

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS**

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

**“AISLAMIENTO DE BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS NATIVAS DEL ECUADOR,  
PARA EL MEJORAMIENTO DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS EN EL  
YOGURT NATURAL”**

Realizado por:

**ROMINA ISABELA ALVAREZ ORDOÑEZ**

Director del proyecto:

**Ing. Andrés Herrera, MSc.**

Como requisito para la obtención del título de:

**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

Quito, 10 de Abril del 2024

## **DECLARACIÓN JURAMENTADA**

Yo, ROMNA ISABELA ALVAREZ ORDOÑEZ, con cédula de identidad # 1719832295, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado de calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Romna', with some additional scribbles and a small mark resembling 'NA' to the right.

**FIRMA**

1719832295

## **DECLARATORIA**

El presente trabajo de investigación titulado:

**“AISLAMIENTO DE BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS NATIVAS DEL ECUADOR,  
PARA EL MEJORAMIENTO DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS EN EL  
YOGURT NATURAL”**

Realizado por:

**ROMINA ISABELA ALVAREZ ORDOÑEZ**

como Requisito para la Obtención del Título de:

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

Ha sido dirigido por el profesor:

**MANUEL ANDRES HERRERA**

quien considera que constituye un trabajo original de su autor.



**FIRMA**

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

**JOHANNA LUCIA MEDRANO BARBOSA**

**KATTY CORAL CARRILLO**

Después de revisar el trabajo presentado,

lo han calificado como apto para su defensa oral

ante el tribunal examinador



**FIRMA**



**FIRMA**

Quito, 10 de Abril del 2024

## **AGRADECIMIENTO**

Principalmente a Dios, fuente de sabiduría y guía en todo momento, agradezco por concederme la fortaleza y el entendimiento para completar este arduo camino académico.

También a mi amado padre, Luis Álvarez por su sacrificio, apoyo incondicional, sabias enseñanzas y amor inquebrantable.

De igual forma a toda mi familia, amigos y en especial a mi madre Mercedes Ordoñez por su confianza en mis capacidades, por estar siempre presente, y por ser mi mayor motivación para alcanzar mis metas académicas.

A mi querida Hanna por ser mi soporte emocional en todo momento y mi compañera incondicional en las noches de desvelo.

Por último, quiero expresar mi profundo agradecimiento a la Universidad Internacional SEK por brindarme la oportunidad de crecer académicamente. Agradezco a todas las personas que forman parte de esta institución por su invaluable contribución a mi formación.

## RESUMEN

El yogur natural, un producto lácteo globalmente consumido por sus múltiples beneficios, a menudo se ve eclipsado por variedades aromatizadas y con aditivos debido a la limitada oferta de sabores. Entre estos aditivos, la carragenina, utilizada para mejorar la textura del yogur, ha sido objeto de preocupación por sus posibles efectos adversos para la salud humana. Las bacterias ácido lácticas, microorganismos anaerobios presentes en diversos entornos, desempeñan un papel crucial en la producción de productos lácteos, como el yogur natural, conocido por fortalecer el sistema inmunológico. En este estudio, se buscó aislar cepas nativas de bacterias lácticas en Ecuador con el objetivo de mejorar las propiedades organolépticas del yogur natural en comparación con sus homólogos comerciales. Se realizaron aislamientos de bacterias ácido-lácticas en diversas regiones de Ecuador, utilizando luego estas cepas para la elaboración de yogures naturales. Estos fueron comparados con yogures elaborados con cepas comerciales, incluyendo carragenina en dos de ellos. Se midieron parámetros fisicoquímicos como el pH, grados Brix y densidad, ya que estos influyen en las propiedades organolépticas. Los resultados, analizados mediante ANOVA y prueba de Duncan en el programa Infostat, revelaron diferencias significativas en pH, grados Brix y densidad entre los yogures naturales elaborados con cepas nativas y aquellos con cepas comerciales. En conclusión, se identificaron las cepas nativas L5-4, L5-3 y L13 como las más eficaces para mejorar las propiedades organolépticas del yogur natural, ofreciendo perspectivas valiosas para la producción de productos lácteos más saludables y apetitosos.

**Palabras claves:** Bacterias ácido lácticas, yogurt natural, parámetros fisicoquímicos.

## ABSTRACT

Plain yoghurt, a dairy product globally consumed for its many benefits, is often overshadowed by flavoured and additive varieties due to limited flavour offerings. Among these additives, carrageenan, used to improve the texture of yoghurt, has been the subject of concern due to its possible adverse effects on human health. Lactic acid bacteria, anaerobic microorganisms present in various environments, play a crucial role in the production of dairy products, such as natural yoghurt, known to strengthen the immune system. In this study, we sought to isolate native strains of lactic acid bacteria in Ecuador to improve the organoleptic properties of natural yoghurt compared to its commercial counterparts. Isolations of lactic acid bacteria were carried out in various regions of Ecuador, and then using these strains for the production of natural yoghurts. These were compared with yoghurts made with commercial strains, including carrageenan in two of them. Physical-chemical parameters such as pH, degrees Brix and density were measured, since these influence the organoleptic properties. The results, analyzed by ANOVA and Duncan's test in the Infostat program, revealed significant differences in pH, Brix degrees and density between natural yoghurts made with native strains and those with commercial strains. In conclusion, native strains L5-4, L5-3 and L13 were identified as the most effective in improving the organoleptic properties of natural yoghurt, offering valuable perspectives for the production of healthier and more appetizing dairy products.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, natural yoghurt, physicochemical parameters.

## Índice de contenido

1.	Introducción .....	12
1.1	Objetivo general .....	18
1.2	Objetivo específico .....	18
1.3	Hipótesis .....	19
2.	Metodología .....	19
2.1	Diagrama de flujo de trabajo.....	19
2.2	Fase de campo.....	20
2.2.1	Recopilación de muestras ambientales.....	20
2.3	Aislamiento de bacterias ácido lácticas y obtención de cultivos axénicos .....	22
2.3.1	Elaboración de medio de cultivo líquido MRS .....	22
2.3.2	Inoculación de muestras ambientales en medio de cultivo líquido MRS .	22
2.3.3	Obtención de cultivos axénicos de bacterias ácido láctico .....	22
2.3.4	Estándares de McFarland .....	24
2.4	Elaboración de yogurt natural con incorporación de cultivos axénicos de bacterias ácido lácticas. ....	25
2.4.1	Proceso de elaboración de yogurt natural con bacterias ácido lácticas .....	25
2.5	Análisis de propiedades organolépticas .....	27
2.5.1	Análisis de pH y grados brix .....	27
2.5.2	Análisis de densidad.....	27
2.6	Análisis de estadístico.....	28
3.	Resultados .....	28

3.1	Obtener cultivos axénicos de bacterias ácido lácticas procedentes de diferentes zonas de Ecuador. ....	28
3.1.1	Identificación microscópica de BAL.....	29
3.2	Análisis de propiedades organolépticas .....	29
3.2.1	Fermentación.....	29
3.2.2	Análisis de pH.....	30
3.2.3	Análisis de Grados Brix .....	32
3.2.4	Análisis de densidad.....	34
3.3	Análisis estadístico.....	35
3.3.1	pH.....	36
3.3.2	Grados Brix .....	37
3.3.3	Densidad.....	38
4.	Discusión de Resultados .....	40
5.	Conclusiones:.....	44
6.	Recomendaciones .....	45
7.	Bibliografía .....	46
8.	Anexos:.....	50

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b> Composición del Yogurt Natural .....	13
<b>Tabla 2</b> Tipo de muestras y el lugar de recolección.....	21
<b>Tabla 3</b> Cantidad de (mL) de cultivo axénico de BAL para la elaboración de 200 mL de yogurt natural. ....	26
<b>Tabla 4</b> Yogures comerciales con aditivo alimentario y sin aditivo alimentario.....	26
<b>Tabla 5</b> Tiempo de fermentación en días de las diferentes cepas nativa .....	29
<b>Tabla 6</b> .....	30
<b>Tabla 7</b> Resultados de Grados Brix de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales .....	32
<b>Tabla 8</b> Resultados de la densidad de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales. ....	34

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Diagrama de flujo de trabajo .....	20
<b>Figura 2.</b> Gráfica de los promedios de pH de yogures naturales elaborados con cepas nativa y comerciales .....	31
<b>Figura 3.</b> Gráfica d los promedios de % Grados Brix de yogures naturales elaborados con cepas nativa y comerciales.....	33
<b>Figura 4.</b> Gráfica de los promedios de la densidad g/mL de yogures naturales elaborados con cepas nativa y comerciales.....	35

## Índice de ilustraciones

<b>Ilustración 1.</b> Análisis de la Varianza de pH de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales. ....	36
<b>Ilustración 2.</b> Test de Duncan de pH de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales. ....	37
<b>Ilustración 3.</b> Análisis de la Varianza de Grados Brix de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales. ....	37
<b>Ilustración 4.</b> Test de Duncan de Grados Brix de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales. ....	38
<b>Ilustración 5.</b> Análisis de la Varianza de densidad de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales. ....	39
<b>Ilustración 6.</b> Test de Duncan de densidad de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales. ....	40

## Índice de Anexos

<b>ANEXO 1.</b> ....	50
<b>ANEXO 2.</b> ....	51
<b>ANEXO 3.</b> ....	51
<b>ANEXO 4.</b> ....	51

## 1. Introducción

El instituto Ecuatoriano de Normalización INEN define al yogurt natural como “el producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivaris* subsp. *thermophilus*, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias benéficas que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables y activas desde su inicio y durante toda la vida útil del producto”(NTE INEN 2395, 2011).

El yogurt natural, es la versión menos adulterada y más sencilla, ofrece un sabor puro y una concentración más rica en calcio, superando a otras variedades de yogurt (Bankole et al., 2023). De acuerdo con las directrices de (Alimentarius C., 2015), los aditivos presentes en el yogurt natural se limitan principalmente a estabilizantes y espesantes.

El yogurt natural se caracteriza por ser un gel suave y viscoso, con un sabor ácido fuerte (Cheng, 2010) . El yogurt natural no tiene azúcar ni saborizantes agregados, por lo que puede ser menos dulce que el yogurt con sabor. A algunas personas les gusta el yogurt natural por su acidez natural, mientras que a otras les gusta agregar edulcorantes, frutas u otras guarniciones para realzar el sabor. De acuerdo con el informe de (Shahbandeh, 2023) , en el año 2023, el valor global del mercado de yogures llegó a los 168 mil millones de dólares. Se proyecta que para el año 2028, esta cifra aumente superando los 237 mil millones de dólares.

El yogurt es un producto lácteo con un alto contenido de nutrientes y es rico en diversos minerales y vitaminas como calcio (Ca), sodio (Na), fósforo (P), magnesio (Mg), zinc (Zn), yodo (I), potasio (K), vitamina A, vitamina D, vitaminas del complejo B, principalmente B2, B3 y B12 (Babio et al., 2017). En la Tabla 1 se observa la composición del yogurt natural según la FAO.

**Tabla 1***Composición del Yogurt Natural*

<b>Composición (por cada 100 g. de yogurt)</b>	<b>Yogurt natural entero</b>
Agua (g)	87.9
Energía (kcal)	61
Proteína (g)	3.5
Lípidos totales (grasas) (g)	3.3
Lactosa (g)	4.7
Carbohidratos, por diferencia (g)	4.66

*Nota.* Datos obtenidos de “Muehlhoff, E., Bennett, A. & McMahon, D. (2013). Milk and dairy products in human nutrition. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), (p.67).

En 2021, se consumieron aproximadamente 222.100 millones de kilogramos de leche en todo el mundo. De esta forma, se convirtió en el a producto lácteo más consumido, seguido por el yogurt con 56.286.8 millones (Abigail Orús, 2022). El queso, con un consumo cercano a los 20.700 millones, completó el podio. Los dos continentes que poseen el primer lugar en el consumo de yogurt a nivel mundial en el año 2020 son Asia con el 33.5 % de participación seguido de Europa y MENA. En los últimos años el consumo en estos continentes ha aumentado debido a los diversos beneficios de la salud que aporta el yogurt.

El consumo de yogurt natural tiene múltiples beneficios para la salud entre ellos mejora el ambiente intestinal, estimula el sistema inmunitario innato, disminuye los niveles de colesterol en la sangre, ayuda contra la diarrea y estreñimiento crónico (Yao, 2023). Un estudio realizado por Tang et al., (2022) sugiere que el yogurt se puede utilizar para tratar la enfermedad del hígado graso no alcohólico. Los investigadores observaron que comer yogurt mejoraba los perfiles de lípidos séricos y hepáticos (Tang et al., 2022)

En Ecuador la producción de leche cruda es de 5,5 millones de litros/día (INEC, 2023). De acuerdo con los datos proporcionados por el Centro de la Industria Láctea (CIL), en el país se consume una cantidad promedio de 5.6 L de yogurt por persona al año (Tapia, 2022). Respecto a la producción total, se estima que un 44.6 % se comercializa en tiendas y bodegas, mientras que un 41.9 % se distribuye en supermercados, y el restante 13.5 % se destina a mercados, kioscos y ventas ambulantes dentro del mercado interno (Tapia, 2022).

En el mercado ecuatoriano, la Industria Láctea Tony lidera con el 49 % de la cuota total, gracias a la inclusión de elementos probióticos activos en sus productos (Tapia, 2022). Por otro lado, el 51 % restante pertenece a empresas como El Kiosco, Alpina, Pura Crema, entre otras, reconocidas por su larga trayectoria y la aceptación que han ganado entre los consumidores (Tapia, 2022).

### **Bacterias ácido-lácticas**

Las bacterias del ácido láctico (BAL) constituyen un conjunto diverso y ubicuo de bacterias presentes naturalmente en la leche, productos lácteos, plantas, vegetales fermentados, así como en el tracto gastrointestinal de humanos y animales, y también se hallan en el agua y el suelo. Estas bacterias, son anaeróbicas típicamente sin capacidad de formar esporas, de catalasa negativa, y se presentan mayormente en forma de cocos y bastones Gram positivos. Su destacada característica es su habilidad para generar ácido láctico, el cual constituye el producto final de la fermentación de los carbohidratos. Las BAL se dividen en dos categorías principales: las homofermentativas, que producen 2 moles de ácido láctico por cada mol de glucosa, y las heterofermentativas, que generan ácido láctico, ácido acético, dióxido de carbono y ácido lactato (Koziorowska et al., 2022).

Numerosas cepas de bacterias del ácido láctico (BAL) son consideradas probióticos, lo que implica que son microorganismos reconocidos por sus efectos beneficiosos al ser consumidos en cantidades apropiadas (Koziorowska et al., 2022). Las bacterias del ácido láctico (BAL) representan microorganismos de relevancia industrial y son extensamente empleadas en la producción de alimentos fermentados, particularmente en la elaboración de yogurt. Las características de fermentación que poseen las BAL constituyen un elemento crucial que incide en las propiedades fisicoquímicas de los yogures (Dan et al., 2023a).

La fermentación del ácido láctico es un proceso que involucra bacterias ácido láctico (LAB) para convertir el azúcar-lactosa de la leche ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) en ácido láctico ( $C_3H_6O_3$ ) (Muncan et al., 2021). Este proceso conlleva a una disminución del pH y a la formación de yogurt, ya que el ácido láctico coagula la proteína caseína presente en la leche (Muncan et al., 2021).

### **Estudios de mejoramiento de propiedades organolépticas de yogurt natural**

Un estudio llevado a cabo por Li et al.(2022b) en Xinjiang, China, reveló que las bacterias lácticas autóctonas de esta región generaron yogures con sabores y características sensoriales distintivas, como una textura más densa en comparación con el grupo de control. Un estudio llevado a cabo por Han et al. (2016) descubrió que los cultivos iniciadores aislados de productos lácteos fermentados chinos tenían la capacidad de mejorar la textura del yogurt natural.

El estudio de Ramos et al. (2023) reveló que los yogures elaborados a partir de cepas aisladas de alimentos fermentados exhibieron mayores niveles de retención de agua, concentración de exopolisacáridos (EPS) y una sensación más viscosa en la boca en contraste con el yogurt producido únicamente con el cultivo iniciador comercial, el cual presentó una textura más líquida. Una investigación llevada a cabo por Kiliç et al. (2022a) reveló que los cultivos iniciales aislados

de semillas de leguminosas poseen el potencial de ser utilizados como iniciadores comerciales, lo que podría resultar en una mejora significativa de la calidad del yogurt. Los hallazgos de Sözeri Atik et al. (2023) destacaron que los cultivos iniciales extraídos de yogures artesanales de las aldeas de Konya (Turquía) tienen el potencial para ser recomendados como iniciadores de yogurt, según lo sugerido por el estudio.

La limitada diversidad de bacterias lácticas utilizadas en la industria ha repercutido en la escasez de variedad de yogures naturales disponibles en el mercado local. El sabor ha jugado un papel importante a la hora de determinar la aceptabilidad y preferencia del yogurt por parte de los clientes (Chen et al., 2017). A nivel global, el consumo de yogurt está en aumento, pero las preferencias regionales difieren notablemente. Mientras en Oriente Medio, el sur de Asia, el norte de África y los países árabes se favorece el yogurt natural, en Europa y América del Norte se prefiere el yogurt aromatizado, debido a la menor apreciación del sabor ácido característico del yogurt sin aditivos (Gurkan & Hayaloglu, 2017). Para mejorar sus propiedades organolépticas, especialmente la textura, se ha recurrido a la adición de carragenina como aditivo en el proceso productivo. Sin embargo, recientes investigaciones han vinculado la carragenina con problemas de salud en animales.

Estudios han demostrado que la presencia de carragenina en la dieta podría tener efectos adversos, tales como reducir la bioaccesibilidad de proteínas y péptidos, alterar la función epitelial normal, promover la inflamación intestinal y; por ende, comprometer la salud de quienes la consumen (Fahoum et al., 2017). Investigaciones con ratones y células HepG2 humanas sugieren que la carragenina podría contribuir al desarrollo de la diabetes en la dieta humana (Bhattacharyya et al., 2012). Asimismo, se ha observado que la exposición de la carragenina, resulta en el desarrollo de inflamación intestinal en modelos animales (Pogozhykh et al., 2021). Además, se ha

documentado que tanto los carragenanos como otras gomas alteran la composición y función de la microbiota intestinal humana (Naimi et al., 2021). Por tanto, es crucial investigar y encontrar cepas de bacterias lácticas capaces de mejorar las propiedades organolépticas del yogurt de manera natural, sin la necesidad de aditivos como la carragenina, lo que permitiría la producción de yogures más saludables y diversificados.

La investigación propuesta busca abordar una preocupación significativa en la industria alimentaria, específicamente en el ámbito de los productos lácteos fermentados, centrándose en los yogures naturales. Actualmente, la oferta comercial de yogures naturales es limitada en diversidad y suele contener aditivos que pueden ser perjudiciales para la salud. En este contexto, se plantea la importancia de la identificación de cepas de bacterias lácticas que puedan mejorar las características organolépticas del yogurt es esencial. Esta investigación no solo beneficiará a la industria láctica al optimizar sus procesos productivos, sino que también contribuirá a la reducción de costos. El aumento en la producción de nuevos cultivos iniciadores se vuelve crucial para esta industria, ya que permitirá la elaboración de yogures con las cualidades sensoriales deseadas, lo cual impactará positivamente en el panorama económico, como señalan estudios recientes (Kiliç et al., 2022).

Resultados de investigaciones previas han revelado la complejidad bioquímica del desarrollo del sabor del yogurt, destacando la influencia directa de las cepas de bacterias lácticas utilizadas como cultivos iniciadores (Chen et al., 2017). Además, se ha demostrado el interés en los polisacáridos producidos por estas bacterias por su potencial aplicación en la mejora de textura y otros aspectos relevantes en la industria láctea fermentada (Han et al., 2016).

Las bacterias del ácido láctico (BAL) juegan un papel fundamental en la calidad de los productos lácteos fermentados, incluyendo el sabor, la textura y el aroma (Li et al., 2022). Por lo

tanto, la mezcla entre cepas de bacterias lácticas nativas y comerciales representa una oportunidad promisoría para crear productos lácteos fermentados que sean auténticos y únicos, cumpliendo con las preferencias de los consumidores y generando una mayor aceptación en el mercado (Li et al., 2022a).

En resumen, esta investigación busca contribuir significativamente al campo de la industria láctica al proponer la utilización de cepas bacterianas específicas para mejorar las características organolépticas de los yogures naturales. Los beneficios potenciales incluyen la optimización de procesos productivos, la reducción de costos, y la creación de productos más atractivos y saludables para los consumidores, lo que impulsaría el crecimiento y la competitividad de la industria en su conjunto.

### **1.1 Objetivo general**

Determinar cepas de bacterias ácido lácticas nativas de Ecuador con potencial para mejorar las propiedades organolépticas del yogurt natural, para su posterior comparación con su homólogo comercial.

### **1.2 Objetivo específico**

- Obtener cultivos axénicos de bacterias ácido lácticas procedentes de diferentes zonas de Ecuador.
- Producir yogurt natural empleando cultivos axénicos de bacterias ácido lácticas nativas de Ecuador
- Identificar las diferencias organolépticas entre el yogurt natural obtenido en el presente estudio y el yogurt natural comercial.

- Determinar la cepa de bacterias ácido-lácticas con mayor capacidad de mejoramiento de las propiedades organolépticas del yogurt.

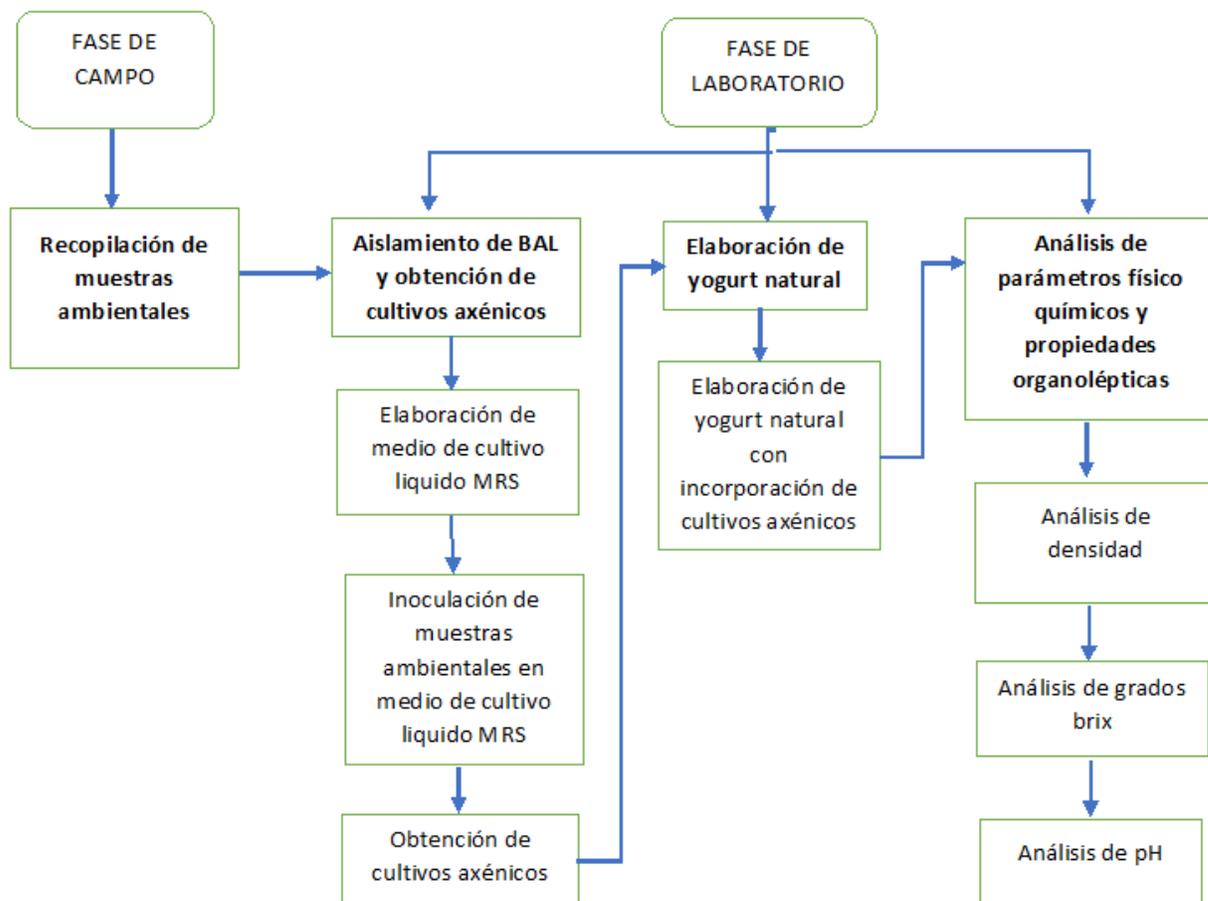
### **1.3 Hipótesis**

- H0 (Nula): El empleo de bacterias ácido lácticas nativas de Ecuador consigue propiedades organolépticas de yogurt natural similares a su homólogo comercial.
- H1 (Alternativa): El empleo de bacterias ácido lácticas nativas de Ecuador consigue propiedades organolépticas de yogurt natural diferentes a su homólogo comercial.

## **2. Metodología**

### **2.1 Diagrama de flujo de trabajo**

Esta investigación se realizó en dos fases, una de campo y otra de laboratorio. La fase de campo consistió básicamente en la toma de muestras ambientales, mientras la fase de laboratorio consistió en el aislamiento de bacterias ácido lácticas (BAL), obtención de cultivos axénicos, elaboración de yogurt con las cepas aisladas y el análisis de parámetros físico químicos y propiedades organolépticas (Figura 1)



*Figura 1. Diagrama de flujo de trabajo*

## 2.2 Fase de campo

### 2.2.1 Recopilación de muestras ambientales

Para la obtención de bacterias ácido-lácticas fueron recopiladas meticulosamente de diversas regiones y sectores de Ecuador, abarcando la Sierra, la Costa y el Oriente del país. La selección de los sectores en las diferentes regiones de Ecuador se fundamentó en la presencia de ganado dedicado a la industria láctea en estas áreas específicas. Las muestras recolectadas incluyeron hojas, agua, leche sin pasteurizar y queso, obtenidas de variadas ubicaciones. Para el

transporte de las muestras de agua y leche sin pasteurizar, se emplearon tubos de ensayo esterilizados, mientras que para las muestras de hojas y queso se utilizaron fundas de plástico ziploc y papel aluminio estéril.

Todas las muestras recolectadas se mantuvieron bajo congelación hasta su llegada al laboratorio de Microbiología de la Universidad Internacional SEK, garantizando así su integridad y preservación para el análisis subsiguiente. La Tabla 2 detalla exhaustivamente la procedencia de las 14 muestras recolectadas, especificando el lugar, sector, tipo de muestra, y el código correspondiente.

**Tabla 2**

*Tipo de muestras y el lugar de recolección.*

Sierra				
Numero	Lugar	Sector	Muestra	Código
1	Machachi		Hojas	L-1
2	Machachi	Aychapicho	Leche de vaca	L-2
3	Calacalí		Leche de vaca	L-3
4	Calacalí		Leche de vaca	L-4
5	Calacalí	El Refugio	Leche de vaca	L-5
6	Calacalí		Agua de montaña	L-6
7	Calacalí		Hojas	L-7
Costa				
Numero	Lugar	Sector	Muestra	Código
8	Portoviejo		Hojas de cacao	L-8
9	Portoviejo	Puente Mejía	Hojas de mango	L-9
10	Portoviejo		Agua de reservorio	L-10
11	Santo Domingo	El Rancho	Hojas	L-11
12	Manta	La Chacra	Queso manaba	L-12
13	Esmeraldas	Cascajal	Leche de vaca	L-13
Oriente				
Numero	Lugar	Sector	Muestra	Código
14	Shushufindi	Limoncocha	Agua de Laguna	L-14

## **2.3 Aislamiento de bacterias ácido lácticas y obtención de cultivos axénicos**

### **2.3.1 Elaboración de medio de cultivo líquido MRS**

Se utilizó el medio de cultivo líquido MRS (Man, Rosa y Sharpe) para realizar el aislamiento de las bacterias lácticas. Este medio se compone de dextrosa (20 g/L), extracto de levadura (5 g/L), proteasa peptona (10 g/L), sulfato de magnesio (0,1 g/L), sulfato de manganeso (0,05 g/L), fosfato dipotásico (2 g/L), Tween 80 (1 mL/L), acetato de sodio (5 g/L) y citrato de amonio (2 g/L), con un pH de 6,2 (Dishisha et al., 2014).

### **2.3.2 Inoculación de muestras ambientales en medio de cultivo líquido MRS**

Se recolectaron muestras de diversas regiones de Ecuador, las cuales fueron clasificadas en muestras sólidas y líquidas. Para las muestras sólidas, como hojas y queso, se procedió a pesar 0,5 g; mientras que, para las muestras líquidas, como agua y leche sin pasteurizar, se midió un volumen de 10 mL. Posteriormente, las catorce muestras fueron colocadas en matraces estériles de 250 mL, cada uno rotulado con el código de muestra que se encuentra en la tabla 1. En total, se prepararon catorce matraces, los cuales fueron aforados con 250 mL de medio MRS y sellados con corchos para crear un ambiente anaerobio. Estos catorce matraces se incubaron durante 72 horas a una temperatura de 30 °C (Mohamad et al., 2020). Una vez terminada el periodo de incubación de los matraces, se procedió a descartar los matraces que generaban malos olores.

### **2.3.3 Obtención de cultivos axénicos de bacterias ácido láctico**

Para obtener cultivos axénicos de bacterias ácido-lácticas, se realizó la inoculación de estas bacterias, provenientes de los matraces, en cajas Petri conteniendo medio MRS agar. Posteriormente, se incubaron durante 72 h a 30 ° C (Mohamad et al., 2020). Al concluir la incubación, se seleccionaron los cultivos de Leche de Calacali (L3), Leche de Calacali (L5), agua

del reservorio Portoviejo (L10), hojas de Santo Domingo (L11), queso de Manta (L12) y leche de Esmeraldas (L13), debido a que presentaban aromas similares a productos lácteos como el yogurt. Esta similitud se atribuye a la diversidad de componentes aromáticos generados por las distintas cepas de bacterias ácido-lácticas (Krastanov et al., 2023).

Para la identificación de BAL una vez terminado el periodo de incubación de las cajas Petri seleccionadas para el estudio, se llevó a cabo una tinción de Gram. Se recolectó 1 colonia de las cajas de Petri al azar y se colocó en un portaobjetos. Primero, se emplearon gotas de cristales violetas, dejándolas reposar durante un minuto. Después, se llevó a cabo un lavado con agua destilada y se secó la muestra. Acto seguido, se utilizaron gotas de yodo por un minuto, seguido de un enjuague con agua destilada y otro secado. A continuación, se agregaron gotas de etanol durante 20 segundos, seguidas de una gota de safranina que se dejó actuar durante 30 segundos. Tras completar el proceso de enjuague y secado, se procedió a la observación de la forma de las bacterias bajo el microscopio (Abdullah et al., 2021).

Después de la identificación microscópica de BAL se procedió a elegir las colonias más aisladas posible de las cajas Petri de los cultivos seleccionados (Wu et al., 2022). Cada colonia seleccionada se inoculó en un tubo de ensayo estéril con medio de cultivo líquido MRS. Los tubos de ensayo inoculados se etiquetaron de acuerdo con el código de procedencia de la muestra siguiendo las indicaciones presentadas en la tabla 1 y se registró el número de colonia. Posteriormente se incubaron los tubos de ensayo a 30 °C por 72 horas.

Para preservar las colonias puras, una vez finalizado el periodo de incubación de 72 horas a 30 °C, se empleó un asa microbiológica para transferirlas desde los tubos de ensayo a tubos Eppendorf que incluían una solución compuesta por 900 µL de medio de cultivo MRS y 100 µL de glicerol. Posteriormente, se procedió a congelarlos a -4 °C.

### 2.3.4 Estándares de McFarland

Los estándares de turbidez de McFarland se emplearon para determinar la concentración del cultivo axénico de bacterias ácido-lácticas, lo cual es un dato crucial para calcular el volumen de inoculación necesario en la producción de yogurt natural. Para utilizar los estándares de McFarland, se reactivaron inicialmente los cultivos axénicos almacenados a  $-4^{\circ}\text{C}$ . Esta reactivación se llevó a cabo utilizando tubos de ensayo estériles que contenían 10 mL de medio MRS, a los cuales se les añadieron 750  $\mu\text{L}$  de los cultivos axénicos almacenados. Una vez inoculados, los tubos de ensayo se incubaron a  $30^{\circ}\text{C}$  durante 72 horas (Tavakoli et al., 2019). Finalizada la incubación, se realizaron diluciones para cada cultivo axénico activado, llevándose a cabo diluciones de 1:2, 1:4, 1:6, 1:10, 1:15 y 1:25 en 1  $\text{cm}^3$  en tubos de ensayo. Las diluciones de los cultivos axénicos fueron evaluadas visualmente con respecto a los estándares de turbidez de McFarland para establecer una correlación con la cantidad de células de acuerdo con cada estándar utilizado (Fiallos, 2017). Una vez determinada la concentración de células de los cultivos axénicos, se procedió a utilizar la siguiente ecuación para calcular el volumen del inóculo de cultivo axénico a emplear en la elaboración del yogurt natural (Bustos, 2017).

Ecuación 1

$$C_{mo} * V_o = C_{mf} * V_f \text{ (Bustos, 2017).}$$

**C<sub>mo</sub>**: Es la concentración inicial del inóculo en unidades de UFC/mL

**V<sub>o</sub>**: Es el volumen de inóculo para la incubación

**C<sub>mf</sub>**: Es la concentración final deseada del inóculo en unidades de UFC/mL

**V<sub>f</sub>**: Es el volumen del medio de cultivo al que se va a inocular

Por lo tanto, los datos y la ecuación 1 para determinar el volumen del inóculo del cultivo axénico necesario para la elaboración de yogurt quedan de la siguiente manera:

Fd= Factor de dilución

Cmo: Concentración del cultivo axenico  $\frac{\text{UFC Mcfarland}}{\text{mL}} * \text{Fd}$  (Andrade, 2023)

Vo: Volumen de inculo para la incubación (Lo que se desea obtener)

Cmf:  $\frac{1*10^8 \text{ UFC}}{\text{mL leche}}$  (Andrade, 2023)

Vf: 200 mL de leche

Ecuación 2 (La ecuación 2 se obtiene al despejar Vo de la ecuación 1)

$$V_o = \frac{C_{mf} * V_f}{C_{mo}} * 1000 \text{ (Bustos, 2017).}$$

## **2.4 Elaboración de yogurt natural con incorporación de cultivos axénicos de bacterias ácido lácticas.**

### **2.4.1 Proceso de elaboración de yogurt natural con bacterias ácido lácticas**

Se utilizó leche de vaca comercial pasteurizada, la cual se sometió a un calentamiento en una plancha calefactora hasta alcanzar los 95°C, y luego se procedió a enfriarla hasta llegar a los 40°C (Kiliç et al., 2022b). Una vez la leche llegó a los 40 °C, se procedió a transferir cada cultivo axénico de BAL a recipientes plásticos de 200 ml, los cuales habían sido previamente esterilizados bajo luz UV durante 20 minutos. Después de agregar los cultivos axénicos de BAL, se incorporaron 200 mL de leche a cada vaso y se procedió a mezclar. Los vasos fueron incubados a 40 °C hasta lograr la fermentación deseada. Para determinar la finalización de la fermentación, se verificó la textura, asegurándose de que fuera más densa y firme. Una vez completada la

fermentación, se procedió a mezclar y luego se almacenó en el refrigerador a 4 °C durante 12 horas para posteriormente realizar los análisis de los parámetros fisicoquímicos (Li et al., 2022a).

En la Tabla 3 se especifica la cantidad precisa de volumen de cultivos axénicos en microlitros de BAL con medio MRS que se emplearon para cada 200 mL de leche. Este procedimiento se llevó a cabo en tres repeticiones para cada cultivo axénico de BAL, totalizando 30 yogures naturales.

**Tabla 3**

*Cantidad de (mL) de cultivo axénico de BAL para la elaboración de 200 mL de yogurt natural.*

Cultivos axénicos de BAL	Volumen en mL de cultivo axénico de BAL		
	Replica 1	Replica 2	Replica 3
L3-5	2.22	2.22	2.22
L3-9	1.33	1.33	1.33
L3-11	2.22	2.22	2.22
L3-15	2.22	2.22	2.22
L5-3	1.67	1.67	1.67
L5-4	2.22	2.22	2.22
L10-6	3.33	3.33	3.33
L11-12	1.33	1.33	1.33
L12	1.33	1.33	1.33
L13	3.33	3.33	3.33

Se seleccionaron tres yogures naturales comerciales con y sin contenido de carragenina, como se detalla en la Tabla 4, para realizar la comparación de propiedades fisicoquímicas con los yogures naturales elaborados con cultivos axénicos nativos.

**Tabla 4**

*Yogures comerciales con aditivo alimentario y sin aditivo alimentario*

Yogures comerciales	Aditivo alimentario
Cepa comercial 1	Carragenina
Cepa comercial 2	Carragenina
Cepa comercial 3	Sin aditivo

## **2.5 Análisis de propiedades organolépticas**

Para determinar la posible mejora de las propiedades organolépticas de los yogures naturales, se evaluaron los parámetros fisicoquímicos como el pH, los grados Brix y la densidad. Estos parámetros fueron analizados debido a su influencia directa en las propiedades organolépticas de los alimentos (Vásquez Castillo, 2017). Cada uno de los 30 yogures con cultivos axénicos fue medido cuatro veces en relación con cada parámetro fisicoquímico, lo que resultó en un total de 12 mediciones por parámetro fisicoquímico para cada cultivo axénico BAL. En el caso de los yogures comerciales, cada muestra fue evaluada 12 veces para cada parámetro fisicoquímico.

### **2.5.1 Análisis de pH y grados brix**

Se midió el pH de los yogures a una temperatura de 20 °C utilizando un medidor de pH Orion Star A111 de Thermo Scientific, el cual fue calibrado previamente. El porcentaje de grados Brix de los yogures se midió a una temperatura de 20 °C utilizando un Refractómetro 30GS de Mettler Toledo.

### **2.5.2 Análisis de densidad**

La densidad del yogurt se determinó dividiendo la masa del yogurt en gramos entre los 50 mL de yogurt utilizados (Gupta et al., 2022). Para calcular la masa del yogurt, se empleó una balanza analítica. Se pesó un vaso precipitado de 100 mL inicialmente vacío, y posteriormente, se volvió a pesar el mismo vaso con 50 mL de yogurt a una temperatura de 20 °C. Una vez registrados ambos pesos, se restó el valor del vaso con los 50 mL de yogurt al valor del vaso vacío para obtener la masa del yogurt.

## **2.6 Análisis de estadístico**

El análisis estadístico se realizó empleando Infostat, un software especializado en análisis estadístico reconocido por su precisión y confiabilidad (Di Rienzo et al., 2020). Utilizamos este software para llevar a cabo un análisis de la varianza (ANOVA) y el test de Duncan, con un nivel de confianza del 95%. El objetivo fue contrastar las medias de los diferentes parámetros fisicoquímicos medidos en los yogures, con el fin de identificar posibles diferencias significativas entre estos conjuntos de datos, según lo descrito por DeJarnette & Mamidala (2023).

## **3. Resultados**

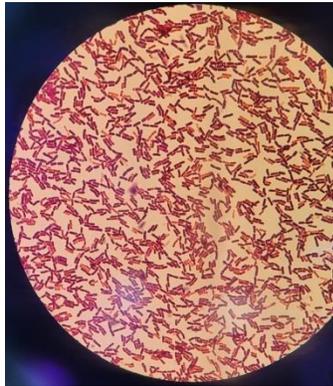
### **3.1 Obtener cultivos axénicos de bacterias ácido lácticas procedentes de diferentes zonas de Ecuador.**

Tras examinar las muestras recolectadas de diferentes áreas de Ecuador, las cuales proceden de hojas, leche de vaca no pasteurizada, queso, agua de montaña y reservorio; se detectaron matraces con indicios de contaminación durante el proceso de incubación. Estos matraces emitían olores intensos de descomposición, lo que llevó al descarte de los cultivos obtenidos de: leche de vaca de Machachi, hojas de Calacalí, y agua de Limoncocha.

Los cultivos seleccionados para el estudio fueron: Leche de Calacalí (L3), Leche de Calacali (L5), agua del reservorio Portoviejo (L10), hojas de Santo Domingo (L11), queso de Manta (L12) y leche de Esmeraldas (L13) debido a que presentaban aromas similares a productos lácteos como el yogurt. Esta similitud se atribuye a la diversidad de componentes aromáticos generados por las distintas cepas de bacterias ácido-lácticas (Krastanov et al., 2023).

### 3.1.1 Identificación microscópica de BAL

En la imagen 1 se observa bacilos Gram positivos lo que indica que son bacterias ácido lácticas, este resultado se obtuvo utilizando el método de tinción gram analizado en un microscopio óptico en un lente de 100X con aceite de inmersión.



**Imagen 1.** *Colonia pura de cultivo de leche de Esmeraldas.*

## 3.2 Análisis de propiedades organolépticas

### 3.2.1 Fermentación

El tiempo de fermentación de la leche varió dependiendo de cada cepa. La cepa con fermentación más rápida fue L5-4, con un día de fermentación, mientras que L10-6 fermentó la leche en 6 días, siendo así la cepa con la fermentación más lenta. Los tiempos de fermentación de las diferentes cepas, se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5**

*Tiempo de fermentación en días de las diferentes cepas nativa*

	<b>Fermentación</b>									
<b>Cepas</b>	L3-5	L3-9	L3-11	L3-15	L5-3	L5-4	L10-6	L11-12	L12	L13
<b>Días</b>	4	2	4	5	1	3	6	3	3	3

### 3.2.2 Análisis de pH

Se midió el pH de los yogures elaborados con las diez cepas nativas, más tres yogures elaborados con cepas comerciales. Estas mediciones se realizaron con doce repeticiones, las cuales se observan en la Tabla 6.

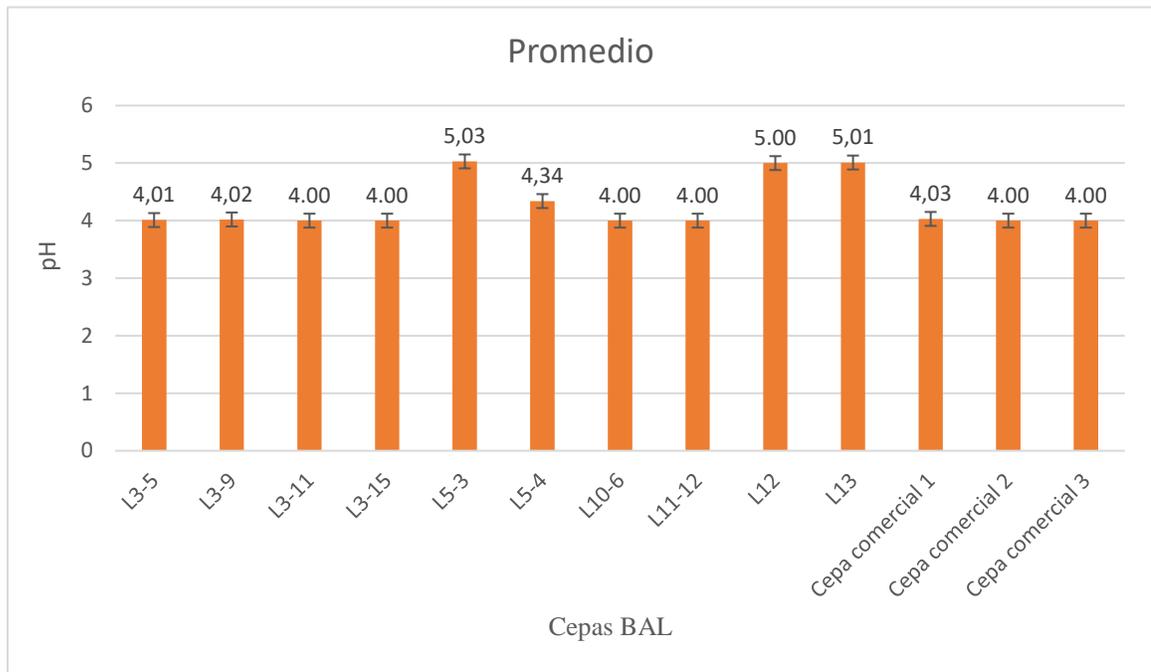
**Tabla 6**

*Resultados del pH de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales*

N° de mediciones	pH												
	L3-5	L3-9	L3-11	L3-15	L5-3	L5-4	L10-6	L11-12	L12	L13	Cepa comercial 1	Cepa comercial 2	Cepa comercial 3
1	4.00	4.01	4.00	4.00	5.00	4.36	4.00	4.00	4.00	5.00	3.85	4.00	4.00
2	4.00	4.01	4.00	4.00	5.03	4.38	4.00	4.00	4.00	5.00	3.93	4.00	4.00
3	4.00	4.01	4.00	4.00	5.00	4.32	4.00	4.00	4.00	5.00	4.00	4.00	4.00
4	4.00	4.01	4.00	4.00	5.00	4.32	4.00	4.00	4.00	5.00	4.02	4.00	4.00
5	4.00	4.01	4.00	4.00	5.00	4.32	4.00	4.00	4.00	5.00	4.02	4.00	4.00
6	4.01	4.01	4.00	4.00	5.04	4.32	4.00	4.00	4.00	5.01	4.00	4.00	4.00
7	4.01	4.02	4.00	4.00	5.04	4.3	4.00	4.00	4.00	5.01	4.10	4.00	4.00
8	4.01	4.02	4.00	4.00	5.04	4.3	4.00	4.00	4.00	5.01	4.10	4.00	4.00
9	4.01	4.02	4.00	4.01	5.04	4.3	4.00	4.00	4.00	5.02	3.98	4.00	4.00
10	4.01	4.02	4.00	4.01	5.04	4.3	4.00	4.00	4.00	5.02	4.10	4.00	4.00
11	4.01	4.02	4.00	4.01	5.04	4.3	4.00	4.00	4.00	5.02	4.10	4.00	4.00
12	4.01	4.03	4.00	4.01	5.05	4.3	4.00	4.00	4.00	5.02	4.10	4.00	4.00

En la Figura 2 se muestran los resultados del análisis del pH de los yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales, en esta figura se observa que el promedio más alto del pH se encuentra en el yogurt natural elaborado con la cepa nativa L5-3, con un pH de 5.03. Por otro lado, los promedios más bajos de pH se registran en las cepas L3-11, L3-15, L10-6, L11-12, así como en las cepas comerciales 2 y 3, todas presentando un pH de 4.00.

**Figura 2.** Gráfica de los promedios de pH de yogures naturales elaborados con cepas nativa y comerciales



### 3.2.3 Análisis de Grados Brix

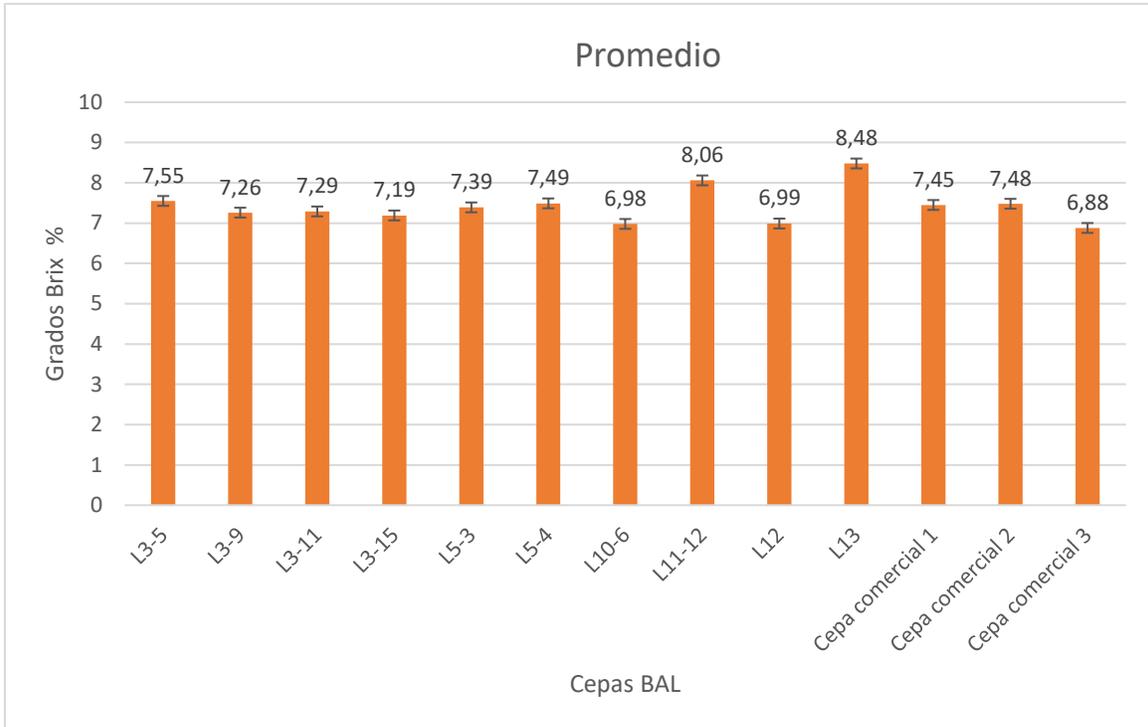
En la Tabla 7, se observan los resultados de las 12 mediciones de porcentaje de Grados Brix de cada yogurt natural elaborado con cepas nativas, más tres yogures elaborados con cepas comerciales.

**Tabla 7**

*Resultados de Grados Brix de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales*

N° de mediciones	Grados Brix %												
	L3-5	L3-9	L3-11	L3-15	L5-3	L5-4	L10-6	L11-12	L12	L13	Cepa comercial 1	Cepa comercial 2	Cepa comercial 3
1	7.7	7.3	7.4	7.2	7.4	7.5	7.0	8.0	7.2	8.7	7.4	7.3	7.0
2	7.4	7.2	7.4	7.2	7.2	7.3	6.9	8.0	7.0	8.7	8.3	7.2	7.0
3	7.1	7.3	7.3	7.3	7.2	7.4	6.8	8.3	7.1	8.6	7.4	7.4	6.6
4	7.6	7.4	7.3	7.0	7.4	7.5	7.0	7.8	7.2	8.0	7.3	7.5	6.6
5	7.7	7.4	7.3	7.2	8.2	7.6	7.4	8.2	7.0	8.5	7.8	7.6	7.0
6	7.7	7.3	7.4	7.0	7.4	7.4	7.0	8.0	7.0	8.2	7.2	7.6	7.3
7	7.1	7.2	7.4	7.0	8.0	7.4	7.1	7.9	6.8	8.7	7.4	8.0	6.6
8	7.4	7.3	7.1	7.2	7.2	7.6	6.7	8.0	7.0	8.0	7.5	7.6	6.6
9	7.8	7.0	7.3	7.4	7.1	7.6	7.0	8.3	7.0	8.5	7.4	7.6	6.6
10	7.8	7.2	7.4	7.2	7.2	7.4	6.8	8.2	7.0	8.7	7.2	7.5	7.3
11	7.7	7.2	7.2	7.3	7.2	7.7	7.0	8.0	6.8	8.4	7.3	7.2	7.3
12	7.6	7.3	7	7.3	7.2	7.5	7.0	8.0	6.8	8.7	7.2	7.2	6.6

Los resultados de los promedios de las 12 mediciones de porcentaje de Grados Brix de cada yogurt natural elaborados con cepas nativas y comerciales se puede observar en la Figura 3, y podemos observar que el yogurt natural con el promedio más alto de porcentaje de Grados Brix es el de la cepa nativa L13 con un % de Grados Brix de 8.48, y el promedio más bajo de porcentaje de Grados Brix es del yogurt natural elaborado con la cepa comercial 3 con un % de grados Brix de 6.88.



**Figura 3.** Gráfica d los promedios de % Grados Brix de yogures naturales elaborados con cepas nativa y comerciales

### 3.2.4 Análisis de densidad

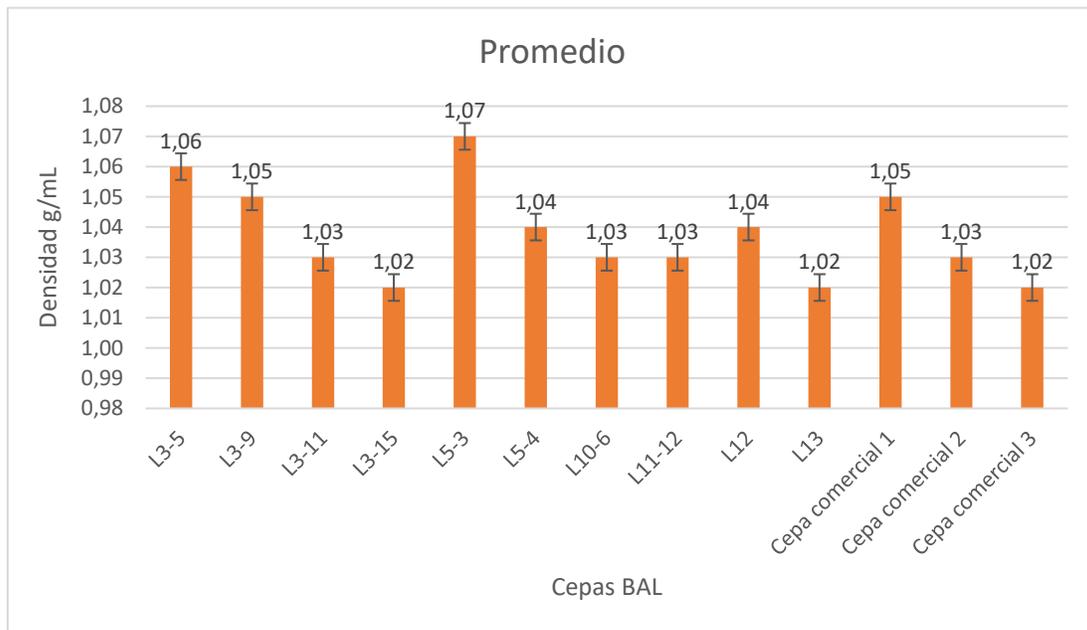
En la Tabla 8, se observan los resultados de las 12 mediciones de la densidad de cada yogurt natural elaborados con cepas nativas, más tres yogures elaborados con cepas comerciales.

**Tabla 8**

*Resultados de la densidad de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales.*

Numero de mediciones	Densidad g/mL												
	L3-5	L3-9	L3-11	L3-15	L5-3	L5-4	L10-6	L11-12	L12	L13	Cepa comercial 1	Cepa comercial 2	Cepa comercial 3
1	1.055	1.076	1.025	1.017	1.072	1.048	1.025	1.020	1.050	1.025	1.064	1.026	1.044
2	1.064	1.058	1.020	1.047	1.065	1.045	1.021	1.020	1.045	1.031	1.047	1.038	1.018
3	1.064	1.055	1.026	1.041	1.072	1.048	1.020	1.026	1.042	1.024	1.052	1.033	1.015
4	1.066	1.055	1.028	1.030	1.068	1.037	1.026	1.040	1.064	1.016	1.059	1.034	1.022
5	1.057	1.055	1.023	1.031	1.068	1.040	1.027	1.024	1.045	1.020	1.052	1.040	1.024
6	1.057	1.042	1.032	1.023	1.065	1.039	1.024	1.027	1.041	1.026	1.049	1.021	1.037
7	1.052	1.050	1.033	1.016	1.072	1.033	1.036	1.026	1.040	1.000	1.059	1.029	1.019
8	1.063	1.049	1.038	1.012	1.062	1.019	1.037	1.028	1.011	1.028	1.052	1.033	1.015
9	1.064	1.060	1.025	1.020	1.071	1.045	1.022	1.023	1.049	1.037	1.041	1.036	1.025
10	1.060	1.056	1.027	1.027	1.076	1.052	1.033	1.024	1.044	1.014	1.045	1.029	1.027
11	1.058	1.049	1.027	1.019	1.066	1.029	1.017	1.043	1.035	1.019	1.051	1.028	1.017
12	1.056	1.052	1.022	1.015	1.072	1.042	1.035	1.051	1.036	1.028	1.047	1.027	1.015

Los resultados de los promedios de las 12 mediciones de la densidad de los yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales se muestra en la figura 4 , los resultados mostraron que el yogurt natural con mayor densidad fue el yogurt elaborado con cepa L5-3 con 1,07 g/mL de densidad, seguido del yogurt natural elaborado con la cepa L3-5 con una densidad de 1,06 g/mL, mientras que el yogurt natural con densidad más baja fue el de la cepa nativa L3-15 , L13 y cepa comercial 3 con densidad de 1,02 g/mL.



**Figura 4.** Gráfica de los promedios de la densidad g/mL de yogures naturales elaborados con cepas nativa y comerciales.

### 3.3 Análisis estadístico

Los resultados del análisis estadístico se obtuvieron mediante el uso de un ANOVA y test de Duncan utilizando el 95 % de confianza y se realizó en Infostat (Di Rienzo J.A et al.,2020) para cada parámetro fisicoquímico, empleando los datos de los análisis de los parámetros fisicoquímicos de yogures elaborados con cepas nativas y comparándolos con los resultados obtenidos de cepas comerciales. El propósito fue determinar si existe una diferencia significativa entre las cepas nativas y comerciales, con el objetivo de identificar posibles variaciones

organolépticas entre el yogurt natural producido en este estudio y el yogurt natural disponible comercialmente.

### 3.3.1 pH

En el ANOVA se puede observar que el p-valor es  $< 0.001$  lo que significa que existe diferencias significativas con respecto al pH de las cepas nativas y comerciales.

Análisis de la Varianza de pH de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH	156	1.00	1.00	0.57

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	27.43	12	2.29	3927.72	<0.0001
Cepas	27.43	12	2.29	3927.72	<0.0001
Error	0.08	143	5.8E-04		
Total	27.51	155			

#### **Ilustración 1.** *Análisis de la Varianza de pH de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales.*

En el test de Duncan, se observan diferencias entre las medias de las cepas nativas y comerciales. Es notable que las cepas que comparten letras no presentan diferencias significativas, mientras que aquellas que no comparten letras sí muestran diferencias significativas. Entre las cepas nativas y comerciales, se destacan aquellas con mayores diferencias significativas, como la cepa L3-5 con un pH de 5.03 y la cepa L13 con un pH de 5.01, las cuales comparten la letra A. Esto indica que no hay una diferencia significativa entre esas dos cepas, pero sí la hay con el resto de las cepas nativas y comerciales. En segundo lugar, se encuentra la cepa L12 con un pH de 5.00, que comparte la letra B con la cepa L13, lo que indica que entre esas dos cepas no hay diferencias significativas, pero sí las hay con las demás. La cepa L5-4 con un pH de 4.34 es la que tiene una

diferencia más significativa con respecto a las demás cepas, ya que no comparte letra con ninguna otra.

Test:Duncan Alfa=0.05  
Error: 0.0006 gl: 143

Cepas	Medias	n	E.E.		
L5-3.	5.03	12	0.01	A	
L13.	5.01	12	0.01	A	B
L12.	5.00	12	0.01		B
L5-4.	4.34	12	0.01		C
Cepa Comercial 1	4.03	12	0.01		D
L3-9.	4.02	12	0.01		D E
L3-5.	4.01	12	0.01		D E
L3-15.	4.00	12	0.01		E
Cepa Comercial 3	4.00	12	0.01		E
L10-6.	4.00	12	0.01		E
L11-12.	4.00	12	0.01		E
Cepa Comercial 2	4.00	12	0.01		E
L3-11.	4.00	12	0.01		E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Ilustración 2.** Test de Duncan de pH de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales.

### 3.3.2 Grados Brix

Al analizar el porcentaje de grados Brix en el ANOVA, se observa que el valor p es < 0.001, lo cual indica la presencia de diferencias significativas en relación con el porcentaje de grados Brix entre las cepas nativas y comerciales.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Grados Brix	156	0.80	0.78	2.98

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	27.85	12	2.32	47.31	<0.0001
Cepa	27.85	12	2.32	47.31	<0.0001
Error	7.01	143	0.05		
Total	34.86	155			

**Ilustración 3.** Análisis de la Varianza de Grados Brix de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales.

En el test de Duncan, se pueden observar las diferencias entre las medias de las cepas nativas y comerciales. Es evidente que las cepas que comparten letras no presentan diferencias significativas, mientras que aquellas que no comparten letras sí muestran diferencias notables. Destacan especialmente las cepas L13 con un 8.48% y L11-12 con un 8.06% de grados Brix, ya que poseen el mayor porcentaje de grados Brix en comparación con el resto de las cepas nativas y comerciales.

Test:Duncan Alfa=0.05  
 Error: 0.0491 gl: 143

Cepa	Medias	n	E.E.	
L13.	8.48	12	0.06	A
L11-12.	8.06	12	0.06	B
L3-5.	7.55	12	0.06	C
L5-4.	7.49	12	0.06	C
Cepa Comercial 2	7.48	12	0.06	C D
Cepa Comercial 1	7.45	12	0.06	C D E
L5-3.	7.39	12	0.06	C D E
L3-11.	7.29	12	0.06	D E F
L3-9.	7.26	12	0.06	E F
L3-15.	7.19	12	0.06	F
L12.	6.99	12	0.06	G
L10-6.	6.98	12	0.06	G
Cepa Comercial 3	6.88	12	0.06	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**Ilustración 4.** Test de Duncan de Grados Brix de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales.

### 3.3.3 Densidad

Al analizar la densidad (g/mL) en el ANOVA, se observa que el valor p es < 0.001, lo cual indica la presencia de diferencias significativas en relación con el porcentaje de grados Brix entre las cepas nativas y comerciales.

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Densidad (g/ml)	156	0.79	0.77	0.79

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.03	12	2.9E-03	43.52	<0.0001
Cepas	0.03	12	2.9E-03	43.52	<0.0001
Error	0.01	143	6.7E-05		
Total	0.04	155			

**Ilustración 5.** *Análisis de la Varianza de densidad de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales.*

En el test de Duncan, se pueden apreciar las diferencias entre las medias de las cepas nativas y comerciales. Se destaca que las cepas que comparten letras no presentan diferencias significativas, mientras que aquellas que no comparten letras sí muestran diferencias notables. La cepa con la mayor diferencia significativa entre todas es la L5-3, con una densidad de 1.07 g/mL, siendo así la de mayor densidad en comparación con las demás cepas nativas y comerciales. Posteriormente, se encuentran la cepa L3-5 con 1.06 g/mL y la L3-9 con 1.05 g/mL, las cuales comparten la letra B. Esto indica que entre ellas no existe una diferencia significativa, pero sí la hay con el resto de las cepas.

Test:Duncan Alfa=0.05  
 Error: 0.0001 gl: 143

Cepas	Medias	n	E.E.			
L5-3.	1.07	12	2.4E-03	A		
L3-5.	1.06	12	2.4E-03		B	
L3-9.	1.05	12	2.4E-03		B	C
Cepa Comercial 1	1.05	12	2.4E-03			C
L12.	1.04	12	2.4E-03			D
L5-4.	1.04	12	2.4E-03			D
Cepa Comercial 2	1.03	12	2.4E-03			E
L11-12.	1.03	12	2.4E-03		E	F
L3-11.	1.03	12	2.4E-03		E	F
L10-6.	1.03	12	2.4E-03		E	F
L3-15.	1.02	12	2.4E-03		E	F
Cepa Comercial 3	1.02	12	2.4E-03			F
L13.	1.02	12	2.4E-03			F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**Ilustración 6.** Test de Duncan de densidad de yogures naturales elaborados con cepas nativas y comerciales.

#### 4. Discusión de Resultados

En relación con los olores desagradables detectados en los matraces descartados, incluyendo la muestra de hojas de la Laguna de Limoncocha y hojas de Calacalí, dichos olores podrían atribuirse a la presencia de bacterias ácido-lácticas Gram-positivas, pertenecientes a la familia *Lactobacillaceae*, específicamente *Pediococcus spp* (Andrade, 2023). Este fenómeno se explica por la capacidad de la bacteria *Pediococcus spp* para generar ácido láctico durante el proceso de fermentación, acompañado de la producción de diacetilo, un compuesto natural que, en altas concentraciones, produce olores intensos que recuerdan a la putrefacción y agua estancada (Andrade, 2023).

Los resultados del tiempo de fermentación podemos resaltar a la cepa nativa L5-3 con un tiempo de fermentación de 1 día, siendo así la cepa con la fermentación más rápida, por lo que esta cepa es una buena candidata para usarse en un cultivo iniciador para yogurt natural. Cabe destacar que la fermentación mixta con los dos microorganismos le da al yogurt buenas propiedades de textura. Además, la producción de metabolitos como aminoácidos y péptidos cortos contribuye a

la formación de sustancias aromáticas en el yogurt (Dan et al., 2023b). Teniendo en cuenta esta información se podría resaltar que los resultados de L5-3 son muy buenos ya que solo se usó una cepa axénica para la fermentación sin combinación de ninguna más.

En los resultados obtenidos del ANOVA de la comparación de pH, se obtuvo un valor de  $p < 0.001$ , esto indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre el pH de los yogures fermentados con cepas nativas en comparación con el pH de los yogures fermentados con cepas comerciales.

Schimidt et al. (2012) señalan que el rango de pH más adecuado para la elaboración de yogurt a partir de leche de vaca es de 4,0 a 4,4. Este intervalo específico de pH se enfatiza como crucial para prevenir la aparición de sabores excesivamente amargos o agrios en el producto final.

Según la información proporcionada por HANNA INSTRUMENTS en 2015, se establece que el pH óptimo se sitúa entre 4,0 y 4,6. En este intervalo, la cantidad de ácido láctico presente es considerada ideal para la producción de yogurt, ya que aporta la acidez característica, contribuye al espesamiento y actúa como conservante contra cepas de bacterias no deseadas.

Considerando esta información, y teniendo en cuenta los resultados del test de Duncan de pH, se resalta que la cepa con el pH óptimo es la cepa nativa L5-4, con un pH de 4,34, ya que se sitúa en el rango de 4,0 a 4,6. Esto implica que el yogurt natural elaborado con esta cepa no presentará un sabor excesivamente amargo o agrio, además de que ejerce funciones como conservante contra cepas de bacterias no deseadas. Por otro lado, las cepas nativas que registraron un pH superior a 4,6 no tendrían la misma eficacia como conservante contra bacterias no deseadas. Es relevante destacar que la cepa nativa L5-4 exhibe el pH más idóneo en comparación con las

cepas comerciales y otras cepas nativas, lo que la posiciona como la más adecuada en términos de estabilidad y eficacia en la elaboración de yogurt.

El ANOVA de los porcentajes de grados Brix arrojó un valor de  $p < 0.001$ , en ese sentido se puede destacar que si existe una diferencia significativa del porcentaje de grados Brix de las cepas nativas en comparación con el porcentaje de grados Brix de las cepas comerciales, En relación con los resultados de test de Duncan del porcentaje de Grados Brix de los yogures naturales de cepas nativas y comerciales, destaca el yogurt natural de la cepa nativa L13, que presenta un 8.48% de Grados Brix, posicionándose como la cepa con el mayor porcentaje. De manera similar, el yogurt natural de la cepa nativa L11-12 exhibe un notable 8.06% de Grados Brix, situándose como otra cepa con un porcentaje significativamente superior al de las cepas comerciales y otras cepas nativas. Por lo que los yogures naturales elaborados con la cepa L13 y L11-12 presentaron un sabor más dulce que el resto de cepas, ya que la característica fisicoquímica de los grados Brix está relacionada con la sensación dulce (García-Mogollon et al., 2015).

En el resultado del ANOVA de la densidad de los yogures naturales se puede destacar que si existe una diferencia significativa de la densidad de las cepas nativas con la densidad de las cepas comerciales (medidas en g/mL), ya que el valor de  $p$  obtenido fue  $< 0.001$ .

En el análisis del test de Duncan sobre la densidad de los yogures naturales de cepas comerciales y nativas, se destaca que el yogurt natural elaborado con la cepa nativa L5-3 exhibe una densidad de 1.07 g/mL, posicionándose como el yogurt con mayor densidad en comparación con los demás yogures elaborados con cepas comerciales y nativas. De manera similar, los yogures naturales elaborados con las cepas L3-5 y L3-9 presentaron densidades de 1.6 g/mL y 1.05 g/mL, respetivamente, superando en este parámetro a los yogures naturales de las cepas comerciales. Aunque L3-5 y L3-9 no presentan diferencias significativas entre sí, los yogures elaborados con

estas cepas, sí muestran diferencias significativas con respecto al resto de cepas comerciales y nativas. Los términos que se usan para describir la textura de los alimentos están directamente relacionados con la densidad, viscosidad, tensión superficial, y otras propiedades físicas de un producto alimenticio en particular(Alemu, 2022).

Investigaciones revelaron que la densidad impacta significativamente en la percepción dinámica de la textura (Devezeaux de Lavergne et al., 2017) (Pereira et al., 2021). Según lo expuesto por Gupta y colaboradores en el año 2022, los consumidores experimentan un mayor disfrute al saborear un yogurt que exhibe una consistencia firme y una textura densa (Gupta et al., 2022).

Considerando que los yogures elaborados con la cepa L5-3, obtuvieron una mayor densidad en comparación con el resto de cepas nativas y comerciales, esta cepa puede ser una buena candidata para mejorar la textura del yogurt natural y reemplazar la carragenina como aditivo alimentario que se usa en la industria láctea para espesar los yogures. Se han reportado estudios similares, en donde se utilizan otras especies de bacterias ácido-lácticas para mejorar la textura del yogurt, como lo reportado por Linares y colaboradores en el 2016, quienes indican que el exopolisacárido (EPS) producido por *Streptococcus thermophilus* es capaz de reemplazar los estabilizadores químicos o la grasa de la leche para brindar efectos reológicos, sensación en la boca y cremosidad considerables al yogurt comercial (Linares et al., 2016).

Con los resultados de los análisis estadísticos se da por cumplido el objetivo de la investigación el cual era determinar cepas de bacterias ácido lácticas nativas de Ecuador con potencial para mejorar las propiedades organolépticas del yogurt natural, para su posterior comparación con su homólogo comercial.

De igual forma se da por aceptada la hipótesis alternativa, que sostiene que el empleo de bacterias ácido lácticas nativas de Ecuador consigue propiedades organolépticas de yogurt natural diferentes a su homólogo comercial.

## **5. Conclusiones:**

Las cepas nativas de Bacterias Ácido-lácticas (BAL) con mayor potencial para su aplicación en la industria láctea, específicamente en la elaboración de yogurt natural, son las cepas L5-4, L5-3 y L13. La cepa L5-4 destacó al alcanzar un pH de 4.34, posicionándose como la cepa con el pH óptimo en comparación con las cepas comerciales.

Por otro lado, la cepa L5-3 demostró una fermentación más rápida en comparación con las demás cepas nativas, además de obtener una mayor densidad que las cepas comerciales, lo que la convierte en una excelente opción para sustituir aditivos alimentarios como la carragenina en los yogures comerciales, contribuyendo así a la obtención de yogures naturales más saludables.

Adicionalmente, la cepa L13 sobresalió al presentar un porcentaje superior de grados Brix en comparación con el resto de las cepas comerciales y nativas, lo que la posiciona como una candidata ideal para la elaboración de yogures naturales con un perfil más dulce.

En conjunto, las cepas L5-4, L5-3 y L13, originarias de Ecuador, exhiben un gran potencial como cultivos iniciadores para mejorar las propiedades organolépticas del yogurt natural. Estas conclusiones resaltan la importancia de considerar y aprovechar las características distintivas de estas cepas nativas en la búsqueda de alternativas más saludables y sabrosas en la producción de yogures.

Al observar diferencias significativas en los ANOVA realizados para pH, grados Brix y densidad, se confirma la hipótesis alternativa que sugiere que el empleo de bacterias ácido lácticas nativas de Ecuador consigue propiedades organolépticas de yogurt natural diferentes a su homólogo comercial.

## **6. Recomendaciones**

- Se recomienda la realización de técnicas moleculares y secuenciación de última generación para la identificación de las variantes génicas de las cepas nativas BAL L5-4, L5-3 y L13 utilizadas en esta investigación.
- De la misma manera se recomienda realizar una cata con un profesional, para conocer la opinión de las personas respecto al sabor de los productos elaborados con estas cepas, aunque esto implique pasar por el comité de ética.
- También se recomienda crear un cultivo indicador con L5-4, L5-3 y L13 para la elaboración de yogurt natural y compararlo con yogures comerciales.
- De igual forma, se recomienda utilizar estas cepas nativas para la elaboración de más productos lácteos y observar si mejoran las propiedades organolépticas.

## 7. Bibliografía

- Abigail Orús. (2022, June 16). *Productos lácteos: consumo a nivel mundial por tipo en 2021* | Statista. <https://es.statista.com/estadisticas/1310411/consumo-mundial-de-producto-lacteos-a-nivel-mundial-por-tipo/>
- Alemu, T. (2022). Texture Profile and Design of Food Product. *J Agri Horti Res*, 6(2), 272–281.
- Alimentarius C. (2015). *Norma general del Codex para los aditivos alimentarios*. .
- ANDRADE LOOR, E. X. (2023). “AISLAMIENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS NATIVAS DEL ECUADOR PARA EL MEJORAMIENTO DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS EN UN QUESO TIPO RICOTTA.” UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK.
- Babio, N., Mena-Sánchez, G., & Salas-Salvador, J. (2017). *Más allá del valor nutricional del yogur: ¿un indicador de la calidad de la dieta?* [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112017001000006](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112017001000006)
- Bankole, A. O., Irondi, E. A., Awoyale, W., & Ajani, E. O. (2023). Application of natural and modified additives in yogurt formulation: types, production, and rheological and nutraceutical benefits. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2023.1257439>
- Bhattacharyya, S., O-Sullivan, I., Katyal, S., Unterman, T., & Tobacman, J. K. (2012). Exposure to the common food additive carrageenan leads to glucose intolerance, insulin resistance and inhibition of insulin signalling in HepG2 cells and C57BL/6J mice. *Diabetologia*, 55(1), 194–203. <https://doi.org/10.1007/S00125-011-2333-Z/FIGURES/6>
- Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., & Zhao, G. (2017). Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *International Journal of Food Properties*, 20, S316–S330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>
- Cheng, H. (2010). Volatile Flavor Compounds in Yogurt: A Review. <http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408390903044081>, 50(10), 938–950. <https://doi.org/10.1080/10408390903044081>
- Dan, T., Hu, H., Tian, J., He, B., Tai, J., & He, Y. (2023a). Influence of Different Ratios of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus on Fermentation Characteristics of Yogurt. *Molecules*, 28(5). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28052123/S1>
- Dan, T., Hu, H., Tian, J., He, B., Tai, J., & He, Y. (2023b). Influence of Different Ratios of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus on Fermentation Characteristics of Yogurt. *Molecules*, 28(5). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28052123/S1>
- Devezeaux de Lavergne, M., Van de Velde, F., & Stieger, M. (2017). Bolus matters: the influence of food oral breakdown on dynamic texture perception. *Food & Function*, 8(2), 464–480. <https://doi.org/10.1039/C6FO01005A>
- Dishisha, T., Pereyra, L. P., Pyo, S. H., Britton, R. A., & Hatti-Kaul, R. (2014). Flux analysis of the Lactobacillus reuteri propanediol-utilization pathway for production of 3-

- hydroxypropionaldehyde, 3-hydroxypropionic acid and 1,3-propanediol from glycerol. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-76/FIGURES/4>
- Ellen Muehlhoff, Anthony Bennett, & Deirdre McMahon. (2013). Milk and dairy products in human nutrition. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*, 66–67. <https://www.fao.org/3/i3396e/i3396e.pdf>
- Fahoum, L., Moscovici, A., David, S., Shaoul, R., Rozen, G., Meyron-Holtz, E. G., & Lesmes, U. (2017). Digestive fate of dietary carrageenan: Evidence of interference with digestive proteolysis and disruption of gut epithelial function. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(3), 1600545. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201600545>
- Fiallos. (2017). *Determinación de la correlación entre Métodos Visuales, Ópticos y Difusión en placa en el Crecimiento de Escherichia coli*. Universidad Técnica de Ambato.
- García-Mogollon, C., Alvis-Bermudez, A., & Romero, P. (2015). Aplicación del Mapa de Preferencia Externo en la Formulación de una Bebida Saborizada de Lactosuero y Pulpa de Maracuyá. *Información Tecnológica*, 26(5), 17–24. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500004>
- Gupta, M. K., Viejo, C. G., Fuentes, S., Torrico, D. D., Saturno, P. C., Gras, S. L., Dunshea, F. R., & Cottrell, J. J. (2022). Digital technologies to assess yoghurt quality traits and consumers acceptability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(13), 5642–5652. <https://doi.org/10.1002/JSFA.11911>
- HANNA INSTRUMENTS. (2015). *pH / Temperature Meter for Yogurt with Application Specific Probe*.
- Han, X., Yang, Z., Jing, X., Yu, P., Zhang, Y., Yi, H., & Zhang, L. (2016). Improvement of the Texture of Yogurt by Use of Exopolysaccharide Producing Lactic Acid Bacteria. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7945675>
- INEC. (2023). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*.
- Kiliç, E. E., Halil Kiliç, İ., & Koç, B. (2022a). Yoghurt Production Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Leguminous Seeds and Effects of Encapsulated Lactic Acid Bacteria on Bacterial Viability and Physicochemical and Sensory Properties of Yoghurt. *Journal of Chemistry*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/2683126>
- Kiliç, E. E., Halil Kiliç, İ., & Koç, B. (2022b). Yoghurt Production Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Leguminous Seeds and Effects of Encapsulated Lactic Acid Bacteria on Bacterial Viability and Physicochemical and Sensory Properties of Yoghurt. *Journal of Chemistry*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/2683126>
- Koziorowska, A., Ranadheera, S., Leska, A., Nowak, A., & Motyl, I. (2022). Isolation and Some Basic Characteristics of Lactic Acid Bacteria from Honeybee (*Apis mellifera* L.) Environment—A Preliminary Study. *Agriculture 2022*, Vol. 12, Page 1562, 12(10), 1562. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE12101562>
- Krastanov, A., Yeboah, P. J., Wijemanna, N. D., Eddin, A. S., Ayivi, R. D., Ibrahim, S. A., Krastanov, A., Yeboah, P. J., Wijemanna, N. D., Eddin, A. S., Ayivi, R. D., & Ibrahim, S. A. (2023). *Volatile*

*Aromatic Flavor Compounds in Yogurt: A Review.*

<https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.109034>

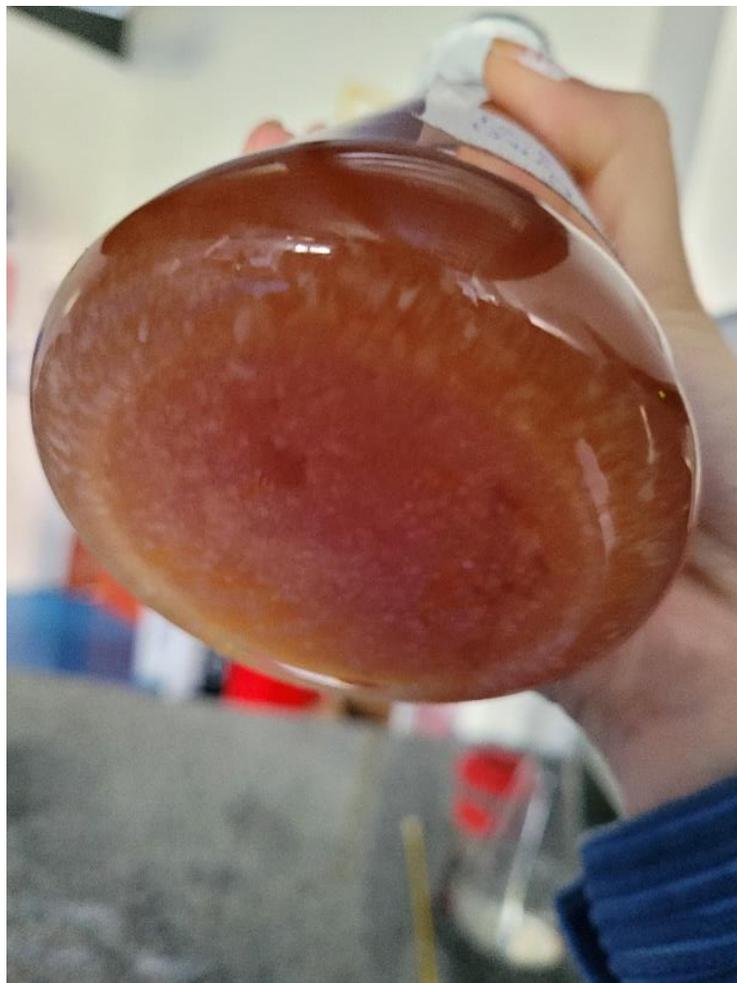
- Li, H., Gao, J., Chen, W., Qian, C., Wang, Y., Wang, J., & Chen, L. (2022a). Lactic acid bacteria isolated from Kazakh traditional fermented milk products affect the fermentation characteristics and sensory qualities of yogurt. *Food Science & Nutrition*, *10*(5), 1451–1460. <https://doi.org/10.1002/FSN3.2755>
- Li, H., Gao, J., Chen, W., Qian, C., Wang, Y., Wang, J., & Chen, L. (2022b). Lactic acid bacteria isolated from Kazakh traditional fermented milk products affect the fermentation characteristics and sensory qualities of yogurt. *Food Science & Nutrition*, *10*(5), 1451–1460. <https://doi.org/10.1002/FSN3.2755>
- Linares, D. M., O’Callaghan, T. F., O’Connor, P. M., Ross, R. P., & Stanton, C. (2016). Streptococcus thermophilus APC151 Strain Is Suitable for the Manufacture of Naturally GABA-Enriched Bioactive Yogurt. *Frontiers in Microbiology*, *7*(NOV). <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01876>
- Mohamad, N., Manan, H., Sallehuddin, M., Musa, N., & Ikhwanuddin, M. (2020). Screening of Lactic Acid Bacteria isolated from giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) as potential probiotics. *Aquaculture Reports*, *18*, 100523. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2020.100523>
- Muncan, J., Tei, K., & Tsenkova, R. (2021). Real-Time Monitoring of Yogurt Fermentation Process by Aquaphotomics Near-Infrared Spectroscopy. *Sensors (Basel, Switzerland)*, *21*(1), 1–18. <https://doi.org/10.3390/S21010177>
- Naimi, S., Viennois, E., Gewirtz, A. T., & Chassaing, B. (2021). Direct impact of commonly used dietary emulsifiers on human gut microbiota. *Microbiome*, *9*(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00996-6/FIGURES/8>
- NTE INEN 2395. (2011). *INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN*.
- Pereira, T., Barroso, S., & Gil, M. M. (2021). Food Texture Design by 3D Printing: A Review. *Foods* *2021*, Vol. *10*, Page 320, *10*(2), 320. <https://doi.org/10.3390/FOODS10020320>
- Pogozhykh, D., Posokhov, Y., Myasoedov, V., Gubina-Vakulyck, G., Chumachenko, T., Knigavko, O., Polikarpova, H., Kalashnyk-Vakulenko, Y., Sharashydzhe, K., Nakonechna, O., Prokopyuk, V., Onishchenko, A., & Tkachenko, A. (2021). Experimental Evaluation of Food-Grade Semi-Refined Carrageenan Toxicity. *International Journal of Molecular Sciences* *2021*, Vol. *22*, Page 11178, *22*(20), 11178. <https://doi.org/10.3390/IJMS222011178>
- Ramos, I. M., Seseña, S., Poveda, J. M., & Palop, M. L. (2023). Screening of Lactic Acid Bacteria Strains to Improve the Properties of Non-fat Set Yogurt by in situ EPS Production. *Food and Bioprocess Technology*, *16*(11), 2541–2558. <https://doi.org/10.1007/S11947-023-03080-7/FIGURES/7>

- Schimidt, C. A. P., Pereira, C., Glauce Dos Anjos, ;, Shiane, ;, & Lucas, D. M. (2012). Formulação e avaliação sensorial hedônica de iogurte com polpa de acerola. *Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia*, 3(5), 10–14. <https://doi.org/10.3895/RECIT.V3I5.4117>
- Shahbandeh, M. (2023). *Global yogurt market revenue 2028 | Statista*. <https://www.statista.com/statistics/870893/global-yogurt-market-value-forecast/>
- Sözeri Atik, D., Öztürk, H. İ., Akın, N., & Özer, B. (2023). Textural and rheological characterisation of yoghurts produced with cultures isolated from traditional back-slopped yoghurts. *International Dairy Journal*, 138, 105557. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2022.105557>
- Tang, C., Zhou, W., Shan, M., Lu, Z., & Lu, Y. (2022). Yogurt-derived *Lactobacillus plantarum* Q16 alleviated high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Food Science and Human Wellness*, 11(5), 1428–1439. <https://doi.org/10.1016/J.FSHW.2022.04.034>
- Tapia, S. del R. (2022). *UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS*.
- Tavakoli, M., Habibi Najafi, M. B., & Mohebbi, M. (2019). Effect of the milk fat content and starter culture selection on proteolysis and antioxidant activity of probiotic yogurt. *Heliyon*, 5(2), e01204. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2019.E01204>
- Vásquez Castillo, K. K. (2017). *Caracterización Físicoquímica y Organoléptica de leche entera ultrapasteurizada (UHT) procesadas en las empresas lácteas establecidas en Nicaragua. Laboratorio de Físicoquímica de Lácteos Centroamericanos, Enero - Mayo 2017*. [Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua ]. <https://repositorio.unan.edu.ni/10759/1/99979.pdf>
- Wu, C., Dai, C., Tong, L., Lv, H., & Zhou, X. (2022). Evaluation of The Probiotic Potential of *Lactobacillus Delbrueckii* Ssp. *indicus* WDS-7 Isolated from Chinese Traditional Fermented Buffalo Milk In Vitro. *Polish Journal of Microbiology*, 71(1), 91. <https://doi.org/10.33073/PJM-2022-012>
- Yao, S. (2023). The Value of Yogurt and Its Function in Health Care. *Theoretical and Natural Science, TNS Vol.3(1)*, 765–771. <https://doi.org/10.54254/2753-8818/3/20220477>

**8. Anexos:**

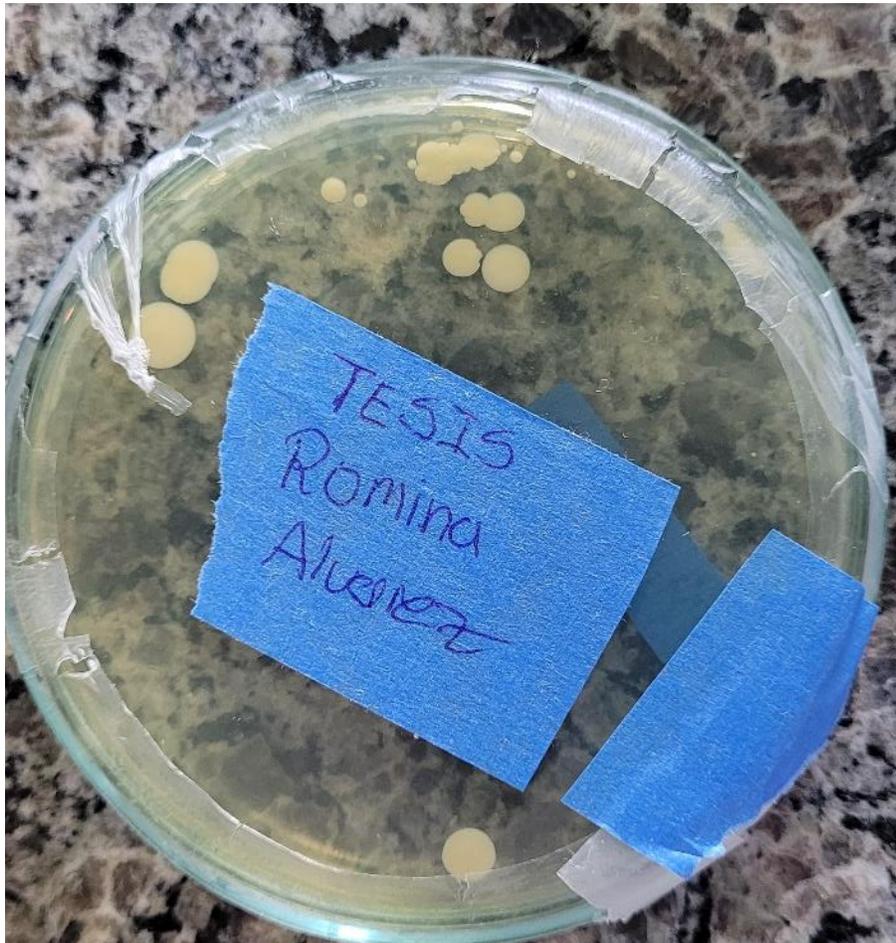
**ANEXO 1.**

**Cultivo de muestra de leche sin pasteurizar en medio de cultivo MRS liquido**



**ANEXO 4.**

**Cultivo de muestra ambiental en medio de cultivo MRS solido**



**ANEXO 7.**

**Estándares de McFarland**



## ANEXO 10.

### Calentamiento de la leche de vaca para la preparación de yogurt

