

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



---

**“OBTENCIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO LIOFILIZADO A DIFERENTES  
TEMPERATURAS Y PORCENTAJES DE JARABE DE YACÓN  
(*Smallanthus sonchifolius*)”**

---

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO  
AGROINDUSTRIAL.**

**PRESENTADO POR:**

- Br. CCOYORI QUISPE, Raul
- Br. HUAHUATICO CANO, Vladimir

**ASESORA:**

- Dra. Ing. MIRIAM CALLA FLOREZ

**SICUANI – CUSCO - PERÚ**

**2022**

## DEDICATORIA

*Doy gracias a Dios, por ser la luz que guía mis pasos, por regalarme la vida y la fortaleza para culminar esta etapa de mi vida. Dedico este trabajo a mis queridos padres por el apoyo incondicional que me dieron, por la motivación que constantemente me brindaron y por ese amor grandioso que me tienen.*

*Raul*

*Dedico este trabajo a Dios todo poderoso por haberme guiado y acompañado en cada uno de mis pasos, así mismo a mis señores padres por el apoyo permanente que me han dado durante toda su vida y a mis queridos docentes por haberme guiado y entregado todos sus conocimientos.*

*Wladimir*

## PRESENTACIÓN

SRA. DECANA DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS, SEÑORES DOCENTES MIEMBROS DEL JURADO DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO.

En cumplimiento a uno de los valores fundamentales de la UNSAAC, cual es la investigación que conduce al conocimiento de nuevas tecnologías, lo cual ponemos a consideración el trabajo de investigación intitulado **“OBTENCIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO LIOFILIZADO A DIFERENTES TEMPERATURAS Y PORCENTAJES DE JARABE DE YACÓN (*Smallanthus sonchifolius*)”**. Este trabajo trata de dar mayor énfasis e importancia a dos alimentos naturales uno rico nutricionalmente que es la leche entera y el yacón considerado y comprobado hoy en día como alimento funcional.

Atentamente:

Br. CCOYORI QUISPE, Raul.

Br. HUAHUATICO CANO, Vladimir.

## AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ingeniería de Procesos, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y a los Señores Docentes, quienes nos alcanzaron sus conocimientos para ser buenos profesionales.

A nuestro asesor Dra. Ing. MIRIAM CALLA FLOREZ por su dedicación, colaboración y contribución para la culminación de este trabajo de investigación.

Al Dr. Ing. JUAN CALLAÑAUPA QUISPE Director de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y al Ing. KARIN FLOREZ HUARACHA quienes conjuntamente nos dieron la facilidad para el uso del Laboratorio de Análisis de los Alimentos.

Al Mg. Q.F. ROGER GIANCARLO GUTIERREZ CHAVEZ encargado del laboratorio de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, quien nos dio la facilidad del uso del equipo LIOFILIZADOR y por su apoyo en los tramites documentarios para el acceso.

Al Quim. JORGE CHOQUENAIRA PARÍ Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – UNSAAC, quien nos dio la facilidad del uso del equipo CROMATOGRAFÍA HPLC y por su apoyo en los tramites documentarios para el acceso.

A los señores de administración de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, a nuestros amigos y compañeros quienes nos apoyaron incondicionalmente para finalizar con éxito este trabajo de investigación.

De: Raul y Vladimir.

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	ii
PRESENTACIÓN .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
INTRODUCCIÓN .....	xvii
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	xviii
OBJETIVOS .....	xx
Objetivo general.....	xx
Objetivo específico .....	xx
HIPÓTESIS.....	xxi
Hipótesis general.....	xxi
Hipótesis específico .....	xxi
JUSTIFICACIÓN .....	xxii
ANTECEDENTES .....	xxiii

## CAPITULO I

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 LECHE.....	1
1.2 YOGURT.....	3
1.2.1 BENEFICIOS PARA LA SALUD .....	3
1.2.2 BACTERIAS DEL YOGURT Y SUS EFECTOS EN EL ORGANISMO .....	6
1.2.3 CULTIVO LÁCTICO.....	8
1.2.4 CULTIVOS PROBIÓTICOS SACCO .....	8
1.2.5 TEMPERATURA PARA EL DESARROLLO DE BACTERIAS LÁCTICAS .....	9
1.2.6 PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS.....	10
1.3 PREBIÓTICO.....	11
1.3.1 BENEFICIOS .....	12
1.4 PROBIÓTICO.....	12
1.5 YOGURT SIMBIÓTICO .....	14
1.5.1 PREBIÓTICO Y EFECTO EN LA VIABILIDAD DE BACTERIAS PROBIÓTICAS.....	15
1.5.2 PROCESOS PARA LA ELABORACIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO.....	17

1.6 LIOFILIZACIÓN .....	23
1.6.1 ETAPAS DE LIOFILIZACIÓN .....	25
1.6.2 VENTAJAS .....	26
1.6.3 DESVENTAJAS.....	27
1.7 YOGURT EN POLVO .....	29
1.7.1 YOGURT EN POLVO COMERCIAL.....	31
1.7.2 LIOFILIZACIÓN DE YOGURT.....	32
1.8 YACÓN.....	33
1.8.1 ASPECTOS FUNCIONALES.....	35
1.8.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA .....	36
1.8.3 FRUCTO-OLIGOSACÁRIDOS .....	38
1.9 JARABE DE YACÓN.....	40
1.9.1 COEFICIENTES DE PRODUCCIÓN .....	43
1.9.2 CONTENIDO CALÓRICO.....	44
1.9.3 PROCESO PARA LA ELABORACIÓN DE JARABE DE YACÓN .....	45
1.9.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO.....	46

1.10 DISEÑO FACTORIAL.....	48
1.10.1 DISEÑO EN (BCA) BLOQUES COMPLETOS ALEATORIZADOS .....	49
1.11 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FRUCTO-OLIGOSACÁRIDOS .....	50
1.12 LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO (HPLC).....	52
1.12.1 PRINCIPIOS DE LA HPLC .....	52
1.12.2 VENTAJAS .....	53
1.12.3 EQUIPO DE CROMATOGRAFÍA.....	53
1.13 RECUENTO, IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE BACTERIAS PROBIÓTICOS	
55	
1.14 BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS PRESENTES EN EL YOGURT .....	57

## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

2.1 LUGAR DE EJECUCIÓN.....	58
2.2 MATERIALES Y EQUIPOS .....	59
2.2.1 MATERIA PRIMA.....	59
2.2.2 INSUMOS .....	59

2.2.3 INSTRUMENTOS DE LABORATORIO.....	59
2.2.4 EQUIPOS.....	60
2.2.5 REACTIVOS .....	61
2.3 MÉTODOLOGIA EXPERIMENTAL .....	61
2.4 DISEÑO EXPERIMENTAL .....	67
2.5 DISEÑO FACTORIAL .....	68
2.5.1 VARIABLES INDEPENDIENTES O DE ENTRADA .....	68
2.5.2 VARIABLES DEPENDIENTES O DE SALIDA.....	68
2.6 MÉTODO DE ANÁLISIS .....	69
2.6.1 ANÁLISIS ANALÍTICO.....	69
2.6.2 ANÁLISIS DE FRUCTO OLIGOSACÁRIDO (FOS).....	70
2.6.3 RECUENTO DE LAS BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS .....	70
2.6.4 ANÁLISIS FISICOQUÍMICO .....	71

## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 PORCENTAJE DE JARABE DE YACÓN Y TEMPERATURA DE LIOFILIZACIÓN .	72
3.2 CONTENIDO DE FRUCTO-OLIGOSACARIDO (FOS) ANTES Y DESPUES DE LIOFILIZACIÓN .....	77
3.3 RECUENTO DE LAS BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS ANTES Y DESPUÉS DE LIOFILIZACIÓN .....	79
3.4 ANÁLISIS FISICOQUÍMICO ANTES Y DESPUÉS DE LIOFILIZACIÓN .....	81
CONCLUSIONES .....	83
RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS.....	85
BIBLIOGRAFÍA .....	86

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: COMPOSICIÓN EN 100 g DE LECHE.....	1
TABLA N° 2: PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA LECHE.....	2
TABLA N° 3: ESPECIFICACIONES SANITARIAS DE LA LECHE.....	2
TABLA N° 4: COMPOSICIÓN NUTRICIONAL EN 100 g DE YOGURT.....	4
TABLA N° 5: ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DEL YOGURT SÁBILA-PIÑA Y NATURAL .....	4
TABLA N° 6: PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL YOGURT .....	5
TABLA N° 7: MICROBIOLOGÍA DE IDENTIDAD EN EL YOGURT .....	5
TABLA N° 8: ESPECIFICACIONES SANITARIAS .....	6
TABLA N° 9: BACTERIAS EN EL YOGURT Y SUS BENEFICIOS .....	7
TABLA N° 10: CULTIVOS DE SERIE SACCO LYOFAST PROBIÓTICO .....	9
TABLA N° 11: CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL YOGURT .....	11
TABLA N° 12: MICROORGANISMOS CONSIDERADOS PROBIÓTICOS .....	14
TABLA N° 13: TEMPERATURA Y PRESIÓN PARA LIOFILIZAR .....	28
TABLA N° 14: ESPECIFICACIONES DE LECHE EN POLVO .....	30
TABLA N° 15: ESPECIFICACIONES DEL YOGURT EN POLVO.....	31
TABLA N° 16: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL YACÓN .....	34

TABLA N° 17: COMPOSICIÓN NUTRITIVA DE LA PARTE COMESTIBLE DEL YACÓN .....	35
TABLA N° 18: COMPOSICIÓN QUÍMICA DE YACÓN POR 1 kg DE MATERIA FRESCA .....	37
TABLA N° 19: COMPOSICIÓN EN CARBOHIDRATOS DE LA RAÍZ DE YACÓN.....	37
TABLA N° 20: RELACIÓN DE PLANTAS CON MAYOR CONTENIDO DE FRUCTANOS .....	40
TABLA N° 21: COMPOSICIÓN QUÍMICA EN 100 g DE JARABE DE YACÓN.....	42
TABLA N° 22: ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE LA MIEL DE YACÓN.....	43
TABLA N° 23: CANTIDAD DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS.....	57
TABLA N° 24: MICROORGANISMOS DE IDENTIDAD .....	57
TABLA N° 25: MATRIZ DE DISEÑO .....	69
TABLA N° 26: RESULTADO DE CONCENTRACIÓN DE FRUCTO-OLIGOSACÁRIDO (FOS).....	72
TABLA N° 27: ANÁLISIS DE VARIANZA PARA CONCENTRACIÓN DE FOS - SUMA DE CUADRADOS TIPO III .....	75
TABLA N° 28: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA CONCENTRACIÓN DE FOS POR JARABE DE YACÓN .....	76
TABLA N° 29: CONTENIDO DE FRUCTO-OLIGOSACÁRIDO ANTES Y DESPUÉS DE LIOFILIZACIÓN ...	77
TABLA N° 30: RECUENTO DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS ANTES DE LIOFILIZACIÓN .....	79
TABLA N° 31: RECUENTO DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS DESPUÉS DE LIOFILIZACIÓN .....	80

TABLA N° 32: PROPIEDADES FISICOQUÍMICOS DE YOGURT SIMBIÓTICO ANTES DE LIOFILIZACIÓN .....	81
TABLA N° 33: PROPIEDADES FISICOQUÍMICOS DE YOGURT SIMBIÓTICO DESPUÉS DE LIOFILIZACIÓN .....	82

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1: DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO .....	17
FIGURA N° 2: DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO .....	20
FIGURA N° 3: DIAGRAMA DE FASES DEL AGUA.....	24
FIGURA N° 4: DIAGRAMA DE ETAPAS DE LIOFILIZACIÓN .....	26
FIGURA N° 5: RAÍZ DE YACÓN Y PLANTA .....	34
FIGURA N° 6: ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS FRUCTANOS.....	39
FIGURA N° 7: CLASIFICACIÓN DE LOS FRUCTANOS .....	39
FIGURA N° 8: DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE JARABE DE YACÓN.....	45
FIGURA N° 9: COMPONENTES BÁSICOS DE CROMATOGRAFÍA.....	55
FIGURA N° 10: DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE JARABE DE YACÓN.....	63
FIGURA N° 11: DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO LIOFILIZADO .....	66
FIGURA N° 12: DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA OBTENCIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO LIOFILIZADO .....	67
FIGURA N° 13: VARIABLES DE ENTRADA Y SALIDA EN EL PROCESO.....	68
FIGURA N° 14: CONDICIONES DE ANÁLISIS POR HPLC POLISACARIDOS (1, 3).....	74
FIGURA N° 15: MEDIAS Y 95,0% DE FISHER LSD.....	77

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue; obtener un yogurt simbiótico liofilizado a diferentes temperaturas y porcentajes de jarabe de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) para lo cual se realizaron pruebas preliminares identificándose variables de estudio como: jarabe de yacón (F1, F2 y F3) y temperaturas de liofilización (T1 y T2). Se aplicó el diseño factorial en BCA 3\*2 F1: 4%, F2: 9%, F3: 14% y T1: -20°C y T2: -40°C obteniéndose un total de 6 tratamientos (M1, M2, M3, M4, M5 y M6).

Se determinaron la concentración de fructo-oligosacárido (FOS) utilizando un equipo cromatógrafo HPLC antes de liofilización (F1: 4%, F2: 9%, F3: 14%) y después de liofilización (M1, M2, M3, M4, M5 y M6), esta evaluación se realizó con tres repeticiones para aseverar los resultados. El contenido de fructo-oligosacárido con mayor concentración antes del proceso de liofilización fue al 9% de adición de jarabe de yacón resultando 1.29 g de FOS/100 g y después del proceso de liofilización (M3) a una temperatura de -20°C es de 5.35 g de FOS/100 g y a -40°C es 4.90 g de FOS/100 g (M4), para el análisis de los resultados de concentración de FOS se realizó a través de un ANOVA con interacción utilizando un software Statgraphics Plus.

Para el recuento de bacterias ácido lácticas como son: *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium animales ssp* se realizó por el método del Diluciones e incorporación en agar MRS estandarizado, de los cuales para la muestra antes de liofilización resulto  $12 \cdot 10^7$  UFC/g y después de liofilización en la muestra M3 resultó  $8 \cdot 10^7$  UFC/g. Así mismo se realizó el análisis fisicoquímico (humedad, proteína, carbohidratos, grasa, ceniza, fibra, pH y acidez).

Concluyendo que después del proceso de liofilización se logró saber la concentración de fructo-oligosacárido (FOS) y de las bacterias ácido lácticas conforme al Reglamento N° 007-MINAGRI, 2017, así mismo el análisis de las características fisicoquímicas se encuentran dentro de los límites establecidos.

**Palabras claves:** Probiótico, Prebiótico, Simbiótico, Yogurt, Fructo-oligosacárido, Cromatografía, Liofilización.

## INTRODUCCIÓN

La leche es considerada como un alimento rico nutricionalmente, el yacón es considerado en las últimas investigaciones como un alimento funcional aparte de aportar componentes nutricionales asignadas a los alimentos que demandan los seres humanos. En la actualidad en Perú la industrialización del yogurt viene efectuándose con mayor énfasis e interés debido a sus propiedades nutritivas, dietéticas, sensoriales y funcionales, ya que dicho producto proviene de la leche coagulada por cultivos lácticos y es rico en proteínas, minerales, enzimas y vitaminas D y B. Un simbiótico es un alimento funcional, se define como la mezcla en un único producto (yogurt) de componentes probióticos y prebióticos que afectan beneficiosamente a la salud, mediante la mejora de la supervivencia de los microorganismos vivos (*bifidum*) en el tracto gastrointestinal.

Mediante la investigación se trata de descubrir productos diferenciados que satisfagan la expectativa del consumidor y buscando mejorar la calidad por encima de los ya existentes, inclusive reemplazando en muchos casos a estos productos. El yogurt simbiótico que contiene como componente prebiótico jarabe de yacón, es uno de los productos diferenciados y de calidad quiere decir que aparte de brindar propiedades nutricionales tiene propiedades funcionales (regula el sistema digestivo, regula la diabetes e inmunológico). Así mismo buscamos un cambio en su presentación deshidratando el yogurt simbiótico por el método de liofilización, en este contexto la liofilización es un método adecuado para el secado de yogurt simbiótico convirtiéndose en polvo, esta tecnología consiste en el secado del producto por sublimación a baja temperatura y la presión manteniendo sus características y propiedades originales como: nutricional, fisicoquímico, microbiológica y organoléptico.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

“A nivel mundial en la mayoría de casos, las personas sufren con problemas estomacales como: estreñimiento crónico, malestar digestivo crónico, cáncer al colon y enfermedades cardiovasculares a causa de malos hábitos de consumo en la alimentación diaria” (Zudaire, 2007), para ello se necesitan un tipo de fibra soluble que reportan beneficios importantes para la salud intestinal y el sistema inmune. Este tipo de fibra se encuentra en el jarabe de yacón llamado fructo-oligosacárido.

Así mismo a nivel nacional los yogures elaborados por diferentes empresas y microempresas siguen sufriendo con la adición de conservantes químicos para que se conserve y mantenga por meses a temperatura ambiente, lo cual es incorrecto ya que necesitan ser refrigerados de acuerdo a la norma establecida de los productos lácteos como es el caso de yogurt, para ello se tratará de liofilizar el yogurt simbiótico para su mejor conservación ya que estos productos no necesitan estar en refrigeración.

“El yogurt convencional posee una actividad de agua elevada que hace que no se pueda usar en todos los procesos productivos por falta de estabilidad. El yogurt liofilizado es ideal en empresas tales como heladerías, confitería, repostería, panificación, bebidas, e incluso derivados cárnicos como las salchichas” (Aguilar, 2018).

**Es por ello nos planteamos la siguiente interrogante:**

¿Será posible obtener un yogurt simbiótico liofilizado a diferentes temperaturas y porcentajes de jarabe de yacón, cuál será el efecto en el contenido de fructo-oligosacárido, supervivencia de bacterias ácido lácticas y propiedades fisicoquímicas?

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Obtener yogurt simbiótico liofilizado a diferentes temperaturas y porcentajes de jarabe de yacón (*Smallanthus sonchifolius*).

### Objetivo específico

- Determinar el porcentaje de jarabe de yacón y temperatura adecuada de liofilización para la obtención de yogurt simbiótico liofilizado.
- Evaluar el contenido de fructo-oligosacárido antes y después de liofilización.
- Evaluar la supervivencia de bacterias ácido lácticas antes y después de liofilización de la muestra con mayor concentración de FOS (Fructo-oligosacárido).
- Comparar el análisis fisicoquímico antes y después de liofilización de acuerdo a las normas establecidas de la muestra con mayor concentración de FOS (Fructo-oligosacárido).

## HIPÓTESIS

### Hipótesis general

- Es posible obtener un yogurt simbiótico liofilizado a diferentes temperaturas y porcentajes de jarabe de yacón, cuál será su efecto en el contenido de fructo-oligosacárido, supervivencia de bacterias ácido lácticas y propiedades fisicoquímicas.

### Hipótesis específico

- El porcentaje de jarabe de yacón y temperatura de liofilización influirán en la concentración de los FOS (Fructo-oligosacáridos).
- El contenido de fructo-oligosacárido es similar antes y después de liofilización.
- La supervivencia de bacterias ácido lácticas es similar antes y después de liofilización, están dentro de los límites establecidos por las normas.
- El análisis fisicoquímico es similar antes y después de liofilización, están dentro de los límites establecidos por las normas.

## JUSTIFICACIÓN

Este trabajo se justifica por el alto contenido de fructo-oligosacárido (45%) en jarabe de yacón que es una fibra soluble que no es asimilado por el organismo humano y no es metabolizado, pero en el intestino grueso es utilizado por bacterias probióticas para su metabolismo ayudando a incrementar la micro flora intestinal ya que funciona como componente prebiótico, y al tener altas poblaciones de bacterias Bifidum permiten regular a otras bacterias que se encargan de la fermentación de los residuos que se encuentran en el intestino grueso regulando así problemas en el sistema digestivo.

Así mismo la utilización de un método eficiente de secado que es la liofilización, lo cual es un método adecuado para deshidratar el yogurt simbiótico para su mejor conservación, esta tecnología consiste en el secado del producto por sublimación a baja temperatura y presión manteniendo los fructo-oligosacáridos (FOS), bacterias ácido lácticas, nutricionales y organolépticos, la cual no habrá necesidad de agregar conservantes químicos ni mantener en cadena de frío ya que dicho producto se mantiene a temperatura ambiente. Así mismo se obtendrá una presentación diferente como yogurt simbiótico liofilizado y tendrá amplia gama de uso ya que es ideal en empresas tales como confitería, heladería, panificación, aderezos, margarinas, bebidas, e incluso derivados cárnicos como las salchichas.

Es por ello con el presente trabajo de investigación se pretende obtener un producto diferenciado como es el Yogurt Simbiótico liofilizado presentando propiedades funcionales, con componentes prebióticos (Jarabe de yacón – fructo-oligosacárido) y componentes probióticos (Bacterias bifidum) que le hacen un simbiótico y puede ser consumido por la población en general.

## ANTECEDENTES

**Caballero, E. & Meza, F. (2014).** *“Obtención de yogurt simbiótico edulcorado con miel de yacón (*Smallanthus sonchifolius*)” – Perú.* “Elaboraron un yogurt simbiótico edulcorado con miel de yacón con 4 formulaciones, se evaluaron las características sensoriales, físico-químicas y microbiológicas. Los tubérculos del yacón tuvieron un contenido de sólidos solubles de 10% el cual fue concentrado por 5 horas hasta llegar a 73° Brix, para la elaboración del yogurt simbiótico se emplearon diferentes porcentajes de miel de yacón según las formulaciones: 8%, 10%, 12%, y 14%, los cuales fueron adicionados al yogurt al final del procesamiento. Se realizó el análisis sensorial para determinar la mejor formulación, usando la prueba no paramétrica de Friedman, resultando como mejor tratamiento al 12% de miel de yacón. El análisis microbiológico nos reveló el contenido de bacterias lácticas presentes en el yogurt el cual se encuentra dentro del límite establecido por la norma. El análisis fisicoquímico demostró que no hay variaciones significativas a los 0, 7, 14 y 21 días de almacenamiento en los cuatro tratamientos, pero si existen diferencias significativas en comparación con el testigo ya que éste está edulcorado con sacarosa. Concluyendo que el yogurt edulcorado con miel de yacón no presenta diferencias significativas en pH, acidez titulable y viscosidad, pero si en °Brix ya que el yacón es un edulcorante bajo en calorías, el análisis microbiológico reveló un contenido de bacterias ácido lácticas de  $280 \times 10^6$  ufc/ml encontrándose dentro del límite establecido por la Norma Chilena NCh2560”.

**Aguilar, M. (2015).** *“Elaboración de yogurt en polvo” – México.* “Considera que el yogurt tradicional tiene una actividad de agua elevada que hace que no puede ser usado en otros procesos productivos por falta de estabilidad, lo cual el yogurt en polvo es ideal para las empresas tales como confitería, panificación, margarinas, heladerías, aderezos, bebidas e incluso derivados

cárnicos (salchichas). Las cepas especiales que producen aromas más pronunciados, superiores al yogurt convencional son refinadas por la industria del yogurt, para obtener un deshidratado en polvo. Las bacterias lácticas empleados son: *L. casei*, *Bifidobacterium SP*, *Streptococcus thermophilus* u otras previamente aprobados, solas o combinadas”.

**Santos, G. (2018) “Desarrollo y aceptación de yogurt liofilizado en polvo” – Brasil.**

Considera que el yogurt es el producto lácteo fermentado popular en todo el mundo, pero su vida útil es todavía relativamente baja en comparación con otros productos lácteos. En este contexto, la congelación *drying* es adecuado para extender la vida útil del yogurt. Esta tecnología consiste en el secado del producto por sublimación a baja temperatura y la presión, manteniéndose los nutrientes, microorganismos y sensorial característicos, y que resulta en un producto seco. El estudio es destinado hacer un estudio comparativo de las propiedades físico químicas, microbiológicas, y características sensoriales del yogurt tradicional y rehidratación yogurt liofilizado. Las muestras se caracterizan por la humedad ceniza, acidez, pH, hidratos de carbono, textura, lípidos, proteína, y energía metabolizada, fueron analizados microbiológicamente para detectar bacterias supervivencia láctica y análisis de aceptación sensorial, para eso se utilizó la prueba de tukey al 5% de nivel de significancia para la detección de diferencia entre el medio. Los resultados mostraron una mayor concentración de los nutrientes en el producto deshidratado, ya que una menor cantidad de agua era a usar por la rehidratación cuando se compara con el agua pérdida secado, dirigido a obtener un producto más nutritivo con textura similar a los resultados microbiológicos de yogurt. El yogurt tradicional mostró que el yogurt rehidratado mantiene el número de bacterias de ácido láctico por encima de los valores requeridos por la ley brasileña. Por último, los resultados de evaluación sensorial que el yogurt rehidratado tuvo mayor aceptación que

el yogurt tradicional, posiblemente, debido a la concentración de compuestos que afectaron el aroma y sabor. Por lo tanto, se puede concluir que el liofilizado de yogurt, en este estudio cumplió todas las recomendaciones de la legislación brasileña para los productos lácteos fermentados y puede ser una alternativa prometedora para la comercialización de la industria láctea, ya que es un producto diferenciado con mayor aceptación, valor nutricional, y vida útil cuando comparamos con el yogurt tradicional.

**Young, I. (2015) “Encuesta de almacenamiento de yogurt en polvo en países de exportación ambiental, evaluación de seguridad, cumplimiento de normas y análisis comparativo” – Corea.** Elaboró Yogurt en polvo fermentado de leche procesada en forma de yogurt seco, tiene ventajas tales como estabilidad, capacidad de almacenamiento, comodidad y portabilidad. China y Vietnam son importantes países de destino de la exportación debido a la mayor demanda de productos lácteos. Por lo tanto, se encuestaron a los productores lácteos con el fin de establecer una estrategia de exportación. Las bacterias del ácido láctico y recuento no están registrado en Corea y en Vietnam, en China, las bacterias del ácido láctico recuento están regulados  $1 \times 10^6$  unidades coliformes totales (UFC/ml) y se destacan en  $6,24 \pm 0,33$  log UFC/ml. Los tres países tienen normas reguladas para los recuentos de bacterias totales. En China los recuentos de bacterias totales de la leche en polvo se regulan para  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=50.000$ ,  $M=200.000$  y se destaca en  $6,02 \pm 0,12$  log UFC/ml, superando el nivel de aceptación, los recuentos de bacterias de ácido láctico parecían exceder los recuentos bacterias totales, conteo de grupo de coliformes *Staphylococcus aureus*, listeria y salmonella especie no fueron detectadas. La acidez no está regulada en Corea y Vietnam. En China la acidez fue regulada a más de  $70^\circ\text{T}$  y detectada  $352 \pm 10,24^\circ\text{T}$ , pH no está regulada en los tres países, pH se comparó con la de la leche fermentada

general que es 4,2 y el de la muestra fue de 4,28±0,01. Los niveles de aflatoxinas no están regulados en Corea y China. En Vietnam nivel de aflatoxina está regulado a 0,05 ppb. Por lo tanto, todos los componentes del polvo de yogurt cumplen las normas de seguridad.

**Pazmiño, F. (2014) “Aprovechamiento de los principios activos del yacón (*Smallantus sonchifolius*, para la elaboración de yogurt rico en FOS” – Guayaquil.** “Se realizó a nivel de laboratorio para determinar los parámetros de producción y optimización del Yogurt, haciendo énfasis en hallar la etapa del proceso en la cual el Yacón pueda ingresar al proceso productivo. La finalidad fue de encontrar el mix perfecto y de mayor aceptación procediendo a realizar pruebas de ensayo y error que comenzaron con sesiones de citación donde se degustaron diferentes variantes del producto siendo calificados y cuantificados para su posterior análisis estadístico. Este procedimiento fue solo el inicio como preparación para producto previo a ser sometido a un análisis de mercado donde fue degustado y calificado por 134 alumnos de la facultad de Ingeniería Química de la Universidad de Guayaquil”.

Se ha llegado a obtener el mix adecuado y variables óptimas para el proceso, encontrándose un 76% de aceptación. El producto fue desarrollado con cero preservantes, su tiempo de vida útil fue 2 semanas en percha manteniendo la cadena de frío.

**González, C. (2018) “Desarrollo y validación de un método para la cuantificación de fructo-oligosacáridos en un helado prebiótico” – Colombia.** “Desarrollo un procedimiento eficaz para la cuantificación de los FOS por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en materias primas y un helado prebiótico”.

“Para la separación cromatografía se empleó un CLAR con detector de índice de refracción (IR). La separación se realizó empleando dos columnas acopladas Sugar-pak usando un procedimiento isocrático con agua tipo 1 a 0.35 ml/min. Como estándares se emplearon kestosa, nistosa y fructofuranosilnistosa”.

“Se lograron buenas correlaciones lineales dentro del rango de concentración de 8.0-12.0 mg/ml. Las recuperaciones de FOS fueron del 99.5% con desviación estándar relativa intermedia menor al 0.8%. Concluyendo que este método confiable, simple y rentable podría aplicarse al monitoreo rutinario de FOS en materias primas y helados prebióticos”.

## CAPITULO I

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 1.1 LECHE

“Leche es el producto íntegro y fresco de la ordeña de una o varias vacas, sanas, bien alimentadas y en reposo, exenta de calostro y que cumpla con las características físicas y microbiológicas establecidas. Las características principales que se tienen en cuenta para medir la calidad de la leche son: densidad, índices crioscópicos y de refracción, acidez, grasa y sólidos no grasos, cantidad de leucocitos, gérmenes patógenos y presencia de antisépticos, antibióticos y sustancias alcalinas” (UNAD, 2016).

“En términos lacto lógicos, el concepto de leche se refiere únicamente a la leche de la vaca, obtenida como materia prima. La leche cruda es el producto obtenido por uno o más ordeños higiénicos de la ubre de una o de varias vacas al que no se ha añadido ni sustraído nada” (Spreer, 1991).

**Tabla N° 1**

***Composición en 100 g de Leche***

Componentes	Gramos (g)
Agua	87.8
Proteína	3.1
Grasa total	3.5
Carbohidratos	4.9
Energía Kcal	63

***Fuente:*** (INDECOPI, 2017)

Tabla N° 2

*Propiedades Fisicoquímicas de la Leche*

Propiedades	Rangos establecidos
Densidad completa de la leche	1.032 g/ml
Densidad descremada de la leche	1.036 g/ml
Densidad de la materia grasa	0.940 g/ml
Calorías/L	700 cal
pH	6.6 – 6.8
Acidez	16 – 19°D
Viscosidad	1.6 – 2.15
Índice de refracción	1.35
Punto de congelación	-0.55°C
Calor específico	0.93 cal /g

*Fuente:* (Castillo, 2018)

Tabla N° 3

*Especificaciones Sanitarias de la Leche*

Agente microbiano	Unidad	Categoría	Clase	N	C	Limite por ml	
						M	M
Aerobios Mesofilos	UFC/ml	3	3	5	1	$5 \times 10^5$	$10^6$
Coliformes	UFC/ml	4	3	5	3	$10^2$	$10^3$

*Fuente:* (MINAGRI, 2017)

## **1.2 YOGURT**

“El yogurt es la leche (usualmente de vaca) que ha sido fermentada con *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgáricus* bajo condiciones definidas de tiempo y temperatura. Cada especie de bacterias estimula el crecimiento de la otra, y los productos de su metabolismo combinado dan como resultado la textura cremosa característica y el ligero sabor ácido. También el yogurt contiene otros aditivos tales como sólidos lácteos, azúcares, frutas, etc. Además de la leche fermentada con cultivos lácteos el yogurt contiene otros ingredientes tales como sólidos lácteos, azúcares, frutas, algunos tipos de yogurt contienen unos cultivos especiales llamados probióticos. Los cultivos probióticos adicionados están presentes de forma activa es decir se encuentran vivos en el producto. Es por esta razón que usualmente se recomienda mantener el yogurt en refrigeración (4°C) y de esta manera conservar las propiedades beneficiosas para la salud” (Alimentarius, 2017).

### **1.2.1 BENEFICIOS PARA LA SALUD**

“Una vez cuando consumimos yogurt previene y mejora los síntomas de diarrea, reduce los valores de colesterol sanguíneo, gran fuente de calcio, inhibición del desarrollo de bacterias patógenas, actúa sobre el sistema inmunitario, intolerancia a la lactosa, efecto anticancerígeno y efecto metabólico” (Lopez, 2019).

**Tabla N° 4*****Composición Nutricional en 100 g de Yogurt***

<b>Componente</b>	<b>Gramos (g)</b>
Agua	87.9
Proteína	3.5
Grasa	3.3
Carbohidrato	4.7
Ceniza	0.7
Energía (kcal)	61

***Fuente:*** (INDECOPI, 2017)

**Tabla N° 5*****Análisis Físicoquímico del Yogurt Sábila-Piña y Natural***

<b>Propiedades físicoquímicas</b>	<b>Yogurt sábila-piña</b>	<b>Yogurt Natural</b>
Acidez	0.65%	0.68%
Proteína	4.8%	5.10%
Grasa	4.2%	3.45%
SNG	12%	11%
ST	16.2%	14.45%
Azúcares	4.15%	2.85%

***Fuente:*** (Martinez, 2017)

Tabla N° 6

*Propiedades Fisicoquímicas del Yogurt*

<b>Características</b>	<b>Unidad</b>	<b>Elaborado a base de leche entera</b>	<b>Elaborado a base de leche parcialmente descremado</b>	<b>Elaborado a base de leche descremado</b>
Grasa	%	Mínimo 3	0.6-2.9	
Sólidos no grasos	%	Mínimo 8.2	Mínimo 8.2	Mínimo 8.2
Acidez (% de ácido láctico)	%	Mínimo 0.6 Máximo 1.5	Mínimo 0.6 Máximo 1.5	Mínimo 0.6 Máximo 1.5
Proteína	%	Mínimo 2.7	Mínimo 2.7	Mínimo 2.7

*Fuente:* (INDECOPI, 2017)

Tabla N° 7

*Microbiología de Identidad en el Yogurt*

<b>Agente Microbiano</b>	<b>Unidad</b>	<b>Recuento</b>
Bacterias lácticas totales	UFC/g	Min. 10 <sup>7</sup>
Microorganismos etiquetados	UFC/g	Min. 10 <sup>6</sup>

*Fuente:* (MINAGRI, 2017)

Tabla N° 8

*Especificaciones Sanitarias*

Agente microbiano	Unidad	Categoría	Clase	n	C	Limite	
						M	M
Coliformes	UFC/g	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
Mohos	UFC/g	2	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
Levaduras	UFC/g	2	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>

*Fuente:* (MINAGRI, 2017)

### 1.2.2 BACTERIAS DEL YOGURT Y SUS EFECTOS EN EL ORGANISMO

“El yogur natural es un alimento probiótico esencial con alrededor de 100 millones de bacterias y numerosos beneficios para nuestro organismo, el sistema digestivo está colonizado por toda una serie de bacterias que forman un grupo complejo llamado microbiota intestinal. Estas bacterias viven en simbiosis con nuestro intestino en un delicado equilibrio que puede verse afectado por la alimentación, el estrés, las enfermedades, o algunos medicamentos. El consumo de alimentos con probióticos mantiene este equilibrio, como hemos apuntado antes el yogurt es un probiótico esencial y por lo tanto consumirlo ayudará a mantener la buena salud digestiva. Los microorganismos que encontramos en el yogurt son capaces de regenerar la flora intestinal. Además, las bifidobacterias presentes en el yogur también estimulan el sistema inmunitario” (Sanz, 2017).

**Tabla N° 9**

***Bacterias en el Yogurt y sus Beneficios***

<b>Bacterias</b>	<b>Beneficios</b>
Lactobacillus Acidophilus	Estimula el sistema inmunológico Reduce el colesterol Equilibra la flora intestinal Previene el cáncer al colon
Lactobacillus mezclado con Bifidobacterium ssp	Disminuye infecciones intestinales Mejora la utilización de la lactosa Previene enfermedades diarreicas.
Lactobacillus subespecie rhamnosus	Antitumoral Prevención de malestar estomacal Prevención de la caries dental
Lactobacillus subespecie bulgaricus	Prevención de malestar estomacal Reducción de enzimas fecales Estimulación del sistema inmunológico
Streptococcus salivarius	
Streptococcus thermophilus	Prevención de la diarrea

***Fuente:*** (Muñoz, 2016)

### 1.2.3 CULTIVO LÁCTICO

“Los cultivos lácticos son microorganismos seleccionados que se emplean en la industria lechera para la elaboración de leches fermentadas, mantequilla, quesos, etc. Estos cultivos o fermentos lácticos se utilizan en la industria para darle a los productos características determinadas como sabor, aroma, textura y apariencia. Los cultivos se hicieron de suma importancia en la industria láctea ya que al pasteurizarla por aspectos sanitarios se eliminan los microorganismos naturales de la leche, las bacterias lácticas utilizan la lactosa de la leche como fuente de energía y la transforman en ácido láctico y pequeñas cantidades de otras sustancias como ácido acético, ácido fórmico y anhídrido carbónico” (Edy, 2015).

### 1.2.4 CULTIVOS PROBIÓTICOS SACCO

“Estas cepas, especialmente estudiadas y seleccionadas, proporcionan al consumidor final todos los beneficios de un producto orgánico natural. Cultivos probióticos sacco están disponibles con una concentración de  $1 \times 10^{11}$  ufc/g, garantizando una alta viabilidad en los productos en los que son adicionados, incluyendo la leche pasteurizada que es utilizada como vehículo para que los probióticos lleguen al tracto digestivo del consumidor. Disponibles cepas puras y combinaciones de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus casei*, *paracasei*, *plantarum*, *rhamnosus*, etc; todas ellas probióticas, los beneficios son control de patógenos intestinales, producción de principales vitaminas del complejo B, efectos de estimulación inmune moduladora y actividad antitumoral, restablecen la flora intestinal después de un tratamiento con antibióticos, reducen la intolerancia a la lactosa al fermentarla en ácido láctico, reducen los niveles de colesterol sérico, entre otros beneficios” (Interinsumos, 2019).

“Aplicación generalizada en productos como: yogur, quesos, crema, leches fermentadas, complementos nutricionales; así como en consumo directo, El control bacteriológico de los derivados lácteos al salir al mercado es muy importante; cultivos protectores Sacco de inóculo directo, permiten alargar y garantizar la vida de anaquel de forma natural en quesos, yogur, crema y otros derivados lácteos. Estos cultivos son una simbiosis de bacterias mesófilas y termófilas homofermentativas y aplicados en los alimentos aportan beneficios al preservar y aumentar la vida útil de ese alimento para consumo humano” (Interinsumos, 2019).

**Tabla N° 10**

***Cultivos de serie SACCO Lyofast Probiótico***

<b>Lyofast</b>	<b>Cepas</b>	<b>Aplicación</b>
SAB 440 A,	Lactobacillus acidophilus	Bebidas lácteas fermentadas
SAB 442 A y	Streptococcus thermophilus	probióticas
SAB 446 B	Bifidobacterium animales ssp.	(yogurt)

***Fuente:*** (Interinsumos, 2019)

### **1.2.5 TEMPERATURA PARA EL DESARROLLO DE BACTERIAS LÁCTICAS**

“La principal característica de las bacterias lácticas del yogurt *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* y a la cual deben su gran importancia en la industria alimenticia es la acidificación que producen en el medio debido a la producción de ácido láctico, las temperaturas óptimas de crecimiento son de 37° - 42°C y de 42° - 45°C para *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* respectivamente desarrollándose en una verdadera simbiosis. En esta simbiosis es el *S.*

thermophilus el que inicia la fermentación láctica y que se 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 crea las condiciones ideales para que se desarrolle *L. bulgaricus*. Los lactobacillus desarrollan aparte una actividad lipolítica, por lo que se liberan ácidos grasos y producen además acetaldehído, constituyéndose así en los principales productores de aroma del yogurt” (Hernandez, 2015).

### **1.2.6 PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS**

“Las características más apreciables e importantes del yogurt son su sabor, aroma y consistencia. Estas características están muy relacionadas con el precalentamiento de la materia prima y con el crecimiento de las cepas microbianas en condiciones determinadas y perfectamente controladas, los principales componentes de aroma son: el acetaldehído, la acetona y el digestivo. La particular consistencia se debe a diversos factores como el enriquecimiento en extracto seco de la leche original, la intensidad y duración del precalentamiento, la adición de espesantes, la velocidad y grado de acidificación y las condiciones de refrigeración, entre ellos. El aroma depende de la calidad de las materias primas, proporción de los ingredientes, naturaleza de la microflora y de las condiciones de incubación” (Martínez, 2015).

Tabla N° 11

*Características Organolépticas del Yogurt*

Atributo	Yogurt saborizado (batido)
Superficie	Apariencia homogénea suficientemente batido, sin separación de suero
Color	Correspondiente saborizante
Condiciones de frescura	Apariencia fresca
Olor	Típico del saborizante adicionado acidificado
Sabor	Típico del saborizante, agradable, de ligero a medianamente ácido
Consistencia	Cremoso, viscoso, no pastoso

*Fuente:* (Martínez, 2015)

### 1.3 PREBIÓTICO

“Los prebióticos son fibras vegetales que actúan como fertilizantes que estimulan el crecimiento de bacterias sanas en el intestino. Se encuentran en muchas frutas y verduras, especialmente en aquellas que contienen carbohidratos complejos, como la fibra y el almidón resistente. Estos carbohidratos no son digeribles por el cuerpo, por lo que pasan a través del sistema digestivo para convertirse en alimento para las bacterias y otros microbios. Un prebiótico debe aumentar el número bacterias ácido lácticas y bifidobacterium ssp ya que mejoran la digestión, la absorción de minerales y la eficacia del sistema inmunológico” (Clinic, 2021).

“Dentro de las sustancias prebióticas más conocidas y estudiadas se encuentran la inulina, los fructo-oligosacáridos, los galacto-oligosacáridos y la lactulosa. Todos los prebióticos se

consideran parte de la fibra alimentaria, aunque no toda la fibra alimentaria es prebiótica” (Martin, 2011).

### **1.3.1 BENEFICIOS**

“Son capaces de reducir la inflamación intestinal, aumentar la absorción intestinal de ciertos minerales, como calcio, magnesio y hierro, disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, evitar la obesidad, disminuir la ansiedad y el estrés, ayudar a prevenir el cáncer de colon, evitar o disminuir los episodios de diarrea” (Martin, 2011).

### **1.4 PROBIÓTICO**

“Los probióticos contienen organismos vivos, generalmente cepas específicas de bacterias que se añaden directamente a la población de microbios sanos en el intestino, Al igual que los prebióticos, puedes tomar probióticos tanto a través de los alimentos como de suplementos. Probablemente el alimento probiótico más común es el yogur, se obtiene fermentando la leche con diferentes bacterias que quedan en el producto final” (Clinic, 2021).

“Los probióticos son bacterias vivas que pueden adicionar a la fórmula de diferentes tipos de productos, incluyendo alimentos, medicamentos y suplementos dietéticos. Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las usadas más frecuentemente como probióticos, Las bacterias ácido lácticas, entre las que se incluye la especie *Lactobacillus* que ha sido utilizada para la conservación de alimentos por fermentación durante miles de años, pueden tener una doble función, actuando como agentes para la fermentación de alimentos y además potencialmente confiriendo beneficios a la salud. El término probiótico debería reservarse para los microbios vivos que en estudios controlados en humanos han demostrado conferir beneficios a la salud. La

fermentación de alimentos ofrece perfiles de sabor característicos y reduce el pH, lo que impide la contaminación con posibles patógenos. La fermentación se aplica en todo el mundo para la preservación de una serie de productos agrícolas sin procesar (cereales, raíces, tubérculos, frutas y hortalizas, leche, carne, pescado, etc” (Kaufmann, 2011).

#### **1.4.1 MECANISMO DE ACCIÓN DE PROBIÓTICOS**

“Producción de sustancias antimicrobianas como ácido láctico, peróxido de hidrogeno, diacetilo y bacteriocinas. Estos compuestos reducen el número de células patógenas viables que afectan el metabolismo bacteriano o la producción de toxinas, así mismo disminución de pH intestinal favoreciendo el incremento de microorganismos beneficiosos y el aumento de resistencia de colonización por competir con patógenos para unirse a los sitios de adhesión en la superficie del epitelio gastrointestinal (competición por nutrientes) también la estimulación de la respuesta inmune” (Collado & col, 2007).

Tabla N° 12

*Microorganismos Considerados Probióticos*

<b>Bacterias</b>	<b>Fábrica</b>
Bifidobacterium animalis	Danone/Dannon
Bifidobacterium animalis subsp. Lactis	Chr-Hansen
Bifidobacterium infantis	Procter y Gamble
Bifidobacterium logum	Morinaga Milk Industry
Lactobacillus acidophilus	Chr-Hansen
Lactobacillus acidophilus	Danisco
Lactobacillus casei	Danone/Dannon
Lactobacillus casei Shirota	Yakult
Lactobacillus johnsonii	Nestlé

**Fuente:** (Perdigón, 2018)

## 1.5 YOGURT SIMBIÓTICO

“Un simbiótico es la mezcla de probióticos y prebióticos que ambos actúan en simbiosis y afectan beneficiosamente al hospedador, mediante la mejora de la supervivencia y la implantación de los microorganismos vivos en el tracto gastrointestinal añadidos en la dieta. Dicha implantación promueve la estimulación selectiva del crecimiento y/o activación del metabolismo de uno o un número limitado de bacterias promotores de salud, mejorando así el bienestar del hospedador. Los

prebióticos son considerados por médicos y científicos como el tipo de alimentos que activa y fortalece el sistema inmune; que ayuda a prevenir diversas enfermedades, entre ellas el cáncer de colon mientras que los probióticos son bacterias vivas que refuerzan la flora intestinal, ya que compiten contra las bacterias malas” (Mollo, 2020).

### **1.5.1 PREBIÓTICO Y EFECTO EN LA VIABILIDAD DE BACTERIAS PROBIÓTICAS**

“Los prebióticos se definen como ingredientes alimentarios no digeribles que provocan cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota intestinal confiriendo bienestar y salud al hospedero. Los prebióticos son sustancias de la dieta (fundamentalmente polisacáridos no amiláceos y oligosacáridos no digeribles por enzimas humanas) que nutren a grupos seleccionados de microorganismos que habitan en el intestino favoreciendo el crecimiento de bacterias beneficiosas sobre las nocivas. Estos efectos prebióticos se relacionan principalmente con la estimulación de la producción de ácidos grasos de cadena corta que reducen la microbiota patógena y estimulan selectivamente la población de bacterias probióticas (principalmente bifidobacterias y también lactobacilos) al disminuir el pH intestinal que son especialmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, dando origen a compuestos que ejercen efectos funcionales sobre la mucosa del tubo digestivo” (Núñez, 2016).

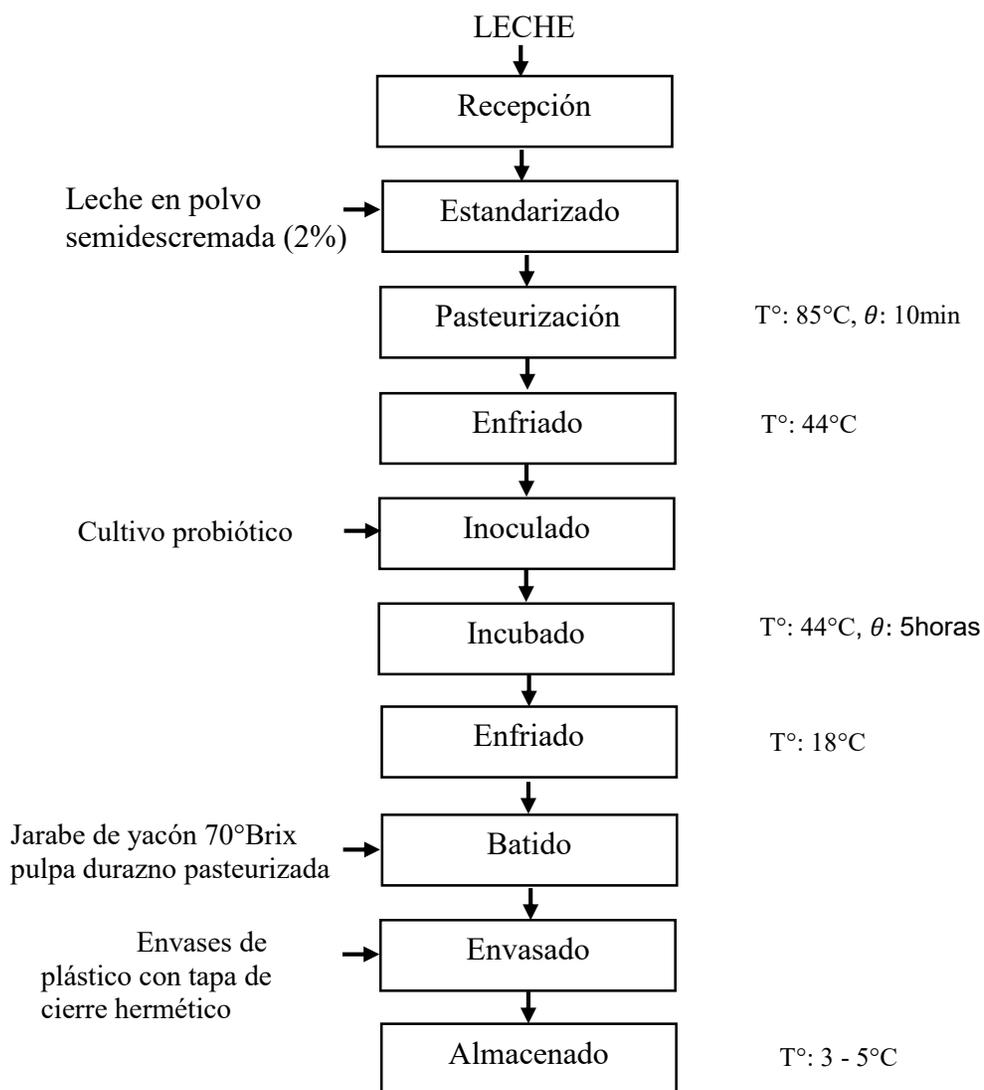
“Algunos fructo-oligosacáridos, isomaltooligosacáridos, oligomato, palatinosa, polidextrosa, polidextrina, rafilina, presentes en: soya, avena, cebolla, ajo, banano, puerros, derivados del trigo, achicoria, espárrago, alcachofa entre otros, se les considera también prebióticos. La oligofruktosa (OF) está presente naturalmente en muchos alimentos como: trigo, cebollas, bananas, miel, ajo y puerro (Guarner, 2008). La fibra dietaría se clasifica en dos

fracciones: fibra dietaria insoluble (FDI) compuesta por celulosa, lignina y parte de hemicelulosa y que es escasamente fermentable; y fibra dietaria soluble (FDS) que incluye pentosas, pectinas, gomas, mucilago,  $\beta$  glucanos, fructo-oligosacáridos, hemicelulosas solubles e inulina. La combinación apropiada de prebióticos y probióticos da como resultado un alimento simbiótico que ejerce efectos pre y probióticos. La presencia de probióticos y prebióticos en un alimento mejoran la supervivencia de las bacterias probióticas durante el almacenamiento del producto y durante el paso a lo largo del tracto intestinal. Por otra parte, el producto simbiótico puede permitir una implantación eficiente de las bacterias probióticas en la microbiota del colon, debido al efecto estimulante que tiene sobre el crecimiento y/o actividad exógena y endógena de la bacteria. En leches fermentadas simbióticas, las cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium* spp. son ampliamente utilizadas como probióticos, mientras que fructo-oligosacáridos, galactooligosacáridos, lactulosa, y los productos derivados de inulina se utilizan ampliamente como prebióticos, es difícil de propagar en alimentos debido a la sensibilidad al oxígeno y a la baja tolerancia de acidez, la adición de prebióticos a los alimentos lácteos puede conducir a resultados prometedores para garantizar la presencia en cantidades elevadas de las bifidobacterias durante la vida útil de los productos lácteos mencionan que al adicionar compuestos prebióticos a la dieta en determinadas cantidades se altera la microbiota intestinal disminuyendo los recuentos de coliformes, bacteroides y cocos, aumentando las bacterias probióticas hasta en diez veces; modifican la actividad metabólica del colon, logrando una disminución del pH y un incremento en el contenido fecal de ácidos grasos de cadena corta como el acético, propiónico y butírico” (Salazar, 2005).

## 1.5.2 PROCESOS PARA LA ELABORACIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO

Figura N° 1

*Diagrama de Flujo para la Elaboración de yogurt simbiótico*



**Fuente:** (Villarroel, 2015)

Según Villarroel (2015) considera la siguiente descripción:

**Recepción de la materia prima:** La leche como materia prima afecta la calidad de todo producto lácteo fermentado; tanto en el aroma y sabor, consistencia y la producción de ácido, por lo cual la selección de leches para la elaboración deber ser rigurosa, debiendo ser la leche de buena calidad bacteriológica y libre de sustancias inhibidora. Las pruebas que se determinan son la densidad y acidez.

**Estandarización:** Normalmente la leche en la elaboración de productos fermentados tiene que ser estandarizada en el contenido de materia grasa, de acuerdo al tipo de elaborarse y 12% de solidos no grasos para unificar el producto final.

**Pasteurización:** La pasteurización, es una operación en donde se aumenta la temperatura de la leche, hasta alcanzar los 85°C durante 10 minutos con la finalidad de disminuir las bacterias patógenas, sin producir cambios su composición, en el sabor o en el valor nutritivo.

**Enfriado:** La leche se procede a enfriar hasta alcanzar una temperatura de 44°C, para poder realizar la inoculación del cultivo.

**Inoculado:** Se realiza previamente el cálculo respectivo de la cantidad de fermento que se va añadir en relación a la cantidad de leche.

**Incubación:** Una vez mezclada la leche con el cultivo se procede a incubar. La temperatura de incubación es de 44°C por un tiempo de 5 horas, hasta que alcance un pH de 4 – 4.6.

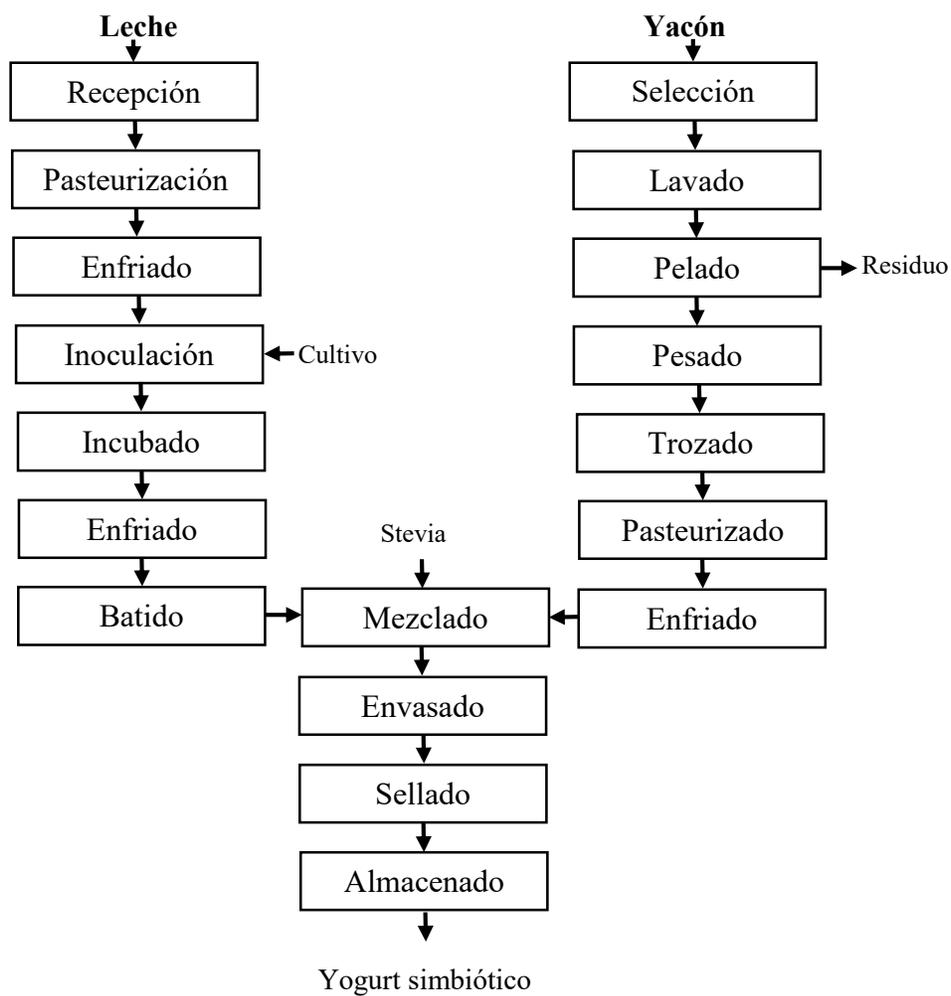
**Enfriado:** Se realiza con el objetivo de detener el crecimiento de los microorganismos y terminar el desarrollo de la acidez. Se recomienda enfriar a temperaturas menores a 20°C ya que a esa temperatura se inhibe el desarrollo de las bacterias.

**Batido:** El batido se ha realizado con una batidora, en donde se agregó el jarabe de yacon, pulpa de durazno y como conservante sorbato de potasio.

**Envasado:** El envasado se realizó en botellas de plástico con tapa de cierre hermético.

**Almacenado:** El almacenamiento se realiza a temperatura de refrigeración.

Figura N° 2

*Diagrama de Flujo para la Elaboración de Yogurt Simbiótico*

*Fuente:* (Marving, 2014)

Según (Marving, 2014) considera la siguiente descripción:

#### **a) Operaciones unitarias aplicadas al yacón**

**Selección:** La selección se la realiza estrictamente al Yacón de forma manual. Este proceso es la primera etapa para salvaguarda la calidad final del producto terminado, el criterio de selección utilizado está enfocado en una inspección física del Yacón. El Yacón al ser receptado pasa a ser inspeccionado al 100% eliminando o rechazando las unidades que presenten golpes, cortes y alguna apariencia que salga de las características propias del Yacón, en esta operación también se elimina todo material extraño que pueda haber sido receptado.

**Lavado:** El lavado se realiza después de la selección inicial se lleva a cabo con agua potable, utilizando cepillo de cerdas suaves se remueve toda la suciedad que se pueda alojar en superficie de la cascara del Yacón. Se especifica que el cepillo debe ser con cerdas suaves ya que la cascara del Yacón al ser muy fina podría pelarse y contaminar su pulpa con la suciedad de su exterior.

**Pelado:** Todo Yacón proveniente del procedo de lavado en esta etapa será pelado, removiendo toda su corteza e incluso removiendo toda sección del Yacón que llegue a esta operación pelado para ello se utilizará un cuchillo debidamente esterilizado para evitar una contaminación indirecta. En esta operación se tomará una muestra simple del Yacón pelado para proceder a la determinación de la humedad.

**Pesado:** El Yacón pelado pasa a ser pesado según la cantidad necesaria para la producción tomando como base de cálculo el tamaño del batch de producto terminado que se tenga previsto preparar. Para esta operación es necesaria la utilización de balanza gramera.

**Trozado:** Con la cantidad adecuada para el batch de Yacón pelado, este pasará a ser trozado por el procesador de alimentos debidamente esterilizado. Después de esta operación el Yacón se encuentra listo para su incorporación en el proceso de producción del yogurt.

**Tratamiento térmico:** Se sometió a una temperatura de 70°C por 5 minutos.

**Enfriado:** Se bajó la temperatura rápidamente hasta 15 °C.

#### **b) Operaciones unitarias para la elaboración de yogurt**

**Pasteurización:** La pasteurización de la leche se la lleva a cabo mediante el proceso de pasteurización lenta hasta aproximadamente 68°C de temperatura durante 30 minutos. Para controlar la temperatura se utilizó un termómetro electrónico.

**Primer Enfriado:** Después de pasteurizar la temperatura se tiende a bajar a 45°C.

**Inoculación:** Se procede a inocular 0,1g del cultivo thermóphilo pesado previamente en la balanza analítica luego se procede a mezclar con la leche pasteurizada por un tiempo de 15 minutos para una distribución homogénea.

**Incubación:** Después de la inoculación, la leche pasteurizada es transportada a la incubadora donde debe permanecer por un tiempo de 5 horas a una temperatura de 45°C bajo control riguroso.

**Segundo Enfriado:** Se enfrió hasta alcanzar una temperatura de 15°C.

**Batido:** Es una de las etapas importantes determina la textura del yogurt, se ajito cuidadosamente de menor velocidad a mayor velocidad hasta que tenga una consistencia uniforme y libre de grumos.

**Mezclado:** En esta operación se le agrega el Endulzante previamente pesado y el yacón trozado se lleva a cabo por 5 minutos para alcanzar una mezcla homogénea.

**Envasado:** Se realiza en forma manual en envases polietileno de alta densidad (HDPE) previamente esterilizados.

**Sellado:** Se realiza un sellado hermético de manera manual con tapas en HDPE previamente esterilizado.

**Almacenamiento:** El producto se debe mantener en cadena de frío a temperaturas entre 3 y 8°C. A esta temperatura tendrá un tiempo de vida útil de 2 semanas apto para su consumo y sin sufrir ninguna alteración en sus características organolépticas.

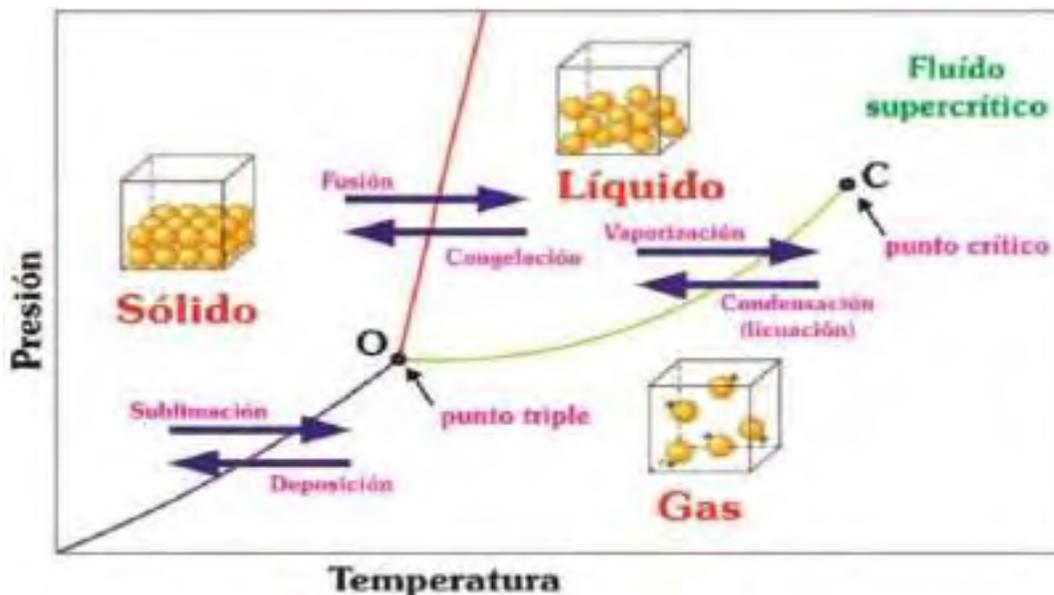
## 1.6 LIOFILIZACIÓN

“La liofilización o criodesecación, es el proceso utilizado para la eliminación del agua mediante desecación al vacío y bajo un ambiente con temperaturas oscilantes, con la finalidad de preservar un producto durante un tiempo determinado, sin que sus cualidades originales se vean alteradas. El producto final es una masa seca (pastilla) que puede ser re disuelta con agua en forma previa a su utilización. Este proceso consiste en la congelación previa del producto, su introducción

en una cámara de vacío con la finalidad de separar el agua por sublimación de esta manera se elimina la misma desde el estado sólido (congelado) al gaseoso, sin pasar por el estado líquido. Para acelerar el proceso se utilizan ciclos de congelación-sublimación con los que se consigue eliminar prácticamente la totalidad del agua libre contenida en el producto original. Es una técnica costosa y lenta, que se realiza de forma automatizada en aparatos denominados liofilizadores. Se trata de la única forma de secado que puede ser utilizada para la preservación de productos biológicos, puesto que las altas temperaturas matarían a los gérmenes contenidos en la vacuna” ((TECNOVAX, 2018)

**Figura N° 3**

***Diagrama de Fases del Agua***



**Fuente:** (Biología y Bioquímica, 2018)

### 1.6.1 ETAPAS DE LIOFILIZACIÓN

**Congelación inicial:** “Es una operación previa y obligatoria. El tiempo de duración depende de varios factores como la cantidad, concentración y naturaleza propia del producto. En líneas generales podemos decir que una congelación adecuada por debajo del punto eutéctico (Es la temperatura más baja en la cual la fase sólida y líquida del material pueden coexistir), es la base para que el producto liofilizado presente óptimas condiciones de aspecto, conservación de sus propiedades originales y rápida rehidratación. Generalmente las temperaturas de congelación están entre -20 y -80 °C. La fase de congelación es la más crítica del proceso del liofilizado, debido a que el producto puede ser completamente inactivado si se realiza en forma inadecuada” (TECNOVAX, 2018).

**Sublimación o desecación primaria:** “Es la etapa en la que la mayor parte del agua libre pasa a vapor. Los parámetros de temperatura, presión y tiempo pueden ser modificados independientemente, pero están íntimamente relacionados, no es posible modificar alguno sin que se afecten los otros, por lo que en todo momento deben ser monitoreados conjuntamente y analizados sus efectos. Este proceso se realiza bajo vacío (milibares) lo que acelera la desecación, debe ser lento y puede durar varios días” (TECNOVAX, 2018).

**Desorción o desecación secundaria:** “Su misión es la de eliminar las últimas trazas de vapor de agua, evaporando el agua no congelada ligada al producto (adsorbida). Se lleva a cabo a una temperatura inferior a la de desnaturalización del producto, y superior a la de la etapa previa. Se logra una humedad final hasta valores inferiores al 1 %” (TECNOVAX, 2018).

Figura N° 4

*Diagrama de Etapas de Liofilización*

*Fuente:* (Fernández, 2015)

### 1.6.2 VENTAJAS

Según Noguera B, (2020) indica las siguientes ventajas de productos liofilizados:

- Facilita el almacenamiento, transporte y conservación de productos.
- Permite reestablecer las propiedades del material conservado una vez rehidratado.
- Previene alteraciones térmicas al producto a preservar, ya que no se utilizan temperaturas altas.
- Disminución de aditivos o conservantes.
- Mantiene la estabilidad química del producto.
- Preserva el valor nutricional de los alimentos.
- Inhibe el crecimiento de microorganismos.

### **1.6.3 DESVENTAJAS**

Según Noguera B, (2020) indica las siguientes desventajas de productos liofilizados:

- Prolongado tiempo de procesamiento del producto.
- En algunos casos, alto consumo de energía.
- Inversión inicial alta.

Tabla N° 13

*Temperatura y Presión Para Liofilizar*

EVENTO	TEMPERATURA °C	PRESIÓN	PRESIÓN
		mm.Hg	um.Hg
	100	760	760 000
	90	525,8	525 800
Ebullición de agua pura	80	355,1	355 100
	50	92,51	92 510
	30	31,82	31 820
	20	17,54	17 540
	10	9,21	9 210
	0	4,58	4 580
Congelación de agua pura	-6.7	2,609	2 609
	-10	1,95	1 950
	-12.2	1,596	1 596
Temperatura común del producto durante la liofilización	-17.8	0,9562	956,2
	-20	0,776	776
	-23.3	0,56	560
	-28.9	0,319	319
	-34. 4	0,1779	177,9
Temperatura común del condensador	-40	0,0966	96,6
	-50	0,0269	26,9
	-60	0,008	8

**Fuente:** (Paucar, 2015)

## 1.7 YOGURT EN POLVO

“El objetivo de la fabricación de yogurt en forma de polvo es mejorar la vida útil del producto y facilidad de uso, el yogurt es obtenido gracias a las bacterias *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, hasta que alcanza un pH deseable (4,6) para luego someter a un proceso de secado. Hoy en día, con el desarrollo de la tecnología; la liofilización, secado por pulverización o secado por microondas son la principales métodos para la deshidratación además el producto ya seco requiere menos embalaje, almacenamiento y distribución cuesta debido a la reducción de agua a granel, y la refrigeración no es necesaria” (Krasaekoopt & Bhatia, 2012).

“Yogurt en polvo se puede utilizar en una amplia variedad de aplicaciones en alimentos, incluyendo yogurt instante, sustitución de yogurt fresco para la bebida y la inmersión. Puede también ser utilizado en aperitivos, productos de confitería, panadería y cereales para el desayuno, barras de helado de yogurt y fruta-vestir” (Childs & Drake, 2008).

“Este yogur en polvo, que sólo debe mezclarse con agua, tiene entre sus ingredientes proteína láctea, azúcar, almidón, maltodextrina, edulcorantes, ácido cítrico, cultivos lácteos liofilizados, saborizantes y aromas naturales, vitaminas, lactobacilos y dióxido de silicio como anti-aglomerante. Su presentación permite que los consumidores puedan llevarla para que pueda ser consumido en cualquier momento, por lo que es un producto dirigido a oficinistas o universitarios que tienen un estilo de vida práctico, pero que buscan una alimentación sustentable. Esta bebida en polvo, lo cual permite un mayor tiempo de vida en el anaquel o las alacenas en comparación con uno regular no necesita refrigeración y es ideal para consumidores migrantes de yogur bebible” (Acheverria, 2020).

Tabla N° 14

*Especificaciones de Leche en Polvo*

<b>Características</b>	<b>Unidad</b>	<b>Leche en polvo entera</b>	<b>Leche en polvo parcialmente descremada</b>	<b>Leche en polvo descremada</b>
<b>Materia grasa láctea</b>	g/100 g	Mínimo 26	Mayor de 1.5 y menor 26	Menor o igual que 1.5
<b>Proteína láctea en extracto seco</b>	g/100 g	Mínimo 34	Mínimo 34	Mínimo 34
<b>Humedad</b>	g/100 g	Máximo 5	Máximo 5	Máximo 5

*Fuente:* (MINAGRI, 2017)

Tabla N° 15

*Especificaciones del Yogurt en Polvo*

DETALLES	ESPECIFICACIONES
Apariencia	Crema Ligera
Sabor	Limpia Tarta
Proteína (seco)	20-22%
Ceniza	< 8%
Humedad	<5%
Gordo	<1,5%
<b>MICROBIOLÓGICO</b>	
Recuento en Placa Estándar	<30.000ufc/gr.
Coliformes	<10 ufc/gr
E. coli	<1 ufc/gr
Estafilococcus	Negativo
Salmonela	Negativo
<b>DURACIÓN</b>	
Almacenamiento	1 año (almacenamiento a temperatura ambiente)

**Fuente:** (Sourcing, 2020)

**1.7.1 YOGURT EN POLVO COMERCIAL**

“La reducción de agua en el yogurt contribuye a la preservación mayor y facilita el transporte y el embalaje debido a la reducción de peso del producto. Otra ventaja importante es que no se requieren bajas temperaturas de almacenamiento, como los utilizados en la conservación de producto tradicional, eliminando así la necesidad de la cadena de frío durante la distribución y venta, lo que representa una ventaja económica. Además, la conservación por liofilización los

microorganismos del yogur, ya que el proceso de secado se realiza a temperaturas bajas. Además de la reducción de los costes de almacenamiento y transporte, el polvo de yogur puede ser utilizado como un ingrediente o suplemento de zumos, galletas, helados, dulces, bebidas de leche, y como polvo sustituto de la leche en las recetas, proporcionando valor nutricional y funcional de los productos” (Aguilar R. , 2012).

### **1.7.2 LIOFILIZACIÓN DE YOGURT**

“Generalmente, el yogur se seca por congelación, secado al vacío o por pulverización de microondas. La liofilización es la congelación y luego la reducción de la presión circundante para permitir que el congelado del agua en el yogur pase a sublimarse directamente de la fase sólida a la fase de gas. Yogurt liofilizado tiene el mejor sabor y es el producto más auténtico en comparación con los obtenidos utilizando otros métodos de secado convencionales” (Kumar & Mishra, 2004).

“También describió la congelación secado de yogur a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas. Otro estudio mostró que la temperatura de congelación de  $-15$ ,  $-25$  y  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  no tuvo efectos significativos sobre el contenido final de la caseína proteína total. La supervivencia de las bacterias del ácido láctico era 50-60% durante la congelación a  $-25$  o  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Sin embargo, el yogur liofilizado proporciona más tiempo y vida útil más estable que la de yogur regular. Por otra parte, la reducción del peso y el agua mayor de estos productos deshidratados disminuye embalaje, manipulación, transporte y costes. Este producto es muy conveniente para los consumidores a utilizar, ya que puede almacenar a temperatura ambiente durante una vida útil larga. Hay muchas situaciones que a veces consumidor no tiene acceso a los supermercados compran yogur natural. También puede enviarse

a áreas de desastre natural o de una ayuda alimentaria a los países menos afortunados. Mientras que el consumidor puede hacer yogurt en casa, que es una operación que consume tiempo que requiere cierta habilidad y también es necesario el uso de refrigerador para enfriar y almacenar el yogurt. Sin embargo, por un instante reconstituido el yogurt, los consumidores sólo tiene que añadir agua al producto y mezclar bien cuando se quiere consumir yogurt” (Kumar & Mishra, 2004).

## **1.8 YACÓN**

“El Yacón es una raíz andina de sabor dulce muy recomendada para los diabéticos. Su principal ventaja es su contenido de inulina, fibra dietética que ayuda al organismo a metabolizar la glucosa. Es un tubérculo andino que, pese a su sabor dulce, resulta excelente para los diabéticos, porque el tipo de azúcar que contiene no es asimilado por el organismo humano, más bien pasa sin metabolizarse, pero en el intestino grueso es utilizado por unas bacterias para su metabolismo, entonces el azúcar del yacón ayuda a incrementar la microflora que se encuentra en la última parte del intestino grueso, y al tener altas poblaciones de esas bacterias conocidas con el nombre de bifidobacterias permiten regular a otras bacterias que se encargan de la putrefacción de los residuos que se encuentran en el intestino grueso. Se dice que gracias a las bifidobacterias estimuladas por el consumo de yacón habrán menos toxinas y consecuentemente menos riesgos de que se produzca un cáncer al colon” (Fernandez & Jeri, 2015).

Tabla N° 16

*Clasificación Taxonómica del Yacón*

TAXONOMIA	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Asteroideae
Tribu	Millerieae
Género	<i>Smallanthus</i>
Especie	<i>S. sonchifolius</i>

*Fuente:* (Herbazest, 2020)

Figura N° 5

*Raíz de Yacón y Planta*

*Fuente:* (INDECOPI, 2015)

**Tabla N° 17**

***Composición Nutritiva de la Parte Comestible del Yacón***

Nutriente	En 100 g de porción comestible
Agua	86.6 g
Proteína	0.3 g
Grasa	0.3 g
Carbohidratos	12.5 g
Calcio	23 mg
Fosforo	21 mg
Hierro	0.3 mg
Riboflavina	0.11 mg
Niacina	0.34 mg
Energía	54 kcal

*Fuente:* (INDECOPI, 2017)

### **1.8.1 ASPECTOS FUNCIONALES**

“En la actualidad, el yacón se describe como el alimento con mayor contenido de FOS en la naturaleza. La actividad prebiótica de los FOS contenidos en el yacón se ha asociado con efectos favorables para la salud tales como el alivio del estreñimiento, aumento de la absorción de minerales, el fortalecimiento del sistema inmunológico, disminución del riesgo de desarrollo de cáncer de colon, los cuales se han demostrado científicamente cuando los FOS se consumen en las dosis recomendadas” (Santana & Cardoso, 2008).

“Por otro lado, se han realizado investigaciones con algunos de sus derivados como, por ejemplo, jarabe de yacón o té de yacón, con resultados positivos. Observaron que la ingesta diaria de jarabe de yacón produjo una disminución significativa en el peso corporal y el índice de masa corporal en mujeres obesas pre menopáusicas con resistencia a la insulina. Además, aumentó la frecuencia de la defecación y la sensación de saciedad. Indican que el extracto de hojas de yacón provocó una mejora en la salud de ratas diabéticas (glucosa en plasma, niveles de insulina en plasma, peso corporal) y los parámetros renales (peso del riñón, peso del riñón en relación al peso corporal, el aclaramiento de creatinina, excreción urinaria de albúmina) en comparación con las ratas diabéticas control” (Aybar, 2001).

“Se sostiene que sobre la base de estudios diseñados en humanos se ha demostrado cambios significativos en la composición de la flora fecal, se puede concluir que la inulina y la oligofructosa (5-15 g/día durante unas pocas semanas) son prebióticos. Como sucede con otras fibras dietéticas, éstas tienen un efecto de aumento en la frecuencia y volumen de las deposiciones, debido a un incremento en la biomasa microbiana que resulta de su fermentación. Por lo tanto, la inulina y la oligofructosa encajan bien dentro del concepto actual de fibra dietética” (Roberfroid, 2002).

### **1.8.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA**

“El yacón es una de las raíces comestibles con mayor contenido de agua, representado entre el 83 y 90 por ciento del peso fresco de las raíces. El mineral más abundante es el potasio, en promedio 230 mg/100 g de materia fresca comestible. En mucho menor cantidad se encuentra el calcio, fósforo, magnesio, sodio y hierro. En cuanto al contenido de proteínas, lípidos y vitaminas es bastante bajo mientras que los carbohidratos representan alrededor del 90 por ciento del peso

seco de las raíces recién cosechadas, de los cuales entre el 50 y 70 por ciento son FOS, el resto de carbohidratos lo conforman la sacarosa, fructosa y glucosa” (Chávez, 2016).

**Tabla N° 18**

***Composición Química de Yacón por 1 kg de Materia Fresca***

<b>Compuesto</b>	<b>Unidad</b>	<b>Promedio</b>	<b>Rango</b>
Materia seca	g	115	98 – 136
Carbohidratos totales	g	106	89 – 127
Fructanos	g	62	31 – 89
Glucosa libre	g	3.4	2.3 – 5.9
Fructosa libre	g	8.5	3.9 – 21.1
Sacarosa Libre	g	14	10 – 19
Proteína	g	3.7	2.7 – 4.9
Fibra	g	3.6	3.1 – 4.1
Lípidos	mg	244	112 – 464
Calcio	mg	87	56 – 131
Fósforo	mg	240	182 – 309
Potasio	mg	2282	1843 – 2946

***Fuente:*** (Chávez, 2016)

**Tabla N° 19**

***Composición en Carbohidratos de la Raíz de Yacón***

<b>Azúcares</b>	<b>Composición en azúcares (%)</b>
Fructanos	46.1
Sacarosa	9.7
Glucosa	14.5

---

Fructosa	29.6
----------	------

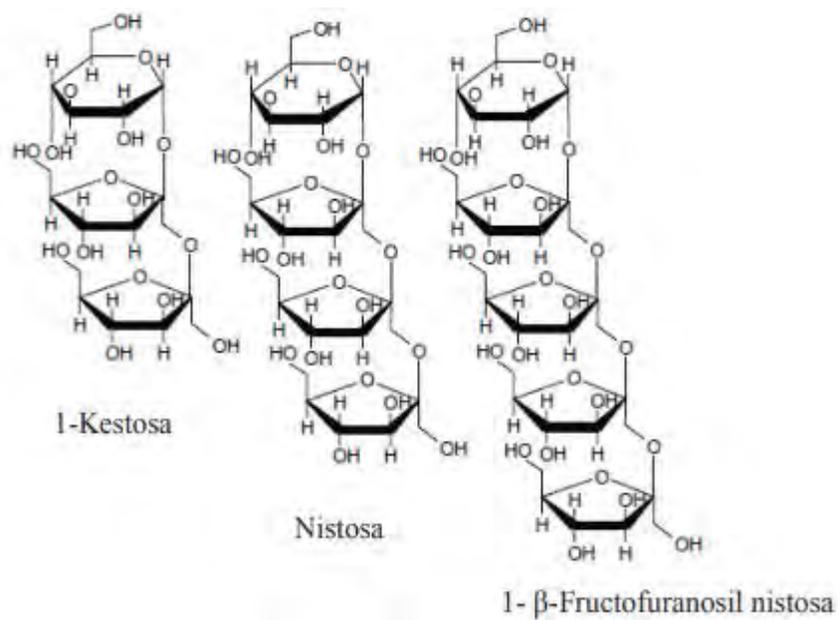
---

*Fuente:* (Chávez, 2016)

### 1.8.3 FRUCTO-OLIGOSACÁRIDOS

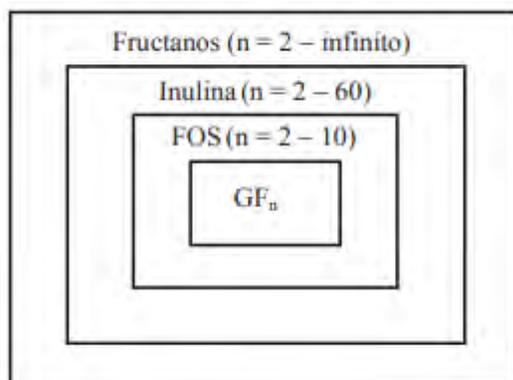
“Los fructo-oligosacáridos (FOS), también conocidos como oligofructanos u oligofructosa, pertenecen a una clase particular de azúcares conocidos con el nombre de fructanos. La estructura fundamental de los fructanos es un esqueleto de unidades de fructosa unidas entre sí por enlaces glucosídicos  $\beta$  (2-1) y/o  $\beta$  (2-6). Es frecuente encontrar, adicionalmente, una molécula de glucosa al inicio de la cadena de cada fructano. Existen diversos tipos de fructanos en la naturaleza, pero desde un punto de vista nutricional y de uso en la industria alimentaria se reconocen a los FOS y a la inulina como los más importantes. La inulina y los FOS no tienen una composición química definida ya que ambos son, en realidad, una mezcla de fructanos de diferentes tamaños. Debido a que las moléculas de fructosa se unen exclusivamente por enlaces  $\beta$  (2-1), estos fructanos adquieren una conformación especial semejante a cadenas lineales. La diferencia entre los FOS y la inulina radica en el número de moléculas de fructosa que tienen estas cadenas. En la inulina, este número varía entre 2 y 60, mientras que, en los FOS, que tienen cadenas más pequeñas, el número varía entre 2 y 10. Eso significa que a los FOS se les puede considerar como un subgrupo de la inulina. Por este motivo algunos autores prefieren emplear el término fructoligosacáridos del tipo inulina para referirse con mayor precisión a la naturaleza de los azúcares presentes en el yacón” (Chávez M. , 2016).

Figura N° 6

*Estructura Química de los Fructanos*

*Fuente:* (Lachman, 2003)

Figura N° 7

*Clasificación de los Fructanos*

*Fuente:* (Godo, 1995)

**Tabla N° 20**

*Relación de Plantas con Mayor Contenido de Fructanos*

<b>Nombre común</b>	<b>Fructano predominante</b>	<b>% en materia comestible</b>
Achicoria	Inulina	16-20
Topinambur	Inulina	15-20
Dalia	Inulina	6-14
Yacón	FOS	9-12
Ajo	inulina	9-11
Cebolla	inulina	2-6
Esparrago	inulina	2-3
Trigo	inulina	1-6
Plátano	inulina	0.3-0.7

*Fuente:* (Manrique I. , 2003)

## 1.9 JARABE DE YACÓN

“El fundamento para la elaboración del jarabe es sencillo: consiste en extraer el jugo de las raíces y elevar la concentración de azúcares de las mismas hasta alcanzar un valor de 73° Brix o 68-72 °Brix en el producto terminado. Dado que la concentración de azúcares en las raíces de yacón es por lo general entre 8 y 12° Brix, se requiere evaporar bastante agua (de 5 a 8 litros de agua/kg de jarabe) para alcanzar la concentración final de azúcares que requiere el jarabe. Durante las operaciones de corte y pelado de los tejidos vegetales se provoca la descompartimentación celular, lo que permite la entrada en contacto de enzimas (polifenol oxidasas) de localización

citoplasmática con substratos (fenoles) de localización vacuolar. La polifenol oxidasa (PPO) cataliza la oxidación de fenoles a quinonas en un proceso conocido como oxidación enzimática. En la siguiente fase, las quinonas formadas que son moléculas muy reactivas se combinan con grupos amino o sulfhidrilo de las proteínas y con azúcares reductores, dando lugar a polímeros de alto peso molecular y con diversas coloraciones. Estos compuestos son denominados melaninas y son los responsables de transferir coloraciones oscuras a los alimentos después del pardeamiento” (Manrique I. , 2003).

“En el yacón, el pardeamiento se activa a los pocos segundos de haber triturado las raíces para obtener el jugo. El color original del jugo de yacón (parecido al color anaranjado del jugo de melón) cambia rápidamente en sólo 10 a 15 segundos, y de modo irreversible, a un color verde muy oscuro (verde petróleo). La mejor manera de evitar que el jarabe tenga un color muy oscuro al final del proceso es evitando que las reacciones de pardeamiento enzimático ocurran o que éstas se desarrollen muy lentamente. Una forma de lograr ello es extrayendo el jugo del modo más rápido que sea posible e inmediatamente usar un tipo de agente normalmente un antioxidante para prevenir la oxidación y el pardeamiento del jugo. La ebullición es un proceso que asegura la degradación parcial de ciertos componentes presentes en el jugo de yacón, los cuales otorgan un sabor característico y no muy agradable, al producto final. Por otro lado, la ebullición promueve una pequeña tasa de caramelización de los azúcares lo que ayuda a enmascarar el sabor de las sustancias poco agradables que están presentes en el jarabe. Así, la ebullición del jugo ayuda a transferir al producto final un sabor agradable, diferente al sabor del jarabe obtenido en equipos muy sofisticados que usan temperaturas muy por debajo del punto de ebullición como el concentrador al vacío y que son incapaces de lograr este efecto sin el uso de aditivos especiales.

En cuanto a contenido de FOS, la calidad del jarabe de yacón obtenido por un proceso de ebullición no es inferior a la calidad de otros jarabes obtenidos en equipos más modernos ya que la ebullición del jugo no tiene efecto en la estructura química de los FOS. Los FOS son azúcares que comienzan a despolimerizarse (proceso de conversión en azúcares simples) a temperaturas superiores a 120° C” (Manrique I. , 2003).

**Tabla N° 21**

***Composición Química en 100 g de Jarabe de Yacón***

Características	Unidad	Variedad blanca		Variedad morada	
		Base húmeda	Base seca	Base húmeda	Base seca
Agua	g	30	0	30	0
FOS	g	44.6	63.7	44.9	64.2
Sacarosa	g	12.1	17.3	9.24	13.2
Glucosa	g	9	12.86	7.78	11.11
Fructosa	g	4.29	6.13	8.03	11.47
Ácido ascórbico	mg	1624	2320	1568	2240

***Fuente:*** (Torres, 2007)

**Tabla N° 22*****Análisis fisicoquímico de la miel de yacón***

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad</b>
Humedad	25.5
Proteína	1,2
Fibra	10.9
Ceniza totales	1.41
Solidos solubles (°brix)	73
pH	5.6
Acidez (ácido cítrico)	0.65

***Fuente:*** (Caballero, 2014)

**1.9.1 COEFICIENTES DE PRODUCCIÓN**

“La eficiencia de conversión de raíces a jarabe varía generalmente entre 7 y 10%, es decir que para obtener 1 kg de jarabe de yacón se debe emplear entre 10 a 15 kg de raíces lavadas. El contenido de sólidos solubles en la materia prima es el componente más importante que afecta la eficiencia de conversión a jarabe. Por ejemplo, para obtener 1 kg de jarabe se necesitan aproximadamente 6 litros de jugo si éste tiene 12° Brix, pero se necesitarán 9 litros si el jugo tiene 8° Brix. Mejores coeficientes de producción se obtienen al procesar raíces grandes y uniformes, fáciles de pelar; esto garantiza una menor pérdida de materia prima durante el pelado. Por último, se puede prensar el bagazo que sale del extractor con el fin de recuperar la mayor cantidad posible de jugo e incorporarlo a la línea de procesamiento de jarabe” (Elguera, 2014).

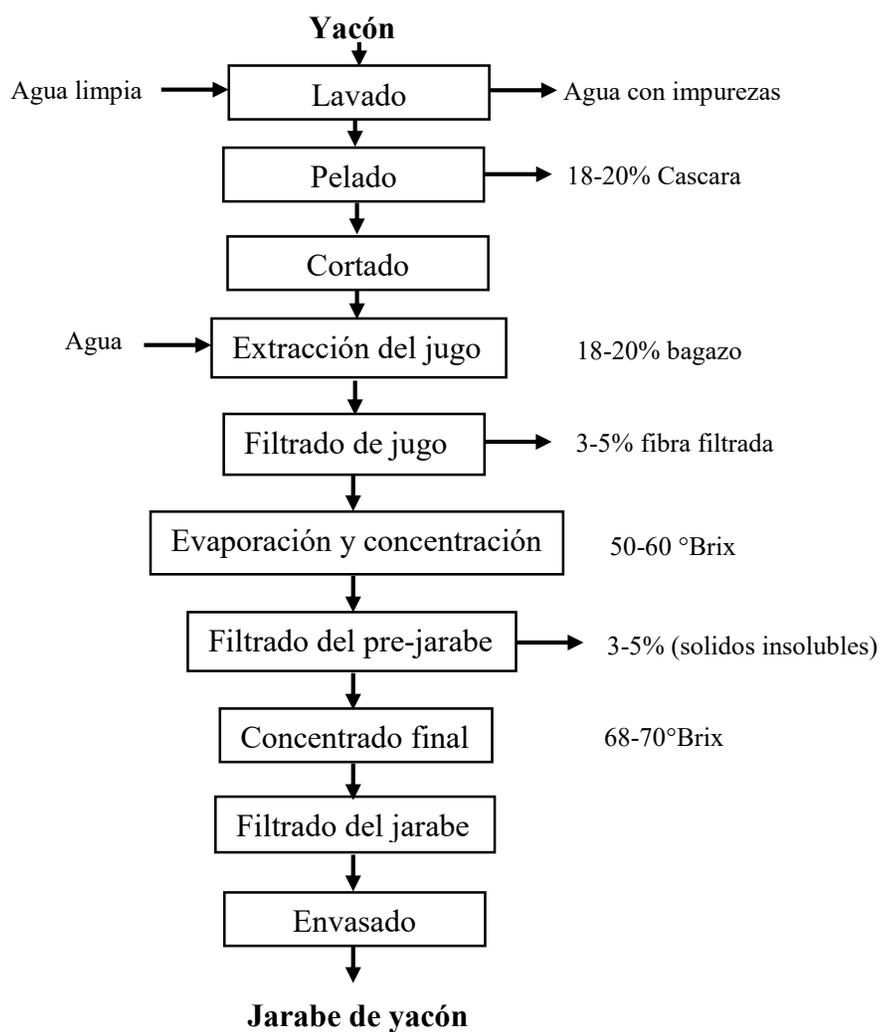
### 1.9.2 CONTENIDO CALÓRICO

“En términos generales, se considera que el aporte calórico de los carbohidratos en los alimentos es de 4 kcal/g. Sin embargo, los FOS, por ser un tipo particular de carbohidratos, tienen tan sólo entre 1 y 1.5 kcal/g. El problema es que muchos laboratorios no tienen implementado un método específico para cuantificar FOS y distinguirlos del resto de carbohidratos. Esto conlleva a sobreestimaciones en el valor calórico real del jarabe de yacón, se sabe que dosis elevadas de consumo de FOS ocasionan flatulencia, presión abdominal y diarrea. Sin embargo, la mayoría de estudios científicos concuerdan en que dosis inferiores a 20 g FOS/día no desencadenan estos efectos colaterales indeseables. Por regla general se asume que el consumo diario de FOS no debe exceder de 0.3 y 0.4 g por cada kilogramo de peso corporal en hombres y mujeres, respectivamente. Dosis superiores a 20 g de FOS/día pueden producir flatulencia y presión abdominal, y dosis por encima de 50 g frecuentemente ocasionan diarrea, asumiendo que los FOS representan el 50% de la composición química del jarabe de yacón, se podría recomendar una dosis máxima de consumo de 40 g de jarabe/día, sin correr gran riesgo de sufrir cualquier efecto secundario indeseado asociado al consumo de FOS, Obviamente, la dosis de consumo de jarabe de yacón puede ser mayor cuando la concentración de FOS en el jarabe es menor, por ello en el etiquetado del envase debería especificarse la concentración de FOS en el jarabe. Si bien existen algunas empresas que han empezado a elaborar y comercializar jarabe de yacón en el Perú son pocas las que incluyen el contenido de FOS en el etiquetado” (Manrique I. , 2003).

### 1.9.3 PROCESO PARA LA ELABORACIÓN DE JARABE DE YACÓN

Figura N° 8

*Diagrama de Flujo para la Elaboración de Jarabe de Yacón*



*Fuente:* (Manrique I. , 2003)

### 1.9.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Según Manrique, (2003) considera la siguiente descripción:

**Selección de la materia prima:** Una vez teniendo en cuenta que el yacón está en buenas condiciones se tiene que evaluar el grado de dulzor, para determinar el contenido de FOS son laboriosos y costosos por ello se utiliza de la medición del índice de refracción del jugo de yacón. Este método es rápido, sencillo y económico que permite seleccionar entre varios cultivares o lotes de yacón, aquellos que tienen un mayor contenido de FOS.

**Lavado y desinfección del tubérculo:** Se realiza con abundante agua, frotando las raíces unas con otras utilizando cepillo y escobillón que facilita la remoción de la tierra. Una vez lavadas las raíces se sumergen durante cinco minutos en una solución desinfectante de 200 ppm de hipoclorito de sodio con el objetivo de disminuir la carga microbiana que permanece adherida a la superficie de las mismas.

**Pelado del tubérculo:** El pelado del tubérculo se realiza manualmente utilizando cuchillos. A medida que se pelan los tubérculos es recomendable sumergirlas en un recipiente con agua con el fin de retardar el pardeamiento.

**Extracción del jugo y control del pardeamiento:** Para la extracción del jugo de yacón se utiliza un extractor doméstico también utilizado para hacer jugo de zanahoria, pero de mayores dimensiones.

Hay dos métodos para evitar el pardeamiento: La primera consiste en aplicar un tratamiento térmico al jugo que recién se extrae y el segundo método consiste en recibir el jugo en un recipiente

con una solución antioxidante, el jugo extraído entra inmediatamente en contacto con el antioxidante e impide que puedan ocurrir las reacciones de oxidación.

**Filtración del jugo:** Antes que el jugo ingrese al evaporador se tiene que eliminar los residuos pequeños por filtración. La operación del filtrado consiste en forzar el paso del jugo a través de una membrana porosa con el fin de separar las partículas de bagazo.

**Evaporación y concentración del jugo:** La evaporación consiste en eliminar agua y aumentar la concentración de sólidos solubles del jugo principalmente el azúcar hasta un valor cercano a 70° Brix. Para obtener jarabe de buena calidad sin sabor a azúcar quemado se requiere un proceso de evaporación continuo.

**Filtrado del pre jarabe:** A medida que el jugo se concentra hay producción de abundante espuma y algunos azúcares empiezan a cristalizarse. El momento apropiado para filtrar estas partículas es cuando se ha formado el pre jarabe.

**Concentración final:** La concentración final del jarabe llega 72 a 73° Brix.

**Filtración del jarabe:** Antes de envasar el jarabe se debe realizar un último filtrado con la finalidad de eliminar los azúcares que se cristalizaron durante la etapa de la concentración final.

**Envasado:** Esta operación de envasado es muy sencilla en el que se utiliza un tanque dispensador con caño que permite dispensar el jarabe en los frascos.

## 1.10 DISEÑO FACTORIAL

“Un diseño experimental es un esquema de cómo realizar un experimento. El objetivo fundamental de los diseños experimentales radica en el determinar si existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos del experimento y en caso que la respuesta es afirmativa, cuál sería la magnitud de esta diferencia. Una segunda meta de los diseños experimentales es verificar la existencia de una tendencia derivado del análisis de los datos del experimento. La diferencia principal entre los diseños experimentales radica en la forma en que se agrupan o clasifican las unidades experimentales. En todos los diseños las unidades experimentales se clasifican por tratamientos; pero en algunos, estos se clasifican preferentemente en bloques, filas, parcelas principales y otras modalidades. El análisis de varianza utiliza las medias de dichos agrupamientos, denominadas fuente de variación, para estimar varianzas o más precisamente cuadrados medios. Un cuadrado medio que estima la dispersión entre mediciones de parcelas debidas a causas aleatorias; esta se denomina error experimental. En ausencia de diferencias reales debidas a medias de los tratamientos, bloques u otras fuentes de variación, dichos cuadrados medios serán, en promedio, iguales. Sólo esporádicamente un cuadrado medio se desviará de otro de manera considerable, exclusivamente por casualidad. Cuando una prueba F indica que el cuadrado medio de una de las fuentes de variación es significativamente mayor que el cuadrado medio debido a efectos aleatorios, decimos que existen diferencias reales entre las medias de aquella fuente particular de variación; empero, recuérdese: siempre existe una probabilidad definida de que estemos equivocados en semejante conclusión. Está en manos del experimentador seleccionar las probabilidades para las cuales se encuentra dispuesto a concluir que existen efectos reales. Es frecuente descubrir los resultados que habría esperar con una probabilidad del 5% o menor

como significativos y aquellos esperados con un 1% o menor como altamente significativos” (Badii, 2007).

Principales diseños experimentales comúnmente utilizados son:

- Diseños factoriales.
- Diseño completamente aleatorio.
- Diseños de bloques completos aleatorizados y randomizados.

### **1.10.1 DISEÑO EN (BCA) BLOQUES COMPLETOS ALEATORIZADOS**

“Se recomienda cuando el número de tratamientos no excede a 15 y cuando es posible agrupar las unidades experimentales en bloques uniformes, de manera que la variabilidad entre unidades experimentales se haga mínima aunque la variabilidad entre bloques sea grande” (Badii, 2007).

“La característica más importante de un DBCA es que todos los tratamientos se distribuyen al azar una vez en las unidades de cada bloque; cada bloque debe tener tantas unidades como tratamientos” (Badii, 2007).

#### **Prueba de Tukey**

Badii, (2007) “indica que sirve para probar todas las diferencias entre medias de tratamientos de una experiencia. La única exigencia es que el número de repeticiones sea constante en todos los tratamientos”.

$$D.S.H. = q \times \sqrt{\frac{CME}{R}}$$

**Donde:**

*q*: Obtener de la tabla

*CME*: Cuadrado medio del error

*R*: Numero de repeticiones para cada muestra

### **Prueba de Duncan**

$$Dn = Zn \times Sx \quad Sx = \sqrt{\frac{CME}{R}}$$

**Donde:**

*Zn*: obtener de la tabla para 1% y 5% de nivel de significancia.

*CME*: Cuadrado medio del error.

*R*: numero de repeticiones para cada muestra.

## **1.11 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FRUCTO-OLIGOSACÁRIDOS**

“Se realiza de acuerdo al siguiente procedimiento; se toma 10 g de yacón fresco ó 2 g de harina de yacón y se homogeniza con 100 ml de solución de etanol al 70 por ciento. Para el caso del yacón fresco, las muestras son homogenizadas con el solvente para así optimizar la eficiencia de extracción en la determinación del contenido de fructo-oligosacáridos (FOS). Se ajusta el pH del homogenizado entre 6.4–6.6 con hidróxido de sodio o ácido acético, según fuese el caso y se lleva a ebullición durante 10 minutos. Luego se centrifuga a 4000 RPM por 15 minutos y se recolecta el sobrenadante, una nueva extracción fue realizada a la torta obtenida utilizando 75 ml

de solución etanólica. Este proceso se repite una vez más y los tres sobrenadantes de las extracciones se mezclan y filtran al vacío con la ayuda de papel Whatman N°1. Posteriormente, se mide el volumen total de extracto, se toma 50 ml y se concentra a vacío a 55°C hasta alcanzar un volumen de 5 ml aproximadamente. Los extractos concentrados son sometidos a una hidrólisis enzimática. Un volumen de 2.8 ml de extracto concentrado y 0.2 ml de solución enzimática de inulinasa (activa e inactiva, respectivamente), son llevadas a un baño maría a 60°C durante 3 horas. Paralelamente, se prepara el blanco de la muestra que contiene agua en lugar de muestra. Las muestras hidrolizadas y sin hidrolizar se filtran en filtros jeringa de membrana de PVDF Millipore antes de ser inyectadas al equipo de Cromatografía líquida de alta performance (HPLC), con detector de índice de refracción, columna y pre-columna Shodex. El solvente de elución se acetone nitrilo: agua (80:20) a un flujo de 0.5 ml/min y 42 °C, durante 20 minutos” (Juárez, 2015).

“El cálculo del contenido de FOS se realiza mediante el empleo de curvas de calibración de fructosa, glucosa y sacarosa a diferentes concentraciones” (Hoebregs, 1997).

“Para cuantificar los fructo-oligosacáridos se emplean estándares de 1-kestosa, nistosa y 1-fructofuranosilnistosa por medio de un detector de índice de refracción (IR), usando un procedimiento isocrático con agua tipo 1 a 0.35 ml/min. Lo cual se logró resultados dentro del rango de concentración de 8.0-12.0 mg/ml” (Gonzales & Ramirez, 2018).

“El análisis de los fructo-oligosacáridos se realizan por medio de un equipo cromatógrafo HPLC utilizando estándares de 1-kestosa, nistosa y 1-fructofuranosilnistosa por medio de un señal de índice de refracción a una temperatura de 40°C con respecto al tiempo de retención de 30 minutos” (Wako, 2006).

## **1.12 LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO (HPLC)**

“Es una de las técnicas de cromatografía más utilizadas debido a su capacidad de separar analitos de distinta naturaleza presentes en una mezcla. Su aplicación industrial abarca la farmacéutica, la bioquímica, los alimentos, los productos de la industria química, la medicina clínica y la química forense. No obstante, esta amplitud de aplicaciones dificulta la toma de decisiones a la hora de desarrollar un proceso de separación por esta técnica, más si es el primer acercamiento a HPLC. Este artículo expone los conceptos básicos para el desarrollo de una primera separación; igualmente, plantea los principios de la HPLC y presenta las partes más representativas del equipo con el fin de poder entender la estructura del método propuesto” (Suarez, 2018).

### **1.12.1 PRINCIPIOS DE LA HPLC**

“La HPLC es uno de los tantos métodos de cromatografía para la separación y análisis de los componentes químicos de una mezcla. Básicamente, en este método participan las fases móviles y estacionaria (inmiscibles entre sí) y la muestra de interés. La fase móvil es líquida y su función es llevar la muestra a través de la fase estacionaria, que puede ser sólida o una película líquida soportada en un sólido inerte. Las distintas fuerzas químicas y físicas que actúan entre la mezcla a analizar y las dos fases determinan la retención y separación de cada uno de los componentes de la mezcla. Los componentes con mayor afinidad con la fase estacionaria se desplazarán con menor velocidad que aquellos que presentan menor afinidad. Estas diferencias de velocidades dan origen a la separación de los componentes” (Suarez, 2018).

“Las principales fuerzas que actúan en las moléculas son: Las fuerzas de dispersión de London, las interacciones dipolo, las interacciones por puente de hidrógeno, interacciones dieléctricas e interacciones electroestáticas” (Suarez, 2018).

### **1.12.2 VENTAJAS**

“El HPLC cuenta con varias ventajas: Amplio rango de aplicabilidad debido a la alta disponibilidad de equipos, columnas y demás materiales, que la hacen capaz de analizar casi cualquier mezcla deseada, alta precisión en sus resultados, variedad de técnicas, entre las cuales están la cromatografía por partición, adsorción, intercambio iónico y exclusión molecular, fácil manipulación de los gradientes generados en la fase móvil, no es destructiva ya que los compuestos separados en la columna pueden ser recolectados, lo que permite el uso de la HPLC como una técnica de preparación o purificación de muestras, tiempo de separación menor a 30 min por muestra analizada, alta reproducibilidad en los análisis cuantitativos, alto poder de separación con detección sensible, la operación es flexible, personalizable y automatizada y no está restringida por la volatilidad o estabilidad térmica de la muestra” (Suarez, 2018).

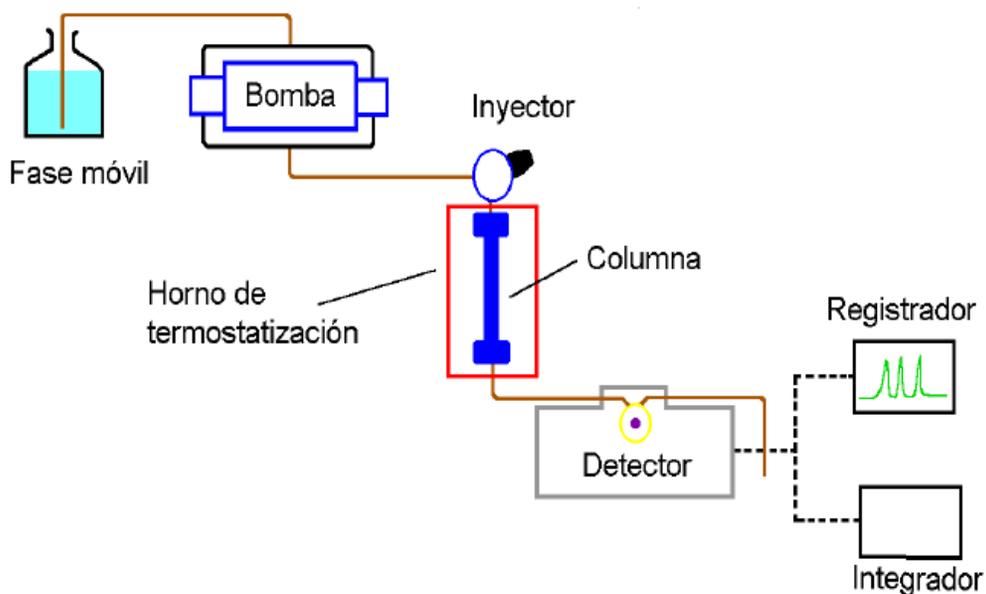
### **1.12.3 EQUIPO DE CROMATOGRAFÍA**

“Un cromatógrafo líquido de alto rendimiento opera generalmente con cinco instrumentos: reservorio, bomba, inyector, horno (columna), detector y registrador. En el reservorio se encuentra la fase móvil. Esta fase consiste en una mezcla de sustancias polares y no polares que varían en concentración dependiendo de la muestra que se quiere analizar, la cual debe estar filtrada para evitar obstrucciones por posible material particulado. Los reservorios suelen estar hechos de vidrio; pueden requerirse uno o más, dependiendo de si se hace o no un gradiente de concentración.

La bomba se encarga de succionar la fase móvil del reservorio para hacerla fluir por todo el sistema a una velocidad precisa y constante. Aquí normalmente operan hasta 6000 psi, dependiendo de factores como tiempo, tamaño de la columna, composición de la fase móvil y flujo deseado. Se inyecta usualmente un volumen que varía entre 5  $\mu$ l y 5 ml. El inyector puede ser automático o manual. El sistema de inyección automático permite que la muestra sea introducida a la fase móvil presurizada de manera exacta y precisa, por lo que actualmente los inyectores manuales son raramente empleados” (Suarez, 2018).

“El horno se encarga de regular y mantener la temperatura dentro de la columna, ya que esta influye directamente en la retención y selectividad de la misma. Por otro lado, la columna está fabricada generalmente en acero inoxidable, tiene una longitud de 50 a 300 mm y está rellena de la fase estacionaria; además, su tamaño de partícula está entre 3 a 10  $\mu$ m. Las variaciones de estas dimensiones y materiales determinan la resolución, eficiencia, velocidad y vida útil de la columna. El detector, ubicado al final de la columna, es el encargado de captar los cambios en los efluentes de la columna y convertirlos en señales eléctricas, las cuales son recibidas por el registrador. Los detectores se pueden clasificar en dos grandes grupos: selectivos, como los detectores de fluorescencia, que miden una propiedad física o química propia de los solutos presentes en la mezcla (solo los que cuenten con dicha propiedad serán detectados), y universales, que miden una propiedad física específica del eluyente. Finalmente, el registrador recolecta y procesa las señales recibidas del convertidor y los plasma en un cromatograma para su posterior lectura e interpretación” (Suarez, 2018).

Figura N° 9

*Componentes Básicos de Cromatografía*

*Fuente:* (Suarez, 2018)

### 1.13 RECUENTO, IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE BACTERIAS PROBIÓTICOS

“La necesidad de determinar el recuento inicial de bacterias probióticas después de la elaboración, durante el almacenamiento en refrigeración y en el proceso de distribución, hace necesario contar con métodos de rutina que permitan cumplir este objetivo. Para el recuento de *L. acidophilus* y *Bifidobacterium* spp. Se han propuesto y estudiado muchos medios, en todos los casos el medio (selectivo y/o diferencial) y método escogido deben considerar el tipo de alimento, la especie o cepa para aislar, además de tomar en cuenta que el medio elegido no servirá en todas las situaciones” (Tharmaraj & Shah, 2003).

“Son tres los medios de cultivo usados para el recuento de bacterias iniciadores en yogurt: Medio general para un recuento total de colonias sin distinguir entre géneros o especies, por ejemplo, Medio MRS (de Man, Rogosa, & Sharpe) que soporta un buen crecimiento de bacterias ácido lácticas, medios formulados para el crecimiento selectivo de cada género, por ejemplo, agar ácido-litio cloruro-paromomicina neomicina-nalidíxico (agar NNLP) para el aislamiento de *B. bifidum* y medio de diferenciación que permite en una misma placa distinguir los cuatro tipos de bacterias que se encuentran en el bio yogurt, por ejemplo, agar extracto de tryptoneproteose-peptona-levadura con azul de Prusia agar TPPYPB” (Shah, 2003).

“La compañía Chr-Hansen utiliza sus propios métodos para el recuento de sus probióticos, basados en las normas internacionales ISO y adaptados de acuerdo a la composición del cultivo utilizado en los productos lácteos fermentados. En ambos casos se utiliza el agar MRS como medio general al que se adiciona clindamicina para el caso de *L. acidophilus* La-5 y clorhidrato de cisteína (CyHCl) junto con Mupirocina para *Bifidobacterium* Bb-12. Los métodos permiten hacer el recuento de estos probióticos como única cepa” (Chr-Hansen, 2017).

## 1.14 BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS PRESENTES EN EL YOGURT

**Tabla N° 23**

*Cantidad de Microorganismos Específicos*

Agente microbiano	Unidad	Recuento
Bacterias lácticas	UFC/g	Min. $10^7$
Microorganismo específico	UFC/g	Min. $10^6$

*Fuente:* (MINAGRI, 2017)

**Tabla N° 24**

*Microorganismos de identidad*

Producto	Yogur, Kumis, Kéfir, leche Cultivada y leches fermentadas (Mínimo)	Kéfir y Kumis (Mínimo)
Microorganismos que comprenden el cultivo definido	$10^7$ UFC/g	
Bacterias probióticas	$10^6$ UFC/g	
Levaduras		$10^4$ UFC/g

*Fuente:* (Andina, 2007)

## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1 LUGAR DE EJECUCIÓN**

##### **Proceso de elaboración de yogurt simbiótico**

- El proceso de elaboración de yogurt simbiótico se desarrolló en el Laboratorio de Análisis de los Alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ingeniería de Procesos - UNSAAC.

##### **Obtención de yogurt simbiótico liofilizado**

- La obtención de yogurt simbiótico liofilizado se desarrolló en el laboratorio de Farmacia y Bioquímica en la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Farmacia – UNSAAC.

##### **Determinación de fructo – oligosacárido (FOS) en yogurt simbiótico y yogurt simbiótico liofilizado**

- Se realizó en el laboratorio de Cromatografía en la Facultad de Ciencias - UNSAAC

##### **Recuento de las bacterias ácido lácticas en yogurt simbiótico y yogurt simbiótico liofilizado**

- Se realizó en la ciudad del Cusco en el laboratorio LAASA LAB EIRL.

## **Análisis fisicoquímico del yogurt simbiótico y yogurt simbiótico liofilizado**

- Se realizó en la ciudad del Cusco en el laboratorio MC QUIMICALAB.

## **2.2 MATERIALES Y EQUIPOS**

### **2.2.1 MATERIA PRIMA**

- **Leche:** Se utilizó leche fresca procedente de la comunidad de Suyo, distrito de Sicuani, provincia de Canchis, se realizó un control de calidad de la materia prima con: prueba de alcohol, medición de densidad (lactodensímetro) y su pH (pHmetro).
- **Yacón:** Se utilizó yacón fresco variedad amarillo grisáceo procedente de la provincia de Quillabamba departamento de Cusco.

### **2.2.2 INSUMOS**

- **Azúcar blanca:** Se adquirió de la tienda APARICIO de la ciudad de Sicuani.
- **Cultivo probiótico (SACCO 442-A):** Se adquirió de la tienda APARICIO de la ciudad de Sicuani.

### **2.2.3 INSTRUMENTOS DE LABORATORIO**

- Una balanza analítica (500 g) marca CAMRY
- Refractómetro de 0 a 80°Brix
- pH metro (HANNA)
- Termómetro digital SH-104 (-50°C a +300°C)
- 2 vasos precipitados PYREX (50 ml y 200 ml)

- Equipo de titulación
- Ollas de acero inox marca AMERICA
- Agitadores
- Cocina
- Litreras (1 L y ½ L)
- Licuadora OSTER (1 L)
- Pipeta (10 ml)
- Probeta (200 ml)
- Lactodensímetro (15 g/ml a 40 g/ml)
- Envases polietileno (450 ml)
- 2 morteros
- Selladora
- Bolsas trilaminados de 50 g
- 36 Placas Petri

#### **2.2.4 EQUIPOS**

- Baño maría
- HPLC – RID Agilent serie 1200
- Liofilizador MODELO TFD5503 (310 g)

### 2.2.5 REACTIVOS

- Fenolftaleína a 0.1N
- Hidróxido de sodio (NaOH) a 0.1N

## 2.3 MÉTODOLOGIA EXPERIMENTAL

### a. Descripción para la elaboración de jarabe de yacón

**Recepción:** Se recibió 15 kg de yacón variedad blanca, se realizó un control riguroso separando los tubérculos dañados.

**Lavado:** Con agua tibia a una temperatura de 35 °C con la finalidad de que facilite el remojo rápido de la tierra.

**Pelado:** En forma rápida y fue sometida inmediatamente a una solución de ácido cítrico con la finalidad de que inactive las enzimas que tiene el yacón y así evitar el pardeamiento.

**Cortado:** Se realizó en forma de cubos pequeños para facilitar el licuado.

**Licuado:** En forma rápida agregando 100 ml de agua tibia hervida para facilitar el licuado.

**Filtrado del jugo:** Se realizó en una tela velur separando así la fibra un total de 5%.

**Evaporación y concentración:** Hasta llegar a 60 °Brix a una temperatura de 87°C.

**Filtrado del pre jarabe:** En tela velur separando un total 2% de sólidos insolubles.

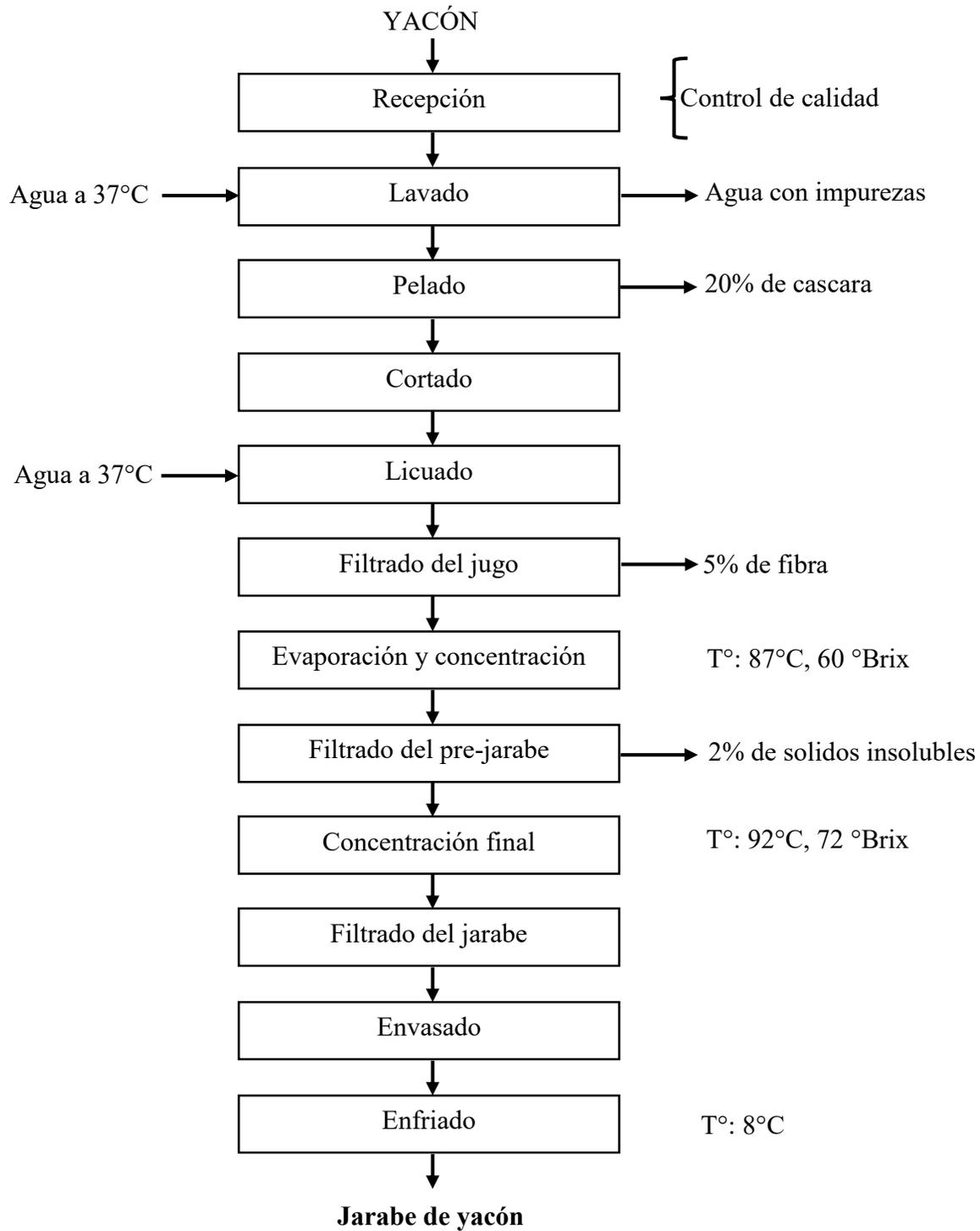
**Concentración final:** Hasta alcanzar 72 °Brix a una temperatura de 92°C.

**Filtrado del jarabe:** Para asegurarse que no quede nada de solidos insolubles y burbujas.

**Envasado:** El envasado se realizó inmediatamente en envases de vidrio para evitar la contaminación.

**Enfriado:** Hasta alcanzar 8°C para su mejor conservación.

Figura N° 10

*Diagrama de flujo para la elaboración de jarabe de yacón*

**b. Descripción para la elaboración de yogurt simbiótico liofilizado a diferentes temperaturas y porcentajes de jarabe de yacón (*Smallanthus sonchifolius*)**

**Recepción:** Se recibió 5 litros de leche en la ciudad de Sicuani en recipiente de acero inox para así no presentar inconveniencias y alteraciones en la leche. La materia prima paso todas las pruebas de control de calidad (prueba de alcohol, pH 6.65, acidez 16°D y densidad de 1.031g/ml) y se consideró apto para el proceso de elaboración.

**Filtrado:** Se filtró con una tela velur para la separación de contaminantes físicos (pelos, estiércol, moscas y pajas).

**Pasteurización:** Se pasteurizó a una temperatura de 82°C por 15 minutos, para poder eliminar y disminuir la carga microbiana, inactivar enzimas y malos olores. A esta operación se agregó azúcar en proporciones de 9%, 7% y 5% para que también sean eliminados los agentes contaminantes.

**Enfriado:** A una llegar a una temperatura de 42°C rápidamente,

**Inoculación:** Cultivo láctico **SACCO 442-A** 1% / litro de leche.

**Incubado:** A temperatura constante de 42°C por 5 horas, en esta etapa se le agregó jarabe de yacón en proporciones formuladas (4%, 9%, 14%) utilizando un equipo Baño Maria.

**Enfriado:** En forma rápida a una temperatura de 8°C una vez logrado el pH adecuado y cumplido las 5 horas, esta operación tiene la finalidad de Frenar la actividad de las bacterias acido

lácticas en el yogurt (exceso de acidificación), ayuda a estabilizar el yogurt, producir la maduración del yogurt y la que resalta aún más el sabor y aroma.

**Batido:** Se realizó cuidadosamente, primero lentamente luego en forma rápida hasta alcanzar la textura del yogurt.

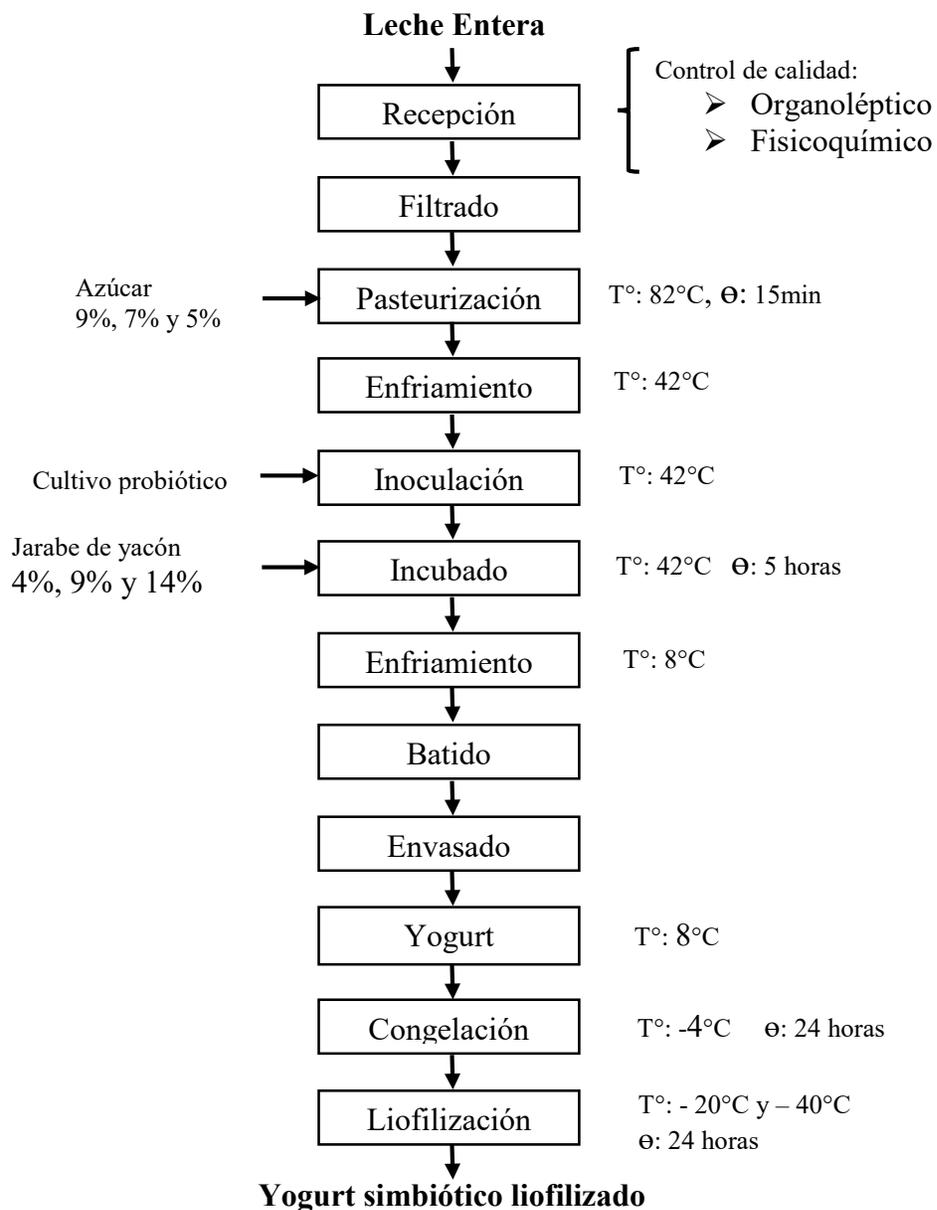
**Envasado:** Se envasó en envases polietilenos esterilizados de 450 ml con la finalidad de proteger y preservar el producto.

**Yogurt simbiótico:** Se almacenó a temperatura de refrigeración a 8°C para que tenga firmeza y consistencia.

**Congelación:** Se sometió a las muestras al proceso de congelación en placas Petri a una temperatura de -4°C durante 24 horas.

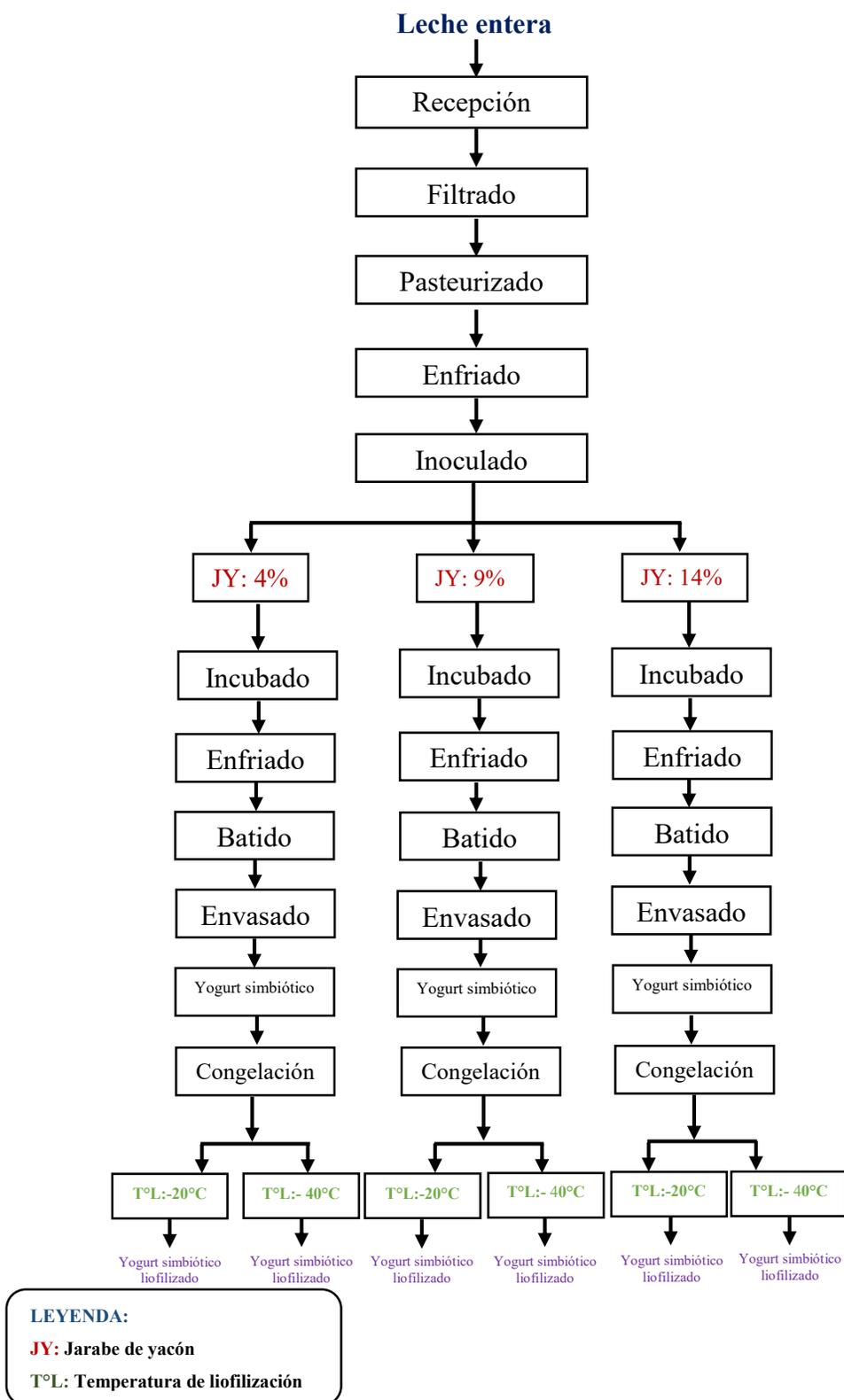
**Liofilización:** Cada muestra se sometió a proceso de liofilización en un equipo Liofilizador MODELO TFD5503 (310 g) a temperaturas de -20°C con una presión de 197 mTorr y -40°C con una presión de 063 mTorr para su correspondiente deshidratación por un tiempo de 24 horas.

Figura N° 11

*Diagrama de Flujo para la Elaboración de Yogurt Simbiótico Liofilizado*

## 2. 4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Figura N° 12: *Diseño Experimental para la Obtención de Yogurt Simbiótico Liofilizado*



## 2.5 DISEÑO FACTORIAL

Los variables de estudio son: porcentaje de jarabe de yacón al 4%, 9% y 14% y temperatura de Liofilización a  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $-40^{\circ}\text{C}$  haciendo un total de 6 tratamientos frente a la variable de respuesta de concentración de FOS (fructo-oligosacárido). El diseño experimental aplicado en el presente trabajo de investigación es un diseño factorial de 3x2 en bloques completos randomizados o aleatorizados (BCA).

### 2.5.1 VARIABLES INDEPENDIENTES O DE ENTRADA

- Porcentaje de jarabe de yacón (4%, 9% y 14%).
- Temperatura de liofilización ( $-20^{\circ}\text{C}$  y  $-40^{\circ}\text{C}$ ).

### 2.5.2 VARIABLES DEPENDIENTES O DE SALIDA

- Concentración de fructo-oligosacárido.
- Recuento de bacterias ácido lácticas.
- Propiedades fisicoquímicas

**Figura N° 13**

*Variables de Entrada y Salida en el Proceso*



### 2.5.3 MATRIZ DE DISEÑO EXPERIMENTAL

Tabla N° 25

*Matriz de Diseño*

JARABE DE YACÓN	F1		F2		F3	
TEMPERATURA	T1	T2	T1	T2	T1	T2
TRATAMIENTOS	1	2	3	4	5	6
REPETICIÓN I						
REPETICIÓN II						
REPETICIÓN III						

### 2.6 MÉTODO DE ANÁLISIS

Al final del proceso de elaboración de yogurt simbiótico se realizaron los siguientes análisis.

#### 2.6.1 ANÁLISIS ANALÍTICO

- **Acidez:** Se determinó por el método volumétrico por titulación y se expresó en grados dornic.

$$\%acidez = \frac{G \times N \times Meq}{V} \times 100 \quad \text{EC. 1}$$

**Donde:**

G: gasto de NaOH 0,1N

Meq: mili equivalente del ácido predominante (0.09)

V: volumen de la muestra

El cálculo de los grados dornic se determina por la siguiente condición:

**Un grado Dornic equivalente a 0,1 g/L ácido láctico o**

- **pH:** Se determinó por el método de concentración de hidrogeniones con un instrumento de medición pH metro de marca HANNA.

### **2.6.2 ANÁLISIS DE FRUCTO OLIGOSACÁRIDO (FOS)**

Se determinó por medio de un equipo cromatógrafo HPLC – RID Agilent serie 1200, Software: Chemstation V03.02, Columna: ZORBAX carbohydrate 4.6\*250 mm, 5 um, Fase móvil: Acetonitrilo agua (80:20) isocratico, Flujo de columna: 2.0 ml/min, Detección: Índice de refractorio RID a 50.0°C, Temperatura del horno: 50.0 °C, Tiempo de análisis: 16 min y volumen de inyección: 5.0 ul.

### **2.6.3 RECUENTO DE LAS BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS**

Para el recuento de las bacterias ácido lácticas como son: *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium animales ssp* se aplicó el método de Diluciones e incorporación en agar MRS estandarizado. Se incubó en una Jarra de Anaerobiosis que Contiene su generador de CO<sub>2</sub>, a T° de 37°C por 48 horas.

## 2.6.4 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

Se realizó de acuerdo a los Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación Químico Agrícola – “Análisis Moderno de los Alimentos” F. Leslie Hart, Harry Johnstone Fisher. Editorial Acribia.

- Determinación de proteína (AOAC 935.39C)
- Determinación de grasa (NTP 206.013)
- Determinación de ceniza (AOAC 935. 39B)
- Carbohidratos (Diferencia)
- Azúcar reductor (NTP 209. 172)
- Humedad (NTP 206. 011)
- Acidez (NTP 209. 013)

**CAPITULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIONES**

**3.1 PORCENTAJE DE JARABE DE YACÓN Y TEMPERATURA DE LIOFILIZACIÓN**

De acuerdo al análisis determinado por medio de un equipo cromatógrafo HPLC – RID Agilent serie 1200 realizando 3 repeticiones por muestra de acuerdo al porcentaje de adición de jarabe de yacón y temperatura de liofilización se obtuvo el siguiente resultado tabla N° 26.

**Tabla N° 26**

*Resultado de Concentración de Fructo-Oligosacárido (FOS)*

<b>YOGURT SIMBIÓTICO LIOFILIZADO (FOS g/100 g)</b>						
<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>	<b>M4</b>	<b>M5</b>	<b>M6</b>
REPETICIÓN I	4.94	4.52	5.39	4.51	4.15	3.87
REPETICIÓN II	4.10	3.99	5.08	5.06	4.47	4.65
REPETICIÓN III	3.77	4.65	5.58	5.12	4.62	3.66
<b>PROMEDIO</b>	<b>4.27</b>	<b>4.39</b>	<b>5.35</b>	<b>4.90</b>	<b>4.41</b>	<b>4.06</b>

En la **tabla N° 26** se aprecia la cantidad de FOS en g/100g de muestra de acuerdo a las formulaciones de jarabe de yacón y temperaturas de liofilización, en la cual se observa que al 9% de jarabe de yacón y a una temperatura de liofilización de -20°C se obtuvo la mayor concentración de fructo-oligosacárido un promedio de 5.35 g/100 g de muestra indicándonos que las bacterias ácido lácticas ni el proceso de liofilización no influye en el producto. Por otro lado, se observa que al 14% de jarabe yacón y a temperaturas de liofilización de (-20 °C y -40°C) la concentración de

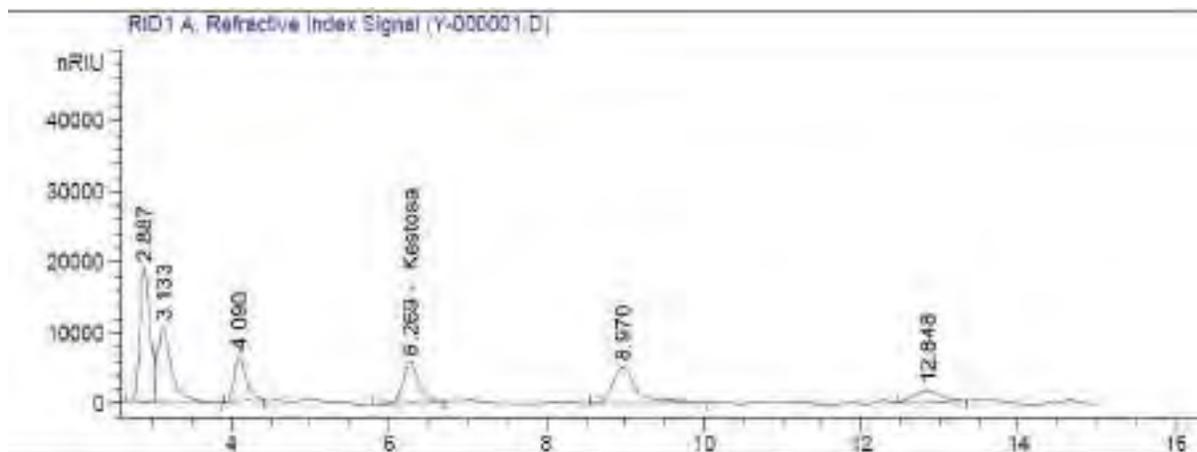
FOS en promedio es 4.41 g FOS/100 g de muestra, la cual es bajo ya que debería tener mayor concentración que el resto de las formulaciones esto se debe a que las bacterias *Bifidobacterium animalis ssp* empezaron a consumir su alimento que es el fructo-oligosacárido antes del proceso de liofilización ya que dicho alimento se encontraba en exceso, la cual nos indica que con adición de 14% de jarabe de yacón influye en el producto.

(Manrique I. , 2003). “Indica que dosis elevadas de consumo de FOS ocasionan flatulencia, presión abdominal y diarrea. Sin embargo, la mayoría de estudios científicos concuerdan en que dosis inferiores a 20 g FOS/día no desencadenan estos efectos colaterales indeseables. Por regla general se asume que el consumo diario de FOS no debe exceder de 0.3 y 0.4 g por cada kilogramo de peso corporal en hombres y mujeres, respectivamente. Dosis superiores a 20 g de FOS/día pueden producir flatulencia y presión abdominal, y dosis por encima de 50 g frecuentemente ocasionan diarrea”.

Entonces con la adición al 9% de jarabe de yacón y la temperatura de liofilización de -20°C es lo más aceptable ya que se puede consumir 16.05 g de FOS/ 300 g de yogurt simbiótico liofilizado por día ya sea en polvo o rehidratado.

## Figura N° 14

### *Condiciones de Análisis por HPLC Polisacaridos (1, 3)*



En la siguiente **figura N° 14** se observa la señal de índice de refracción a una temperatura de 50°C con respecto al tiempo de análisis en 16 minutos, los picos que se observan son las longitudes de ondas en frecuencia con respecto al tiempo de retención de los diferentes azúcares que se encuentran. La cual para la cuantificación se realizó frente a una curva patrón de 1- KESTOSA y se ve claramente la detección de 1- KESTOSA en un tiempo de retención de 6.269 minutos, el siguiente pico es la NISTOSA en un tiempo de retención de 8.970 minutos y el último pico es la 1-FRUCTOFRANOSILNISTOSA en un tiempo de retención de 12.848 minutos.

La suma de estos 3 Polisacáridos son los FOS logrando resultados dentro del rango de concentración de 3.77 g FOS/100 g – 5.58 g FOS/100 g. De acuerdo a Gonzales-Aguirre, 2018 en su trabajo de investigación “Cuantificación de fructo-oligosacaridos en un helado prebiótico” desarrollan el mismo método utilizando estándares de 1-kestosa, Nistosa y 1-Fructofranosilnistosa logrando resultados dentro del rango de concentración de 8.0 – 12.0 mg/mL. También en el libro de Química Analítica –WAKO, 2006 nos indican el mismo método de cuantificación de los fructo-

oligosacáridos observando en el equipo HPLC la señal de índice de refracción a una temperatura de 40°C con tiempo de retención de 30 minutos utilizando estándares de 1-Kestosa, Nistosa y 1-Fructofranosilnistosa que sumados son los FOS.

**Tabla N° 27**

*Análisis de Varianza para Concentración de FOS - Suma de Cuadrados Tipo III*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G l</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Jarabe de yacón	2.85321	2	1.42661	8.62	0.0048
B:Temperatura de Liofilización	0.23805	1	0.23805	1.44	0.2535
INTERACCIONES					
AB	0.2779	2	0.13895	0.84	0.4556
RESIDUOS	1.9852	1 2	0.165433		
TOTAL (CORREGIDO)	5.35436	1 7			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

INTERPRETACIÓN

Del análisis de la tabla N° 27 de ANVA se tiene que: como el valor-P para jarabe de yacón es inferior al nivel de significancia de 0.05 mientras el valor-P para la temperatura es superior al nivel de significancia de 0.05, por consiguiente indica que existe una diferencia estadística significativa entre las formulaciones (4%, 9% y 14%) sobre las concentraciones de FOS más no existe una diferencia significativa entre las temperaturas (-20°C y -40°C) de liofilización con una seguridad de 95.0%.

Tabla N° 28

*Pruebas de Múltiple Rangos para concentración de FOS por jarabe de yacón*

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Jarabe de yacón</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
14	6	4.23667	0.166049	X
4	6	4.32833	0.166049	X
9	6	5.12333	0.166049	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
4 – 9	*	-0.795	0.511649
4 – 14		0.0916667	0.511649
9 – 14	*	0.886667	0.511649

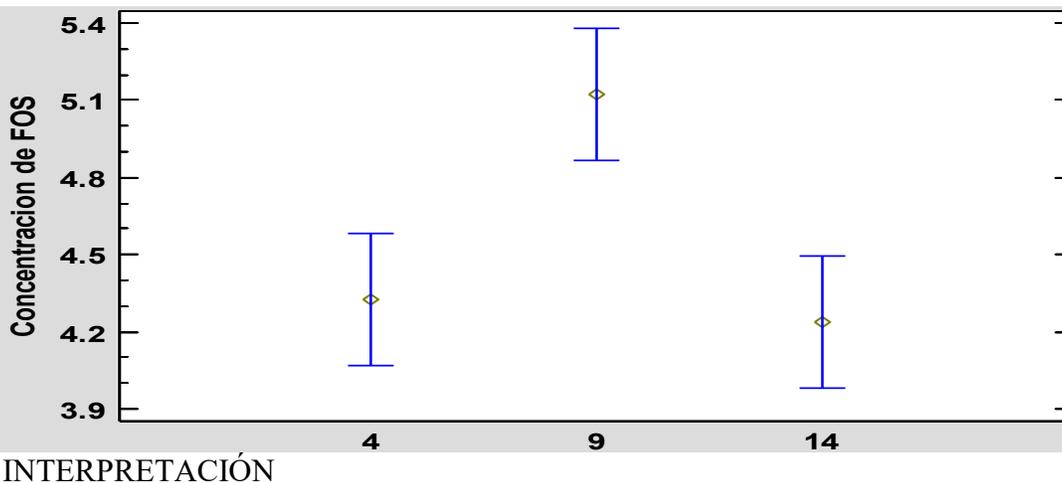
\* indica una diferencia significativa.

## INTERPRETACIÓN

Del análisis de la prueba de múltiple de rangos se tiene que al 9% de jarabe de yacón induce a una mejor concentración de FOS que al 4% de jarabe de yacón y 14% de jarabe de yacón con una seguridad del 95.0%. Así mismo al 4% de jarabe de yacón induce a igual concentración de FOS que al 14% de jarabe de yacón.

Figura N° 15

*Medias y 95,0% de Fisher LSD*



La figura N° 15 corrobora lo indicado en prueba múltiple de rangos que al 9% de jarabe de yacón tiene mayor nivel de concentración de FOS en comparación con 4% jarabe de yacón y 14% de jarabe de yacón.

### 3.2 CONTENIDO DE FRUCTO-OLIGOSACARIDO (FOS) ANTES Y DESPUES DE LIOFILIZACIÓN

Tabla N° 29

*Contenido de Fructo-oligosacárido Antes y después de Liofilización*

	FOS g/100 g		
Yogurt simbiótico	0.76	1.29	1.09
Yogurt simbiotico liofilizado	4.27	5.35	4.41

La **tabla N° 29** se aprecia el contenido de FOS en yogurt simbiótico antes de liofilización lo cual nos indica la existencia de prebiótico que es el fructo-oligosacarido para que así se cumpla con la simbiosis entre las bacterias probióticas, con adición al 9% de jarabe de yacón resultó con mayor y optimo contenido de FOS (1.29 FOS g/100 g) y esta es la más aceptable.

El contenido de fructo-oligosacárido después de liofilización de yogurt simbiótico resultó con mayor concentración al 9% de adición de jarabe de yacón y a una temperatura de -20°C (5.35 FOS g/100 g), esto indica que durante el proceso de liofilización no influye en cuanto al contenido de FOS ya que el proceso de secado por liofilización es a temperatura baja.

Estos resultados coinciden y están dentro de los rangos establecidos; el contenido de FOS en yacón fresco de acuerdo al análisis de cromatografía HPLC es de 2. 68 g FOS/100 g de muestra, Manrique I. (2003) indica que el contenido de FOS por kg de yacon fresco oscila entre 9 – 12 % por materia comestible, Torres (2007) indica que el contenido de FOS en base húmeda de jarabe de yacón es de 44. 6 g en 100 g de muestra.

### 3.3 RECUENTO DE LAS BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS ANTES Y DESPUÉS DE LIOFILIZACIÓN

**Tabla N° 30**

**Recuento de Bacterias Acido Lácticas Antes de Liofilización**

N° Ref.	Punto de muestreo	DILUCIONES						
		10 <sup>-1</sup> UFC/g	10 <sup>-2</sup> UFC/g	10 <sup>-3</sup> UFC/g	10 <sup>-4</sup> UFC/g	10 <sup>-5</sup> UFC/g	10 <sup>-6</sup> UFC/g	10 <sup>-7</sup> UFC/g
M1	Yogurt simbiótico liquido	Incontables UFC*10	Incontables UFC*10	345* 10 <sup>3</sup> UFC	156* 10 <sup>4</sup> UFC	98* 10 <sup>5</sup> UFC	35* 10 <sup>6</sup> UFC	<b>12*10<sup>7</sup> UFC</b>
	Limite permisible mínimo bacterias lácticas totales							10 <sup>7</sup> UFC/g
	Limite permisible mínimo Micr. Organismos etiquetados						10 <sup>6</sup> UFC/g	

En la **tabla N° 30** se observa los resultados de los recuentos de las bacterias ácidos lácticas como *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium animales ssp* con un recuento total de 12\*10<sup>7</sup> UFC/g, lo cual supera a los datos establecidos por el Reglamento de la Leche y Productos Lácteos N° 007-2017-MINAGRI (Tabla N° 22) y Norma Técnica Andina N° 007-2007 (Tabla N° 23) ya que establecen para bacterias lácticas un mínimo 10<sup>7</sup>UFC/g y un mínimo de microorganismos etiquetados 10<sup>6</sup>UFC/g.

Tabla N° 31

*Recuento de bacterias ácido lácticas después de liofilización*

N° Ref.	Punto de muestreo	DILUCIONES						
		10 <sup>-1</sup> UFC/g	10 <sup>-2</sup> UFC/g	10 <sup>-3</sup> UFC/g	10 <sup>-4</sup> UFC/g	10 <sup>-5</sup> UFC/g	10 <sup>-6</sup> UFC/g	10 <sup>-7</sup> UFC/g
M3	Yogurt simbiótico liofilizado	Incontables UFC*10	Incontables UFC*10	256*10 <sup>3</sup> UFC	107*10 <sup>4</sup> UFC	78*10 <sup>5</sup> UFC	15*10 <sup>6</sup> UFC	<b>8*10<sup>7</sup></b> <b>UFC</b>
	Limite permisible mínimo bacterias lácticas totales							10 <sup>7</sup> UFC/g
	Limite permisible mínimo Mic. Organismos etiquetados						10 <sup>6</sup> UFC/g	

En la **tabla N° 31** se observa los resultados de los recuentos de las bacterias ácidos lácticas como *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium animales ssp* en yogurt simbiótico liofilizado 8\*10<sup>7</sup> UFC/g, lo cual el dato obtenido es inferior al recuento en yogurt simbiótico en liquido 12\*10<sup>7</sup> UFC/g esto indica que 4\*10<sup>7</sup> UFC/g de estas bacterias mueren durante el proceso de liofilización ya que no soportan la fase de sublimación del estado sólido a vapor, sin embargo siguen superiores a los datos establecidos por el Reglamento de la Leche y Productos Lácteos N° 007-2017-MINAGRI y Norma Técnica Andina N° 007-2007 ya que establecen para bacterias lácticas un mínimo 10<sup>7</sup>UFC/g y un mínimo de microorganismos etiquetados 10<sup>6</sup>UFC/g.

### 3.4 ANÁLISIS FISICOQUÍMICO ANTES Y DESPUÉS DE LIOFILIZACIÓN

**Tabla N° 32**

*Propiedades fisicoquímicos de yogurt simbiótico antes de liofilización*

<b>DETERMINACIONES</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>RESULTADOS</b>
Agua	%	87
Proteína	%	3.5
Carbohidratos	%	4.2
Grasa	%	3
Ceniza	%	1.3
Fibra	%	0.0
pH		4.5
Acidez (ácido láctico)	%	0.8

En la **tabla N° 32**, se aprecia el análisis fisicoquímico de yogurt simbiótico antes de someter al proceso de liofilización en 100 g de muestra, lo cual cumple con las especificaciones del Reglamento de la leche y productos lácteos INDECOPI -2017 (Tabla N° 6), así mismo también cumple de acuerdo a la Tabla Peruana de Composición de los Alimentos-Lima, 2017 (tabla N° 4). En yogurt el pH y acidez son los parámetros importantes que le caracterizan y que deben coincidir con las normas establecidas lo cual si coincide y es aceptable.

**Tabla N° 33***Propiedades Fisicoquímicos de Yogurt Simbiótico Después de Liofilización*

<b>DETERMINACIONES</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>RESULTADOS</b>
Humedad	%	5
Proteína	%	31
Carbohidratos	%	34.3
Grasa	%	26
Ceniza	%	2.7
Fibra	%	0.0
pH		4.5
Acidez (ácido láctico)	%	0.8

En la **tabla N° 33**, se aprecia que el pH y acidez del yogurt simbiótico se mantienen después del proceso de liofilización esto indica que no sufrió ninguna alteración durante el proceso de liofilización, la proteína, carbohidratos y grasa aumentaron esto se debe a la deshidratación que sufrió el yogurt simbiótico y estas se han concentrado en cuanto a la humedad quedo en un 5 %. Estos resultados cumplen con las especificaciones del Reglamento de la Leche y Productos Lácteos N° 007-2017-MINAGRI (Tabla N° 13) y con las especificaciones de la ficha técnica de yogurt en polvo Natural Sourcing, 2020 (Tabla N° 14) considerándose aceptable el producto deshidratado por el método de liofilización.

## CONCLUSIONES

Se ha obtenido un yogurt simbiótico liofilizado con adición al 9% de jarabe de yacón a una temperatura de liofilización de  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas de liofilización.

- El porcentaje de jarabe de yacón a adicionar de 4%,9% y 14% en el yogurt influyen en la concentración de los FOS (Fructo-oligosacárido), ya que al 14% la concentración de FOS fue muy bajo de 4. 41 g/100g esto se debe a que las bacterias bifidum animales ssp empezaron a consumir antes de su proceso de liofilización, siendo la muestra M3 con mayor concentración de 5.35 g FOS/100g con adición de 9% de jarabe de yacon y no habiendo cambios en la temperatura de liofilización entre  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $-40^{\circ}\text{C}$ , quiere decir que se puede realizar el proceso de liofilización a cualquiera de estas temperaturas.
- El contenido de fructo-oligosacárido al 9% de adición de jarabe de yacón antes del proceso de liofilización es de 1.29 g de FOS/100 g, después del proceso de liofilización a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  es de 5.35 g de FOS/100 g y a  $-40^{\circ}\text{C}$  es 4.90 g de FOS/100 g. Quiere decir que después del proceso de liofilización los FOS se concentraron ya que el contenido de agua fue eliminado en forma de vapor.
- La supervivencia de las bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium animales ssp* antes del proceso de liofilización al 9% de adición de jarabe de yacón es de  $12 \cdot 10^7$  UFC/g, después del proceso de liofilización a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  es de  $8 \cdot 10^7$  UFC/g. Resultados que se encuentran conforme a lo establecido por el Reglamento de la Leche y Productos Lácteos N° 007-2017-MINAGRI.

- El análisis fisicoquímico antes y después de liofilización no varían en el pH: 4.5 y acidez 0.8 % de ácido láctico, en cuanto a la proteína, carbohidratos y grasa se aumentaron en yogurt simbiótico después de liofilización ya que hubo pérdida de agua y estas fueron concentrados, la humedad resulto 5%. Resultados que se encuentran dentro de los límites establecidos de INDECOPI – 2017, Irene – 2017, Sourcing – 2020 y por el Reglamento de la Leche y Productos Lácteos N°007-2017-MINAGRI.

## RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

- Realizar el estudio de la vida útil del yogurt simbiótico liofilizado
- Se recomienda que el yogurt simbiótico liofilizado alcance una humedad menor al 5% caso contrario sufrirá alteraciones el producto.
- Envasar en envases trilaminados inmediatamente el producto liofilizado ya que es muy higroscópico.
- Se sugiere que las muestras alcancen su temperatura de congelación caso contrario se prolongará su tiempo de liofilización.
- Realizar el estudio del proceso de liofilización de un yogurt natural libre de sacarosa dirigido para las personas que sufren con diabetes.

## BIBLIOGRAFÍA

ACHEVERRIA, Mara (México - 2020). *Yogurt en polvo*.

AGUILAR, M. (México - 2015). *Elaboración de yogurt en polvo*.

AGUILAR, Rodolfo (2012). *Yogurt en polvo comercial Perú*.

Alimentarius (2017). *Definición de yogurt*.

ARA ROJAS, Silvia (2011). *Alimentos Probióticos y Prebióticos*.

Aybar (2001). *Aspectos funcionales del yacón (FOS)*.

Badii et al (2007). *Diseño experimental*.

Balcázar (2011). *Bacterias del yogurt y sus efectos en el organismo*.

Biología y bioquímica (2018). *Diagrama de fases del agua*.

CABALLERO, E. & MEZA, F. (Perú - 2014). *Obtención de yogurt simbiótico edulcorado con miel de yacón (Smallanthus sonchifolius)*.

Castillo (2018). *Propiedades fisicoquímicas de la leche*.

CAMPBELL D. y STANLEY J. (1982). *Diseños experimentales en investigación*.

Chr – Hansen (2017). *Recuento de bacterias ácido lácticas*.

Clinic (2021). *Prebióticos y probióticos*.

Collado & Col (2017). *Mecanismos de acción de los probióticos.*

Cocio (2006) & Salazar et al (2005). *Prebióticos y su efecto en la viabilidad de bacterias probióticas.*

Edy (Perú – 2015). *Cultivos lácticos para la elaboración de yogurt.*

EZEQUIEL ABRAHAM Bautista (Guatemala-2009). *Diseño y análisis de experimentos.*

FERNÁNDEZ, Jeri (2015). *Yacón importancia prebiótica y tecnológica.*

FERNÁNDEZ, Mercedes (2015). *Diagrama de etapas de liofilización.*

Godo et al (1995). *Fructo – oligosacárido.*

GOMES, F.P. (2009). *Curso de estadística Experimental.*

González, C. (Colombia - 2018). *Desarrollo y validación de un método para la cuantificación de fructo-oligosacáridos en un helado prebiótico.*

Guarner et al. (2008). *Microorganismos considerados probióticos.*

Herbazest, 2020. *Clasificación taxonómica del yacon.*

Hernández (2015). *Temperatura para el desarrollo de bacterias lácticas.*

Hermann et al. (1999). *Relación de plantas con mayor contenido de fructanos.*

Hoebregs (1997). *Ecuación para determinar los FOS*

Jaime (2001). *Procedimientos para la determinación de los fructo-oligosacáridos.*

JUÁREZ CASTILLO, Sheila S. (Lima – 2015). *Determinación de FOS en yacón y sus derivados.*

KAUFMANN, Pedro (2011). *Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos.*

CHÁVEZ, Melissa T. (Colombia - 2016). El yacón, *Composición química del yacón y Fructo-oligosacárido.*

Krasaekoopt & Bhatia (2012). Yogurt en polvo.

Kumar & Mishra (2006). *Yogurt en polvo comercial.*

Kumar & Mishra (2004). *Secado de yogurt.*

LESS, R. (2001). *Análisis de los alimentos, método analítico y de control de calidad.*

LIMUSA WILEY, A. (2004). *Diseño y análisis de experimentos.*

Linros interinsumos (Lima – 2019). *Cultivos de serie SACCO Lyofast Probióticos.*

López (2019). *Beneficios en la salud del yogurt.*

LÓPEZ TORREZ, Diana Lizeth (2007). *Obtención de un jarabe rico en fructo-oligosacáridos.*

LUIZ QUEIROZ, F. (Brasil - 2007). *Fundamento de diseño experimental.*

MADURO, Richard (2013). *Propiedades organolépticas del yogurt.*

MANRIQUE, Iván (Lima - 2003). *Jarabe de yacón principios y procesamiento.*

MARTÍN, Alberto Rubín (2011). *Prebióticos y sus Beneficios.*

MARTINEZ, Irene (2017). *Análisis fisicoquímico de yogurt sábila piña-yogurt natural*

Martínez (2015). *Propiedades organolépticas del yogurt.*

MARVING, Felipe (2014). *Proceso para la elaboración de yogurt simbiótico rico en Fructo-oligosacárido.*

Mercedes (2015). *Etapas de liofilización.*

MOLLO, Daniela (2020). *Yogurt simbiótico.*

Muñoz (2016). *Bacterias en el yogurt y sus beneficios.*

Natural Sourcing, (2020). *Especificaciones de yogurt en polvo.*

NOGUERA, Bulmaro (2020). *Ventajas y desventajas de liofilización.*

Norma técnica andina (N° 007 – 2007). *Microorganismos de identidad.*

NÚÑEZ, Magdalys (Cuba-2016). *Prebióticos y su efecto en la viabilidad de bacterias probióticas.*

OLAGNERO, Gabriela y Col, (Buenos Aires – 2007). *Alimento funcional: fibra, prebiótico, probiótico y simbiótico.*

Paucar (2015). *Temperatura y presión de liofilización.*

Pazmiño, F. (Guayaquil - 2014) *“Aprovechamiento de los principios activos del yacón (Smallantus sonchifolius, para la elaboración de yogurt rico en FOS”*.

PERDIGÓN, Gabriel (Argentina – 2018). *Microorganismos considerados probióticos*.

Radaeva et al (1975). *Equipos de liofilización*.

Reglamento de la leche y productos lácteos MINAGRI (Lima - 2017). *Cantidad de microorganismos específicos*.

Reglamento de la leche y productos lácteos MINAGRI (Lima - 2017). *Especificaciones de leche en polvo*.

RIVAS, Franco P. (Argentina - 2006). *Temperatura adecuada para el desarrollo de bacterias lácticas*.

Rosas (2012). *Yogurt simbiótico*.

Roberfroid (2002). *Aspectos funcionales del yacón*.

Salazar (2005). *Prebióticos en la viabilidad de las bacterias probióticas*.

Santos, G. (Brasil - 2018). *Desarrollo y aceptación de yogurt liofilizado en polvo*.

Santana & Cardoso (2008). *Aspectos funcionales del yacon*.

Sanz (2017). *Bacterias en el yogurt y sus efectos en el organismo*.

Shah (2003). *Recuento de bacterias ácido lácticas*.

Spreer (1991). *Concepto lactológico de la leche.*

Silva Borges *et al* (2012). *Aspectos funcionales del yacón.*

SUAREZ, Daniela (Colombia - 2018). *Cromatografía principios y ventajas.*

Tabla Peruana de composición de los Alimentos (2009). *Composición de yacón, leche y yogurt.*

TECNOVAX (2018). *Liofilización y etapas de liofilización.*

Tharmaraj y Shah (2003). *Recuento, identificación y aislamiento de bacterias probióticos.*

Torres (2017). *Composición química en 100 g de jarabe de yacón.*

UNAD (Lima – 2016). *Leche y propiedades físicas.*

VERA BALCAZAR, Maria Elizabeth (Ecuador – 2011). *Elaboración y aplicación gastronómica del yogur.*

Villarroel (2015). *Procedimientos para la elaboración de Yogurt Simbiotico.*

WAKO, (2006). *Métodos para la determinación de los FOS.*

Young, I. (Corea - 2015). *Encuesta de almacenamiento de yogurt en polvo en países de exportación ambiental, evaluación de seguridad, cumplimiento de normas y análisis comparativo.*



# **ANEXOS**

# **ANEXO N° 1**

## **PANEL FOTOGRAFICO**

**(ELABORACIÓN DE JARABE DE YACÓN)**

FOTO N° 1: LAVADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 2: ESCALDADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 3: PELADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 4: LICUADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 5: EBULLICIÓN



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 6: FILTRADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 7: EVAPORACIÓN



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 8: CONCENTRACIÓN



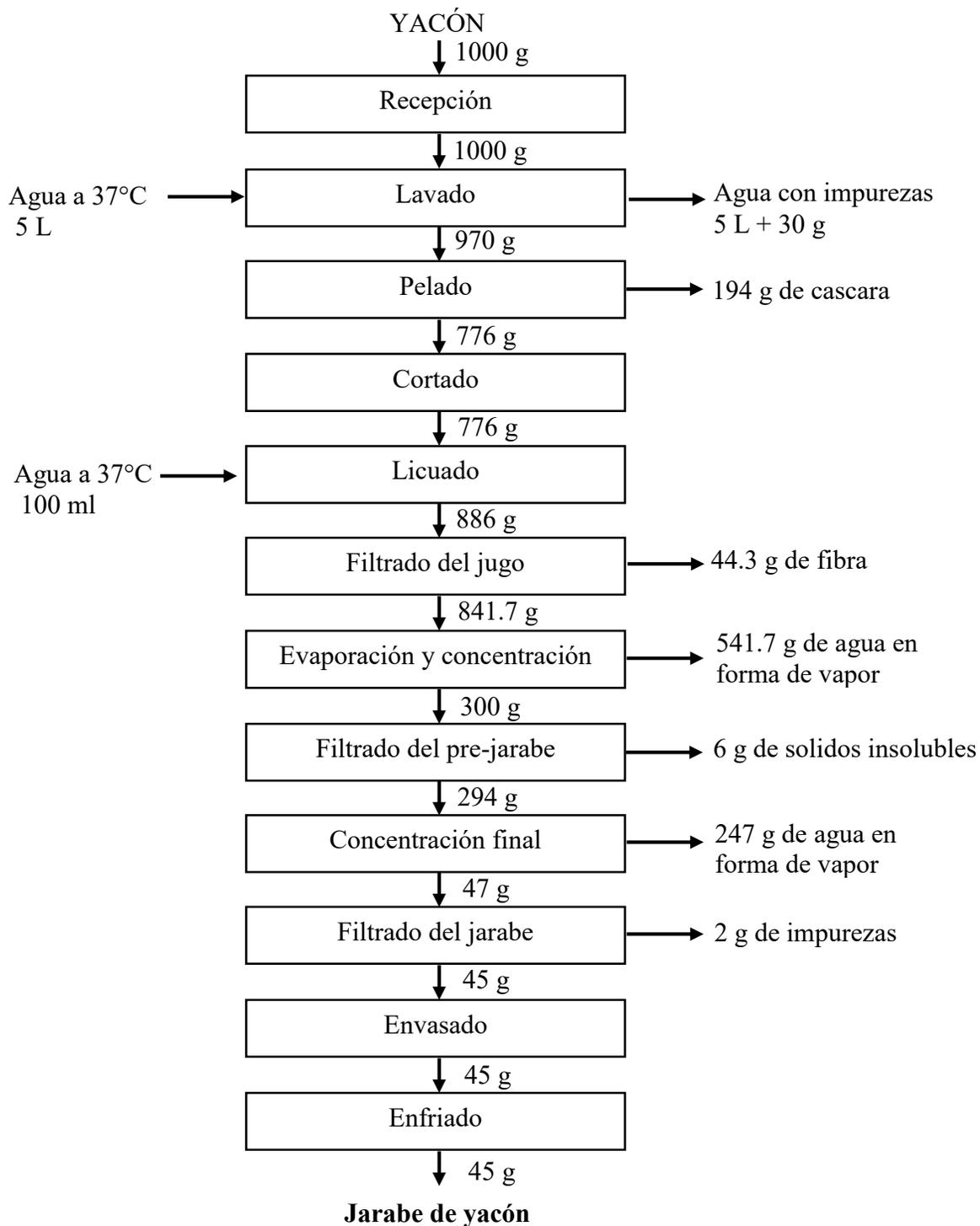
FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 9: JARABE DE YACÓN



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

## BALANCE DE MASA EN LA ELABORACIÓN DE JARABE DE YACÓN



## RENDIMIENTO

$$\%R = \frac{PESO\ FINAL}{PESO\ INICIAL} \times 100\%$$

$$\%R = \frac{45\text{ g}}{1000\text{ g}} \times 100\%$$

$$\%R = 4.5\%$$

## INTERPRETACIÓN

El rendimiento para el proceso de elaboración de jarabe de yacón es de 4.5 %, quiere decir que de 1 kg de yacón fresco se obtiene 45 g de jarabe de yacón.

## **ANEXO N° 2**

# **PANEL FOTOGRAFICO**

**(ELABORACIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO)**

FOTO N° 1: CONTROL DE CALIDAD



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 2: FILTRADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 3: PASTEURIZACIÓN



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 4: ENFRIADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 5: MEZCLADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 6: INOCULACIÓN



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 7: INCUBADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 8: ENFRIADO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 9: BATIDO



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 10: CONTROL DE CALIDAD



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

FOTO N° 11: Yogurt envasado con sus respectivos códigos



FECHA: 31/01/2021 LUGAR: EPIA

**ANEXO N° 3**

**LIOFILIZACIÓN**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA**  
**E.P. FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**Q.F. ROGER GIANCARLO GUTIERREZ CHAVEZ**

ESPECIALISTA EN LABORATORIO DGI-VRIN LABORATORIO DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA.

Se pone en conocimiento que los Bachilleres: **CCOYORI QUISPE, Raul** y **HUAHUATICO CANO, Vladimir** con tema de investigación intitulado "Obtención de Yogurt Simbiótico Liofilizado a Diferentes Temperaturas y Porcentajes de Jarabe de Yacón (*Smallantus sonchifolius*)" realizaron el uso del equipo **LIOFILIZADOR MODEL NO: TFD5503, SERIE NO: OA1197** con una capacidad de 310 gramos a temperaturas de  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $-40^{\circ}\text{C}$  en el **LABORATORIO DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**. Se inició el proceso de liofilización el día lunes 01 de febrero y finalizando el día martes 09 de febrero del 2021 un total de 6 muestras.

Cusco, 09 de febrero del 2021.

**ATENTAMENTE:**

FOTO N° 1: EQUIPO LIOFILIZADOR



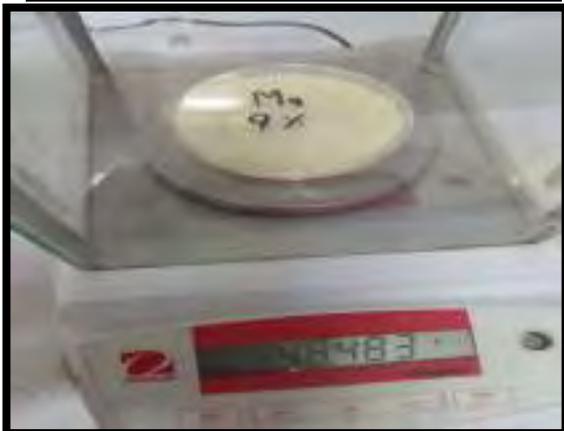
FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 2: MUESTRAS EN PLACAS PETRI



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 3: PESO DE LAS MUESTRAS



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 4: CONGELACIÓN DE LAS MUESTRAS



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 5: CABINA DE LIOFILIZACIÓN



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 6: LIOFILIZACIÓN



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 7: LIOFILIZACIÓN A -40 °C



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 8: LIOFILIZACIÓN A -20 °C



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 9: MUESTRAS LIOFILIZADAS



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 10: PESO DE MUESTRAS LIOFILIZADAS



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 11: MOLIDO EN MORTERO



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

FOTO N° 12: ALMACENADO EN ENVASES TRILAMINADOS



FECHA: 01/02/2021 LUGAR: Lab. Farmacia

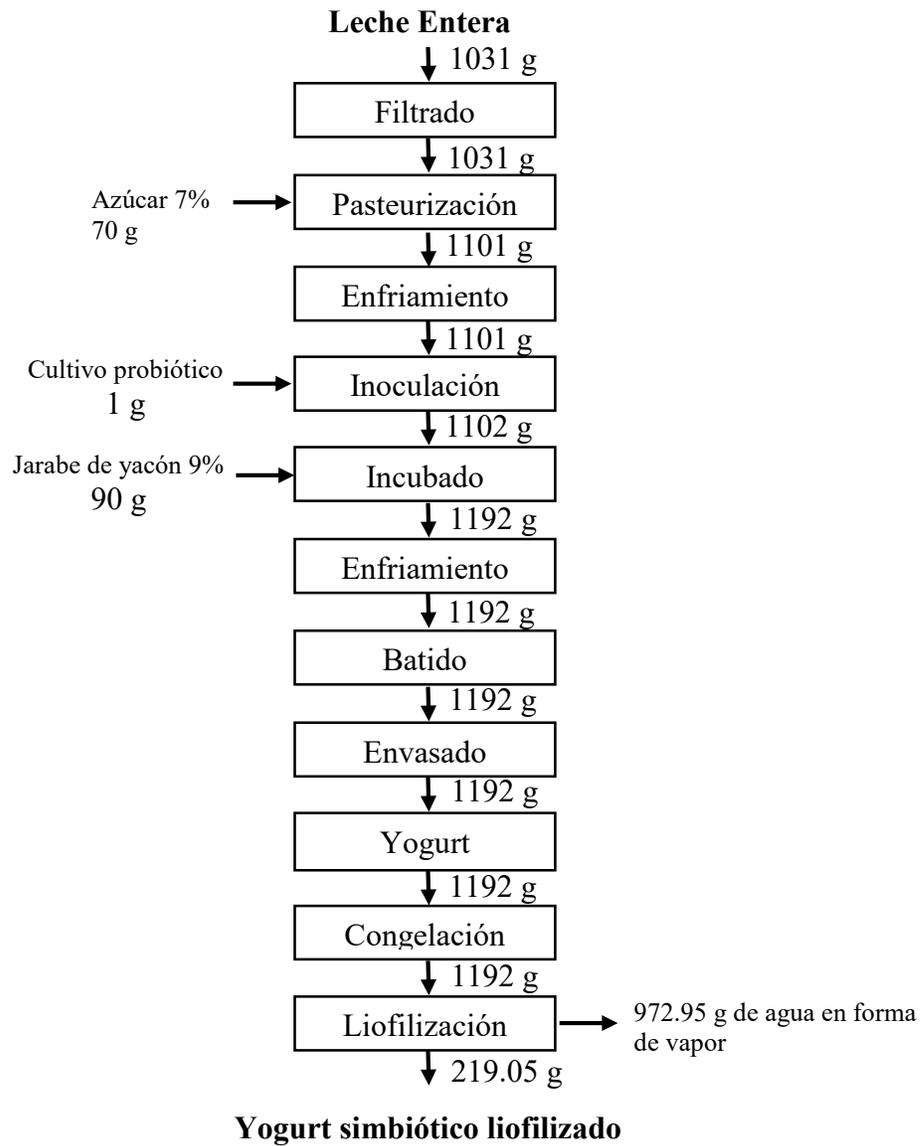
FOTO N° 13: Producto final listo para la venta



FECHA: 01/02/2022

# BALANCE DE MASA EN LA ELABORACIÓN DE YOGURT SIMBIOTICO

## LIOFILIZADO



## RENDIMIENTO

$$\%R = \frac{PESO\ FINAL}{PESO\ INICIAL} \times 100\%$$

$$\%R = \frac{219.05\ g}{1192\ g} \times 100\%$$

$$\%R = 18.38\ \%$$

## INTERPRETACIÓN

El rendimiento para el proceso de elaboración de yogurt simbiótico liofilizado es de 18.38 %, quiere decir que de 1031 g de leche, 70 g de azúcar, 1 g de cultivo probiótico y 90 g de jarabe de yacón se obtiene 219.05 g de yogurt simbiótico liofilizado, lo cual es aceptable ya que es un producto bajo en humedad en un 5%.

## COSTO DE PRODUCCIÓN Y PRECIO DE VENTA

Yacón	S/ 7.00
Azúcar	S/ 0.20
Cultivo	S/ 0.20
Leche	S/ 2.00
Envase	S/ 1.00
<b>Total</b>	<b>S/ 10.40</b>
<b>30%</b>	<b>S/ 3.12</b>
<b>Precio venta</b>	<b>S/ 13.52 aprox. S/ 13.50</b>

## REHIDRATACIÓN

200 g de yogurt simbiótico liofilizado en 1 L de agua hervida tibia a 40 °C o leche hervida tibia a 40 °C, agitar bien y dejar en reposo por 15 minutos y listo para consumir.

**ANEXO N° 4**

**ANÁLISIS DE CROMATOGRFÍA**



**RESULTADOS**

Cusco, 23 de abril del 2021C-04

Solicitante : Raul Ccoyori Quispe y Vladimir Huahuatico  
Cano Tipo de Análisis : Determinación de Polisacáridos por HPLC-  
RID Tipo de Muestras : Yacon Tubérculo, Yogurt y Yogurt Liofilizado  
Cantidad de Muestra : 1 Tuberculo, 3 Yogurt 100 mL y 6 sobre con Yogurt  
liofilizado Almacenamiento : 4 °C.

Muestra	Polisacarido	Repeticiones			g/100	Prom.
		1	2	3		Total FOS g/100gr
	Kestosa	0.90	0.95	0.94	0.93	
Yacon (tubérculo) Fresco	Nistosa	1.20	1.19	1.24	1.21	2.68
	Fructofranosilnistosa	0.49	0.58	0.56	0.54	
	Kestosa	0.28	0.27	0.30	0.28	
Yogurt 4%	Nistosa	0.37	0.28	0.27	0.31	0.77
	Fructofranosilnistosa	0.19	0.11	0.22	0.17	
	Kestosa	0.43	0.41	0.45	0.43	
Yogurt 9%	Nistosa	0.54	0.50	0.62	0.55	1.28
	Fructofranosilnistosa	0.24	0.40	0.27	0.30	
	Kestosa	0.42	0.38	0.41	0.40	
Yogurt 14%	Nistosa	0.39	0.48	0.46	0.44	1.09
	Fructofranosilnistosa	0.18	0.22	0.33	0.24	
	Kestosa	1.72	1.54	1.33	1.53	
Liofilizado 4% -20°C	Nistosa	2.06	1.31	1.84	1.74	4.27
	Fructofranosilnistosa	1.16	1.25	0.60	1.00	
	Kestosa	1.74	1.24	1.75	1.58	
Liofilizado 4% -40°C	Nistosa	2.10	1.30	1.34	1.58	4.38
	Fructofranosilnistosa	0.68	1.45	1.56	1.23	
	Kestosa	2.18	1.83	1.99	2.00	
Liofilizado 9% -20°C	Nistosa	2.33	2.00	2.02	2.12	5.35
	Fructofranosilnistosa	0.88	1.25	1.57	1.23	



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA - Pabellón de Control

---

	Kestosa	1.95	1.87	1.95	1.92	
Liofilizado 9% -40°C	Nistosa	1.74	1.53	2.14	1.80	4.90
	Fructofranosilnistosa	0.82	1.66	1.03	1.17	
	Kestosa	1.81	1.57	1.88	1.75	
Liofilizado 14% -20°C	Nistosa	1.55	1.84	2.04	1.81	4.41
	Fructofranosilnistosa	0.79	1.06	0.70	0.85	
	Kestosa	1.58	2.33	1.17	1.70	
Liofilizado 14% -40°C	Nistosa	1.53	2.08	1.73	1.78	4.39
	Fructofranosilnistosa	0.76	1.24	0.76	0.92	

---

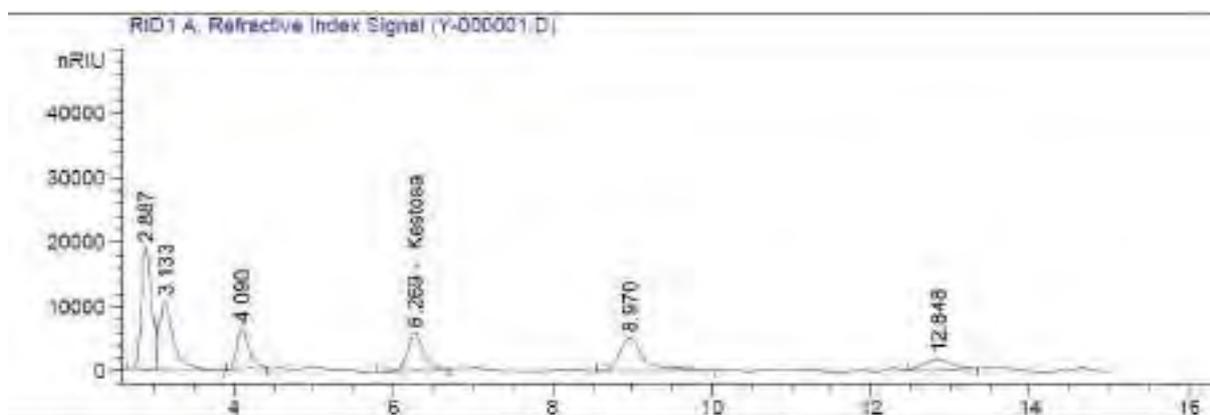
Quim. Jorge Choquenaira Parí  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNSAAC.CQP - 914



## RESULTADOS

### Condiciones de Análisis por HPLC Polisacaridos (1, 3)

Cromatógrafo: Agilent serie 1200  
Software: Chemstation V03.02  
Columna: ZORBAX Carbohydrate 4.6 x 250mm, 5um  
Fase Movil: Acetonitrilo: Agua (80:20) Isocratico  
Flujo de Columna: 2.0 ml/min.  
Detección: Indice de Refraccion RID a 50.0°C  
Temperatura del Horno: 50.0°C  
Tiempo de Análisis: 16 min. Volumen de Inyección:  
5.0 µl



Nota: Los resultados obtenidos expresa los gramos de fructooligosacaridos (FOS) totales que están presentes en 100 gr de muestra, la cuantificación se realizó frente a una curva patrón de 1-Kestosa, la identificación se basó por comparación de los tiempos de retención de los otros Polisacáridos (2), la suma son los FOS.

#### Referencia

1. Agilent Technologies USA 2003 Typical Performance of ZORBAX Carbohydrate Analysis Column N° 820629-008c
2. Analytical Chemistry, 1. Food Analysis A. Fructooligosaccharide Analysis. Wako Product Update No.16 <https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/journal/docs/proup16.pdf>.
3. González-Aguirre, C. L., & Ramírez-Navas, J. S. (s. f.). (2018) Desarrollo y validación de un método para la cuantificación de fructooligosacáridos en un helado prebiótico. 9. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 6 (2), 108-116, 2018 ISSN0719-4250 <http://jppres.com/jppres>

Quim. Jorge Choquenaira Parí  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNSAAC.CQP - 914

## **ANEXO N° 5**

# **ANÁLISIS DE RECUENTO DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS**



## CADENA DE CUSTODIA DE AGUAS Y ALIMENTOS

Cadena de Custodia N° 00 - 2020

### LAASA LAB - CUSCO

(Urb. Magisterio) Av. José Gabriel Cosío 403 A, 1ra. Etapa - Tel: 084-505814

Responsable Laboratorio: Bfga. María del Carmen Yáñez Mujica  
984-782192 mariceymj@gmail.com

Solicitante: *Raul Coyori Quispe*

Responsable para muestreo:

#### Datos del Muestreo

Lugar de muestreo:		Muestreo		Datos de Muestra		Provincia: <i>Carechis</i>		Región: <i>Cusco</i>		Tipo de envase:		
Districto:	Districto:	Fecha	Hora	Fuente/Origen/Tipo de muestra (b)	Punto de Muestreo (c)	Descripción de Muestra	Análisis Solicitado	Análisis Microbiológico	Análisis Físico	Análisis Químico	Vidrio	Plástico
<i>Bicrama</i>		<i>05-02</i>	<i>11:00</i>	<i>Yogat Simbiótico Líquido</i>				<input checked="" type="checkbox"/>			<input checked="" type="checkbox"/>	
		<i>05-02</i>	<i>11:00</i>	<i>Yogat Simbiótico Liofilizado</i>				<input checked="" type="checkbox"/>				<input checked="" type="checkbox"/>

(a) Código de Campi, N° de frasco que asigna el muestreador, retulido en el frasco y/o sobre el capuchón de la tapa.

(b) Fuente/Origen/Tipo de muestra. Agua-Tratada-Superficial-Subterránea-Residual y Alimentos-Crudo-Elaborado (Superficies, Viva)-Fuente

(c) Indicar el lugar exacto donde se toma la muestra.

#### TRANSPORTE DE COOLER

Fecha: <i>05/02/2021</i>	Muestras intactas	SI	NO
T° Interior: <i>8.4</i>	Muestras dentro del periodo de análisis	SI	NO
<i>Yogat Líquido = 8.4</i>	Fecha y Hora de entrega a Laboratorio:	<i>05/02/21</i>	<i>11:00</i>
<i>Yogat Liofilizado = 10.7</i>			

*María del Carmen Yáñez Mujica*  
BIÓLOGO  
C.E.F. 8233

**INFORME N° 010-AM - LAASA LAB EIRL. 2021****OBTENCION DE YOGURT SIMBIÓTICO LIOFILIZADO A DIFERENTES  
TEMPERATURAS Y PORCENTAJE DE JARABE DE YACÓN  
(Smallanthus sonchifolius)****CONTIENE:**

1. CADENA CUSTODIA.
2. METODOLOGÍA.
3. MATERIALES
4. RESULTADO DE ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS.
5. CONCLUSIONES,
6. REGISTRO FOTOGRAFICO.

Olga María de Carmen Yáñez Mujica  
C. B. P. 8298  
GERENTE  
**L.A.A.S.A. LAB. E.I.R.L.**

Cusco, 19 febrero del 2021.  
MCYM



## 1 MATERIALES

Para la realización del presente trabajo se requiere:

### 1.1 Material Biológico

Muestras a ser analizadas:

M – 1: YOGURT SIMBIÓTICO LÍQUIDO.

M – 2: YOGURT SIMBIÓTICO LIOFILIZADO.

### 1.2 Material operativo

Entre este tipo de material se tiene:

- Placas Petri esterilizadas de 18 x 100mm.
- Balones de 500ml.
- Tubos de ensayo con 10ml. De agua destilada, esterilizados.
- Pipetas de 5ml esterilizadas.
- Medios de Cultivo: MRS Agar.
- Bacteria de coloración de Gram.

### 1.3 Equipos de Laboratorio

- Mechero de Bunsen.
- Autoclave.
- Incubadora a 37°C.
- Microscopio
- Balanza
- EPPs (Protector naso bucal; Gorro; Guantes; Mandil.



## 1.4 Preparación de Material operativo:

Preparación de Tubos de Dilución	Preparación de Medio de Cultivo	Para Incubación	Para Lectura
Se preparan de acuerdo al Flujo grama, por el Método de Diluciones. Se esteriliza 7 tubos con 10ml de Agua destilada.	Medio recomendado por el tipo de Micro-organismos Anaerobios: <b>Agar MRS</b>	Se cuenta con Jarra de Anaerobiosis con un Generador de CO2 y su indicador.	Se cuenta con Bacteria de Coloración de Gram y Microscopio
	Se prepara de acuerdo las especificaciones del fabricante. Se esteriliza en Autoclave durante 15 minutos a 121°C.		

## 2 ENSAYO MICROBIOLÓGICO

### 2.1 PROCESO DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO

Una vez que se cuente con todo el material requerido, se procede a disponer del mismo en la mesa de trabajo que previamente ha sido desinfectada.





Se procede a preparar las muestras:

- Para el Yogurt Líquido previa homogenización, se toma una muestra de 1ml. Y se vierte en el tubo 1, que Contiene 10ml de agua destilada esterilizada, constituye la Dilución  $10^{-1}$ , proceso que se repite hasta la dilución  $10^{-7}$ .
- Para el Yogurt Liofilizado se pesa 1g de muestra la que se vierte en el tubo 1, constituye la dilución  $10^{-1}$ ;



De cada tubo homogeneizado, se toma una alícuota de 1ml y se transfiere al tubo 2, constituye el tubo  $10^{-2}$ , se procede así hasta la dilución  $10^{-7}$ .



De cada Tubo de dilución se inocula 1ml de muestra a cada placa esterilizada a la cual se adiciona 15ml de Agar esterilizado a  $37^{\circ}\text{C}$ , se deja solidificar y se incrementa 10ml de Agar a  $37^{\circ}\text{C}$ .





	<p>Se incuban las Placas en la Jarra de Anaerobiosis que Contiene su generador de CO<sub>2</sub>, a T° de 37°C por 48 horas</p>
---	---

### 3 LECTURA DE RESULTADOS

Se realizaron las lecturas de resultados a las 48 horas de incubación, se registran en los formatos de resultados adjunto



**INFORME N° 10 AM- LAASA LAB 2021**  
**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS**

**SOLICITANTE:** *Bach. CCOYORI QUISPE, Raul*  
*Bach. HUAHUATICO CANO, Vladimir*  
**Proyecto Tesis:** *Obtención de Yogurt Simbiótico Liofilizado a Diferentes Temperaturas y Porcentajes de Jarabe de Yacón (Smallantus sonchifolius)*  
*Universidad de San Antonio Abad del Cusco- Facultad de Ingeniería de Procesos – Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.*

**Muestra 01 : YOGURT SINBIÓTICO LÍQUIDO**

**DATOS DEL MUESTREO**

Punto de muestreo :  
Distrito : Sicuani.  
Provincia : Canchis.  
Departamento : Cusco.  
Fecha de muestreo : 05/02/2021.

**RESULTADOS**

N° Ref. Lab.	Punto de muestreo	DILUSIONES						
		10 <sup>-1</sup> UFC/g	10 <sup>-2</sup> UFC/g	10 <sup>-3</sup> UFC/g	10 <sup>-4</sup> UFC/g	10 <sup>-5</sup> UFC/g	10 <sup>-6</sup> UFC/g	10 <sup>-7</sup> UFC/g
M 1	Yogurt Simbiótico Líquido	Incontables UFCx10	Incontables UFCx10 <sup>2</sup>	345 UFC x 10 <sup>3</sup>	156 UFC x 10 <sup>4</sup>	98 UFC x 10 <sup>5</sup>	35 UFC x 10 <sup>6</sup>	12 UFC x 10 <sup>7</sup>
Limite Permisible Bact Lácticas totales								10 <sup>7</sup> UFC/g
Limite Permisible Micr Organismos etiquetados							10 <sup>4</sup> UF C/g	

<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	Método Estandarizado por Incorporación en Agar MRS. Observación Microscópica directa de colonias. Cultivo en Anaerobiosis. 37°C x 48horas.
<b>DOCUMENTO DE LA REFERENCIA</b>	<i>DS N°007 – 2017- MINAGRI. Capítulo VII YOGURT- Artículo20 Especificaciones técnicas- 20.2 Microbiológicas de Identidad.</i>

De acuerdo a los resultados de análisis y en el marco del documento de referencia, la muestra cumple con las Especificaciones Técnicas.

Cusco, 19 de febrero del 2021  
MCYM

Biól. María de Carmen Yáñez Muñoz  
BIOLOGA  
C. B. P. 6244

**INFORME N° 10 AM- LAASA LAB 2021****ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS**

**SOLICITANTE:** *Bach. CCOYORI QUISPE, Raul*  
*Bach. HUAHUATICO CANO, Vladimir*  
**Proyecto Tesis:** *Obtención de Yogurt Simbiótico Liofilizado a Diferentes Temperaturas y Porcentajes de Jarabe de Yacón (Smallantus sonchifolius)*  
*Universidad de San Antonio Abad del Cusco- Facultad de Ingeniería de Procesos – Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.*

**Muestra 02 : YOGURT SINBIÓTICO LIOFILIZADO****DATOS DEL MUESTREO**

Punto de muestreo : .  
Distrito : Sicuani,  
provincia : Canchis.  
Departamento : Cusco.  
Fecha de muestreo : 05/02/2021.

**RESULTADOS**

N° Ref. Lab.	Punto de muestreo	DILUSIONES						
		10 <sup>-1</sup> UFC/g	10 <sup>-2</sup> UFC/g	10 <sup>-3</sup> UFC/g	10 <sup>-4</sup> UFC/g	10 <sup>-5</sup> UFC/g	10 <sup>-6</sup> UFC/g	10 <sup>-7</sup> UFC/g
M 1	Yogurt Simbiótico Liofilizado	Incontables UFCx10	Incontables UFCx10 <sup>2</sup>	256 UFC x 10 <sup>2</sup>	107 UFC x 10 <sup>4</sup>	78 UFC x 10 <sup>5</sup>	15 UFC x 10 <sup>6</sup>	8 UFC x 10 <sup>7</sup>
Limite Permisible Bact Lácticas totales								10 <sup>7</sup> UFC/g
Limite Permisible Micr Organismos etiquetados.							10 <sup>6</sup> UFC/g	

<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	Método Estandarizado por Incorporación en Agar MRS. Observación Microscópica directa de colonias. Cultivo en Anaerobiosis. 37°C x 48horas.
<b>DOCUMENTO DE LA REFERENCIA</b>	<i>D5 N°007 – 2017- MINAGRI. Capítulo VII YOGURT- Artículo 20 Especificaciones técnicas- 20.2 Microbiológicas de Identidad.</i>

De acuerdo a los resultados de análisis y en el marco del documento de referencia, la muestra cumple con las Especificaciones Técnicas.

Cusco, 19 de febrero del 2021  
MCYM

  
Biolga. María de Carmen Yañez Mujica  
BIOLOGA  
C. B. P. 6298



#### 4 CONCLUSIONES

- De los 2 ensayos microbiológicos realizados se concluye que los Productos Yogurt Simbiótico Líquido y Yogurt Simbiótico Liofilizado, conservan su Especificaciones Técnicas Microbiológicas de Identidad.
- De acuerdo a los resultados se observa que en el producto liofilizado el contenido de dichas especificaciones técnicas microbiológicas de identidad disminuye.
- Para Bacterias Lácticas Totales, en la dilución  $10^{-7}$ , en ambos productos se hantenido recuentos, ello evidencia la población de dichas especies.
- Por observación microscópica se diferenció en la dilución  $10^{-7}$ , del Yogurt Simbiótico Líquido; 7 colonias blanquecinas convexas, de borde regular alargadas, a la coloración de Gram se observó Bastones largos G+, que refieren a Lactobacilos, 5 colonias blanquecinas convexas de bordes regulares y redondas, a la coloración de Gram, se observó bastones G+, que refieren a Bifidobacterias.
- Por observación microscópica se diferenció en la dilución  $10^{-7}$ , del Yogurt Simbiótico Liofilizado; 5 colonias blanquecinas convexas, de borde regular alargadas, a la coloración de Gram se observó Bastones largos G+, que refieren a Lactobacillus, 3 colonias blanquecinas convexas de bordes regulares y redondas, a la coloración de Gram, se observó bastones G+, que refieren a Bifidobacterias.

#### 4.1 FUENTES

#### 4.2 DOCUMENTOS DE REFERENCIA

- Decreto Supremo N° 007 – 2017 – MINAGRI; DECRETO QUE APRUEBA EL REGLAMENTO DE LA LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS.
- Norma Técnica Andina: Leches Fermentadas. Requisitos. PNA 16 007; 2007.
- Técnica de Recuento por Dilución. MAG Laboratorio Microbiología Industrial. Buenos Aires. Argentina



## 5 REGISTRO FOTOGRAFICO

FOTO N° 1: MUESTRAS



FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA

FOTO N° 2: DILUCIONES HASTA



FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA

FOTO N° 3: De cada dilución se transfiere 1ml a placa



FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA

FOTO N° 4: Adición de Agar esterilizado



FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA

FOTO N° 5: Incubación en



FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA

FOTO N° 6: Observación microscópica de

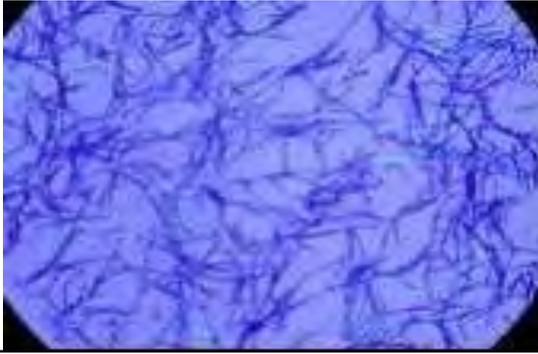


FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA



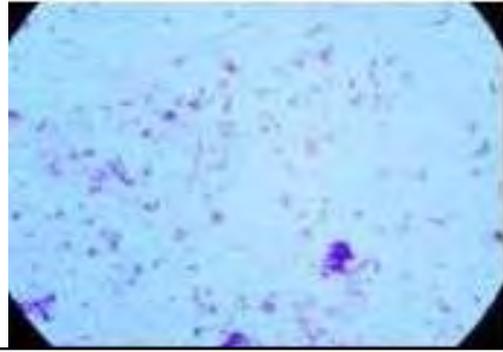
FOTO N° 7: Bastones largos Gran Positivos 100x



FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA

FOTO N° 8: Bastones Gran Positivos 40X



FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA

FOTO N° 9: Bastones Gran Positivos

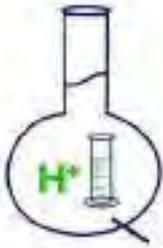


FECHA: 05/02/2021

LUGAR: Lab. LAASA

**ANEXO N° 6**

**ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO**



# MC QUIMICALAB

De: Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez  
LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES  
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE

RUC N° 10465897711 - COVIDUC A4 - SAN SEBASTIÁN CEL: 974 673993 - 946 688776

## INFORME N°LQ 0164-21 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE ALIMENTOS

SOLICITA :

**RAUL CCOYORI QUISPE**  
**VLADIMIR HUAHUATICO CANO**  
Bachilleres de la Universidad Nacional De San Antonio Abad  
Del Cusco Facultad de Ingeniería de Procesos Escuela  
Profesional de Ingeniería Agroindustrial Sede Sicuani.

TESIS :

“Obtención de Yogur Simbiótico Liofilizado a Diferentes  
Temperaturas y Porcentajes de Jarabe de Yacón”

MUESTRA :

Yogur Liofilizado ( M<sub>3</sub>)

DISTRITO :

Sicuani

PROVINCIA :

Canchis

REGION :

Cusco

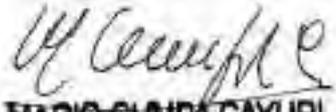
FECHA DE INFORME : 19/05/21

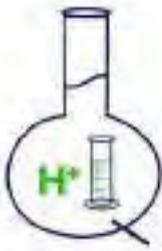
RESULTADOS :

DETERMINACIONES	UNIDAD	RESULTADOS
Humedad	%	5.0
Proteína	%	31
Carbohidratos	%	34.3
Grasa	%	26
Ceniza	%	2.7
Fibra	%	0.0
pH		4.5
Acidez (ácido láctico)	%	0.8

**MÉTODOS DE ANÁLISIS:** Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación Químico Agrícola – “Análisis Moderno de los Alimentos” F. Leslie Hart, Harry Johnstone Fisher. Editorial Acribia.



  
**MARIO CUMPA CAYURI**  
INGENIERO QUÍMICO  
REG. COLEGIO DE INGENIEROS N° 16181



# MC QUIMICALAB

De: Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez

LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES

AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE

RUC N° 10465897711 - COVIDUC A4 - SAN SEBASTIÁN CEL: 974 673993 - 946 688776

## INFORME N°LQ 0165-21

### ANALISIS FISICOQUIMICO DE ALIMENTOS

**SOLICITA**

RAUL CCOYORI QUISPE  
VLADIMIR HUAHUATICO CANO  
Bachilleres de la Universidad Nacional De San Antonio  
Abad Del Cusco Facultad de Ingeniería de Procesos  
Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial Sede  
Sicuani.

**TESIS**

: "Obtención de Yogur Simbiótico Liofilizado a Diferentes Temperaturas y Porcentajes de Jarabe de Yacón"

**MUESTRA**

: Yogurt simbiótico

**DISTRITO**

: Sicuani

**PROVINCIA**

: Canchis

**REGION**

: Cusco

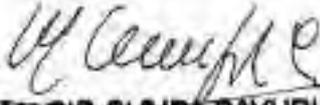
**FECHA DE INFORME** : 19/05/21

**RESULTADOS**

DETERMINACIONES	UNIDAD	RESULTADOS
Agua	%	87
Proteína	%	3.5
Carbohidratos	%	4.2
Grasa	%	3
Ceniza	%	1.3
Fibra	%	0.0
pH		4.5
Acidez (ácido láctico)	%	0.8

**METODOS DE ANALISIS:** Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación Químico Agrícola – "Análisis Moderno de los Alimentos" F. Leslie Hart, Harry Johnstone Fisher. Editorial Acribia.



  
**MARIO CUMPA CAYURI**  
INGENIERO QUIMICO  
REG. COLEGIO DE INGENIEROS N° 16191