

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD Y VIABILIDAD DE
BACTERIAS PROBIÓTICAS EN YOGUR BAJO DISTINTAS
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO**

Por:

VÍCTOR MANUEL MARTÍNEZ CRUZ



CATACAMAS

OLANCHO

DICIEMBRE 2025

**EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD Y VIABILIDAD DE
BACTERIAS PROBIÓTICAS EN YOGUR BAJO DISTINTAS
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO**

POR:

VICTOR MANUEL MARTINEZ CRUZ

M. Sc. NELYS ETHELVINA HERRERA FUNEZ

Asesor Principal

TESIS

**TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
AGRICULTURA COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION
DEL TÍTULO INGENIERO EN TECNOLOGIA ALIMENTARIA**

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE 2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primeramente a Dios, por ser mi guía y mi fortaleza en cada momento de este camino.

A mi padre que desafortunadamente falleció cuando comencé mi carrera, sé que en el cielo estará muy orgulloso, al ver lo lejos que ha llegado su amado hijo.

A mi madre y mis hermanos que con mucho sacrificio influyeron, para que yo pudiera cumplir este sueño.

A mis docentes, por compartir sus conocimientos y motivarme a superarme día a día.

Este logro es el reflejo de todos los que creyeron en mí, y nunca me dejaron rendir.

AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a Dios por permitir este gran logro que en mi vida será de mucho provecho. A mi persona que siempre que me propongo algo culmino la meta sin importar los obstáculos que se presenten en el camino.

A mi madre Cándida Rosa Cruz Ramos y mis hermanos, que son piezas fundamentales para mi desarrollo e inspiración motivacional en mi vida, por alegrarse y celebrar mis logros, así como alentándome en mis derrotas, también por su ayuda económica para mi continuo aprendizaje, por mostrarme el camino que debo de seguir y poner todo en las manos del señor, de verdad me siento muy agradecido por ser parte de una familia tan genuinamente buena y unida.

Al grupo de taekwondo que me ha mostrado el mejor lado de la universidad, por enseñarnos ese coraje tanto físico como mental, a enfrentarnos tanto a un combate como a cualquier obstáculo que se pueda presentar en el transcurso de la vida.

A mis asesores M. sc. Nelys Ethelvina Herrera Funez, M. sc. Ledy Yolany Nájera Aparicio y PhD. Mario Josué Gonzales Santos, por guiarme en el transcurso de mi proyecto de investigación.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo General:.....	4
2.2. Objetivos Específicos:	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1. Definición	5
3.2. Tipos de probióticos:.....	5
3.3. Importancia de los probióticos.....	6
3.3.1. Salud digestiva.....	6
3.3.2. Fortalecimiento del sistema inmunológico.....	6
3.3.3. Prevención de infecciones	6
3.3.4. Salud mental (eje intestino-cerebro).....	6
3.3.5. Salud dermatológica	7
3.3.6. Mejor absorción de nutrientes	7
3.4. Yogur con probióticos	7
3.5. Preparación del yogur	7
3.6. Beneficios para la salud	8
3.7. Factores que afectan la viabilidad de los probióticos en el yogur	8
3.8. Estrategias comunes para mejorar la viabilidad de los probióticos en el yogur	9
3.9. Desafíos que afectan la viabilidad de los probióticos durante el procesamiento y el almacenamiento	9
3.10. Criterios de selección de probióticos	10

3.11. Importancia del recuento total viable de yogur.....	10
3.12. Grados Brix.....	10
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
4.1. Descripción del lugar donde se desarrollará la investigación.....	11
4.2. Método	11
4.3. Materiales y equipo a utilizar.....	12
4.4. Preparación de la muestra	13
4.4.1. Elaboración del yogur	13
4.5. Recuento de bacterias probióticas.....	14
4.5.1 Preparación del medio base.....	14
4.5.2. Preparación de diluciones y siembra de las muestras	14
4.5.3. Incubación y recuento de probióticos.....	14
4.6. Análisis fisicoquímicos realizados al yogurt	15
4.6.1 Medición de pH.....	15
4.6.2. Determinación de acidez titulable	15
4.6.3. Medición de grados Brix	16
4.6.4. Medición de viscosidad.....	16
4.7. Diseño experimental y Análisis Estadístico.....	16
V. RESULTADOS Y DISCUSION	19
5.1. Resultado de la viabilidad de las bacterias probióticas en el yogur.....	19
5.1.1. Comparación general del efecto del tiempo y la temperatura.....	21
5.1.2. Gráfico de la viabilidad entres los tratamientos.	21
5.2. La tabla muestra los datos obtenidos de la viabilidad del yogur, de los días de almacenamiento.	22
5.2.1. Gráfico de la viabilidad del yogur a una temperatura de 4°C	23
5.2.2. Gráfico de la viabilidad de los microorganismos probióticos del yogur a una temperatura de 6°C.....	24

5.2.3. Gráfico de la viabilidad de los microorganismos probióticos en yogur a una temperatura de 8°C.....	25
5.3. Resultados de los análisis fisicoquímicos hechos al yogur.....	26
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	30
VIII. BIBLIOGRAFIA	31
IX. ANEXOS	34

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Factores de estudio con sus niveles y sus repeticiones-----	17
Tabla 2: Tratamientos, variables independientes y dependientes-----	18
Tabla 3. Viabilidad entre los tratamientos-----	19
Tabla 4. Viabilidad entre los días-----	22
Tabla 5. Caracterización fisicoquímica del yogur.-----	26

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo en la elaboración del yogur-----	13
Figura 2. Valores de la viabilidad del yogur de los tratamientos.-----	21
Figura 3. Viabilidad entre día 8 (4°C)-----	23
Figura 4. Viabilidad entre día 16 (6°C)-----	24
Figura 5. viabilidad entre día 24 (8°C)-----	25

RESUMEN

La investigación se orientó a evaluar la estabilidad y viabilidad de bacterias probióticas en yogur sometido a diferentes condiciones de almacenamiento. El ensayo experimental, utilizando fue un diseño completamente al azar de tipo bifactorial, con dos factores principales: temperatura de almacenamiento (4 °C, 6 °C y 8 °C) y tiempo de almacenamiento (8, 16 y 24 días). Para cada tratamiento se realizaron análisis microbiológicos y fisicoquímicos.

La viabilidad microbiana se mantuvo estable durante los primeros 8 y 16 días en todas las temperaturas evaluadas, con valores comprendidos entre 7.21 y 7.36 log UFC/mL, adecuados para mantener el efecto probiótico del yogur. Al alcanzar los 24 días, se observó una disminución estadísticamente significativa en la viabilidad especialmente en los tratamientos almacenados a 4 °C y 6 °C, donde los valores descendieron hasta rangos entre 6.74 y 6.80 log UFC/mL. La temperatura de 8 °C presentó un descenso más moderado, conservando valores superiores (6.95 log UFC/mL).

Los análisis fisicoquímicos, se observó un descenso progresivo del pH hasta 3.92 y un aumento de la acidez, comportamientos propios de la actividad fermentativa residual durante el almacenamiento. La viscosidad disminuyó de forma marcada al cabo de 24 días, especialmente a 8 °C, mientras que los grados Brix permanecieron estables entre tratamientos. Los resultados permiten concluir que el tiempo de almacenamiento es el factor más determinante en la pérdida de viabilidad probiótica y en las modificaciones fisicoquímicas del yogur, mientras que la temperatura influye en la magnitud de dichos cambios. Este estudio contribuye al entendimiento del comportamiento de yogures probióticos y a la definición de condiciones óptimas de almacenamiento para preservar su calidad funcional.

Palabras clave: yogur, probióticos, viabilidad, almacenamiento, tiempo y temperatura.

I. INTRODUCCIÓN

La importancia de la leche en la alimentación de la humanidad ha conducido a desarrollar tecnologías para su procesamiento aprovechando su potencial y alternativas de transformación. Entre los derivados más destacados se encuentra el yogur, cuyo consumo se ha extendido a nivel mundial desde hace más de un siglo, principalmente después de ser introducido en los mercados occidentales, europeos y estadounidenses. Desde hace más de un siglo, especialmente en los Estados Unidos, en la actualidad su consumo es parte de la vida cotidiana de muchas personas a nivel mundial (Olmos Villavicencio, 2024).

El yogur se obtiene mediante la fermentación de la leche mediante la intervención de microorganismos específicos. Los probióticos son cultivos individuales o mixtos de microorganismos vivos que, cuando se consumen en cantidades adecuadas proporcionan beneficios para la salud del huésped, desempeñando un papel fundamental en este producto, dentro de ellas se encuentran las bacterias ácido lácticas ya que son aliados importantes del tracto gastrointestinal humano. El ácido láctico es su principal producto final durante la fermentación del azúcar (Meybodi et al., 2020)

Los probióticos constituyen un grupo destacado dentro de los compuestos funcionales, el término probiótico significa a favor de la vida y se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos. *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, son los géneros probióticos más estudiados y más usados en alimentos. Entre los aportes de los probióticos a la salud están el tratamiento y prevención de diarrea aguda, erradicación de *Helicobacter pylori*, prevención de alergias, enfermedades intestinales inflamatorias y síndrome de intestino irritable. Existen datos que indican que las personas sanas pueden tomar probióticos como medio de prevenir ciertas enfermedades y modular la inmunidad del huésped (Carrión, 2014).

Para garantizar que un producto que contiene probióticos cumpla su función, se debe mantener la viabilidad y la actividad probiótica durante todo el proceso de elaboración,

manipulación y almacenamiento del producto; verificándolas en el período de vida útil. Aunque todavía existe poca información sobre las dosis y la frecuencia de consumo necesaria para garantizar la efectividad de estos productos, en general, se sugiere que estos productos mantengan unos valores de viables de 10^6 ufc/g al final de la vida útil. Con base a lo anterior esta investigación se centra en evaluar la viabilidad de los probióticos (*Lactobacillus acidophilus* DDs-1 y *Bifidobacterium* BB-12) en tres diferentes tipos de temperatura (4°C, 6°C y 8°C) y tres tiempos de almacenamiento (8, 16 y 24 días) Con el fin de determinar las condiciones más adecuadas para que el microorganismo se encuentre estable en dicha temperatura.

Para la elaboración del yogur se utilizará leche de vaca pasteurizada. La fermentación de la leche se realizará con los cultivos iniciadores, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium* BB-12. Como rellenos se utilizará ayote y miel de abeja (Buniowska-Olechnik et al., 2025).

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General:

1. Estudiar la viabilidad y estabilidad de microorganismos probióticos en yogur, en diferentes condiciones de almacenamiento.

2.2. Objetivos Específicos:

1. Determinar la viabilidad de bacterias probióticas durante diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento.
2. Evaluar los cambios en pH, acidez titulable y grados Brix como indicadores de estabilidad del yogur.
3. Analizar la interacción entre temperatura y tiempo de almacenaje sobre la viabilidad probiótica.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Definición

Los probióticos son microorganismos vivos que, al ser consumidos en cantidades suficientes tienen efectos positivos para la salud, así como nutricionales (Matias Montes & Tovar Ccoa, 2023).

3.2. Tipos de probióticos:

Las principales BAL (bacterias del ácido láctico) que se utilizan como probióticos son de la familia *Lactobacillaceae* principalmente *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri* y *Lactobacillus rhamnosus* Mollakhalili, Mortazavian, Sohrabvandi.

Otros microorganismos probióticos de uso frecuente son de la familia de las *Bifidobacterias* como *Bifidobacterium teenageris*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis* y *Bifidobacterium longum* que producen principalmente ácido acético y ácido láctico.

Cabe mencionar que algunas cepas de los géneros *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Saccharomyces*, *Bacillus* y *Escherichia* tienen un estado probiótico potencial (Meybodi et al., 2020a)

3.3. Importancia de los probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del huésped, según la definición de la OMS. Son especialmente conocidos por su papel en la salud digestiva, pero sus efectos positivos van mucho más allá. Clasificación de su importancia:

3.3.1. Salud digestiva

Equilibran la microbiota intestinal, ayudando a mantener un sistema digestivo sano, Previenen y tratan problemas como diarreas, especialmente las inducidas por antibióticos o infecciones, y también alivian síntomas del síndrome del intestino irritable (SII), como la hinchazón, gases y dolor abdominal.

3.3.2. Fortalecimiento del sistema inmunológico

Estimulan la producción de células inmunitarias, ayudan a reducir la incidencia de infecciones respiratorias y gastrointestinales, y algunos estudios sugieren que pueden mejorar la respuesta a vacunas.

3.3.3. Prevención de infecciones

Ayudan a combatir bacterias patógenas (nocivas), como *Clostridium difficile* o *Helicobacter pylori*, y promueven un entorno intestinal hostil para microbios dañinos.

3.3.4. Salud mental (eje intestino-cerebro)

Existen conexiones entre la microbiota intestinal y el cerebro, algunos probióticos ("psicobióticos") pueden ayudar a reducir la ansiedad y la depresión leve, aunque esta es un área en desarrollo.

3.3.5. Salud dermatológica

Pueden contribuir a mejorar condiciones como el acné, la rosácea y la dermatitis atópica, al influir en la inflamación y la respuesta inmune.

3.3.6. Mejor absorción de nutrientes

Favorecen la absorción de minerales como calcio, magnesio y hierro y ayudan en la síntesis de vitaminas, como la B12 y la K. (Matias Montes & Tovar Ccoa, 2023)

3.4. Yogur con probióticos

El yogur es el producto que se obtiene de la fermentación de la leche con dos bacterias específicas, llamadas *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii, subsp. bulgaricus*. Estas se encargan de fermentar parcialmente la lactosa para acidificar la leche. Los yogures, en general, son mejor tolerados que la leche por los sujetos mal absorbedores o intolerantes a la lactosa, debido a que parte de la lactosa se consume durante la fermentación. A su vez, una hidrólisis adicional de la lactosa tiene lugar una vez ingerido el yogur; la lactosa se sigue hidrolizando con la enzima lactasa liberada por las bacterias lácticas al ser lisadas por los jugos biliares. (Gabriel & Perez, 2021)

3.5. Preparación del yogur

El yogur es el producto lácteo fermentado más consumido en el mundo. Está disponible como gelatina o productos diluidos llamados sólidos, batidos y líquidos. (Olmos Villavicencio 2024). Con pocas excepciones, la leche y el yogur tienen composiciones de vitaminas y minerales similares. Durante la fermentación se consumen las vitaminas B-12 y C, y se produce ácido fólico (Meydani & Ha, 2000).

3.6. Beneficios para la salud

Estos efectos están asociados con mejoras en enfermedades infecciosas, intestinales crónicas como:

- Colitis ulcerosa.
- Modulación inmunológica.
- Biodisponibilidad de nutrientes.
- Enfermedades cardiovasculares.
- Diabetes no insulino dependiente.
- Obesidad, osteoporosis y cáncer.

Este efecto beneficioso de los microorganismos probióticos se debe a que cuando se consumen en cantidades suficientes, el ecosistema de billones de microorganismos que viven en el intestino humano cambia, creando un equilibrio que se manifiesta como un estado saludable donde existe competencia por los nutrientes (Matias Montes & Tovar Ccoa, 2023).

3.7. Factores que afectan la viabilidad de los probióticos en el yogur

La viabilidad de los probióticos en yogur no es un mero dato técnico: es el factor determinante de la funcionalidad del producto (beneficio para la salud del consumidor) y de su valor comercial (etiquetado “contiene cultivos vivos”, vida útil, certificaciones). Mantener un recuento mínimo viable (habitualmente $\geq 10^6$ – 10^7 UFC/ml en la fecha de consumo) es requisito para efectos probióticos demostrados y para cumplir normas comerciales y expectativas del consumidor. Esto hace que la evaluación de la viabilidad durante almacenamiento sea una métrica central en estudios sobre yogur funcional (Shori et al., 2018)

Existen tres criterios importantes en la producción de yogur probiótico que pueden afectar el valor añadido del producto final: (1) disminución de la viabilidad de las bacterias probióticas durante el procesamiento y el almacenamiento; (2) un tiempo de incubación comparativamente mayor que el del yogur convencional; y (3) características organolépticas inaceptables del yogur final (Tripathi & Giri, 2014) Es importante destacar

que los yogures que contienen bacterias probióticas deben tener más de 9 log UFC de bacterias viables (Meybodi et al., 2020b).

Los trabajos de revisión y estudios experimentales señalan que la supervivencia depende de múltiples factores interrelacionados como ser: Temperatura de almacenamiento y tiempo (interacción tiempo $\times$ temperatura). El declive es acelerado por tiempo prolongado y por temperaturas inadecuadas; la interacción entre ambos determina la velocidad de pérdida (Ferdousi et al., 2013). El pH y acidez titulable: la acidificación post-fermentativa (producción continua de ácido láctico) es una de las causas principales de muerte por daño ácido (Sah et al., 2015). Matriz y aditivos (proteínas, azúcares, fibras, miel, compuestos fenólicos): la composición del yogur puede proteger o inhibir a los probióticos según la naturaleza y concentración del aditivo. Condiciones de proceso y cadena de frío: fluctuaciones térmicas o tratamientos térmicos mal ejecutados afectan la población inicial y su declive posterior (Terpiłowski et al., 2023)

3.8. Estrategias comunes para mejorar la viabilidad de los probióticos en el yogur

Se han adoptado diversos métodos para mejorar la viabilidad de las bacterias probióticas en el yogur durante su vida útil, como la microencapsulación y la adición de prebióticos. Estos son los métodos más comunes investigados en estudios (Meybodi et al., 2020).

3.9. Desafíos que afectan la viabilidad de los probióticos durante el procesamiento y el almacenamiento

A pesar de las numerosas ventajas conocidas de los probióticos para la salud, estos microorganismos se enfrentan a diversos desafíos durante su procesamiento, almacenamiento y administración a través del tracto gastrointestinal (TGI). El grado en que se ve afectada la viabilidad de los probióticos suele depender del factor específico involucrado. Por ejemplo, la aplicación de altas temperaturas durante la preparación de pan o chocolate ha sido durante mucho tiempo un factor limitante importante para los probióticos, ya que estas bacterias no toleran altas temperaturas. La exposición a altas temperaturas puede desnaturalizarlos (Mgomi et al., 2025).

3.10. Criterios de selección de probióticos

La selección de cepas probióticas debe cumplir con los estándares de seguridad y funcionamiento, así como los relativos a su utilidad tecnológica, según las recomendaciones de la OMS, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (AESA). El origen, la ausencia de asociación con cultivos patógenos y la capacidad de resistir antibióticos definen la seguridad de las cepas probióticas. Las características funcionales representan la capacidad de un individuo para sobrevivir en el sistema gastrointestinal. Por el contrario, sus efectos inmunomoduladores y su capacidad para sobrevivir y mantener la calidad durante los procesos de producción, almacenamiento y distribución están asociados a su aplicabilidad tecnológica. Los probióticos no suelen colonizar permanentemente el tracto gastrointestinal (TGI); por lo tanto, deben consumirse con frecuencia para reponer los excretados a través de las heces para obtener un efecto probiótico exógeno continuo. Se recomienda una población mínima de probióticos, que varía de 10^6 a 10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) por porción (Parhi et al., 2024).

3.11. Importancia del recuento total viable de yogur

El recuento total viable es fundamental para evaluar la calidad microbiológica del yogur, verificando la presencia de bacterias beneficiosas, como las fermentadoras y probióticas (Mousa et al., 2025).

3.12. Grados Brix

Los grados Brix se usan para indicar la cantidad de sólidos disueltos en una solución. En la industria de bebidas, es usado específicamente para cuantificar la cantidad de azúcar en una bebida. Los grados brix para el yogur final son de 17-18 (Lora, 2009)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Descripción del lugar donde se desarrollará la investigación

La investigación se desarrolló en el laboratorio de microbiología de alimentos, laboratorio de microbiología general y la planta de lácteos, de la Facultad de Ciencias Tecnológicas ubicada en la Universidad Nacional de Agricultura perteneciente al municipio de Catacamas en el departamento de Olancho, Honduras.

4.2. Método

Se empleó un enfoque experimental con diseño bifactorial, cuyo propósito fue analizar de manera simultánea el efecto que tiene la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre la viabilidad y estabilidad de los probióticos en yogur. Este enfoque no se limitó únicamente a la aplicación del método experimental, si no que permitió evaluar la interacción entre ambos factores, es decir, como la combinación de tiempo y temperatura modifica el comportamiento de las bacterias probióticas más allá de los efectos individuales de cada variable.

La elección de un diseño bifactorial (3 temperaturas x 3 tiempos de almacenamiento) se fundamentó en que la viabilidad probiótica depende de más de un factor ambiental; por lo tanto, era necesario un diseño que permitiera identificar el efecto independiente de cada factor, el efecto combinado o interacción entre tiempo y temperatura, combinaciones más favorables y desfavorables para la supervivencia microbiana.

Este tipo de diseño aumenta la precisión estadística, reduce la variabilidad experimental y permite obtener conclusiones más robustas sobre las condiciones óptimas de almacenamiento.

En cuanto a las variables analizadas, se evaluaron parámetros fisicoquímicos (pH, acidez titulable viscosidad y grados brix) y microbiológicos (viabilidad probiótica expresada en log UFC/ml). Estas variables fueron seleccionadas debido a que influyen directamente en la estabilidad del producto y reflejan los cambios metabólicos de las bacterias probióticas durante el almacenamiento. El seguimiento de estas variables permitió comprender como las condiciones de refrigeración modifican tanto la calidad del yogur como la supervivencia de las bacterias beneficiosas.

Para garantizar la confiabilidad del experimento se implementaron controles estrictos sobre las condiciones externas. El yogur fue elaborado bajo condiciones estandarizadas de formulación, pasteurización y la inoculación, asegurando que todos los tratamientos se diferenciaron únicamente en el tiempo y la temperatura. Se mantuvo control rígido de las temperaturas de almacenamiento mediante equipos calibrados, se utilizaron materiales esterilizados. Esto permitió minimizar la influencia de factores externos como contaminación ambiental, oscilaciones térmicas o variación en la composición del producto.

4.3. Materiales y equipo a utilizar

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron incubadoras, autoclave, refractómetro, viscosímetro digital rotacional PCE-RVI 2, con un rango de velocidad ajustable hasta 60 rpm, y una viscosidad de 20 CP-100,000 CP, a una temperatura de 0.0 °C, balanza, pH-metro, Placas Petri, ollas, estufa, refrigerador, NaOH al 0.095 N, medio de cultivo BL, Cepa comercial, tubos de ensayo, incubadora, fenolftaleína

Vaso de precipitado o recipiente pequeño, campana, Agua destilada, Agitador, botas, gabacha, papel toalla, mandil, redecillas, guantes y mascarilla, pipeta, bureta, probeta, algodón, papel aluminio, guantes.

4.4. Preparación de la muestra

4.4.1. Elaboración del yogur

El yogur se elaboró a base de leche entera bovina, con un 4% de grasa, extrayendo la leche de animales ubicados en la UNAG. La leche cumplió con las condiciones higiénicas y sanitarias. Una vez la leche en planta se tamizó, para eliminar cualquier partícula extraña o suciedad.

Se utilizaron 10 litros de leche, se pasteurizó a 85 °C por 5 minutos, luego se sometió al choque térmico, para que no perdiera los nutrientes, a una temperatura de 45°C por 10 minutos. Se inocularon 2 g de un cultivo mixto compuesto por (cepa comercial *Lactobacillus acidophilus* DDs-1 y *Bifidobacterium* BB-12) luego se incubó la muestra durante 3 horas hasta alcanzar la coagulación deseada, pasado este tiempo se almacenó en el cuarto frío por 24 horas, al día siguiente se agregó la miel de abeja (1750 ml) y el ayote (5 libras) este se sometió a cocción y desenchado antes de ser agregado al yogurt. El público meta son personas mayores de 18 años, y como conservante se utilizó benzoato de sodio (0.02 g). Cabe recalcar que no se hicieron análisis después de la fermentación sino hasta los primeros 8 días de almacenamiento.

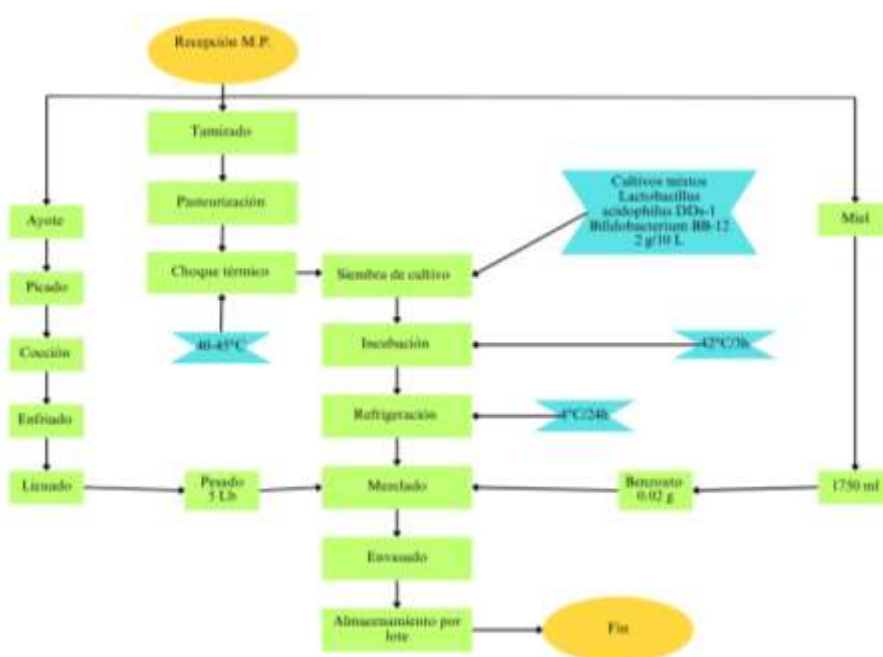


Figura 1. Diagrama de flujo en la elaboración del yogur

4.5. Recuento de bacterias probióticas

4.5.1 Preparación del medio base

El agar MRS se preparó pesando 68.2 gramos del medio y diluyendo en 1 litro de agua destilada, se homogeneizó y se calentó. Se esterilizó a 121 °C por 15 minutos. Y se controló que el pH del medio fuera de 6.5 ± 0.2 a 25°C. El agar preparado se almacenó en el refrigerador, al ser utilizado se derritió en baño maría a una temperatura de 45°C (Carrión, 2014).

4.5.2. Preparación de diluciones y siembra de las muestras

Se preparó solución salina de peptona al 0.1%. Se pesó 25 g de peptona en polvo, diluyéndolo en agua destilada hasta completar un litro. La solución se esterilizó a 121°C por 15 min. Se realizaron 6 diluciones consecutivas de cada muestra y sus respectivas repeticiones, se pesaron 10 g de yogur diluyéndose en 90 ml de solución salina de peptona estéril. Pasando en cada caso, 1 ml de la dilución anterior en 9 ml de agua peptonada. Se inoculó 1 ml de cada dilución agregándole aproximadamente 15 ml de medio de cultivo por vaciado en placa, se homogeneizó luego se dejaron solidificar para incubar las placas a una temperatura de 39°C durante un tiempo de 24 horas. Se sembró por triplicado. (Carrión, 2014).

4.5.3. Incubación y recuento de probióticos

Todas las placas se colocaron de forma invertida una sobre otra ordenada por tratamiento y repeticiones. Las placas se incubaron a 37°C por 24 horas. (Carrión, 2014).

Al terminar de la incubación se seleccionaron las placas que presentaron entre 30 a 300 UFC, reportando el promedio de las dos placas por el inverso de la dilución. El resultado se expresó en unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) Esto coincide con la literatura que describe (Carrión, 2014).

4.6. Análisis fisicoquímicos realizados al yogurt

4.6.1 Medición de pH

Se realizó por medida directa usando un peachimetro. Se reportó el valor promedio de tres mediciones. (Carrión, 2014) Se tomó 20 ml de muestra, El pH-metro se calibro con solución buffer de 4 y 7 de pH (20 °C). Estas mediciones se hicieron los 8, 16 y 24 días. Un yogurt fresco y bien fermentado suele tener un pH entre 4.0 y 4.6, según (Acevedo Pons et al., 2009). Por último, se limpió el peachimetro con agua destilada y se guardó en un lugar seguro.

4.6.2. Determinación de acidez titulable

Se tomaron de 5 g de muestra y se diluyo en 20 ml de agua destilada se adiciono 3 gotas de solución indicadora de fenolftaleína y se tituló con una solución de hidróxido de sodio al 0.095 N hasta cambio de coloración a rosa. Los resultados se expresaron como porcentaje de ácido láctico del promedio de tres mediciones por tratamiento. El rango de acidez en yogurt se encuentra entre 0.85%-1.8% expresado como ácido láctico (Carrión, 2014).

Fórmula para el cálculo de acidez

$$\text{Acidez (\% Ácido láctico)} = \frac{\text{ml NaOH} * \text{Normalidad NaOH} * \text{peso ácido láctico}}{\text{Peso de la muestra (g)} * 1000} * 100\%$$

Se tomaron mediciones los días 8, 16 y 24.

4.6.3. Medición de grados Brix

El porcentaje de grados Brix de los yogures se midió con Refractómetro 30GS de Mettler Toledo, los grados de este yogur marco 22 grados Brix (Herrera, 2024). De igual forma el tiempo fueron 3 semanas haciendo un análisis por semana, este no cambio.

4.6.4. Medición de viscosidad

Se encendió el viscosímetro y selecciono el husillo (spindle). Se aseguró de que el equipo estuviera anivelado y calibrado. Se mezcló suavemente el yogur para obtener una muestra homogénea sin burbujas de aire. Luego se llévalo a la temperatura a la cual realizo la medición (4 °C). Se Vertió el yogur en un beaker y se procedió a coloca el husillo dentro de la muestra, sin que toque las paredes ni el fondo. Se seleccionó una velocidad de medición (60 rpm) y esperar a que se estabilizara la lectura. Una vez estable, se registró el valor mostrado por el viscosímetro (en centipoise). Se Realizaron tres mediciones por tratamiento para obtener un promedio confiable. Se retiró y lava el husillo con agua destilada para evitar residuos que puedan afectar mediciones futuras. Se hicieron mediciones los días 8, 16 y 24

4.7. Diseño experimental y Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño experimental bifactorial completamente al azar con dos factores A=temperatura de almacenamiento (tres niveles: 4 °C, 6 °C y 8 °C) y factor B= tiempo de almacenamiento (tres niveles: 8, 16 y 24 días). La combinación de estos niveles dio lugar a un total de nueve tratamientos experimentales.

Para cada tratamiento, se realizó mediciones en triplicado de las variables dependientes, con el fin de asegurar la confiabilidad y precisión de los datos obtenidos.

Las variables dependientes utilizadas fueron: viabilidad microbiana, pH, acidez titulable, contenido de sólidos solubles (brix), viscosidad y estabilidad.

Tabla 1: Factores de estudio con sus niveles y sus repeticiones

Tratamientos	Temperatura a estudiar	Días
T1	4°C	8
T1	4°C	8
T1	4°C	8
T2	4°C	16
T2	4°C	16
T2	4°C	16
T3	4°C	24
T3	4°C	24
T3	4°C	24
T4	6°C	8
T4	6°C	8
T4	6°C	8
T5	6°C	16
T5	6°C	16
T5	6°C	16
T6	6°C	24
T6	6°C	24
T6	6°C	24
T7	8°C	8
T7	8°C	8
T7	8°C	8
T8	8°C	16
T8	8°C	16
T8	8°C	16
T9	8°C	24
T9	8°C	24
T9	8°C	24

Fuente: Propia

Tabla 2: Tratamientos, variables independientes y dependientes

Tratamientos	Variables independientes		Variables dependientes					
	Temperatura	Tiempo almacenamiento	Viabilidad	PH	Acidez	Viscosidad	°Brix	
T1	4 °C	8 días						
T2	4 °C	16 días						
T3	4 °C	24 días						
T4	6 °C	8 días						
T5	6 °C	16 días						
T6	6 °C	24 días						
T7	8 °C	8 días						
T8	8 °C	16 días						
T9	8 °C	24 días						

Fuente: Propia

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza bifactorial (ANOVA de dos vías) para evaluar el efecto principal de cada factor (temperatura y tiempo). En caso de encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), se aplicó una prueba de comparación de medias mediante el método de Tukey HSD. El procesamiento estadístico se llevó a cabo con el software estadístico infostat.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. Resultado de la viabilidad de las bacterias probióticas en el yogur

En la (tabla 3) Se muestran los datos obtenidos de la viabilidad del yogur entre tratamientos. Muestra los promedios en log UFC/ml en los 9 tratamientos evaluados correspondientes a las combinaciones de temperatura y tiempo de almacenamiento La numeración del 1 al 9, representa los tratamientos los cuales reflejan la combinación de tiempo y temperatura. Todos los valores están por encima de 10^6 UFC/ml, que es el mínimo recomendado para obtener efecto probiótico, la mayoría supera los 10^7 UFC/ml, indicando excelente viabilidad en los primeros días de almacenamiento.

Tabla 3. Viabilidad entre los tratamientos

Tratamiento	Temperatura	Tiempo	Viabilidad (log UFC/ml)
1	4°C	8 días	$7.24 \pm 0.126c$
2	4°C	16 días	$7.28 \pm 0.187c$
3	4°C	24 días	6.8 ± 0.234^a
4	6°C	8 días	$7.31 \pm 0.032c$
5	6°C	16 días	$7.36 \pm 0.057 c$
6	6°C	24 días	$6.74 \pm 0.299 a$
7	8°C	8 días	$7.21 \pm 0.082bc$
8	8°C	16 días	$7.24 \pm 0.049c$
9	8°C	24 días	$6.95 \pm 0.149ab$

Medias con letras en común no son significativamente diferentes (aa)

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (ac) (LSD Fisher $P \leq 0.05$).

La (tabla 3) muestra los valores obtenidos de la evaluación de la viabilidad de bacterias probióticas expresadas en log UFC/ml. De los 9 tratamientos evaluados, que

corresponden a las combinaciones de temperatura de 4°C, en los tratamientos 1, 2, 4, 5, 7 y 8 la viabilidad se mantuvo estable durante 8 y 16 días, con un rango de 7.21 ± 0.082 log UFC/ml, hasta 7.24 ± 0.126 log UFC/ml, pero disminuye significativamente para los 24 días, hasta 6.74 ± 0.299 log UFC/ml.

A 8°C en los tratamientos 7, 8 y 9 aquí la disminución es más gradual, que en los días 8 y 16 están relativamente similares (bc y c) mientras que a los 24 días baja, pero no tanto como en 4°C y 6°C (ab). Menor caída, aunque sigue siendo significativamente respecto a 16 días. Esto puede explicarse por la interacción entre la temperatura de almacenamiento, la fermentación residual, el metabolismo de las bacterias ácido-lácticas (BAL) y los cambios en el pH y la acidez del yogur. A 8°C las BAL mantienen una actividad metabólica moderada. No están completamente inactivas como en temperaturas más bajas, esta actividad provoca, una fermentación residual más lenta, producción gradual de ácido láctico, disminución progresiva de pH, provocando un aumento de acidez menos brusco. Esto comprueba la teoría de (Farobie et al., 2023) que encontró que probióticos en yogur almacenados a 4°C mantienen ≥ 7 log UFC/G después de 14 días, pero caen después por acumulación de ácido láctico.

También la supervivencia probiótica se relaciona con el pH y acidez. Al no descender el pH tan rápido, el entorno mantiene un nivel de acidez menos lesivo, permitiendo que las bacterias conserven su integridad de membrana, homeostasis celular y prolonguen la viabilidad. Por lo tanto, al día 24 aunque hay una disminución clara, esto no es tan fuerte como en 4°C y 6°C por que el pH no alcanzo niveles tan bajos, y por lo tanto la acidez acumulada fue menor.

La literatura señala que a temperaturas moderadas de refrigeración (7°C y 8°C) permiten a las BAL mantener una baja pero sostenida actividad metabólica., evitando cambios bruscos de pH, además se reconoce que la velocidad de acumulación de ácido láctico influye directamente en la viabilidad (Dave & Shah, 1997) corrobora la teoría que después del día 24 no se alcanzan niveles tan bajos por esa razón el acidez es menor.

5.1.1. Comparación general del efecto del tiempo y la temperatura.

La comparación general del efecto del tiempo y la temperatura muestra que ambos factores influyen significativamente en la viabilidad microbiana, pero su efecto no es independiente. Las combinaciones de tiempo y temperatura determinan si la población bacteriana se mantiene o disminuye. Los tratamientos con valores más altos corresponden a combinaciones favorables para la supervivencia, mientras que los tratamientos 3 y 6 reflejan combinaciones desfavorables que reducen la viabilidad de forma significativa. Esto confirma que existe una interacción clara entre tiempo y temperatura, donde un cambio en cualquiera de los dos potenciar o disminuir el efecto de otro. (Farobie et al., 2023) comprueba esta teoría.

Estos resultados obtenidos comprueban que el tiempo y temperatura no actúan de forma independiente, si no que presentan una interacción significativa que determina la viabilidad microbiana, ciertas combinaciones permiten mantener la población bacteriana, mientras que otras aceleran la disminución. Este comportamiento coincide ampliamente con lo reportado en la literatura científica (Cabello-Olmo et al., 2020).

5.1.2. Gráfico de la viabilidad entre los tratamientos.

Medias con letras en común no son significativamente diferentes (aa). Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (ac) (LSD Fisher $P \leq 0.05$).

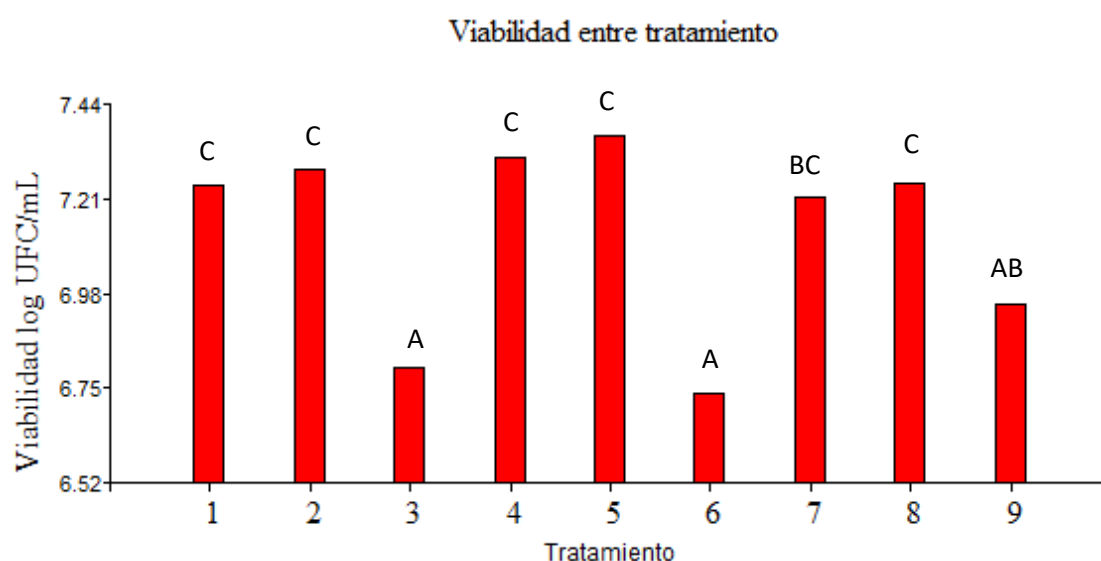


Figura 2. Valores de la viabilidad del yogur de los tratamientos.

La grafica muestra la viabilidad de bacterias probióticas (log UFC/ml en los 9 tratamientos, donde cada tratamiento corresponde a una combinación de temperatura y tiempo de almacenamiento. Los valores se muestran entre 6.7 y 7.35, lo que indica que el yogur mantiene niveles relativamente altos de bacterias vivas durante la mayor parte del almacenamiento. La grafica muestra que la viabilidad probiótica se mantiene alta durante los primeros 8 y 16 días de almacenamiento, especialmente a 4°C y 6°C, donde se alcanzan los valores más elevados. Sin embargo, a los 24 días, la viabilidad disminuye en todas las temperaturas, lo que demuestra que el tiempo prolongado es el principal factor que afecta negativamente la supervivencia de las bacterias probióticas en yogur. Esto indica que la mejor conservación se obtiene a temperaturas bajas y dentro de las primeras dos semanas de almacenamiento.

Finalmente los resultados confirman que las mejores condiciones de conservación ocurren durante las primeras dos semanas de almacenamiento y a temperaturas bajas, siendo esto consistente con estudios como (Cabello-Olmo et al., 2020) quienes destacan que la interacción tiempo-temperatura determinan la capacidad de supervivencia probiotica y que el deterioro inevitable ocurre cuando el almacenamiento se extiende más allá de los limites fisiológicos óptimos.

5.2. La tabla muestra los datos obtenidos de la viabilidad del yogur, de los días de almacenamiento.

Tabla 4. Viabilidad entre los días

DÍAS	VIABILIDAD		
	4°C	6°C	8°C
8	7.24±0.126 ^a	7.31±0.032 ^a	7.21±0.082 ^a
16	7.28± 0.187 ^a	7.36±0.057 ^a	7.24±0.049 ^a
24	6.8± 0.234 ^B	6.74±0.299 ^B	6.95±0.149 ^B

Medias con letras en común no son significativamente diferentes (aa)

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (ac) (LSD Fisher $P \leq 0.05$). ($P \leq 0.05$).

La viabilidad de las bacterias probióticas en el yogur se mantiene estable durante los primeros 8 y 16 días de almacenamiento, dependiendo de si se conserva a 4°C, 6°C y 8°C. Sin embargo, después de 24 días, se observa una disminución significativa en la viabilidad en todas las temperaturas, lo que indica que el factor más determinante en la pérdida de células vivas es el tiempo de almacenamiento y no la temperatura. Las temperaturas más bajas (4°C y 6°C) muestran una conservación ligeramente mejor, pero todas presentan una caída marcada después de las dos semanas. (Farobie et al., 2023) avala esta teoría.

La literatura señala que a temperaturas moderadas de refrigeración (7°C y 8°C) permiten a las BAL mantener una baja pero sostenida actividad metabólica., evitando cambios bruscos de pH, además se reconoce que la velocidad de acumulación de ácido láctico influye directamente en la viabilidad (Dave & Shah, 1997)

5.2.1. Gráfico de la viabilidad del yogur a una temperatura de 4°C

Medias con letras en común no son significativamente diferentes (aa)

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (ac) (LSD Fisher $P \leq 0.05$).

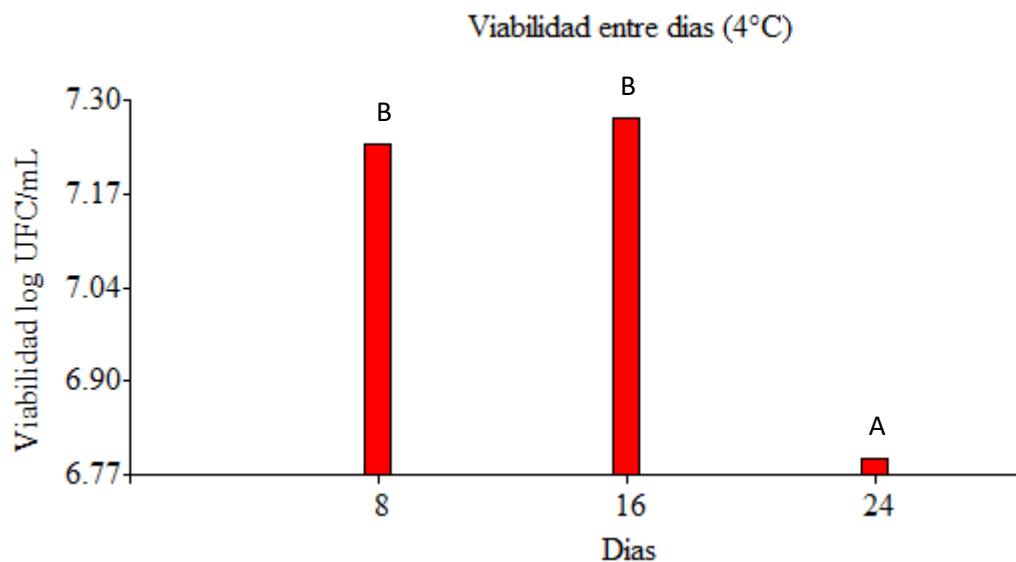


Figura 3. Viabilidad entre día 8 (4°C)

La temperatura de 4°C mantiene una excelente viabilidad hasta el día 16, pero después comienza un descenso medible, lo que indica el límite óptimo de almacenamiento

5.2.2. Gráfico de la viabilidad de los microorganismos probióticos del yogur a una temperatura de 6°C

Medias con letras en común no son significativamente diferentes (aa)

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (ac) (LSD Fisher P ≤ 0.05).

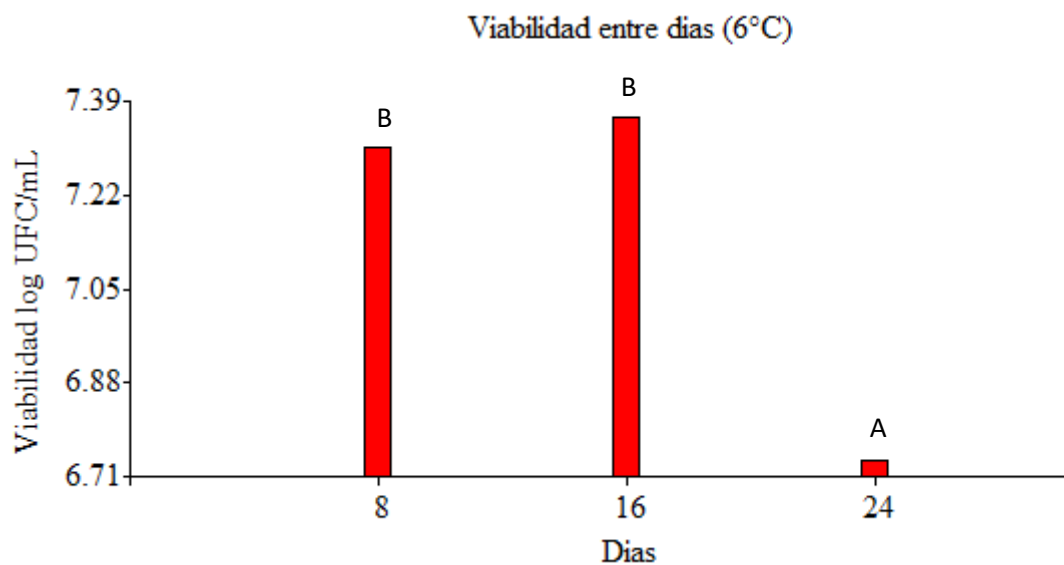


Figura 4. Viabilidad entre día 16 (6°C)

A 6°C, las bacterias probióticas mantienen una alta viabilidad hasta los 16 días, después de ese tiempo, se observa una reducción significativa, lo cual indica que la estabilidad empieza a comprometerse después de los 24 días. Esto sugiere que, para asegurar la mayor calidad probiótica, el producto debería consumirse antes de los 24 días si se almacena a 6°C.

5.2.3. Gráfico de la viabilidad de los microorganismos probióticos en yogur a una temperatura de 8°C

Medias con letras en común no son significativamente diferentes (aa) Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (ac) (LSD Fisher $P \leq 0.05$).

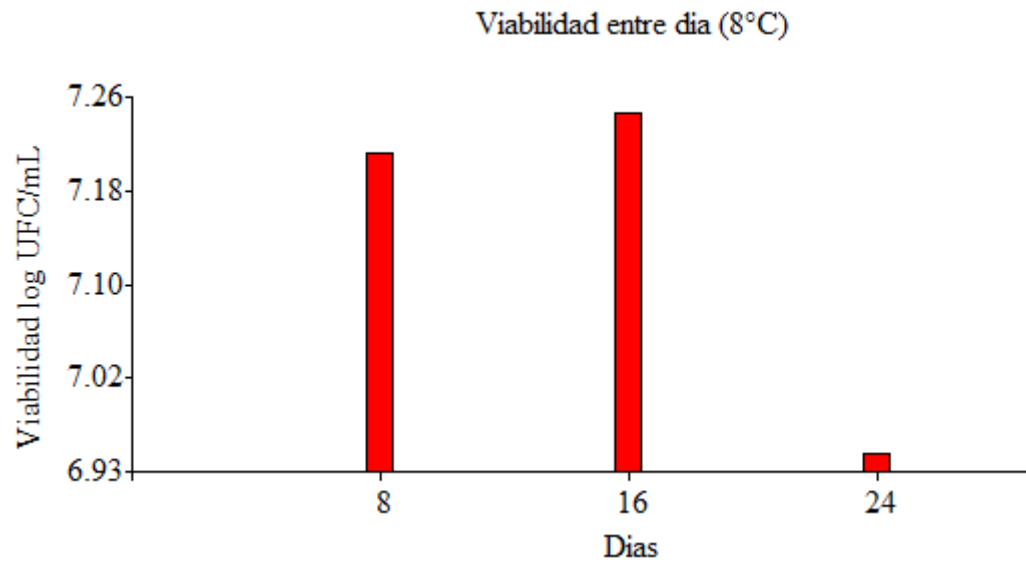


Figura 5. viabilidad entre día 24 (8°C)

La viabilidad se mantiene muy estable entre los días 8 y 16. A los 24 días ocurre una disminución, pero no tan marcada como 6°C. esto indica que 8°C podría ser una temperatura ligeramente más favorable para conservar la viabilidad probiótica hasta los 24 días.

5.3. Resultados de los análisis fisicoquímicos hechos al yogur

La (tabla 5) muestra los datos obtenidos de la caracterización fisicoquímica de % de acidez titulable, Viscosidad, pH, y grados Brix del yogur. La numeración del 1 al 9, representa los tratamientos los cuales reflejan la combinación de tiempo y temperatura.

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica del yogur.

Trt.	T. ^a	T.	% acidez	Viscosidad	PH	°Brix
1	4 °C	8 días	0.71 ± 0.010 BC	289.04 ± 6.394 BC	4.52 ± 0 E	22 ± 0 C
2	4°C	16 días	0.76 ± 0.055 D	300.39 ± 129.076 D	4.23 ± 0.028 C	22 ± 0 C
3	4°C	24 días	0.71 ± 0.010 BC	249.76 ± 51.374 BC	3.97 ± 0.081 A	22 ± 0 C
4	6°C	8 días	0.73 ± 0.010 CD	308.62 ± 6.244 CD	4.52 ± 0 E	22 ± 0 C
5	6°C	16 días	0.72 ± 0.025 CD	257.16 ± 143.270 CD	4.21 ± 0.012 BC	22 ± 0 C
6	6°C	24 días	0.75 ± 0.010 CD	239.13 ± 29.355 CD	3.92 ± 0.025 A	21.67 ± 0 BC
7	8°C	8 días	0.72 ± 0.017 BCD	250.21 ± 4.498 BCD	4.7 ± 0 F	21 ± 0 A
8	8°C	16 días	0.66 ± 0.010 A	202.58 ± 48.677 A	4.34 ± 0.001 D	21.33 ± 0 AB
9	8°C	24 días	0.68 ± 0.010 AB	119.73 ± 8.886 AB	4.17 ± 0.015 B	21.67 ± 0 BC

Medias con letras en común no son significativamente diferentes (AA) Medias con letras diferentes son significativamente diferente (AC) (LSD Fischer, $P \leq 0.05$).

El almacenamiento del yogur mostro efectos claros sobre sus propiedades fisicoquímicas. La acidez aumento especialmente a 16 días en 4°C y 6°C, mientras que disminuyó ligeramente a 8°C. La viscosidad presento una tendencia descendente con el tiempo, siendo significativamente menor a los 24 días, sobre todo en 8°C, indicando perdida de estructura de 119.73 cp. A esta temperatura hay menos caída de la viabilidad en comparación al tratamiento 3 y 6, más sin embargo se obtiene la mayor destrucción de la estructura del yogur. Los grados Brix se mantuvieron relativamente constantes, indicando estabilidad en el contenido de solidos solubles.

Un metabolismo aparentemente más lento a 8°C que a 4°C, no corresponde a lo esperado en condiciones normales, ya que la bibliografía (Han & Meydani, 2000) indica que temperaturas más bajas suelen ralentizar en mayor medida la actividad microbiana. Sin embargo, este resultado puede explicarse de manera coherente considerando dos factores

experimentales relevantes. Por lo tanto, la diferencia no se debe solo al efecto directo de la temperatura, si no a interacciones entre la formulación (miel), la estabilidad de la cadena de frío y las condiciones reales del almacenamiento, lo cual explica de manera científica y coherente el comportamiento observado.

En cuanto en el pH se observó una tendencia general a la disminución del pH con el avance del tiempo de almacenamiento y a medida que aumentó la temperatura, especialmente en los tratamientos 3, 6 y 9 durante 24 días (pH = 3.97, 3.92 y 4.17, respectivamente). Esta reducción del pH es coherente con la actividad metabólica residual de las bacterias ácido lácticas (BAL) presentes en el producto.

A pesar que el yogur se refrigera para reducir la tasa del crecimiento microbiano, las BAL no se inactivan por completo. A temperaturas más elevadas dentro del rango de refrigeración (6-8 °C), estas bacterias mantienen un metabolismo basal capaz de fermentar los azúcares residuales, principalmente lactosa. Como resultado, durante el almacenamiento se produce una acumulación progresiva de ácido láctico, lo cual explica la disminución observada del pH.

La mayor reducción del pH se registró en los tratamientos a 6°C por 24 días (pH 3.92) y a 8°C por 16-24 días, indicando que en estos casos la actividad fermentativa residual fue más intensa. Esto se debe a que temperaturas ligeramente más altas favorecen la supervivencia y actividad metabólica de las BAL, acelerando la fermentación post-incubación. En contraste, los tratamientos a 4°C mostraron los pH más altos (4.23 y 4.52), reflejando una fermentación más lenta debido a la mayor incubación metabólica a esa temperatura.

Además, la disminución sostenida del pH a lo largo del tiempo está relacionada con la continua conversión de la lactosa en ácido láctico, aun cuando la velocidad de producción disminuye gradualmente. Esta acidificación secundaria es un fenómeno bien documentado en yogures y otros productos fermentados, y depende de la viabilidad de las BAL y de la disponibilidad de carbohidratos fermentados.

En términos generales, los resultados indican que el pH baja más en los tratamientos con mayor temperatura y tiempo de almacenamiento, debido al incremento en la tasa metabólica de las BAL y a la consiguiente acumulada de ácido láctico, lo que concuerda con lo reportado para productos fermentados almacenados en refrigeración.

En conjunto, los resultados muestran que el tiempo es el factor más determinante en los cambios del yogur, mientras que temperaturas más altas aceleran la reducción en viscosidad y la disminución del pH.

VI. CONCLUSIONES

1. El tiempo de almacenamiento fue el factor que ejerció mayores efectos sobre la viabilidad probiótica, ya que a los 24 días se presentan disminuciones estadísticamente significativas en todas las temperaturas evaluadas. Sin embargo, la magnitud de la disminución dependió de la temperatura, mostrando una interacción tiempo * temperatura: 4°C y 6°C conservan mejor la viabilidad hasta los 16 días, pero presentan las mayores caídas al día 24 (6.80 y 6.74 log UFC/ml) mientras que 8°C muestra la reducción más moderada (6.95 log UFC/ml) Esto confirma que la estabilidad probiótica es alta hasta los 16 días, pero después de este punto la supervivencia depende de la interacción entre ambos factores.
2. Los valores superiores a 7.20 log UFC/ml observados a 4 °C, 6 °C y 8 °C durante los primeros 16 días indican que el almacenamiento en frío mantiene la población probiótica por encima del umbral mínimo recomendado (6 log UFC/ml). Esto demuestra que las tres temperaturas son efectivas en preservar la viabilidad probiótica durante el periodo comercial típico, ya que se mantienen en el rango óptimo entre 7.21 y 7.36 log UFC/ml, sin diferencias estadísticas entre ellas en ese intervalo (grupo “a”). Esto valida que el producto puede garantizar su funcionalidad probiótica durante al menos dos semanas sin afectación significativa.
3. Los resultados fisicoquímicos demuestran que el yogur mantiene sus características dentro parámetros aceptables durante las primeras semanas, pero la acidificación sostenida y los cambios en textura se vuelven más notorios conforme aumenta el tiempo de almacenamiento. Estos cambios son consistentes con lo reportado en la literatura científica, que reconoce la acidificación post-fermentativa como el principal proceso responsable de la evolución fisicoquímica del yogur durante la vida útil.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda incorporar puntos de muestreo adicionales entre los días 16 y 24 de almacenamiento con el objetivo de identificar con mayor precisión al punto crítico en el que el tiempo comienza a afectar significativamente la población bacteriana y mejoraría la capacidad de modelar el comportamiento cinético del microorganismo.
2. Es aconsejable reforzar el control riguroso de la temperatura de almacenamiento, utilizando equipos calibrados y registradores continuos. Dado que diferencias pequeñas entre 4°C, 6°C y 8°C generaron variaciones claras en la viabilidad, un monitoreo más preciso permitiría asegurar que los cambios observados se atribuyan realmente al tratamiento y no a fluctuaciones no controladas del sistema de refrigeración.
3. Realizar futuras investigaciones incorporando técnicas de micro encapsulación u otros mejoradores de viabilidad para extender la vida útil probiótica más allá de 24 días de almacenamiento.
4. Se recomienda complementar este estudio con una evaluación de vida útil del yogur que incluya análisis sensorial, microbiológicos y de aceptación del consumidor. Estos estudios permitirían determinar cómo los cambios fisicoquímicos y la viabilidad probiotica afectan la calidad percibida del producto. Además, almacenamiento y distribución. Esto facilitaría la optimización del proceso y el desarrollo de un yogur probiotico competitivo en el mercado.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Acevedo Pons, I., García, O., Contreras, J., & Acevedo, I. (2009). Elaboración y evaluación de las características sensoriales de un yogurt de leche caprina con jalea semifluida de piña. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2), 442-448.
- Buniowska-Olejniak, M., Mykhalevych, A., Urbański, J., Hadijeva, I., Berthold-Pluta, A., & Banach, M. (2025). Storage quality and antioxidant properties of yogurt fortified with highly bioavailable formula of curcumin. *LWT*, 223, 117798. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117798>
- Cabello-Olmo, M., Oneca, M., Torre, P., Díaz, J. V., Encio, I. J., Barajas, M., Araña, M., Cabello-Olmo, M., Oneca, M., Torre, P., Díaz, J. V., Encio, I. J., Barajas, M., & Araña, M. (2020). Influence of Storage Temperature and Packaging on Bacteria and Yeast Viability in a Plant-Based Fermented Food. *Foods*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/foods9030302>
- Carrión, M. J. C. (2014). *TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS*. <http://45.231.83.156/bitstream/handle/20.500.12996/2406/Q02-C389-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Dave, R. I., & Shah, N. P. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7(1), 31-41. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(96\)00046-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(96)00046-5)
- Farobie, O., Amrullah, A., Anis, L. A., Hartulistiyoso, E., Syaftika, N., Saefurahman, G., & Bayu, A. (2023). Valorización de la macroalga parda *Sargassum plagiophyllum* para la producción de biogás en diferentes condiciones de salinidad. *Bioresource Technology Reports*, 22, 101403. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101403>
- Ferdousi, R., Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., Khosravi-Darani, K., & Homayouni Rad, A. (2013). Evaluation of Probiotic Survivability in Yogurt Exposed To Cold Chain Interruption. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR*, 12(Suppl), 139-144.

- Gabriel, V., & Perez, G. (2021). Alimentos fermentados y probióticos en niños. La importancia de conocer sus diferencias microbiológicas. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 119(1). <https://doi.org/10.5546/aap.2021.56>
- Han, S. N., & Meydani, S. N. (2000). Antioxidants, cytokines, and influenza infection in aged mice and elderly humans. *The Journal of Infectious Diseases*, 182 Suppl 1, S74-80. <https://doi.org/10.1086/315915>
- Herrera, I. A. (2024). *ROMINA ISABELA ALVAREZ ORDOÑEZ*.
- Lora, F. E. B. (2009). *INFORME DE PRÁCTICA PROFESIONAL*.
- Matias Montes, K. V., & Tovar Ccoa, V. A. (2023). *Elaboración de yogurt probiótico con fibras prebióticas a partir de yacón "Smallanthus Sonchifolius" para el control del peso*. <https://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/20.500.14067/8091>
- Meybodi, N. M., Mortazavian, A. M., Arab, M., & Nematollahi, A. (2020a). Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. *International Dairy Journal*, 109, 104793. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104793>
- Meybodi, N. M., Mortazavian, A. M., Arab, M., & Nematollahi, A. (2020b). Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. *International Dairy Journal*, 109, 104793. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104793>
- Meydani, S. N., & Ha, W.-K. (2000). Efectos inmunológicos del yogur 1 2 3 4. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(4), 861-872. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.4.861>
- Mgomi, F. C., Zhang, B., Lu, C., Yang, Z., & Yuan, L. (2025). Novel biofilm-inspired encapsulation technology enhances the viability of probiotics during processing, storage, and delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 160, 105032. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2025.105032>
- Mousa, A. H., Abdeldaiem, A. M., Al-Gwad, A. A., Abdelshafy Mohamed, A. A., & Ali, A. H. (2025). Analysis of the physicochemical properties, texture, and microbial profile of set-type buffalo milk yogurt fortified with zinc oxide micro- and nanoparticles. *LWT*, 224, 117834. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117834>
- Olmos Villavicencio, S. J. (2024). *Elaboración de yogurt batido*. <https://hdl.handle.net/20.500.13028/4904>
- Parhi, P., Liu, S. Q., & Choo, W. S. (2024). Synbiotics: Effects of prebiotics on the growth and viability of probiotics in food matrices. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 32, 100462. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2024.100462>

- Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., & Donkor, O. N. (2015). Effect of refrigerated storage on probiotic viability and the production and stability of antimutagenic and antioxidant peptides in yogurt supplemented with pineapple peel. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 5905-5916. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9450>
- Shori, A. B., Aboulfazli, F., & Hj Baba, A. S. (2018). *Viability of Probiotics in Dairy Products: A Review Focusing on Yogurt, Ice Cream, and Cheese*.
- Terpiłowski, K., Lange, I., Kowalczyk, K., Tomczyńska-Mleko, M., Sapiga, V., Wesołowska-Trojanowska, M., Mleko, S., Pérez-Huertas, S., Terpiłowski, K., Lange, I., Kowalczyk, K., Tomczyńska-Mleko, M., Sapiga, V., Wesołowska-Trojanowska, M., Mleko, S., & Pérez-Huertas, S. (2023). Impact of Storage Conditions of Yogurt Dry Ingredients on the Physicochemical Properties of the Final Product. *Applied Sciences*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/app132413201>
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Elaboración del yogur. Se elaboro el 7 de julio del 2025



Pasteurización (85°C por 5 minutos)



Fermentación (3 h)



Adición del ayote y miel



Almacenamiento

Anexo 2. Evaluación de la viabilidad (se midió el día 14, 21 y 28 de julio del 2025)



Cada lote se almacena a diferentes temperaturas (4°C, 6°C y 8°C).



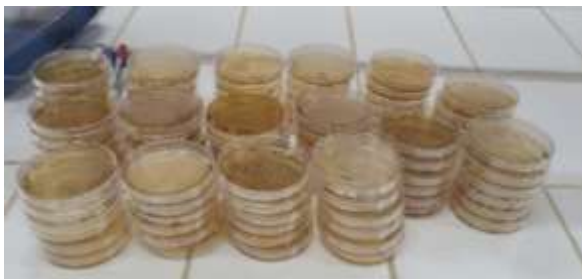
Preparación del agua peptonada y agar MRS+L cistina, para su esterilización.



Siembra microbiológica



Incubación de los microorganismos (39°C por dos días.



Conteo microbiológico (se seleccionaron las placas que tenían entre 30-300 UFC)

Anexo 3. Analisis fisicoquimicos (se midio el dia 14, 21 y 28 de julio del 2025) estos estudios se realizaron despues del analisis microbiologico.



% de acidez titulable



Medición de pH.



Medición de viscosidad.



Medición de grados Brix.