección de bombas
- Diseño y análisis de equipos de extrusión
- Selección y operación de equipos de mezclado
- Diseño y operación de cambiadores de calor
- Procesos en los que se realizan recubrimientos
- Selección de envases

#### 2.4.2.2.1. Fluidos newtonianos

Charm (1981) indicó que la consistencia de un fluido es la propiedad que gobierna sus características de flujo, aquellos fluidos que mantiene la consistencia constante de manera independiente de la velocidad son conocidos como Newtonianos.

Para un fluido newtoniano ideal, el esfuerzo cortante es una función lineal de la velocidad de corte, y la constante de proporcionalidad para la relación  $\eta$  se conoce como viscosidad dinámica, en el caso de los fluidos Newtonianos se puede plantear la siguiente ecuación:

$$\tau = \eta (\dot{\gamma}) \quad (1)$$

Donde:  $\tau$ : esfuerzo de cizallamiento o cortante [Pa]

$\eta$ : viscosidad dinámica [Paxs]

$\dot{\gamma}$ : velocidad de deformación o de corte [1/s]

El cociente entre esfuerzo cortante y velocidad de corte es proporcional, es decir que a medida que el esfuerzo de corte aumenta la velocidad de corte también aumenta, la pendiente es totalmente una línea recta y su índice de comportamiento es igual a la unidad ( $n=1$ ).

Muchos materiales alimenticios como leche, jugo de manzana, jugo de naranja, vino y cerveza tienen un comportamiento Newtoniano. En el caso de los fluidos newtonianos, la viscosidad se determina aplicando una sola velocidad de corte y midiendo el esfuerzo cortante correspondiente. Pero para ser preciso, siempre se debe estimar a varias velocidades de corte. La unidad de viscosidad es  $\text{N}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ , que es Paxs, mientras que en el sistema C.G.S., es  $\text{din}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ , que también se conoce como Poise.

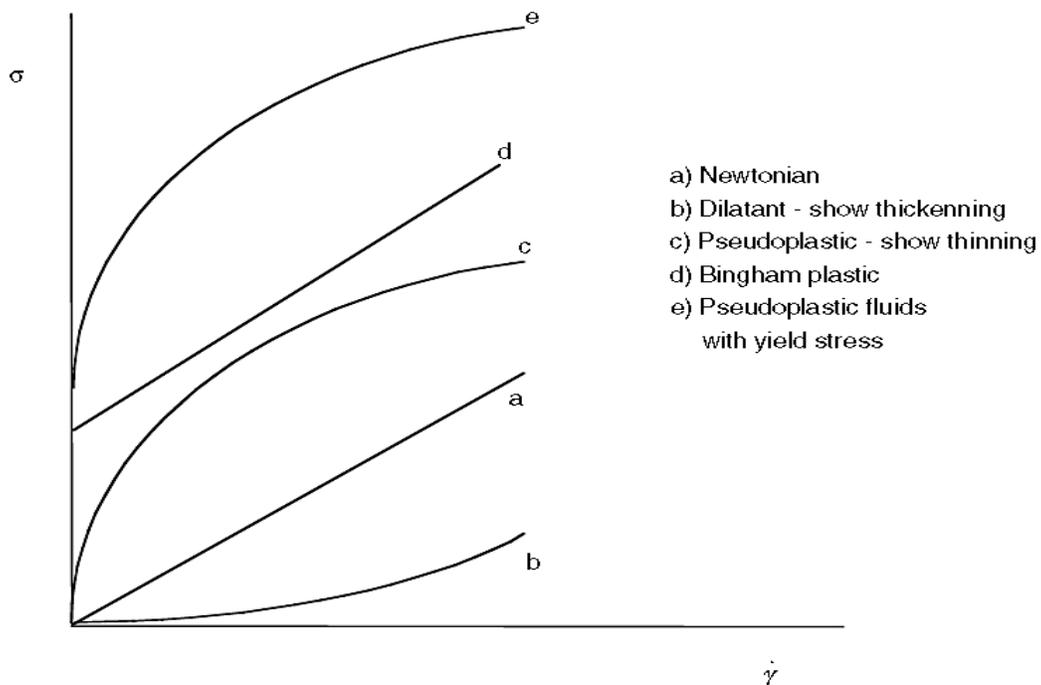
$$1\text{Poise} = 100 \text{ centiPoises (cP)}, 1 \text{ cP} = 10^{-3} \text{ Paxs o } 1 \text{ mPaxs}$$

Desde el punto de vista reológico los zumos concentrados, clarificados y despectinizados presentan un comportamiento Newtoniano. Sin embargo los derivados de frutas pertenecientes a los otros grupos no cumplen con la ley de Newton de la viscosidad, por lo que se dice que se comportan como fluido no newtonianos (Saravacos, 1970).

El comportamiento de estos últimos, puede describirse mediante modelos de o Reogramas de flujo para fluidos tanto independientes como dependientes del tiempo (Crandall et al., 1982).

#### 2.4.2.2.2. Fluidos no newtonianos

Para la mayoría de productos alimenticios como crema, azúcar, jarabe, miel, geles y aderezos, el cociente entre esfuerzo cortante ( $\sigma$ ) y velocidad de corte ( $\dot{\gamma}$ ) no es lineal y estos fluidos se conocen como no Newtonianos. En el Gráfico 7 se presenta los comportamientos típicos para este tipo de fluidos:



**Gráfico 7.** Esfuerzo cortante ( $\sigma$ ) vs velocidad de corte ( $\dot{\gamma}$ ): Reogramas de fluidos Newtonianos y no Newtonianos independientes del tiempo

**Fuente:** Ibarz, Barbosa y Cánovas. 2003

Algunos de estos materiales presentan un esfuerzo inicial que debe alcanzarse antes de que comience el flujo lineal, éstos se conocen como fluidos de Bingham de tipo plástico, los ejemplos incluyen salsa cátsup, pasta de tomate, etcétera.

El comportamiento de estos últimos, puede describirse mediante la ley de la potencia (Saravacos, 1970; Holdsworth, 1971; Crandall y Nelson; 1975; Rao, 1986), o mediante el modelo de Herschel–Bulkley, en el caso que presenten una tensión de fluencia diferente de cero (citado por Crandall et al., 1982).

#### **a) Fluido Dilatante o espesante al corte**

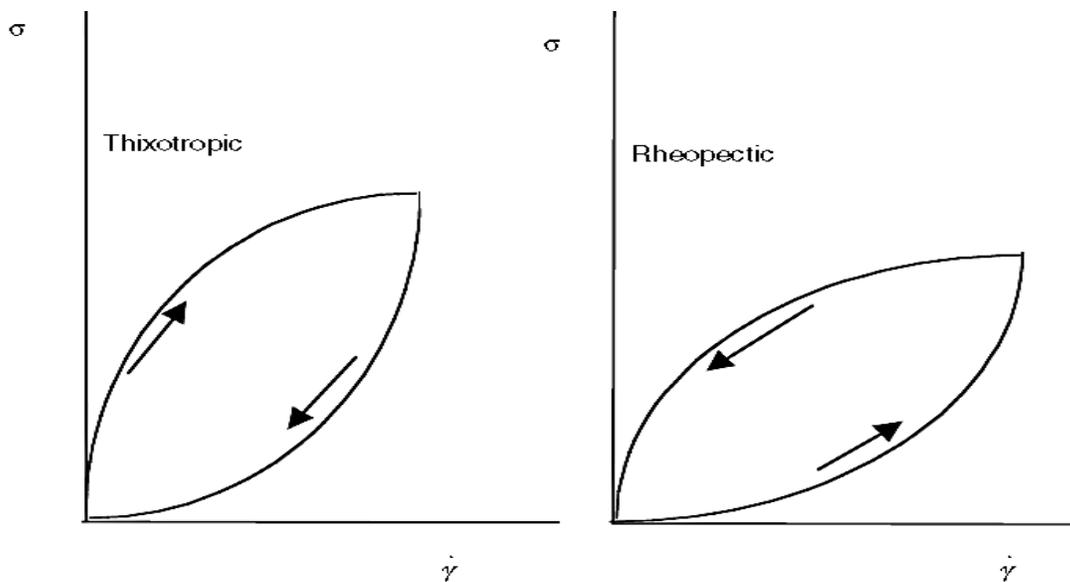
En este comportamiento se observa el incremento del esfuerzo cortante con el incremento de la velocidad de corte, la curva de comportamiento de flujo presenta un perfil cóncavo en el que la tangente o pendiente incrementa al incrementar la velocidad de corte. Esto significa que la viscosidad incrementa conforme se incrementa la velocidad de corte. Este comportamiento es típico en suspensiones de alta concentración. Si se somete un alimento a altas velocidades de deformación, su valor de viscosidad aparente aumentará también y cuando se deje de aplicar la fuerza este retomará su estado de viscosidad inicial, su índice de comportamiento es mayor a la unidad ( $n > 1$ ).

#### **b) Fluido Pseudoplástico o adelgazamiento al corte**

El comportamiento de este flujo denota que a medida que se incrementa el esfuerzo de cizallamiento va disminuyendo la velocidad de corte. La curva del comportamiento de flujo presenta un perfil convexo el cual tiene una tangente o pendiente que va decreciendo con el incremento de la velocidad de corte. Esto se debe a la viscosidad que a medida que la velocidad de corte aumenta esta va disminuyendo, el fenómeno puede ser explicado por una deformación en su estructura molecular, la misma que cuando se deja de aplicar la fuerza de cizallamiento puede volver a retomar su estado de viscosidad inicial. Su índice de comportamiento es menor a la unidad ( $n < 1$ ).

### c) Fluido plástico de Bingham y mixto (HB)

Este comportamiento se denota cuando un alimento no fluye a bajas velocidades de corte, esto significa que requieren de una fuerza inicial para fluir que es conocido como  $\tau_0$ , es por ello que en la figura no inician desde el origen de del plano. Estos fluidos son conocidos como fluidos plásticos, en este tipo de comportamiento no hay reversibilidad es decir que no volverá a su estado inicial de viscosidad. Su índice de comportamiento es mayor a la unidad ( $n > 1$ ).



**Gráfico 8.** Esfuerzo cortante ( $\sigma$ ) vs velocidad de corte ( $\dot{\gamma}$ ): Reogramas de fluidos no Newtonianos dependientes del tiempo

**Fuente:** Ibarz, Barbosa y Cánovas. 2003

### d) Fluidos Tixotrópicos y Reopéptidos

Estos comportamientos son mostrados cuando los fluidos son dependientes del tiempo esto quiere decir que sus propiedades físico – químicas cambian en función del tiempo, también puede verse alterada su estructura por lo que su viscosidad es inestable y varía constantemente.

En la Tabla 7 se muestran los diferentes modelos reológicos para el cálculo de viscosidad de alimentos.

**Tabla 7:** Modelos Reológicos para viscosidad de alimentos independientes del tiempo

Denom ination	Equation	Notes
Newton's Law	$\sigma = \eta \dot{\gamma}$	1 Parameter
Bingham's Model	$\sigma = \eta_p \dot{\gamma} + c$	2 Parameters
Ostwald-de-Waele Nutting's Model or Power Law	$\sigma = \eta (\dot{\gamma})^n$	2 Parameters
Herschel-Bulkley Modified Power Law	$\sigma = \eta (\dot{\gamma})^n + c$	3 Parameters
Casson's Model	$\sigma^{0.5} = k_1 + k_2 (\dot{\gamma})^{0.5}$	3 Parameters
Modified Casson's Equation	$\sigma^{0.5} = k_1' + k_2' (\dot{\gamma})^m$	3 Parameters
Elson's Equation	$\sigma = \mu \dot{\gamma} + B \operatorname{sen} k^{-1} + \sigma_0$	3 Parameters
Vocadlo's Model	$\tau = (\tau_0^{1/n} + k \dot{\gamma})^n$	3 Parameters
Shangraw's Model	$\sigma = a \dot{\gamma} + b(1 - \exp(-c \dot{\gamma}))$	2 Parameters
Generalized Model	$\dot{\gamma} = \frac{1}{\eta_0} \left[ \frac{1 + \left( \frac{\tau_{rz}}{\tau_m} \right)^{\alpha-1}}{1 + \left( \frac{\tau_{rz}}{\tau_m} \right)^{\alpha-1} \frac{\eta_\infty}{\eta_0}} \right]$	4 Parameters
Sutterby's Model	$\tau_{rz} = -\mu_0 \left[ \frac{\operatorname{arcsen} \beta \dot{\gamma}}{\beta \dot{\gamma}} \right]^\alpha \dot{\gamma}$	3 Parameters
Springs Truncated Power Law	$\tau_{rz} = -\mu_0 \left[ \frac{\dot{\gamma}}{\dot{\gamma}_0} \right]^{n-1} \dot{\gamma}$	3 Parameters
Williamson's Model	$\tau = A \frac{\dot{\gamma}}{B + \dot{\gamma}} + \mu_\infty \dot{\gamma}$	3 Parameters
Sisko's Model	$\tau = A \dot{\gamma} + B \dot{\gamma}^n$	3 Parameters

$\sigma$ : esfuerzo de cizallamiento [Pa]     $\gamma$ : velocidad de corte o deformación [1/s]  
 $\eta$ : viscosidad aparente [Paxs]     $n$ : índice de comportamiento     $k, b, c$ : constantes

Fuente: Ibarz, Barbosa y Cánovas. 2003

### 2.4.2.2.3. Viscosímetro rotacional Brookfield LVTD

Este tipo de viscosímetros tienen un rotor adaptado de forma vertical que al ser introducido en un líquido este mide el torque necesario para vencer la resistencia al flujo que presenta la muestra, producto de esto se visualizará valores de porcentaje de Full Scale (%FS); con ello es posible determinar la viscosidad aparente a diferentes velocidades (velocidad de corte) (Sahin y Gulum, 2006)



**Gráfico 9.** Viscosímetro Brookfield LVTD con accesorios para control de temperatura.

Se pueden utilizar diferentes rotores dependiendo la viscosidad de la muestra, pero cada uno de ellos presenta sus características específicas suministradas por el fabricante como: el factor de corrección de la lectura del viscosímetro y las dimensiones de cada rotor como se muestra en la Tabla 8:

**Tabla 8:** Factores que multiplican a las lecturas del viscosímetro y dimensiones de rotores en el Viscosímetro Brookfield

Velocidad [RPM]	Rotor LV1	Rotor LV2	Rotor LV3	Rotor LV4
0,3	200	1000	4000	20000
0,6	100	500	2000	10000
1,5	40	200	800	4000
3	20	100	400	2000
6	10	50	200	1000
12	5	25	100	500
30	2	10	40	200
60	1	5	20	100
<b>Longitud [cm]</b>	7,493	6,121	4,846	3,396
<b>Radio [cm]</b>	0,9421	0,5128	0,2941	0,1588
<b>F calibración [Dynexcm]</b>	673,7			

**Fuente:** Adaptado de Manual de Brookfield, 1987.

### 2.4.2.3. Ley de la potencia

El comportamiento Pseudoplástico y dilatante de los alimentos puede describirse mediante la ley de la potencia o el modelo propuesto por Ostwald de Waele que se presenta a continuación:

$$\tau = K (\dot{\gamma})^n \quad (2)$$

**Donde:** ( $\tau$ ) es esfuerzo de cizallamiento o de corte [Pa], ( $K$ ) es el índice de consistencia o viscosidad aparente [Pa\*s], ( $\dot{\gamma}$ ) es la velocidad de corte o deformación y ( $n$ ) es el índice de comportamiento.

Los valores del esfuerzo de cizallamiento ( $\tau$ ) a las diferentes velocidades de rotación, se calculan con la Ecuación 3.

$$\tau = \frac{\Omega}{2\pi R^2 L} \quad (3)$$

**Donde:** ( $\Omega$ ) es el torque necesario para vencer la resistencia al flujo, ( $R$ ) es el radio de rotor LV, ( $L$ ) es la longitud efectiva del rotor LV.

El torque ( $\Omega$ ) necesario para vencer la resistencia al flujo puede ser calculado con la Ecuación 4.

$$\Omega = k_v^* \left( \frac{\%FS}{100} \right) \quad (4)$$

**Donde:** ( $k_v^*$ ) es la constante del viscosímetro ( $673,7 \times 10^{-7}$  [Nxm]) y (**%FS**) es el porcentaje de Full Scale o lectura que da el viscosímetro.

Según Steffe (1992), una aproximación de la velocidad de cizallamiento ( $\gamma$ ) se obtiene con la Ecuación 5.

$$\gamma = \frac{4\pi N}{60} \quad (5)$$

**Donde:** (**N**) es la velocidad de deformación o de corte en [rpm] o [revoluciones por minuto].

Para poder obtener los parámetros de viscosidad aparente ( $K$ ) e índice de comportamiento ( $n$ ) se linealiza aplicando logaritmos la ecuación 2 y obtiene la Ecuación 6.

$$\log(\tau) = \log(K) + n \times \log(\gamma) \quad (6)$$

**Donde:** ( $n$ ) va ser igual a la pendiente de la regresión lineal y ( $k$ ) va ser igual al antilogaritmo del intercepto con el eje de las ordenadas.

Rao (1986) citado por en Alvarado, (1996 p. 218), indicó que un elevado número de los fluidos alimenticios no-newtonianos presentan un comportamiento Pseudoplástico; entre ellos: jugos concentrados de frutas, chocolate fundido, mostaza, crema de leche, huevo entero descongelado, clara de huevo, soluciones de goma a concentraciones altas, concentraciones proteicos, considerándose dentro de estos a los hidrocoloides. Steffe (1992) citado por en Alvarado, (1996 p. 218), reportó los datos del índice de

consistencia y de índice de comportamiento al flujo, que lo caracterizan como fluidos pseudoplásticos.

Zuritz (1995) citado por en Alvarado, (1996 p. 219), explicó un método para determinar a los parámetros reológicos de productos Pseudoplásticos, cuando se trabaja con viscosímetros rotacionales de cilindro simple, considerando los datos de la viscosidad aparente.

Alvarado, (1996 p. 219) describe el método a continuación:

Para fluidos newtonianos la ecuación básica es:

$$\tau = -\mu(\gamma) \quad (7)$$

Donde  $\tau$  es el esfuerzo de cizalla,  $\gamma$  es la velocidad de deformación en cizalla y  $\mu$  es la viscosidad. El esfuerzo de cizalla a una distancia radial  $r$  es definido por la Ecuación 7,1.

$$\tau = \frac{\Omega}{2\pi L^2} \quad (7,1)$$

Y la velocidad de deformación de cizalla está definida por la Ecuación 7,2.

$$\gamma = r \left( \frac{dV}{dr} \right) \quad (7,2)$$

$\Omega$  es el torque,  $L$  la longitud del cilindro y  $V$  es la velocidad angular, por reemplazo se obtiene la Ecuación 7,3.

$$\left( \frac{dV}{dr} \right) = - \left( \frac{\Omega}{2\pi L\mu} \right) r^{-3} \quad (7,3)$$

La integración realizada de la Ecuación 7,3 nos da la Ecuación 7,4.

$$\int_0^{V_w} dV = - \left( \frac{\Omega}{2\pi L \mu} \right) \int_{\infty}^{R_w} r^{-3} (dr) \quad (7,4)$$

Y conduce a la Ecuación 7,5.

$$V_w = \left( \frac{\Omega}{2\pi L \mu} \right) \left[ \left( \frac{1}{R_w^2} \right) - \left( \frac{1}{\infty} \right) \right] \quad (7,5)$$

Como  $(1/\infty)=0$ , la Ecuación 7,5 se simplifica a la Ecuación 7,6.

$$V_w = \left( \frac{\Omega}{2\mu} \right) \left( \frac{\Omega}{2\pi L R_w^2} \right) \quad (7,6)$$

Que puede ser ordenada y por reemplazo de  $\tau$  definido por la Ecuación 7,1 se obtiene la Ecuación 7,7.

$$\mu(2V_w) = \left( \frac{\Omega}{2\pi L R_w^2} \right) = \tau_w \quad (7,7)$$

Al comparar Ecuación 7,7 con la Ecuación 7, en la pared del cilindro ( $R_w$ ), la velocidad de cizalla corresponde a Ecuación 7,8.

$$\gamma_w = 2V_w \quad (7,8)$$

Un procedimiento análogo hecho en la siguiente forma, para el caso de un fluido no-newtoniano, en forma específica Pseudoplástico, se muestra a continuación:

$$\tau = -K(\gamma)^n \quad (7,9)$$

$$\left( \frac{dV}{dR} \right) = - \left( \frac{\Omega}{2\pi L K} \right)^{\frac{1}{n}} r^{-\left(\frac{2}{n}+1\right)} \quad (7,10)$$

$$\int_0^{V_w} dV = - \left( \frac{\Omega}{2\pi L K} \right)^{\frac{1}{n}} \int_{\infty}^{R_w} r^{-\left(\frac{2}{n}+1\right)} dr \quad (7,11)$$

$$V_w = \left( \frac{\Omega}{2\pi LK} \right)^{\frac{1}{n}} \left( \frac{n}{2} \right) \left( \frac{1}{R_w^n} \right) \quad (7,12)$$

$$V_w = \left( \frac{n}{2} \right) \left( \frac{1}{K} \right)^{\frac{1}{n}} \left( \frac{\Omega}{2\pi LR_w^2} \right)^{\frac{1}{n}} \quad (7,13)$$

$$K \left( \frac{2V_w}{n} \right)^n = \left( \frac{\Omega}{2\pi LR_w^2} \right) = \tau_w \quad (7,14)$$

$$\gamma_{ws} = \frac{2V_w}{n} \quad (7,15)$$

La comparación de las Ecuaciones 7,8 y 7,15 indica que en un mismo instrumento, la velocidad de deformación será diferente en un fluido Pseudoplástico con relación a un fluido Newtoniano, por la inclusión del factor n.

Para un valor de esfuerzo de cizalla determinado, al igualar las Ecuaciones 7 y 7,9 se obtiene:

$$\mu(\gamma_{1n}) = K(\gamma_{1s})^n \quad (7,16)$$

Si  $(\gamma_{1n}) = (\gamma_{1s})$ , en términos de la velocidad angular  $V = 2\pi N$ , para el caso de cilindro simple y considerando las Ecuaciones 7,8 y 7,15, se obtiene la Ecuación 7,17.

$$4\pi N_n = \frac{4\pi N_s}{n} \quad (7,17)$$

La Ecuación 7,16 puede ser escrita como la Ecuación 7,18.

$$\mu_F(4\pi N_s) = k \left( \frac{4\pi N_s}{n} \right)^n = K(4\pi N_n)^n \quad (7,18)$$

En consecuencia se obtiene la Ecuación 7,19.

$$\mu_F = k(4\pi N_n)^{n-1} \quad (7,19)$$

Finalmente utilizando logaritmos se obtiene la Ecuación 7,20.

$$\log \mu_F = (n - 1) \log(4\pi N) + \log K \quad (7,20)$$

Donde:

n= índice de comportamiento al flujo (adimensional)

N= velocidad de rotación (revoluciones por minuto (rpm))

K= índice de consistencia (Pa·s<sup>n</sup>)

Un gráfico de  $\log(4\pi N/60)$  contra  $\log(\mu_F)$ , conduce a calcular n de la pendiente y del punto de corte en ordenadas K (Alvarado, 1996).

Es importante describir de manera adecuada el flujo de los fluidos por lo que se indica información acerca del esfuerzo de fluencia, siendo útil en trabajos de ingeniería para mejorar el cálculo de los factores de fricción en tuberías, García y Steffe (1987), citados por Alvarado (1996 p.231).

#### **2.4.2.4. Análisis fisicoquímicos**

El análisis de las propiedades fisicoquímicas de los alimentos es uno de los aspectos principales en el aseguramiento de su calidad. Este análisis cumple un papel muy importante en la determinación del valor nutricional de los alimentos, en el control del cumplimiento de los parámetros exigidos por los organismos de salud y también para el estudio de las posibles irregularidades como adulteraciones, falsificaciones, etc. tanto en alimentos terminados como en sus materias primas.

Es necesario realizar un análisis de alimentos para asegurar que sean aptos para el consumo humano y para asegurar que cumplen con las características y composición que se espera de ellos.

El análisis físico-químico implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista fisicoquímico, haciéndose énfasis en la determinación de su composición química, es decir determinar que sustancias están presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, carbohidratos, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, etc.) y en qué cantidades se encuentran (Zumbado, 2005).

#### **2.4.2.5. Análisis sensorial**

El análisis sensorial es el conjunto de técnicas y métodos que permite medir, a través de los órganos de sentido, cuanto se percibe de cualquier producto o servicio. Dichas así las cosas, el término análisis sensorial parecería casi sinónimo de cata y degustación. En realidad aun presentando muchas semejanzas, existen sustanciales diferencias (Ratti, 2000).

#### **2.4.2.6. Análisis microbiológicos: Unidades Formadoras de Colonia (UFC)**

Se denomina unidad formadora de colonia (UFC) a una célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas produce una colonia en un breve lapso de tiempo. (Pisabarro, 2003)

Además las Unidades Formadoras de Colonias es un valor que indica el grado de contaminación microbiológica de un ambiente o muestra. UFC es el número mínimo de células separables sobre la superficie, o dentro, de un medio de agar semi-sólido que da lugar al desarrollo de una colonia visible del orden de decenas de millones de células descendientes (Trevlean, 2010).

#### **2.4.2.7. Estimación de la vida útil microbiológica: uso de herramientas predictivas.**

Según Alvarado et al. (2005), la determinación o el cálculo del tiempo de vida útil de alimentos, es decir el tiempo que el producto mantiene una buena condición para su comercialización y consumo, es un campo de gran importancia para la Ingeniería de Alimentos. Los datos son muy útiles para productores, comercializadores e industrias procesadoras; además en los últimos años las regulaciones legales que exigen se incluya en las etiquetas datos informativos para el consumidor, entre los cuales está la fecha de caducidad del producto.

Según Sancho (2002), todo producto alimenticio se deteriora con el tiempo hasta un punto en el que su calidad llega a un límite que no lo hace apto para consumo, ya sea porque sufre algún tipo de contaminación microbiológica o química, o porque pierde ciertas características buscadas o exigidas por el consumidor, ya sean éstas sensoriales o físicas.

Labuza (1982) citado por Alvarado (1996 p. 86), resumió los tipos de deterioro que siguen una cinética de primer orden, entre ellos se encuentra la rancidez, observada en aceites o vegetales secos; el crecimiento microbiano en carne fresca y pescado; las pérdidas de vitamina C.

Labuza (1982) citado por Alvarado (1996 p.74), indicó que el concepto de reacción puede ser extendido a la pérdida de calidad para muchos alimentos representándose con la Ecuación 8.

$$\left(\frac{dC}{dt}\right) = kC^n \tag{8}$$

Siendo C el factor de calidad medio, t el tiempo, k es una constante que depende en especial de la temperatura y de la actividad de agua, y n es un factor potencial llamado orden de la reacción. En el primer miembro de la

Ecuación 8, el signo menos se utiliza si el deterioro es una pérdida de C, y el signo más cuando se refiere a la producción de un producto final indeseable.

Si se admite que  $n=0$ , llamado esquema de reacción de cero orden, la razón de deterioro será constante, cuando la temperatura y la actividad del agua son constantes, Ecuación 8,1.

$$\left(\frac{dC}{dt}\right) = k \quad (8,1)$$

Integrando, si  $C_0$  es el estado inicial a  $t=0$  y C el estado al tiempo t se obtiene la Ecuación 8,2.

$$\int_{C_0}^C dC = k \int_0^t dt \quad (8,2)$$

Remplazando los límites se establece la Ecuación 8,3.

$$C = C_0 + kt \quad (8,3)$$

En muchos de los casos, el valor n es diferente de cero; puede ser un valor entero o fraccionado entre 0 y 2. En el caso de ser 1, corresponde a una ecuación de primer orden. Aplicando de esta manera la Ecuación 8,4 (Alvarado, 1996).

$$\ln C = \ln C_0 + kt \quad (8,4)$$

**Donde:**

C = parámetro escogido como límite de tiempo de vida útil

$C_0$  = concentración inicial

t = tiempo de reacción

k = constante de velocidad de reacción.

## 2.5. HIPÓTESIS

### 2.5.1. Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)

El uso de enzimas amilasas (Fungamyl) y microorganismos probióticos en la colada de morocho, no influyen en la fermentación ácido láctica, en el comportamiento reológico y en los atributos organolépticos de la bebida fermentada.

### 2.5.2. Hipótesis alternativa (H<sub>a</sub>)

El uso de enzimas amilasas (Fungamyl) y microorganismos probióticos en la colada de morocho, influyen significativamente en la fermentación ácido láctica, en el comportamiento reológico y en los atributos organolépticos de la bebida fermentada.

## 2.6. SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

**Variable independiente:** utilización de enzimas amilasas (*Fungamyl*) y microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y *Lactobacillus casei*.

**Variable dependiente:** fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*) tratada enzimáticamente, siendo sus principales indicadores el comportamiento reológico y los atributos organolépticos de la bebida fermentada.

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

#### **3.1. ENFOQUE**

El enfoque que se manejó en esta investigación es tanto cuantitativo como cualitativo debido a que se lo realizó mediante revisiones bibliográficas y experimentales; se efectuó una medición controlada de los datos a obtenerse, por medio de un análisis físico-químico, microbiológico, y evaluación sensorial del producto terminado.

Los datos obtenidos en el presente trabajo van a ser analizados estadísticamente mediante el programa Excel 2010 y Statgraphics Centurion XVI.

#### **3.2. MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN**

En el presente trabajo de investigación se utilizó dos modalidades de investigación mencionados por Herrera et al., (2008):

**a) Investigación de campo.-** Se llevó a cabo el estudio sistemático de los hechos en el lugar en que se produjo la investigación. En esta modalidad se toma contacto en forma directa con la realidad (fuentes primarias), donde se obtuvo información de acuerdo con los objetivos del proyecto.

Para la investigación de campo se utilizó las siguientes técnicas:

- **Observación científica:** Se observó con un objetivo, claro, definido preciso, en donde se sabrá lo que se desea observar y para que se quiere hacerlo, lo cual implica que se debe preparar cuidadosamente el análisis.
- **Encuesta:** Esta técnica permitió obtener datos de varias personas, lo cual será información importante para esta investigación.

**b) Investigación documental-bibliográfica.-** El trabajo de investigación se apoyó de análisis teóricos contextuales y fuentes de investigación en donde se extraerá información de libros, revistas, tesis, artículos, proyectos, internet entre otros.

**c) Modalidad experimental.-** La experimentación conlleva realizar la parte experimental por lo que se realizó una evaluación de las características que atribuye a la calidad de la bebida fermentada, de cada uno de los tratamientos establecidos, para analizar las causas y efectos de las variables de estudio que relacionaron la variable dependiente e independiente, en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

### **3.3. NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Según Herrera et al., (2008), es de suma importancia tomar en cuenta el nivel de investigación, pues cada uno de ellos tiene características específicas y objetivas que se articulan con los objetivos tomados en cuenta para la investigación. La investigación se fundamenta en la utilización de los siguientes tipos de investigación:

**a) Explorativa.-** Se basó en la elaboración del producto con los factores y variables indicadas para ello se realizó un análisis sensorial, que permitió elegir los mejores tratamientos, los mismos que fueron sometido a análisis microbiológicos para observar el tiempo de vida útil, por lo que sus resultados constituyen un aporte valioso al campo de la investigación de alimentos.

**b) Correlacional.-** El cual se refiere al grado de relación (no causal) que existe entre dos o más variables. Se utilizó este nivel para realizar este tipo de investigación porque se midió la asociatividad de las variables mediante pruebas de hipótesis y se aplicó técnicas estadísticas, que determinaron la utilización de enzimas amilasas (*Fungamyl*) en la fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*) con microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y (*Lactobacillus casei*).

### **3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA**

Según Saltos (1993), del mismo modo que para el éxito de una empresa se requiere aplicar una buena estrategia de financiamiento y mercadeo, la ejecución de una investigación científica o tecnología eficiente necesitara de un adecuado diseño experimental.

#### **3.4.1. Diseño experimental**

El propósito del proyecto de investigación fue estudiar el efecto de la incorporación de amilasas (*Fungamyl*) en la fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*) con microorganismos probióticos, en su comportamiento reológico.

Se consideró como variable el uso de amilasas, leche y microorganismos probióticos en distintos porcentajes usados sobre la colada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*). Cada tratamiento se lo realizó por duplicado de acuerdo con las proporciones iniciales señaladas.

Según Saltos (2010), se aplicó un diseño experimental completamente aleatorio con arreglo factorial,  $a \times b \times c$  ( $2 \times 2 \times 3$ ) con dos replicas, determinándose un número de doce tratamientos más un control o testigo, este diseño

experimental, permitirá evaluar efectos combinados o interacciones entre los factores.

### Modelo Matemático

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + R_l + \epsilon_{ijkl} \quad (9)$$

#### Dónde:

$\mu$  = efecto global

$A_i$  = efecto del i-ésimo nivel del factor A

$B_j$  = efecto del j-ésimo nivel del factor B

$C_k$  = efecto del k-ésimo nivel del factor C

$(AB)_{ij}$  = efecto de la interacción entre los factores A y B

$(AC)_{ik}$  = efecto de la interacción entre los factores A y C

$(BC)_{jk}$  = efecto de la interacción entre los factores B y C

$(ABC)_{ijk}$  = efecto de la interacción entre los factores A, B y C

$R_l$  = efecto de la replicación del experimento

$\epsilon_{ijkl}$  = residuo o error experimental

A continuación se detalla los factores y niveles que se tomaron en cuenta para el diseño experimental:

**Factores****A:** Porcentaje de enzima**B:** Porcentaje de leche en polvo**C:** Tipo de microorganismos probióticos**Niveles**a<sub>0</sub>:0,03%a<sub>1</sub>:0,05%b<sub>0</sub>:3%b<sub>1</sub>:7%c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-  
*Lb. casei*

La Tabla 9 detalla en la Tabla detalla los factores y niveles que se tomaron en cuenta para el diseño experimental.

**Tabla 9:** Reporte de los doce tratamientos y el control, producto de la combinación de los factores A, B, C.

#	Tratamientos	Descripción Factores
1	a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	0,03% de enzima, 3% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953
2	a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	0,03% de enzima, 3% de leche en polvo, <i>Lb. casei</i>
3	a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	0,03% de enzima, 3% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i>
4	a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	0,03% de enzima, 7% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953
5	a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	0,03% de enzima, 7% leche en polvo, <i>Lb. casei</i>
6	a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	0,03% de enzima, 7% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i>
7	a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	0,05% de enzima, 3% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953
8	a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	0,05% de enzima, 3% de leche en polvo, <i>Lb. casei</i>
9	a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	0,05% de enzima, 3% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i>
10	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	0,05% de enzima, 7% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953
11	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	0,05% de enzima, 7% de leche en polvo, <i>Lb. casei</i>
12	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	0,05% de enzima, 7% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i>
13	Testigo	0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i>

Elaborado por: Dario I. Ojeda S., 2014

Las respuestas experimentales físico-químicas que se analizó en la bebida fermentada de colada de morocho son:

- Análisis pH y acidez durante el proceso de fermentación
- %FE
- Viscosidad aparente
- Parámetros reológicos
  - índice de comportamiento de flujo.
  - Índice de consistencia.
- Análisis sensorial
- Análisis microbiológico
  - Mohos y levaduras.
  - Recuento aerobios mesófilos.
- Vida útil
- Análisis proximal
  - Cenizas
  - Proteína
  - Solidos totales
  - Grasa
  - Carbohidratos totales
  - Energía

### 3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

**Cuadro 1. Variable Independiente:** utilización de enzimas amilasas (Fungamyl) y microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) y *Lactobacillus casei*.

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Ítems	Técnicas e Instrumentos
<p>Utilización de enzimas y bacterias probióticas en diferentes tratamientos:</p> <p>Las enzimas son biocatalizadores de naturaleza proteica</p> <p>Los probióticos son bacterias que ayudan a reforzar el sistema inmunológico, sobreviven a una digestión llegando vivas al colón y ayudando a restituir la flora intestinal</p>	<p>Enzima Fungamyl</p> <p>Cultivos microbianos iniciadores</p>	<p>Porcentaje</p> <p>Viabilidad</p> <p>Características organolépticas</p>	<p>¿Cómo actúa las enzimas?</p> <p>¿Por qué es importante la utilización de probióticos?</p> <p>¿Cómo influyen los probióticos en las características organolépticas?</p>	<p>Revisión bibliográfica</p> <p>Análisis sensorial</p> <p>Artículos técnicos</p> <p>Hojas técnicas</p>

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Cuadro 2. Variable Dependiente:** fermentación ácido-láctica de una colada de morocho (Zea mays, variedad Morochon) tratada enzimáticamente.

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Ítems	Técnicas e Instrumentos
<p>Fermentación ácido-láctica de colada de morocho.</p> <p><b>La fermentación láctica</b> es un proceso celular anaeróbico donde se utiliza glucosa para obtener energía y donde el producto de desecho es el ácido láctico</p>	Bebida fermentada	pH Acidez	¿La concentración de ácido láctico afecta la acidez y pH del producto?	Norma INEN 162.
	Análisis de las Propiedades Reológicas	Índice de consistencia	¿Influirá el índice de consistencia en la bebida fermentada?	Hoja Guía de Laboratorio de Ingeniería de Procesos. Reología de fluidos no Newtonianos
		Índice de comportamiento	¿Influirá el índice de comportamiento en la bebida fermentada?	Viscosímetro rotacional Brookfield LVTD
	Calidad sensorial	Color Aroma Olor Sabor Viscosidad Aceptabilidad	¿Hay diferencia en la calidad sensorial entre los tratamientos?	Panel de catación Hojas de catación Encuestas
	Tiempo de vida útil	Análisis microbiológicos	¿El recuento microbiano del producto se encuentra dentro de los límites permisibles?	Norma INEN 1 529-5 Norma INEN 1 529-11:98
Análisis proximal	Cenizas Humedad Proteína Grasa Carbohidratos	¿El producto presenta un contenido proximal acorde a las normas?	Análisis Proximales AOAC	

Elaborado por: Dario I. Ojeda S., 2014

### 3.6. RECOLECCIÓN DE DATOS

La recolección de los datos se realizó mediante Tablas, se procedió a tabular la información en un paquete informático Excel del total de los tratamientos y posteriormente los cálculos correspondientes, se observó simplificada mediante figuras. Para la recolección de datos se consideró dos aspectos, los resultados experimentales con el fin de establecer estándares y los datos de la aceptabilidad del producto para lo cual se procedió a aplicar escalas hedónicas.

Todas las actividades planteadas para la recolección de información fueron ejecutadas por el investigador, que involucraron las siguientes técnicas:

**Observación:** Las observaciones para la investigación planteada se realizaron en el lugar de los hechos y durante la fase experimental, donde se obtuvieron datos para la solución del problema.

**Experimentación en laboratorio:** Análisis de los resultados estadísticos, destacando relaciones fundamentales de acuerdo con los objetivos e hipótesis para lo cual se utilizó el paquete informático Statgraphics.

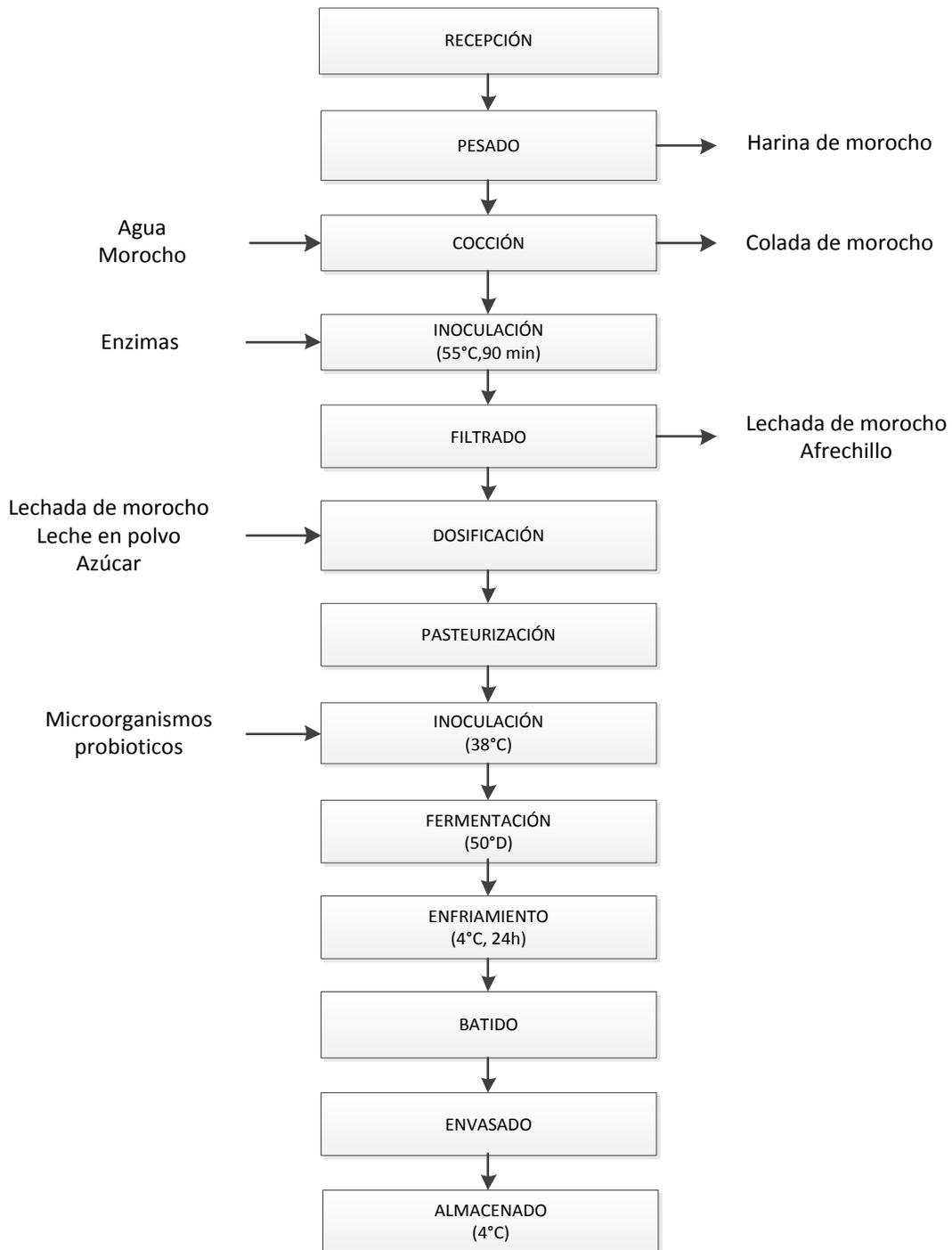
### 3.7. PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Para el procesamiento de la información primero se realizó una revisión crítica de la información recolectada con el fin de eliminar la información defectuosa e incorrecta.

Una vez obtenida la información se procedió a realizar la tabulación de los datos y el análisis estadístico de la información.

Se utilizaron para el procesamiento de la información programas computarizados tales como: Microsoft Office Word 2010, Microsoft Excel 2010 y Statgraphics Centurion XVI.

### 3.7.1. Diagrama de flujo para el proceso de elaboración de la bebida fermentada de morocho (*Zea mays*, variedad *Morocho*)



**Gráfico 10.** Diagrama de Flujo de Bebida fermentada de morocho.

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

### 3.7.2. Proceso de elaboración.

El proceso de elaboración de la bebida fermentada a partir de morocho blanco (*Zea mays*, variedad *Morocho*) se lo obtuvo mediante la fase experimental de este proyecto de investigación.

- a) **Recepción:** Se realizó una inspección previa para asegurar que todos los ingredientes se encuentren en buenas condiciones y libres de materias extrañas principalmente en la harina de morocho.
  
- b) **Pesado:** Se pesó todos los ingredientes según una formulación base.
  
- c) **Cocción:** La harina de morocho se diluyó en agua y fue sometida a cocción por un tiempo de 1 hora.
  
- d) **Inoculación:** La colada obtenida se incubó en la estufa ubicada en el laboratorio de Biotecnología a temperatura de  $55^{\circ}\text{C}\pm 2$  durante 90 minutos, con las enzimas amilasas utilizando la concentración adecuada.
  
- e) **Filtrado:** La colada se filtró con un lienzo limpio y desinfectado, obteniéndose una lechada y residuos o afrechillo de morocho.
  
- f) **Dosificación:** A la lechada de morocho, se añadió: leche en polvo y azúcar.
  
- g) **Pasteurización:** Se pasteurizó a temperatura de  $75^{\circ}\text{C}\pm 2$  por 15 minutos, se enfrió a temperatura de  $38^{\circ}\text{C}\pm 2$ .
  
- h) **Inoculación:** Al producto obtenido se inoculó los microorganismos probióticos a temperatura de  $38^{\circ}\text{C}\pm 2$  para el proceso de fermentación.

- i) **Fermentación:** A los microorganismos probióticos inoculados a temperatura de  $38^{\circ}\text{C}\pm 2$  se llevó un control de acidez hasta alcanzar  $50^{\circ}\text{D}$ .
  
- j) **Enfriamiento:** A la bebida fermentada se procedió a enfriar a temperatura de  $4^{\circ}\text{C}\pm 2$  por 24 horas.
  
- k) **Batido:** Después de las 24 horas de enfriamiento se batió a fin de romper el coágulo en un recipiente de acero inoxidable con ayuda de un agitador manual.
  
- l) **Envasado:** Se envasó en recipientes de polietileno de baja densidad limpios y desinfectados.
  
- m) **Almacenamiento:** A esta bebida fermentada se la conservó a una temperatura máxima de refrigeración de  $4^{\circ}\text{C}\pm 2$ .

## **CAPÍTULO IV**

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

#### **4.1. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Los análisis de los distintos tratamientos se realizaron en los Laboratorios de: Tecnología de Cereales, Biotecnología de procesos, Ingeniería de Procesos de Alimentos, Microbiología de Alimentos y Control y Análisis de los Alimentos (LACONAL) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato, los resultados se presentan en los Anexos A, B y C.

##### **4.1.1. Análisis pH durante el proceso de fermentación**

Se realizó mediciones de pH cada 30 minutos durante el proceso de fermentación para cada tratamiento. Los datos se reportan en las Tablas A1 hasta la Tabla A13 (Anexo A). Este parámetro permite controlar el proceso de fermentación debido a que los microorganismos sólo pueden crecer en un rango estrecho de pH.

Puede advertirse que en todos los casos el pH se relaciona de forma inversamente proporcional al tiempo de fermentación, es decir que decrece a medida que el proceso fermentativo avanza. El pH en los tratamientos descendió aproximadamente de 6,67 hasta 4,37 aproximadamente, mostrándose así que las bacterias influyeron en el descenso del pH debido al proceso de fermentación.

Las Figuras C.1 y C.2 (Anexo C), muestran la tendencia decreciente del pH durante el proceso de fermentación, la variación fue comparada con un tratamiento testigo como control (0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*) cuyo pH se mantuvo constante durante el proceso de fermentación.

En la, Tabla B1 (Anexo B), se reporta el análisis de varianza de las medidas de pH, a un intervalo del 95% de nivel de confianza, se demuestra que existen diferencias significativas entre porcentaje de leche en polvo (Factor B) y el tipo de microorganismo (Factor C), que influyen significativamente sobre la respuesta experimental; al igual que el efecto combinado de los mismos.

La prueba de comparación de Tukey al 95% de significancia muestra que existen diferencias entre el porcentaje de leche (Tabla B3 y Figura B2; Anexo B), se estableció que para el Factor B, el nivel  $b_1$  (7% de leche en polvo) presentó mayor diferencia. En cambio para el Factor C (Tabla B4, Figura B.3; Anexo B), los tres niveles presentaron diferencias, se estableció que al utilizar los tipos de microorganismo  $c_0$  (Cultivo SLB 953),  $c_1$  (*Lb. Casei*) y  $c_2$  (CultivoSBL 953+*Lb. Casei*) se obtendrá diferencia entre los valores de pH.

#### **4.1.2. Análisis acidez durante el proceso de fermentación**

La producción de ácido láctico fue de suma importancia en la elaboración de la bebida fermentada, la cantidad de ácido láctico producido va a depender de la conversión de los azúcares disponibles y del tipo de microorganismo.

Los datos determinados para la acidez se reportan en las Tablas A1 hasta la Tabla A13 (Anexo A), los resultados de Acidez Titulable durante la fermentación se reportan en grados Dornic (°D).

Al contrario de lo que sucedió con el pH, la acidez en los diferentes tratamientos se va incrementando a medida que transcurre el tiempo de fermentación, demostrando que hubo la producción de ácido láctico en los

tratamientos excepto en el tratamiento testigo (0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*); se tuvo valores iniciales de acidez en un rango de 10°D a 15°D.

La acidez se tomó como parámetro fijo de proceso, haciendo que todos los tratamientos lleguen a un rango entre 48°D a 53°D., este parámetro fue basado en el análisis del proceso fermentación, los microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953 y *Lb. Casei*) desarrollan acidez mediante la producción de ácido láctico generado a partir de lactosa y este a su vez del porcentaje de leche que lleva la formulación, por lo que el tiempo de fermentación no es igual para todos los tratamientos.

En el Anexo C, se muestran las Figuras C.3 y C.4 que evidencia la tendencia creciente de la acidez, a medida que transcurre el tiempo.

#### **4.1.3. Análisis reológicos de la bebida**

Los valores de los diferentes tratamientos obtenidos con el viscosímetro rotacional Brookfield LVTD de porcentaje de escala total (%FS) con el rotor LV3 (Anexo A, Tabla A14), a 4°C±2, fueron utilizados para calcular las propiedades reológicas de la bebida fermentada.

Se puede notar claramente que todos los tratamientos se comportan como fluidos no newtonianos; la curva del comportamiento de flujo presenta un perfil convexo el cual tiene una tangente o pendiente que va decreciendo con el incremento de la velocidad de corte, determinándose que es un Fluido Pseudoplástico, por ello se presenta a continuación la determinación de propiedades reológicas a través del modelo propuesto por Ostwald de Waele o más conocido ampliamente como la Ley de la Potencia y las ecuaciones propuestas por Alvarado (1996).

#### 4.1.3.1. Viscosidad aparente

Según Espitia (2009), las  $\alpha$ -amilasas son enzimas licuantes, debido a su rápida acción para disminuir la viscosidad de las soluciones de almidón; reduce la viscosidad, pues rompe los enlaces alfa 1-4 al azar y forma cadenas de glucosa de distintos tamaños.

Los valores obtenidos en la Tabla A15 (Anexo A) sobre viscosidad aparente; se observó que decrece cuando aumenta la gradiente de velocidad de deformación, comprobando así su comportamiento no-Newtoniano.

Se observó que los resultados de viscosidad aparente más significativos son los tratamientos  $a_1b_1c_2$  (0,05% de enzima, 7% de leche en polvo y cultivo lácteo SLB 953-*Lb casei*) con 0,71 Paxes y  $a_1b_1c_0$  (0,05% de enzima, 7% de leche en polvo y cultivo lácteo SLB 953) con 0,53 Paxes que presentan valores altos, no así los tratamientos: Testigo (0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953- *Lb. Casei*) con 0,14 Paxes;  $a_0b_0c_0$  (0,03% de enzima, 3% de leche en polvo y cultivo lácteo SLB 953) con 0,21 Paxes y  $a_0b_0c_1$  (0,03% de enzima, 3% de leche en polvo y cultivo *Lb casei*) con 0,21 Paxes.

La viscosidad aparente (Tabla A.15, Anexo A y Figura C.5 del Anexo) decrece cuando aumenta el gradiente de velocidad de deformación, esto permite confirmar el que el comportamiento de la bebida fermentada fue no-Newtoniano tipo Pseudoplástico; este comportamiento indica una reorganización continua de la estructura molecular, dando como resultado una menor resistencia al flujo, debido a la presencia de sustancia de alto peso molecular como el almidón de maíz y la leche en polvo.

Se observó que al utilizar el porcentaje más alto de enzima y de leche, la viscosidad aparente tiende a incrementarse.

#### 4.1.3.2. Índice de comportamiento de flujo (n)

Los valores del índice de comportamiento de flujo son menores de uno como se puede observar en la Tabla A17 (Anexo A) y en sus gráficos demostrativos en el Anexo C (desde la Figura C.10 hasta C.13), obtenidos mediante la Ley de la Potencia; y en la Tabla A24 (Anexo A) y en sus gráficos demostrativos en el Anexo C (desde la Figura C.15 hasta C.18), obtenidos mediante las ecuaciones propuestas por Alvarado (1996); estos valores confirman la Pseudoplasticidad de esta bebida fermentada.

Los valores que se obtuvo de índice de comportamiento al flujo (n) que incrementan la Pseudoplasticidad de la bebida fermentada son los tratamientos: a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub> (0,05% enzima, 7% leche en polvo y Cultivo lácteo SLB 593) con 0,28; a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> (0,05% enzima, 7% leche en polvo y *Lb casei*) con 0,34; y a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> (0,05% enzima, 7% leche en polvo y Cultivo lácteo SLB 593-*Lb casei*) con 0,35.

Los valores que se obtuvieron de índice de comportamiento al flujo (n) que disminuyen la Pseudoplasticidad de la bebida fermentada son los tratamientos: a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub> (0,03% enzima, 3% leche en polvo y Cultivo lácteo SLB 593) con 0,50; a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub> (0,03% enzima, 3% leche en polvo y *Lb casei*) con 0,43 y a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> (0,03% enzima, 3% leche en polvo y Cultivo lácteo SLB 593-*Lb casei*) con 0,44.

Se observó que al utilizar el porcentaje más alto de enzima y de leche, la Pseudoplasticidad de la bebida fermentada se incrementó.

Este tipo de bebida fermentada es un fluido no-newtoniano, se puede decir que sigue un comportamiento Pseudoplástico. El comportamiento del fluido se comprueba con el índice de comportamiento de flujo n (adimensional).

#### 4.1.3.3. Índice de consistencia (K)

Los valores de índice de consistencia (K) se pueden observar en la Tabla A17 y A18 (anexo A) según los 2 modelos aplicados con su réplica.

Aplicando la Ley de la Potencia como se puede observar en la Tabla A17 (Anexo A) y en sus gráficos demostrativos Anexo C (desde la Figura C.10 hasta C.13), se observó que en los tratamientos:  $a_1b_1c_2$  (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SLB 953-*Lb casei*) con 3957 mPaxs<sup>n</sup> y para el tratamiento  $a_1b_1c_0$  (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SLB 953) con valores 3313 mPaxs<sup>n</sup>, presentan valores altos.

Según las ecuaciones propuestas por Alvarado, 1996, como se puede observar en la Tabla A18 (Anexo A) y en sus gráficos demostrativos en el Anexo C, (Figuras C.15 a C.18), se observó que en los tratamientos:  $a_1b_1c_2$  (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SLB 953-*Lb casei*) con 3888 mPaxs<sup>n</sup> y para el tratamiento  $a_1b_1c_0$  (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SLB 953) con 3225 mPaxs<sup>n</sup>, presentan valores altos.

Los valores de índice de comportamiento de flujo indican cómo se interrelacionan los compuestos en la bebida fermentada.

Por lo tanto se observo que al utilizar el porcentaje más alto de enzima y de leche, el índice de consistencia tiende a una relación directa, es decir que se comportan de la misma manera, si la concentración de enzima y de leche se incrementa el índice de consistencia también se incrementa, aunque en diferente proporción en cada tratamiento.

Aplicando el análisis estadístico a los datos obtenidos por Ley de la Potencia y las ecuaciones propuestas por Alvarado, 1996; con un intervalo del 95% de nivel de confianza, como se observan Tablas B5 y B9 (Anexo B), se establece que los factores A (% de enzima), B (% de leche en polvo) y C (Tipo de microorganismo) y las interacciones AC, BC y ABC, influyen en el índice de

consistencia; realizando pruebas de diferencia de rangos múltiples de Tukey considerando sus medias o promedios se establece que:

Con referencia a el porcentaje de enzima y el porcentaje de leche presentes en niveles 0 y 1 difieren significativamente entre sí, se observó que el índice de consistencia es mayor cuando se ocupa el nivel 1; factor A (0,05% de enzima) y factor B (7% de leche en polvo), mientras que para el factor C el índice de consistencia es mayor cuando se ocupa el nivel 2 (cultivo lácteo SLB 953-*Lb casei*).

En el caso de las interacciones AC, BC y ABC, el valor es mayor cuando se ocupa el nivel 1 para el factor A y factor B y nivel 2 para el factor C, las interacciones  $a_1c_2$ ,  $b_1c_2$  y  $a_1b_1c_2$  como se observa en la Tablas B6 a B8 y Tablas B10 a B12 (Anexo B). De manera global presenta mayor valor la interacción  $a_1b_1c_2$ , que permite obtener un incremento del índice de consistencia en el proceso de elaboración de la bebida fermentada

Según Paredes (2002), reportó índice de consistencia de 3693 mPaxs<sup>n</sup> para una bebida de avena tipo yogurt considerando que la avena sin germinar es rica en hidratos de carbono, especialmente almidón, que combinada con leche contribuye a la viscosidad y consistencia de la bebida tipo yogurt, por tanto al comparar con los valores de índice de consistencia obtenidos 3888 mPaxs<sup>n</sup> y 3225 mPaxs<sup>n</sup> son excelentes para tomarlos como control en la elaboración de la bebida fermentada.

#### **4.1.4. Evaluación sensorial**

El Instituto de Tecnólogos de Alimentos de Estados Unidos (IFT), define a la Evaluación Sensorial como una “ciencia utilizada para provocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a determinadas características de los alimentos y materiales, tal y como son percibidos por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído”. En este sentido, la evaluación Sensorial puede considerarse una

herramienta eficaz a la hora de analizar y estudiar las características de los alimentos (Ferreiro, 2009).

Se efectuó el análisis sensorial a los tratamientos resultantes de la bebida fermentada, se aplicó un diseño factorial de bloques incompletos con la finalidad de facilitar la evaluación.

Los tratamientos fueron catados por un total de veinte y seis jueces semientrenados, cada catador analizó tres muestras, de forma que existieron seis réplicas para cada tratamiento.

El ensayo se realizó con dos réplicas, fue aplicado con la participación de los estudiantes que cursan los últimos semestres de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato, a quienes se les solicito evaluar: color, aroma, sabor, viscosidad, aceptabilidad, se utilizó una escala hedónica estructurada de cinco puntos: uno desagrada mucho; cinco agrada mucho, hoja de evaluación sensorial (Anexo D.2).

Las respuestas experimentales de los catadores se encuentran detalladas en las Tabla A19 (Anexo A), para cada atributo.

#### **4.1.4.1. Color**

El análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo color de la bebida fermentada se reportó en la Tabla B13 (Anexo B), evaluado por los catadores a un intervalo de confianza al 95%, muestran que existen diferencias significativas entre los Tratamientos experimentales (B) y no se encontró diferencia entre los Catadores (A).

La prueba múltiple de rangos de Tukey (Tabla B14, Figura B.10, Anexo B), muestra que el tratamiento  $a_0b_1c_2$  (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*) tiene mayor valoración para este atributo sensorial con una media de 4,192; seguido por los tratamientos  $a_1b_1c_0$  (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593) y  $a_1b_1c_1$  (0,05% de

enzima, 7% leche en polvo y *Lb casei*) con un valor de media de 3,884. Por lo tanto el porcentaje menor de enzima y el porcentaje alto de leche ayuda a mejorar el color en la bebida fermentada.

#### **4.1.4.2. Aroma**

En la Tabla B15 (Anexo B), se reportó el análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo aroma de la bebida fermentada evaluado por los catadores, a un intervalo de confianza al 95%, muestra que no existen diferencias significativas en los Tratamientos experimentales (B) y en Catadores (A).

En la Tabla B16 y Figura B.11 (Anexo B), se muestra la prueba múltiple de rangos de Tukey para todos los tratamientos. El tratamiento que tienen mayor valoración es  $a_1b_1c_1$  (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y *Lb casei*) con una media de 3,525; seguido del tratamiento  $a_0b_1c_2$  (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*) con un valor de media de 3,371. Se nota que la influencia del porcentaje de leche en polvo ayuda a mejorar el aroma en la bebida por la presencia de azúcares propios, que son altamente perceptibles para los catadores.

#### **4.1.4.3. Sabor**

En la Tabla B18 (Anexo B), se reportó el análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo sabor de la bebida fermentada evaluado por los catadores, a un intervalo de confianza al 95%, muestra que existe diferencias significativas en los Tratamientos experimentales (B) y no se encontró diferencia en Catadores (A).

En la Tabla B19 y Figura B.12 (Anexo B), se muestra la prueba múltiple de rangos de Tukey para todos los tratamientos. El tratamiento  $a_0b_1c_2$  (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*) tiene la mayor

valoración con una media de 4,346 siendo el de mayor predilección por parte de los catadores en cuanto al sabor (4: gusta poco). Seguido del tratamiento: a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593) con una media de 4,038. Por lo tanto la utilización de un porcentaje bajo de enzima y un porcentaje alto de leche permite obtener mejores cualidades en cuanto al sabor.

#### **4.1.4.4. Viscosidad**

En la Tabla B20 (Anexo B), se reportó el análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo viscosidad de la bebida fermentada evaluado por los catadores, a un intervalo de confianza al 95%, muestran que existen diferencias significativas en los Tratamientos experimentales (B) y no se encontró diferencia en Catadores (A).

En la Tabla B21 y Figura B.13 (Anexo B), se muestra la prueba múltiple de rangos de Tukey para todos los tratamientos. El tratamiento que tienen mayor valoración es a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*) con una media de 3,679, seguido del tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> (0,05% de enzima, 3% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*) con un valor de media de 3,602. Se nota que la influencia de un porcentaje alto de enzima y la combinación de microorganismos (cultivo lácteo SBL 593-*Lb. Casei*) ayudan a mejorar la viscosidad de la bebida fermentada.

#### **4.1.4.5. Aceptabilidad**

En la Tabla B22 (Anexo B), se reportó el análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo aceptabilidad de la bebida fermentada evaluado por los catadores, a un intervalo de confianza al 95%, muestran que existen diferencias significativas en los Tratamientos experimentales (B) y no se encontró diferencia en Catadores (A).

Nótese en la Tabla B23 y Figura B.14 (Anexo B), se muestra la prueba múltiple de rangos de Tukey para todos los tratamientos. El tratamiento  $a_0b_1c_2$  (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*) que tiene la mayor valoración con una media de 4,205 siendo el de mayor predilección por parte de los catadores en cuanto a aceptabilidad (4: agrada poco). Seguido de los tratamientos:  $a_1b_0c_2$  (0,05% de enzima, 3% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*); tratamiento  $a_0b_1c_0$  (0,03 de enzima, 7% de leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593) y el tratamiento  $a_1b_1c_1$  (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y *Lb. Casei*); con medias de 3,974; 3,897 y 3,820 respectivamente.

Notándose que la mejor aceptación tiene el tratamiento  $a_0b_1c_2$  (0,3 % de enzima, el 7% leche en polvo y la combinación de los microorganismos cultivo lácteo SBL 593-*Lb. Casei*), lo que mejora notablemente la aceptación de la bebida.

#### **4.1.5. Análisis de los mejores 4 tratamientos**

Mediante el análisis estadístico de la evaluación sensorial de la bebida fermentada se estableció que el mejor tratamiento es  $a_0b_1c_2$  (0,03% de enzima, 7% de leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*), por tener mayor valoración por los catadores en los atributos de color, sabor y aceptabilidad; y segundo con mayor valoración en aroma.

El tratamiento  $a_1b_0c_2$  (0,05% de enzima, 3% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*), es el segundo mejor tratamiento por ser segundo en mayor valoración en aceptabilidad, viscosidad y tercero en sabor.

El tratamiento  $a_0b_1c_0$  (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593), es el tercer mejor tratamiento por ser segundo con mayor valoración en color, sabor y tercero en aroma, viscosidad y aceptabilidad.

Como cuarto mejor tratamiento a<sub>1b1c1</sub> (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y *Lb. Casei*), por tener mayor valoración en aroma, tercero en color y cuarta en sabor y aceptabilidad.

#### **4.1.6. Análisis microbiológico**

El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo sino simplemente es una inspección que permite valorar la carga microbiana. Por eso la importancia de inspeccionar el alimento y que cumpla con las normas vigentes para poder ser distribuido.

Para los 4 mejores tratamientos se determinó el recuento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras. Estas pruebas se realizaron al haber concluido con la elaboración de la bebida fermentada, que fue almacenada temperatura de 4°C<sub>±2</sub>.

Los resultados de estas pruebas microbiológicas se observan en las Tablas A20 y A21 (Anexo A).

#### **4.1.7. Determinación de vida útil**

Para la elaboración de esta bebida fermentada fue importante alcanzar la acidez y pH deseados por el proceso de fermentación, cabe recalcar que este producto no lleva ningún conservante.

Para el cálculo de vida útil, se ejecutó recuento de mohos y levaduras a 4°C<sub>±2</sub>, dichos análisis se determinó hasta llegar a los niveles permitidos de la Norma (INEN: 2395) de leches fermentadas.

De acuerdo con los resultados para el tratamiento a<sub>0b1c0</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593), de la Tabla A20 (Anexo A), se determinó como microorganismo indicador a mohos y levaduras que presentan como límite 500 ufc/gr según la Norma, para el cálculo se utilizó la Tabla A22

(Anexo A), se analizó el crecimiento de microorganismos de acuerdo a cinéticas de primer orden en el lapso de 10 días, se obtuvo un tiempo de vida útil de 7 días (Tabla A26 del Anexo A), con características microbiológicamente aceptables.

Para el tratamiento a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*), en la Tabla A20 (Anexo A), se determinó como microorganismo indicador a mohos y levaduras que presentan como límite 500 ufc/gr según la norma, para el cálculo se utilizó la Tabla A23 (Anexo A), se analizó el crecimiento de microorganismos de acuerdo a cinéticas de primer orden en el lapso de 10 días, se obtuvo un tiempo de vida útil de 7 días (Tabla A26 del Anexo A), con características microbiológicamente aceptables.

Para el tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593), en la Tabla A20 (Anexo A), se determinó como microorganismo indicador a mohos y levaduras que presentan como límite 500 ufc/gr según la norma, para el cálculo se utilizó la Tabla A24 (Anexo A), se analizó el crecimiento de microorganismos de acuerdo a cinéticas de primer orden en el lapso de 10 días, se obtuvo un tiempo de vida útil de 5 días (Tabla A26 del Anexo A), con características microbiológicamente aceptables.

Para el tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y *Lb. Casei*), en la Tabla A20 (Anexo A), se determinó como microorganismo indicador a mohos y levaduras que presentan como límite 500 ufc/gr según la norma, para el cálculo se utilizó la Tabla A25 (Anexo A), se analizó el crecimiento de microorganismos de acuerdo a cinéticas de primer orden en el lapso de 10 días, se obtuvo un tiempo de vida útil de 5 días (Tabla A26 del Anexo A), con características microbiológicamente aceptables.

#### **4.1.8. Análisis proximal**

En la Tabla A27 (Anexo A), se reportó los análisis realizados al mejor tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL

593), de lo cual se estableció que el valor de cenizas tiene 0,724%, el valor determinado de proteína es de 2,16%. El valor de análisis de sólidos totales reportado es de 29,1%.

Asimismo el valor de grasa fue de 2,52% y carbohidratos totales fue de 23,7% notándose que “la principal función es suministrarle energía al cuerpo, especialmente al cerebro y al sistema nervioso, proporcionando así esta bebida fermentada una buena cantidad de energía” (HF, 2010).

Finalmente se indicó un valor de energía que fue 131 kcal mientras, siendo una bebida óptima para la dieta diaria en calorías.

#### **4.2. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS**

En este trabajo se planteó la hipótesis nula ( $H_0$ ) que establece que el uso de enzimas amilasas (Fungamyl) y microorganismos probióticos en la colada de morocho, no influyen en la fermentación ácido láctica, en el comportamiento reológico y en los atributos organolépticos de la bebida fermentada, y a su vez la hipótesis alternativa ( $H_a$ ) el uso de enzimas amilasas (Fungamyl) y microorganismos probióticos en la colada de morocho, influyen significativamente en la fermentación ácido láctica, en el comportamiento reológico y en los atributos organolépticos de la bebida fermentada.

Se comprobó estas afirmaciones con ensayos en los que abarcó pruebas de análisis sensorial y análisis físicos-químicos, determinando que se acepta la hipótesis alternativa que establece que el uso de enzimas amilasas (Fungamyl) en la colada de morocho y microorganismos probióticos, si influyen significativamente en la fermentación ácido láctica, en el comportamiento reológico y en los atributos organolépticos de la bebida fermentada.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. CONCLUSIONES

- ✓ La utilización de enzimas amilasas (*Fungamyl*), microorganismos probióticos (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus casei*) y leche en polvo proporcionan textura a la colada de morocho obtenida por fermentación ácido láctica, así como mejoran sus características organolépticas.
- ✓ El porcentaje más alto de enzima amilasa (*Fungamyl*) (0,05%) influyó en las características reológicas de la colada de morocho fermentada. La viscosidad aparente y el índice de consistencia tienden a incrementarse al aumentar el porcentaje de enzima debido a que la enzima contribuye al desdoblamiento del almidón en azúcares de menor peso molecular que son utilizados por los microorganismos para la generación de ácido láctico; este aumento de la acidez contribuye a la formación del gel característico de una bebida fermentada aumentando su viscosidad.

En cuanto a las características sensoriales (color, aroma sabor y aceptabilidad) el efecto fue contrario, se observó mayor aceptabilidad utilizando 0,03% de enzima.

- ✓ Al utilizar el porcentaje más alto de enzima y de leche, la viscosidad aparente y el índice de consistencia tiende a una relación directa, es decir que se comportan de la misma manera, si la concentración de enzima y de leche se incrementa la viscosidad aparente y índice de consistencia también se incrementa, aunque en diferente proporción en cada tratamiento.
- ✓ Los microorganismos probióticos (Cultivo lácteo SLB 953 y *Lactobacillus casei*) influyeron directamente en el tiempo de fermentación. Los tratamientos fermentados con el cultivo lácteo SLB 953 tuvieron un periodo de fermentación menor en comparación con los tratamientos fermentados con *Lactobacillus casei*. La combinación de los dos microorganismos probióticos permitió obtener un tiempo de fermentación intermedio, sin presentar efecto simbiótico.

Sin embargo, la combinación de microorganismos permite obtener mejores características a nivel fisicoquímico (pH y acidez), reológico (viscosidad aparente e índice de consistencia), sensorial (color, aroma, sabor, viscosidad y aceptabilidad) y microbiológico (recuentos menores).

- ✓ La evaluación de la calidad microbiológica de los 4 mejores tratamientos obtenidos a partir del análisis sensorial permitió estimar el tiempo de vida útil a  $4^{\circ}\text{C}\pm 2$  en ausencia de conservantes. Para los tratamientos a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593-*Lb. Casei*) y a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593) el tiempo estimado de vida útil fue de 7 días; mientras que para los tratamientos a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> (0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593) y a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> (0,05% de enzima, 7% leche en polvo y *Lb. Casei*) el tiempo estimado de vida útil es de 5 días.
- ✓ El análisis proximal del mejor tratamiento (a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub>: 0,03% de enzima, 7% leche en polvo y cultivo lácteo SBL 593- *Lb. Casei*) muestra que la

bebida fermentada a base de morocho tiene 2,16% de proteína, 0,724% de cenizas, 29,1% de sólidos totales. Contiene 2,52% de grasa y 23,7% de carbohidratos totales, notándose que los carbohidratos y grasa suministran energía al cuerpo, especialmente al cerebro y al sistema nervioso, aportando 131 kcal siendo una bebida óptima para la ingesta diaria.

## 5.2. RECOMENDACIONES

- ✓ Debe vigilarse adecuadamente el proceso de fermentación, especialmente que no sobrepase la acidez del rango de 48°D a 50°D, porque es un factor crítico en la elaboración de la bebida fermentada.
- ✓ La utilización de porcentajes menores de enzimas amilasas para abaratar costos en la elaboración de la bebida fermentada.
- ✓ La utilización de otro tipo de microorganismos probióticos y leche fresca de vaca en lugar de leche en polvo.
- ✓ Se deberá aplicar la tecnología adecuada para la elaboración de este tipo de bebida, utilizando otro tipo de harina con alto contenido de almidón.
- ✓ Se debe tener cuidado en controlar las temperaturas durante la elaboración de la bebida fermentada, envasado y almacenamiento mantener a una temperatura de refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}\pm 2$  para evitar contaminación por su corto tiempo de vida útil.
- ✓ Se recomienda realizar un estudio de factibilidad para la implementación de una planta productora de la bebida fermentada.

## **CAPÍTULO VI**

### **PROPUESTA**

#### **6.1. DATOS INFORMATIVOS**

##### **6.1.1. Título**

- Obtención de una bebida fermentada a partir de morocho (Zea mayz, variedad *Morochon*) tratado enzimáticamente con alfa-amilasas y utilizando microorganismos probióticos.

##### **6.1.2. Institución ejecutora**

- Universidad Técnica de Ambato - Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

##### **6.1.3. Beneficiarios**

- Productores de morocho blanco y los consumidores de productos saludables y energéticos.
- Personas con desorden intestinal que actualmente buscan alternativas de alimentos funcionales que al ingerirse favorecen la presencia de bacterias beneficiosas en el colon.

- Este tipo de productos funcionales acrecienta tanto en el mercado nacional como internacional.

#### **6.1.4. Ubicación**

- Universidad Técnica de Ambato

#### **6.1.5. Tiempo estimado de ejecución**

- 6 meses

#### **6.1.6. Equipo técnico responsable**

- Dario Ojeda S.
- Ing. Gladys Cecilia Navas Miño

### **6.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA**

Según Wildman (2001), en la actualidad existe una proporción creciente de la población mundial más preocupada que nunca antes por su estado de salud.

Esto se debe probablemente a un progresivo conocimiento sobre las enfermedades responsables de la mayor cantidad de muertes en el mundo desarrollado, y cuya prevención y tratamiento depende en gran medida de la alimentación y del estilo de vida.

Uno de los tipos de maíz que se consume en la zona andina es el Morocho, que ha sido desarrollado cruzando tipos de maíces harinosos con maíces duros de zonas altas (Silva, 2004).

En el Ecuador tenemos la variedad INIAP – 160 (morocho blanco) que se cultiva en clima templado, principalmente en los valles de la provincia de Pichincha (Navas, 2004).

Los probióticos pueden mejorar la digestión y protegerla de bacterias nocivas.

Los probióticos son útiles también en los casos en que las bacterias intestinales útiles (saprofitas) son destruidas por tratamientos con antibióticos.

Los alimentos funcionales pueden beneficiar a todo el organismo, como es en el caso de los probióticos, y los prebióticos, pueden disminuir el riesgo de algunas enfermedades, y en algunos casos pueden curar ciertas enfermedades.

Los probióticos son definidos como microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas le confieren al huésped beneficios para la salud. Las bacterias más utilizadas en la composición de los probióticos son las bifidobacterias y los lactobacilos. Ambas son bacterias propias de la flora intestinal humana (Barberá, 2008).

Los prebióticos son ingredientes no digeribles de la dieta, que producen efectos beneficiosos estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o más tipos de bacterias en el colon, las que tienen a su vez la propiedad de elevar el potencial de salud del hospedero (Reig y Anesto, 2002).

La propuesta del presente estudio se fundamenta en utilizar probióticos y prebióticos, en una bebida fermentada a partir de una colada de morocho para aportar bacterias benéficas para el intestino.

### **6.3. JUSTIFICACIÓN**

Los alimentos proporcionan al hombre la fuente de energía necesaria para vivir y para las reacciones químicas que se producen en su cuerpo, así como las

sustancias químicas necesarias para el crecimiento, para la restauración de las células dañadas o gastadas y para la reproducción (Banwart, 1982)

La industria alimenticia en el Ecuador tiene un mercado amplio y creciente debido al aumento de la población urbana, lo que genera la necesidad de satisfacer a estos núcleos cada vez más numerosos. Frente a esta demanda, es necesaria la aplicación de una tecnología adecuada que permita conservar a la materia prima con sus mejores características durante un tiempo prolongado (Masaquiza y Poveda, 1992).

En concreto, las bacterias del género *Lactobacillus* se distinguen por su capacidad de atravesar en gran número la barrera gástrica y sobrevivir durante el tránsito intestinal, lo que permite desarrollar sus efectos beneficiosos en el intestino. Entre dichos efectos beneficiosos de los *Lactobacillus* destaca el mantenimiento de la flora intestinal, la modulación de la renovación celular a nivel del epitelio intestinal, la contribución a la conservación del equilibrio del sistema inmunológico, y la mejoría de la diarrea infantil. (Diplock, 1999)

Dentro del desarrollo de nuevos productos alimenticios probióticos, es de relevante importancia el aprovechamiento de subproductos de esta industria alimenticia, la investigación realizada proporcionara una nueva información sobre la tecnología para la elaboración de bebida fermentada a base de colada de morocho, los datos a obtenerse sobre las propiedades reológicas y utilización de *Lactobacillus* influirá en mejorar las características tanto sensoriales como microbiológicas, para satisfacer las necesidades del consumidor.

## **6.4. OBJETIVOS**

### **6.4.1. Objetivo general**

- Obtener una Bebida fermentada a partir de morocho (*Zea mayz*, variedad *Morocho*) tratado enzimáticamente con alfa-amilasas y utilizando microorganismos probióticos.

### **6.4.2. Objetivos específicos**

- Aplicar la concentración adecuada de enzimas y probióticos para la elaboración de la bebida fermentada.
- Establecer la capacidad de producción para una planta procesadora de bebida fermentada realizando un estudio de mercado.
- Establecer el análisis económico de la bebida fermentada en base a la capacidad de producción de la planta procesadora.

## **6.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD**

El proyecto de investigación es de tipo tecnológico, ya que con ello se puede desarrollar una nueva alternativa en la elaboración de bebidas fermentadas funcionales. Es decir la fase tecnológica que con lleva el presente estudio corresponde a la elaboración de una bebida fermentada con enzima  $\alpha$ -amilasa y prebióticos.

Además es preciso considerar que el análisis económico se efectúa con el objeto de tener un producto rentable con características sensoriales de venta al público accesible y con un precio de venta al público adecuado con el mercado nacional.

El análisis de factibilidad es de carácter socio-económico, es por ello que a través de este proyecto se quiere tecnificar su elaboración debido a la importancia cultural y nutricional de esta bebida ecuatoriana. Además, se podría también abrir nuevos mercados a nivel internacional, considerando la cantidad de ecuatorianos que habitan en otros países.

## **6.6. FUNDAMENTACIÓN**

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.

*Lactobacillus* Es un género de bacterias Gram positivas anaerobias facultativas, denominadas así debido a que la mayoría de sus miembros convierte lactosa y otros monosacáridos en ácido láctico. Normalmente son benignas e incluso necesarias, habitan en el cuerpo humano y en el de otros animales, por ejemplo, están presentes en el tracto gastrointestinal y en el aparato reproductor femenino. La producción de ácido láctico hace que su ambiente sea ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias dañinas. Algunas especies de *Lactobacillus* son usadas industrialmente para la producción de yogurt y otros alimentos fermentados (Beijerinck, 2008).

En Ecuador el cultivo de maíz está distribuido en casi todo el territorio, desde cerca al nivel del mar hasta las tierras altas de la serranía (3200 metros sobre nivel del mar), en suelos fértiles, así como en terrenos pobres, pedregosos, planos o de pendiente, en colinas y en cerros, con precipitaciones de 63 a 6000 milímetros/año y los más variados rendimientos.

Ahora se sabe que la distribución de algunos materiales de los más cultivados en las provincias de la sierra, se debe principalmente a gustos y costumbres muy arraigados que tienen los agricultores, es así por ejemplo, que en el norte (Carchi, Imbabura y Pichincha) se consume maíces de tipo amarillo harinoso, en la parte central (Chimborazo y Bolívar), se cultivan los maíces blanco harinosos y en el sur (Cañar y Azuay) el maíz zhima (INIAP, 2000).

## **6.7. METODOLOGÍA**

### **6.7.1. Tecnología de la elaboración**

#### **Proceso de Elaboración de la bebida fermentada a partir de morocho blanco (*Zea mays*, variedad *Morocho*)**

- a) Recepción:** Se realizará una inspección previa para asegurar que todos los ingredientes se encuentren en buenas condiciones y libres de materias extrañas principalmente en la harina de morocho.
- b) Pesado:** Se pesaran todos los ingredientes según la formulación base.
- c) Cocción:** La harina de morocho se diluirá en agua y se someterá a cocción por un tiempo de 1 hora.
- d) Inoculación:** La colada obtenida se incubará la estufa ubicada en el laboratorio de Biotecnología a temperatura de  $55^{\circ}\text{C}\pm 2$  durante 90 minutos, con las enzimas alfa-amilasas utilizando la concentración al 0,03%.
- e) Filtrado:** La colada se filtrara con un lienzo limpio y desinfectado, obteniéndose una lechada y residuos o afrechillo de morocho.
- f) Dosificación:** A la lechada de morocho se añadirá: leche en polvo al 7% y de azúcar de 15 al 18%.

- g) Pasteurización:** Se pasteurizara a temperatura de  $75^{\circ}\text{C}\pm 2$  por 15 minutos y se dejará enfriar hasta temperatura de  $38^{\circ}\text{C}\pm 2$ .
- h) Inoculación:** Al producto obtenido se inoculará los microorganismos probióticos a temperatura de  $38^{\circ}\text{C}\pm 2$ , para iniciar el proceso de fermentación.
- i) Fermentación:** A los microorganismos probióticos inoculados a temperatura de  $38^{\circ}\text{C}\pm 2$  se llevara un control de acidez hasta alcanzar  $50^{\circ}\text{D}$ .
- j) Enfriamiento:** A la bebida fermentada se procederá a enfriar a temperatura de  $4^{\circ}\text{C}\pm 2$  por 24 horas.
- k) Batido:** Después de las 24 horas de enfriamiento se batirá a fin de romper el coagulo en un recipiente de acero inoxidable con ayuda de un agitador manual.
- l) Envasado:** Se envasara en recipientes de 200 ml de polietileno de baja densidad limpios y desinfectados.
- m) Almacenamiento:** A esta bebida fermentada se la conservará a una temperatura máxima de refrigeración de  $4^{\circ}\text{C}\pm 2$ .

**Cuadro 3. Modelo operativo (Plan de Acción)**

Fases	Metas	Actividades	Responsable	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formular la propuesta	Usar colada de morocho en la elaboración de bebidas fermentadas con la adicción de probióticos a nivel semi-industrial	Revisión bibliográfica  Encuestas	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 200	2 meses
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Cronograma de la propuesta	Pruebas preliminares sobre la elaboración de bebidas fermentadas	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 400	1 mes
3. Implementación de la propuesta	Ejecución de la propuesta	Aplicación de Tecnología de elaboración de bebidas fermentadas	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 150	2 meses
4. Evaluación de la propuesta	Verificación del proceso de elaboración para implementar una microempresa	Comprobación con datos experimentales	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 100	1 mes

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

## 6.8. ADMINISTRACIÓN

La ejecución de la propuesta estará coordinada por los responsables del proyecto Ing. Gladys Navas Miño y Egdo. Dario Ojeda S.

**Cuadro 4.** Modelo operativo (Plan de Acción)

<b>Indicadores a mejorar</b>	<b>Situación actual</b>	<b>Resultados esperados</b>	<b>Actividades</b>	<b>Responsables</b>
Tecnología de elaboración de bebida fermentada	Uso de probióticos en la formulación de la bebida fermentada	Producción de bebidas fermentadas con calidad e inocuidad alimentaria. Disponibilidad en el mercado de bebidas fermentadas. Rentabilidad del producto frente a alimentos similares en el mercado.	Estudio de mercado Elaboración del producto Análisis sensorial Estudio financiero	Ing. Gladys Navas Miño  Egdo. Dario Ojeda S.

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

## 6.9. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

**Cuadro 5.** Previsión de la evaluación

<b>PREGUNTAS BÁSICAS</b>	<b>EXPLICACIÓN</b>
¿Quiénes solicitan evaluar?	Personas de la rama de Ingeniería en Alimentos Industria de Alimentos y Consumidor final
¿Por qué evaluar?	Para garantizar un producto de buena calidad. Para corregir errores que pueden suscitarse en el proceso de fabricación
¿Para qué evaluar?	Verificar la inocuidad y calidad del producto
¿Qué evaluar?	Materia prima Proceso de fermentación Calidad microbiológica del producto.
¿Quién evalúa?	El investigador
¿Cuándo evaluar?	Durante el proceso de fermentación
¿Cómo evaluar?	Mediante análisis físico-químicos y microbiológicos.
¿Con qué evaluar?	Experimentación Mediante métodos establecidos por normas. Referencias bibliográficas

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

## CAPÍTULO VII

### MATERIALES DE REFERENCIA

#### BIBLIOGRAFÍA

- Agropanorama. 2013. Producción mundial de maíz 2013/14. Fecha de consulta 22/09/2013. Disponible en:  
<http://www.agropanorama.com/news/Produccion-Mundial-de-Maiz.htm>.
- Alvarado, J. de D.; Arancibia, M.Y. y Almeida, A.V. 2005. Permeabilidad al vapor de agua de películas biodegradables de quitosano obtenido de caparzones de camarón. *Ciencia y Tecnología*, 4(2):39-47.
- Alvarado, J. de D. (1996). "Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos". Radio Comunicaciones. Quito-Ecuador. Pp. 73-84, 201-218.
- Alvarez-Olmos, M.I., Oberhelman, R.A. 2001, Probiotic agents and infectious diseases: A modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1567-1576.
- A.O.A.C Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist: 16th Ed, Vol. II Cap.33, pág. 7.
- ASERCA, 2013. Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios. Fecha de consulta: 10/12/2013. Disponible en:  
<http://www.infoaserca.gob.mx/boletineszip/panmundial/panmundial-20131204.pdf>.

- Banwart, G. J., 1982, Microbiología básica de los alimentos. Ed. Ediciones Bellaterra, Barcelona España. Pp 464.
- Barberá, J. 2008. Alimentos Funcionales. Instituto de Nutrición y trastornos Alimentarios. Grupo Inmunonutrición. Departamento de Metabolismo y Nutrición. Rev. Vol. 1 (1): 200-238.
- Beijerinck Martinuz, 2008, “Lactobacillus”, fecha de consulta (10/12/2013): disponible en: <http://es.wikipedia.org>.
- Benavides, A. y Pozo, M. 2008. Elaboración de una bebida alcohólica destilada (vodka) a partir de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) utilizando dos tipos de enzimas. Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniera Agroindustrial. Universidad Técnica Del Norte. Facultad De Ingeniería En Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Ibarra-Ecuador.
- Bravo Elizabeth, León Javier. 2013. LA GRANJA, Revista de Ciencias de la Vida: MONITOREO PARTICIPATIVO DEL MAÍZ ECUATORIANO PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE PROTEÍNAS TRANSGÉNICAS. Vol. 17(1): ISSN: 1390-3799. Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador. Pp 16-24.
- Brookfield Engineering Laboratories INC. 1987. Manual No. M/85-150-P700. Fecha de consulta: 24/07/2013. Disponible en: <http://www.viscometers.org/PDF/Manuals/laboratory/DIAL.PDF>.
- Cacéres, M. y Freire, G. 2002. Uso de alfa-amilasas para la disminución de la viscosidad aparente en la edulcoración de la colada escolar “CE” Tesis de Ingeniero en Alimentos UTA – FCIAL. Ambato-Ecuador.
- Charm, S. (1981). The Fundamentals of Food Engineering. 3rd. Ed. Westport, Connecticut. AVI Pub. CO. Inc. p. 54.
- Cochram, W. 1973. Diseño experimental. 2ª edición, Editorial Trillas, México – México, p. 471.

- Crandall, P.G., Chen, C.S. y Carter, R.D. (1982). Models for predicting viscosity of orange juice concentrate, *Food Technology*, Vol. 36 (5), 245-252.
- Culqui Daniela. 2008. Estudio de una tecnología para la obtención de una bebida alcohólica a partir de la oca (*Oxalis tuberosa*) tratada enzimáticamente con inclusión de mandarina (*Citrus reticulote*). Tesis de grado de ingeniería en Alimentos, UTA – FCIAL, Ambato- Ecuador.
- Del Pozo F. y Valencia A., 2004. Establecer una tecnología para la obtención de una bebida alcohólica a partir de maíz (*Zea mayz* variedad *morocho*) usando tratamientos enzimáticos. Tesis de grado de ingeniería en Alimentos, UTA – FCIAL, Ambato- Ecuador.
- Diplock AT, Aggett PJ, Ashwell M, Borneo F, Fern EB, Roberfroid MB. (1999) Scientific concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. *Br J Nutr*;81(1):1-27.
- Espitia, L. 2009. Determinación de la concentración de alfa y beta amilasas comerciales en la producción de etanol a partir de almidón de cebada empleando *Saccharomyces cerevisiae*. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial. Bogotá-Colombia.
- Estrada A. 2005. Efecto de los Probióticos *Lactobacillus acidophilus* y *bifidobacterium bifidum* en las Características Físico químicas y Sensoriales del yogur de fresa en zamorano. - Tegucigalpa, Honduras.
- FAO. 1997. EL MAIZ BLANCO: un grano alimentario tradicional en los países en desarrollo. ISBN 92-5-303882-9, Roma, Italia. Fecha de consulta: 22/02/2013. Disponible: [www.fao.org](http://www.fao.org).
- Ferreira, E. 2009. Evaluación sensorial en bebidas. Fecha de consulta: 12/10/2013. Disponible en: <http://www.alimentacion.enfasis.com/notas/14641-EVALUACIÓN-sensorial-bebidas>.

- García, C. A., Arrázola, S., Durango, A. M. (2010). Producción de Ácido Láctico por vía Biotecnológica. Rev. Vol II. (1): 65.
- Hernández, Fernández y Batista. 2008. Metodología de la Investigación. Edición Mac Graw Hill. México. 850 págs.
- Herrera E., Medina F. y Naranjo L. 2008. Tutoría de la Investigación. Edición Universitaria. Ambato, Ecuador. 250. págs.
- HF, (2010, Agosto). Datos esenciales: Nutrición ¿Adicto a los carbohidratos? En American Health & Fitness, p. 12.
- Ibarz, A., Barbosa, G., Cánovas. (2003). Unit operations in Food Engineering. Food Preservation Technology series. CRC Press LLC. pp: 89 – 138.
- INEC. 2010. Sistema Agroalimentario de/ Maíz. Fecha de consulta: 04/04/2013. Disponible en:  
<http://www.ecuadorencifras.com/sistagroalim/pdf/Maiz.pdf>.
- INIAP, 2000, Departamento de Maíz, Estación Experimental Santa Catalina, Quito, Ecuador.
- Lopera, O.; Agudelo, M.; Ochoa, M.; Ramirez, M.; (2009). Adaptación de microorganismos a la mora de castilla (*rubus glaucus Benth*) para la producción de ácido l-láctico. Universidad Pontificia Bolivariana, Revista Investigaciones Aplicadas Vol. I (1): 90-96.
- Masaquiza, C y Poveda. G, 1992, Situación de calabaza en la elaboración de mermelada de Guayaba-Calabaza y Mora-Calabaza. Tesis de Grado para optar el título de ingeniero en alimentos en la Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. Pág. 111.
- MERCOSUR, 1997. Reglamento Técnico Mercosur De Identidad Y Calidad De Leches Fermentadas, GMC/RES N° 47/97.

- Muller, H. 1973, Introducción a la Reología de Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. Pp. 174.
- Navas, G., 2004, “Innovación de una tecnología para la obtención de una bebida alcohólica a partir de morocho (zea mays) variedad Morocho”. Fecha de consulta: 07/12/2013). Disponible en:  
<http://fcial.uta.edu.ec/archivos/BebidaDeMorocho.pdf>.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 13), 1984. Determinación de la Acidez Titulable. Quito-Ecuador.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 14), 1984. Determinación de Solidos Totales y Cenizas. Quito-Ecuador.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 1529-5), 2006. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. Quito- Ecuador.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 1529-11), 1998. Control Microbiológico de Alimentos Mohos y Levaduras Viables Detección. Quito- Ecuador.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2395). 2011. Leches Fermentadas. Quito-Ecuador.
- Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2608), 2012. Bebida de Leche Fermentada Requisitos. Quito- Ecuador.
- Norma Venezolana (COVENIN 658), 1997. Leche y sus Derivados. Determinación de la Acidez Titulable. Fecha de consulta: 24/06/2013. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/action/normas-find>.
- Ortega F., 1995. Determinación de parámetros reológicos en suspensiones de raíces y tubérculos. Tesis de grado de Ingeniería en Alimentos, UTA – FCIAL, Ambato – Ecuador.

- Ortiz L. y Gutiérrez L., 1998. Uso de parámetros reológicos como índices de control durante la elaboración de leche acidófila. Tesis de grado de Ingeniería en Alimentos, UTA – FCIAL, Ambato – Ecuador.
- Paredes M., 2002. Obtención de una bebida tipo yogurt utilizando avena (*Avena sativa*) más leche entera de vaca con empleo de dos cepas liofilizadas de microorganismos. Tesis de grado de Ingeniería en Alimentos, UTA – FCIAL, Ambato – Ecuador.
- Peñaloza, W. 1978. La optimización de parámetros de la fermentación láctica para yogurt utilizando *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bugarius*. Tesis de Ingeniero en Alimentos. UTA – FCIAL. Ambato-Ecuador.
- Pisabarro de Lucas Antonio G, 2003, “Concepto y alcance de la Microbiología”, Fecha de consulta: 18/04/2013, Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2003.%20Eliminacion%20y%20conservacion.pdf>.
- PROBIOTIC.ORG. 2009. *Lactobacillus casei*. Fecha de consulta: 20/12/2013 Consultado en: <http://www.probiotic.org/lactobacillus-casei.htm>.
- Proaño Janina, 2012. El efecto del uso de probióticos (*Lactobacillus plantarum* & *Lactobacillus casei*) y enzimas amilasas (*Fungamy*) & *pectinasas* (AFPL), en la fermentación ácido láctica de Camote (*Ipomoea batatas* L.). Tesis de Ingeniero en Alimentos. UTA – FCIAL. Ambato-Ecuador.
- Ramirez, J. 2006. Fundamentos de reología de alimentos. Libro de trabajo. Pp. 58.
- Rao, M.A. (1986). Rheological properties of fluids foods. En *Engineering properties of foods*. Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, 1-48.
- Ratti, R. (2000). “Como degustar los vinos”. Segunda edición. Editorial (Aedos, s.a). Madrid –España. Pp. 7.

- Reig, A. y Anesto, B. (2002). Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Rev. Cubana Aliment Nutr: 16(1):63-8
- Ripusudan L. Paliwal, Gonzalo Granados, Honor Renée Lafitte, Alejandro D. Violic, Jean-Pierre Marathée. 2001. El Maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y protección vegetal N.-28. ISBN 9253044578. Roma. Pp 392.
- Sahin, S. and Gulum, S., (2006). Physical Properties of Foods. Middle East Technical University Ankara. Printed in the United States of America. Springer Science + Business Media, LLC. Turkey. pp: 39 -70.
- Saltos H., 2010. Sensometría: Análisis en el Desarrollo de Alimentos Procesados. Editorial pedagógica Freire. Ambato – Ecuador. Pp.: 266 – 279.
- Saltos H., 1993. DISEÑO EXPERIMENTAL: Aplicación de Procesos Tecnológicos. Editorial Universitaria, UTA Editorial PIO XII Ambato – Ecuador.
- Sancho, J., 2002, “Análisis Sensorial de los Alimentos”, Editorial Alfaomega, México. pp: 120
- Saravacos, G.D. (1970). Effect of temperature on viscosity of fruit juices and purees. J. Food Sci., Vol. 35, 122-125.
- Silva, D., 2004, “Evaluación de 17 accesiones de maíz (zea mayz) en la localidad de Curgua, provincia de Bolívar con Investigación Participativa”, tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, UTB, Guaranda, Ecuador, pp. 32,33
- Spreer, E. 1991. Lactología industrial. 2a ed. Zaragoza: Acribia, Pp. 432-434
- Steffe, J. 1992. Rheological Methods in Food Process Engineering. East Lansing, Michigan. Freeman Press. 228p.

- Siuta. 2001. Improving probiotic survival rates. Food Technology. Rev. 55(1): 36-42.
- Tapia M. 1990. Origen Y Domesticación De Las Especies Alimenticias En La Región Andina. FAO. Fecha de consulta: 22/08/2013. Disponible en: <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro10/cap01.htm>.
- Trevlean Alex 2010. “Unidades formadoras de colonia”. Shelf-life Evaluation of Foods. Springer. Fecha de consulta: 12/02/2014. Disponible en: [http://es.wikipedia.org/wiki/Unidad\\_formadora\\_de\\_colonias](http://es.wikipedia.org/wiki/Unidad_formadora_de_colonias).
- Vaughan, E.E., deVries, M.C., Zoetendal, E.G., Ben-Amor, K., Akkermans, A.D., de Vos, W.M. (2002). *The intestinal LABs*. Antonie Van Leeuwenhoek; 82: 341-352.
- Wildman, R.E.C. 2001 Cap. 1: Nutraceuticals: a brief review of historical and teleological aspects. En: Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods (Ed:Wildman, R.E.C.) CRC Press, Estados Unidos, Pp. 1-12
- Zumbado H. (2005). Análisis químicos de los alimentos, métodos clásicos. Instituto de farmacias y alimentos. Universidad de la habana. Pp. 434.

# **ANEXOS**

# **ANEXO A**

# **RESPUESTAS**

# **EXPERIMENTALES**

## ANÁLISIS pH Y ACIDEZ DURANTE LA INCUBACIÓN

**Tabla A1.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento testigo (0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953- *Lb. Casei*).

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	Muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
0	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
30	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
60	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
90	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
120	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
150	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
180	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
210	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
240	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
270	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
300	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
330	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5
360	6,58	6,63	6,61	13	12	12,5

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A2.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento aoboco.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	Muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
0	6,65	6,64	6,65	13	13	13,0
30	6,55	6,54	6,55	16	17	16,5
60	6,29	6,33	6,31	26	20	23,0
90	6,03	6,05	6,04	28	25	26,5
120	5,83	5,86	5,85	30	29	29,5
150	5,52	5,57	5,55	38	37	37,5
180	5,26	5,22	5,24	40	39	39,5
210	4,97	4,95	4,96	46	46	46,0
240	4,76	4,67	4,72	50	53	51,5

(ao:0,03% de enzima, bo: 3% de leche en polvo, co: Cultivo lácteo SLB 953)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A3.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
0	6,63	6,65	6,64	15	14	14,5
30	6,63	6,65	6,64	15	15	15,0
60	6,63	6,65	6,64	20	19	19,5
90	6,55	6,60	6,58	21	20	20,5
120	6,48	6,53	6,51	20	23	21,5
150	6,19	6,23	6,21	26	24	25,0
180	6,07	6,08	6,08	27	28	27,5
210	5,94	5,95	5,95	38	36	37,0
240	5,69	5,74	5,72	41	40	40,5
270	5,33	5,28	5,31	43	42	42,5
300	5,26	5,06	5,16	47	45	46,0
330	4,85	4,83	4,84	50	46	48,0
360	4,52	4,60	4,56	55	51	53,0

(a<sub>0</sub>: 0,03% de enzima, b<sub>0</sub>: 3% de leche en polvo, c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A4.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	Muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
0	6,65	6,63	6,64	10	12	11,0
30	6,50	6,45	6,48	12	16	14,0
60	6,13	6,21	6,17	18	20	19,0
90	6,08	6,10	6,09	19	22	20,5
120	5,87	5,93	5,90	20	24	22,0
150	5,60	5,85	5,73	26	29	27,5
180	5,33	5,41	5,33	28	33	30,5
210	5,26	5,25	5,26	36	38	37,0
240	5,02	5,13	5,08	40	42	41,0
270	4,92	4,94	4,93	47	48	47,5
300	4,71	4,72	4,72	50	52	51,0

(a<sub>0</sub>: 0,03% de enzima, b<sub>0</sub>: 3% de leche en polvo, c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953- *Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A5.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
Muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2	Promedio
0	6,58	6,54	6,56	14	15	14,5
30	6,55	6,22	6,39	17	20	18,5
60	6,23	6,13	6,18	24	24	24,0
90	6,04	5,98	6,01	27	28	27,5
120	5,73	5,66	5,70	29	30	29,5
150	5,49	5,47	5,48	38	37	37,5
180	5,27	5,17	5,22	45	43	44,0
210	5,10	4,94	5,02	47	48	47,5
240	5,02	4,94	4,98	51	50	50,5

(a<sub>0</sub>: 0,03% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% de leche en polvo, c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A6.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2	Promedio
0	6,67	6,67	6,67	14	13	13,5
30	6,67	6,67	6,67	14	14	14,0
60	6,63	6,67	6,65	16	14	15,0
90	6,55	6,50	6,53	19	21	20,0
120	6,50	6,43	6,47	21	23	22,0
150	6,25	6,18	6,22	25	26	25,5
180	6,08	6,04	6,06	27	29	28,0
210	5,86	5,77	5,82	38	39	38,5
240	5,55	5,58	5,57	41	40	40,5
270	5,29	5,26	5,28	43	44	43,5
300	4,98	5,03	5,01	46	45	45,5
330	4,85	4,83	4,84	49	47	48,0
360	4,52	4,60	4,56	50	48	49,0

(a<sub>0</sub>: 0,03% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% leche en polvo, c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A7.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub>

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	Muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
0	6,67	6,67	6,67	11	12	11,5
30	6,43	6,48	6,46	12	14	13,0
60	6,27	6,18	6,23	15	18	16,5
90	6,12	6,10	6,11	23	20	21,5
120	5,98	5,93	5,96	25	24	24,5
150	5,69	5,70	5,70	27	25	26,0
180	5,39	5,33	5,36	29	28	28,5
210	5,20	5,24	5,22	30	31	30,5
240	5,04	5,02	5,03	41	42	41,5
270	4,89	4,92	4,91	45	47	46,0
300	4,50	4,57	4,54	52	50	51,0

(a<sub>0</sub>: 0,03% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% de leche en polvo, c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-Lb. Casei)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A8.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	Muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
0	6,67	6,66	6,67	14	14	14,0
30	6,53	6,55	6,54	17	16	16,5
60	6,30	6,31	6,31	23	21	22,0
90	6,05	6,01	6,03	25	27	26,0
120	5,79	5,86	5,83	30	29	29,5
150	5,52	5,60	5,56	37	37	37,0
180	5,23	5,18	5,21	40	41	40,5
210	4,93	4,95	4,94	49	46	47,5
240	4,67	4,55	4,61	53	52	52,5

(a<sub>1</sub>: 0,05% de enzima, b<sub>0</sub>: 3% de leche en polvo, c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A9.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
0	6,65	6,65	6,65	15	14	14,5
30	6,65	6,65	6,65	15	15	15,0
60	6,65	6,65	6,65	15	15	15,0
90	6,58	6,60	6,59	18	19	18,5
120	6,48	6,53	6,51	20	21	20,5
150	6,19	6,23	6,21	21	23	22,0
180	6,07	6,08	6,08	26	24	25,0
210	5,94	5,95	5,95	27	28	27,5
240	5,69	5,74	5,72	38	36	37,0
270	5,33	5,28	5,31	41	40	40,5
300	5,26	5,06	5,16	42	43	42,5
330	4,85	4,83	4,84	45	47	46,0
360	4,60	4,52	4,56	46	50	48,0

(a<sub>1</sub>: 0,05% de enzima, b<sub>0</sub>: 3% de leche en polvo, c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A10.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	Muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
0	6,67	6,65	6,66	11	12	11,5
30	6,45	6,50	6,48	12	14	13,0
60	6,28	6,13	6,21	15	18	16,5
90	6,10	6,08	6,09	23	20	21,5
120	5,93	5,87	5,90	25	24	24,5
150	5,59	5,60	5,60	27	25	26,0
180	5,40	5,33	5,37	29	28	28,5
210	5,23	5,26	5,25	30	31	30,5
240	5,06	5,02	5,04	33	34	33,5
270	4,92	4,92	4,92	40	40	40,0
300	4,90	4,71	4,81	45	46	45,5
330	4,46	4,37	4,42	49	51	50,0

(a<sub>1</sub>: 0,05% de enzima, b<sub>0</sub>: 3% de leche en polvo, c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953- *Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A11.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
Muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2	Promedio
0	6,63	6,63	6,63	14	14	14,0
30	6,55	6,41	6,48	19	20	19,5
60	6,23	6,18	6,21	23	24	23,5
90	6,04	5,98	6,01	27	29	28,0
120	5,73	5,66	5,70	31	32	31,5
150	5,42	5,47	5,45	40	41	40,5
180	5,27	5,12	5,20	44	43	43,5
210	5,08	4,94	5,01	47	48	47,5
240	4,96	4,86	4,91	51	52	51,5

(a<sub>1</sub>: 0,05% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% de leche en polvo, c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A12.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2	Promedio
0	6,67	6,65	6,66	14	14	14,0
30	6,67	6,65	6,66	15	15	15,0
60	6,67	6,63	6,65	20	18	19,0
90	6,50	6,60	6,55	21	20	20,5
120	6,45	6,50	6,48	20	23	21,5
150	6,28	6,15	6,22	25	26	25,5
180	6,19	6,08	6,14	27	29	28,0
210	5,73	5,80	5,77	40	39	39,5
240	5,53	5,15	5,34	41	41	41,0
270	5,26	5,06	5,16	44	43	43,5
300	5,11	4,93	5,02	45	46	45,5
330	4,93	4,90	4,92	48	50	49,0
360	4,86	4,72	4,79	50	52	51,0

(a<sub>1</sub>: 0,05% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% leche en polvo, c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A13.** Datos de pH y Acidez para el tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub>.

Tiempo (min)	pH			ACIDEZ (°D)		
	muestra	R1	R2	Promedio	R1	R2
<b>0</b>	6,66	6,67	6,67	13	12	12,5
<b>30</b>	6,53	6,49	6,51	14	13	13,5
<b>60</b>	6,35	6,24	6,30	16	18	17,0
<b>90</b>	6,18	6,11	6,15	19	20	19,5
<b>120</b>	6,01	5,96	5,99	24	23	23,5
<b>150</b>	5,79	5,69	5,74	25	27	26,0
<b>180</b>	5,39	5,35	5,37	28	30	29,0
<b>210</b>	5,20	5,24	5,22	32	31	31,5
<b>240</b>	5,06	5,01	5,04	39	40	39,5
<b>270</b>	4,90	4,86	4,88	45	47	46,0
<b>300</b>	4,54	4,47	4,51	51	54	52,5

(a<sub>1</sub>: 0,05% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% de leche en polvo, c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

## RESPUESTAS EXPERIMENTALES PARA PROPIEDADES REOLÓGICAS

**Tabla A14.** Valores de porcentaje de lectura (%FS) en el viscosímetro rotacional brookfield en los tratamientos resultantes en la fermentación ácido-láctica de la colada de morocho.

	N [rpm]	0,3	0,6	1,5	3,0	6,0	12,0	30,0	60,0
<b>T1:a0b0c0</b>	*R1	0,8	1,2	2,2	2,8	4,0	5,3	7,2	10,3
	*R2	0,6	1,3	2,2	3,0	4,0	5,2	7,5	10,5
	$\bar{X}$	0,7	1,3	2,2	2,9	4,0	5,3	7,4	10,4
<b>T2:a0b0c1</b>	R1	1,8	2,3	3,3	4,3	5,1	6,0	7,8	10,6
	R2	1,0	1,4	2,0	2,9	3,6	4,8	7,3	10,4
	$\bar{X}$	1,4	1,9	2,7	3,6	4,4	5,4	7,6	10,5
<b>T3:a0b0c2</b>	R1	0,9	1,6	2,6	3,3	4,4	5,3	7,8	10,9
	R2	1,0	1,5	2,7	3,4	4,3	5,8	8,2	11,2
	$\bar{X}$	1,0	1,6	2,7	3,4	4,4	5,6	8,0	11,1
<b>T4:a0b1c0</b>	R1	2,9	3,9	7,0	8,8	10,9	13,4	17,3	22,9
	R2	2,9	4,1	6,8	8,6	10,8	13,0	17,3	22,1
	$\bar{X}$	2,9	4,0	6,9	8,7	10,9	13,2	17,3	22,5
<b>T5:a0b1c1</b>	R1	2,0	3,3	5,4	7,1	8,6	10,5	13,4	17,7
	R2	2,8	4,0	5,8	7,4	9,2	11,0	14,3	19,1
	$\bar{X}$	2,4	3,7	5,6	7,3	8,9	10,8	13,9	18,4
<b>T6:a0b1c2</b>	R1	2,5	3,7	5,5	7,0	8,7	11,2	15,3	20,5
	R2	3,8	4,8	6,3	7,7	10,0	12,7	17,1	22,8
	$\bar{X}$	3,2	4,3	5,9	7,4	9,4	12,0	16,2	21,7
<b>T7:a1b0c0</b>	R1	1,9	3,1	4,5	5,8	7,1	8,5	10,8	13,6
	R2	2,2	3,2	5,0	6,1	7,5	9,0	11,8	16,0
	$\bar{X}$	2,1	3,2	4,8	6,0	7,3	8,8	11,3	14,8
<b>T8:a1b0c1</b>	R1	2,6	3,1	5,3	6,8	8,2	9,6	12,8	19,1
	R2	2,5	4,0	5,1	6,8	8,2	9,9	12,9	18,3
	$\bar{X}$	2,6	3,6	5,2	6,8	8,2	9,8	12,9	18,7
<b>T9:a1b0c2</b>	R1	2,8	3,8	5,4	6,7	8,4	10,3	14,0	20,1
	R2	2,1	3,6	5,4	6,6	8,3	10,1	14,2	20,4
	$\bar{X}$	2,5	3,7	5,4	6,7	8,4	10,2	14,1	20,3
<b>T10:a1b1c0</b>	R1	6,2	6,9	9,2	11,7	14,2	16,1	20,5	26,0
	R2	5,8	6,9	9,8	12,0	14,4	16,2	20,7	26,7
	$\bar{X}$	6,0	6,9	9,5	11,9	14,3	16,2	20,6	26,4

<b>T11:a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub></b>	<b>R1</b>	3,4	5,2	7,8	9,6	11,4	13,4	17,3	23,4
	<b>R2</b>	3,8	5,5	7,6	9,6	11,5	13,5	16,8	22,3
	$\bar{X}$	3,6	5,4	7,7	9,6	11,5	13,5	17,1	22,9
<b>T12:a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub></b>	<b>R1</b>	5,3	6,3	9,6	12,8	15,8	19,1	25,2	33,0
	<b>R2</b>	5,8	7,5	10,9	14,2	17,5	21,2	26,8	35,7
	$\bar{X}$	5,6	6,9	10,3	13,5	16,7	20,2	26,0	34,4
<b>T13:Testigo</b>	<b>R1</b>	0,8	1,4	1,8	2,3	2,7	3,2	4,3	6,9
	<b>R2</b>	0,6	0,7	1,2	1,4	1,9	2,4	3,5	6,0
	$\bar{X}$	0,7	1,1	1,5	1,9	2,3	2,8	3,9	6,5

Porcentaje de enzima

a<sub>0</sub>:0,03%

a<sub>1</sub>:0,05%

Porcentaje de leche en polvo

b<sub>0</sub>:3%

b<sub>1</sub>:7%

Tipo de microorganismos probióticos

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

$\bar{X}$ : Promedio    \*: Replica

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A15.** Valores viscosidad aparente  $\mu_r$  [Paxs] de la colada fermentada de morocho

<b>Velocidad de deformación (1/s)</b>		<b>0,06</b>	<b>0,13</b>	<b>0,31</b>	<b>0,63</b>	<b>1,26</b>	<b>2,51</b>	<b>6,28</b>	<b>12,57</b>
<b>T1:a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub></b>	<b>*R1</b>	3,20	2,40	1,76	1,12	0,80	0,53	0,29	0,21
	<b>*R2</b>	2,40	2,60	1,76	1,20	0,80	0,52	0,30	0,21
	$\bar{X}$	2,80	2,50	1,76	1,16	0,80	0,53	0,29	0,21
<b>T2:a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub></b>	<b>R1</b>	7,20	4,60	2,64	1,72	1,02	0,60	0,31	0,21
	<b>R2</b>	4,00	2,80	1,60	1,16	0,72	0,48	0,29	0,21
	$\bar{X}$	5,60	3,70	2,12	1,44	0,87	0,54	0,30	0,21
<b>T3:a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub></b>	<b>R1</b>	3,60	3,20	2,08	1,32	0,88	0,53	0,31	0,22
	<b>R2</b>	4,00	3,00	2,16	1,36	0,86	0,58	0,33	0,22
	$\bar{X}$	3,80	3,10	2,12	1,34	0,87	0,56	0,32	0,22
<b>T4:a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub></b>	<b>R1</b>	11,60	7,80	5,60	3,52	2,18	1,34	0,69	0,46
	<b>R2</b>	11,60	8,20	5,44	3,44	2,16	1,30	0,69	0,44
	$\bar{X}$	11,60	8,00	5,52	3,48	2,17	1,32	0,69	0,45
<b>T5:a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub></b>	<b>R1</b>	8,00	6,60	4,32	2,84	1,72	1,05	0,54	0,35
	<b>R2</b>	11,20	8,00	4,64	2,96	1,84	1,10	0,57	0,38
	$\bar{X}$	9,60	7,30	4,48	2,90	1,78	1,08	0,55	0,37

<b>T6:a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub></b>	<b>R1</b>	10,00	7,40	4,40	2,80	1,74	1,12	0,61	0,41
	<b>R2</b>	15,20	9,60	5,04	3,08	2,00	1,27	0,68	0,46
	$\bar{X}$	12,60	8,50	4,72	2,94	1,87	1,20	0,65	0,43
<b>T7:a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub></b>	<b>R1</b>	7,60	6,20	3,60	2,32	1,42	0,85	0,43	0,27
	<b>R2</b>	8,80	6,40	4,00	2,44	1,50	0,90	0,47	0,32
	$\bar{X}$	8,20	6,30	3,80	2,38	1,46	0,88	0,45	0,30
<b>T8:a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub></b>	<b>R1</b>	10,40	6,20	4,24	2,72	1,64	0,96	0,51	0,38
	<b>R2</b>	10,00	8,00	4,08	2,72	1,64	0,99	0,52	0,37
	$\bar{X}$	10,20	7,10	4,16	2,72	1,64	0,98	0,51	0,37
<b>T9:a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub></b>	<b>R1</b>	11,20	7,60	4,32	2,68	1,68	1,03	0,56	0,40
	<b>R2</b>	8,40	7,20	4,32	2,64	1,66	1,01	0,57	0,41
	$\bar{X}$	9,80	7,40	4,32	2,66	1,67	1,02	0,56	0,41
<b>T10:a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub></b>	<b>R1</b>	24,80	13,80	7,36	4,68	2,84	1,61	0,82	0,52
	<b>R2</b>	23,20	13,80	7,84	4,80	2,88	1,62	0,83	0,53
	$\bar{X}$	24,00	13,80	7,60	4,74	2,86	1,62	0,82	0,53
<b>T11:a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub></b>	<b>R1</b>	13,60	10,40	6,24	3,84	2,28	1,34	0,69	0,47
	<b>R2</b>	15,20	11,00	6,08	3,84	2,30	1,35	0,67	0,45
	$\bar{X}$	14,40	10,70	6,16	3,84	2,29	1,35	0,68	0,46
<b>T12:a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub></b>	<b>R1</b>	21,20	12,60	7,68	5,12	3,16	1,91	1,01	0,66
	<b>R2</b>	23,20	15,00	8,72	5,68	3,50	2,12	1,07	0,71
	$\bar{X}$	22,20	13,80	8,20	5,40	3,33	2,02	1,04	0,69
<b>T13:Testigo</b>	<b>R1</b>	3,20	2,80	1,44	0,92	0,54	0,32	0,17	0,14
	<b>R2</b>	2,40	1,40	0,96	0,56	0,38	0,24	0,14	0,12
	$\bar{X}$	2,80	2,10	1,20	0,74	0,46	0,28	0,16	0,13

Porcentaje de enzima

a<sub>0</sub>:0,03%

Porcentaje de leche en polvo

a<sub>1</sub>:0,05%

b<sub>0</sub>:3%

b<sub>1</sub>:7%

Tipo de microorganismos probióticos

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

$\bar{X}$ : Promedio    \*: Replica

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A16.** Valores de esfuerzo de cizalla  $\tau$  [Pa] de la colada fermentada de morocho.

Velocidad de deformación (1/s)		0,06	0,13	0,31	0,63	1,26	2,51	6,28	12,57
T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	*R1	0,20	0,31	0,56	0,72	1,02	1,36	1,84	2,63
	*R2	0,15	0,33	0,56	0,77	1,02	1,33	1,92	2,69
	$\bar{X}$	0,18	0,32	0,56	0,74	1,02	1,34	1,88	2,66
T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	R1	0,46	0,59	0,84	1,10	1,30	1,53	2,00	2,71
	R2	0,26	0,36	0,51	0,74	0,92	1,23	1,87	2,66
	$\bar{X}$	0,36	0,47	0,68	0,92	1,11	1,38	1,93	2,69
T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	R1	0,23	0,41	0,67	0,84	1,13	1,36	2,00	2,79
	R2	0,26	0,38	0,69	0,87	1,10	1,48	2,10	2,87
	$\bar{X}$	0,24	0,40	0,68	0,86	1,11	1,42	2,05	2,83
T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	R1	0,74	1,00	1,79	2,25	2,79	3,43	4,43	5,86
	R2	0,74	1,05	1,74	2,20	2,76	3,33	4,43	5,65
	$\bar{X}$	0,74	1,02	1,77	2,23	2,78	3,38	4,43	5,76
T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	R1	0,51	0,84	1,38	1,82	2,20	2,69	3,43	4,53
	R2	0,72	1,02	1,48	1,89	2,35	2,81	3,66	4,89
	$\bar{X}$	0,61	0,93	1,43	1,85	2,28	2,75	3,54	4,71
T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	R1	0,64	0,95	1,41	1,79	2,23	2,87	3,91	5,24
	R2	0,97	1,23	1,61	1,97	2,56	3,25	4,37	5,83
	$\bar{X}$	0,81	1,09	1,51	1,88	2,39	3,06	4,14	5,54
T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	R1	0,49	0,79	1,15	1,48	1,82	2,17	2,76	3,48
	R2	0,56	0,82	1,28	1,56	1,92	2,30	3,02	4,09
	$\bar{X}$	0,52	0,81	1,22	1,52	1,87	2,24	2,89	3,79
T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	R1	0,67	0,79	1,36	1,74	2,10	2,46	3,27	4,89
	R2	0,64	1,02	1,30	1,74	2,10	2,53	3,30	4,68
	$\bar{X}$	0,65	0,91	1,33	1,74	2,10	2,49	3,29	4,78
T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	R1	0,72	0,97	1,38	1,71	2,15	2,63	3,58	5,14
	R2	0,54	0,92	1,38	1,69	2,12	2,58	3,63	5,22
	$\bar{X}$	0,63	0,95	1,38	1,70	2,14	2,61	3,61	5,18
T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	R1	1,59	1,77	2,35	2,99	3,63	4,12	5,24	6,65
	R2	1,48	1,77	2,51	3,07	3,68	4,14	5,30	6,83
	$\bar{X}$	1,53	1,77	2,43	3,03	3,66	4,13	5,27	6,74
T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	R1	0,87	1,33	2,00	2,46	2,92	3,43	4,43	5,99
	R2	0,97	1,41	1,94	2,46	2,94	3,45	4,30	5,70
	$\bar{X}$	0,92	1,37	1,97	2,46	2,93	3,44	4,36	5,85
T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	R1	1,36	1,61	2,46	3,27	4,04	4,89	6,45	8,44
	R2	1,48	1,92	2,79	3,63	4,48	5,42	6,86	9,13
	$\bar{X}$	1,42	1,77	2,62	3,45	4,26	5,15	6,65	8,79
T13:Testigo	R1	0,20	0,36	0,46	0,59	0,69	0,82	1,10	1,77
	R2	0,15	0,18	0,31	0,36	0,49	0,61	0,90	1,53
	$\bar{X}$	0,18	0,27	0,38	0,47	0,59	0,72	1,00	1,65

Porcentaje de enzima	a <sub>0</sub> :0,03%
	a <sub>1</sub> :0,05%
Porcentaje de leche en polvo	b <sub>0</sub> :3%
	b <sub>1</sub> :7%
Tipo de microorganismos probióticos	c <sub>0</sub> : Cultivo lácteo SLB 953
	c <sub>1</sub> : <i>Lb. Casei</i>
	c <sub>2</sub> : Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i>
$\bar{X}$ : Promedio	*: Replica

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A17.** Valores de índice de comportamiento de flujo (n) e índice de consistencia (K) [mPa·s] de la colada fermentada de morocho según modelo ley de la potencia.

Tratamientos	n		K [mPa·s]		R <sup>2</sup>	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	0,47	0,50	847	840	0,990	0,969
T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	0,32	0,43	1178	858	0,993	0,998
T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	0,44	0,44	953	984	0,981	0,989
T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	0,38	0,37	2388	2363	0,979	0,983
T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	0,39	0,35	1860	2070	0,968	0,990
T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	0,38	0,33	2028	2400	0,994	0,998
T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	0,35	0,35	1558	1701	0,973	0,985
T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	0,36	0,35	1862	1899	0,985	0,986
T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	0,35	0,39	1984	1905	0,996	0,981
T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	0,27	0,28	3278	3313	0,995	0,993
T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	0,34	0,31	2596	2615	0,977	0,985
T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	0,35	0,33	3567	3957	0,994	0,994
T13:Testigo	0,36	0,42	646	455	0,970	0,986

Porcentaje de enzima	a <sub>0</sub> :0,03%
	a <sub>1</sub> :0,05%
Porcentaje de leche en polvo	b <sub>0</sub> :3%
	b <sub>1</sub> :7%
Tipo de microorganismos probióticos	c <sub>0</sub> : Cultivo lácteo SLB 953
	c <sub>1</sub> : <i>Lb. Casei</i>
	c <sub>2</sub> : Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i>
R <sup>2</sup> : Coeficiente de correlación	R1: Replica 1
	R2: Replica 2

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A18.** Valores de índice de comportamiento de flujo (n) e índice de consistencia (K) [mPaxs] de la colada fermentada de morocho calculados según Alvarado (1996).

Tratamientos	n		K [mPaxs]		R <sup>2</sup>	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	0,47	0,50	832	825	0,992	0,970
T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	0,32	0,43	1157	843	0,998	0,999
T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	0,44	0,44	936	966	0,989	0,993
T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	0,38	0,37	2346	2322	0,992	0,994
T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	0,39	0,35	1827	2034	0,987	0,997
T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	0,38	0,33	1992	2358	0,998	1,000
T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	0,35	0,35	1531	1671	0,992	0,995
T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	0,36	0,35	1829	1865	0,995	0,996
T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	0,35	0,39	1949	1872	0,999	0,992
T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	0,27	0,28	3220	3255	0,999	0,999
T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	0,34	0,31	2550	2569	0,994	0,997
T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	0,35	0,33	3504	3888	0,998	0,998
T13:Testigo	0,36	0,42	635	447	0,991	0,993

Porcentaje de enzima

a<sub>0</sub>:0,03%

a<sub>1</sub>:0,05%

Porcentaje de leche en polvo

b<sub>0</sub>:3%

b<sub>1</sub>:7%

Tipo de microorganismos probióticos

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

R<sup>2</sup>: Coeficiente de correlación

R1: Replica 1

R2: Replica 2

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

## EVALUACIÓN SENSORIAL

**Tabla A19.** Resultados de pruebas sensoriales de la colada fermentada de morocho.

Catadores	Tratamientos	Aceptabilidad	Color	Aroma	Sabor	Viscosidad
1	T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	1	3	3	1	2
	T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	3	3	3	1	3
	T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	4	3	3	4	4
2	T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	3	3	1	5	1
	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	4	3	3	4	4
	T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	5	3	2	4	3
3	T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	5	4	2	5	2
	T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4	4	3	4	2
	T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4	5	4	4	3
4	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	5	4	4	5	3
	T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	4	4	3	4	4
	T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	2	2	4	2	3
5	T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	1	3	4	2	2
	T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	2	2	3	2	2
	T13:Testigo	1	2	2	1	2
6	T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	1	4	1	2	3
	T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	2	3	4	3	1
	T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	3	3	1	2	3
7	T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	5	3	2	5	4
	T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	1	1	3	1	1
	T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	3	3	5	4	2
8	T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	4	4	1	3	2
	T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	5	4	2	3	4
	T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	4	4	2	3	2
9	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	3	4	2	4	3
	T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	3	3	3	3	3
	T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	5	5	4	4	5
10	T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4	3	3	4	4
	T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	4	4	3	4	2
	T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3	4	2	5	3
11	T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	4	4	2	4	4
	T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	3	3	4	3	3
	T13:Testigo	1	1	1	1	1
12	T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	3	5	1	3	2
	T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	3	4	2	3	3
	T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3	4	2	4	4
13	T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	3	4	3	3	4
	T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	4	3	3	3	2
	T13:Testigo	2	2	3	2	3
14	T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	2	3	3	2	2
	T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	3	3	1	4	4
	T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	4	3	2	1	4

15	T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	3	4	3	3	2
	T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	4	4	4	4	3
	T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	3	4	3	3	2
16	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	3	3	5	3	2
	T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	4	3	4	4	3
	T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	3	4	3	1	3
17	T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4	3	4	2	2
	T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	2	3	3	2	2
	T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	3	3	2	5	4
18	T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3	5	4	5	4
	T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	5	3	1	4	4
	T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	2	1	5	1	3
19	T7:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	4	4	4	4	3
	T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	1	3	3	1	2
	T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	3	4	2	2	2
20	T8:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	2	4	2	3	3
	T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4	4	3	5	3
	T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3	4	3	4	2
21	T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	4	3	2	3	4
	T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3	5	2	5	4
	T13:Testigo	2	4	2	2	1
22	T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	4	4	4	2	3
	T10:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	2	3	2	4	2
	T13:Testigo	1	1	3	3	2
23	T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	3	3	3	2	1
	T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	2	3	3	3	3
	T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	5	3	3	5	2
24	T2:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	3	4	3	3	2
	T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	4	4	3	4	2
	T12:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	2	4	3	2	4
25	T3:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	4	3	5	3	3
	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	5	4	4	5	4
	T13:Testigo	2	3	3	1	1
26	T1:a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	3	3	4	3	2
	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	4	3	3	4	2
	T5:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	3	3	2	3	1

Porcentaje de enzima

a<sub>0</sub>:0,03%

a<sub>1</sub>:0,05%

Porcentaje de leche en polvo

b<sub>0</sub>:3%

b<sub>1</sub>:7%

Tipo de microorganismos probióticos

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

## ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

**Tabla A20.** Resultados recuento total mohos y levaduras mohos y levaduras (ufc/gr)  $\times 10^{-2}$  de los mejores 4 tratamientos de la colada fermentada de morocho.

Tiempo(h)	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>		T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>		T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>		T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>48</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>96</b>	100	100	100	100	0	100	400	100
<b>144</b>	300	100	300	400	800	1000	1500	900
<b>192</b>	500	1100	1500	1100	1500	1200	75400	79600
<b>240</b>	2000	1500	5200	4900	62400	56000	102400	118000

Porcentaje de enzima

a<sub>0</sub>:0,03%

a<sub>1</sub>:0,05%

Porcentaje de leche en polvo

b<sub>0</sub>:3%

b<sub>1</sub>:7%

Tipo de microorganismos probióticos

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

R1: Replica 1

R2: Replica 2

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A21.** Resultados recuento total de aerobios mesófilos (ufc/gr) $\times 10^{-3}$  de los mejores 4 tratamientos de la colada fermentada de morocho.

Tiempo(h)	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	T9:a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	T11:a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>
<b>48</b>	48500	46500	54500	64500
<b>96</b>	37500	43500	53000	56000
<b>144</b>	31500	32000	48000	33000
<b>192</b>	11500	15500	13000	23000
<b>240</b>	0	15500	0	23000
<b>288</b>	0	7000	0	3000
<b>336</b>	0	0	0	0

Porcentaje de enzima

a<sub>0</sub>:0,03%

a<sub>1</sub>:0,05%

Porcentaje de leche en polvo

b<sub>0</sub>:3%

b<sub>1</sub>:7%

Tipo de microorganismos probióticos

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

## DETERMINACIÓN DE VIDA ÚTIL

**Tabla A22.** Recuento de mohos y levaduras en el tratamiento T4:a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub> para la determinación de vida útil de la colada fermentada de morocho.

Tiempo(h)	T4:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>			
	R1	R2	Promedio	Ln ufc/gr
0	0	0	0	0
48	0	0	0	0
96	100	100	100	4,6052
144	300	100	200	5,2983
192	500	1100	800	6,6846
240	2000	1500	1750	7,4674

(a<sub>0</sub>:0,03% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% de leche en polvo, c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A23.** Recuento de mohos y levaduras en el tratamiento T6:a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> para la determinación de vida útil de la colada fermentada de morocho.

Tiempo(h)	T6:a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>			
	R1	R2	Promedio	Ln ufc/gr
0	0	0	0	0
48	0	0	0	0
96	100	100	100	4,6052
144	300	400	350	5,8579
192	1500	1100	1300	7,1701
240	5200	4900	5050	8,5271

(a<sub>0</sub>:0,03% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% de leche en polvo, c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-Lb. Case)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A24.** Recuento de mohos y levaduras en el tratamiento T9:a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> para la determinación de vida útil de la colada fermentada de morocho.

<b>T9:a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub></b>				
<b>Tiempo(h)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>Promedio</b>	<b>Ln ufc/gr</b>
<b>0</b>	0	0	0	0
<b>48</b>	0	0	0	0
<b>96</b>	0	100	50	3,9120
<b>144</b>	800	1000	900	6,8024
<b>192</b>	1500	1200	1350	7,2079
<b>240</b>	62400	56000	59200	10,9887

(a<sub>1</sub>:0,05% de enzima, b<sub>0</sub>: 3% de leche en polvo, c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla A25.** Recuento de mohos y levaduras en el tratamiento T11:a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> para la determinación de vida útil de la colada fermentada de morocho.

<b>T11:a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub></b>				
<b>Tiempo(h)</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>Promedio</b>	<b>Ln ufc/gr</b>
<b>0</b>	0	0	0	0
<b>48</b>	0	0	0	0
<b>96</b>	400	100	250	5,5215
<b>144</b>	1500	900	1200	7,0901
<b>192</b>	75400	79600	77500	11,2580
<b>240</b>	102400	118000	110200	11,6101

(a<sub>1</sub>:0,05% de enzima, b<sub>1</sub>: 7% de leche en polvo, c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*)

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014



## ANÁLISIS PROXIMAL

**Tabla A27.** Análisis proximal del mejor tratamiento T6:a0b1c2.

(0,03% de enzima, 7% de leche en polvo, Cultivo lácteo SLB 953-Lb. Case)

Conservación: Ambiente:		Refrigeración: 4°C		Congelación:		Almac. en Lab: n/a	
Cierres seguridad: Ninguno:		Intactos: X		Rotos:		Muestreo por el cliente: 31enero2014	
RESULTADOS OBTENIDOS							
Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados	Métodos utilizados	Unidades	Resultados	
Bebida fermentada	3014075	Ninguno	*Cenizas	PE05-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 930.30	%	<b>0.724</b>	
			*Proteína	AOAC 991.2. Ed 19, 2012	% (Nx6.25)	<b>2.16</b>	
			*Sólidos Totales	PE06-5.4-FQ. AOAC Ed 19 927.05	%	<b>29.1</b>	
			*Grasa	AOAC 2000.18 Gerber. Ed 19, 2012	%	<b>2.52</b>	
			*Carbohidratos Totales	Cálculo	%	<b>23.7</b>	
			*Energía	Cálculo	Kcal/100g	<b>131</b>	
Conds. Ambientales: 19.8°C; 51%HR							
 <div style="display: inline-block; text-align: center;">               Ing. Marcelo Soria V.              Director de Calidad           </div>							
Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si							msv

Nota: Los resultados consignados se refieren exclusivamente a la muestra recibida. El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado.

No es un documento negociable. Sólo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente.

*"La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser vinculante. Si usted no es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente".*

**Fuente:** Laboratorio de Análisis de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL), 2014.

# **ANEXO B**

# **ANÁLISIS**

# **ESTADÍSTICO**

## ANÁLISIS pH DURANTE LA INCUBACIÓN

**Tabla B1.** Análisis de varianza para % de enzima, % de leche y tipo de microorganismos probióticos, en relación al pH durante el tiempo de incubación.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>COVARIABLES</b>					
Replica	0,0117042	1	0,0117042	3,56	0,0858
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:% Enzima	0,0126042	1	0,0126042	3,84	0,0760
B:% Leche	0,0828375	1	0,0828375	25,21	0,0004*
C:Microorganismo	0,289508	2	0,144754	44,05	0,0000*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0,0477042	1	0,0477042	14,52	0,0029*
AC	0,0836083	2	0,0418042	12,72	0,0014*
BC	0,107275	2	0,0536375	16,32	0,0005*
ABC	0,0158083	2	0,00790417	2,41	0,1360
RESIDUOS	0,0361458	11	0,00328598		
TOTAL (CORREGIDO)	0,687196	23			

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B2.** Prueba de comparación de Tukey para él % de enzima.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Enzima</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0,5	12	4,63167	0,0165479	A
0,3	12	4,6775	0,0165479	A

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B3.** Prueba de comparación de Tukey para % de leche.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Leche</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	12	4,59583	0,0165479	B
7	12	4,71333	0,0165479	A*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

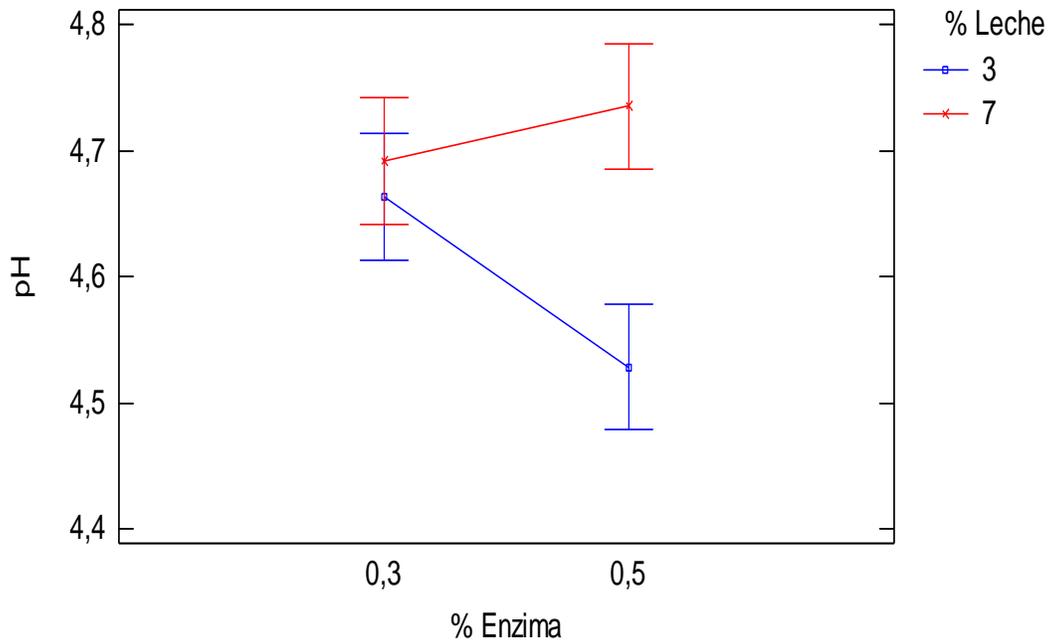
**Tabla B4.** Prueba de comparación de Tukey para el tipo de microorganismo.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Microorganismo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
SBL 953+Lb. casei	8	4,5425	0,0202669	C
Lb. Casei	8	4,6175	0,0202669	B
Cultivo SLB 953	8	4,80375	0,0202669	A*

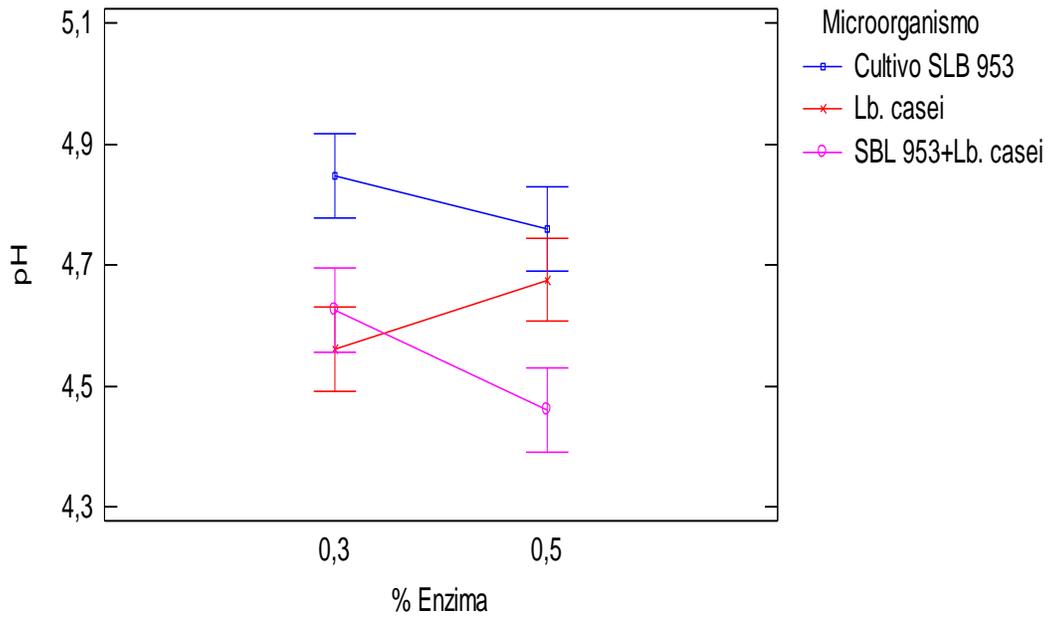
**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD



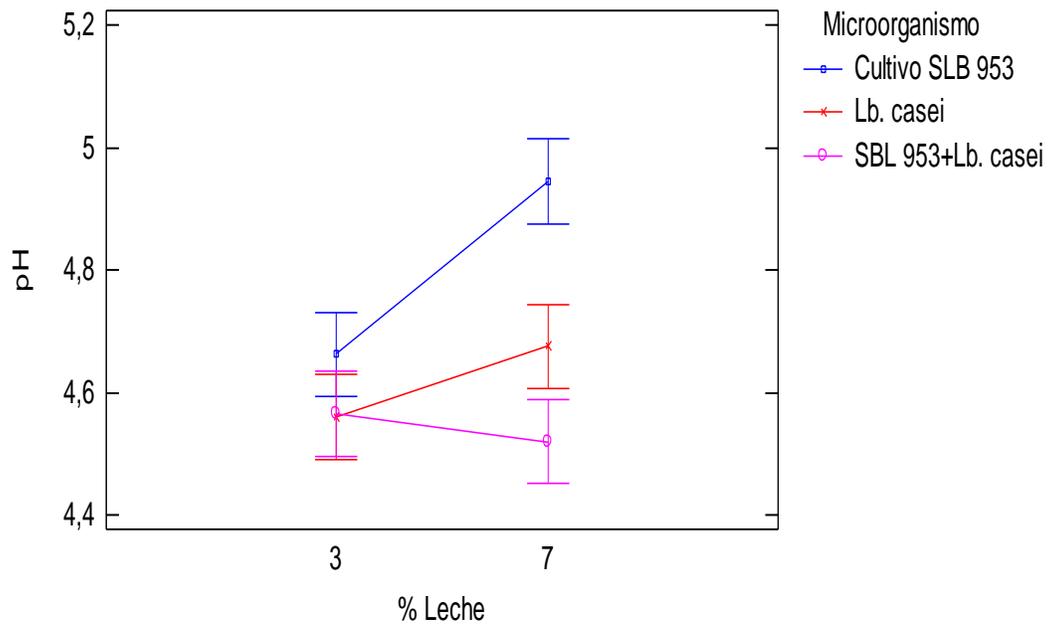
**Figura B.1.** Interacción entre el % de leche y % de enzima

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD



**Figura B.2.** Interacción entre el tipo de microorganismo y % de enzima.

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD



**Figura B.3.** Interacción entre el tipo de microorganismo y % de leche.

## RESPUESTAS EXPERIMENTALES PARA PROPIEDADES REOLÓGICAS

**Tabla B5.** Análisis de varianza para % de enzima, % de leche y Tipo de microorganismos probióticos, en relación al índice de consistencia por el método ley de la potencia.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>COVARIABLES</b>					
Replica	27213,2	1	27213,2	1,44	0,2546
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:% Enzima	5,47739E6	1	5,47739E6	290,75	0,0000*
B:% Leche	1,04893E7	1	1,04893E7	556,80	0,0000*
C:Microorganismo	504944,	2	252472,	13,40	0,0011*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	38925,6	1	38925,6	2,07	0,1784
AC	292581,	2	146290,	7,77	0,0079*
BC	713428,	2	356714,	18,94	0,0003*
ABC	158036,	2	79017,8	4,19	0,0443*
RESIDUOS	207224,	11	18838,6		
TOTAL (CORREGIDO)	1,7909E7	23			

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B6.** Prueba de comparación de Tukey para el % de enzima.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Enzima</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0,3	12	1564,04	39,6217	B
0,5	12	2519,5	39,6217	A*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B7.** Prueba de comparación de Tukey para % de leche.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Leche</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	12	1380,67	39,6217	B
7	12	2702,87	39,6217	A*

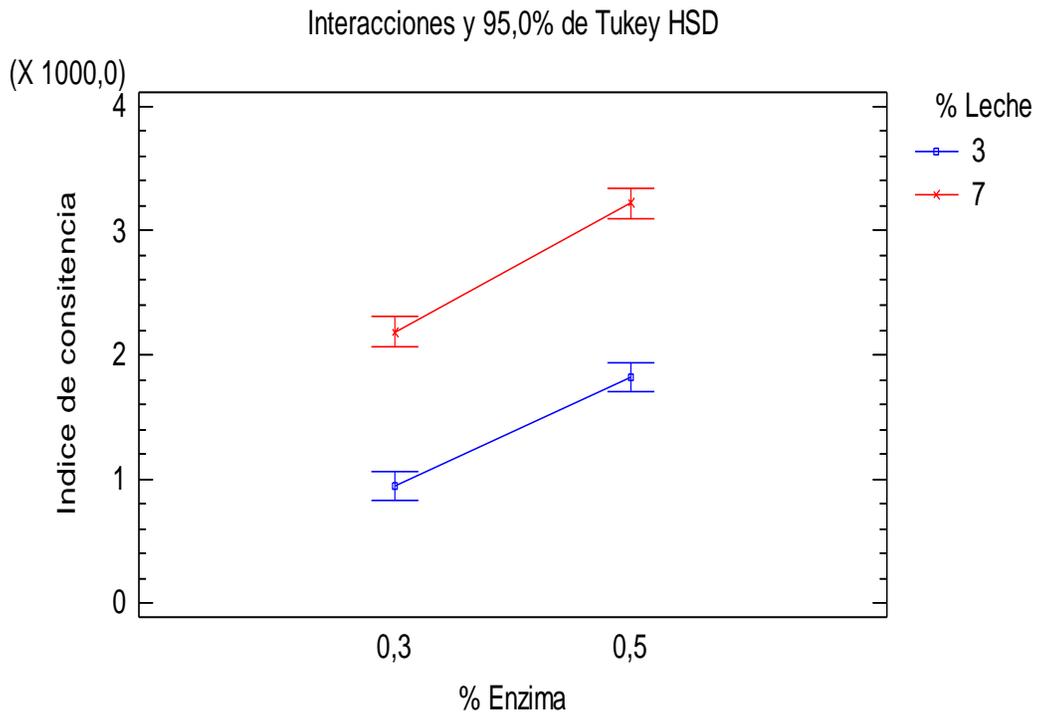
**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B8.** Prueba de comparación de Tukey para el tipo de microorganismo.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

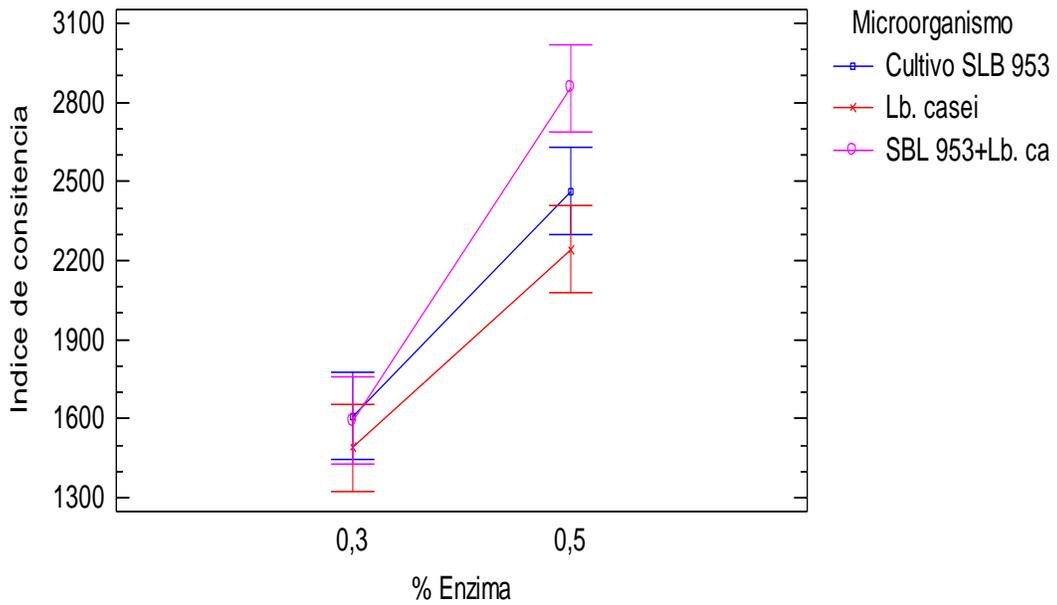
<i>Microorganismo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Lb. Casei	8	1867,09	48,5265	B
Cultivo SLB 953	8	2035,98	48,5265	BA
SBL 953+Lb. casei	8	2222,25	48,5265	A*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014



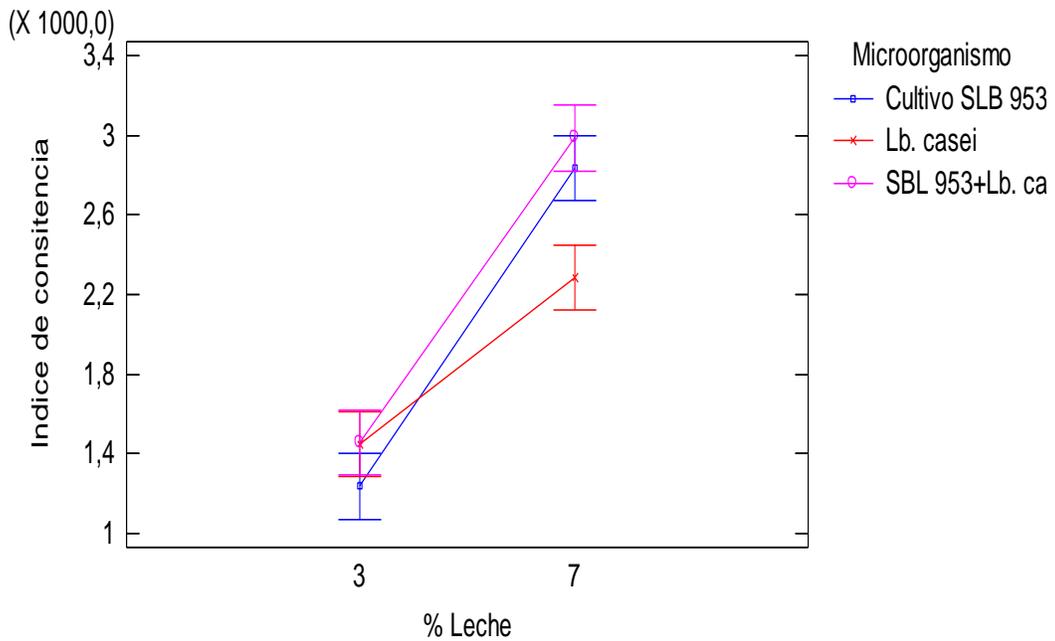
**Figura B.4.** Interacción entre el % de leche y % de enzima

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD



**Figura B.5.** Interacción entre tipo de microorganismo y % enzima.

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD



**Figura B.6.** Interacción entre el tipo de microorganismo y % de leche.

**Tabla B9.** Análisis de varianza para % de enzima, % de leche y tipo de microorganismos probióticos, en relación al índice de consistencia según Alvarado (1996).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>COVARIABLES</b>					
Replica	26334,4	1	26334,4	1,45	0,2541
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:% Enzima	5,28751E6	1	5,28751E6	290,72	0,0000*
B:% Leche	1,01257E7	1	1,01257E7	556,74	0,0000*
C:Microorganismo	487235,	2	243617,	13,39	0,0011*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	37525,0	1	37525,0	2,06	0,1787
AC	282707,	2	141353,	7,77	0,0079*
BC	688647,	2	344323,	18,93	0,0003*
ABC	152459,	2	76229,3	4,19	0,0443*
RESIDUOS	200062,	11	18187,5		
TOTAL (CORREGIDO)	1,72882E7	23			

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B10.** Prueba de comparación de Tukey para él % de enzima.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Enzima</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0,3	12	1536,5	38,931	B
0,5	12	2475,25	38,931	A*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B11.** Prueba de comparación de Tukey para él % de leche.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Leche</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	12	1356,33	38,931	B
7	12	2655,42	38,931	A*

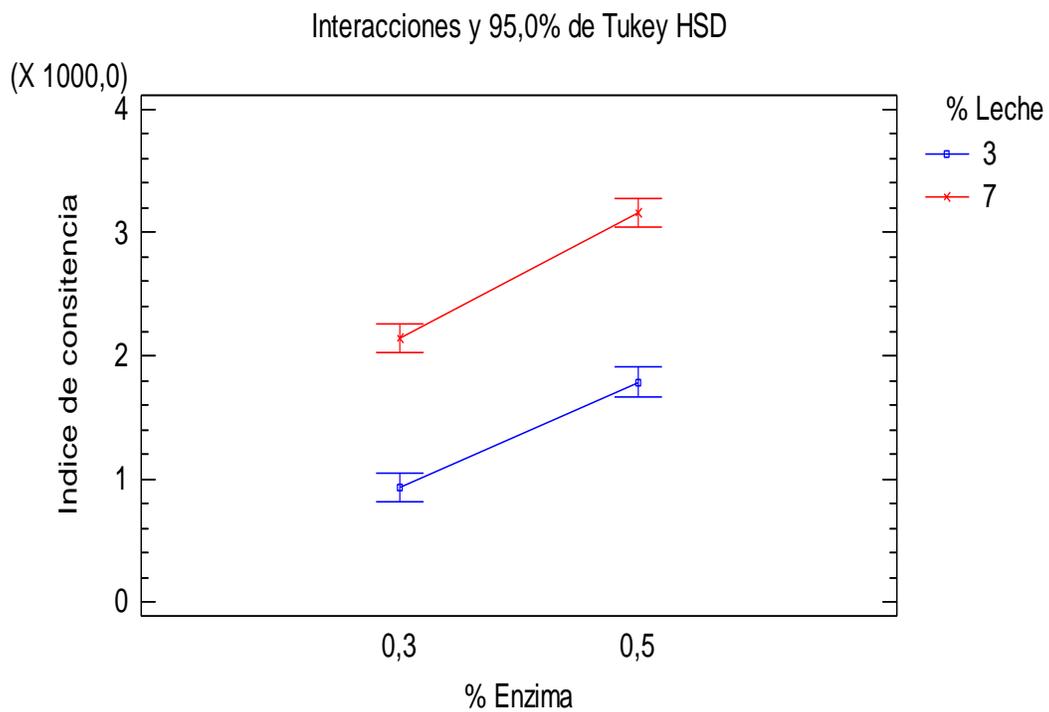
**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B12.** Prueba de comparación de Tukey para el tipo de microorganismo.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

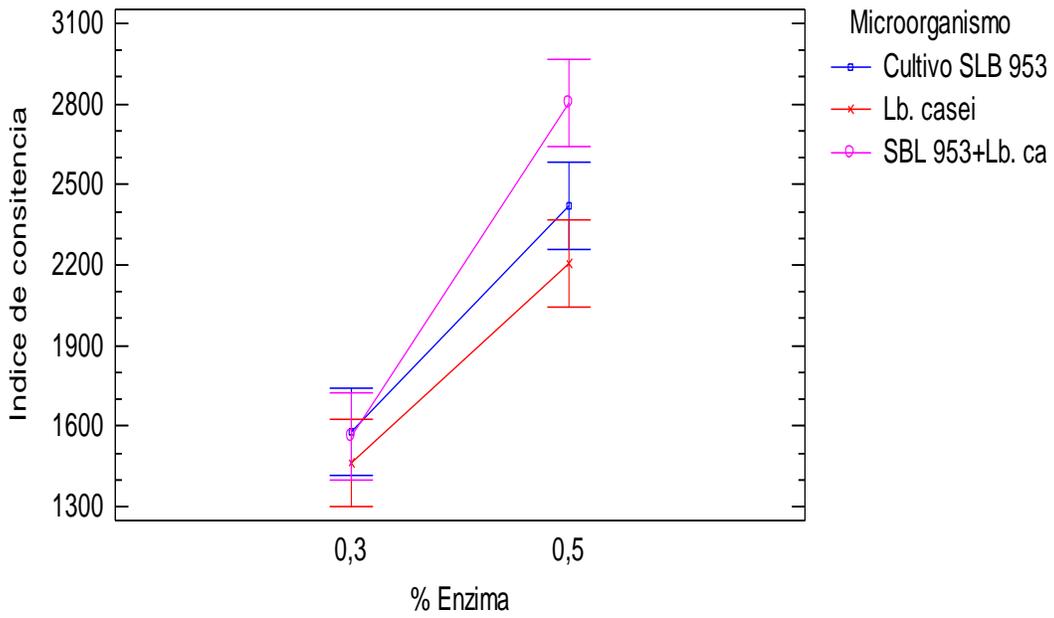
<i>Microorganismo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Lb. casei	8	1834,25	47,6805	B
Cultivo SLB 953	8	2000,25	47,6805	BA
SBL 953+Lb. casei	8	2183,13	47,6805	A*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014



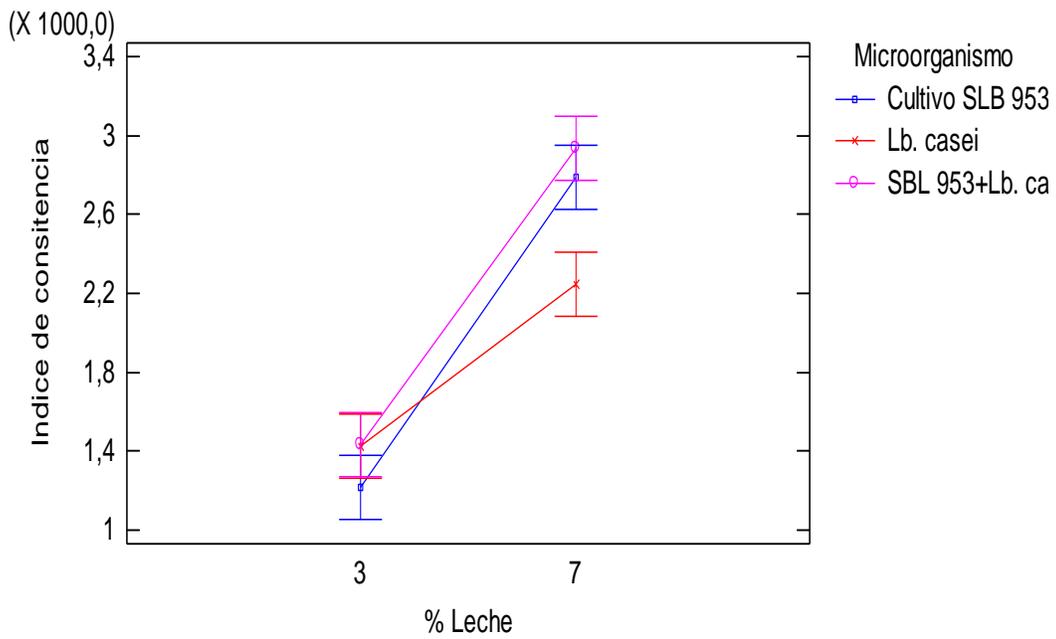
**Figura B.7.** Interacción entre el % de leche y % de enzima

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD



**Figura B.8.** Interacción entre tipo de microorganismo y % enzima.

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD



**Figura B.9.** Interacción entre el tipo de microorganismo y % de leche.

## ANÁLISIS SENSORIAL

**Tabla B13.** Análisis de varianza para análisis sensorial en relación al color.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Catadores	23,6538	25	0,946154	1,76	0,0545
B:Tratamientos	14,4615	12	1,20513	2,24	<b>0,0282*</b>
RESIDUOS	21,5385	40	0,538462		
TOTAL (CORREGIDO)	59,6538	77			

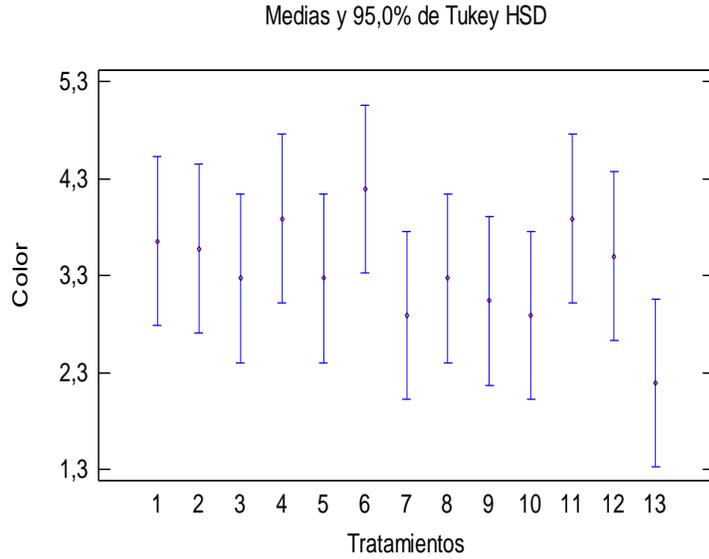
**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B14.** Prueba de múltiple rangos para color por tratamientos.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
13	6	2,19231	0,348719	B
7	6	2,88462	0,348719	BA
10	6	2,88462	0,348719	BA
9	6	3,03846	0,348719	BA
5	6	3,26923	0,348719	BA
8	6	3,26923	0,348719	BA
3	6	3,26923	0,348719	BA
12	6	3,5	0,348719	BA
2	6	3,57692	0,348719	BA
1	6	3,65385	0,348719	BA
11	6	3,88462	0,348719	BA
4	6	3,88462	0,348719	BA
6	6	4,19231	0,348719	A*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014



**Figura B.10.** Comparación tratamientos en relación al color.

**Tabla B15.** Análisis de varianza para análisis sensorial en relación al Aroma.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Catadores	30,8333	25	1,23333	1,22	0,2843
B:Tratamientos	9,4359	12	0,786325	0,78	0,6714
RESIDUOS	40,5641	40	1,0141		
TOTAL (CORREGIDO)	80,8333	77			

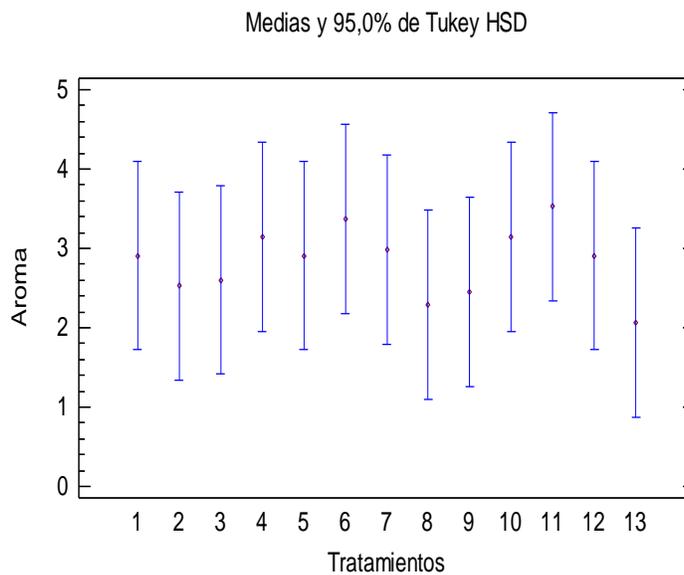
**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B16.** Prueba de múltiple rangos para aroma por tratamientos.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
13	6	2,0641	0,478564	A
8	6	2,29487	0,478564	A
9	6	2,44872	0,478564	A
2	6	2,52564	0,478564	A
3	6	2,60256	0,478564	A
12	6	2,91026	0,478564	A
5	6	2,91026	0,478564	A
1	6	2,91026	0,478564	A
7	6	2,98718	0,478564	A
10	6	3,14103	0,478564	A
4	6	3,14103	0,478564	A
6	6	3,37179	0,478564	A
11	6	3,52564	0,478564	A

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014



**Figura B.11.** Comparación tratamientos en relación al aroma.

**Tabla B17.** Análisis de varianza para análisis sensorial en relación al sabor.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Catadores	41,9615	25	1,67846	1,52	0,1172
B:Tratamientos	31,7436	12	2,6453	2,39	<b>0,0195*</b>
RESIDUOS	44,2564	40	1,10641		
TOTAL (CORREGIDO)	117,962	77			

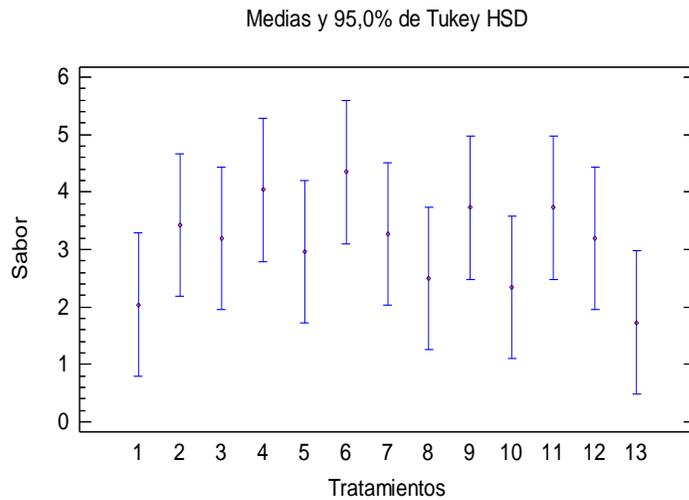
**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B18.** Prueba de Múltiple Rangos para Sabor por Tratamientos.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
13	6	1,73077	0,49987	B
1	6	2,03846	0,49987	BA
10	6	2,34615	0,49987	BA
8	6	2,5	0,49987	BA
5	6	2,96154	0,49987	BA
12	6	3,19231	0,49987	BA
3	6	3,19231	0,49987	BA
7	6	3,26923	0,49987	BA
2	6	3,42308	0,49987	BA
11	6	3,73077	0,49987	BA
9	6	3,73077	0,49987	BA
4	6	4,03846	0,49987	BA
6	6	4,34615	0,49987	A*

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014



**Figura B.12.** Comparación tratamientos en relación al sabor.

**Tabla B19.** Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a la viscosidad.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Catadores	25,7051	25	1,02821	1,61	0,0873
B:Tratamientos	17,1282	12	1,42735	2,24	<b>0,0284*</b>
RESIDUOS	25,5385	40	0,638462		
TOTAL (CORREGIDO)	68,3718	77			

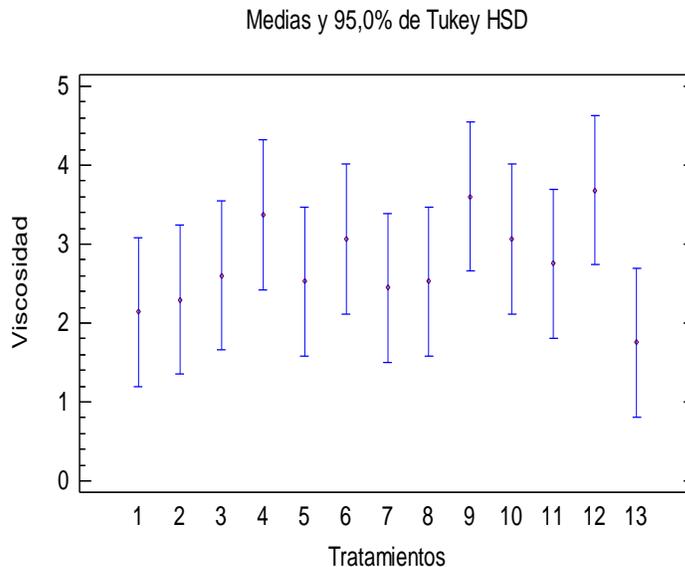
**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B20.** Prueba de múltiple rangos para viscosidad por tratamientos.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
13	6	1,75641	0,379722	B
1	6	2,14103	0,379722	BA
2	6	2,29487	0,379722	BA
7	6	2,44872	0,379722	BA
5	6	2,52564	0,379722	BA
8	6	2,52564	0,379722	BA
3	6	2,60256	0,379722	BA
11	6	2,75641	0,379722	BA
6	6	3,0641	0,379722	BA
10	6	3,0641	0,379722	BA
4	6	3,37179	0,379722	BA
9	6	3,60256	0,379722	BA
12	6	3,67949	0,379722	A

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014



**Figura B.13.** Comparación tratamientos en relación a viscosidad.

**Tabla B21.** Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a la aceptabilidad.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Catadores	32,0513	25	1,28205	1,35	0,1957
B:Tratamientos	30,6154	12	2,55128	2,68	0,0096*
RESIDUOS	38,0513	40	0,951282		
TOTAL (CORREGIDO)	100,718	77			

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

**Tabla B22.** Prueba de múltiple rangos para aceptabilidad por tratamientos.

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
13	6	1,51282	0,463504	B
12	6	2,35897	0,463504	BA
10	6	2,4359	0,463504	BA
1	6	2,66667	0,463504	BA
7	6	2,97436	0,463504	BA
8	6	2,97436	0,463504	BA
2	6	3,05128	0,463504	BA
5	6	3,28205	0,463504	BA
3	6	3,51282	0,463504	BA
11	6	3,82051	0,463504	BA
4	6	3,89744	0,463504	A
9	6	3,97436	0,463504	A
6	6	4,20513	0,463504	A

**Elaborado por:** Dario I. Ojeda S., 2014

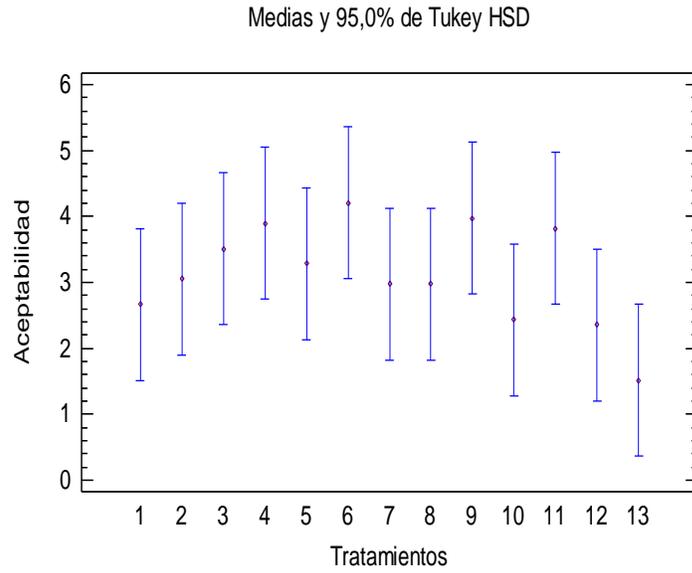
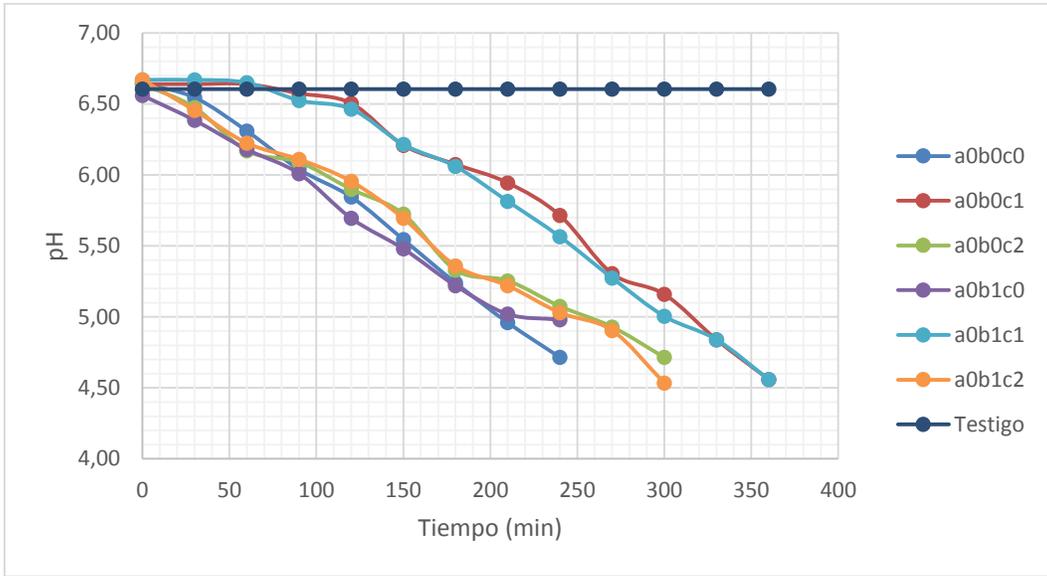


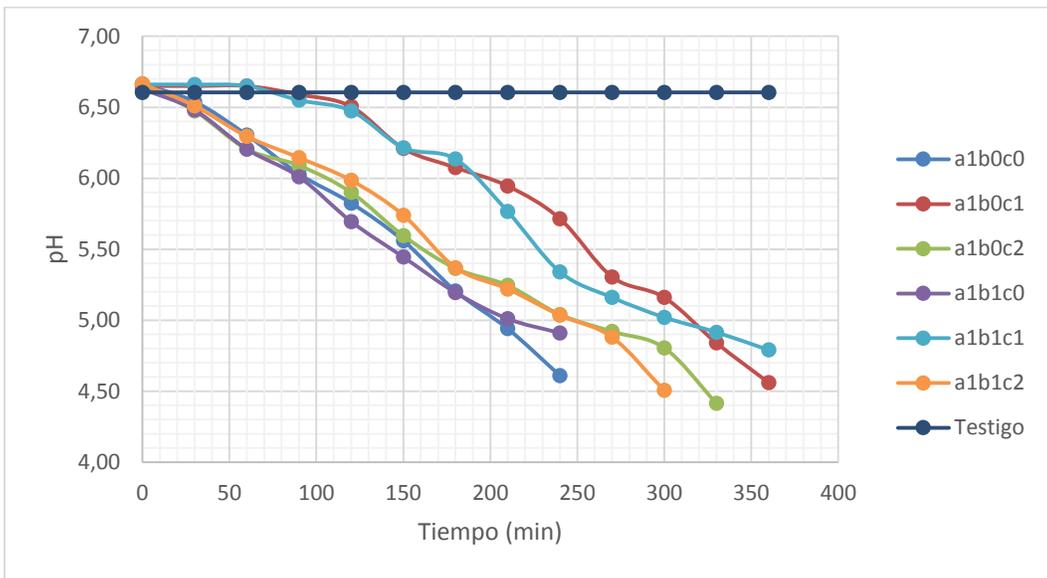
Figura B.14. Comparación tratamientos en relación a aceptabilidad.

# **ANEXO C**

# **GRÁFICOS**

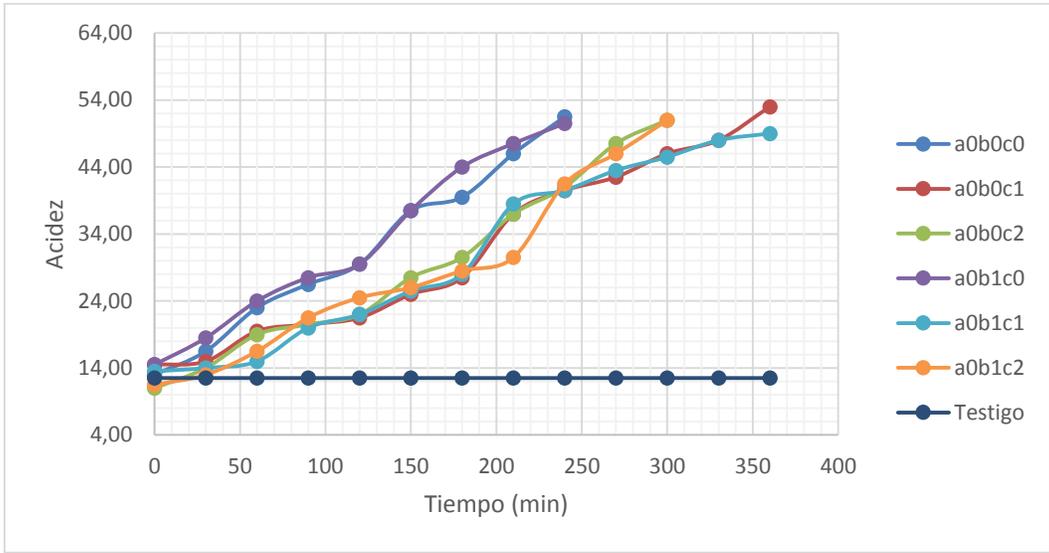


**Figura C.1.** Promedio pH vs. Tiempo (min) durante el proceso de fermentación.

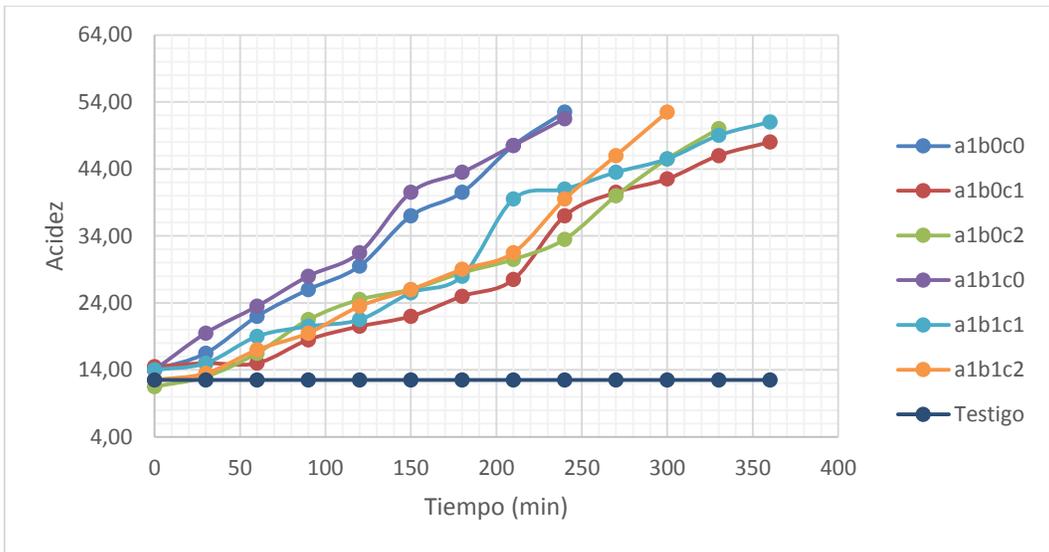


**Figura C.2.** Promedio pH vs. Tiempo (min) durante el proceso de fermentación (Cont.).

Porcentaje de enzima	a <sub>0</sub> :0,03%
	a <sub>1</sub> :0,05%
Porcentaje de leche en polvo	b <sub>0</sub> :3%
	b <sub>1</sub> :7%
Tipo de microorganismos probióticos	c <sub>0</sub> : Cultivo lácteo SLB 953
	c <sub>1</sub> : <i>Lb. Casei</i>
	c <sub>2</sub> : Cultivo lácteo SLB 953- <i>Lb. Casei</i>



**Figura C.3.** Promedio acidez vs. Tiempo (min) durante el proceso de fermentación.



**Figura C.4.** Promedio acidez vs. Tiempo (min) durante el proceso de fermentación (Cont.).

Porcentaje de enzima

a<sub>0</sub>:0,03%

Porcentaje de leche en polvo

a<sub>1</sub>:0,05%

b<sub>0</sub>:3%

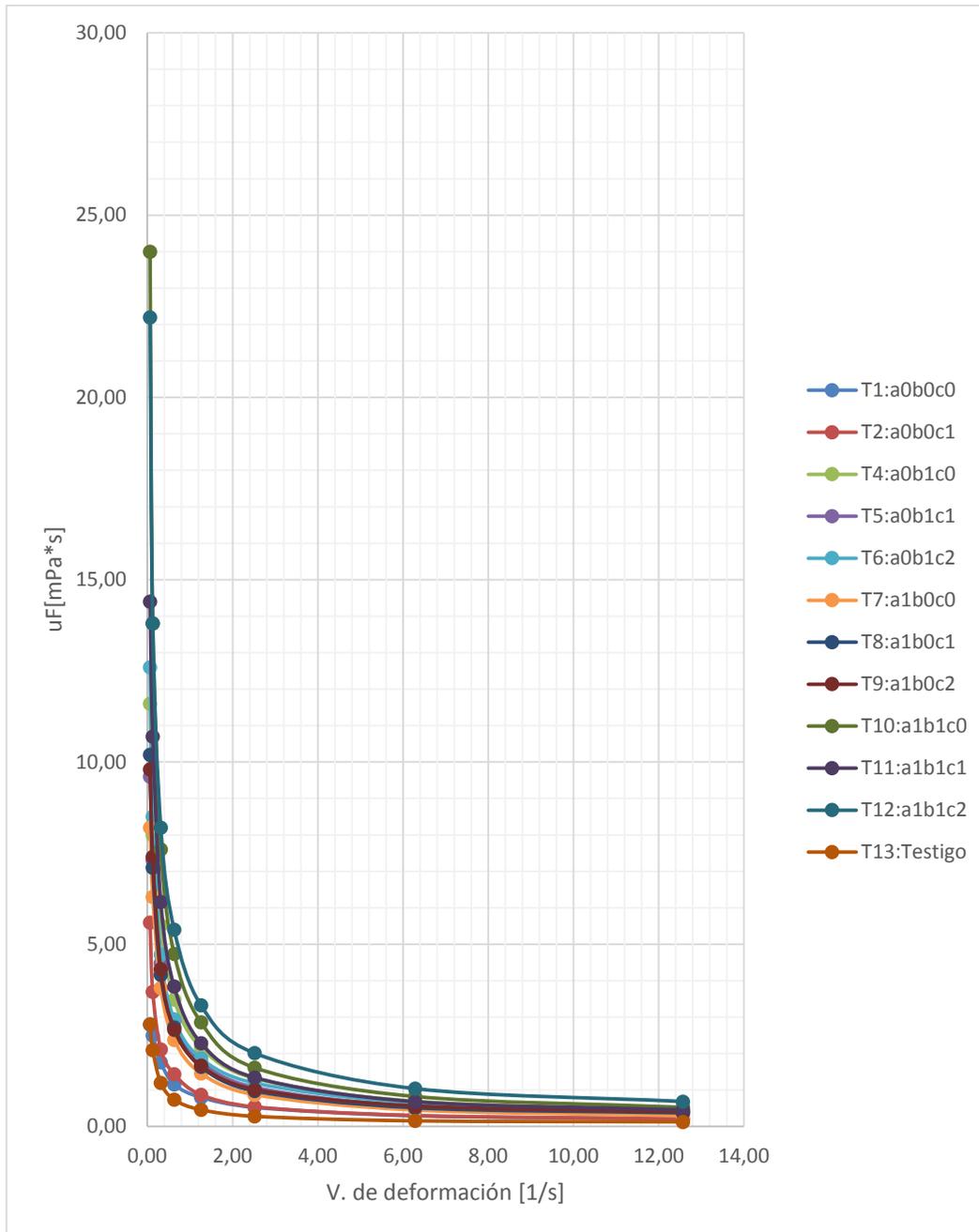
b<sub>1</sub>:7%

Tipo de microorganismos probióticos

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*



Porcentaje de enzima

a<sub>0</sub>:0,03%

Porcentaje de leche en polvo

a<sub>1</sub>:0,05%

b<sub>0</sub>:3%

b<sub>1</sub>:7%

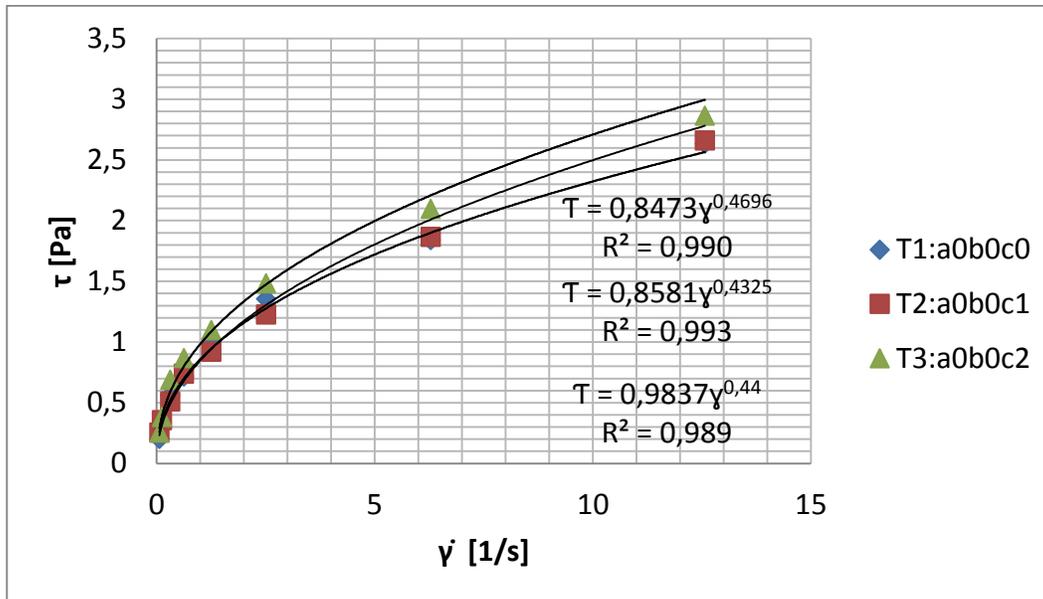
Tipo de microorganismos probióticos

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

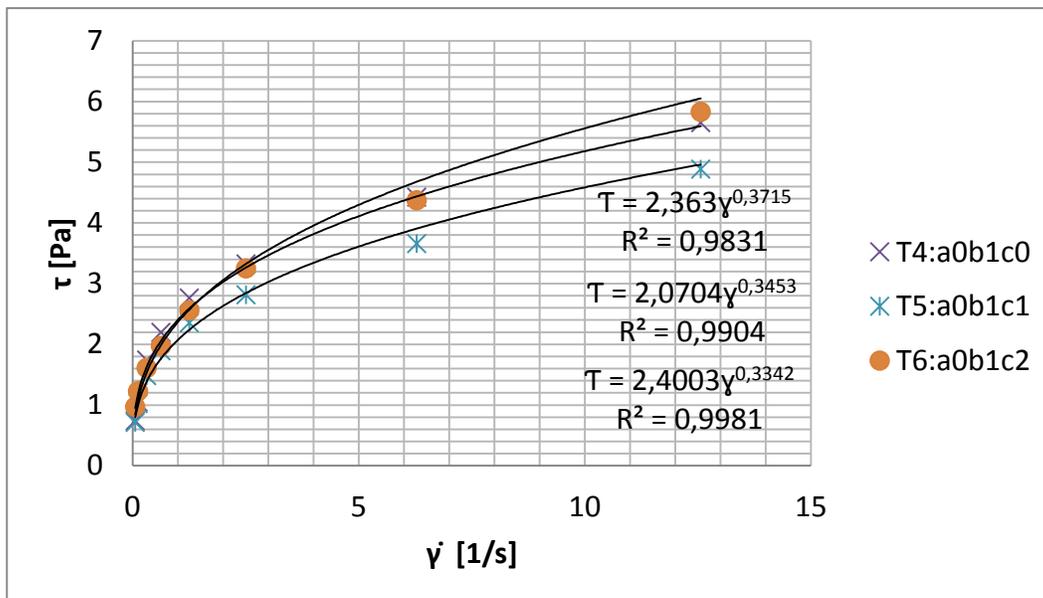
c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.5.** Relación entre el velocidad de deformación y viscosidad aparente  $\mu_r$  [Paxs].



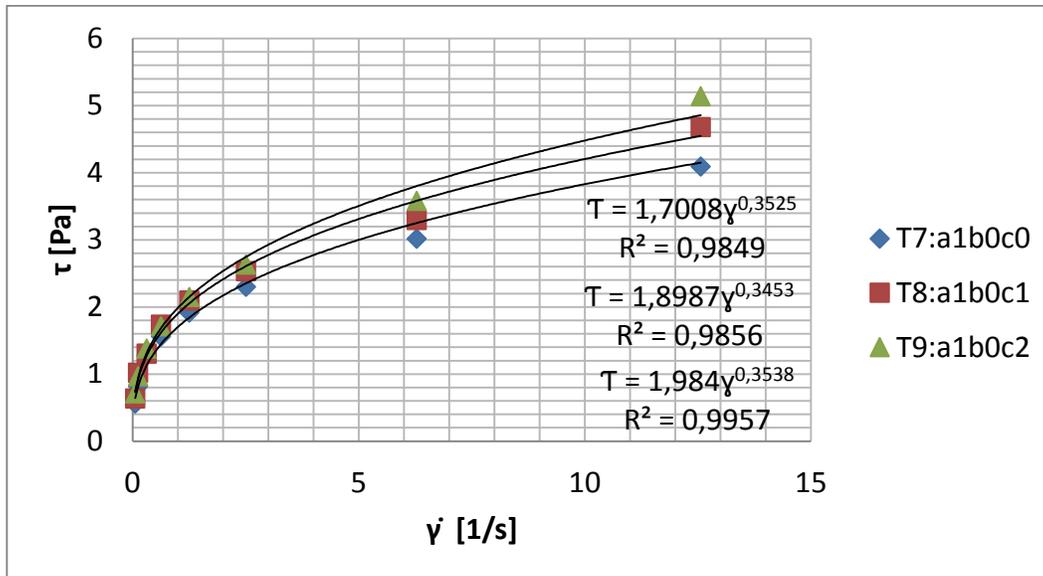
a<sub>0</sub>: 0,03% enzima-b<sub>0</sub>:3% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.6.** Relación entre el esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación tratamientos a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.



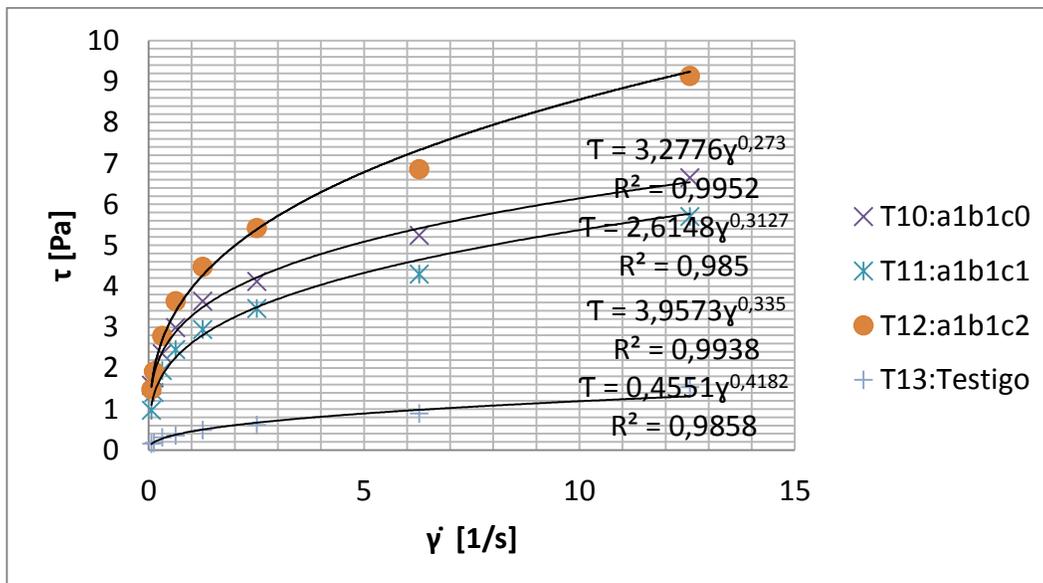
a<sub>0</sub>: 0,03% enzima-b<sub>1</sub>:7% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.7.** Relación entre el esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.



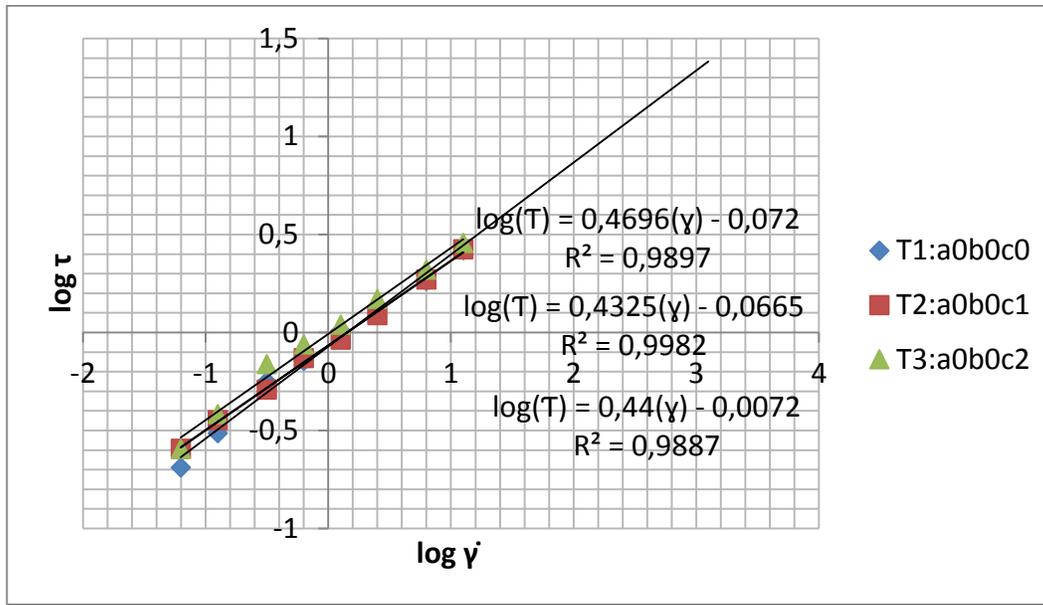
a<sub>1</sub>: 0,05% enzima-b<sub>0</sub>:3% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.8.** Relación entre el esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.



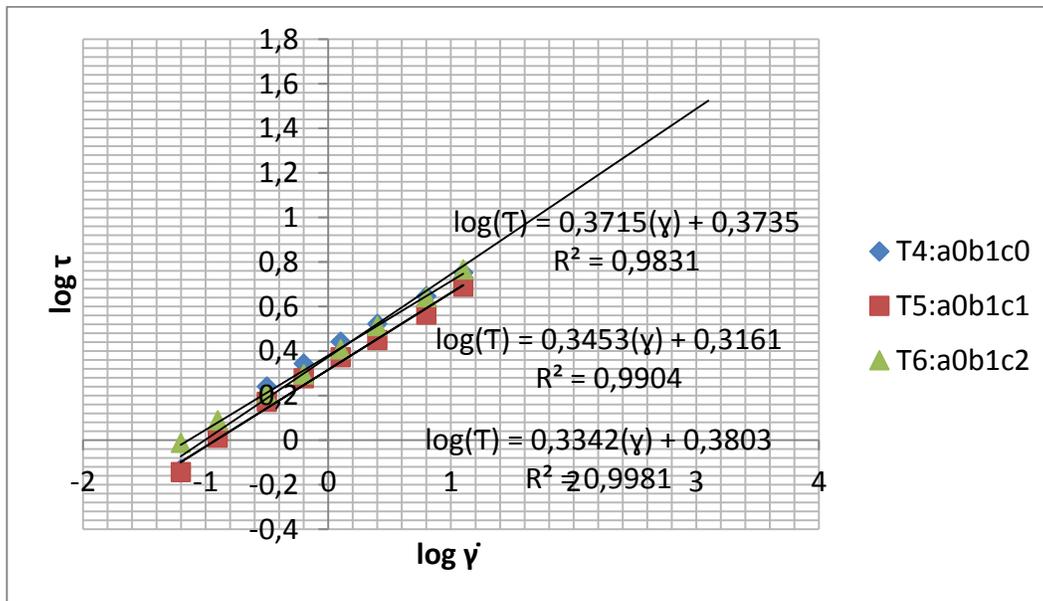
a<sub>1</sub>: 0,05% enzima-b<sub>1</sub>:7% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*  
 Testigo: 0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.9.** Relación entre el esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.



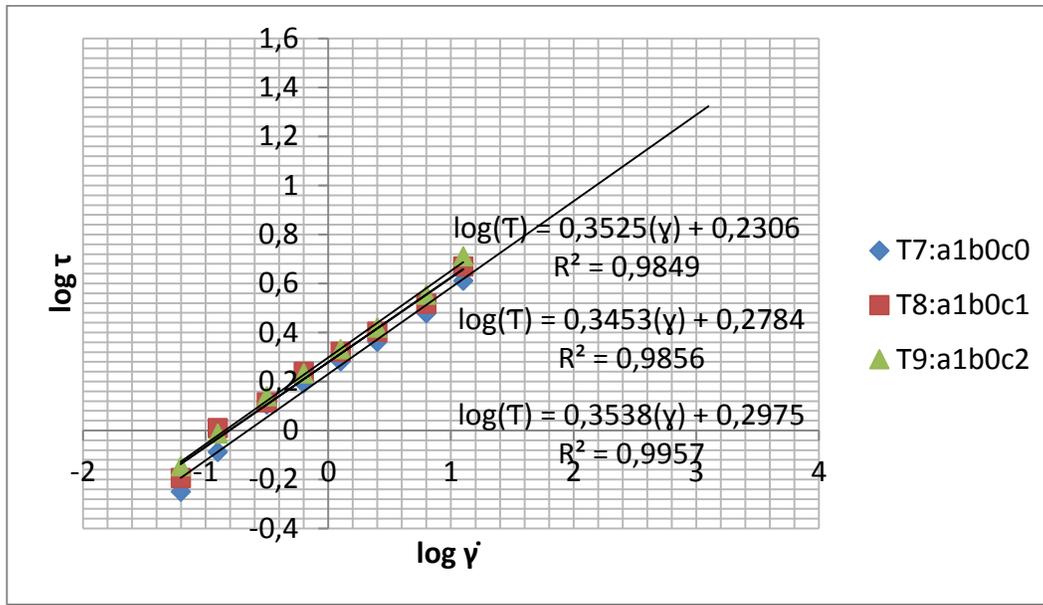
a0: 0,03% enzima-b0:3% leche-c0: Cultivo lácteo SLB 953-c1: *Lb. Casei*-c2: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.10.** Relación entre los logaritmos del esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento a0b0c0, a0b0c1 y a0b0c2 como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.



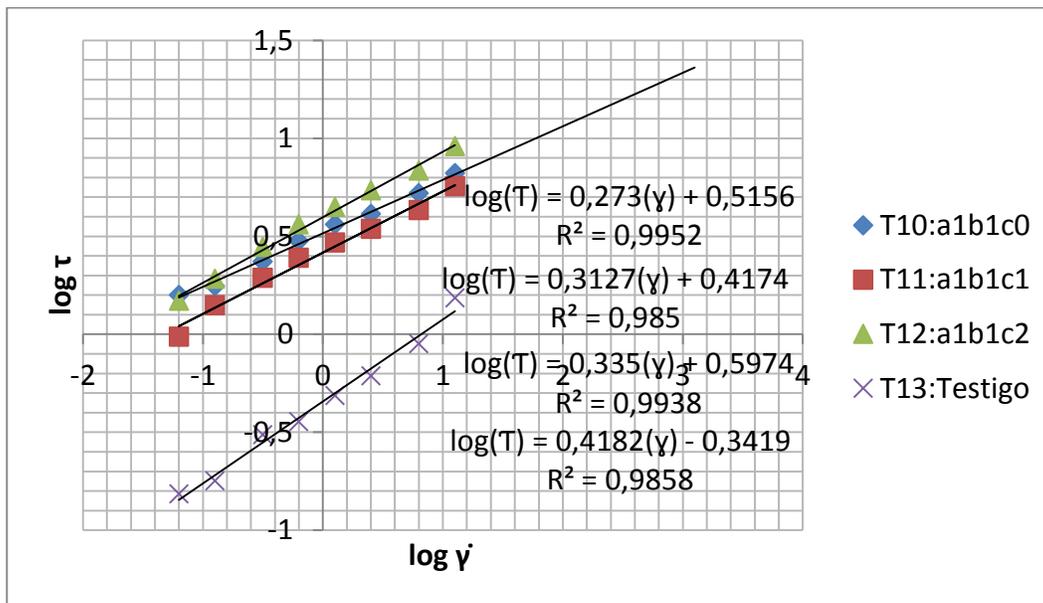
a0: 0,03% enzima-b1:7% leche-c0: Cultivo lácteo SLB 953-c1: *Lb. Casei*-c2: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.11.** Relación entre los logaritmos del esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento a0b1c0, a0b1c1 y a0b1c2 como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.



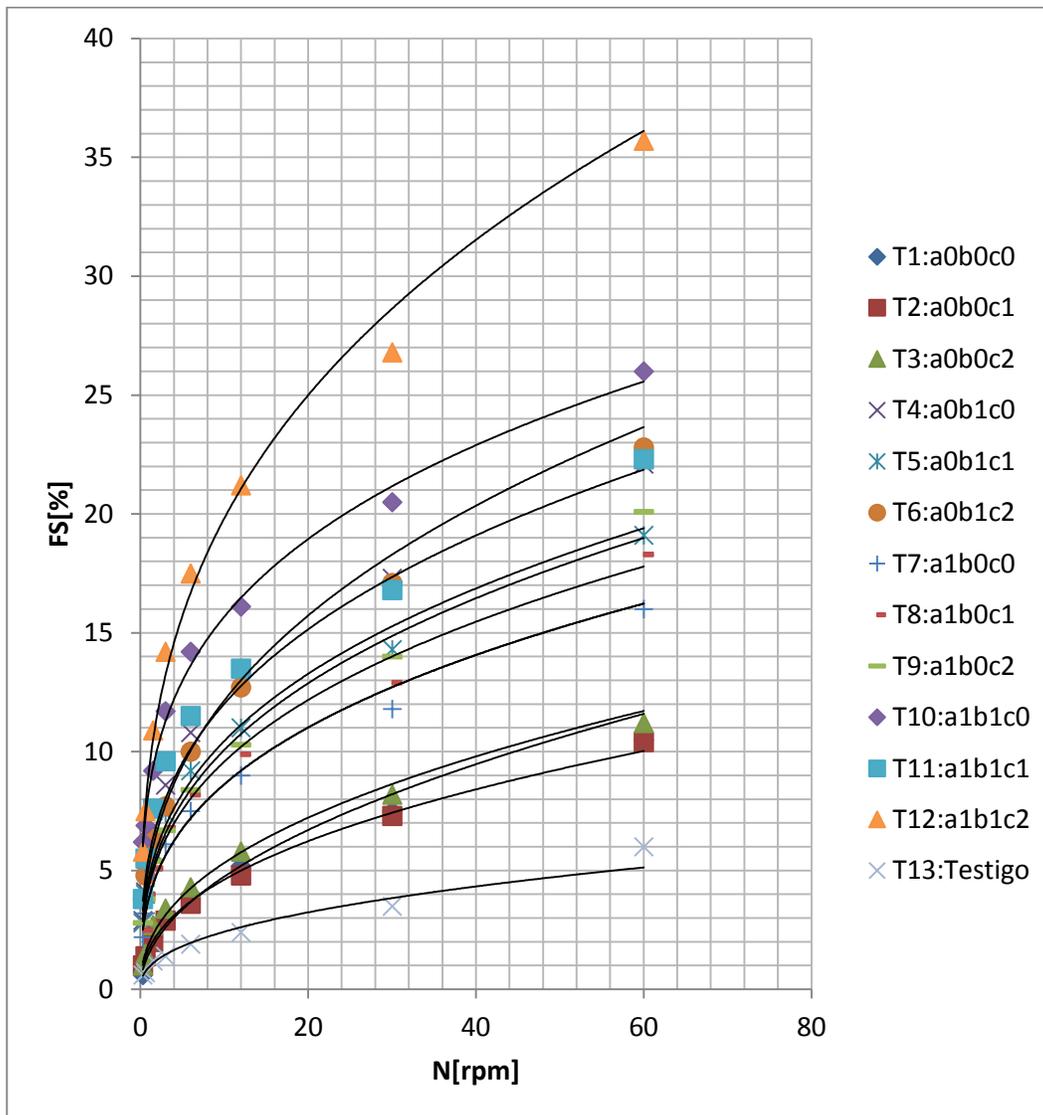
a<sub>1</sub>: 0,05% enzima-b<sub>0</sub>:3% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.12.** Relación entre los logaritmos del esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.



a<sub>1</sub>: 0,05% enzima-b<sub>1</sub>:7% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*  
 Testigo: 0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.13.** Relación entre los logaritmos del esfuerzo de cizallamiento y velocidad de deformación del tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico ley de la potencia.



**Factores**

**A:** Porcentaje de enzima

**B:** Porcentaje de leche en polvo

**C:** Tipo de microorganismos probióticos

**Niveles**

a<sub>0</sub>:0,03%

a<sub>1</sub>:0,05%

b<sub>0</sub>:3%

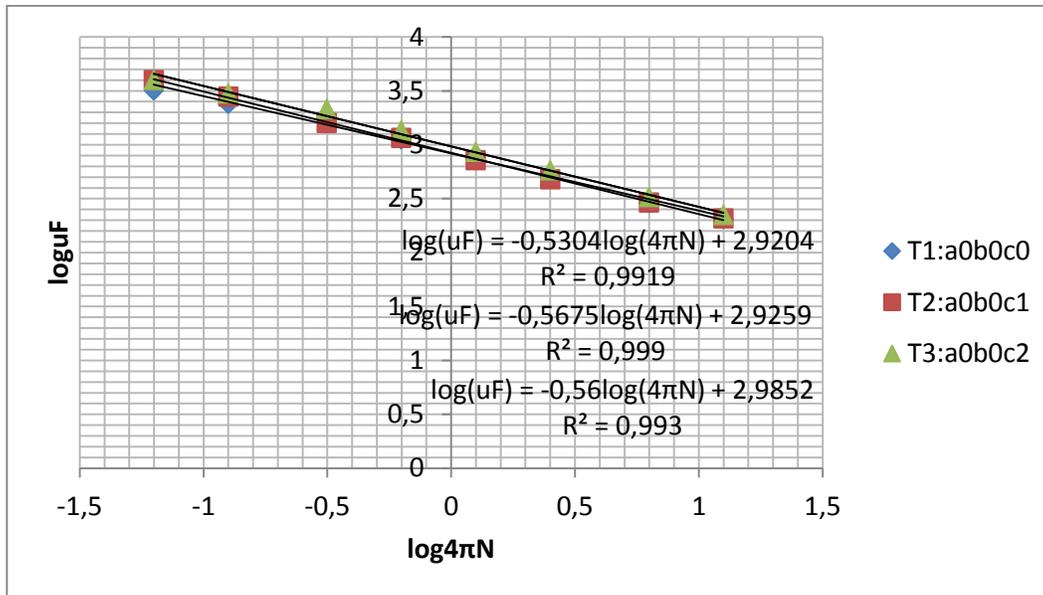
b<sub>1</sub>:7%

c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953

c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*

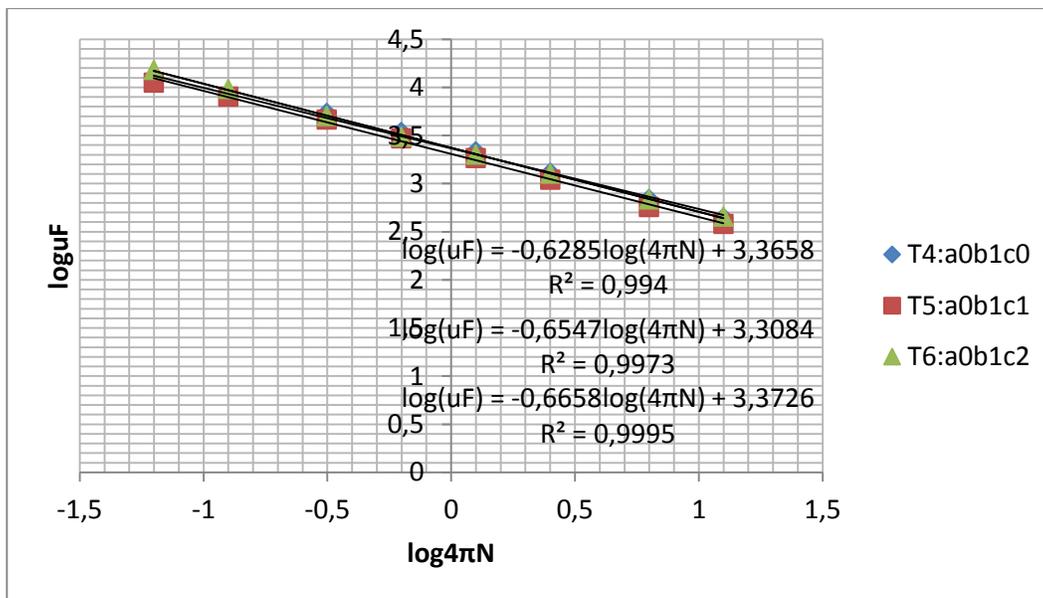
c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.14.** Relación entre el porcentaje de Full Scale y velocidad de deformación de los 12 tratamientos como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).



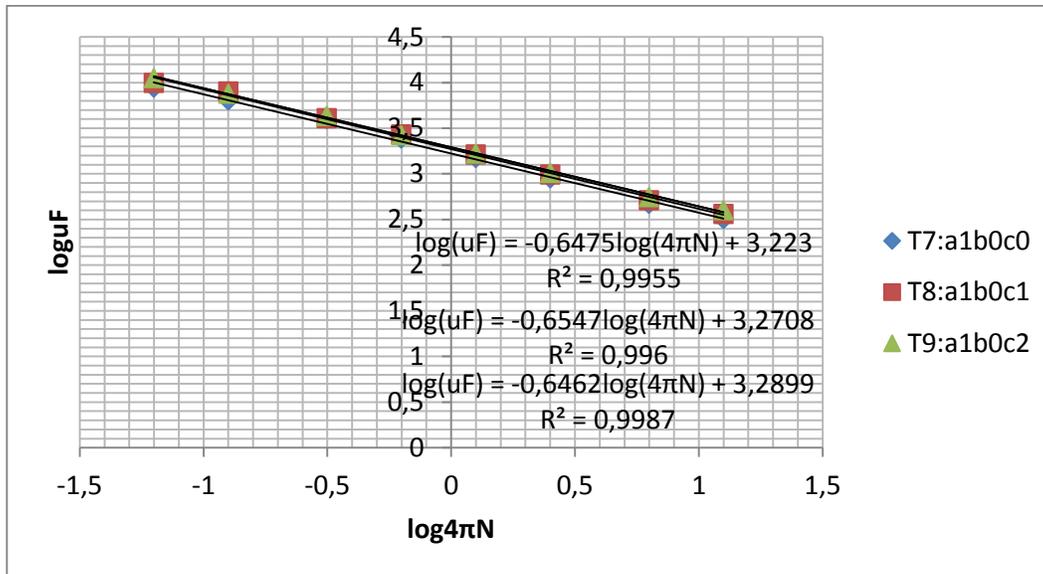
a<sub>0</sub>: 0,03% enzima-b<sub>0</sub>:3% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.15.** Relación entre los logaritmos de viscosidad aparente y velocidad de cizallamiento tratamientos a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).



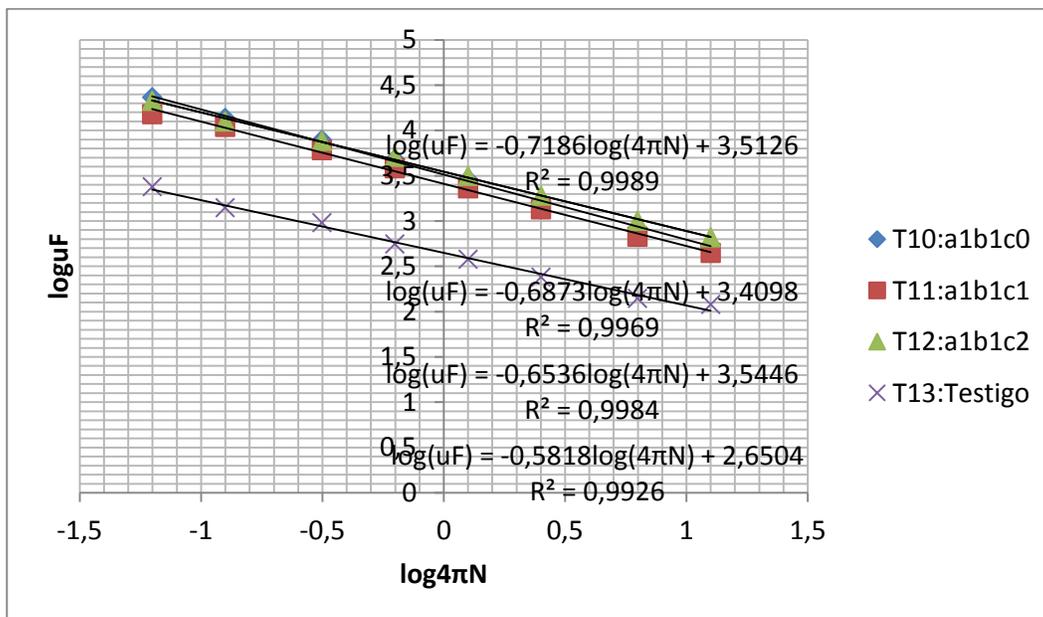
a<sub>0</sub>: 0,03% enzima-b<sub>1</sub>:7% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.16.** Relación entre los logaritmos de viscosidad aparente y velocidad de cizallamiento del tratamiento a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).



a<sub>1</sub>: 0,05% enzima-b<sub>0</sub>:3% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.17.** Relación entre los logaritmos de viscosidad aparente y velocidad de cizallamiento del tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).



a<sub>1</sub>: 0,05% enzima-b<sub>1</sub>:7% leche-c<sub>0</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-c<sub>1</sub>: *Lb. Casei*-c<sub>2</sub>: Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*  
 Testigo: 0,05% de enzima, 0% de leche, Cultivo lácteo SLB 953-*Lb. Casei*

**Figura C.18.** Relación entre los logaritmos de viscosidad aparente y velocidad de cizallamiento del tratamiento a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>, a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub> y a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub> como fluido Pseudoplástico según Alvarado (1996).

**ANEXO D**  
**MÉTODOS**  
**EMPLEADOS**  
**PARA EL ANÁLISIS**

## **Anexo D.1. Manual de uso del Viscosímetro Rotacional Brookfield LVTD**

1. Asegúrese de que el equipo este bien armado, controlando que este fijo a un soporte, nivelado y con el brazo protector.
2. Coloque 600ml de la muestra en un vaso de vidrio adecuado y lleve a la parte inferior del viscosímetro.
3. Coloque el rotor 1 y suba la perilla de "POWER".
4. Luego ubíquese al costado del equipo y con la perilla de las velocidades coloque en 12 rpm.
5. Suba la perilla de "MOTOR" y utilizando la perilla "ZERO" mueva al lado necesario para conseguir que la pantalla marque 00,0.
6. Apague la perilla "MOTOR" y empiece en la velocidad 0,3 rpm, manipulando la perilla del costado del equipo.
7. Introduzca el rotor hasta donde se indica en la señal y encienda la perilla "MOTOR", entonces la medición se iniciará, cuando la lectura de la pantalla sea estable por 10 segundos, anote ese dato.
8. Para la siguiente lectura baje el botón "MOTOR" y manipulando la perilla del costado del equipo suba la velocidad a 0,6 rpm y repita el paso 7.
9. Realizar el paso 8 y 7 consecutivamente con las velocidades 0,3; 0,6; 1,5; 3; 6; 12; 30 y 60 rpm, o hasta cuando obtenga lecturas y la pantalla no marque ERROR.
10. Cuando termine baje el botón "MOTOR" y el botón "POWER", y la perilla del costado déjela en 0,3 rpm.
11. Luego retire el rotor utilizado y lávelo con mucho cuidado.
12. Desarme el equipo y guárdelo en su maletín ubicando adecuadamente todas las partes.

**Nota importante:** Si el rotor 1, no le da lecturas pruebe colocando los otros tres rotores y determine cuál es el apropiado para realizar sus ensayos de viscosidad. Sus lecturas están expresadas en % (Full Scale), que posteriormente puede ser utilizado para determinar la viscosidad del alimento ensayado.

## Anexo D.2. HOJA PARA EVALUACIÓN SENSORIAL

### **FICHA DE CATAACION DE BEBIDA FUNCIONAL**

**Nombre:**..... **Fecha:**.....

Por favor marque con una **X** la alternativa que usted crea describe mejor al producto.

<b>MUESTRAS</b>				
<b>COLOR</b>	1. Disgusta mucho			
	2. Disgusta poco			
	3. Ni gusta, ni disgusta			
	4. Gusta poco			
	5. Gusta mucho			
<b>AROMA</b>	1. Muy ligero			
	2. Ligero			
	3. Ni intenso, ni ligero			
	4. Intenso			
	5. Muy intenso			
<b>SABOR</b>	1. Disgusta mucho			
	2. Disgusta poco			
	3. Ni gusta, ni disgusta			
	4. Gusta poco			
	5. Gusta mucho			
<b>VISCOSIDAD</b>	1. Muy fluido			
	2. Poco fluido			
	3. Ni fluido, ni espeso			
	4. Poco espeso			
	5. Muy espeso			
<b>ACEPTABILIDAD</b>	1. Desagrada mucho			
	2. Desagrada poco			
	3. Ni agrada, ni desagrada			
	4. Agrada poco			
	5. Agrada mucho			

**COMENTARIOS Y SUGERENCIAS:**

.....

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

## Anexo D.3. Norma INEN 2395-2. Leches Fermentadas. Requisitos

CDU: 637.146  
ICS: 67.100.01



CIIU: 3112  
AL 03.01-442

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

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

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

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

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

#### 4. CLASIFICACIÓN

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

**4.1.1** Según el contenido de grasa en:

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

**4.1.2** De acuerdo a los ingredientes en:

- a) Natural,
- b) Con ingredientes,

**4.1.3** De acuerdo al proceso de elaboración en:

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

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

- a) suave
- b) fuerte

#### 5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

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

(Continúa)

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

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

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

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

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

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

## 6. REQUISITOS

### 6.1 Requisitos específicos

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

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

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

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

**TABLA 1. Especificaciones de las leches fermentadas**

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

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

(Continúa)

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

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

PRODUCTO	Yogur, kumis, kéfir, leche cultivada, leches fermentadas con ingredientes y leche fermentada concentrada Mínimo	kéfir y kumis Mínimo
Suma de microorganismos que comprenden el cultivo definido para cada producto	10 <sup>7</sup> UFC/g	
Bacterias probióticas	10 <sup>8</sup> UFC/g	
Levaduras		10 <sup>4</sup> UFC/g

### 6.1.6 Requisitos microbiológicos

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

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

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

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

En donde:

n = Número de muestras a examinar.

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

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

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

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

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

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

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

### 6.2 Requisitos complementarios

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

(Continúa)

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

## **7. INSPECCIÓN**

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

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

## **8. ENVASADO Y EMBALADO**

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

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

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

## **9. ROTULADO**

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

*(Continúa)*

## APÉNDICE Z

### Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4	<i>Leche y productos lácteos. Muestreo</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9	<i>Leche cruda. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 10	<i>Leche pasteurizada. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 12	<i>Leche. Determinación del contenido de grasa.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 13	<i>Leche. Determinación de la acidez titulable.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 16	<i>Leche. Determinación de la proteína</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 19	<i>Leche. Ensayo de fosfatasa.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 379	<i>Conservas vegetales. Determinación de alcohol etílico.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 701	<i>Leche larga vida. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-2	<i>Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1500	<i>Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-7	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del recuento de colonias.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-8	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y escherichia coli.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de mohos y levaduras viables.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	<i>Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2335	<i>Leche larga vida. Método para control de la esterilidad comercial</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2401	<i>Leche determinación de suero de quesería en leche fluida y en polvo. Método de cromatografía líquida de alta eficacia.</i>
Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022	<i>Rotulado de productos alimenticios procesados, envasados y empaquetados</i>
<i>Ley 2007-76</i>	<i>del Sistema Ecuatoriano de la Calidad. Publicado en el Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22.</i>
Decreto Ejecutivo 3253	<i>Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados, Registro Oficial 696 de 4 de Noviembre del 2002</i>
Codex Alimentarius CAC/MRL 1	<i>Lista de límites máximos para residuos de plaguicidas en los alimentos.</i>
Codex Alimentarius CAC/MRL 2	<i>Lista de límites máximos para residuos de medicamentos veterinarios.</i>
<i>Codex Stan 193-1995 Norma General del Codex para los contaminantes y toxinas presentes en los alimentos.</i>	

### Z.2 BASES DE ESTUDIO

- Norma Andina. NA 078:2009 *Leches fermentadas. Requisitos.* Comunidad Andina, Lima 2009
- Norma Técnica Colombiana NCT 805 *Productos Lácteos. Leches Fermentadas.* Bogotá 2000.
- Programa Conjunto FAO – OMS *Norma del Codex para leches fermentadas.* Codex Stan 243-2003. Adoptado 2003. Revisión 2008, 2010

(Continúa)

Ministerio de Agricultura y de Abastecimiento del Brasil. Resolución No. 5 de 13 de noviembre del 2000. *Especificaciones para las leches fermentadas.*

Secretaría de Salud. Norma Mexicana NOM 185-SSA1-2002 *Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias.* México 2002.



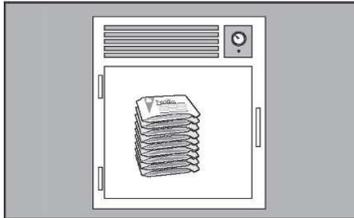
## Anexo D.4. Guía de siembra de Levaduras y Mohos

3M™ Petrifilm™  
Levaduras y Mohos

Instrucciones  
de uso



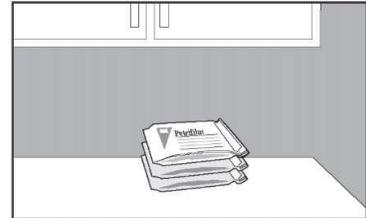
### Almacenamiento



**1** Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.



**2** Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

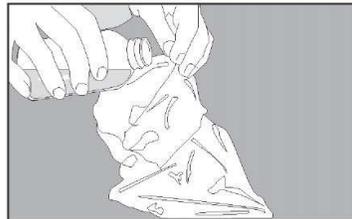


**3** Mantener las bolsas cerradas de nuevo a ~21 cC, a <50% HR. No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm en 1 mes desde su apertura.

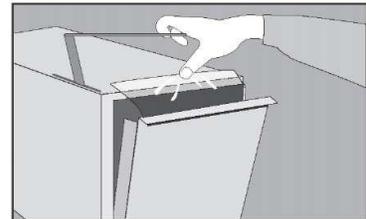
### Preparación



**4** Preparar una dilución del producto alimenticio a 1:10 o superior. Pesar o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac, bolsa Stomacher, botella de dilución, o cualquier otro contenedor estéril apropiado.

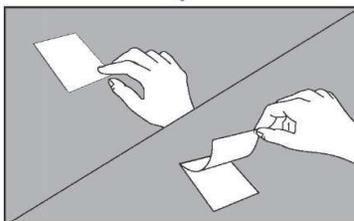


**5** Añadir una cantidad adecuada de diluyente. Pueden ser los métodos standard de tampón fosfato, agua peptonada al 0,1 %, triptona sal, agua destilada, solución salina fosfato tamponada o tampón de Butterfield. No utilizar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.

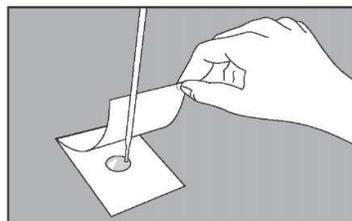


**6** Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales. Si se requiere una sensibilidad mayor con productos lácteos o zumos consultar el folleto para Petrifilm en productos lácteos y zumos.

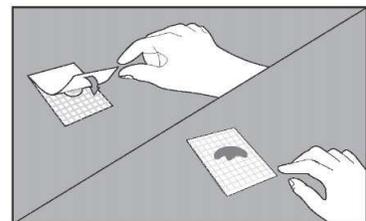
### Inoculación



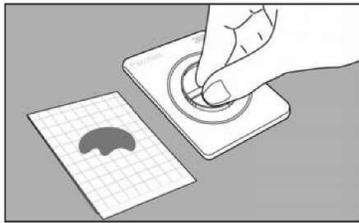
**7** Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.



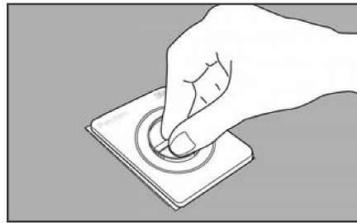
**8** Con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm colocar 1 ml. de muestra en el centro del film inferior.



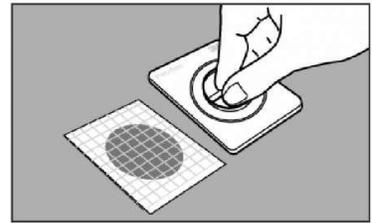
**9** Dejar caer el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire.



**10** Sujetando el aplicador por la barrita soporte, colocar el aplicador para Petrifilm levaduras y mohos sobre la placa Petrifilm.

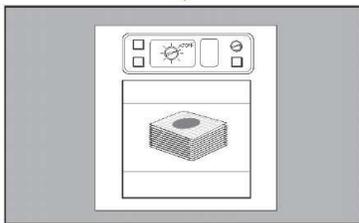


**11** Ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



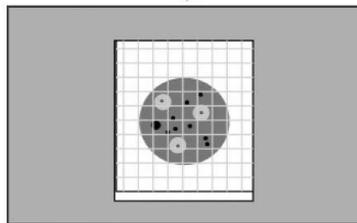
**12** Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que solidifique el gel.

## Incubación



**13** Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas a temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 3-5 días.

## Interpretación



**14** Leer las placas Petrifilm en un contador de colonias standard tipo Quebec o una fuente de luz con aumento. Para leer los resultados consultar la Guía de Interpretación.

## Comentarios adicionales

- los pasos 9 y 10 son únicos para las placas Petrifilm levaduras y Mohos.
- Nota: recordar inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.

Date	Version
Février 2004	1.0

**3M**

Microbiology Products  
Laboratoires 3M Santé

Boulevard de l'Oise  
F - 95029 Cergy Pontoise Cedex  
Tél. 01 30 31 85 77

For Europe, please contact :  
Laboratoires 3M Santé  
Tél. : (33) 1 30 31 85 71  
Fax : (33) 1 30 31 85 78

**3M**

# Petrifilm™

## Levaduras y Mohos

Guía de Interpretación

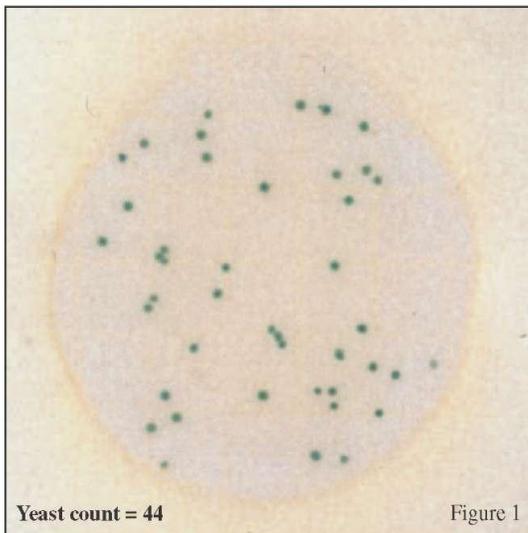


Figure 1

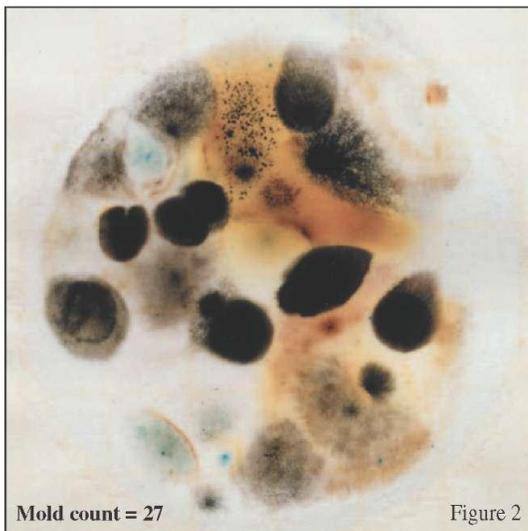


Figure 2

Hacer un recuento con placas Petrifilm Levaduras y Mohos es fácil. Contienen un indicador colorante para levaduras y mohos para proporcionar contraste y facilitar el recuento.

Para diferenciar las colonias de levaduras y mohos en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos, buscar una o más de las siguientes características típicas:

### LEVADURAS

- Colonias pequeñas
- Las colonias tienen bordes definidos
- De color rosa-tostado a azul-verdoso
- Las colonias pueden aparecer alzadas ("3D")
- Generalmente no tienen un foco (centro negro) en el centro de la colonia

### MOHOS

- Colonias grandes
- Las colonias tienen bordes difusos
- Color variable (los mohos pueden producir sus propios pigmentos)
- Las colonias son planas
- Generalmente con un foco en el centro de la colonia

Las colonias en la figura 1 son ejemplos de levaduras características: colonias pequeñas, de color azul-verdoso, con bordes definidos y sin foco (**Recuento de levaduras = 44**).

Las colonias de la figura 2 son ejemplos de mohos característicos: grandes, colonias de color variable, con bordes difusos y un foco en el centro (**Recuento de mohos = 27**).

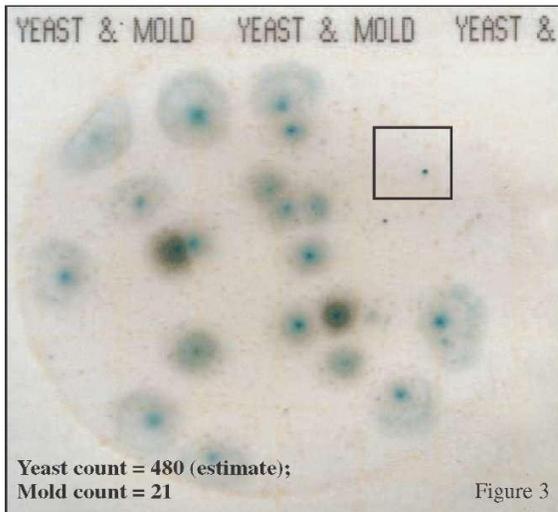


Figure 3

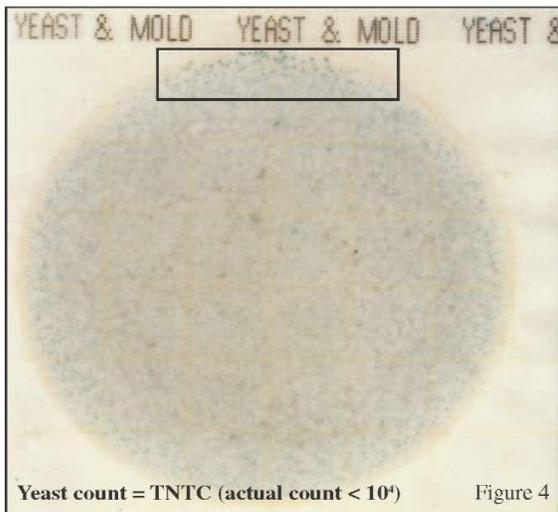


Figure 4

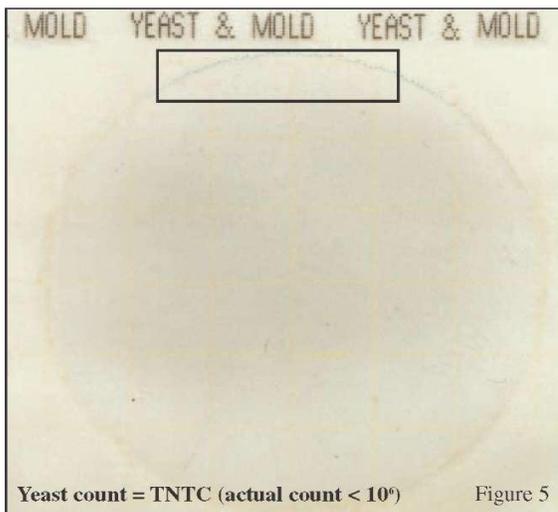


Figure 5

## Levaduras

La placa Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 3 contiene un número fácilmente contable de mohos, (colonias grandes, verdes, con bordes difusos y un foco central) y un gran número de colonias de levaduras. Las colonias de levaduras son pequeñas, de color tostado, con bordes definidos y sin foco. Cuando el número de colonias es más de ISO, se debe hacer una estimación: determinar el número medio de colonias en un cuadrado (1 cm<sup>2</sup>) y multiplicar por 30 para obtener el recuento total por placa. El área inoculada de una placa Petrifilm Levaduras y Mohos es de aproximadamente 30 cm<sup>2</sup> (**Recuento de levaduras = 480 (estimado) ; Recuento de mohos = 21**).

La placa de Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 4 contiene un elevado número de colonias de levaduras, demasiado numeroso para ser contado (TNTC). Las colonias pequeñas y azules en el borde de la placa la diferencian de una placa de mohos TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC, recuento actual >10<sup>4</sup>**).

Algunas veces las placas Petrifilm Levaduras y Mohos con un número alto de colonias de levaduras pueden parecer que tengan un crecimiento azul sólo en los bordes (figura 5). También es un recuento de levaduras TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC, recuento actual >10<sup>6</sup>**).

Si las placas Petrifilm Levaduras y Mohos parecen no tener crecimiento, levantar el film superior (figura 6). Si hay presentes muchas levaduras, se verán colonias blancas en el gel. Se anota como un recuento de levaduras TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC**).

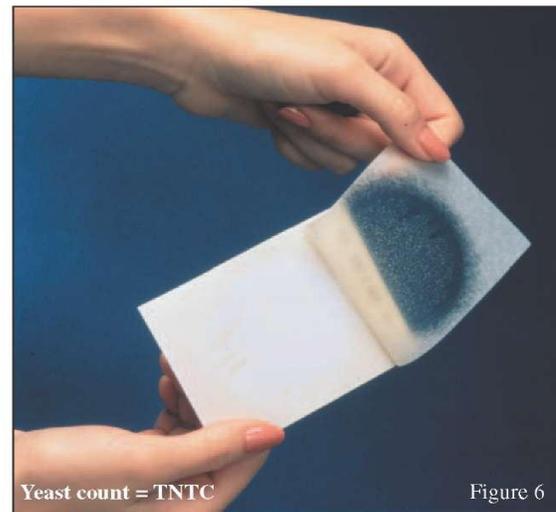
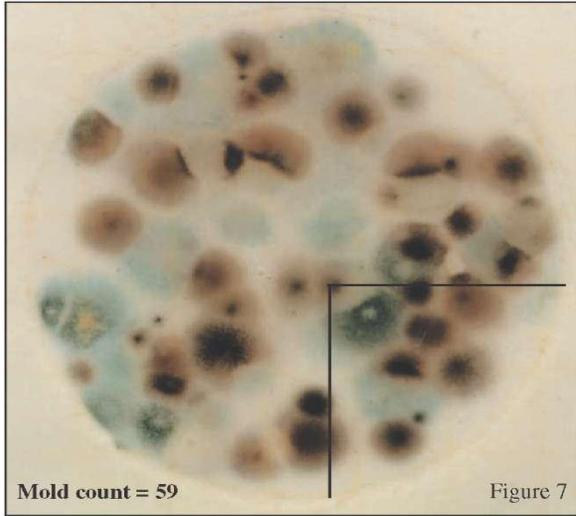


Figure 6

## Mohos



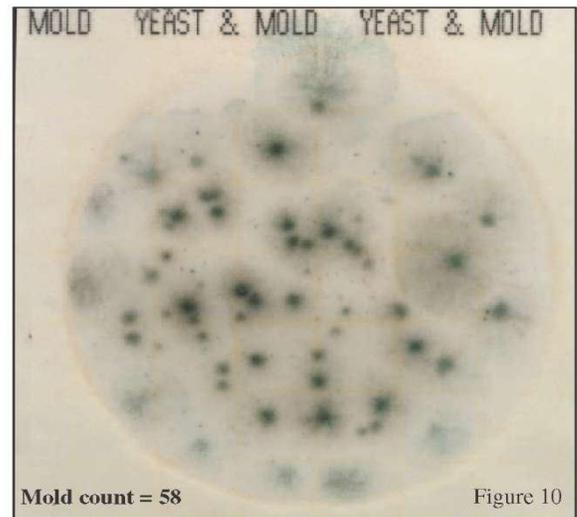
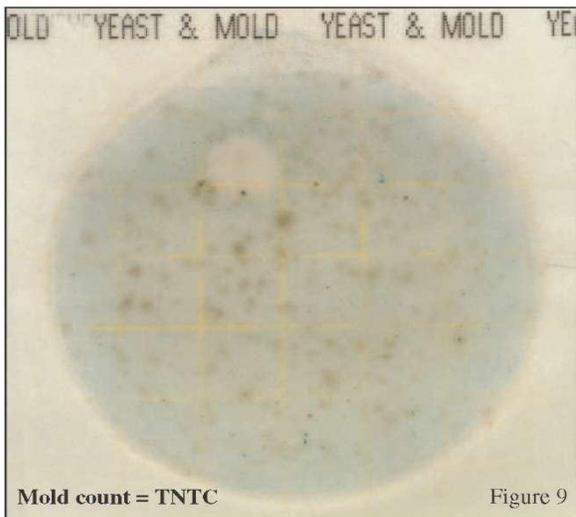
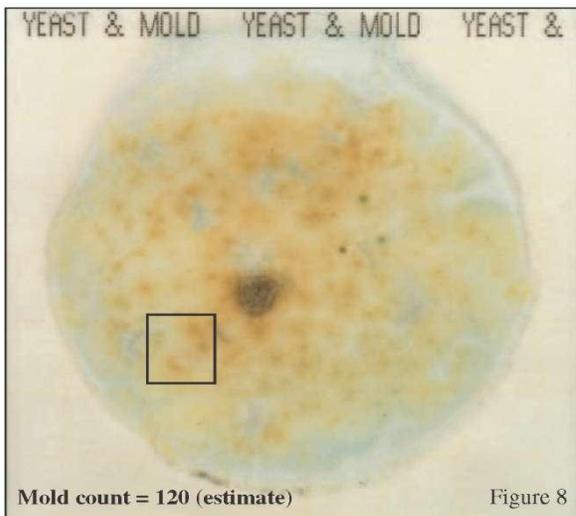
Las colonias de mohos en la placa Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 7 son colonias de pigmentación variable, con bordes difusos y un foco central. Son grandes, empezando a esporular y superponerse entre sí en la placa. Para facilitar el recuento dividir la placa en secciones y buscar focos que permitan distinguir colonias individuales. El recuadro muestra 15 mohos (**Recuento de mohos = 59**).

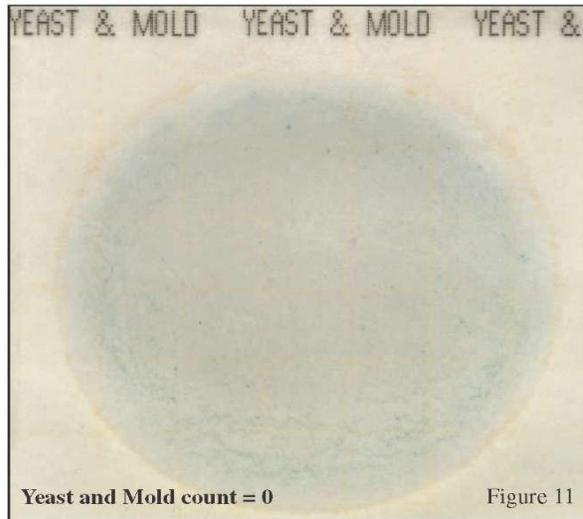
Notar la pigmentación variable con bordes vellosos en la placa de la figura 8, causado por el elevado número de colonias de mohos y la esporulación que ha tenido lugar. Estimar el número contando los focos. En el cuadrado que se muestra hay 4 colonias (**Recuento de mohos = 120 (estimado)**).

Igual que con todos los métodos de recuento en placas, las placas con muchas colonias pueden mostrar características de colonias atípicas. Es importante hacer una correcta dilución para asegurar un recuento exacto.

Las placas Petrifilm Levaduras y Mohos de las figuras 9 y 10 son diluciones 1 : 10 y 1 : 100, respectivamente, del mismo producto. Las colonias de la figura 9 son pequeñas, pálidas y numerosas, haciendo el contaje difícil de estimar. Hay una burbuja como artefacto (**Recuento de mohos = TNTC**).

La dilución del producto para obtener un recuento de colonias en el margen deseado ( 15-150 colonias) facilita el recuento. Los mohos de la figura 10 son grandes, con bordes difusos y focos centrales (**Recuento de mohos = 58**). El apiñamiento de las colonias de la placa en la figura 9 impide su crecimiento típico.





## Reacción de la fosfatasa

Todas las células vivas contienen el enzima fosfatasa. En presencia de la fosfatasa el indicador de las placas de Petrifilm Levaduras y Mohos se activa y las colonias de levaduras y mohos se colorean de azul.

Algunos alimentos crudos o procesados que contienen células vivas (y por tanto, fosfatasa) pueden dar reacción a color azul. A veces pueden observarse 2 tipos diferentes de reacciones de color de los productos: un color azul uniforme del medio o puntos azules intensos (se ven a menudo en especias o productos granulados).

La reacción de color por la fosfatasa natural en un producto se puede distinguir de las colonias de levaduras y mohos mediante una o varias de las siguientes técnicas:

**1) DILUCION :** Si es posible, una mayor dilución eliminará el color azul del medio, o reducirá el número de puntos **azules**.

**2) SOBRENADANTE DE LA PLACA:** Mezclar la muestra y dejar reposar 3-5 minutos para eliminar partículas grandes del producto que pueden a menudo causar las reacciones de color de tipo puntiforme.

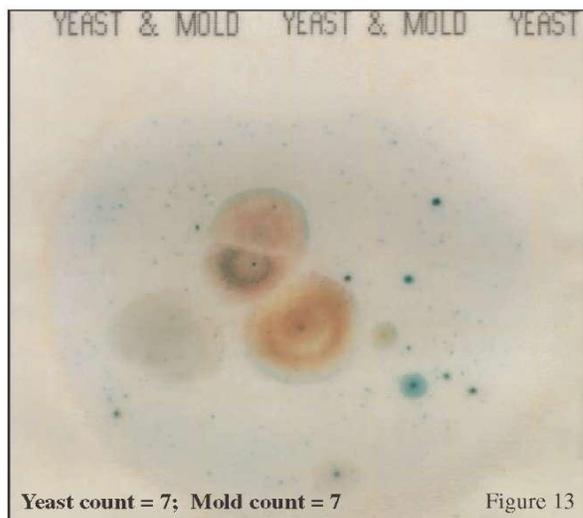
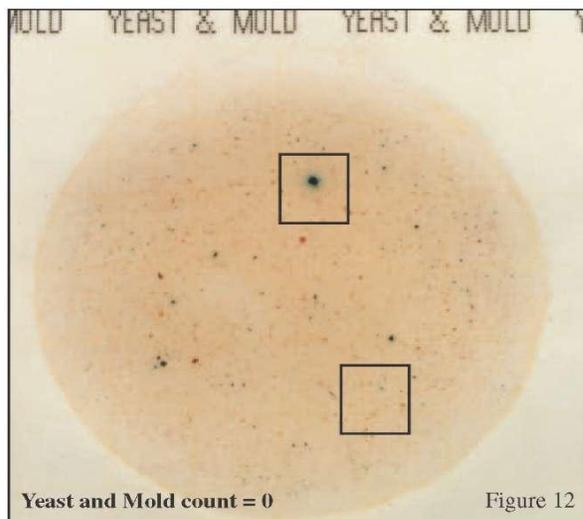
**3) TEMPERATURA DE INCUBACION :** Incubar las placas a la temperatura apropiada:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Las reacciones enzimáticas (fosfatasa) ocurren más rápidas al incrementar la temperatura.

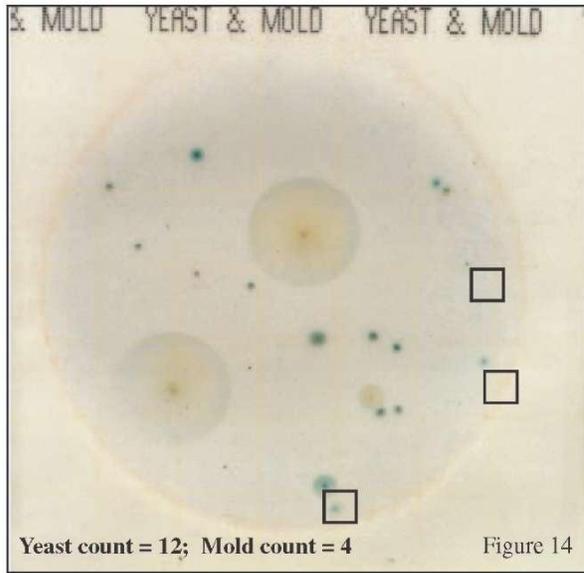
**4) CONTROL:** Leer las placas Petrifilm Levaduras y Mohos tras 24-28 horas. Observar cualquier cambio de color que pueda ser de ayuda en la interpretación final.

La placa de Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 11 es un ejemplo de una placa con un color uniforme del medio causado por la "fosfatasa natural" presente en la muestra analizada. El aspecto "granuloso", se debe a las partículas de producto que se hallan en la dilución inoculada. Para distinguirlo de un recuento de levaduras o mohos TNTC, observar los bordes de la placa (**Recuento de levaduras y mohos = 0**).

La figura 12 es un ejemplo de reacción con puntos azules, que se pueden ver con la "fosfatasa natural" en algunos alimentos. Observar su forma: pequeñas, puntiformes o irregulares y el color azul intenso, que a menudo colorea los bordes de algunas de las partículas más grandes (**Recuento de levaduras y mohos = 0**).

Otro ejemplo de reacciones que dan puntos de color azul se muestra en la figura 13. Los puntos son muy brillantes, pequeños y de forma irregular. Las colonias de levaduras son pequeñas, azul-verdosas, con bordes definidos. Las colonias de mohos son grandes, de pigmentación variable, con bordes difusos y foco en el centro (**Recuento de levaduras = 7 ; Recuento de mohos = 7**).





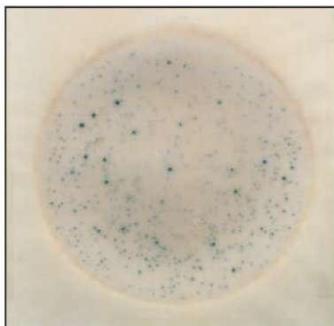
La figura 14 tiene el mismo producto que el de la figura 13, inoculado tras dejar reposar 3-5 minutos las partículas del producto. Todavía hay algunas manchas puntiformes (encuadradas) causadas por las partículas del producto, pero la mayor parte de la interferencia del producto se ha eliminado (**Recuento de levaduras = 12 ; Recuento de mohos = 4**).

## Tiempo y temperatura

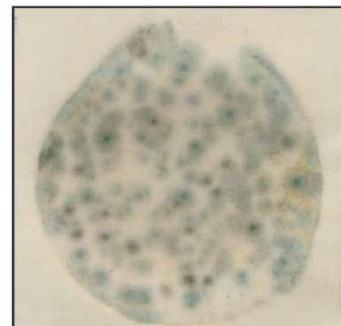
El tiempo y temperatura adecuada de incubación es importante para asegurar el crecimiento de los tipos de levaduras y mohos que pueden causar alteraciones. Estas levaduras y mohos crecen generalmente despacio, y son sensibles a altas temperaturas, sin tener en cuenta el método usado.

Para asegurar un crecimiento adecuado, incubar las placas de Petrifilm Levaduras y Mohos a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , y leer las placas a los **3 y 5 días**. Como que las colonias de mohos crecen entre los films, la lectura de las placas Petrifilm no originará colonias adicionales a partir de nuevas esporas. La incubación de las placas Levaduras y Mohos a una

temperatura más alta no implica un resultado más rápido, sino que puede significar un resultado inexacto como se muestra en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos de las figuras 15 y 16. Son placas duplicadas con el mismo producto y dilución, pero incubadas a diferentes tiempos y temperaturas.



**Recuento de levaduras = TNTC**  
Incubado 3 días a  $35^{\circ}\text{C}$



**Recuento de levaduras = TNTC**  
(recuento actual  $\geq 10^7$ )  
**Recuento de mohos = 120 (estimado)**  
Incubado 5 días a temperatura ambiente

## Anexo D.5. Guía de siembra para Recuento de Aerobios

### 3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios

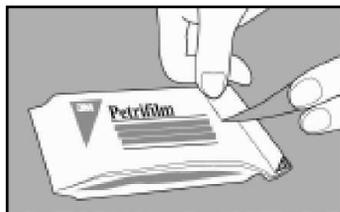
Recomendaciones de uso

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

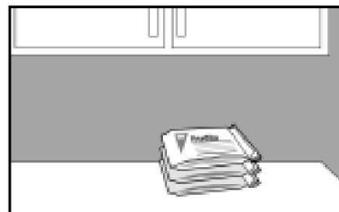
#### Almacenamiento



**1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



**2** Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.

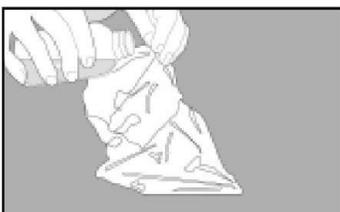


**3** Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura  $\leq 25^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77^{\circ}\text{F}$ ) y una humedad relativa  $\leq 50\%$ . No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo 1 mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelos en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelos en congelación. Para usar las placas, saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde el resto en las mismas condiciones antes descritas hasta su fecha de caducidad.

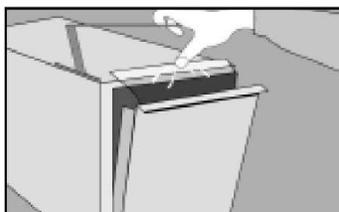
#### Preparación de la muestra



**4** Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.



**5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptonada al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); *buffer* de agua de peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.

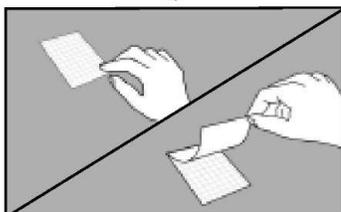


**6** Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

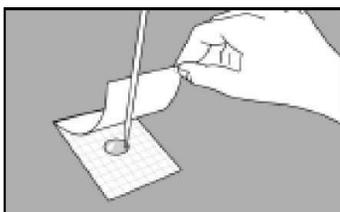
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2: Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH. Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

No utilice *buffers* que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

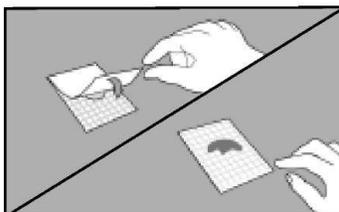
#### Inoculación



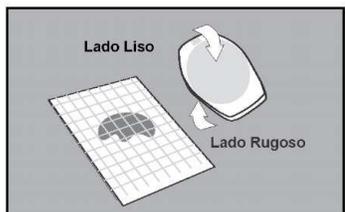
**7** Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



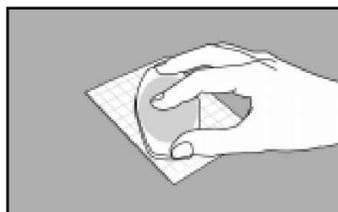
**8** Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.



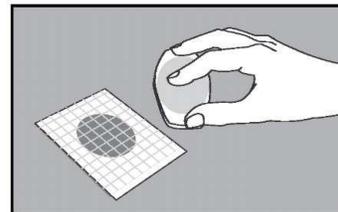
**9** Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.



**10** Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispensador o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.

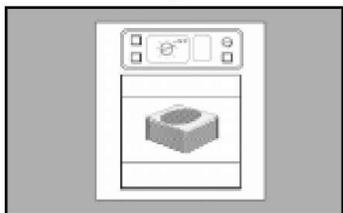


**11** Presione suavemente el dispensador o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispensador. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa.



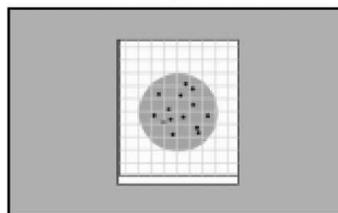
**12** Levante el dispensador o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

### Incubación

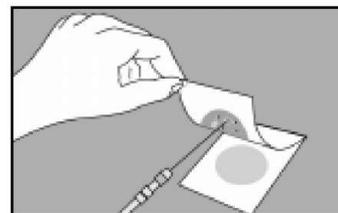


**13** Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

### Interpretación



**14** Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la *Guía de interpretación* para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para su identificación posterior. Levante la película superior y recoja la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos aprobados más conocidos son:

- **AOAC método oficial 986.33**  
(leche y productos lácteos)  
Incubar 48 hrs. ( $\pm$  3 hrs.) a 32 °C ( $\pm$  1 °C).
- **AOAC método oficial 990.12**  
Incubar 48 hrs. ( $\pm$  3 hrs.) a 35 °C ( $\pm$  1 °C).
- **AFNOR método validado 3M 01/1-09/89**  
Incubar 72 hrs. ( $\pm$  3 hrs.) a 30 °C.
- **Método MNKL 146.1993**  
Incubar 72 hrs. ( $\pm$  3 hrs.) a 30 °C.

### Comentarios adicionales

\* Si tiene dudas o preguntas, llame al 1-651-733-7562 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.



**Microbiology Products**  
3M Center Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1800-228-3957  
microbiology@mmm.com  
www.3M.com/microbiology

**3M México**  
Av. Santa Fe 55  
Col. Santa Fe, CP 01210  
México, D.F.  
Tel. (55) 5270-0454  
microbiologiamx@mmm.com  
www.3M.com/microbiologia

**3M Argentina**  
Los Árboles 842  
Hurlingham  
Buenos Aires, Argentina  
Tel. (11) 4469-8200  
microbiologia-ar@mmm.com

Petrifilm es una marca registrada de 3M.  
Impreso en: México.  
Revisión: 2004.  
Referencia: 70-2008-8102-0.

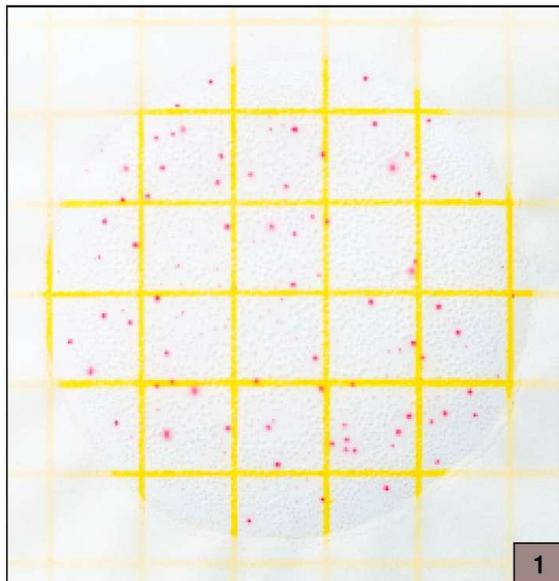


## Petrifilm™

### Placas para el Recuento de Aerobios AC

Esta guía lo familiarizará con las Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios (cuenta total en placa o aerobios mesófilos). Para mayor información, contacte al Representante Autorizado de Productos Microbiológicos de 3M más cercano.

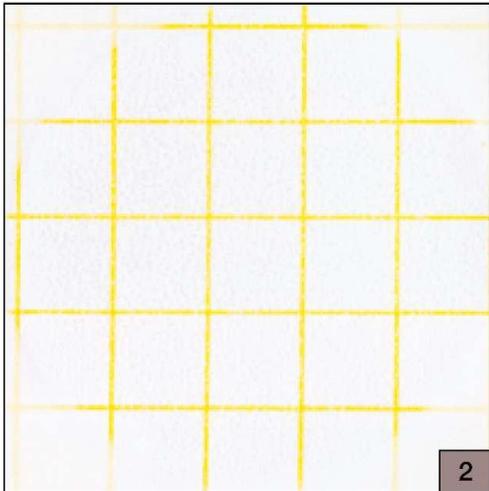
Las Placas Petrifilm™ para Recuento de Aerobios Totales (Aerobic Count AC) son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del *Agar Standard Methods*, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias. Las Placas Petrifilm AC se utilizan para el recuento de la población total existente de bacterias aerobias en productos, superficies, etc.



#### Conteo de Bacterias Aerobias =152

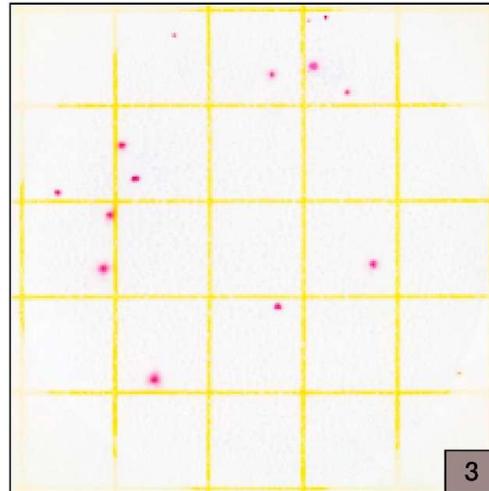
El tinte indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias para su mejor identificación. Cunte todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.

## 3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC



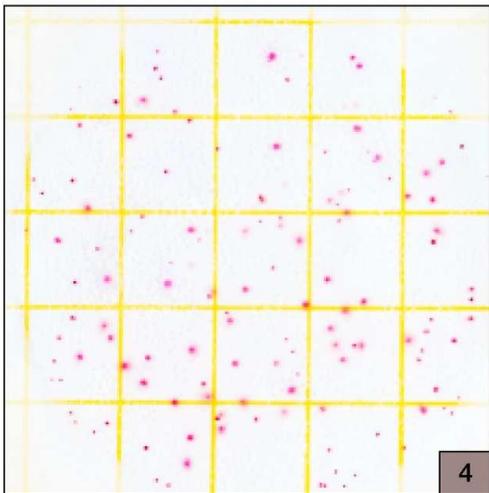
**Conteo de Bacterias Aerobias = 0**

La Placa Petrifilm para Recuento de Aerobios Totales es de fácil interpretación. La figura 2 muestra una placa sin crecimiento de colonias.



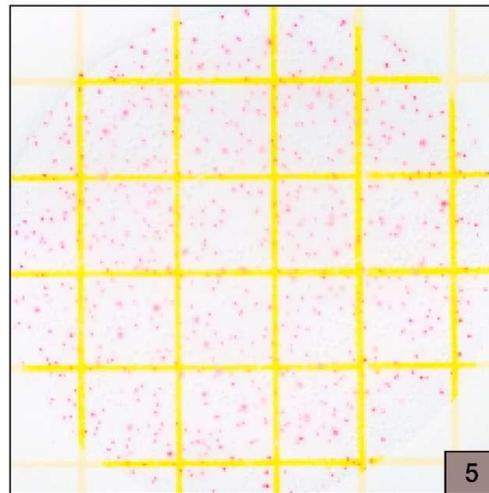
**Conteo de Bacterias Aerobias = 16**

La figura 3 muestra una Placa Petrifilm AC con crecimiento bajo de colonias.



**Conteo de Bacterias Aerobias = 143**

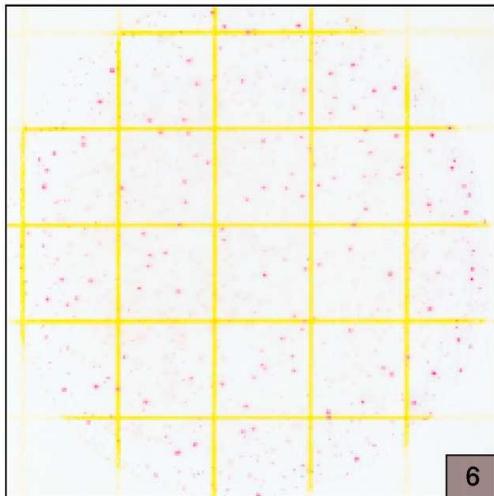
El rango recomendado de conteo en la Placa Petrifilm AC está entre 25-250 colonias. Obsérvese la figura 4.



**Conteo de Bacterias Aerobias = 560 "estimado"**

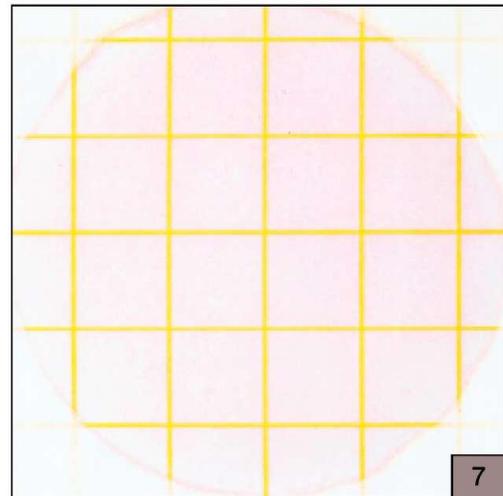
Cuando el número de colonias es mayor a 250 (como se puede observar en la figura 5), por su excesivo crecimiento, los conteos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en un cuadrado (1 cm<sup>2</sup>) y multiplíquelo por 20 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de Petrifilm AC es de 20 cm<sup>2</sup>.

MNPC (muy numeroso para contar): para obtener mejores resultados, diluya su muestra.



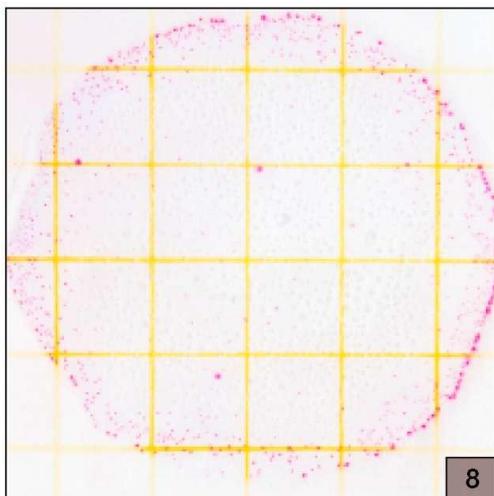
**Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC**  
**Conteo estimado:  $10^9$**

La figura 6 muestra una Placa Petrifilm AC con colonias muy numerosas para contar.



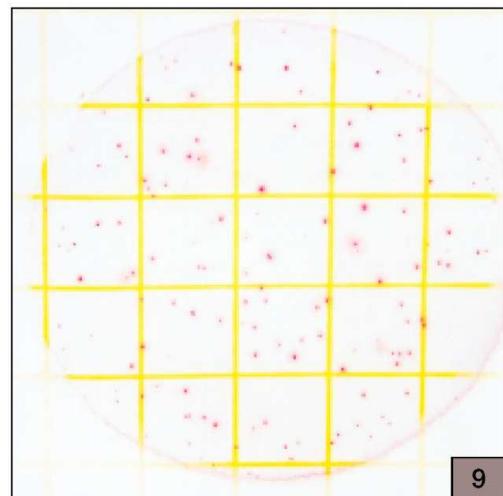
**Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC**  
**Conteo estimado:  $10^9$**

Con conteos muy altos, el área total de crecimiento puede virar o colorearse rosa, como se muestra en la figura 7. Usted podría observar colonias individuales sólo en el filo o borde del área de crecimiento. Registre este conteo como muy numeroso para contar (MNPC).



**Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC**  
**Conteo estimado:  $10^9$**

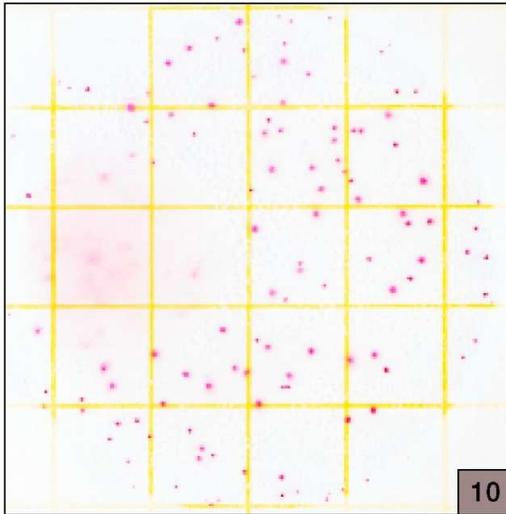
Ocasionalmente, la distribución de las colonias puede aparecer de forma desigual, no homogénea, como se muestra en la figura 8. Esto también es una indicación de un resultado MNPC.



**Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC**  
**Conteo estimado:  $10^7$**

Las colonias de la figura 9 podrían confundirse como contables a primera vista. Sin embargo, si usted observa detalladamente el borde o filo del área de crecimiento, podrá visualizar una alta concentración de colonias. Registre este resultado como MNPC.

## Licuefacción del gel y partículas de productos

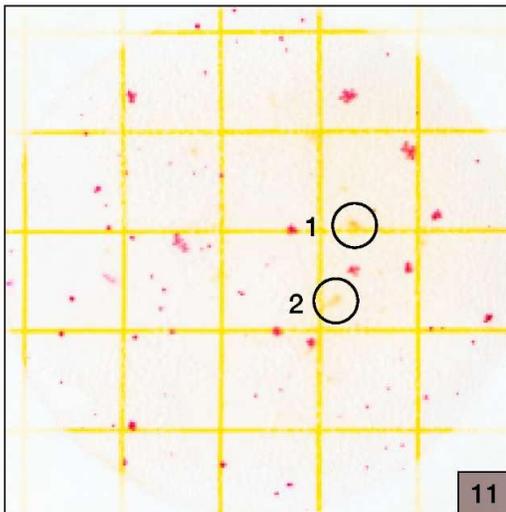


### Conteo de Bacterias Aerobias = 160

Como se aprecia en la figura 10, algunas especies de bacterias pueden llegar a licuar el gel de las Placas Petrifilm AC.

#### Quando esto ocurra:

1. Determine el promedio en los cuadros no afectados y estime los resultados.
2. Realice conteos preliminares para verificar el crecimiento; la licuefacción generalmente se presenta de manera tardía.



### Conteo de Bacterias Aerobias = 83

Debido a que en las Placas Petrifilm AC las colonias de aerobios se tiñen de rojo, se las puede diferenciar de partículas o residuos de producto, ya que éstos tienen una forma irregular y color opaco (observe los círculos 1 y 2 de la figura 11).

# **ANEXO E: FOTOGRAFÍAS**

## Ingredientes y pesado:



**#1: Harina de morocho blanco**



**#2: Leche en polvo**



**#4: Azúcar**



**#5: Agua**

## Cocción:



**#6: Dilución de harina de morocho en agua**

**#7: Inoculación enzimas:**



**Estufa a 55 °C**

**#8: Filtrado:**



**#9: Dosificación:**



**Adición de azúcar y leche**

**#10: Pasteurización:**



**#11: Incubación y fermentación:**



**#12: Enfriamiento, batido y embasado:**



**Reología:**



**#13: Materiales utilizados**

**Corridas Experimentales**

**Lecturas (%FS)**



#14: Viscosímetro Rotacional Brookfield LVTD

#15: Análisis sensorial:



#16: Análisis microbiológicos:

