

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Elaboración de postre fermentado de almendra utilizando bacterias
provenientes de postre fermentado de soya

Trabajo de graduación en modalidad de Trabajo Profesional
presentado por
Sofía Muñoz Najarro
para optar al grado de Licenciada en Nutrición

Guatemala
2019

Elaboración de postre fermentado de almendra utilizando bacterias
provenientes de postre fermentado de soya

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades

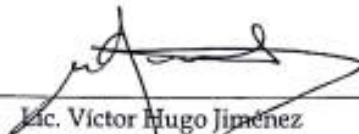


Elaboración de postre fermentado de almendra utilizando bacterias
provenientes de postre fermentado de soya

Trabajo de graduación en modalidad de Trabajo Profesional
presentado por
Sofía Muñoz Najarro
para optar al grado de Licenciada en Nutrición

Guatemala
2019

Vo.Bo.:

(f) 
Lic. Víctor Hugo Jiménez
Asesor

Tribunal Examinador:

(f) 
Lda. Ana Isabel Rosal Martínez

(f) 
Lda. Ana Silvia Colmenares

(f) 
Lic. Víctor Hugo Jiménez

Fecha de aprobación:

Guatemala, 3 de diciembre del 2019.

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS.....	ii
LISTA DE ILUSTRACIONES Y GRÁFICAS	iii
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
III. JUSTIFICACIÓN	3
IV. MARCO TEÓRICO.....	4
V. METODOLOGÍA	17
VI. RESULTADOS.....	23
VII. DISCUSIÓN	28
VIII. CONCLUSIONES	32
IX. RECOMENDACIONES.....	33
X. LITERATURA CITADA	34
XI. ANEXOS	38

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido nutricional de una porción de 100g de almendra seca.....	5
Cuadro 2. Contenido nutricional de una porción de 240ml de bebida a base de almendra .	6
Cuadro 3. Beneficios de la almendra y de la bebida a base de almendra	7
Cuadro 4. Contenido nutricional de una porción de 125g de distintos tipos de yogurt	9
Cuadro 5. Beneficios del yogurt	10
Cuadro 6. Bacterias ácido lácticas obligatorias y opcionales usadas para la producción de yogurt	12
Cuadro 7. Características generales de cepas ácido lácticas utilizadas frecuentemente para la elaboración de yogurt.....	13
Cuadro 8. Operacionalización de las variables a evaluar	19
Cuadro 9. Recuento de UFC en el postre a base de bebida de almendra.....	23
Cuadro 10. Análisis descriptivo de la evaluación sensorial del postre a base de bebida de almendra.....	23
Cuadro 11. Análisis de acidez, dulzor y textura de la muestra utilizando la escala “Tal como me gusta”.....	24
Cuadro 12. Información nutricional del postre a base de bebida de almendra	25
Cuadro 13. Medición de estabilidad de pH del postre a base de bebida de almendra	26
Cuadro 14. Determinación del costo aproximado de 1 litro del postre a base de bebida de almendra.....	26
Cuadro 15. Determinación del rendimiento del postre a base de bebida de almendra	27

LISTA DE ILUSTRACIONES Y GRÁFICAS

Ilustración 1. Aceptación del postre de bebida a base de almendra.....	24
Ilustración 2. Evaluación de acidez, azúcar y textura del postre a base de bebida de almendra utilizando la escala “Tal como me gusta”	25

RESUMEN

El objetivo consistió en elaborar un postre fermentado a base de bebida de almendra artesanal, utilizando cepas ácido lácticas extraídas de un postre fermentado de soya. Por lo que se utilizaron dichas cepas junto con cepas puras y provenientes de un suplemento. Las mismas fueron sometidas a diversos tratamientos en donde se manipularon distintas variables. Con el tratamiento que dio mejores resultados se elaboró el postre, al cual se le realizó un análisis microbiológico, sensorial y proximal. Como resultado se obtuvo que el producto cumplía con los requisitos del RTCA, evidenciando seguridad para su consumo. En cuanto al análisis proximal se determinó que 125g del producto aportan 83 calorías, 9 g de proteína, 1 g de grasa y 9 g de carbohidratos. Al comparar con el postre comercial, se obtuvo que el elaborado tiene cuatro veces más proteína, cinco veces menos grasa, la mitad de carbohidratos y 1.5 veces menos calorías. En cuanto a costo, el producto elaborado es 2.5 veces más barato que el postre comercial, por lo que no sólo es competitivo nutricionalmente, sino que también económicamente. Por otro lado, en el análisis sensorial se determinó que, en todos los aspectos, el producto les gustó entre “ligeramente” a “mucho” a los panelistas. Los niveles de acidez y dulzor se encontraban tal como les gusta a los mismos; mientras que la textura no era lo suficientemente firme. Por lo que se recomienda modificar el porcentaje de sólidos en la formulación, para tener una mejor aceptación de textura.

I. INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son microorganismos que promueven la fermentación de alimentos como yogurt, quesos, carnes, vinos, entre otros. Las mismas no solo contribuyen a una mejor conservación de los alimentos, sino que también optimizan las características sensoriales de los alimentos y ofrecen beneficios para la salud del consumidor (Ramírez *et al.*, 2011). Para que dichas bacterias se proliferen es necesaria la presencia de azúcares (lactosa y glucosa), vitaminas y aminoácidos. El sustrato de preferencia de las BAL es la leche, la cual, al fermentarse se convierte en un yogurt. (Parra, 2012). Para que esto suceda se debe agregar *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, ya que éstas cepas actúan sinérgicamente para la producción de un yogurt con características sensoriales aceptables. Además, para que la fermentación sea exitosa, el yogurt debe contar con un conjunto de variables que propicien un adecuado proceso. Entre éstas se encuentra la presencia de lactosa, caseína y un contenido de sólidos elevado. (Chandan *et al.*, 2006) Por ello que todos los lácteos son el sustrato ideal para la elaboración de yogurt.

Debido al cambio de hábitos alimenticios, se ha visto la necesidad de elaborar productos no lácteos incluyendo yogurt o, mejor dicho, postres fermentados no lácteos. Pero el desarrollo de los mismos se ha vuelto un reto, ya que dichos sustratos no tienen los elementos mencionados previamente para que la fermentación se dé de manera eficiente. Sin embargo, esto no ha sido una limitante ya que mundialmente se tienen varias opciones de postres no lácteos como el postre fermentado de soya, coco, almendra, entre otros (FONA, 2018) Dichos productos responden a necesidades específicas como intolerancia a la lactosa, veganismo, lacto-vegetarianismo, alergias a la proteína de la leche de vaca o tendencias de alimentación saludable. Pero a nivel de Guatemala se tienen pocas opciones de productos no lácteos, incluyendo únicamente solo una opción de postre fermentado de almendra.

II. OBJETIVOS

A. General

1. Elaborar un postre fermentado a base de bebida de almendra artesanal, utilizando cepas ácido lácticas extraídas de postre fermentado de soya.

B. Específicos

1. Aislar las cepas ácido lácticas provenientes de muestras de postre fermentado de soya comerciales.
2. Caracterizar bioquímicamente las cepas aisladas de muestras de postre fermentado de soya.
3. Evaluar las características sensoriales y nutricionales del postre fermentado preparado a base de bebida de almendra utilizando las cepas de bacterias ácido lácticas provenientes de las muestras del postre fermentado de soya.

III. JUSTIFICACIÓN

Debido a los cambios en los hábitos alimenticios, se afirma que el consumo de productos alternativos a los lácteos está aumentando significativamente. (FONA, 2018) Esta demanda no se está satisfaciendo por completo ya que en el mercado hay pocas opciones y las mismas tienen un contenido nutricional inferior al de los productos lácteos.

Actualmente se encuentra en el mercado una marca comercial de postre fermentado de bebida de almendra tanto en Guatemala como en otros países. Pero el mismo tiene bajo contenido de proteínas y un alto contenido en azúcares, por lo que no es una opción nutricionalmente similar a un yogurt lácteo. Es por ello que se deben de realizar productos saludables que se asemejen a los productos lácteos, para darles otra opción a todos los consumidores de alimentos no lácteos. Entre estos se encuentran los veganos, lacto-vegetarianos, intolerantes a la lactosa y personas con alergia a las proteínas de la leche de vaca; los cuales pueden ser un cliente potencial para el producto. Asimismo, también puede ser comprado por personas que no tienen estas condiciones, sino que simplemente deseen consumirlo.

El desarrollo del producto a nivel nacional, sería completamente nuevo ya que la única marca de postre fermentado de bebida de almendra es internacional. Además, para la realización de este producto, se requiere estudiar las cepas ácido lácticas con características metabólicas y reológicas adecuadas, para funcionar como una posible fuente de cultivo. Una vez comprobada su capacidad de crecer en postre fermentado a base de bebida de almendra, las mismas se podrán utilizar para la elaboración de otros productos.

Por último, se debe mencionar que la utilización de almendra en vez de usar leche de soya o leche de vaca, disminuye la emisión de gases invernadero causantes del calentamiento global. Ya que la producción de bebida a base de leche de almendra (base del producto a elaborar) emite aproximadamente 0.42 kg CO²-eq/kg, mientras que la leche de soya produce 0.75 CO²-eq/kg y la leche de vaca produce 1.29 CO²-eq/kg. Es por ello que dicho producto es más amigable ecológicamente que los otros. (Clune, Crossing y Verghese, 2017)

IV. MARCO TEÓRICO

A. Almendra y bebida a base de almendra

1. Definición.

La almendra es la parte comestible de la semilla del fruto de los árboles de almendro, por lo que se le denomina como un fruto seco. Mide de 1 a 2 cm de largo, teniendo una forma aplanada semejante a una gota. Por su sabor dulce es utilizada para la elaboración de varias recetas y productos culinarios, entre estos se encuentra la bebida a base de almendra. Esta última es una emulsión de aceite en agua, la cual es termodinámicamente estable debido a que las proteínas presentes en la misma actúan como emulsificantes evitando así la separación de fases. Dicho producto es natural, el cual tiene un color blanquecino y posee un sabor ligero y dulce. (Fundación Española de la Nutrición, 2013; Aishah, 2012)

La bebida a base de almendra se obtiene mediante la mezcla de almendras y agua, seguido por un proceso de filtración, adición de sólidos, homogeneización y pasteurización. Esta se caracteriza por tener un aporte bajo en proteína y otros nutrientes, por lo que no se puede comparar con la leche de vaca. Pero se puede fortificar con proteínas, vitaminas y minerales con el fin de asemejarse a la misma. Sin embargo, el Códex Alimentarius (CODEX STAN 206 GSUDT) establece que a éstas bebidas derivadas de plantas no se les llame “leches”, sino recomienda que se utilice el término de “bebida a base de”. Por otro lado, la FDA (Food and Drug Administration) denomina estos productos bajo el nombre de “imitación de leche” y los describe como los productos con características físicas y sensoriales parecidas a la leche, pero con un valor nutricional inferior a la misma. (Aishah, 2012; Swati, Tyagi & Anurag, 2016)

2. Información nutricional.

El macronutriente predominante en la almendra es la grasa (50%), la cual contiene una proporción mayor de grasa insaturada que de saturada; además la cantidad de grasa saturada es baja en relación a la que poseen otras nueces y semillas (pecanas, pistachos, marañón, maní, entre otras). La proteína presente en la almendra es de origen vegetal, la cual representa un 21.2% del total; además dicho alimento es rico en Riboflavina, vitamina E, fósforo, potasio, magnesio, cobre, hierro, zinc, calcio y manganeso. También, tiene poli-esteroles los cuales interfieren con la absorción del colesterol y tiene alto contenido de fibra la cual brinda un efecto prebiótico. (Richardson *et al.*, 2009; Bolling, 2016) Toda esta información nutricional se muestra resumida en el Cuadro 1:

Cuadro 1. Contenido nutricional de una porción de 100g de almendra seca

Nutriente	Contenido	Declaración Nutricional
Energía	349-575 kcal	-
Proteína	21.22-21.94 g	-
Grasa saturada	3.73-3.89 g	-
Grasa mono saturada	30.89-32.29 g	-
Grasa poli insaturada	12-0512.07 g	-
Azúcar	3.89	-
Fibra dietética	10.40-12.20 g	-
Calcio	216-264 mg	Alto
Hierro	3.72 mg	Fuente
Magnesio	268-275 mg	Alto
Fósforo	480-484 mg	Alto
Potasio	687-705 mg	Alto
Zinc	3.08-3.12 mg	Alto
Cobre	1.00 mg	Alto
Manganeso	2.28 mg	Alto
Tiamina	0.21 mg	Fuente
Riboflavina	0.56-1.01 mg	Alto
Niacina	3.38-3.66 mg	Fuente
Folato	30-50 µg	Fuente
Vitamina E (α-Tocoferol)	26.22 mg	Alto

*Nota: Se tomó en cuenta como “fuente” al nutriente con un aporte del 15% del requerimiento dietético recomendado por 100g y “alto” a un aporte del 30%.

(Adaptado de Richardson *et al.* 2009; INCAP, 2012)

Por otro lado, la bebida de almendra tiene un bajo contenido energético (41 a 59 kcal por 240ml) que representa un tercio de las calorías que aporta una porción de 240ml de leche de vaca entera. Algunas variedades comerciales pueden aportar hasta 90 calorías por taza, pero las mismas son altas en azúcares (16g por porción). Generalmente la bebida a base de almendra suele estar diluida en una gran cantidad de agua, lo cual permite la reducción del contenido energético, pero también la disminución de nutrientes presentes en la almendra (entre estos las proteínas). En el Cuadro 2 se muestra con mayor detalle la composición nutricional de dicho producto. (Parrish, 2018; Dyner *et al.*, 2015)

Cuadro 2. Contenido nutricional de una porción de 240ml (8 oz) de bebida a base de almendra

Nutriente	Contenido
Energía	41 - 59 Kcal
Proteína	1.00 - 1.70 g
Grasa	2.50 - 4.01 g
Carbohidratos	4.01 - 6.00 g
Fibra	0.7 - 1.0 g
Azúcar	3.00 - 5.00 g
Calcio	450 - 451 mg
Hierro	0.71 - 0.72 mg
Potasio	180 mg
Sodio	149 - 161 mg
Riboflavina	0.034 - 0.424 mg
Vitamina A	499 - 500 IU
Vitamina D	89 - 100 IU

(Adaptado de Alozie y Udofia, 2015; Parrish, 2018)

3. Beneficios.

Los beneficios de la almendra y de la bebida a base de almendra son numerosos siempre y cuando se tenga un consumo frecuente de las mismas. Estos se encuentran en el Cuadro 3:

Cuadro 3. Beneficios de la almendra y de la bebida a base de almendra

Beneficio	Descripción
Disminución de la disfunción cognitiva del cerebro	Los polifenoles, folato, grasas mono y poli-insaturadas previenen la disfunción cognitiva del cerebro asociada a la edad.
Reducción de los niveles de colesterol en sangre	La presencia de ácidos grasos poliinsaturados, antioxidantes y poli esteroides, disminuye los niveles de colesterol sérico y mejoran la función endotelial. Por lo que se reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares.
Disminución de afecciones cardíacas	Al contener vitamina E, se disminuye el riesgo de formación de placas arterioscleróticas, reduciendo el riesgo de un infarto cardíaco o de una muerte cardíaca súbita.
Disminución de aumento de peso y riesgo de padecer diabetes	Al tener alta cantidad de fibra, se atenúa el aumento de la glicemia postprandial. Además, por su contenido de grasa da saciedad disminuyendo así la ganancia de peso a lo largo del tiempo.
Efecto prebiótico	Los residuos intestinales de la almendra son sustrato para el crecimiento de <i>Bifidobacteria</i> y <i>Enterobacterium rectale</i> ; ejerciendo un efecto prebiótico.
Reducción de riesgo de enfermedades crónicas degenerativas	La presencia de antioxidantes ejerce un efecto protector contra el estrés oxidativo, disminuyendo así el riesgo de padecer enfermedades crónicas degenerativas.
Disminución de afecciones óseas	Contienen calcio, fósforo, magnesio y ácidos grasos lo cual contribuye al mantenimiento adecuado de los huesos. Además, ejerce un efecto protector contra la osteoporosis en mujeres post menopáusicas.
Reducción de Inflamación	El consumo de almendra disminuye la elevación de indicadores de inflamación como la proteína C reactiva y la Interleucina 6.
Consumo seguro para poblaciones con alergias específicas	La bebida de almendra no contiene lactosa ni proteína de leche de vaca, por lo que es un alimento seguro para poblaciones con problemas con estos alérgenos.
Reducción del calentamiento global	La bebida a base de almendra emite una menor cantidad de gases invernadero. Mientras que la leche de soya emite aproximadamente el doble y la leche de vaca emite el triple. Por lo que el consumo de bebida a base de almendra es más eco-amigable que el consumo de estos otros productos.

(Zehra *et al.*, 2016; Richardson *et al.*, 2009; Kamil y Chen, 2012; Platt *et al.*, 2011; Clune, Crossing y Verghese, 2017)

B. Yogurt

1. Definición y tendencias de consumo.

Alimento obtenido mediante la fermentación de bacterias ácido lácticas (BAL) y el azúcar presente en un producto lácteo. Las bacterias contenidas en este producto son *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, las cuales deben estar presentes en una concentración de 1×10^7 colonias por gramo o mililitro para que sea un producto seguro para el consumidor. El yogurt natural se caracteriza por ser cremoso, brillante, homogéneo y con un color blanquecino. Además, puede tener una textura firme, semi-líquida o fluida. Para que un producto se denomine con el nombre de “yogurt” debe tener un contenido de grasa mayor o igual al 3.0 % del total; mientras que yogurt bajo en grasa o sin grasa debe tener un contenido de 2 a 0.5% respectivamente. (Trachoo, 2002; Parra, 2012; Tamime, 2006)

Actualmente en Guatemala se gastan aproximadamente Q585,600,000.00 al año en consumo de yogurt lácteo. Es importante mencionar que a lo largo del tiempo también ha ido aumentando el consumo de postres fermentado no lácteos. En un estudio realizado por el FONA en el 2018, se estimó que mundialmente la población gastaba \$5.8 millones en productos alternativos a los lácteos. Esto se debe a la existencia de alergias e intolerancias que pueden causar éstos productos (intolerancia a la lactosa y alergia a la proteína de la leche de vaca). Por lo que existe una tendencia para la producción de alimentos sin alérgenos, sanos y que no dejen una huella de carbono tan alta, como la de los lácteos. (Ministerio de Economía, 2018; Crossing y Verghese, 2017)

Dentro de los productos no lácteos existentes, se encuentra el postre fermentado de soya el cual es una alternativa con una buena fuente de proteína de bajo costo. Pero el mismo tiene problemas de aceptación ya que el sabor del grano de soya es intenso y provoca flatulencias. Esto se debe a la liberación de metano, dióxido de carbono e hidrógeno provenientes del metabolismo de los oligosacáridos de la soya. Por lo que se han desarrollado postres fermentados con bases no lácteas con marañón, coco, almendras, entre otros. Los cuales son aceptados, pero deben mejorar aspectos como el contenido nutricional/azúcar, textura y cremosidad. (Robinson y Tamime, 2007; FONA, 2018)

2. Información nutricional.

El yogurt lácteo está compuesto por carbohidratos, proteínas, grasas y micronutrientes como calcio, hierro, fósforo, magnesio, vitamina A, D, B2 y B12. El carbohidrato predominante es la lactosa, la cual sirve como sustrato para la fermentación; también contiene proteínas lácteas (caseína y proteína de suero), colesterol y fosfolípidos. En cambio, el postre fermentado no lácteo tiene una composición similar a excepción de que los mismos carecen de lactosa, pero contienen azúcares añadidos y su fuente proteica es de origen vegetal la cual no tiene la misma calidad nutricional que la proteína láctea. Y, por último, no tienen colesterol ya que poseen grasas insaturadas que son beneficiosas para la salud. La composición nutricional algunos tipos de yogurt se encuentra resumida en el siguiente cuadro: (Sánchez, Sánchez y Salas, 2016; Walsh, 2017)

Cuadro 4. Contenido nutricional de una porción de 125g de distintos tipos de yogurt

Nutriente	Contenido en yogurt de leche entera	Contenido en yogurt descremado	Contenido en postre fermentado de soya	Contenido en postre fermentado de almendra
Energía	76 kcal	70 kcal	83 kcal	124 kcal
Proteína	4.34 g	7.16 g	3.30 g	2.33 g
Grasa	4.06 g	0.23 g	2.20 g	5.75 g
Carbohidratos	5.83 g	9.60 g	12.11 g	15.83 g
Fibra	0.00 g	0.00 g	0.5 g	1.42 g
Calcio	151 mg	249 mg	165 mg	189.8 g
Hierro	0.06 mg	0.11 mg	-	-
Fósforo	119 mg	196 mg	-	-
Magnesio	15 mg	24 mg	-	-
Potasio	194 mg	319 mg	-	-
Sodio	58 mg	96 mg	16 mg	66.5 mg
Riboflavina	0.18 mg	0.29 mg	-	-
Cobalamina	0.46 µg	0.76 µg	-	-
Vitamina A	34.0 µg	2.50 µg	-	-

(Adaptado de INCAP, 2012; USDA, 2018; Silk, 2019)

3. Beneficios.

Las bacterias ácido lácticas contenidas en el yogurt son del género *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, las cuales son probióticos que promueven varios beneficios en la salud del consumidor; ya que afectan positivamente al mejorar el balance microbiano intestinal. Estas cepas deben ser seguras para el consumo, se deben adherir con facilidad a las células intestinales humanas, deben ser antagonistas de bacterias carcinogénicas/patogénicas y deben ser estables ante la bilis y ácidos. Para obtener sus beneficios, el consumo debe ser frecuente y el yogurt debe tener una dosis aproximada de 10⁵ a 10⁶ unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro. Los beneficios se mencionan a continuación: (Chandan y Kilara, 2013; Parra, 2012)

Cuadro 5. Beneficios del yogurt

Beneficio del yogurt	Descripción del beneficio
Desarrollo de la Microflora intestinal y reforzamiento del sistema inmune	El intestino humano está poblado por bacterias, las cuales tienen varias funciones en el cuerpo. La más importante es la protectora, ya que funciona como sistema de barrera ante bacterias patógenas que pueden llegar a causar problemas en la salud. La reducción de ésta microbiota se puede ver afectada por el tipo de dieta, edad, uso de antibióticos, situaciones de estrés, estado de salud, pH, consumo de alcohol o disturbios gastrointestinales. Es por ello que el consumo de yogurt es elemental para la regeneración de microbiota perdida por todos éstos aspectos mencionados previamente.
Disminución de diarrea infecciosa	La diarrea infecciosa puede ser evitada o tratada con el consumo de yogurt, ya que este contiene probióticos que mejoran el equilibrio microbiano del intestino del huésped. Por lo que ofrece un efecto protector contra las infecciones gastrointestinales cuando son administrados durante las primeras fases de la diarrea.
Protección contra <i>Helicobacter pylori</i>	Los probióticos presentes en el yogurt secretan ácido láctico en el estómago estimulando la producción de prostaglandinas, las cuales protegen la mucosa gástrica inflamada característica, en una infección por <i>H. pylori</i> .
Disminución de tumores cancerígenos	En estudios con animales, se ha observado que el consumo de yogurt disminuye la formación y proliferación de tumores cancerígenos. Además, en estudios epidemiológicos se determinó que el consumo de leches que han sido fermentadas inhiben el proceso de carcinogénesis. Varios tipos de cáncer han sido tratados con yogurt que contienen cultivos probióticos. Entre éstos se encuentra: Cáncer colon-rectal, de vejiga y de seno.
Consumo seguro para intolerantes a la lactosa	Los lactobacilos presentes en el yogurt transforman la lactosa en ácido acético y ácido láctico, promoviendo una mejor digestión de la lactosa en el intestino. Esto hace que sea un alimento seguro para el consumo de esta población
Disminución de respuestas alérgicas	Algunos alérgenos promueven respuestas pro-inflamatorias en el intestino, las cuales pueden ser moduladas mediante los probióticos. Estos últimos reducen la inflamación mediante la estimulación de citoquinas supresoras de eventos pro-inflamatorios y la corrección del desbalance de linfocitos.
Aumento de mineralización ósea	El calcio contenido en el yogurt se encuentra más biodisponible que el calcio en productos no fermentados. Esto debe a que la producción de ácido láctico en la fermentación disminuye los niveles de pH, haciendo que el calcio se convierta en su forma iónica la cual se transporta por las células mucosas del intestino más fácil. Contribuyendo así a una mejor mineralización en los huesos.

Disminución del colesterol	Las leches fermentadas con <i>Lactobacillus acidophilus</i> reducen los niveles de colesterol sérico.
----------------------------	---

(Parra, 2012; Tamime, 2005; Chandan *et al.*, 2006)

4. Producción.

Inicialmente se debe recibir la leche la cual debe tener una carga bacteriana disminuida (máximo 1.0×10^5 UFC/g) para garantizar un producto final inocuo. A la misma se le realiza una estandarización del contenido graso mediante la adición de leche en polvo o por concentración al vacío o por membrana; el contenido graso debe ser de 0.1 a 5.0 g por 100 g de producto. Además, en esta etapa se deben agregar los sólidos no grasos ya que los mismos contribuyen a la textura final del producto; la adición de estos debe ser de aproximadamente 8.5–9.0g por cada 100 ml. En esta etapa también se agregan estabilizantes, endulzantes y aditivos, los cuales contribuyen a las características sensoriales del producto; entre éstos está la fructosa, sacarosa, miel, pectina, almidón, carragenina, goma guar, nisina, ácido ascórbico, benzoato, entre otros. (Tamime, 2006; Chandan *et al.*, 2006)

Luego se homogeneiza a 15-20 MPa y a 60-70°C para reducir los glóbulos de grasa a un tamaño menor o igual a 2.0 μ g, lo cual promueve una textura adecuada en el producto final. Dicho proceso se debe realizar a altas temperaturas ya que promueve una mejor dispersión de los glóbulos de grasa. Una vez homogeneizada, la leche pasa por la pasteurización en la que se reduce el contenido de bacterias no deseadas mediante la eliminación de oxígeno presente en la materia prima. Este proceso también promueve la desnaturalización de las proteínas, lo cual contribuye con la coagulación del yogurt. Este tratamiento se debe realizar por 30 min a 80-85°C o de 5-10 min a 90-95°C. (Tamime, 2006; Chandan *et al.*, 2006)

Se espera a que el producto se enfríe y en un rango de 30 a 45°C y se debe inocular la materia prima con las cepas ácido lácticas las cuales se deben agregar 2.0 ml por cada 100 ml, si se encuentran líquidas. Una vez inoculado, el yogurt debe almacenarse en envases de plástico los cuales deben sellarse en caliente con tapaderas de aluminio. Se incuban por aproximadamente 6 a 8 horas desde los 27°C hasta los 42°C, dependiendo de las cepas utilizadas. En dicho proceso se cuenta con todas las condiciones para que se lleve a cabo el proceso de fermentación. Al pasar el tiempo estipulado se debe interrumpir el crecimiento bacteriano introduciendo el yogurt al refrigerador (2-4°C), lo cual también promueve la formación del coágulo. Una vez terminado el proceso, el yogurt se debe almacenar en un refrigerador. (Tamime, 2006; Chandan *et al.*, 2006)

5. Aspectos microbiológicos.

Existen cultivos puros que contienen cepas ácido lácticas encargados de iniciar la fermentación, los cuales se encuentran en presentaciones de: cultivos líquidos frescos, congelados y liofilizados. Los primeros pierden su actividad en aproximadamente una semana, mientras que los congelados pueden durar de 2 a 12 meses según la temperatura a la que están congelados. Por otro lado, los cultivos liofilizados son los más utilizados ya que se conservan por más tiempo y pueden tener un contenido normal ($1,000 \times 10^6$ bacterias/g) o pueden estar concentrados ($100,000 \times 10^6$ bacterias/g). Las cepas iniciadoras son *Streptococcus thermophilus* (ST) y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (LD), las cuales son obligatorias al elaborar yogurt según la FDA. Dichas cepas se suelen acompañar con otras bacterias que suelen modificar el sabor y el aroma del yogurt; estas se muestran en el siguiente cuadro: (Chandan *et al.*, 2006; Bedolla *et al.*, 2004)

Cuadro 6: Bacterias ácido láctias obligatorias y opcionales usadas para la producción de yogurt

Bacterias obligatorias	<i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
Bacterias opcionales para yogurt lácteo	<i>Lactobacillus: acidophilus, casei, reuteri, helveticus, plantarum, fermentum, lactis, johnsoni, brevis</i> y <i>fermentum</i> .
	<i>Bifidobacterium: brevis, fermentum, bifidum, animalis, adolescentis, infantis, breve</i> y <i>longum</i> .
Bacterias opcionales para postre fermentado no lácteo	<i>Lactobacillus GG</i> y <i>Lactobacillus brevis</i> .

(Adaptado de: Chandan *et al.*, 2006; Tobía, 2003)

Las cepas iniciadoras se caracterizan por tener un crecimiento simbiótico por lo que fermentan de manera más eficiente en conjunto que por separado. Esto se debe a que LD tiene una mayor actividad proteolítica, por lo que aumenta la disponibilidad de proteínas necesarias para que ST fermente. Mientras que esta última produce ácido fórmico y disminuye la carga de oxígeno en el sustrato, aumentando la capacidad de crecimiento de LD. Para que se lleve a cabo éste proceso, dichas cepas utilizan como sustrato la glucosa, galactosa, lactosa y fructosa para la producción de ácido láctico. Y al complementar estas cepas obligatorias con cepas opcionales, se obtienen otros subproductos (acetaldehído, ácido acético, formato) que cambian el sabor y las características sensoriales del producto. A continuación, se muestran características generales de las cepas ácido lácticas más utilizadas para la producción de yogurt: (Chandan *et al.*, 2006; Tamime, 2007)

Cuadro 7. Características generales de cepas ácido lácticas utilizadas frecuentemente para la elaboración de yogurt

Nombre de la cepa	Características
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Homo-fermentativa que produce ácido láctico y pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno. A 45°C tiene un crecimiento óptimo, pero al estar en colaboración con ST, la temperatura óptima es de 43°C. Fermenta fructosa, galactosa, fructosa y lactosa.
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Tiene un crecimiento óptimo a 37°C, pero al estar en simbiosis con LD la temperatura óptima es de 43°C. Fermenta sustratos como fructosa, lactosa, manosa, glucosa y sacarosa.
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Tiene un crecimiento óptimo a 37°C. Ayuda al control de infecciones intestinales, prevención de cáncer y fortalece el sistema inmune. Para que se den todos éstos beneficios, deben estar presentes en una concentración mayor a 1×10^6 de UFC/g.
<i>Bifidobacteria</i>	Crece de manera óptima a 37°C y toleran la presencia de oxígeno. Al agregar éstas cepas al sustrato, se obtienen un sabor ácido más suave.

(Adaptado de: Chandan *et al.*, 2006; Tamime, 2007)

6. Denominación legal.

Como se menciona anteriormente el yogurt es un lácteo, ya que es elaborado a base de leche, la cual es producto de la secreción normal de las glándulas mamarias de animales bovinos. En contraste, todos los productos elaborados con ingredientes de origen vegetal no pueden denominarse “lácteos”; por lo que está prohibida la utilización de palabras como “leche”, “yogurt”, “queso”, “mantequilla”, entre otros, para comercializar los mismos. Es por ello que el producto a elaborar no se puede denominar como “yogurt” sino que el mismo debe ser nombrado de diferente manera. Para ello se pueden utilizar diversas palabras que den a entender que el producto elaborado no es un lácteo, por lo que comúnmente se utiliza “alternativa de yogurt” o “postre fermentado”. Por lo que el producto será nombrado como “postre fermentado” para que el mismo cumpla con las normativas establecidas. (Gómez y Bedoya, 2005; Tribunal de Justicia de la Unión Europea, 2017)

C. Fundamentos teóricos del procedimiento a realizar

1. Procedimientos microbiológicos.

a. Inoculación y aislamiento de cepas ácido lácticas

Proceso en el cual los microorganismos son agregados al cultivo de manera aséptica. Para ello se introducen en medios líquidos (caldos) o sólidos (agar), para que se propaguen. Por otro lado, está el proceso de aislamiento de cepas, el cual consiste en la obtención de microorganismos de interés presentes en muestras. Para ello se utiliza la técnica de estriado en medios, el cual da buenos resultados cuando los microorganismos se encuentran en mayor proporción. Pero al tener una muestra con una carga menor se deben utilizar medios selectivos o enriquecidos, ya que los mismos tienen nutrientes/sustratos adicionales que promueven el crecimiento especializado de microorganismos de interés. (Ramos y Pérez, 2004).

b. Caracterización de cepas ácido lácticas

Esta técnica, utiliza las características físicas, bioquímicas, moleculares, entre otras, para poder clasificar e identificar las cepas ácido lácticas presentes en la muestra de interés. Para ello es necesario saber las características específicas, de la población microbiana de estudio. Por lo que se puede decir que dichas bacterias son gram positivas las cuales fermentan ácido láctico a un pH óptimo de 4.0 a 4.5. Son esféricas o tienen forma de barra, no tienen pigmentación ni son esporuladas. Son anaerobias facultativas y brindan resultados negativos para la prueba de catalasa. Dentro de los métodos de identificación de bacterias se encuentra la tinción gram, la prueba de catalasa/oxidasa, identificación morfológica, fermentación de azúcares y el uso de sistemas comerciales (API, Enterotube, Biochemical ID systems, entre otros). (Bou *et al.*, 2011; Olivera, 2011)

2. Análisis proximal.

Es un método utilizado para cuantificar macronutrientes presentes en los alimentos, los cuales se declaran por medio del etiquetado nutricional. Este último se debe elaborar con base a las normativas de la FDA por lo que debe contener cantidades de proteína, grasa total (Saturada, grasas trans), Colesterol, Sodio, Carbohidratos totales (fibra dietética y azúcares), vitamina A y Calcio. Para ello se llevan a cabo diferentes análisis con el fin de determinar los nutrientes y al tener los resultados de los mismos, se elabora la etiqueta. Dichos análisis se realizan según a los métodos oficiales establecidos por el AOAC. Entre éstos se puede mencionar el método de Kjeldahl para determinar de proteína, el método de Soxhlet para determinar grasa y el método para determinar cenizas. (GUCHI, 2017; Nielsen, 2009)

a. Método de cenizas

Se determina la materia inorgánica que queda luego de calcinar toda la materia orgánica que contiene el producto. Para ello se utilizan dos métodos, el húmedo y el seco. En el primero, la muestra se oxida y es preparada para el futuro análisis de ciertos minerales. Y el método en seco también se puede usar para la determinación de minerales, pero el mismo se utiliza mayormente para determinar la composición proximal de los alimentos. Para la obtención de mejores resultados y un adecuado manejo, el alimento a analizar se debe de secar previamente. (Nielsen, 2009; UNICEN, 2015)

Posteriormente se coloca la muestra en una mufla a 500-600°C por lo que el agua se evapora y los compuestos orgánicos se queman produciendo dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno. La mayoría de minerales se convierten en sulfatos, cloruros, silicatos, fosfatos y óxidos. En alimentos frescos la cantidad de cenizas no es mayor al 5%; mientras que en alimentos grasos generalmente se obtiene un 0 a un 4.1% de cenizas. En nueces y semillas se tiene un 0.8 a 3.4% y en productos de origen animal se obtiene un 0.7 a un 1.3%. Generalmente se utiliza una muestra de 2 a 10 gramos, la cual se coloca dentro de un crisol. (Nielsen, 2009; UNICEN, 2015)

b. Método de extracción con solventes y Soxhlet

Generalmente la cantidad de grasa de un alimento es determinada con la extracción de solventes orgánicos o por hidrólisis ácida/alcalina. Para la primera metodología se utiliza el principio de polaridades, por lo que se utilizan solventes afines el tipo de molécula que se va a extraer. Las proteínas y los carbohidratos son polares, por lo que se utilizan solventes como agua y etanol. Mientras que la grasa al ser apolar, se extrae utilizando hexanos y éter de petróleo. Por otro lado, se utiliza el método de Soxhlet en donde la muestra se mezcla por completo con el solvente en una cámara. El contenido de grasa se mide por la pérdida de peso de la muestra o por el pesaje de la grasa extraída. (Nielsen, 2009)

c. Método de Kjeldahl

Método que utiliza una valoración de neutralización, para la determinación del nitrógeno orgánico presente en una muestra. Para ello, la misma pasa por varios procesos los cuales son: la digestión, neutralización y valoración. Al final se obtienen los valores de la proteína cruda, los cuales se multiplican por un factor específico para cada alimento. Dichos factores son 5.70 para cereales, 6.38 para lácteos y 6.25 para carnes. Este método es utilizado comúnmente para cuantificar proteína en materiales biológicos, granos, carne, entre otros. (Skoog & West, 2015; Nielsen, 2009)

3. Análisis sensorial.

Metodología usada para evaluar las características sensoriales de un alimento, por medio de los sentidos; con ella la misma se miden, analizan e interpretan las respuestas de las personas al consumir un producto. En la industria es una herramienta para evaluar los parámetros de calidad y determinar la aceptabilidad de un producto. Con esta última se determina el nivel de agrado o el grado de aceptación del producto por los consumidores. Usualmente se utiliza una escala hedónica en donde se expresa si a los panelistas les “disgustó demasiado” o si les “gustó demasiado”. Para ello se utiliza una escala de siete a nueve puntos, pero la más utilizada es la de nueve. (Uyaguari, 2017; Kamran, 2017)

V. METODOLOGÍA

A. Diseño del estudio

La investigación tiene un enfoque cuantitativo, un alcance descriptivo con un diseño experimental transaccional.

B. Muestra

Para elaborar el postre fermentado a base de bebida de almendra se utilizaron cepas ácido lácticas las cuales debían cumplir con las siguientes características:

1. Criterios de inclusión.
 - a. Ser un probiótico
2. Criterios de exclusión.
 - a. No ser un probiótico

Además, se realizó un análisis sensorial el cual se realizó en estudiantes y personal de la Universidad del Valle de Guatemala que accedieron a participar en el mismo. Para especificar la muestra se definieron los siguientes criterios:

1. Criterios de inclusión.
 - a. Acceder voluntariamente a participar en el estudio luego de haber leído el consentimiento informado.
 - b. Haber consumido leche/postre fermentado de soya y/o bebida a base de almendra previamente.
 - c. Tener 18 años o más.
2. Criterios de exclusión.
 - a. No acceder voluntariamente a participar en el estudio luego de haber leído el consentimiento informado.
 - b. No haber consumido previamente leche/postre fermentado de soya y/o bebida a base de almendra.
 - c. Tener menos de 18 años.

Los individuos que participaron en el estudio no tuvieron alguna remuneración o algún beneficio.

C. Aspectos éticos

El estudio se sometió al comité de ética de la Universidad del Valle de Guatemala para su aprobación. Además, los participantes del panel sensorial fueron notificados sobre la privacidad del estudio mediante el consentimiento informado. En este documento se mencionaba que los datos personales eran confidenciales y que las únicas personas con acceso a los mismos era el investigador principal (asesor) y secundario (estudiante). Toda la información está guardada en la oficina del Departamento de Nutrición de la Universidad del Valle, la cual estará dentro de folders sellados y nadie tendrá información a estos. El almacenaje de los mismos será de aproximadamente 2 años, y luego serán destruidos.

D. Variables

Cuadro 8. Operacionalización de las variables a evaluar

Variable	Definición	Dependencia	Naturaleza	Nivel de medición	Escala
Cepas ácido lácticas	Bacterias de una misma especie que se caracterizan por la producción de ácido láctico	Independiente	Cuantitativa	Discreta/razón	UFC/ml o UFC/g
Fermentación del postre	Proceso por el cual un lácteo se fermenta por cepas ácido lácticas	Interviniente	Cuantitativa	Continua/razón	Grados Celsius
pH de fermentación	pH óptimo en el que se da el proceso de fermentación	Interviniente	Cuantitativa	Continua/intervalo	1 a 14
Tiempo de fermentación	Tiempo óptimo en el que se lleva a cabo la fermentación	Interviniente	Cuantitativa	Continua/intervalo	Horas
Aceptación general	Aprobación del objeto evaluado a una población	Dependiente	Cualitativa	Ordinal	1 a 9
Aspecto	Conjunto de características de un objeto	Dependiente	Cualitativa	Ordinal	1 a 9
Sabor	Cualidad de un alimento que es percibida por el gusto	Dependiente	Cualitativa	Ordinal	1 a 9
Textura	Sensación organoléptica que indica la consistencia de un alimento	Dependiente	Cualitativa	Ordinal	1 a 9
Acidez	Nivel de acidez en una muestra	Dependiente	Cualitativa	Ordinal	1 a 5
Dulzor	Nivel de azúcar en una muestra	Dependiente	Cualitativa	Ordinal	1 a 5
Firmeza	Capacidad de un alimento para estar estable	Dependiente	Cualitativa	Ordinal	1 a 5
Cantidad de proteína	Contenido proteico (nitrógeno) en una muestra	Dependiente	Cuantitativa	Continua/intervalo	Gramos
Cantidad de grasa	Contenido graso total en una muestra	Dependiente	Cuantitativa	Continua/razón	Gramos
Cantidad de carbohidratos	Cantidad de hidratos de carbono totales en una muestra	Dependiente	Cuantitativa	Continua/razón	Gramos
Cantidad de calorías	Contenido calórico de una muestra	Dependiente	Cuantitativa	Continua/razón	Calorías

NOTA: La escala de medición de 1 a 9 representa 1: me disgusta demasiado, 2: me disgusta mucho, 3: me disgusta moderadamente, 4: me disgusta ligeramente, 5: ni me gusta ni me disgusta, 6: me gusta ligeramente, 7: me gusta moderadamente, 8: me gusta mucho y 9: me gusta demasiado. Por otro lado, la escala de 1 a 5 representa: 1: le falta demasiado, 2: no lo suficiente, 3: tal como me gusta, 4: ligeramente, 5: demasiado

E. Procedimiento

1. Preparación de medios de cultivo e inoculación con cepas ácido lácticas.

Se preparó el medio de cultivo agregando 27.5 g de caldo MRS, 9.0 g de agar nutritivo y 500 ml de agua peptonada (Anexo 1). El mismo se disolvió y se autoclaveó a 121°C durante 15 minutos. Se enfrió y se dividió en 6 recipientes para luego inocularlos asépticamente con las siguientes cepas: cuatro cepas puras comerciales (*L. plantarum* 8014, *P. acidilactici* 8042, *L. casei* 334, *L. fermentum* 9338), cuatro cepas puras agrupadas en un suplemento de probióticos (*L. acidophilus* 60, *L. acidophilus* 21, *B. bifidum* y *B. animalis*) y cuatro cepas agrupadas en un postre fermentado de soya (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium*, *Stp. thermophilus* y *L. delbrueckii*). Se homogeneizó y de cada recipiente se llenaron 12 tubos Eppendorf con 1.0ml del medio y 0.25 ml de glicerina, y posteriormente fueron almacenados en el congelador. El restante de cada medio, se almacenó en refrigeración para su futura utilización.

Al momento de querer utilizar los tubos, debían ser descongelados y debían realizarse lavados con solución salina para poder ser agregados al postre (Anexo 2). Para ello se debían centrifugar por 5 minutos a 10,000 rpm para luego remover el sobrenadante y lavar con solución salina. Dicho proceso se realizó tres veces y luego se almacenó durante una noche en la refrigeradora para su utilización al día siguiente.

2. Elaboración de la bebida a base de almendra.

Las almendras se dejaron en reposo por toda una noche. Al día siguiente se les removió la cáscara y se trituraron en el Thermomix junto con agua en una relación 1:5. Luego se filtró con un colador con manta y el líquido obtenido se homogeneizó a 2,800 psi en el homogeneizador GEA Niro soavi Panda PLUS. Después se pasteurizó en el Thermomix a 85°C por 20 minutos. Durante la agitación se agregó la dextrosa, sacarosa, goma Xantan, esencia de almendra y glucono delta lactona, para posteriormente almacenarlo a temperatura de refrigeración.

3. Elaboración de postre fermentado a base de bebida de almendra.

La base del postre se calentó a 70°C en el Thermomix y se vertió en recipientes de 5 oz; al llegar a una temperatura de 42 a 45°C se inoculó con las cepas ácido lácticas. Dichos recipientes fueron sellados e incubados a 36°C por 6 horas y posteriormente se introdujeron a la refrigeradora para su almacenamiento (Anexo 3).

Previo a dicho proceso, se realizaron varios análisis para determinar qué cepa o conjunto de cepas proporcionaban los mejores resultados. Para ello todas las mismas se sometieron a diversos tratamientos, entre éstos se encuentra la variación de la temperatura de incubación (42°C, 36°C y 42/36°C). Además, se experimentaron diferentes temperaturas de incubación, las cuales fueron de 6 horas, 8 horas y 11 horas. Simultáneamente se realizaron tratamientos para aumentar la concentración de sólidos en el producto. Inicialmente se realizaron tratamientos con sólidos de soya y la pulpa de almendra (el residuo que quedaba en la manta del colador) desecada y pulverizada. Pero los mismos influenciaban negativamente en el sabor y textura del producto por lo que se eliminaron. Por otro lado, el postre se sometió a tratamientos con varios tipos de azúcares en diferentes concentraciones. Además, se realizaron tratamientos utilizando diferentes estabilizantes y aditivos.

En cada tratamiento se realizaba medición de pH, evaluación de textura y evaluación sensorial la cual se realizaba únicamente por el investigador principal y secundario por cuestiones de tiempo y practicidad. Con dichos criterios se eliminaban los tratamientos que no daban buenos resultados y los tratamientos con resultados adecuados se seguían realizando junto con los nuevos para obtener el producto final. Las evaluaciones realizadas se encuentran en el Anexo 4-8.

4. Análisis microbiológico.

Al obtener el producto final se realizó el análisis microbiológico, en el cual se analizaron Mohos/Levaduras por el método normalizado de la ISO 7954 y Salmonella por el método convencional de la FDA. Además, se determinó presencia de E. coli; para ello se mezclaron 25 g de la muestra en 225 ml de agua peptonada en un recipiente esterilizado, luego se realizaron tres diluciones (1×10^{-1} , 1×10^{-2} y 1×10^{-3}) y se sembraron en medio Cromocult. Las cajas se incubaron a 35°C por 24 horas, para luego analizar los resultados (Anexo 9). Con base a los resultados obtenidos, se aprobó para realizar el análisis sensorial.

5. Análisis sensorial.

El objetivo del análisis sensorial era evaluar la aceptación del producto por medio de un cuestionario (Anexo 10), en el cual se evaluó el sabor, la textura, el aspecto y la aceptación general. Además, se incluyó la prueba “Tal como me gusta” para evaluar características específicas como la acidez, el dulzor y la textura; y se incluyó un segmento para valorar la demanda del producto. Al evaluar un producto vegano, se utilizó una herramienta (Anexo 11) que fue utilizada para la exclusión de personas que no consumían dichos productos de la investigación, y así evitar sesgos en los resultados. Al cumplir con los criterios de participación, los participantes eran exhortados a leer y firmar un consentimiento informado (Anexo 12) en el cual se confirmaba la participación voluntaria de los mismos en el panel.

Para reclutar a los panelistas se realizó un anuncio publicitario (Anexo 13) el cual fue aprobado por las autoridades para colocar en las instalaciones dos días antes. Además, durante el panel, se salió a reclutar a personas en la cafetería y corredores. El mismo se llevó a cabo durante 1 hora y 30 minutos aproximadamente (Anexo 14). Los cuestionarios ya contestados fueron guardados para su futuro análisis.

6. Análisis proximal.

El análisis proximal se llevó a cabo para cuantificar proteína, grasa y ceniza en la muestra (Anexo 15). Para ello se determinó inicialmente la humedad, por lo que se colocaron 13 g de la misma en un crisol que se sometió a 60°C en un horno al vacío hasta secar por completo el producto durante toda la noche. El cálculo para la determinación de humedad se encuentra en el Anexo 16. Posteriormente, se pesó un crisol de porcelana con 1 g de la muestra secada, la cual se quemó en una estufa a 600°C por 3 horas y se calculó el resultado como en el Anexo 17. De la misma muestra secada se tomaron 0.27 g los cuales se disolvieron en 25 ml de agua destilada. Dicha solución se agregó a un balón Kjeldahl junto con NaOH (10N), 10 ml de ácido bórico (4%) y 3 gotas de rojo metilo para recibir aproximadamente 150 ml de destilado. Este último, se tituló con HCl (0.1N) y con el resultado se realizaron los cálculos del Anexo 18 para determinar el contenido proteico de la muestra.

Además, se cuantificó la grasa por medio del método de Soxhlet, por lo que la muestra (30g) se mezcló con hexanos hasta formar una emulsión, la cual se rompió con solución salina saturada para la formación de dos fases y así poder decantar la fase de interés. Esta última se agregó a la cámara Soxhlet, para una extracción de 5 a 8 horas en la cual se obtuvo un producto que se desecó y se pesó. Con éste dato se realizaron los cálculos del Anexo 19; para calcular el porcentaje de carbohidratos totales se utilizó la ecuación del Anexo 20. Al obtener todos los resultados, se calcularon los datos del etiquetado nutricional como se demuestra en el anexo 21.

F. Análisis de datos

Los datos obtenidos del análisis microbiológico se compararon con los parámetros establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano. Por otro lado, los datos obtenidos del análisis sensorial se analizaron en Excel utilizando la herramienta de “Real Statistics”. Para ello se analizó media, mediana, moda y desviación estándar. Solo se realizó un análisis descriptivo ya que se analizó una sola muestra en el panel sensorial. Es importante mencionar que en el cuestionario se utilizó una escala hedónica para que los panelistas clasificaran en la misma su respuesta (Anexo 10). Por último, los datos de proteína, grasa y carbohidratos totales se compararon con los datos de diferentes tipos de yogurts y postres fermentados con el mismo gramaje (leche entera, descremada, soya, almendra).

VI. RESULTADOS

A. Análisis microbiológico

Cuadro 9. Recuento de UFC en el postre fermentado a base de bebida de almendra

Microorganismo evaluado	Recuento (UFC/g)
Mohos y levaduras	< 100
E. coli	< 10
Salmonella	Ausencia

En el Cuadro 9 se observa que el producto elaborado era seguro para el consumidor ya que tiene un recuento de mohos y levaduras <100 UFC/g y de E. coli <10 UFC/g.

B. Análisis sensorial

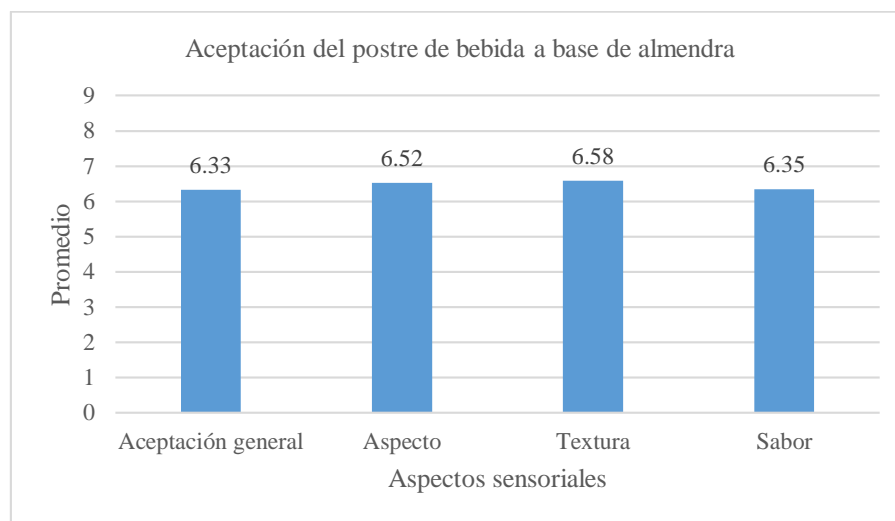
Cuadro 10. Análisis descriptivo de la evaluación sensorial del postre fermentado a base de bebida de almendra

	Media	Mediana	Moda	Desviación Estándar
Aceptación general	6.33	6.50	8.00	1.58
Aspecto	6.52	7.00	8.00	1.55
Textura	6.58	7.00	7.00	1.83
Sabor	6.35	7.00	8.00	1.80

NOTA: Indicando que 1: me disgusta demasiado, 2: me disgusta mucho, 3: me disgusta moderadamente, 4: me disgusta ligeramente, 5: ni me gusta, ni me disgusta, 6: me gusta ligeramente, 7: me gusta moderadamente, 8: me gusta mucho, 9: me gusta demasiado.

El Cuadro 10 representa el análisis descriptivo elaborado para evaluar el análisis sensorial realizado por 52 panelistas; el mismo incluye el valor de media, mediana, moda y desviación estándar. En general se obtuvieron valores entre 6.33 a 6.58 por lo que el producto gustó ligeramente en todos los aspectos evaluados. Por otro lado, se obtuvo una moda entre 7 a 8, indicando que el producto y sus características gustaban moderadamente o mucho. Y, por último, se puede decir que los datos variaron levemente ya que las desviaciones estándar (DS) se encuentran entre 1 DS y 2 DS.

Ilustración 1. Aceptación del postre fermentado de bebida a base de almendra



En la Ilustración 1 se encuentra la representación gráfica de las medias obtenidas para las características evaluadas. Se obtuvo un valor de 6.33 para aceptación general, 6.52 para aspecto, 6.58 para textura y 6.35 para sabor.

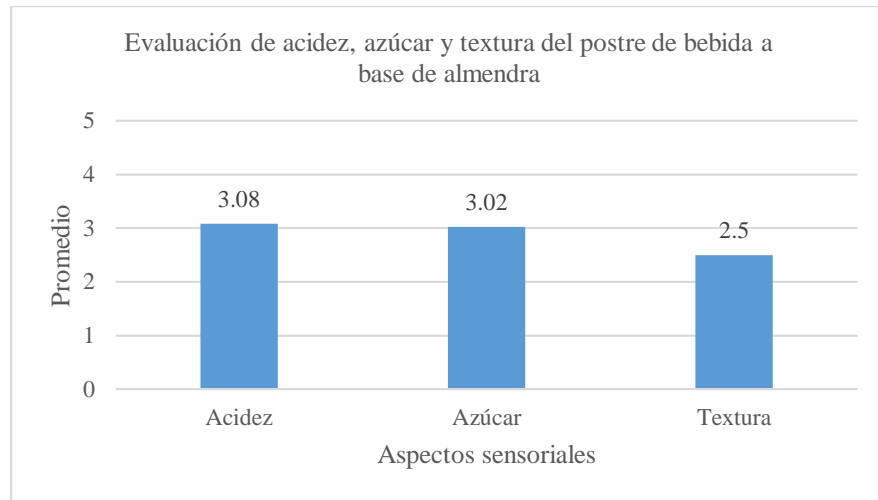
Cuadro 11. Análisis de acidez, dulzor y textura de la muestra utilizando la escala “Tal como me gusta”

	Media	Mediana	Moda	Desviación estándar
Acidez	3.08	3.00	3.00	0.84
Azúcar	3.02	3.00	3.00	0.87
Textura	2.50	3.00	3.00	0.61

Nota: Indicando que 1: le falta demasiado, 2: no lo suficiente, 3: tal como me gusta, 4: ligeramente y 5: demasiado.

El Cuadro 11 representa el análisis realizado para evaluar características específicas del producto como la acidez, el dulzor y la textura. En cuanto a los niveles de acidez y azúcar se observa el valor de la media fue de 3.08 y 3.02 respectivamente; por lo que se afirma que los niveles están “tal como les gusta” a los panelistas. Mientras que la textura tuvo una media de 2.50 indicando que el producto no era lo “suficientemente firme”. La moda en las tres características evaluadas fue de 3 y los datos obtenidos son parecidos ya que todas las desviaciones estándar se encuentran entre 0 y 1 DS.

Ilustración 2. Evaluación de acidez, azúcar y textura del postre fermentado a base de bebida de almendra utilizando la escala “Tal como me gusta”



La Ilustración 2 representa de manera gráfica las medias de las características específicas evaluadas. Indicando un valor de 3.08 par acidez, 3.02 para azúcar y 2.5 para textura.

C. Análisis proximal

Cuadro 12. Información nutricional del postre fermentado a base de bebida de almendra

Macronutriente	Gramos	Calorías	Porcentaje del Valor Diario Recomendado (VDR)
Proteína	9	36	18
Grasa	1	10	2
Carbohidratos totales	9	37	3

NOTA: La información nutricional es de acuerdo a una porción de 125 gramos del producto.

En el Cuadro 12 se observan los valores obtenidos del análisis proximal respecto a una porción de 125 gramos. El contenido proteico es de 9 gramos que aportan 36 calorías y un 18% del VDR. El contenido de grasa es de 1 gramo que corresponde a 10 calorías y a un 2% del VDR. Por último, el producto tiene 9 gramos de carbohidratos totales que representan 37 calorías y un 3% del VDR (dichos porcentajes se determinaron según la información presentada en el Anexo 22). El producto tiene un contenido energético total de 83 calorías. Para la obtención de los datos anteriores, se determinó que 100 g de muestra tenían 7.3% de proteína, 0.9% de grasa, 7.4% de carbohidratos totales, 83.3% de humedad y 1.1% de cenizas.

D. Análisis de estabilidad

Cuadro 13. Medición de estabilidad de pH del postre fermentado a base de bebida de almendra durante 5 semanas

Semana	pH de Medición	Temperatura de Medición (°C)	Presencia de Sinéresis
1	3.75	7.20	-
2	3.66	7.20	-
3	3.70	7.20	-
4	3.68	7.20	+
5	3.73	7.20	++

NOTA: Indicando que (-): ausencia, (+): presencia leve, (++): presencia moderada y (+++): presencia elevada.

El Cuadro 13 representa el análisis de estabilidad de pH del producto durante 35 días. El pH medido varía entre 3.66 a 3.75. Además, se determinó que hasta la 4ta semana el producto presentó leve sinéresis.

E. Análisis de costo y rendimiento

Cuadro 14. Determinación del costo aproximado de 1 litro del postre fermentado a base de bebida de almendra equivalente a 8 porciones de 125 gramos

	Costo	Porcentaje del Total
Ingredientes	Q14.86	31.7%
Empaque	Q2.30	5.0%
Mano de obra	Q17.34	36.9%
Maquinaria y equipo	Q12.38	26.4%
TOTAL	Q46.88	100%

En el Cuadro 14 se presenta el costo aproximado de 1 lt del producto el cual incluye ingredientes, empaque, uso de maquinaria/equipo y mano de obra; el cual es de Q46.88 el litro (Q5.86 cada porción de 125g). Además, se incluye que el 31.7% se comprende de los ingredientes, 5.0% de empaque, 36.9% de mano de obra y un 26.4% representa la maquinaria y el equipo. En el Anexo 23 se encuentra una simulación del empaque del producto.

Cuadro 15. Determinación del rendimiento del postre fermentado a base de bebida de almendra

	Almendra	Postre fermentado
Peso (gramos)	529.20 g	1,402.94 g
Relación		1:2.5

NOTA: Haciendo referencia que 1 taza de almendra pesa 529.20 gramos y 1 litro del producto terminado pesa 1,402.94 g.

El Cuadro 15 muestra el rendimiento del postre fermentado a base de bebida de almendra el cual indica que al utilizar una taza de 529.20 g se obtendrá un litro de 1,402.94g. Esto indica una relación de 1: 2.5 aproximadamente. El producto final se encuentra en el Anexo 24.

VII. DISCUSIÓN

El objetivo del estudio fue elaborar un postre fermentado a base de bebida de almendra artesanal, utilizando cepas ácido lácticas extraídas de postre fermentado de soya. Para ello se elaboró la bebida y se sometió a diversos tratamientos para determinar cuál de todos brindaba un producto final aceptable. Además, el sustrato no solo fue fermentado por cepas ácido lácticas aisladas de una muestra de postre fermentado de soya comercial, sino que también por cepas puras y por cepas provenientes de un suplemento nutricional. A partir de esto se realizó un análisis microbiológico, sensorial y proximal para determinar la información general y nutricional del postre elaborado; dicho proceso está resumido en el Anexo 25. Por último, las cepas ácido lácticas aisladas no fueron caracterizadas bioquímicamente por factores económicos debido a que la caracterización bioquímica requiere de inversión no disponible para este proyecto.

Inicialmente se determinaron las cepas a utilizar en la investigación, las cuales debían cumplir con el requisito de ser un probiótico. Posteriormente, las mismas se sometieron a diversos tratamientos para determinar la formulación final del producto. Dentro de las variables evaluadas se encuentran la temperatura y el tiempo de incubación, por lo que al tener cepas termófilas y mesófilas, se utilizaron tratamientos de 36°C, 45°C y una mezcla entre 36°C y 45°C, durante tiempos de incubación de 6 h, 8 h y 11 h (Chandan *et al.*, 2006). Simultáneamente, se evaluaron varios tratamientos que incluyeron la adición de sólidos, azúcares y estabilizantes con el fin de mejorar las características del producto. Para ello se adicionó azúcar, dextrosa y esencia de vainilla ya que mejoran el sabor del postre; además, sirven como fuente de carbohidratos de fermentación alternativa de la lactosa ausente en el producto (Robinson y Tamime, 2007). Por otro lado, la goma Xantan funcionó como un estabilizante para formar una emulsión entre el agua y la grasa presente en el producto (Chandan *et al.*, 2006); también se agregó glucono delta lactona con el fin de mejorar la acidez y estabilidad (Feiner, 2016). Todos los análisis realizados para descartar los tratamientos realizados se encuentran en el Anexo 4-8.

Al tener el producto finalizado, se realizó un análisis microbiológico (Cuadro 9) para determinar si el mismo era seguro e inocuo para el consumo humano. Para ello se realizaron pruebas para determinación de mohos/levaduras, E. coli y Salmonella. Durante la fermentación se desarrollan sabores y aromas característicos de las cepas ácido lácticas, pero los mismos se pueden ver afectados por la presencia de mohos y levaduras. Es por ello que se determinó la presencia de dichos microorganismos, los cuales tenían un recuento aceptable menor a los 100 UFC/g. Por otro lado, durante la preparación, el producto es susceptible a la contaminación por factores como mala higiene de materiales, equipo o manipulador (Vallejo y Toro, 2002). Por lo que se determinó si el producto tenía E. coli, a lo que se obtuvo un resultado aceptable ya que el mismo tuvo menos de 10 UFC/g. Por último, se determinó presencia de Salmonella debido a que la misma se encuentra comúnmente en almendras y en otras materias agrícolas (California Almonds, 2012); a lo que se obtuvo que la muestra tenía ausencia de dicho patógeno. Por lo que se concluyó que el producto cumple y excede los requisitos microbiológicos establecidos por el RTCA (RTCA, 2009).

Una vez determinada la inocuidad del producto se realizó el análisis sensorial con el fin de establecer si el mismo era aceptado o no. Para ello, 52 panelistas evaluaron aspectos como la aceptación general, aspecto, textura y sabor. Con los resultados obtenidos se realizó un análisis descriptivo en el cual se determinó la media, mediana, moda y desviación estándar (Cuadro 10 e Ilustración 1). Con esto se obtuvo que el producto gustó entre ligeramente a mucho en todos los aspectos evaluados, ya que los datos varían entre 6 a 8. Es importante mencionar que a pesar de que se tuvieron criterios de exclusión para el panel sensorial, la población no fue lo suficientemente específica. Por lo que se recomienda reclutar a gente vegana, lacto-vegetariana, intolerante a la lactosa, alérgica a la proteína de la leche de vaca y personas interesadas en llevar un estilo de vida saludable. Ya que dicha población está más familiarizada y tiene una percepción diferente de un producto alternativo a los lácteos, que la población evaluada. Además, se recomienda utilizar un producto como referencia para que los panelistas lo puedan utilizar como punto de comparación con el producto elaborado; ya que la ausencia del mismo pudo afectar negativamente el análisis del postre.

Dentro del análisis sensorial, se realizó una prueba que evaluaba características específicas del producto como acidez, dulzor y textura (Cuadro 11 e Ilustración 2). Para la acidez y el dulzor se obtuvieron medias de 3.08 y 3.02 respectivamente, lo cual indica que dichos niveles se encuentran “tal como les gusta” a los panelistas. Respecto a la textura se obtuvo una media de 2.50 lo cual indica que el postre “no era lo suficientemente firme”. En cuanto a la falta de firmeza se afirma que el producto al no ser lácteo, carecía de caseína la cual es la proteína que influye principalmente en la formación del coágulo. Otro aspecto que pudo influenciar fue el bajo contenido de sólidos en el postre, ya que generalmente al mismo se le debe agregar leche en polvo y debe ser evaporado (Chandan *et al.*, 2006). Pero al ser un producto no lácteo, únicamente se evaporó (durante la pasteurización); por lo que se recomienda modificar el porcentaje de sólidos a la formulación. Otro factor pudo influenciar la percepción de la textura del postre es que los panelistas utilizaran

un yogurt firme de referencia (como el yogurt griego), mientras que el postre elaborado era de consistencias semi-líquida.

Además, se realizó el análisis proximal en el cual se determinó el contenido de calorías, proteína, grasa y carbohidratos totales del producto (Cuadro 12). Además, se incluyeron los valores diarios recomendados, los cuales representan la cantidad diaria recomendada de un nutriente para alimentarse sanamente. Se obtuvo que una porción de 125 g de postre fermentado a base de bebida de almendra tiene un contenido energético de 83 calorías. El contenido proteico es de nueve gramos los cuales aportan 36 calorías y representan un 18% del VDR. El contenido de grasa es de un gramo el cual aporta 10 calorías y un 2% del VDR. El contenido de carbohidratos totales es de nueve gramos que aportan 37 calorías y a un 3% del VDR. Al comparar el producto con los demás tipos de yogurts y postres (Cuadro 4) se obtuvo que tiene el contenido proteico más alto, siguiéndole el yogurt de leche descremada (7.16g), el yogurt de leche entera (4.34g), el postre fermentado de soya (3.30g) y por último el postre fermentado de almendra comercial (2.33g). Respecto al contenido de grasa se afirma que se asemeja al yogurt descremado y al postre fermentado de soya. En contraste, el producto tiene aproximadamente cinco veces menos grasa que el postre de almendra comercial; esto se puede deber a las diferentes técnicas de procesamiento. Es por ello que se recomienda estudiar a detalle el procesamiento de ambos productos para afirmar la causa de la reducción significativa de grasa en el postre elaborado. Por otro lado, la cantidad de carbohidratos es comparable con el yogurt descremado, mientras que el postre de almendra comercial tiene aproximadamente el doble de carbohidratos, lo cual se debe a la adición de Maltodextrina y almidón (Anexo 26). Por último, el contenido calórico es igual al postre de soya y similar al yogurt de leche entera y descremada. Mientras que el postre de almendra comercial tiene 1.5 veces más calorías que el elaborado, lo cual se debe al contenido elevado de grasa y azúcar. Todos éstos resultados se encuentran de manera resumida en el Anexo 27.

El análisis proximal únicamente evaluó macronutrientes, por lo que no se pudo comparar con el contenido de vitaminas, minerales, fibra, tipos de grasa, entre otros. Es por ello que se recomienda realizar un análisis más completo en donde se incluyan todos éstos nutrientes y se evalúe la biodisponibilidad de proteína. Al comparar el producto con los demás yogurts y postres, se puede concluir que el que más se asemeja es el yogurt de leche descremada. Sin embargo, los mismos no pueden ser comparados ya que el yogurt de leche descremada al ser lácteo, tiene una mejor calidad de proteína ya que es de alto valor biológico por lo que es más biodisponible que la proteína vegetal que contiene el producto elaborado (Parrish, 2018). Por último, para evaluar la estabilidad del producto se midió el pH del mismo y la presencia de sinéresis en período de 35 días (Cuadro 13). El pH medido durante éste tiempo se mantuvo en valores de 3.66 a 3.75. Por otro lado, la aparición de sinéresis en el producto fue hasta la 4ta semana la cual se presentaba levemente. Y en la quinta semana se observó moderada sinéresis en el área central del producto. Dicho esto, se concluye que la acidez se mantuvo y la sinéresis fue moderada por lo que el postre es estable en un período de 35 días.

Por último, se estimó que el costo de un litro del producto es de Q46.88, el cual rinde para 8 porciones de 125 g (Cuadro 14). Cada porción de postre tiene un costo de Q5.86 que al compararse con el precio del postre de almendra comercial (Q15.00), es 2.5 veces más barato que éste último. Por lo que se puede concluir que el producto elaborado es una opción más económica para los consumidores. Además, cabe mencionar que el costo se determinó de forma aproximada y con precios de producción a menor escala. Por lo que se recomienda establecer de manera exacta el costo de producción a nivel industrial. Adicionalmente se determinó que el postre tuvo un rendimiento de 1:2.5 (Cuadro 15); esta relación no se puede interpretar en su totalidad debido a la inexistencia de datos relacionados al rendimiento del postre a base de bebida de almendra.

VIII. CONCLUSIONES

1. Las cepas de bacterias ácido lácticas provenientes del postre fermentado de soya son adecuadas para la elaboración de un postre fermentado a base de bebida de almendra.
2. Las cepas ácido lácticas provenientes del postre fermentado de soya se lograron aislar en los medios convencionales utilizados para este propósito.
3. Las características sensoriales y nutricionales del postre fermentado a base de bebida de almendra ofrecen ventajas nutricionales y económicas en comparación con el postre fermentado de almendra comercial.
4. Las cepas ácido lácticas provenientes del postre fermentado de soya no se lograron caracterizar bioquímicamente por factores económicos ya que esto requiere de una inversión no disponible para este proyecto.

IX. RECOMENDACIONES

1. Reclutar panelistas que sean veganos, lacto-vegetarianos, intolerantes a la lactosa, alérgicos a la proteína de la leche de vaca y personas interesadas en llevar un estilo de vida saludable. Ya que éstas personas están más familiarizadas con los productos alternativos a los lácteos.
2. Utilizar un producto de referencia para que los panelistas lo puedan usar como punto de comparación con el producto elaborado durante el análisis sensorial.
3. Modificar la proporción de sólidos de la formulación del postre, ya que se determinó que el producto no era lo suficientemente firme.
4. Realizar un análisis proximal más completo que no solo incluya macronutrientes, sino que también incluya fibra, tipos de grasa, vitaminas y minerales.
5. Ejecutar un análisis para determinar biodisponibilidad de proteína del postre a base de bebida de almendra.
6. Estudiar a detalle el procesamiento del postre a base de bebida de almendra artesanal y comercial, y así determinar la causa por la cual el postre artesanal tiene una proporción menor de grasa que el otro.
7. Determinar de manera más exacta el costo de producción a nivel industrial.

X. LITERATURA CITADA

1. Aishah, N. 2012. *Almond milk production and study of quality characteristics*. Journal of Academia. 2: 1-8.
2. Alozie, E. y S. Udofia. 2015. *Nutritional and sensory properties of Almond (Prunus amygdaly Var. Dulcis) Seed Milk*. World Journal of Dairy & Food Sciences. 10 (2): 117-121.
3. Bedolla *et al.* 2004. *Introducción a la tecnología de alimentos*. 2ª edición. Editorial Limusa. México. 148 pp.
4. Bolling, B. 2016. *Almond Polyphenols: Methods of analysis, contribution to Food quality, and Health promotion*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety. 16: 346-369.
5. Bou *et al.* 2011. *Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*. Rev. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 28 (8): 601-608 pp.
6. California Almonds. 2012. *Programa de monitoreo ambiental de patógenos (MAP)*. En: https://www.almonds.com/sites/default/files/spanish_pem_book_final.pdf [Recuperado el 26 de septiembre de 2019]
7. Chandan *et al.* 2006. *Manufacturing yogurt and fermented milks*. Blackwell Publishing. Iowa. 359 pp.
8. Chandan, R. y A. Kilara. 2013. *Manufacturing yogurt and fermented milks*. 2ª edición. John Wiley & Sons Inc., Iowa. 478 pp.
9. Clune, S; E. Crossing y K. Verghese. 2017. *Systematic review of greenhouse gas emissions for different fresh Food categories*. Journal of Cleaner Production. 140: 766-783.

10. Dyner *et al.* 2015. *Contenido de nutrientes de bebidas artesanales a base de almendras*. Actualización en Nutrición. 16 (1): 12-17.
11. Feiner, G. 2016. *Glucono Delta-Lactone*. Science Direct. 356 pp.
12. FONA. 2018. *Non-dairy yogurt 2018 trend insight Report*. 13 pp.
13. Fundación Española de la Nutrición. 2013. *Almendra*. España. 305 pp.
14. Gómez, A. y O. Bedoya. 2005. *Composición nutricional de la leche de ganado vacuno*. Revista Lasallista de Investigación. 2(1): 38-42pp.
15. GUCHI. 2017. *Guidebook to proximate analysis*. Suiza. 217 pp.
16. INCAP. 2012. *Tabla de Composición de Alimentos*. Guatemala. 137 pp.
17. Kamran *et al.* 2017. *Sensory evaluation and consumer acceptability*. Pakistán. 27 pp.
18. Kamil, A. y O. Chen. 2012. *Health benefits of Almonds beyond cholesterol reduction*. Journal of agricultural and Food Chemistry. 60: 6694-6702pp.
19. Ministerio de Economía. 2018. *Industria de yogurt Guatemala*. Gobierno de la República de Guatemala. Guatemala. 31 pp.
20. Nielsen, S. 2009. *Food Analysis*. Springer. New York. 585 pp.
21. Olivera, J. 2011. *Caracterización tecnológica de cepas de bacterias ácido lácticas aisladas de la leche*. Tesis Universidad de la República. 45 pp.
22. Parra, A. 2012. *Yogurt en la salud humana*. Revista lasallista de investigación. 9 (2): 162-177 pp.

23. Parrish, C. 2018. *Moo-ove Over, Cow's Milk: The rise of Plant-based Dairy alternatives*. Nutrition issues in gastroenterology. 171: 20-27.
24. Platt *et al.* 2011. *Postprandial effects of Almond consumption on human osteoclast precursors*. Metabolism Journal. 60: 923-929.
25. Ramos, M. y M. Pérez. 2004. *Manual de prácticas de laboratorio*. Universidad autónoma metropolitana. México. 120 pp.
26. Ramírez *et al.* 2011. *Bacterias lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud*. Revista fuente. 2(7): 16 pp.
27. Richardson D. *et al.* 2009. *The nutritional and Health benefits of Almonds: a Health Food choice*. International Food Information Service. 6 (4): 41-50.
28. Robinson, R. y A. Tamime. 2007. *Yogurt Science and Technology*. 3ª edición. Woodhead Publishing in Food Science. Inglaterra. 808 pp.
29. RTCA. 2009. *Alimentos: criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos*. 36 pp.
30. Sánchez, N.; G. Sánchez y J. Salas. 2016. *New scientific evidence on the benefits of yogurt consumption*. Institut D'investigació sanitària Pere Virgili. España. 38 pp.
31. Silk. 2019. *Plain Almond milk dairy-free yogurt alternative*. Recuperado en: <https://silk.com/plant-based-products/dairy-free-postre-alternatives/plain-almond-dairy-free-postre-alternative/> [24 de septiembre de 2019]
32. Skoog, D. y D. West. 2015. *Fundamentos de Química Analítica*. México. 1090 pp.
33. Stall, S. 2017. *Can Almond milk be called milk?* Journal of Renal Nutrition. 27 (3): 15-17.

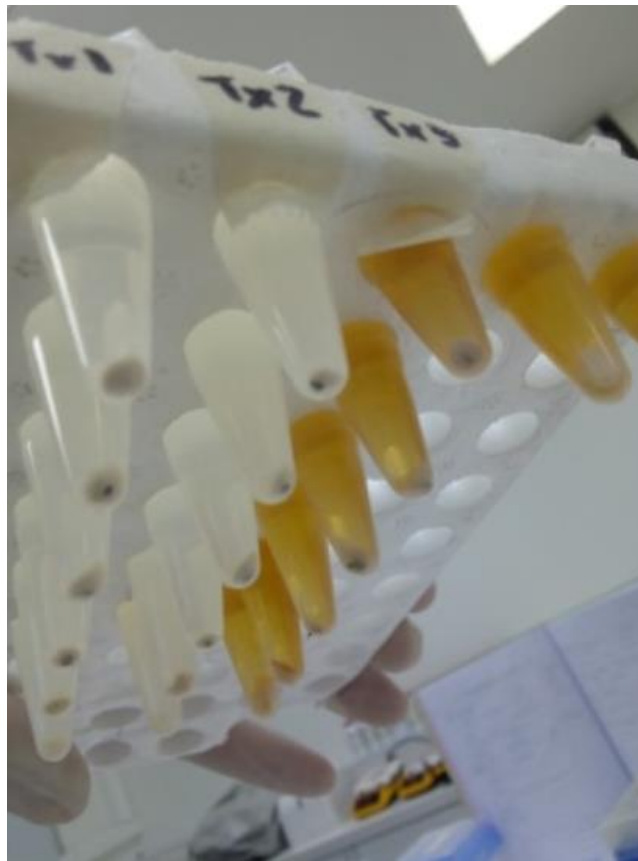
34. Swati, S; S. Tyagi y R. Anurag. 2016. *Plant-based milk alternatives an emerging segment of funtional beerages: a review*. Journal of Food Science Technology. 53 (9): 3408-3423.
35. Tamime, A. 2005. *Probiotic dairy products*. Blackwell Publishing. Iowa. 235 pp.
36. Tamime, A. 2006. *Fermented Milks*. Blackwell Publishing. Iowa. 281 pp.
37. Tobía *et al.* 2003. *Aislamiento, selección y caracterización de bacterias ácido lácticas en ensilajes de soya*. Revista de Agronomía Costarricense. 27 (2): 21-27pp.
38. Trachoo, N. 2002. *Yogurt: The fermented milk*. Journal of Science Technology. 24 (4): 727-737 pp.
39. Tribunal de Justicia de la Unión Europea. 2017. *Sentencia en el asunto C-422/16*. Recuperado en: <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2017-06/cp170063es.pdf> [14 de enero de 2020]
40. UNICEN. 2015. *Análisis de alimentos, fundamentos y técnicas*. 74 pp.
41. USDA. 2018. *Full Report: Silk plain soy yogurt*. National nutrient database for standard reference. 1 pp.
42. Uyaguari, G. 2017. *Análisis sensorial para la determinación de los niveles aceptables de colorante y saborizante en el yogurt*. Tesis. Universidad técnica de Machala. Ecuador. 39 pp.
43. Vallejo, F y M. Toro. 2002. *Análisis microbiológico en yogurt con probióticos*. Boletín microbiológico. 17: 15-19 pp.
44. Walsh, M. 2017. *Dairy alternatives- how do they compare?* Dairy Nutrition Forum. 9 (2): 1-8 pp.
45. Zehra *et al.* 2016. *Repeated Administration of Almonds increases brain acetylcholine levels and enhaces memory function in Healthy rats while attenuates memory déficit sin animal model of amnesia*. Elsevier. 120: 63-74.

XI. ANEXOS

Anexo 1. Medio de cultivo “MRS” inoculado con cepas ácido lácticas



Anexo 2. Tubos Eppendorf con cepas en medio de cultivo y cepas lavadas con solución salina



Anexo 3. Inoculación de la bebida a base de almendra con las cepas ácido lácticas



Anexo 4. Tratamientos realizados (a 45°C por 8 horas) para determinación de cepas, concentración de sólidos y azúcares a agregar

Cepas	Tx 1: base + azúcar + proteína de soya	Tx 2: base + azúcar + sólido de almendra	Tx3: base + azúcar + ½ proteína de soya y ½ sólido de almendra	Tx4: base + 2 veces azúcar + 4 veces sólidos	Tx5: base + 4 veces azúcar + 8 veces sólidos
L. plantarum	pH: 7.05 T: + AS: +	pH: 5.76 T: + AS: +	pH: 6.95 T: + AS: +	NA	N/A
P. acidilactici	pH: 7.23 T: + AS: +	pH: 6.40 T: + AS: +	pH: 6.86 T: + AS: +	N/A	N/A
L. casei	pH: 6.70 T: + AS: ++	pH: 5.34 T: + AS: ++	pH: 6.11 T: + AS: ++	N/A	N/A
L. fermentum	pH: 6.86 T: + AS: ++	pH: 5.75 T: + AS: ++	pH: 6.09 T: + AS: ++	N/A	N/A
Suplemento	pH: 7.05 T: + AS: ++	pH: 5.88 T: + AS: ++	pH: 6.60 T: + AS: ++	N/A	N/A
Postre soya	pH: 6.47 T: + AS: ++	pH: 4.80 T: + AS: +++	pH: 5.78 T: + AS: ++	pH: 5.79 T: ++ AS: +++	pH: 6.80 T: - AS: ++

NOTA: a. Indicando que T = Textura y AS = Análisis sensorial. b. (-): no agradable, (+): levemente agradable, (++) : moderadamente agradable y (+++) : agradable.

Anexo 5. Tratamientos realizados (a 45°C por 8 horas) para determinación de cepas y concentración de goma a agregar

Cepas	Tx 1: base + azúcar + sólido de almendra + goma	Tx 2: base + azúcar + sólido de almendra + 2 veces goma	Tx3: base + azúcar + proteína de soya + 2 veces goma
L. casei	pH: 5.20 T: + AS: ++	pH: 5.46 T: ++ AS: ++	pH: 6.68 T: ++ AS: +
L. fermentum	pH: 5.21 T: + AS: ++	pH: 5.45 T: ++ AS: ++	pH: 6.88 T: ++ AS: +
Suplemento	pH: 5.10 T: + AS: ++	pH: 5.42 T: ++ AS: ++	pH: 7.01 T: ++ AS: +
Postre soya	pH: 5.10 T: + AS: +++	pH: 5.41 T: ++ AS: +++	pH: 6.50 T: ++ AS: ++

NOTA: a. Indicando que T =Textura y AS= Análisis sensorial. b. (-): no agradable, (+): levemente agradable, (++) : moderadamente agradable y (+++): agradable.

Anexo 6. Tratamientos realizados para determinación de tiempos y temperaturas de incubación

Cepas	Tx 1: sólidos previos, 4 h a 45°C y 4 h a 36°C	Tx 2: sólidos previos, 8 h a 36°C	Tx3: sólidos previos, 11 h a 36°C
L. casei	pH: 5.62 T: ++ AS: +	pH: 5.60 T: ++ AS: +	-
L. fermentum	pH: 5.65 T: ++ AS: ++	pH: 5.61 T: ++ AS: ++	-
Suplemento	pH: 5.50 T: ++ AS: +	pH: 5.54 T: ++ AS: +	-
Postre soya	pH: 5.39 T: ++ AS: +++	pH: 5.34 T: ++ AS: +++	pH: 4.21 T: + AS: -

NOTA: a. Indicando que T =Textura y AS= Análisis sensorial. b. (-): no agradable, (+): levemente agradable, (++) : moderadamente agradable y (+++): agradable.

Anexo 7. Tratamientos utilizados para determinación de concentración de acidificante a utilizar

Cepa	Tx1: límite inferior de acidificante	Tx2: concentración media de acidificante	Tx3: límite superior de acidificante
Postre soya	pH: 4.01	pH: 3.95	pH:3.82

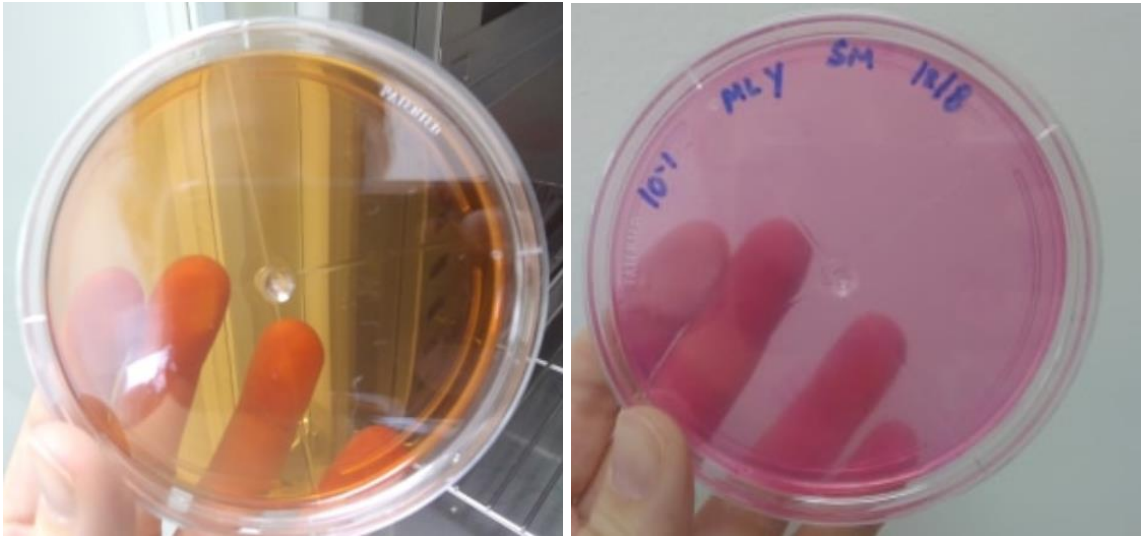
NOTA: para este análisis solo se utilizó la cepa y el tratamiento que dio los mejores resultados por el momento por cuestiones de practicidad y ahorro de material/producto.

Anexo 8. Tratamientos utilizados para determinación de cepa y sabor

Cepas		Tx 1: 6 h a 36°C	Tx 2: 8 h a 36°C
Tx1: Adición de azúcar y esencia de almendra	L. fermentum + postre de soya	pH: 3.96 T: ++ AS: ++	pH: 3.91 T: ++ AS: ++
	Postre soya	pH: 3.98 T: ++ AS: +++	pH: 3.89 T: ++ AS: +++
Tx2: Adición doble de azúcar y de esencia de almendra	L. fermentum + postre de soya	pH: 3.79 T: ++ AS: +	pH: 3.79 T: ++ AS: +
	Postre soya	pH: 3.80 T: ++ AS: +	pH: 3.80 T: ++ AS: +

NOTA: a. Indicando que T =Textura y AS= Análisis sensorial. b. (-): no agradable, (+): levemente agradable, (++) : moderadamente agradable y (+++): agradable.

Anexo 9. Algunos resultados del análisis microbiológico



Anexo 10. Cuestionario utilizado para realizar el análisis sensorial del postre fermentado a base de bebida de almendra.

CUESTIONARIO

¿Ha consumido alguna vez productos no lácteos (veganos, productos de soya)?

Sí	
No	

Si la respuesta fue afirmativa, indique con qué frecuencia:

Por favor ABRIR LA VENTANA para recibir sus muestras.

TOME UN BOCADO DE GALLETA Y UN SORBO DE AGUA PURA PARA ENJUAGARSE LA BOCA.

Recuerde hacer esto antes de probar la muestra.

MARCAR LA CALIFICACIÓN QUE SEA DE SU PREFERENCIA.

¿Cuánto le gusta la muestra?

Me disgusta demasiado	Me disgusta mucho	Me disgusta moderadamente	Me disgusta ligeramente	Ni me gusta, ni me disgusta	Me gusta ligeramente	Me gusta moderadamente	Me gusta mucho	Me gusta demasiado
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Califique el ASPECTO GENERAL de la muestra.

Me disgusta demasiado	Me disgusta mucho	Me disgusta moderadamente	Me disgusta ligeramente	Ni me gusta, ni me disgusta	Me gusta ligeramente	Me gusta moderadamente	Me gusta mucho	Me gusta demasiado
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Califique la TEXTURA de la muestra.

Me disgusta demasiado	Me disgusta mucho	Me disgusta moderadamente	Me disgusta ligeramente	Ni me gusta, ni me disgusta	Me gusta ligeramente	Me gusta moderadamente	Me gusta mucho	Me gusta demasiado
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Califique el SABOR de la muestra.

Me disgusta demasiado	Me disgusta mucho	Me disgusta moderadamente	Me disgusta ligeramente	Ni me gusta, ni me disgusta	Me gusta ligeramente	Me gusta moderadamente	Me gusta mucho	Me gusta demasiado
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Respecto al nivel de acidez, se puede decir:

Le falta demasiado ácido	No lo suficiente ácido	Tal como me gusta	Ligeramente ácido	Demasiado ácido

Respecto al nivel de azúcar, se puede decir:

Le falta demasiado dulzor	No lo suficiente dulce	Tal como me gusta	Ligeramente dulce	Demasiado dulce

Respecto a la textura, se puede decir:

Le falta demasiada firmeza	No lo suficiente firme	Tal como me gusta	Ligeramente firme	Demasiado firme

¿Compraría éste producto?

Sí	
No	

Si su respuesta es afirmativa, ¿cuánto pagaría por la presentación de 5 oz que se le muestra?:

Q5-10	
Q11-15	
Q16-20	
Otro	

COMENTARIOS:

**AL FINALIZAR,
ABRA LA VENTANA POR FAVOR
¡MUCHAS GRACIAS!**

Anexo 11. Herramienta utilizada para cumplir con los criterios de inclusión establecidos para la investigación

¿Cuáles de estos alimentos has consumido previamente?



Yogurt y/o leche de soya



Chocolate amargo



Bebida de almendra



Leche de coco



Pan Integral

Anexo 12. Consentimiento Informado

Consentimiento Informado

Proyecto: Elaboración de postre fermentado de almendra utilizando bacterias provenientes de postre fermentado de soya

Este es un estudio para evaluar la aceptabilidad y las características sensoriales (apariencia general, olor, sabor, textura) de un nuevo producto dirigido para todas las personas intolerantes a la lactosa, lacto-vegetarianos, veganos y cualquier otra persona que esté interesado en un estilo de vida saludable o que le llame la atención este producto.

Para ello, usted tendrá que realizar este panel sensorial el cual consiste en probar producto y evaluar todo lo que se le solicita en la papeleta que se le va a brindar.

Este producto no presenta algún riesgo para su salud ya que el panel es de tipo experimental y de carácter voluntario, por lo que, si desea retirarse del mismo, puedo hacerlo en cualquier momento. Sin embargo, si usted presenta alergia a la almendra, se le recomienda no realizar el panel. Si experimenta reacciones alérgicas en cualquier momento durante el estudio, debe interrumpir su participación. No hay beneficio directo para usted por participar en este estudio.



Su desempeño y los datos de esta investigación son confidenciales. Las respuestas se codifican para ser confidenciales y cualquier publicación o presentación de los resultados de la investigación solo incluirá información sobre el desempeño del grupo.

Se le anima a hacer cualquier pregunta que pueda tener sobre este estudio, ya sea antes o durante su participación.

Entiendo la información anterior y consiento voluntariamente en participar en el estudio descrito anteriormente.

No. Panelista	Nombre completo	Firma	Correo electrónico
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			


Anexo 13. Publicidad utilizada para reclutar panelistas




Ven a degustar

**YOGURT DE
BEBIDA DE
ALMENDRA**

LUGAR: Edificio E (Primer Nivel)
FECHA: Viernes 23 de Agosto
HORA: A partir de las 10:00 AM hasta
agotar existencias



¡Recibe un premio
por tu
participación!



Anexo 14. Panel sensorial realizado para la investigación



Anexo 15. Análisis Proximal



Anexo 16. Ejemplo de cálculo elaborado para determinación de humedad (el análisis se realizó en triplicado y luego se realizó un promedio con los datos)

$$\text{Volúmen total sin secar} - \text{Peso seco} \times 100 = \frac{\text{resultado}}{\text{Peso muestra sin secar}}$$

$$29.7317 - 18.2000 \times 100 = \frac{1153.17}{13.8676} = 83.1557 \% \text{ de Humedad en } 100 \text{ g}$$

Anexo 17. Ejemplo de cálculo elaborado para determinación de cenizas (el análisis se realizó en duplicado y luego se realizó un promedio con los datos)

$$\frac{\text{Peso cenizas}}{\text{peso muestra sin secar}} \times 100$$

$$\frac{0.0134}{1.1451} \times 100 = 1.1702\% \text{ de cenizas en } 100 \text{ g}$$

Anexo 18. Ejemplo de cálculo elaborado para determinación de proteína (el análisis se realizó en duplicado y luego se realizó un promedio con los datos)

$$\frac{\text{Volumen de ácido titulado} \times 0.014 \times 0.105 \times 100}{\text{peso muestra}} = \text{Resultado} \times 6.25$$

$$\frac{2.2 \text{ ml de ácido} \times 0.014 \times 0.105 \times 100}{0.2723} = 1.1877 \times 6.25 = 7.4229 \% \text{ en } 100 \text{ g}$$

Anexo 19. Ejemplo de cálculo elaborado para determinación de grasa

$$\frac{\text{Peso muestra extraída} \times 100}{\text{peso inicial muestra}}$$

$$\frac{0.2573 \times 100}{30 \text{ g}} = 0.8576\% \text{ de grasa en } 100 \text{ g}$$

Anexo 20. Determinación de cantidad de carbohidratos totales

$$\text{Humedad} + \text{Proteína} + \text{Grasa} + \text{Cenizas} = \text{Total}$$

$$100 - \text{total} = \text{Carbohidratos}$$

$$83.27\% + 7.2842\% + 0.8576\% + 1.1552\% = 92.5670 \%$$

$$100 - 92.5670 = 7.4330 \% \text{ de carbohidratos en } 100 \text{ g}$$

Anexo 21. Ejemplo de cálculo para determinar los datos para elaboración de etiqueta nutricional (lo mismo se realizó para grasa y carbohidratos con sus respectivos valores)

$$\frac{\text{Gramos de porción} \times \text{contenido de nutriente en } 100\text{g}}{100 \text{ g}} = \text{Gramos de nutriente en porción}$$

$$\frac{\text{Gramos de nutriente en porción}}{\text{VDR}} \times 100 = \% \text{VDR}$$

$$\text{Gramos de nutriente en porción} \times \text{cal en } 1 \text{ g de porción} = \text{Cal del nutriente en porción}$$

$$\frac{125 \text{ g} \times 7.2842\text{g}}{100 \text{ g}} = 9.1052 \text{ g de proteína en } 125 \text{ g de producto}$$

$$\frac{9.1052\text{g}}{50\text{g}} \times 100 = 18 \% \text{ de VDR de proteína}$$

$$9.1052 \times 4 \text{ cal} = 36 \text{ calorías de proteína en } 125\text{g de producto}$$

Anexo 22. Valores del VDR según la FDA

3-3
table

**Daily Reference Values (DRVs)
of Food Components Based on
the Reference Calorie Intake of
2000 Calories**

<i>Food Component</i>	<i>DRV</i>
Fat	65 g
Saturated fatty acids	20 g
Cholesterol	300 mg
Total carbohydrate	300 g
Fiber	25 g
Sodium	2400 mg
Potassium	3500 mg
Protein	50 g

From 21 CFR 101.9 (c) (9) (2009). Same as in 9 CFR 317.309 (c) (9) and 9 CFR 381.409 (c) (9).

(Nielsen, 2009)

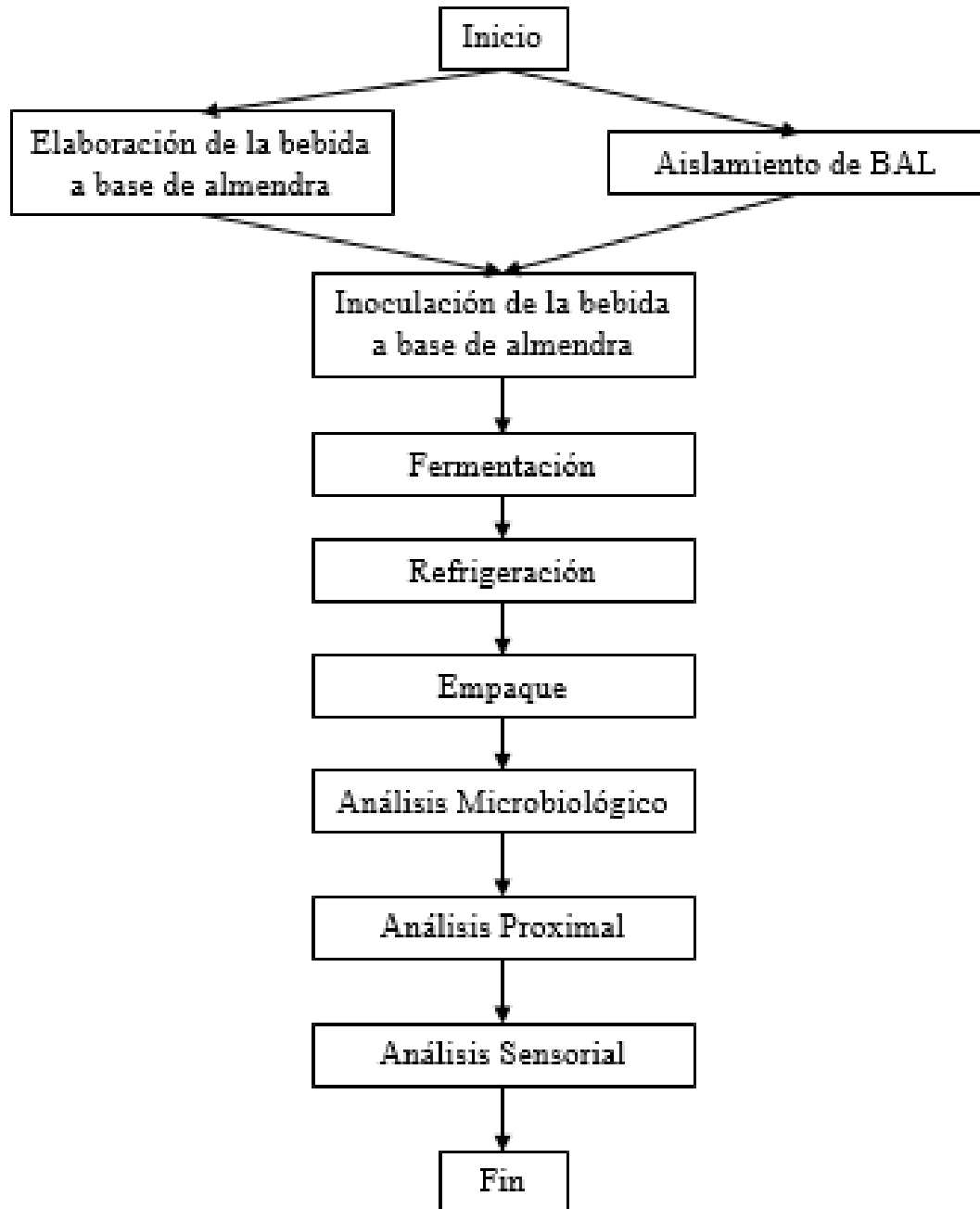
Anexo 23. Simulación de empaque del producto final



Anexo 24. Producto final



Anexo 25. Diagrama de flujo del procedimiento realizado para la elaboración del producto



Anexo 26. Listado de ingredientes del postre fermentado a base de bebida de almendra comercial



Anexo 27. Comparación del postre fermentado elaborado con productos semejantes al mismo como yogurts y postres fermentados

	Postre de almendra artesanal	Postre de almendra comercial	Postre de soya	Yogurt lácteo descremado	Yogurt lácteo entero
Proteína (g)	9.00	2.33	3.30	7.16	4.36
Grasa (g)	1.00	5.75	2.20	0.23	4.06
Carbohidratos totales (g)	9.00	15.83	12.11	9.60	5.83
Calorías (Cal)	83	124	83	70	76