

“VIABILIDAD DE LAS BACTERIAS LÁCTICAS *Streptococcus Salivarius Ssp Thermophilus* y *Lactobacillus Delbrueckii Ssp Bulgaricus* DURANTE EL ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE Y REFRIGERACIÓN DE CUATRO MARCAS DE YOGURES COMERCIALES”

VIABILITY OF LACTIC BACTERIA *STREPTOCOCCUS salivarius ssp thermophilus* AND *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* DURING STORAGE AT ROOM TEMPERATURE AND COOLING OF FOUR YOGURES TRADE MARKS

Evelyn Yessenia Ordinola Miranda¹
Liney Osorio Paredes²

Fecha de recepción: 17 mayo 2015

Fecha de aceptación: 20 de setiembre 2015

Resumen

En el presente trabajo se determinó la cantidad de bacterias lácticas benéficas en el yogurt ya que el beneficio que aporta el consumo frecuente de yogurt se atribuye a la presencia de las bacterias lácticas que participaron en su fabricación, debiendo ser éstas activas y viables en número no menor de 107ufc/ml de producto, cuya condición está establecida en las normas nacionales e internacionales. Se analizaron un total de 48 muestras comerciales de 4 marcas de yogurt, adquiridas en un Supermercado de Chimbote, las cuales fueron almacenadas a temperatura ambiente ($19 \pm 1^\circ\text{C}$) y refrigeración de 4°C , por un periodo de 35 días. Se hizo el análisis microbiológico y la determinación del pH, acidez y viscosidad de las muestras. Así mismo se cuantificó hongos y levaduras. En los conteos por bacteria se halló una superioridad de 2 a 5 ciclos logarítmicos de las concentraciones de *Streptococcus* sobre *Lactobacillus* desde el inicio del almacenamiento y al final de los 35 días. Del análisis estadístico realizado se obtuvo que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los recuentos de poblaciones lácticas almacenadas a temperatura ambiente y refrigeración. Se encontró que en refrigeración 3 de las marcas analizadas, alcanzaron recuentos entre 108 a 107 UFC /ml, mostrando una tendencia a su disminución durante 35 días de almacenamiento, cumpliendo con el valor límite de 107 UFC durante su periodo de vida útil, establecido por la Norma del Codex para Leches Fermentadas “CODEX STAN 243-2003 y NTP 202.092:2004. Por otro lado se encontró que a temperatura ambiente sólo una marca mantuvo su viabilidad hasta su fecha establecida. Comprobándose que el almacenamiento a temperatura ambiente de $19^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ influyó en su corta vida útil. Las marcas comerciales después de los 35 días de almacenamiento a T° ambiente presentaron conteos de 106 UFC/ml o 6 Log₁₀ UFC. La variación de temperatura de almacenamiento en el tiempo provocó cambios en las propiedades fisicoquímicas del yogurt, disminuyendo así su calidad, lo que se demostró en las pruebas sensoriales realizadas a las muestras en ambiente y refrigeración que presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) a partir de la quinta semana en el atributo sabor, no gustándole ni disgustándole a los panelistas al final de la experimentación. Lo cual se relaciona con los valores de la acidez que incrementaron de 0.79% a 1.27% (valores dentro del rango de la normativa del yogurt) y valores mínimos de pH de 4.2, en tanto que en ambiente el 75% de las muestras analizadas presentaron valores por debajo de 107UFC/ml. Factores como la temperatura de almacenamiento o prácticas inadecuadas en el proceso (uso de cultivos defectuosos en cuanto a la proporción de las cepas) contribuyen a que el número de estos microorganismos no cumpla con la norma. No se encontraron hongos y levaduras en ninguna muestra, mostrando que cumplen con la normativa del yogurt en cuanto a contaminación microbiológica se refiere.

Palabras clave: *Bacterias lácticas, viabilidad, vida útil*

¹Escuela de Ingeniería Agroindustrial. Facultad de Ingeniería. Ingeniera Agroindustrial. Santa. Ancash. Perú.

²Escuela. de Ingeniería Agroindustrial. Facultad de Ingeniería. Ingeniera Agroindustrial. Santa. Ancash. Perú.

Abstract

In this paper the amount of beneficial lactic acid bacterium in yogurt is determined as the benefit it brings frequent consumption of yogurt is attributed to the presence of lactic acid bacteria involved in their manufacture, they must be active and not viable in number under 107ufc / ml product, whose condition is set in national and international standards. A total of 48 commercial samples of 4 brands of yogurt, acquired in a supermarket in Chimbote, which were stored at room temperature (19 ± 1 ° C) and cooling of 4 ° C, for a period of 35 days were analyzed. Microbiological analysis and determination of pH, acidity and viscosity of the samples was done. Also fungi and yeast were quantified. In bacteria counts for the superiority of 2 to 5 log units concentrations of *Streptococcus* *Lactobaccillus* from the start of storage and at the end of 35 days it was found. Statistical analysis was obtained significant differences ($p < 0.05$) between the counts of lactic populations and cooling stored at room temperature. We found that in cooling 3 of the brands tested, reached counts between 108-107 CFU / ml, showing a tendency to decrease storage for 35 days, meeting the limit value of 107 CFU during their lifetime, established by the Codex Standard for Fermented Milks "CODEX STAN 243-2003 and NTP 202 092: 2004. Moreover it was found that at room temperature only a brand maintained its viability to its established date. Proving that storage at room temperature of 19 ± 1 ° C influenced his short life. Trademarks after 35 days of storage at room T ° counts showed 106 CFU / ml to 6 log10 CFU. The storage temperature variation over time led to changes in the physicochemical properties of yogurt, thus decreasing its quality, which was shown in the sensory tests on samples at ambient and cooling significantly different ($p < 0.05$) from the fifth week in the attribute taste, not liking or disliking the panelists at the end of the experiment. Which is related to the values of the acidity increased from 0.79% to 1.27% (values within the range of regulations yogurt) and minimum values of pH of 4.2, while in atmosphere 75% of the analyzed samples showed values below 107UFC / ml. Factors such as storage temperature or inappropriate practices in the process (use of defective crops in the proportion of strains) contribute to the number of these microorganisms do not meet the standard. No fungi and yeasts found in any sample, showing that comply with the regulations of yogurt with regard to microbiological contamination is concerned.

Keywords: *lactic bacterium, viability, useful life*

1. Introducción

El yogur está presente en la dieta humana desde los tiempos antiguos, la fermentación láctica producida por las bacterias ácido lácticas se utilizaron para aumentar la vida útil de la leche. Las bacterias lácticas obtienen su energía a partir de la lactosa para su metabolismo, la lactosa (azúcar de la leche) es transformada por vía oxidativa Embder Meyerhof. El yogur es una leche coagulada obtenida por fermentación láctica, producida por *Lactobacillus delbreukii spp. bulgaricus* y *Streptococcus salivarius spp. thermophilus*, de la leche pasteurizada con o sin adición de leche en polvo; ambas bacterias lácticas se estimulan complementando su crecimiento una de otra (protocooperación); los microorganismos del producto final deben ser viables y abundantes. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define "probiótico" a un microorganismos vivo que consumido en dosis adecuadas, ejerce un efecto beneficioso sobre la salud que van más allá de una nutrición básica. Las bacterias lácticas que intervienen en el proceso de fermentación del yogur (*Lactobacillus delbreukii spp. bulgaricus* y *Streptococcus salivarius spp. thermophilus*), son dos ejemplos de bacterias probióticas. Para que las bacterias ácido lácticas sean capaces de producir efectos probióticos deben llegar un número suficiente a los intestinos, ser habitante normal del intestino, resistir al medio ácido del estómago y a las sales biliares, deben producir compuestos antimicrobianos y ser estables durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que puedan llegar vivos al intestino. Es importante que estos microorganismos puedan ser capaces de atravesar la barrera gástrica para poder multiplicarse y colonizar el intestino. Es importante conocer cómo evoluciona la flora láctica del yogur a lo largo de su vida de anaquel, considerando que las bacterias pueden morir o bien reproducirse en función de las condiciones de conservación y que al momento del consumo pudieran no estar viables o en las cantidades indicadas.

Por esta razón, esta investigación tiene el propósito de estudiar estos microorganismos benéficos en el yogur durante 35 días de almacenamiento para comprobar que estas cantidades cumplen con el mínimo de 1.0×10^7 UFC por gramo o mililitro que propone el por la Norma CODEX STAN 243-2003 y la Norma Técnica Peruana 202.092:2004, para considerar a éste, un producto como yogur y a la vez para asegurarse de que causen este efecto positivo en la salud de sus consumidores. Para ello nos trazamos como objetivo general “evaluar la evolución de la población de las bacterias lácticas (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* y *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*), mediante la cuantificación de éstas en el yogur comercial almacenada a temperatura ambiente y refrigeración”.

Durante el periodo de almacenamiento se evaluó las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez y viscosidad); se verifico la presencia de hongos y levaduras y de acuerdo a los resultados obtenidos se determinó el tiempo máximo para consumir un yogur.

2. Materiales y métodos:

Las muestras se extrajeron de las góndolas de un supermercado local de Nuevo Chimbote. Para realizar este estudio se seleccionaron yogures de sabor a vainilla, con una amplia fecha de vigencia que fue entre 35 a 40 días.

Tabla 1

Muestras utilizadas a lo largo de todo el análisis de viabilidad

Marca	Producto	Lote	Hora	Vencimiento
A	Yogur Bebible	S -129-15	05:40	13/09/2011
B	Yogur Bebible	S-122-3	17:35	11/09/2011
C	Yogur Bebible	5-223-3	06:40	21/10/2011
D	Yogur Bebible	L-1709-6	23:32	10/10/2011

Se analizaron un total de 48 muestras de yogur comerciales adquiridas en un supermercado de la localidad. Se eligieron las marcas de yogures comerciales, en forma aleatoria. Las muestras se almacenaron a 4°C (Temperatura de refrigeración) y a 19± °C (Temperatura Ambiente).

Los análisis microbiológicos a las muestras de yogur se realizaron desde el día 0 hasta la semana 6 (35 días de almacenamiento).

El aislamiento y conteo de las bacterias lácticas se hicieron tomando como referencia el Procedimiento de Recuento de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en Yogur. PRT-712.02-047-Instituto de Salud Pública de Chile, 2010, con la modificación en la preparación de las muestras haciendo uso de la cámara de bioseguridad y el uso de la dilución óptima para el aislamiento de cada bacteria láctica en las marcas de yogur (recuento en placa). Periódicamente se evaluaron las características fisicoquímicas de las muestras de yogur, cada vez que se realizó el análisis microbiológico, tales mediciones se llevaron a cabo por 35 días. Acidez Titulable (método de A.O.A.C. 1984), pH potenciómetro (Lora, 1996), viscosidad se empleó el Reometro Brookfield R/S-CC de cilindro coaxial de 0.1 – 1000 Rpm las mediciones de las muestra de yogur fue durante las diferentes semanas de almacenamiento (semana 1, 2, 3, 4, 5 y 6); empleando para cada medición aproximadamente 120 ml. Para ello se usó un sistema computarizado conectado al mismo reómetro con un software RHEO3000.

Análisis Estadístico

Se realizó un diseño factorial 4x2x6 representado por 3 factores. El primer factor corresponde a las 4 marcas de yogures, el segundo factor a la temperatura a dos niveles (4 °C y T. ambiente), y el tercer factor tiempo en semanas con 6 niveles (1, 2, 3, 4, 5,6). Se utilizaron 3 repeticiones

en el experimento. La sobrevivencia de las cepas lácticas a distintas temperaturas de almacenamiento y durante diferentes días de experimentación, fue analizada mediante análisis de varianza (ANVA), una prueba de rango múltiple (Tuckey) con un nivel de confianza de 95 %.

3. Resultados

Análisis Físicoquímico

Las curvas son los promedios de la variación de pH, acidez y viscosidad para cada muestra durante su periodo de almacenamiento. En las figuras 23 y 24 se representa la variación del pH en las diferentes muestras de yogures almacenados a 4°C y a temperatura ambiente. Se observó que existe un descenso del pH durante las seis semanas de almacenamiento.

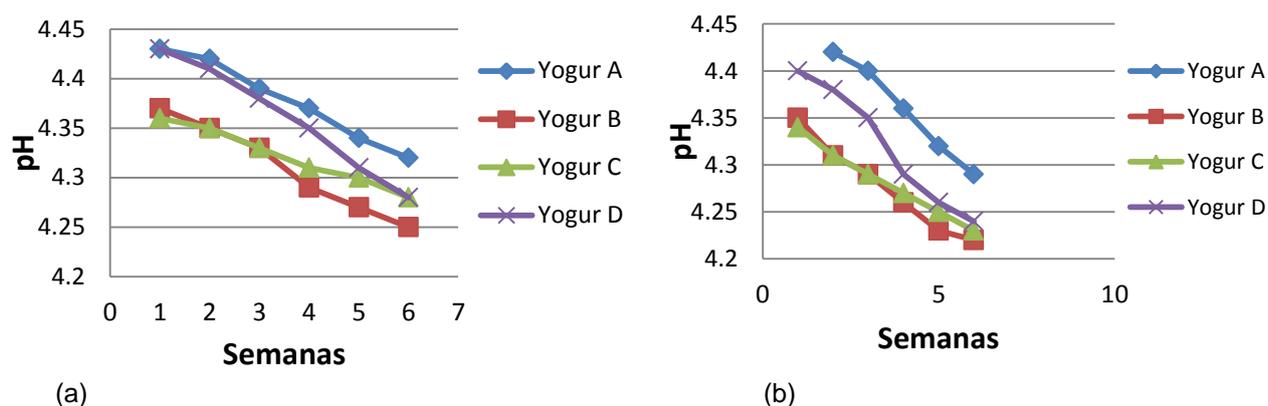


Figura 1 Variación de pH durante el almacenamiento a 4°C (a) y temperatura ambiente en las cuatro muestras de yogur estudiadas.

Los valores de pH en los yogures refrigerados A, B, C y D (Figura 1a) en la primera semana fueron 4.43, 4.37, 4.36 y 4.43 respectivamente; descendiendo gradualmente en la última semana a valores de 4.32, 4.25, 4.28 y 4.28.

Acidez Titulable (% ácido láctico): En la figura 3 se muestra la variación de los porcentajes de ácido láctico durante su almacenamiento en refrigeración; en la primera semana el contenido de ácido láctico en las muestras A, B, C y D fueron 0.79 % , 0.80% , 0.89% y 0.82 % respectivamente, aumentando gradualmente en la última semana de almacenamiento a valores de 0.98% , 0.95%, 1.15% 1.03% .

Observando la Figura 3 se puede apreciar un aumento de la acidez en las muestras A, B, C y D almacenadas a temperatura ambiente llegando a alcanzar hasta la sexta semana 1.19%, 1.31%, 1.27% y 1.25% de ácido láctico respectivamente. Siendo estos valores de acidez mayores a los obtenidos del yogur almacenado en refrigeración.

Viscosidad

En las Figuras 4 y 5 se observa la variación de la viscosidad en todas las marcas analizadas de yogures durante su almacenamiento en ambas temperaturas. También se observó que hay una disminución en la viscosidad en ambos tratamientos (refrigeración y ambiente), ya que con el tiempo el gel pierde firmeza y consistencia.

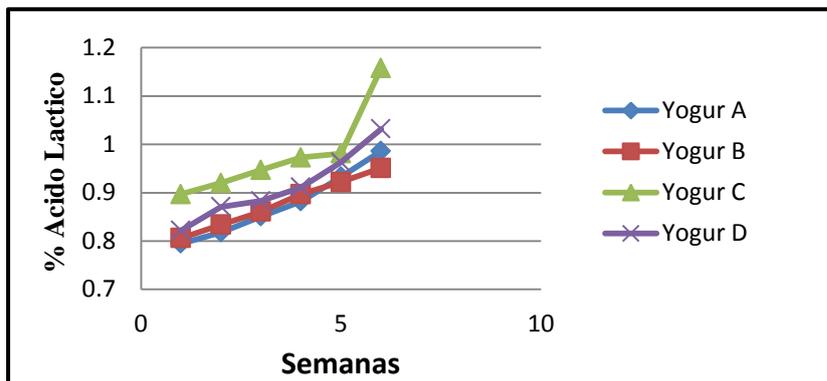


Figura 2
Variación de la acidez durante el almacenamiento a temperatura 4°C en las cuatro muestras de yogur

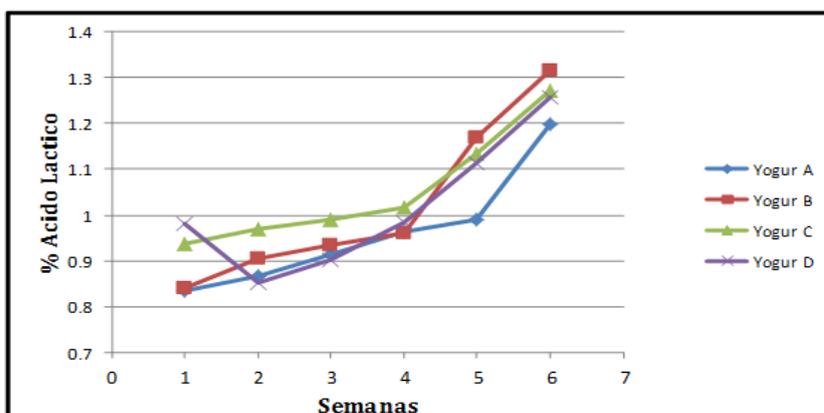


Figura 3
Variación de la acidez durante el almacenamiento a temperatura ambiente en las cuatro muestras de yogur

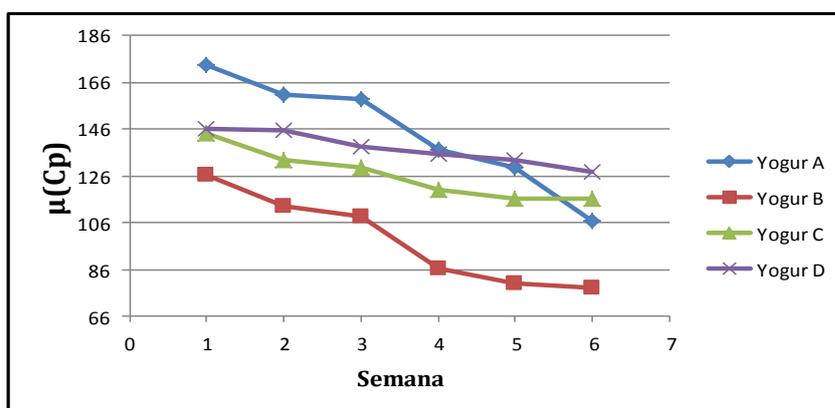


Figura 4
Variación de la viscosidad durante el almacenamiento a 4°C en las cuatro muestras de yogur

En la Fig. 5 el yogurt marca B, muestra un descenso más marcado a partir de la cuarta semana, llegando al final de su almacenamiento a presentar valores por debajo de 80 cp, y un descenso más notorio a partir de la tercera semana presentando valores al final de su almacenamiento por

debajo de los 50cp, estas diferencias pueden estar asociadas a los cambios de pH que presentaron las muestras o a las diferentes temperaturas de almacenamiento a las que fueron almacenadas las muestras.

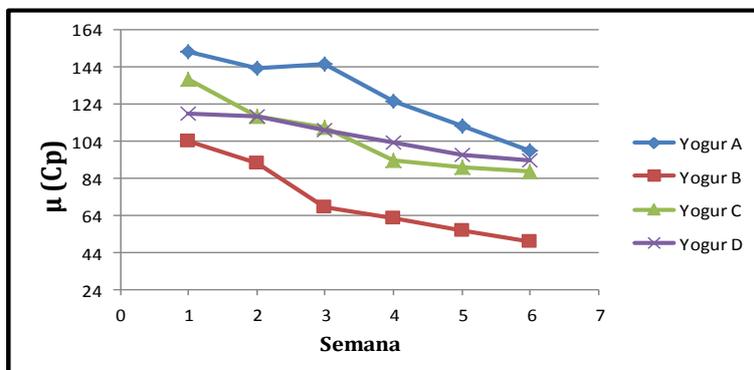


Figura 5
Variación de la viscosidad durante el almacenamiento a temperatura ambiente en las cuatro muestras de yogur

Análisis Microbiológico:

Se realizó un Recuento de *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* a Temperatura de Refrigeración y Ambiente, conteo del *Lactobacillus delbrueckii ssp Bulgaricus* y *Streptococcus Salivarius ssp. Thermophilus* durante su almacenamiento a temperatura Ambiente de las cuatro muestras de yogur.

Del análisis estadístico realizado a estos valores se obtuvo que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los recuentos de *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* para cada uno de los diferentes tiempos de almacenamiento.

En las cuatro marcas comerciales A, B, C, y D almacenadas a temperatura ambiente y refrigeración se observó una superioridad de 2 a 5 ciclos logarítmicos de las concentraciones de *Streptococcus* sobre *Lactobacillus* desde el inicio del almacenamiento y al final de los 35 días se da esta superioridad. Esto sugiere que desde el inicio y antes del periodo de almacenamiento en refrigeración, en las 4 diferentes marcas de yogur, existía un desbalance de la proporción de ambos microorganismos. Dicho comportamiento se puede atribuir a la naturaleza de las muestras que presentan una textura líquida. Como menciona Hernández (2007), se cree que *L. bulgaricus* tiene como una de sus principales funciones en los productos fermentados dar una textura característica típica de los yogures batidos, pero en este caso al tratarse de un producto líquido se puede deducir que esa no es la principal función del microorganismo en dicho producto, y por lo tanto la cantidad de bacterias viables de esta especie se encuentran en menor proporción.

En relación a lo observado en nuestra experiencia y lo mencionado por diversos autores sobre la importancia de un control de la Post –acidificación en el yogur, a través de la reducción de Lactobacilos, podemos decir que la razón por la cual se da este dominio del *Streptococcus* posiblemente se deba a que las industrias que fabrican estos cultivos proporcionan las culturas tradicionales del yogur con una menor concentración de *L. bulgaricus* y una mayor concentración de *S. thermophilus*, al parecer es una modalidad imperante en la industria local. Logrando de esa manera la producción de yogures moderadamente ácidos y con menor riesgo de post acidificación. Pues según Beal *et al.*, 1999 citado por Dualdo, 2010, este fenómeno es

más intensa en los primeros siete días de la fabricación de yogur, debido al consumo de lactosa, la producción de ácido láctico y una alta actividad metabólica de las bacterias

La posterior acidificación por ácido láctico que sufre el yogur en almacenamiento afecta la viabilidad de las Bacterias lácticas, principalmente a *S. thermophilus* que es menos ácido tolerante, debido a las lesiones que sufren estos microorganismos hay un descenso notorio en el ácido fórmico, produciendo la disminución también de *L.bulgaricus*, ya que este es un factor estimulante para los mismos

Briceño *et al.*, 2001 señala que la población de *S. thermophilus* empieza a mermar cuando el medio muestra valores de pH cercanos a 4.00 por lo que detiene su crecimiento. En cambio en estas condiciones *L. bulgaricus* aún tiene la capacidad de multiplicación ya que su crecimiento se interrumpe a valores de pH entre 3.50-3.80.

En nuestro caso, la viabilidad de las bacterias ácido lácticas en las marcas almacenadas en refrigeración, no se vio afectada por el pH ya que este valor no estuvo por debajo de 4.20 y el porcentaje de ácido láctico fluctuaba entre 0.87 – 0.91%, rango permitido por las normas peruanas y CODEX para yogur.

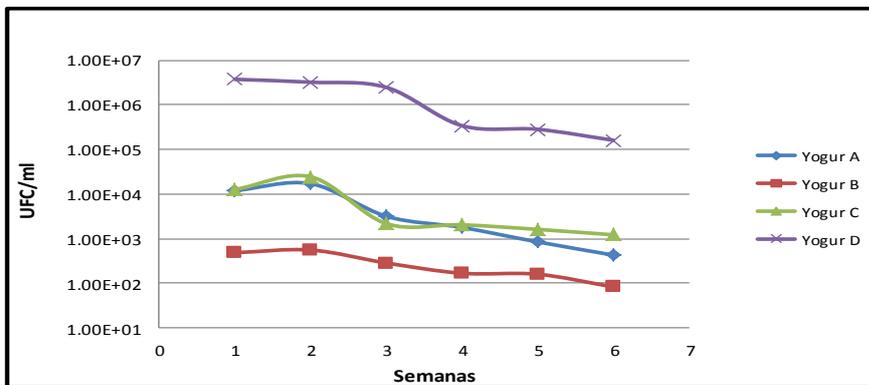


Figura 6 Comportamiento del *Lactobaccillus delbrueckii ssp Bulgaricus* de las cuatro muestras de yogur durante su almacenamiento a 4°C .

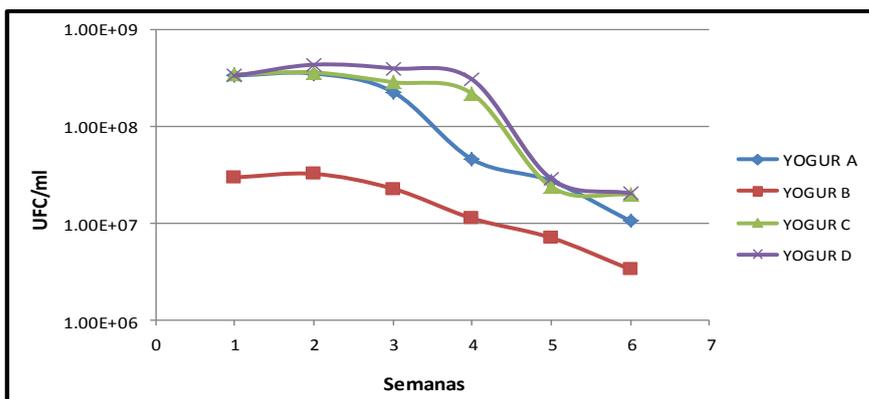


Figura 7 Comportamiento del *Streptococcus Salivarius ssp. thermophilus* de las cuatro muestras de yogur durante su almacenamiento a 4°C .

En las Figuras 6 y 7, se pueden apreciar las gráficas cuya tendencia es a la disminución de la cantidad de microorganismos viables, *Lactobaccillus delbrueckii ssp Bulgaricus* y *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, en todas las muestras de yogur almacenados a 4°C.

Durante el almacenamiento a temperatura ambiente y refrigeración en la primera semana hay un ligero incremento de ambas bacterias para luego haber un descenso hasta la semana 6. Este comportamiento también fue descrito por Briceño *et al.*, (2001) quien describe una disminución de las bacterias lácticas durante el almacenamiento a bajas temperaturas, mostrando una curva típica de crecimiento para estos organismos, en donde inmediatamente después de su manufactura y las primeras semanas de almacenamiento presentan un incremento de la población y posteriormente un descenso a lo largo de la vida útil del producto.

Ramirez, 2010 obtuvo, en su estudio a un yogurt de fresa líquido en refrigeración. una disminución en la cantidad de *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* desde la primera semana 3.41Log UFC ($2.60 \times 10^3 \text{ UFC/ml}$) a la semana siete 2.52 Log UFC ($3.32 \times 10^2 \text{ UFC/ml}$), lo cual indica que la cantidad de bacterias viables se redujo casi 1.0 Log . Por otra parte para *S.thermophilus* encontraron un descenso no significativo que fue desde 9.04 Log ($1.10 \times 10^9 \text{ UFC/ml}$) en la semana uno a 8.91 Log ($8.2 \times 10^8 \text{ UFC/ml}$) en la séptima semana.

En las Figura 8 y 9 se también se aprecia una tendencia a la disminución del contenido de cada una de las bacterias ácido lácticas contenidas en el yogur almacenadas a temperatura ambiente ($19 \pm 1^\circ\text{C}$).

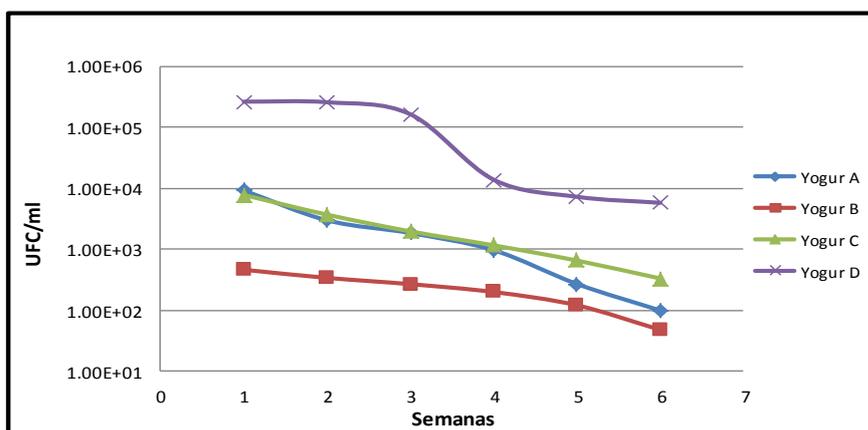


Figura 8

Comportamiento de *Lactobaccillus delbrueckii ssp Bulgaricus* durante su almacenamiento a temperatura ambiente en las cuatro muestras de yogur.

En la figura 8 se observó que la curva del crecimiento de *lactobaccillus* de la marca D, no baja de $1 \times 10^5 \text{ UFC/ml}$ en las tres primeras semanas de almacenamiento en ambiente, bajando el recuento en la cuarta semana. Mientras que en la fig. 6 la curva de crecimiento de *lactobaccillus* no baja de $1 \times 10^5 \text{ UFC/ml}$ manteniéndose estos valores hasta la última semana de almacenamiento en refrigeración. A diferencia de ello la curva que representa la marca B pasa por debajo de $1 \times 10^3 \text{ UFC/ml}$ de *lactobacillus* presentando mismo comportamiento en refrigeración y ambiente.

En la Figura 9 se observó que la concentración de *Streptococcus* en la marca D es superior a la concentración mostrada por los demás yogures, y la marca B presentó la menor concentración de *Streptococcus*, pasando la curva por debajo de $1 \times 10^7 \text{ UFC/ml}$, a partir de la cuarta semana. Similar comportamiento se aprecia en la Figura 7, la diferencia está en que el descenso del *Streptococcus* se da a partir de la quinta semana.

Recuento total de las Bacterias Acido lácticas a Temperatura de Refrigeración y Ambiente

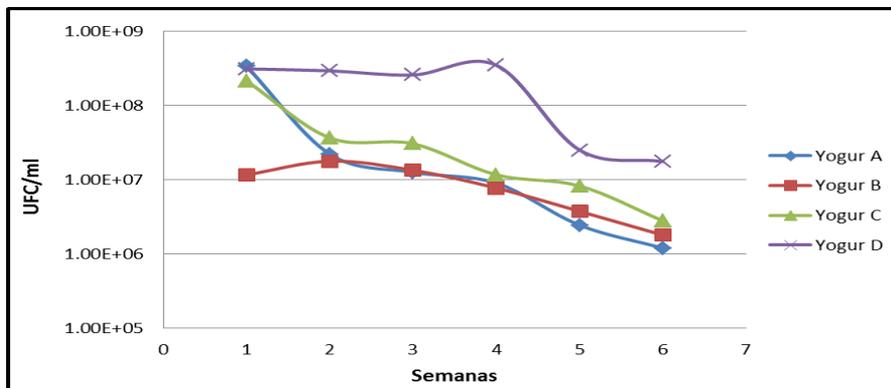


Figura 9
Comportamiento del *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* durante el almacenamiento a temperatura ambiente en las cuatro muestras de yogur

Tabla 1
Conteo del total de Bacterias Acido lácticas durante su almacenamiento a temperatura de Refrigeración

TOTAL DE INICIADORES A TEMPERATURA DE REFRIGERACION								
Semana	YOGUR A		YOGUR B		YOGUR C		YOGUR D	
	UFC/ml	Log	UFC/ml	Log	UFC/ml	Log	UFC/ml	Log
1	3.42x10 ⁸	8.53	3.00x10 ⁷	7.48	3.48x10 ⁸	8.54	3.40x10 ⁸	8.53
2	3.55x10 ⁸	8.55	3.26x10 ⁷	7.51	3.64x10 ⁸	8.56	4.42x10 ⁸	8.65
3	2.29x10 ⁸	8.36	2.29x10 ⁷	7.36	2.89x10 ⁸	8.46	4.04x10 ⁸	8.61
4	4.62x10 ⁷	7.66	1.13x10 ⁷	7.05	2.20x10 ⁸	8.34	3.09x10 ⁸	8.49
5	2.75x10 ⁷	7.44	7.14x10 ⁶	6.85	2.40x10 ⁷	7.38	2.93x10 ⁷	7.47
6	1.06x10 ⁷	7.03	3.37x10 ⁶	6.53	1.98x10 ⁷	7.30	2.07x10 ⁷	7.32

Sumatoria de las medias de tres réplicas de los conteos *Streptococcus* y *Lactobacillus*

Tabla 2
Conteo del total de Bacterias Acido lácticas durante su almacenamiento a temperatura Ambiente

TOTAL DE INICIADORES A TEMPERATURA DE AMBIENTE								
Semana	YOGUR A		YOGUR B		YOGUR C		YOGUR D	
	UFC/ml	Log	UFC/ml	Log	UFC/ml	Log	UFC/ml	Log
1	3.39x10 ⁸	8.53	1.17x10 ⁷	7.07	2.15x10 ⁸	8.33	3.13x10 ⁸	8.50
2	2.22x10 ⁷	7.35	1.79x10 ⁷	7.25	3.68x10 ⁷	7.57	2.95x10 ⁸	8.47
3	1.26x10 ⁷	7.10	1.35x10 ⁷	7.13	3.07x10 ⁷	7.49	2.59x10 ⁸	8.41
4	9.04x10 ⁶	6.96	7.77x10 ⁶	6.89	1.17x10 ⁷	7.07	3.20x10 ⁷	7.51
5	2.45x10 ⁶	6.39	3.77x10 ⁶	6.58	8.27x10 ⁶	6.92	2.52x10 ⁷	7.40
6	1.20x10 ⁶	6.08	1.81x10 ⁶	6.26	2.81x10 ⁶	6.45	1.77x10 ⁷	7.25

Sumatoria de las medias de tres réplicas de los conteos *Streptococcus* y *Lactobacillus*
En el Tabla 1 y 2 se muestra la sumatoria de las medias del conteo de *S.thermophilus* y *L. bulgaricus* por cada marca de yogur a temperatura ambiente y refrigeración.

Se puede observar que los recuentos de la marca A, C y D almacenados en refrigeración alcanzan valores de hasta 10^8 a 10^7 UFC/ml cumpliendo con el valor límite de 10^7 UFC durante su periodo de vida útil, establecido por la Norma del Codex para Leches Fermentadas “CODEX STAN 243-2003 y NTP 202.092:2004 “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Yogur o yogur. Este resultado concuerda con lo reportado por Hussain *et al.*, 2009 y Lin *et al.*, 2006, citados por Rodrigues, 2009; que señalan un conteo de $4,6 \times 10^8$ UFC/ml de promedio de la población de bacterias lácticas de muestras de yogur comercial.

En refrigeración, solo la marca B, alcanzó un recuento de 10^6 UFC/ml 2 semanas antes de su fecha de vencimiento, no cumpliendo con el valor mínimo de 10^7 UFC/ml estipulado por la NTP 202.092:2004 y el Codex de las leches fermentadas CODEX STAN 243-2003. Cabe mencionar que estos criterios son válidos hasta la fecha de duración mínima.

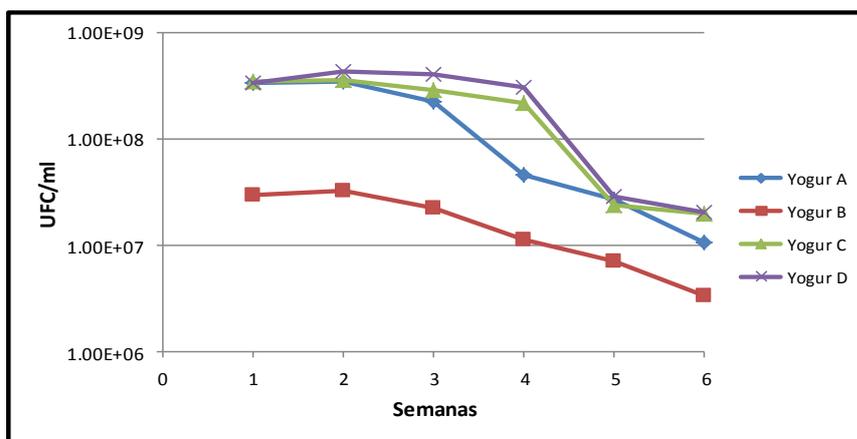


Figura 10

Comportamiento del total de las Bacteria lácticas en las 4 marcas de yogur durante su almacenamiento a 4°C .

En la Figura 10 también se aprecia la superioridad de la viabilidad de las bacterias ácido lácticas de las marca A, C y D con respecto la marca B en refrigeración.

Esto puede deberse a que a marca A, C y D, presentaban una mayor consistencia, con viscosidades mayores lo que pudo influir tal vez a que estos yogures presenten una mayor viabilidad, respecto a la marca B. Pues una mayor concentración de sólidos en el yogur puede explicar la mayor supervivencia de bacterias lácticas en este producto, ya que estos sólidos pueden amortiguar el descenso de pH y proteger a las bacterias de la acidez extrema.

Nuestros resultados del yogur almacenado en refrigeración concuerdan con lo descrito por Colin *et al.*; 2006, quienes encontraron que en refrigeración a 4°C la población de bacterias lácticas disminuye ligeramente alcanzando valores 10^7 UFC/ml de las Bacterias ácido lácticas después de 35 días de almacenamiento.

Damin *et al.*, 2009 también comprobó la viabilidad de las bacterias lácticas tradicionales, las mismas que también presentaron su disminución durante 35 días de almacenamiento en refrigeración. Dave y Shah, 1997 citado por Rodrigues, 2009; también investigaron la viabilidad de *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* del yogur hecho de cultivos comerciales; concluyendo que en cinco días de almacenamiento de ambas poblaciones, las bacterias muestran una disminución. La viabilidad de las bacterias lácticas de las cuatro marcas comerciales estudiadas en nuestro experimento obedece al mismo comportamiento descrito por dicho autor.

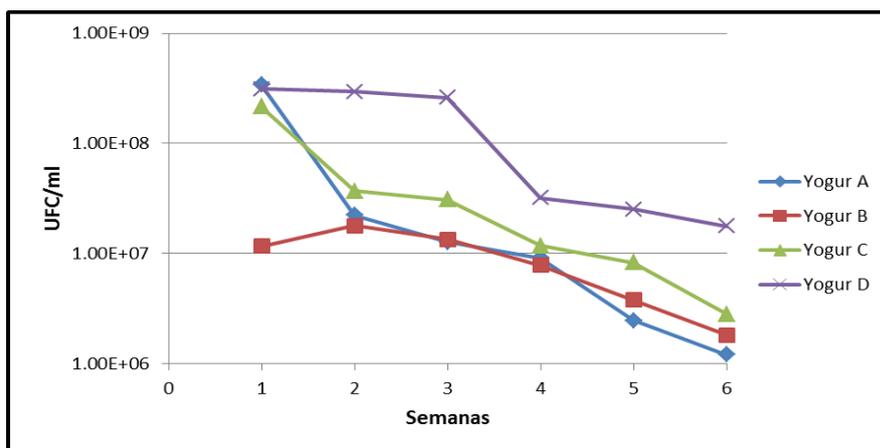


Figura 11

Comportamiento del total de las Bacteria lácticas de las 4 marcas de yogur durante su almacenamiento a temperatura ambiente

En la figura 11 también se observa el comportamiento del total de las Bacterias ácido lácticas que representa la viabilidad de cada marca de yogur durante su almacenamiento en ambiente. Se observa que a temperatura ambiente solo la marca D mantuvo su viabilidad hasta su fecha establecida llegando en la última semana al valor límite estipulado por los organismos del yogur, cumpliendo así con la normativa del mismo.

Por otro lado la marca C pierde su viabilidad 2 semanas antes de su fecha de vencimiento, y la marca A y B son viables solo hasta los primeros 14 días de almacenamiento en ambiente. Según los datos analizados entonces se comprueba que el almacenamiento a temperatura ambiente de $19^{\circ}\text{C}\pm 1$ influyó en la disminución del recuento de bacterias lácticas. Es decir que las muestras pierden su viabilidad semanas antes de su vigencia debido a que la temperatura de almacenamiento aceleró el crecimiento bacteriano láctico. Sumado a ello está lo dicho por Tamime *et al.*, 1987 que también opinan que conforme se aumenta la temperatura de almacenamiento, se produce una disminución del número de microorganismos de yogur.

Según Jay, 1994 citado por Rojas *et al.*, 2007; típicamente el yogur recién elaborado contiene en torno a 10^9 microorganismos /ml pero es posible que durante el tiempo que permanece almacenado el número de microorganismos disminuya hasta 10^6 UFC en especial, cuando se conserva a 5°C durante varios días.

Del análisis estadístico realizado se obtuvo existen diferencias significativas entre los recuentos totales de las poblaciones lácticas almacenadas a temperatura ambiente y refrigeración, mientras que en las otras marcas a pesar de que hubo disminución en el recuento de las bacterias lácticas a temperatura ambiente por debajo del límite 10^7 UFC/ml, no hubo diferencia significativa. Un resultado similar obtuvo Tejeda-Trujillo *et al.*, 2010 citado por, González *et al.*, 2010 que analizaron tres leches fermentadas almacenadas en refrigeración y a 22°C , después de 60 días, las muestras presentaban conteos de 6.5 Log UFC/ml no encontrando diferencia significativa respecto a la temperatura de almacenamiento.

De acuerdo a nuestros resultados, a partir de los 7 días de almacenamiento a temperatura ambiente de 19°C se observó una leve disminución de la población ácido láctico en las cuatro marcas comerciales estudiadas. Mientras que a temperatura de refrigeración a partir de los 21 días se observó esa variación.

Colin *et al.*, 2006 también cuantificó un yogur almacenado a 10°C , resultando poblaciones de bacterias lácticas muy semejantes a las encontradas en un yogur almacenado a 4°C , no

encontrando diferencias significativas en la población de bacterias vivas al final de los 35 días de almacenamiento.

Por otro lado en todas las marcas comerciales almacenadas a temperatura ambiente el pH desciende hasta 4.20, al final del almacenamiento mostrando un decremento promedio de 0.15 unidades de pH; en cuanto la acidez mostro un aumento de hasta valores 1.1%. Esta producción de ácido láctico explica el decremento de la viabilidad de bacterias lácticas observada en los yogures almacenados a temperatura ambiente, pues a pesar de tratarse de microorganismos ácido tolerantes, un exceso de este metabolito provoca la muerte de estas bacterias.

Cabe mencionar que la Viabilidad y actividad de las BAL durante su almacenamiento , posiblemente se deban a una serie de factores como : la velocidad de multiplicación de los cultivos lácticos presentes en el yogur , la capacidad de producción de ácido láctico por *L. bulgaricus*; el contenido de solidos totales ; la temperatura y el tiempo de incubación ; la cantidad de inóculo utilizado; los residuos de antibióticos, de desinfectantes o detergente en la leche ; la temperatura y tiempo de almacenamiento del yogur ; pH y el tiempo de almacenamiento de los cultivos de trabajo , todos ellos afectan la relación simbiótica de los microorganismos iniciadores en el producto final .

Recuento de Hongos y Levaduras:

El análisis de hongos y levaduras permitió la verificación de la presencia de contaminantes y observación de la ocurrencia de las fluctuaciones en la temperatura favoreciendo el desarrollo de otros microorganismos durante el almacenamiento, dando lugar a posibles cambios físico-químicos y la pérdida de viabilidad de las bacterias ácido lácticas. En el resultado de este análisis para ninguna de las marcas almacenadas en las diferentes temperaturas hubo crecimiento de hongos y levaduras, durante las seis semanas de evaluación. Mostrando de esa manera que los procedimientos aplicados durante su fabricación fueron los apropiados en cuanto a contaminación se refiere pues los mismos cumplen con la normativa del yogur en cuanto a contaminación microbiológica se refiere. Este resultado concuerda con De Oliveira *et al*, 2005 citado por Ramírez y Rivera, 2009, señalaron que no hubo presencia de mohos y levaduras, coliformes totales y fecales en yogures durante 28 días de almacenamiento, debido a que la viabilidad de las bacterias lácticas protegen al producto de los microorganismos patógenos.

4. Discusión

Como menciona Brandão, 1995 citado por Sabrina, 2007; el pH está generalmente situado entre 4.20 y 4.40, aunque puede presentar valores bajos, como 4.04 considerado el ideal (por no estar excesivamente amargo o ácido el yogur).

Por otro lado Kroger, 1976 citado por Rodríguez, 2009; demostró que a pH entre 3.90 y 4.10 da al producto un sabor desagradable.

Comparado los valores de pH, de todas las muestras de los yogures comercial (A, B, C y D) a diferentes temperaturas, se observa que los valores de esta propiedad están dentro del rango mencionado citado por Sabrina, 2007.

Contrariamente a nuestros resultados existen otros estudios realizados, como el de Tealdo, (1989) citado por Adriana (2002); quien demostró que los yogures que fueron almacenados a 4 °C por 35 días mostraron una disminución del pH de 3,77 a 3,64; llegando a la conclusión que hubo una disminución significativa en el pH, que conduce a una menor aceptación.

Como se observa en las figuras 1 y 2, se pudo comprobar que en los yogures almacenados a 4°C hay un descenso menos marcado en comparación con los yogures almacenados a temperatura ambiente. La razón por la cual se da esta diferencia en el descenso del pH, es por el aumento del tiempo y temperatura de almacenamiento. Dicho de otra manera el pH de los yogures evaluados es inversamente proporcional al tiempo y temperatura de almacenamiento, ya que la

actividad metabólica de las bacterias provocó la hidrólisis enzimática de la lactosa en glucosa y galactosa, siendo la glucosa formada posteriormente y descompuesta a ácido láctico. La formación de ácido láctico provocó un descenso en el pH, durante el almacenamiento del yogur.

Comparando los valores de acidez, obtenidos en las diferentes temperaturas de almacenamiento con los valores de porcentaje de ácido láctico establecido por la Norma del Codex para Leches Fermentadas “CODEX STAN 243-2003”, que indica como mínimo 0.3% de ácido láctico y la Norma Técnica Peruana 202.092:2004 “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Yogur o yogurt. Requisitos” que indica que el rango es 0,6 - 1,5% de ácido láctico, se observa que los resultados obtenidos si están dentro del rango permitido por dichas normativas.

Nuestros resultados también concuerdan con Ankenman, 1996; quien describe que la acidez de un yogur debe oscilar entre 0.80 a 1.80 % de ácido láctico.

Existen muchos reportes donde el porcentaje de acidez se incrementa al final del período de almacenamiento, como el que menciona Salji e Ismail , 1983 citado por Sabrina, 2007; que evaluaron el efecto de la acidez inicial de yogur natural y los cambios de dicha acidez durante el almacenamiento, ellos encontraron que los máximos cambios en acidez ocurren durante la primera semana de almacenamiento; este incremento en la acidez se observa en las figuras 25 y 26 que representa la variación de la acidez expresada en el porcentaje de ácido láctico de los yogures comerciales durante los 35 días de almacenamiento.

Tal como indica Wong ,1995 citado por Pereira, 2008 quien señaló que la viscosidad del gel disminuye con los pH ácidos, dado que las proteínas se solubilizan a pH bajos; y también a la cantidad de sólidos totales. Los cambios en la viscosidad del yogur dependen de una serie de factores propios de las proteínas tales como el tamaño molecular, forma, carga superficial, tipos de proteína, etc.; factores que se ven influenciados por la temperatura de almacenamiento. (Corzo, 1988 citado por Sabrina, 2007)

Por otro lado Shaker *et al.*, 2000 citado por Hernández, 2004; observaron que la viscosidad depende del porcentaje de grasa en la leche empleada para elaborar yogur.

5. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se puede concluir que:

En las cuatro marcas comerciales de yogurt A, B, C, y D , almacenadas a 4 °C y 19°C , se observó una superioridad de 2 a 5 ciclos logarítmicos del contenido de *Streptococcus* sobre *Lactobaccillus*, mostrando a la vez ambas bacterias su tendencia a la disminución conforme avanzaban los días en almacenamiento.

Las marcas A, C y D almacenadas a 4°C presentaron recuentos no menores de 10^7 UFC/ml cumpliendo satisfactoriamente con la cantidad necesaria de cultivos iniciadores que propone como valor mínimo 10^7 UFC/ml , según el CODEX STAN 243-2003 y la y NTP 202.092:2004 “Leche y Productos Lácteos. yogurt o yogur a lo largo de toda su vida de anaquel almacenado a 4 ° C.

Las marcas A, B y C almacenadas a $19\pm 1^\circ\text{C}$ presentaron recuentos de 1.20×10^6 UFC/ml , 1.81×10^6 UFC/ml , 2.81×10^6 UFC/ml no cumpliendo con la cantidad necesaria de cultivos iniciadores que propone CODEX STAN 243-2003 y la y NTP 202.092:2004 “Leche Y Productos Lácteos. Yogurt o yogur a lo largo de toda su vida de anaquel almacenado a 4 ° C.

A temperatura ambiente a partir de los 7 días de almacenamiento se observó una leve disminución de la población ácido láctica en las cuatro marcas comerciales estudiadas. Mientras que a temperatura de refrigeración a partir de los 21 días. No existiendo diferencias

significativas entre los recuentos totales de las poblaciones lácticas almacenadas a temperatura ambiente y refrigeración.

En la primera semana el contenido de ácido láctico en las muestras A, B, C y D almacenadas en refrigeración fueron 0.79 % , 0.80% , 0.89% y 0.82 % de ácido láctico respectivamente, aumentando gradualmente en la sexta semana a 0.98% , 0.95%, 1.15% y 1.03%.

En la primera semana el contenido de ácido láctico en las muestras A, B, C y D almacenadas a temperatura ambiente fueron 0.83%, 0.84%, 0.93%, 0.98% llegando alcanzar hasta la sexta semana 1.19%, 1.31%, 1.27% y 1.25% de ácido láctico respectivamente.

Los valores de pH en los yogures refrigerados en la primera semana en las muestras A, B, C y D fueron 4.43 ,4.37, 4.36 y 4.43 respectivamente; descendiendo gradualmente en la sexta semana a valores de 4.32, 4.25 ,4.28 y 4.28 respectivamente.

En la primera semana los valores de pH en las muestras A, B, C y D almacenadas a temperatura ambiente fueron 4.42, 4.35, 4.34, 4.40 llegando descendiendo gradualmente en la sexta semana a valores de 4.27, 4.22 , 4.23 , 4.24 respectivamente.

La temperatura es el factor más importante capaz de modificar la viabilidad de las bacterias ácido lácticas debido a que mayores temperaturas causaron menor viabilidad en el yogurt.

Al final de los 35 días de almacenamiento del yogurt no se registró presencia de hongos y levaduras, cumpliendo lo establecido por la NORMA del CODEX para leches fermentadas “CODEX STAN 243-2003” y la Norma Técnica Peruana 202.092:2004 “Leche y Productos Lácteos. Yogurt o yogurt. Requisitos”.

6. Referencias

- ADRIANA FURLAN MARTIN. (2002). Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bacterias lácticas. Tesis presentada para la obtención de título de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Sao Paulo
- ALAIS, CHARLES.(1985). Ciencia de la Leche. Barcelona, Editorial Reverté.2ªEdicion
- ALATRISTE, K. J. (2002). Efecto de la adición de fibra y calcio en un yogurt con sabor. Tesis de Licenciatura. UDLA Puebla, México.
- AMIOT, J. (1991). Ciencia y Tecnología de la Leche, Editorial Acribia S.A. Capítulo IV, páginas 111 – 124; Capítulo XV, páginas 423 – 447
- ANTUNES, A.; CAZZETTO, T.; BOLINI, H.(2005). Viability of probiotic microorganism during storage, post-acidification and sensory analysis of fast-free yogurts with added whey protein concentrate. *International Journal Dairy of Technology* .v 58 pag 169-173
- ANZALDUA MORALES A .(1994) .Evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y práctica Editorial Acribia . Zaragoza.2ªEdicion.
- AOAC. Association of official analytical chemist. (1984). Official methods of analysis. Décimo cuarta edición. Arlington, Virgilia. E. U. A. Ed. The William Byrd.
- ALVARADO, E. (1991). Técnica modificada y uso de *Streptococcus lactis* en la elaboración de yogurt. Tesis Lic. Zootecnia. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- BIROLLO , G. Y REINHEMER , J.A .(1998). Influencia del tipo de yogurt sobre la viabilidad de la Microflora Lactica. Trabajo experimental en la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral – Santa Fe Argentina, extraído de La Revista Argentina de Lctología –Nº17-1998
- BADUI, D. S. (1993). Química de los alimentos. Ed. Alambra Mexicana. México, D.F. Pag.. 27, 48-53, 76, 84-93..2ªEdición

- BRANDÃO, S. C. C.(1995). Tecnologia da produção industrial de iogurte. *Leite & Derivados*,v.4: Pag.24-38
- CARBAJAL CUELLAR DULCE. (2004). Estudio del comportamiento fisicoquímico y reologico de un queso untable. Tesis para obtener el título en maestría en Ciencia de Alimentos. Universidad de las Américas Puebla, extraído de la pagina (http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mca/carvajal_c_dm/capitulo4.pdf).02-12-2011
- COBO, J. M. (2000). Probióticos: Bacterias que promocionan la salud. Nutritional Newsletter. Danone. España.
- COLÍN. C. MA; Colín O. J ; Mejía R. ML (2006). Supervivencia de *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* durante el almacenamiento. Extraído de la página (www.alfa-editores.com/carnilac/Oct%20.../supervivencia.pdf) 07- 08-2011
- DESROSIER, NORMAN. (1992). Elementos de tecnología de Alimentos. Editorial Continental .México 678 p.2ªEdicion.
- DÍAZ, M.; PADRÓN, G.; MARANTE, R. (1989).Evolución de los microorganismos de interés higiénico-sanitario en yogures comerciales. *Alimentaria*, v.26: Pag.51-55.
- DAVIDSON, R. H., DUNCAN, S. E., HACKNEY, C. R., EIGEL, W. N. Y BOLING, W. J. (2000).Probiotic culture, survival and applications in fermented frozen yogurt characteristics. *J.Dairy Science*. v.83Pag.666-673
- FENNEMA, O. R. (1996). Química de los alimentos. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza, España. Pag. 38-47, 56-78.1ªEdición
- FERREIRA, C.L.L.F. (2001). Productos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos. 2.Edición. Viçosa: UFV. Pag 65-84
- FRAZIER, W. C. (1978).Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. 3ª Edición, Zaragoza.
- GARCIA, S.; VALLE, J. L. E. (1986). Obtenção de fermentos lácticos termófilos para a utilização em iogurte. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v.23, n.1, Pag.61-85
- GOMEZ HERAS, JUAN. (1999). Métodos de Control de Acidez en Yogur. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo
- GURGEL, M. S. C. C. A.(1994) .Teor de tirosina como parâmetro das alterações físico – químicas do iogurte. Piracicaba,. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- HERNANDEZ, PAOLA.(2004).Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y reologicas de yogurt bajo en grasa enriquecido con fibra y calcio de yogurt .Tesis para obtener el título en Maestría en Ciencias de Alimentos. Universidad de las Américas Puebla
- HERNANDEZ, ALFONSO. (2007). Aislamiento, caracterización y detección precoz de bacteriófagos de *Streptococcus Thermophilus* en la industria láctea. IPLA. CSIC Oviedo, extraído de la página(<http://digital.csic.es/handle/10261/5344>).06-07-2011.
- ILLESCAS, C. E. (2001). Curso teórico practico sobre lactología. Pag 13-17, 67-73. Instituto de Salud Pública de Chile,(2010) “Recuento de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en yogur por el Método PRT-712.02-047 (http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2011/01/PRT-712.02-047%20V2%20Lactobac%20y%20Strept%20yogurt.pdf) 12-05-2011
- JELLEN, P. Y LUTZ, S. (1998). Alimentos funcionales, Aspectos Bioquímicos Funcionales y de Procesado. Editor G. Mazza. Editorial Acribia, S.A. Pag 355-363
- KAILASAPATHY , K.;HARMSTOR ,I.; PHILLIPS,M.(2008) Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis ssp.lactis* in stirred fruit yogurts. *Food Science and Technology*, v. 41: Pag. 1317 – 1322
- KEATING,P.;GAONA,H. (1999).Introduccion a la Lactologia. Editorial Limusa. México
- LAGARRIGA, J; DEL CASTILLO SHELLY, R.(2004) “Productos lácteos. Tecnología”. Capítulo 6“Leches fermentadas”. Edicion UPC, España.

- LORA, M.(1996) . Manual de prácticas de tecnología de leche. UNALM. Lima – Perú.
- MAGARINOS HAROLDO. (2000). Producción higiénica de la leche cruda, extraído de la página (http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/LA_LECHE/leche.htm) 10/11/20011
- MENDOZA ROMERO LÁZARO MARIO. (2007) Proceso de Elaboración de Yogur Batido, extraído de la pagina (<http://www.textoscientificos.com/alimentos/yogur>) 21 – 09 -11
- MORAIS, J. (2004). Estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas aisladas de leche cruda de oveja guirra para la elaboración de queso. Universidad autónoma de Barcelona. 134p.
- MULLER, H. G. (1977). Introducción a la reología de los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España. Pag.174-180 2ºEdición
- NORMA TÉCNICA PERUANA NTP 202.092.(2004) “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Yogur o yogurt. Requisitos”.
- NORMA DEL CODEX PARA LECHE FERMENTADAS CODEX STAN 243-(2003) Extraído de la Página ([http:// www.codexalimentarius.net/download/standards/400/ CXS_243s.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/400/CXS_243s.pdf)) 05-05-2011
- PEREIRA MUNDIM SÍLVIO ANDRÉ , (2008) “Elaboração de Iogurte Funcional com Leite de Cabra, saborizado com Frutos do cerrado e Suplementado com Inulina. Tesis para obtener el título de Magister en ciencias de los alimentos, del Programa de Tecnología de Procesos Químicos y Bioquímicos de la Universidad de Federal do Rio de Janeiro.
- PINERA CELIO EDILBERTO. (2001), extraído (<http://www.fortunecity.com>) 04-03-2011
- RUIZ RIVERA J.A. Y. RAMÍREZ MATHEUS A.O. (2009). Elaboración de yogurt con probióticos (*Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina , del Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101. Aragua. Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2009, v26: Pág. 223-242
- RODRIGUES MORETTI BRUNA.(2009).Efeito da suplementação do leite com proteínas de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e da composição da cultura láctica em iogurtes. Dissertação para obtenção do título de Mestre Engenharia e Ciência de Alimentos Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho
- ROSALES, María M. (2006).Determinación del contenido de grasa en yogurt entero y descremado de marcas comerciales expandidas en la ciudad capital. Tesis para obtener el título de Química Farmacéutica. Universidad San Carlos de Guatemala
- ROMERO DEL CASTILLO ROSER .(2004).Productos Lácteos. Editorial Norma.
- RAMIREZ, JOSE (2010) Evaluación de la viabilidad según iso 7889/idf 117 de los cultivos iniciadores *streptococcus thermophilus* y *lactobacilus bulgaricus* en yogurt y helado en almacenamiento y validación de un método para la enumeración del probiótico *bifidobacterium lactis*. Informe de Trabajo Final de Graduación. Instituto Tecnológico de Costa Rica
- RATO ALINA MARIA, VEGA LETTE CLARA,GARRIDO ALVA TULA.(1983) Control microbiológico de leche y productos lácteos métodos.Editorial Cleiba Tipografía Sesator
- ROJAS CASTRO WENDY NATALIA, CHACONVILLALOBOS ALEJANDRO, PINEDA CASTRO MARIA LOURDES. (1996). Características del yogurt batido de fresa derivadas de diferentes proporciones de leche de vaca y cabra extraído de la página (http://www.mag.go.cr/rev_meso/v18n02_221.pdf)01-03-2011
- SABRINA SABRINA DA SILVA.(2007).Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico. Dissertação de mestrado Santa Maria, RS, Brasil.

- SIGRID MENNICKENT, KARINA GREEN. (2009). Los probióticos y su utilidad terapéutica, extraído de la página ;(<http://www.ciencia-ahora.cl/Revista24/04PROBIOTICOS.pdf>), 14-01-12
- STANLEY, G. (1998). Microbiología de los productos lácteos fermentados. Zaragoza .Ed. Acribia.1ªEdición
- SPREER, E. (1975). Lactología industrial. 2da. Edición. Editorial Acribia, Zaragoza España. Pp 17–27, 72–79.
- STEVENS G. (1996), extraído (<http://www.ind.com/KitcheNet>).03-05-2011
- SALABURU, MARTA .(2011). “Bacterias Acido Lácticas en yogures bebibles comerciales: evaluación de su viabilidad hasta la fecha de vencimiento en diferentes marcas, sabores y temperaturas de mantenimiento”,
- TAMIME Y ROBINSON . (1984).Microbiología de leches fermentadas. Editorial Acribia España.2ªEdición
- TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. (1991); Yogur Ciencia y Tecnología.Editorial Acribia Zaragoza 2ªEdición
- TORTORA, G, FUNKE, B, CASE, C. (2007) “Introducción a la Microbiología” Editorial Acribia, Zaragoza, España. Pág 6, Pag. 176-179
- VARNAM; A. H.; SUTHERLAND, J. P. (1994).Leche y Productos Lácteos: Tecnología, química e microbiología. Zaragoza: Acribia..1ªEdición
- VÁZQUEZ AGUILAR, MARÍA MIRIAM , DR. AURELIO LÓPEZ MALO VIGIL , ENRIQUE GARCÍA MTRA. NORMA ANGÉLICA SANTIESTEBAN LÓPEZ . (2008). Viabilidad y propiedades fisicoquímicas de una leche fermentada probiótica con *Lactobacillus plantarum* .Tesis de Maestría de la Universidad de las Americas de Puebla – México. Extraído de la pagina (http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mca/vazquez_a_mm)23-03-2012
- VEDAMUTHU, E. R. (2006). Cap. 6. Starter Cultures for Yogurt and Fermented Milks.En: Chandan, R. C. 2006. Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. Blackwell Publishing. 2006. Iowa USA. Pag: 89-93
- VEISSERE, ROGER. (1992)Lactología Técnica. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- VELEZ. (2007). Las propiedades reológicas de los productos lácteos seleccionados, extraído de la página (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9227889>) 02 – 02-12
- VILLEGAS DE GANTE, A. (1997). Biotecnología Alimentaria .Limusa, México.
- WALSTRA, J. (1984). Lactología Fisicoquímica. Editorial. Acribia.España.