



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Efectos sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos del uso de miel de abejas procedente de plantaciones forestales de Acacia (*Acacia mangium*) en la producción de yogur

María Jimena Monguí Rojas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Bogotá, Colombia

2020

Efectos sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos del uso de miel de abejas procedentes de plantaciones forestales de Acacia (*Acacia mangium*) en la producción de yogur

María Jimena Monguí Rojas

Trabajo final presentado como requisito parcial para optar al título de:

Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora:

Ph.D. Amanda Consuelo Díaz Moreno

Codirector:

MSc. Carlos Fernando Novoa Castro

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Bogotá, Colombia

2020

“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber”.

Albert Einstein

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia y al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), por darme la oportunidad de cumplir no solo un sueño, sino también de seguir por el camino de la ciencia y la tecnología.

A la División de Investigación por la financiación del proyecto “Aprovechamiento de las matrices alimentarias con potencial colorante y edulcorante para uso como aditivo natural en alimentos procesados” el cual permitió llevar a cabo este proyecto.

A mi familia por su apoyo incondicional, a mi abuelita por darme los consejos más sabios, a mis papás y a mis hermanos, por la unidad y la fuerza para seguir adelante. A mis tías, porque siempre han sido como mis mamás y me han ayudado sin importar las diferencias. A Juan por estar conmigo a lo largo de esta etapa de mi vida y ayudarme en los momentos difíciles.

A mi directora de tesis Consuelo Díaz y a mi codirector Carlos Novoa, por brindarme la orientación durante el desarrollo de esta investigación, igualmente agradezco a mi asesora Camila Bernal, por su apoyo durante la parte experimental.

A mis colegas y amigos que fueron indispensables durante esta etapa, gracias a los chicos de la planta , y a todos los que me ayudaron de una u otra manera en el desarrollo de este proyecto.

Finalmente quiero agradecer a los panelistas entrenados, al personal del ICTA , a los profesores que estuvieron presente a lo largo de este proceso .

Resumen

En este trabajo se evaluaron los efectos fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos la adición de miel de abejas de *Acacia mangium* como edulcorante en yogur. Inicialmente, se realizó la selección del porcentaje de inclusión de miel a partir de tres concentraciones (8.5%, 10% y 11.5%) mediante una prueba de aceptación de consumidores y la evaluación de las propiedades: pH, acidez titulable, capacidad de retención de agua, color y viscosidad. Posteriormente, se estudió el momento de inclusión de la miel, a partir de la concentración seleccionada inicialmente (10%), incluyéndola antes, y después de la fermentación, con el fin de identificar los posibles efectos sobre el cultivo iniciador y el cultivo probiótico, además de la influencia en propiedades fisicoquímicas, actividad antioxidante, aceptación sensorial y perfil de aroma y sabor. Dentro de los resultados, se observó favorabilidad en las propiedades fisicoquímicas evaluadas de los yogures con diferentes porcentajes de inclusión miel respecto al control, sin embargo, emplear un porcentaje de 10% favoreció propiedades sensoriales típicas del producto tanto fisicoquímicas como sensoriales entre las que se encuentran el color, la consistencia, el sabor y aroma, y el aspecto general evidenciado en la aceptación sensorial por parte de los consumidores. Por su parte el momento de inclusión de miel, muestra diferencias en los perfiles de sabor y aroma, mantiene superiores al control los parámetros fisicoquímicos a lo largo del almacenamiento, y la viabilidad celular es superior que al incluirla después. La comparación de la miel con inulina sugiere que posiblemente la miel de abejas de *Acacia mangium*, podría tener un efecto prebiótico.

Palabras clave: Miel, bebidas lácteas fermentadas, prebióticos, edulcorantes, probióticos

Abstract

The aim of this work was to evaluate the effects on physicochemical, microbiological and sensory properties of yogurt with *Acacia mangium* honey as sweetener. Firstly, the honey concentration was selected (8.5%, 10% and 11.5%) by a consumer acceptance test and determination of pH, titratable acidity, water holding capacity, color, and viscosity. The time of honey addition was evaluated by including the selected treatment before and after the fermentation process, to assess possible effects on the starter and probiotic cultures, the impact on physicochemical properties, antioxidant activity, sensory acceptance and flavor profile. Subsequently, the influence of honey on *Lactobacillus acidophilus* and its possible prebiotic effects were evaluated by comparing it with the inulin effect on the microorganism. The results show an improvement of the yogurt physicochemical properties with the addition of honey, however, no significant differences between treatments of 10% and 11.5% were observed within the assessed parameters, but color. Thus, 10% of honey concentration was selected. Additionally, the time of honey addition does not affect the consumer acceptance of the product, despite there are appreciable differences between the flavor profile. Finally, honey has no inhibitory effect on cell growth and viability starter and probiotic used. Furthermore, there is similar behavior of the microorganism when inulin or honey is included in the formulation.

Keywords: Honey, fermented milk, prebiotics, probiotics, sweetener

Contenido

	Página
Lista de figuras.....	XIII
Lista de tablas.....	XV
Introducción.....	XVI
1. Miel de abejas como ingrediente edulcorante y prebiótico en yogur.....	5
1.1 Fermentación láctica	5
1.1.1 Tipos de fermentación	6
1.1.2 Microorganismos utilizados en la fermentación del yogur	9
1.1.3 Leches fermentadas: Yogur.....	12
1.1.4 Proceso de elaboración del yogur	13
1.2 Miel de abejas	14
1.2.1 Miel de abejas procedente de la altillanura del Vichada (<i>Acacia mangium</i>)....	15
1.2.2 Poder edulcorante de la miel de abejas.....	17
1.2.3 Potencial prebiótico de la miel de abejas	18
1.3 Conclusiones.....	19
1.4 Referencias	20
2. Efecto de la adición de miel en las características sensoriales y fisicoquímicas de un yogur.....	27
2.1 Materiales y métodos	27
2.1.1 Diseño de la bebida láctea.....	27
2.1.2 Características sensoriales.....	30
2.1.3 Análisis fisicoquímicos.....	32
2.1.4 Análisis estadístico.....	34
2.2 Resultados y análisis de resultados	35
2.2.1 Características sensoriales.....	35
2.2.2 Características fisicoquímicas.....	41
2.3 Conclusiones.....	58
2.4 Referencias	58
3. Evaluación del crecimiento y la viabilidad de cultivos iniciadores y probiótico en un yogur con miel y su potencial prebiótico	69
3.1 Materiales y métodos	69
3.1.1 Cinética de crecimiento del cultivo iniciador y cultivo probiótico en el yogur con inclusión de miel de abejas durante fermentación.....	69

3.1.2	Determinación de la viabilidad de bacterias ácido-lácticas (cultivos iniciadores y probiótico) durante almacenamiento en refrigeración (4°C).....	71
3.1.3	Potencial efecto prebiótico de la miel sobre <i>Lactobacillus acidophilus</i>	72
3.2	Resultados y análisis de resultados	73
3.2.1	Cinéticas de crecimiento del cultivo iniciador y probiótico en el yogur con miel durante fermentación.....	73
3.2.2	Determinación de la viabilidad de bacterias ácido-lácticas (cultivo iniciador y probiótico) durante almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	78
3.2.3	Potencial efecto prebiótico de la miel sobre <i>Lactobacillus acidophilus</i>	81
3.3	Conclusiones	88
3.4	Referencias.....	88
4.	Conclusiones y recomendaciones	95
4.1	Conclusiones	95
4.2	Recomendaciones	95

Lista de figuras

	Página
Figura 1-1. Vía Embden-Meyerhof-Parnas (EMP)	7
Figura 1-2. Ruta 6-Fosfogluconato/fosfoacetolasa.....	9
Figura 2-1. Proceso de elaboración del yogur	29
Figura 2-2. Gráfica logarítmica del porcentaje de inclusión de miel vs intensidad de dulzor.	36
Figura 2-3. Perfil de aroma y sabor para el tratamiento con inclusión de 10% de miel antes de la fermentación (MA).....	40
Figura 2-4. Perfil de aroma y sabor para el tratamiento con inclusión de 10% de miel después de la fermentación (MD).....	40
Figura 2-5. Perfil de aroma y sabor para yogur control endulzado con 7.5% de sacarosa incluida antes de la fermentación (CSA).....	41
Figura 2-6. Diferencia de color entre los tratamientos.....	43
Figura 2-7. PCA loading plot, relación entre las variables medidas de los tratamientos T1, T2, T3 y la muestra control CS.	46
Figura 2-8. PCA, score plot. Comportamiento entre los tratamientos T1, T2, T3 y el control CS.	47
Figura 2-9. Actividad antioxidante por el método TEAC (Decoloración del catión radical ABTS), durante 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	53
Figura 2-10. Actividad antioxidante por el ensayo de reducción de hierro (Fe ⁺³) FRAP, durante 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C	54
Figura 2-11. Contenido de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu, para durante 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C	55
Figura 2-12. PCA Loading plot, relación entre variables medidas durante 21 días de almacenamiento en condiciones de refrigeración.	56
Figura 2-13. PCA score plot de los tratamientos durante 21 días almacenamiento en condiciones de refrigeración.....	57
Figura 3-1. Colonias de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en medio MRS+bilis (1.5g/L).....	73
Figura 3-2. Colonias del cultivo iniciador <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> y <i>S. thermophilus</i>	74
Figura 3-3. Cinética de crecimiento cultivo <i>Lactobacillus acidophilus</i>	75
Figura 3-4. Cinética de crecimiento <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i>	76
Figura 3-5. Evaluación de pH durante la fermentación.	77
Figura 3-6. Desarrollo de la acidez durante la fermentación	78
Figura 3-7. Viabilidad de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días.	79

Figura 3-8. Viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días..... 80

Figura 3-9. Cinética de crecimiento *Lactobacillus acidophilus* 82

Figura 3-10. Evaluación de la acidez durante la fermentación..... 83

Figura 3-11. Evaluación del pH durante la fermentación. 84

Figura 3-12. Viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días. 85

Figura 3-13. Seguimiento de pH durante almacenamiento en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días. 86

Figura 3-14. Seguimiento del porcentaje de acidez titulable expresado como ácido láctico almacenamiento en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días. 87

Lista de tablas

	Página
Tabla 1-1. Composición química de la miel de <i>Acacia mangium</i>	16
Tabla 1-2. Edulcorantes nutritivos.....	18
Tabla 2-1. Resultados de la estimación de la magnitud para la determinación de la concentración equivalente de miel en relación con 7.5% de sacarosa.	36
Tabla 2-2. Resultados de la prueba de consumidores para sabor y aroma.....	37
Tabla 2-3. Resultados evaluación general del producto.....	38
Tabla 2-4. Resultados de la prueba de consumidores para la determinación del momento de inclusión.....	38
Tabla 2-5. Resultados pruebas fisicoquímicas para el ensayo de la selección del porcentaje de inclusión de miel.....	41
Tabla 2-6. Resultados de la evaluación de color para la determinación del porcentaje de inclusión de miel.	44
Tabla 2-7. Resultados parámetros de pH, acidez y porcentaje de retención de agua durante el almacenamiento por 21 días en refrigeración a 4°C.....	49
Tabla 2-8. Índice de consistencia e índice de flujo para modelamiento de la viscosidad de los tratamientos durante almacenamiento por 21 días en condiciones de refrigeración...	50
Tabla 2-9. Análisis de color durante almacenamiento por 21 días a condiciones de refrigeración.	51

Introducción

En la actualidad, la dinámica global de producción y consumo de alimentos ha cambiado, generando un continuo desarrollo de alimentos que tengan beneficios más allá de su aporte nutricional (Siró, Kápolna, Kápolna, & Lugasi, 2008), reflejándose a su vez en la búsqueda de alimentos por parte de los consumidores, que permitan incluir en su dieta compuestos con efectos reconocidos en la salud, por ejemplo el uso de prebióticos, probióticos o compuestos bioactivos. Lo anterior ha generado que la industria de alimentos busque innovar con el uso de nuevos ingredientes, manejo de nuevas técnicas de procesamiento y métodos de empaque que permitan llevar a los consumidores un producto con características funcionales (Martins, Oliveira, & Ferreira, 2019).

Por otra parte, entre los retos que ha tenido que enfrentar la industria, es la sustitución de la sacarosa como edulcorante. Según la Organización Mundial de la Salud, para promover la salud pública en niños y adultos, es necesario reducir la ingesta de azúcar, asociado con riesgo en caries dental, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (OMS, 2015), por lo que se ha promovido la búsqueda e inclusión de alternativas con menores efectos en la salud de los consumidores (Pinheiro & Oliveira, 2005).

Uno de los sectores que ha sobresalido desde el punto de vista de la innovación, no solo en el aspecto sensorial, sino también funcional, es la industria de los derivados lácteos. Siendo las leches fermentadas quizás, los productos de mayor interés en su desarrollo, debido a su versatilidad en la inclusión de ingredientes, desde combinaciones de frutas y cereales, alternativas para mantener alto el contenido de proteína, calcio y minerales, hasta ingredientes funcionales, probióticos y prebióticos (Albuquerque et al., 2018; Aryana & Olson, 2017; Ashraf & Shah, 2011; Leclercq, Saint-Eve, Berthelo, Oettgen, & Delarue, 2015). Adicionalmente, permiten la variación de los edulcorantes empleados, respondiendo así a los llamados de la OMS y a su vez incorporando algunos que impacten positivamente en el crecimiento y la viabilidad de los microorganismos empleados (Pinheiro & Oliveira, 2005; Popa & Ustunol, 2011). Esto último, ha generado que diferentes estudios propongan el uso de edulcorantes como el jarabe de maíz de alta fructosa, la miel de

abejas, y edulcorantes no calóricos como xilitol, sorbitol, ciclamato, aspartame, entre otros (Aryana & Olson, 2017).

La miel de abejas es un edulcorante natural y tradicional, que ha ganado interés como sustituto de sacarosa en alimentos como el yogur (Pinheiro & Oliveira, 2005; Popa & Ustunol, 2011), pues en diferentes estudios se ha demostrado que el uso de algunas mieles, contribuye con el crecimiento de los microorganismos iniciadores (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*), favorece propiedades físicas como, pH, acidez, capacidad de retención de agua, color y viscosidad, aumenta el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante del producto e incrementa la aceptación sensorial por parte de consumidores (Gomes Machado et al., 2017; Sert, Akin, & Dertli, 2011; Varga, 2006). Adicionalmente, la miel, ha sobresalido, porque en algunos estudios se menciona su posible potencial prebiótico, al tener diferentes oligosacáridos dentro de su composición, que favorecen el crecimiento de microorganismos de las especies *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus* (Soares, Amaral, Oliveira, & Mafra, 2017).

En Colombia, específicamente en el departamento del Vichada desde el año 2014, la producción de miel de abejas se ha venido incrementando, favoreciendo el sector apícola de la zona. Esta miel, originaria de plantaciones forestales de *Acacia mangium*, se ha destacado por tener una alta capacidad antioxidante, ausencia de plaguicidas y actividad inhibitoria contra *Escherichia coli* (Castro Mercado, 2018), permitiendo que los consumidores la acepten y la seleccionen como una alternativa local y orgánica (Nielsen, 2016). Sin embargo, esta miel tiene el desafío de posicionarse tanto en el mercado de consumo directo, como en el mercado de alimentos que se destaquen por sus características diferenciales.

Este trabajo surge de la necesidad de evaluar el efecto sensorial, microbiológico y fisicoquímico que la miel de *Acacia mangium* pueda tener sobre el proceso de fermentación láctica y durante el almacenamiento de yogur. Por lo tanto, el alcance del trabajo se encuentra organizado de la siguiente manera:

Objetivo General:

Evaluar los efectos sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos de la adición de miel de abejas procedente de plantaciones forestales de acacia (*Acacia mangium*) en la producción y estabilidad de yogur semidescremado.

Objetivos Específicos:

- Estudiar el efecto de la adición de miel en yogur semidescremado y su influencia sobre características sensoriales y fisicoquímicas.
- Evaluar la viabilidad de bacterias ácido lácticas y calidad fisicoquímica durante el almacenamiento de yogur, realizando la inclusión de miel antes y después del proceso de fermentación.
- Evaluar el efecto de la adición de miel en yogur sobre el crecimiento y viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en condiciones de fermentación y almacenamiento.

1. Miel de abejas como ingrediente edulcorante y prebiótico en yogur

1.1 Fermentación láctica

La fermentación es el proceso metabólico donde se presentan cambios bioquímicos de oxidación o reducción, en el cual se obtiene energía al existir producción de compuestos orgánicos (Frisvad et al., 2011; Ruales Guzman, 2012). Durante este proceso, los sustratos empleados son los carbohidratos, los cuales se definen como compuestos químicos fuente de energía, que pueden ser metabolizados dependiendo del tipo de microorganismo, el sistema de potencial redox o el tipo y la cantidad de azúcares que conforman la molécula.

Dentro de los carbohidratos fermentables se encuentran los monosacáridos, que pueden ser metabolizados por 5 rutas metabólicas: Embden-Meyerhoff-Parnas, Hexosa monofosfato, Enter-Doydroff, Pentosa fosfocetolasa y Hexosa fosfocetolasa (Ray & Bhunia, 2008).

Una de las fermentaciones más empleadas en la industria de alimentos es la fermentación láctica, llevada a cabo por las bacterias ácido lácticas (BAL), donde se metabolizan azúcares para la producción principalmente de ácido láctico (Mora Adames, 2017). Este proceso, se ha llevado a cabo a lo largo de la historia, gracias a la acidez que se alcanza al final de la fermentación, es posible inhibir microorganismos patógenos o disminuir compuestos tóxicos, dentro de los metabolitos producidos se encuentran ácidos orgánicos, CO₂, etanol, H₂O₂, diacetil y bacteriocinas (Karbasi, Yarmand, & Mousavi, 2015).

1.1.1 Tipos de fermentación

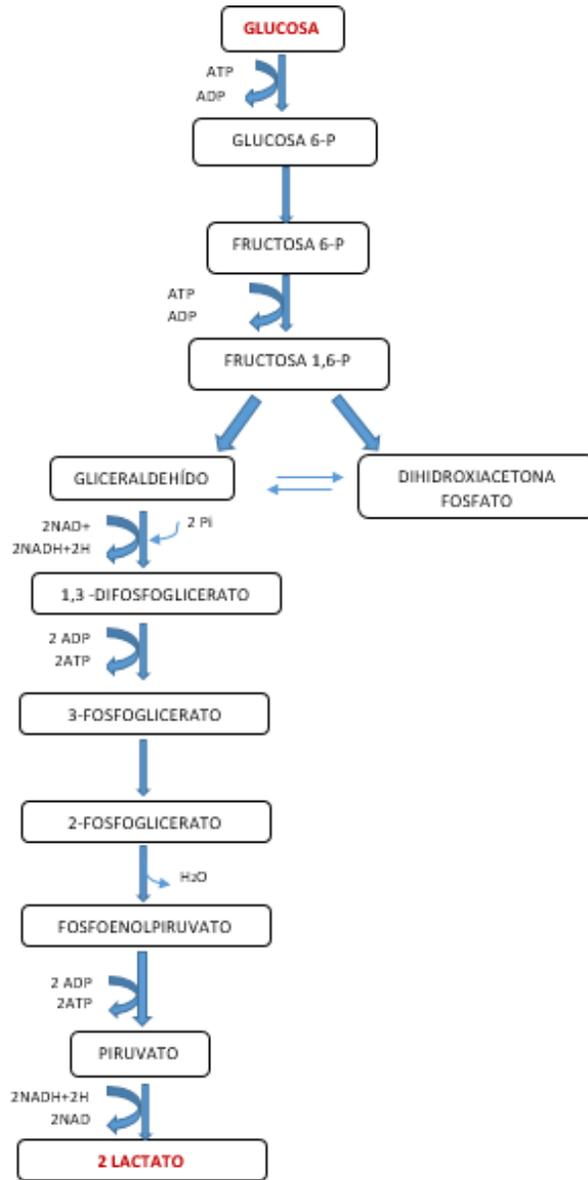
De acuerdo con los productos obtenidos al final de la fermentación, como ácido láctico, CO₂, acetato y etanol, el proceso puede clasificarse en homofermentativo o heterofermentativo (Serna Cock & Rodriguez de Stouvenel, 2005).

- **Fermentación Homoláctica:** en este tipo de fermentación se produce principalmente ácido láctico, gracias a que las bacterias ácido lácticas, contienen la enzima aldolasa, que permite la producción de dos moléculas de lactato a partir de una molécula de glucosa (Ecuación 1-1), siguiendo la vía glicolítica Embden-Meyerhof-Parnas, (Lahtinen, Ouwehand, Salminen, & Von Wright, 2012; Mandigan, Martinko, Bender, Buckley, & Stahl, 2015; Serna Cock & Rodriguez de Stouvenel, 2005).



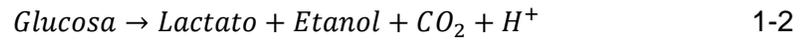
1-1

Figura 1-1. Vía Embden-Meyerhof-Parnas (EMP)



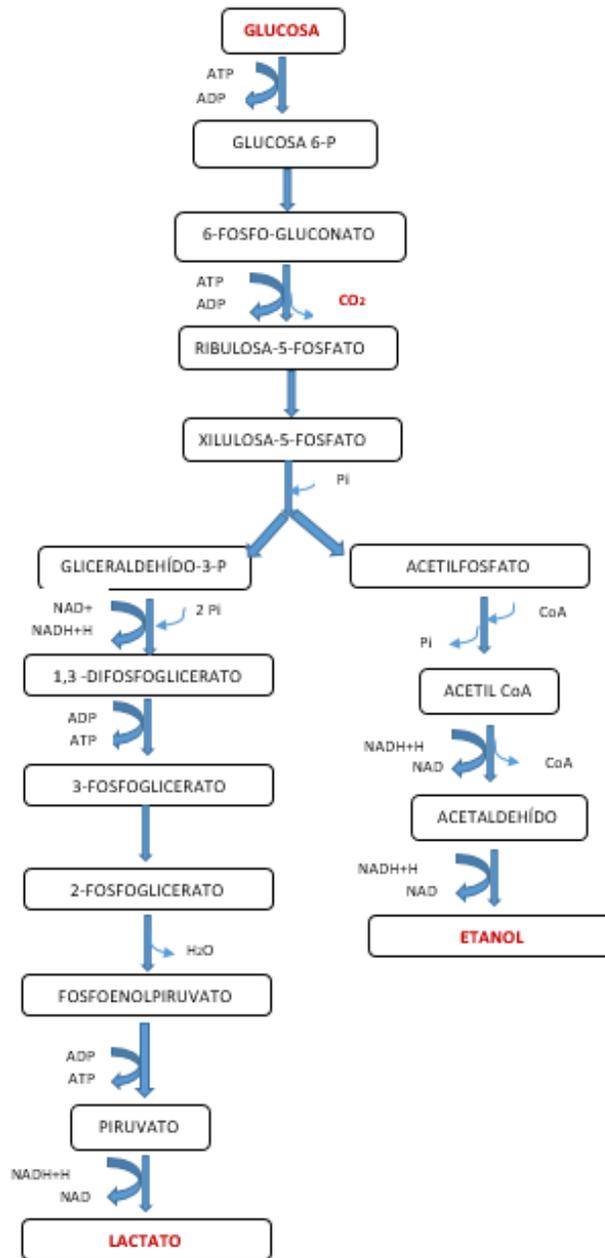
Esta ruta metabólica, es llevada a cabo en tres etapas generales: Inicialmente la glucosa es fosforilada por ATP produciendo glucosa 6-fosfato, que a su vez se isomeriza en fructosa 6-fosfato, en esta molécula sucede una nueva fosforilación para producir la fructosa 1,6-bifosfato que se divide por acción de la aldolasa en gliceraldehído y dihidroxiacetona fosfato (precursor del gliceraldehído 3-fosfato); la segunda etapa consiste en la reacción redox durante la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato a 1,3-bifosfoglicerato; en la última etapa, el piruvato se reduce por el NADH en 2 moléculas de lactato (Figura 1-1) (Mandigan et al., 2015).

- **Fermentación heteroláctica:** esta fermentación consiste en la producción de cantidades equimolares de lactato, acetato/etanol y CO₂ a partir de la glucosa (ecuación 1-2) por la ruta metabólica 6-Fosfogluconato/Fosfocetolasa (Jay, Loessner, & Golden, 2009; Lahtinen et al., 2012).



Los microorganismos heterofermentadores carecen de aldosa, lo que permite que oxiden la glucosa 6-fosfato en 6-fosfogluconato, la cual se descarboxila a pentosa fosfato obteniendo de esta manera CO₂. Por otra parte, la enzima fosfocetolasa, convierte la pentosa fosfato en gliceraldehído 3-Fosfato y acetilfosfato, los cuales, gracias a reacciones de oxido reducción son convertidos en lactato y etanol como se puede observar en la Figura 1-2(Mandigan et al., 2015).

Figura 1-2. Ruta 6-Fosfogluconato/fosfoacetolasa



1.1.2 Microorganismos utilizados en la fermentación del yogur

Para realizar la fermentación de la leche en la producción de yogur, se emplea el cultivo de microorganismos específicos (iniciadores) conformado por *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (FAO & OMS, 2011), cuyas características metabólicas influyen no solo en la acidificación de la leche, sino también en propiedades como viscosidad, textura, sabor y aroma del producto final, sin embargo, dentro de la

producción de yogur también se utilizan microorganismos probióticos que no solo contribuyen en las características del producto final, sino también pueden conferir beneficios en la salud (Chandan, White, Kilara, & Hui, 2006; Fazilah, Ariff, Khayat, Rios-Solis, & Halim, 2018).

De acuerdo con lo anterior, se mencionarán algunas de las características de microorganismos empleados en la producción de yogur.

▪ **Cultivos iniciadores**

Son preparaciones microbianas con una alta densidad celular, las cuales contienen al menos una variedad de microorganismos cuyo objetivo es llevar a cabo el proceso de fermentación y brindar características fisicoquímicas y sensoriales al producto final definidas por las actividades metabólicas de los mismos (Batt & Lou Tortorello, 2014; Leroy & De Vuyst, 2004).

En la elaboración de yogur los microorganismos utilizados en la fermentación láctica son *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, ya que presentan un comportamiento simbiótico durante la fermentación (Batt & Lou Tortorello, 2014). Ambas especies son conocidas por ser Gram positivas, aerotolerantes, no esporuladas y de catalasa negativa (Bull, Plummer, Marchesi, & Mahenthiralingam, 2013).

- ***Streptococcus thermophilus***: son bacterias caracterizadas por tener una morfología con forma ovular emparejadas o en cadenas cortas, ser heterofermentativas y presentar una temperatura óptima de crecimiento entre 43-46°C (Radke-Mitchell & Sandine, 1986). Su influencia en el yogur es la rápida acidificación de la leche y la producción de acetaldehído o diacetilo que aportan en el aroma y la textura del producto, así mismo, estos microorganismos son los encargados de la producción de dióxido de carbono CO₂ y ácido fórmico que favorece el crecimiento de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Uriot et al., 2017).
- ***Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus***: son bacterias ácido lácticas que se caracterizan por tener forma de bastón y ser microaerófilas, su temperatura óptima de crecimiento es de 45°C (Batt & Lou Tortorello, 2014; Yildiz, 2010); se encuentran clasificados en el grupo de microorganismos homofermentativos, además tienen la capacidad de hidrolizar la caseína de la leche para producir péptidos y aminoácidos que estimulan el crecimiento de *Streptococcus*

thermophilus durante la fermentación de la leche, y la población bacteriana se equilibra (Yildez, 2010).

Los microorganismos *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*, realizan la fermentación durante un tiempo aproximado de 4 a 6 horas, manteniendo una relación 1:1 en el inóculo. Durante las primeras 2 horas de fermentación, *S. thermophilus* crece a una mayor velocidad, hasta representar aproximadamente el 90% del total de las células, generando así una disminución de pH a 5. Una vez la leche ha sido acidificada y se han producido los metabolitos mencionados anteriormente que estimulan el crecimiento de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, genera una reducción de pH.

- **Microorganismos probióticos:** de acuerdo con el consenso del 2014 de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP), los probióticos son definidos como “*microorganismos vivos que, cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios en la salud del huésped*” (Hill et al., 2014).

Los microorganismos probióticos se diferencian de los microorganismos iniciadores, por la habilidad de sobrevivir a pH estomacal (entre 1 y 2), sobrevivir a altas concentraciones de sales biliares; su posible mecanismo de acción consiste en la competencia por los receptores de adhesión en el epitelio intestinal y nutrientes, la producción de sustancias antimicrobianas y la estimulación del sistema inmune (Gaifullina, Saltykova, & Nikolenko, 2016; Mohan, Quek, Gutierrez-Maddox, Gao, & Shu, 2017). Algunos de los beneficios en la salud que tiene el consumo de probióticos, son la regulación en la composición de la microflora intestinal humana, disminución del colesterol sérico, efectos antihipertensivos y la resistencia a los patógenos entéricos (Gaifullina et al., 2016; Jay et al., 2009; Sarao & Arora, 2017).

Dentro de los microorganismos probióticos más reconocidos son *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus diacetyllactis*, *Streptococcus intermedius*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium thermophilum* (Gaifullina et al., 2016), además de algunos pertenecientes a los géneros como *Escherichia*, *Enterococcus*, y *Saccharomyces* (Sarao & Arora, 2017).

El yogur, es uno de los alimentos más usados como vehículo de microorganismos probióticos, generalmente pueden estar presentes microorganismos del género *Bifidobacterium* spp. o *Lactobacillus* spp. como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, los cuales modifican las propiedades sensoriales y reológicas del producto (Ashraf & Shah, 2011; Fazilah et al., 2018; Ray & Bhunia, 2008).

1.1.3 Leches fermentadas: Yogur

El Codex Alimentarius define la leche fermentada como “*un producto lácteo obtenido de la fermentación de la leche, por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos cultivos de microorganismos serán variables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de duración mínima*” (FAO & OMS, 2011). Dentro de las leches fermentadas se encuentran: yogur, kéfir, kumis y leches acidificadas (de Oliveira, 2014).

El yogur, es uno de los productos lácteos más conocidos a nivel mundial y de acuerdo con el Codex Alimentarius y la Resolución 2310 de 1986, se produce por cultivos simbióticos de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (FAO & OMS, 2011; Ministerio de Salud, 1986).

Este alimento es un sistema de gel complejo, viscoso, de sabor ácido característico que contiene proteínas, polisacáridos y lípidos en su estructura (Das, Choudhary, & Thompson-witrick, 2019; Ruales Guzman, 2012), el cual se forma a partir de la acidificación de la leche como resultado de la producción de ácido láctico y otros compuestos orgánicos durante el proceso de fermentación láctica, inducido por parte de los microorganismos iniciadores. La acidificación gradual es la encargada de desestabilizar el fosfato de calcio y generar la asociación parcial de los agregados de micelas de caseína a medida que el pH se acerca al punto isoeléctrico (4.6-4.7) (Tamime & Robinson, 1991).

El yogur se destaca por ser buena fuente de calcio (89-121 mg/100 g de producto), proteína (2.9-3.47g/100 g de producto), potasio (103-155mg/100g de producto), fósforo (73-95 mg/100 g de producto) y vitaminas (ICBF, 2018; USDA, 2019), así mismo, el yogur, permite la incorporación de diferentes ingredientes con propiedades promotoras de la salud como edulcorantes naturales, jugos o pulpas de fruta (Gomes Machado et al., 2017; Williams, Hooper, Spiro, & Stanner, 2015).

1.1.4 Proceso de elaboración del yogur

Durante la elaboración del yogur, es importante tener en cuenta de las siguientes fases:

- **Homogenización:** en este proceso, se emplean presiones entre 150 y 200 bar, con la leche a temperatura entre 55°C y 65°C. Esta etapa tiene como objetivo reducir los glóbulos de grasa hasta un diámetro inferior de 1µm para permitir la distribución uniforme de la grasa en el producto y aportar al coágulo una mayor estabilidad y consistencia (Chandan et al., 2006; Walstra, 2001).
- **Tratamiento térmico:** la temperatura se eleva hasta 85°C por 15 minutos, para eliminar microorganismos patógenos, posteriormente se disminuye la temperatura a un rango entre 37 °C y 40°C para realizar la adición de los microorganismos encargados de la fermentación. Esta etapa influye en la disminución de la carga microbiana responsable del deterioro y garantizar un mayor tiempo de vida útil (Chandan et al., 2006; Ray & Bhunia, 2008).
- **Adición e incubación de los microorganismos:** se inocula un tamaño de inóculo de aproximadamente el 2% del volumen efectivo de trabajo durante la fermentación y se incuba a temperatura constante entre 40°C y 45°C, el producto se retira cuando alcanza un pH entre 4.8 y 4.5 y una acidez entre el 0.65 y 0.7% expresado como ácido láctico (Jay et al., 2009). En la fermentación, los microorganismos producen principalmente ácido láctico y compuestos como acetaldehído y diacetilo, para generar un incremento en la acidez, una disminución en el pH, influyendo en la coagulación de las proteínas lácteas, la formación de un gel homogéneo, liso y viscoso (Yildez, 2010; Zapata, Sepúlveda-Valencia, & Rojano, 2015).
- **Ruptura del coágulo y enfriamiento:** una vez alcanzado el pH óptimo, se rompe el coágulo que se forma como resultado de la fermentación y el producto es llevado a refrigeración a 4°C para detener el crecimiento de los microorganismos y así reducir la producción de ácido (Ray & Bhunia, 2008; Ruales Guzman, 2012).
- **Adición de edulcorantes, colorantes o preparaciones de fruta;** en esta etapa, se adicionan ingredientes o aditivos que favorecen propiedades funcionales y sensoriales del producto (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009). De acuerdo con el Codex Alimentarius, se permite el uso de aditivos como reguladores de acidez, colorantes, emulsionantes, gases de envasado, conservantes, estabilizantes, edulcorantes y espesantes (FAO, 2011), algunos de los ingredientes que se pueden emplear en las leches fermentadas son azúcares, frutas o concentrados de frutas, cereales extruidos,

mermeladas de fruta, jaleas, nueces, maní, cacao, café, miel y hortalizas (ICONTEC, 2006; Ministerio de Salud, 1986).

- **Empaque y almacenamiento:** el envasado permite asegurar que el producto llegue hasta el consumidor final en las condiciones adecuadas. El almacenamiento se debe realizar a temperatura de refrigeración, con el objetivo de ralentizar las reacciones bioquímicas y biológicas de los microorganismos que puedan poner en riesgo la inocuidad o generar defectos en el producto (Tamime & Robinson, 1991).

1.2 Miel de abejas

De acuerdo con el Codex Alimentarius, la miel es “*la sustancia dulce natural producida por abejas obreras a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de estas o excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas, que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje*”(FAO & OMS, 1981). Es un alimento natural, producto de la colmena, con mayor producción y comercialización (Alvarez-Suarez, 2017), que ha sido empleado como edulcorante al ser una solución compuesta principalmente de azúcares simples (Edwards, Rossi, Corpe, Butterworth, & Ellis, 2016; Mohan et al., 2017).

Por su composición química y características bioactivas, la miel, es relacionada con beneficios en la salud, al ser de fácil asimilación, presentar propiedades antibacterianas, hepatoprotectoras, antihipertensivas, gastroprotectoras, antifúngicas, antioxidantes y en estudios realizados recientemente, se le ha atribuido un posible potencial prebiótico (Chepulis, 2016; El Sohaimy, Masry, & Shehata, 2015; Kajiwara, Gandhi, & Ustunol, 2002; Meo, Al-Asiri, Mahesar, & Ansari, 2017; Mohan et al., 2017; A Riazi & Ziar, 2012; Sanz et al., 2005). Sin embargo, la composición y características sensoriales dependen del origen botánico y geográfico, estación del año, condiciones ambientales, tecnologías de extracción y condiciones de almacenamiento (El Sohaimy et al., 2015; Meo et al., 2017; Soares et al., 2017).

La miel de abejas es una solución saturada de azúcares, pues estos corresponden al 95% del total de la materia seca. Dentro de su contenido de carbohidratos presenta principalmente fructosa y glucosa, disacáridos como maltosa, sacarosa, trehalosa y turanosa, y trisacáridos como maltotriosa y melecitosa (da Silva, Gauche, Gonzaga, Costa,

& Fett, 2016; Machado De-Melo, Almeida-Muradian, Sancho, & Pascual-Maté, 2017); Adicionalmente, la miel tiene una humedad que puede variar en un rango entre 13 y 21%, y así mismo influye en propiedades sensoriales (Machado De-Melo et al., 2017); el contenido mineral, está relacionado con las condiciones ambientales y edafológicas de su origen geográfico, estos se pueden encontrar en rangos entre 0.04 y 1% del total de la composición, siendo destacados el potasio, sodio, calcio, magnesio, hierro y fósforo (Bogdanov, Jurendic, Sieber, & Gallmann, 2008; da Silva et al., 2016; Machado De-Melo et al., 2017; Meo et al., 2017). Adicionalmente, se encuentran diferentes ácidos orgánicos, siendo el principal el ácido glucónico (representa entre el 70 y el 90% del total de los ácidos presentes), aunque se han encontrado ácido butírico, cítrico, acético, fórmico, láctico, málico, entre otros (da Silva et al., 2016; Machado De-Melo et al., 2017).

La miel también tiene características bioactivas, principalmente por la presencia de compuestos fenólicos (metabolitos secundarios de las plantas que aportan características sensoriales y antioxidantes), dentro de este grupo se encuentran ácidos fenólicos y flavonoides (Alvarez-Suarez, 2017; Bogdanov et al., 2008); que dependen de la fuente floral y de factores climáticos, algunos de ellos pueden ser ácidos cafeico, elálgico, cumárico, ferrúlico y clorogénico, ácidos orgánicos, enzimas (diastasa, invertasa, catalasa y peroxidasa), vitaminas hidrosolubles, pigmentos (Aliyu et al., 2012; Chepulis, 2016; Musa Özcan & Al Juhaimi, 2015).

1.2.1 Miel de abejas procedente de la altillanura del Vichada (*Acacia mangium*)

En el departamento del Vichada (Colombia), se han desarrollado proyectos forestales y agroindustriales con fines comerciales (Corporación Autónoma Regional de la Orinoquia, 2012), con los cuales para el año 2015 se registraba un área de plantaciones de cerca de 11.000 hectáreas, dentro de las que se destaca la *Acacia mangium* (ICA, 2015), una especie de fácil adaptación a características ambientales de la zona como los suelos arenosos, rocosos, ácidos, con alto contenido de aluminio, bajo contenido de carbono orgánico y minerales primarios que generan baja productividad de cultivos agrícolas (Castro Mercado, 2018), además esta especie es una de las más empleadas como materia prima en la industria del papel, en construcción y como materia prima para la fabricación de muebles, así mismo se ha destacado porque sus plantaciones se consideran productivas y sostenibles (Tacha Mahecha & Moreno Rodriguez, 2016). En el Vichada,

desde el año 2014, las plantaciones de esta especie, han albergado millones de abejas con producción de miel, ocasionando un crecimiento en el sector apícola del departamento, evidenciado con aproximadamente una producción de 94417 toneladas de miel producidas a finales del año 2017 y un incremento del 64% en las colmenas ubicadas en las plantaciones de la región entre 2016 y 2017 (Castro Mercado, 2018).

Este tipo de miel presenta una barrera en su proceso de comercialización debido a la presencia de cristales grandes formados con alta velocidad y su visible separación de fases, (Erasso Arango, Natalia - Montoya Restrepo, 2010), la miel es un edulcorante natural acorde con las tendencias saludables del mercado actual, sus características antioxidantes y capacidad antimicrobiana, además de la ausencia de plaguicidas al provenir de plantaciones forestales que no tienen contacto con insumos químicos (Castro Mercado, 2018), permite contar con una excelente materia prima para ser utilizada como ingrediente natural dentro de productos alimentarios, como una estrategia alternativa de mercado.

○ **Composición química de la miel**

Según el estudio realizado por Castro Mercado en 2018, se encontró que la miel de *Acacia mangium* presenta la composición descrita en la Tabla 1-1. En la cual se encuentra principalmente los azúcares reductores, fructosa y glucosa, que influyen en el dulzor y por la relación en la que se encuentran, también lo hacen sobre el fenómeno de cristalización y la velocidad con la que este se da en la miel dispuesta para consumo directo (Nurul Zaizuliana, Anis Mastura, Abd Jamil, Norshazila, & Zarinah, 2017; Venir, Spaziani, & Maltini, 2010) .

Tabla 1-1. Composición química de la miel de *Acacia mangium*

Miel de <i>Acacia mangium</i>	
Componentes	Contenido promedio
Azúcares	
Glucosa (%)	34.1±3.61
Fructosa (%)	34.9±4.33
Sacarosa (%)	8.94±2.39
Turanosa (%)	1.56±0.65
Maltosa (%)	0.43±0.39
Melecitosa (%)	0.65±0.35
Trehalosa (%)	Inferior al 0.1
Isomaltosa (%)	Inferior al 0.1
Erlosa (%)	Inferior al 0.1
Humedad (%)	18.34±1.48

Minerales	
Potasio (mg/kg)	219.85±134.71
Calcio (mg/kg)	119.83±34.51
Sodio (mg/kg)	73.35±40.79
Magnesio (mg/kg)	21.33±7.22
Hierro (mg/kg)	4.78±2.82
Zinc (mg/kg)	3.66±2.03
Cobre (mg/kg)	1.41±0.99
Ácidos orgánicos	
Ácido glucónico (g/kg de miel)	10.3±0.88
Componentes bioactivos	
Fenoles totales (mg GAE/kg)	578.30±218.65
Capacidad antioxidante	
FRAP (mmol Trolox/kg)	0.70±0.27
TEAC (mmol Trolox/kg)	0.60±0.40 mmol

Adaptado: (Castro Mercado, 2018)

- **Características sensoriales:** la miel de *Acacia mangium* es de color ámbar oscuro, en algunas épocas del año puede tener tonalidades más claras; olor acaramelado, amaderado, balsámico y resinoso similar a los propóleos, madera seca y valeriana; el sabor es intensamente dulce y se asocia con caramelo y panela, presenta una acidez entre débil a mediana y un sabor levemente salado, además se detecta un regusto con alta intensidad pungente, terrosa y hostigante (Castro Mercado, 2018).

1.2.2 Poder edulcorante de la miel de abejas

El poder edulcorante, se define como el número de veces que un compuesto es más dulce utilizando el dulzor de la sacarosa como referencia (Reis et al., 2011). Es una de las principales características de los edulcorantes y puede variar por factores como, los cambios sufridos por soluciones acuosas que favorecen la aparición de isómeros de posición de grupos hidroxilo y consigo la interacción de los grupos en los quimiorreceptores de las papilas gustativas; cambios en las temperaturas; presencia de otros componentes en el medio (como sustancias ácidas, amargas, polímeros o sales que interfieran con el dulce) y viscosidad de la matriz alimentaria (Badui Dergal, 2006; Parra Huertas, 2012). En la

Tabla 1-2, se pueden observar los valores de poder edulcorante o dulzor relativo de diferentes edulcorantes nutritivos, el aporte energético que estos brindan por gramo y el índice glicémico.

La miel de abejas, al presentar variaciones en su composición, específicamente en el contenido de azúcares, tiene un poder edulcorante que varía según el tipo de miel, haciendo que las mieles con altas concentraciones de fructosa produzcan una percepción más dulce (como sucede en la mayoría de las mieles), que las mieles con altas concentraciones de glucosa (Bogdanov et al., 2008). Los rangos del poder edulcorante para las mieles pueden estar entre 0.97 y 1.5 veces más dulce que la sacarosa en base seca (National Honey Board, 2017; Stellar University of Northshield, 2015).

En los azúcares, los cambios en la estructura química pueden influenciar en la forma en la que estos son absorbidos, digeridos y metabolizados en el cuerpo, siendo evidente en el índice glicémico de cada edulcorante (Edwards et al., 2016), debido a que este índice señala la capacidad de aumentar la glucosa en sangre de los azúcares. En el caso de la miel, se puede observar que a pesar que presenta un poder edulcorante superior al de la sacarosa, el índice glicémico puede estar en rangos inferiores, lo que puede atribuirse al alto contenido de fructosa dentro de su composición (Edwards et al., 2016).

Tabla 1-2. Poder edulcorante de sustancias edulcorantes

Edulcorante	Dulzor relativo	Energía (kcal/g)	Índice Glicémico (IG)
Sacarosa	1 ^a	4 ^a	61-65 ^a
Glucosa	0.5 ^a	4 ^a	100 ^a
Fructosa	1.5-1.8 ^a	4 ^a	19-23 ^a
Galactosa	0.26 ^a	4 ^a	23 ^a
Maltosa	0.4 ^a	4 ^a	105 ^a
Lactosa	0.2-0.4 ^a	4 ^a	46 ^a
Miel	0.97-1.10 ^b	3.32 ^d	31-78 ^b
Azúcar morena	0.97 ^b	3.9 ^c	65
Fructo-oligosacáridos	0.4 ^c	2.7 ^c	-
Inulina	0.5 ^c	1.5 ^e -2.7 ^c	-
Sirope de maíz	0.3-0.4 ^b	1-4 ^c	100 ^b
Sirope de maple	0.6 ^b	2.6 ^c	2.6 ^b
Melaza	0.7-1.05 ^b	2.64 ^d	55-60 ^b

Fuente: ^a(Edwards et al., 2016), ^b(Stellar University of Northshield, 2015), ^c(Modric, 2016), ^d(ICBF, 2018), ^e(Shoab et al., 2016)

1.2.3 Potencial prebiótico de la miel de abejas

De acuerdo con el consenso en 2017 de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos, ISAPP, los prebióticos se definen como “*sustratos selectivos empleados por microorganismos comensales presentes en el tracto gastrointestinal*”

humano, que confieren beneficio a la salud” (Gibson et al., 2017). Estos compuestos no son digeribles por enzimas humanas y dentro de los más reconocidos por presentar un posible potencial prebiótico, se encuentran la inulina, fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), lactulosa, pirodextrina, entre otros (Gaifullina et al., 2016). Los prebióticos, son adicionados a matrices alimentarias, para mantener la viabilidad de los microorganismos probióticos de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Gaifullina et al., 2016; Jay et al., 2009), sin embargo, hay alimentos que presentan de manera natural este tipo de compuestos como lo son frutas, verduras, bambú, miel y leche (Bernal Castro, 2017).

La miel de abejas ha sido reconocida por su posible potencial prebiótico, ya que los oligosacáridos de bajo grado de polimerización y compuestos antimicrobianos que contiene dentro de su composición promueven el crecimiento de especies como *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp., además actúa de manera sinérgica con los probióticos en contra de ciertos patógenos (Mohan et al., 2017; Popa & Ustunol, 2011). Dentro de los compuestos con posible función prebiótica encontrados en la composición de diferentes mieles están la inulobiosa, nistosa, cetosa (Fructooligosacaridos identificados en mieles de Malasia), isomaltosa y Melecitosa (oligosacáridos reconocidos en mieles de Nueva Zelanda) y rafinosa encontrada en mieles Italianas (Ulrich Landry, Moumita, Jayabalan, & Ngoufack François, 2016).

1.3 Conclusiones

Las tendencias del mercado actual muestran el interés por el consumo de alimentos naturales con efectos benéficos a la salud, lo que ha generado que la industria de alimentos proporcione alternativas diferentes en el uso de edulcorantes dentro de los ingredientes en la elaboración de productos alimenticios. Este es el caso de la miel de abejas, conocida por tener una composición interesante, la cual se destaca por brindar características bioactivas, y presentar un posible potencial prebiótico al emplearse en matrices como las leches fermentadas.

La miel de abejas ha sido un ingrediente que ha ganado posicionamiento dentro de la industria láctea en productos como las leches fermentadas, pues no solo es aceptada por aumentar la palatabilidad y favorecer las propiedades sensoriales como sabor, color y

consistencia, sino también por las características bioactivas y nutricionales que proporciona a los alimentos lácteos.

La miel de abejas de *Acacia mangium*, puede perfilarse como un producto acorde con las tendencias del mercado, al ser una alternativa local, natural y orgánica. Esta miel presenta en su composición elementos como su alto contenido de minerales, antioxidantes y tiene ausencia de plaguicidas.

1.4 Referencias

- Aliyu, M., Odunola, O., Farooq, A., Mesaik, A., Choudhary, M., Erukainure, O., ... Jabeen, A. (2012). Fractionation of acacia honey affects its antioxidant potential in vitro. *Journal of Acute Disease*, 2(4), 115–119. [https://doi.org/10.1016/S2221-6189\(13\)60070-0](https://doi.org/10.1016/S2221-6189(13)60070-0)
- Alvarez-Suarez, J. M. (2017). Bee products - chemical and biological properties. *Bee Products - Chemical and Biological Properties*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1>
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2011). Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt - A review. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.008>
- Aween, M. M., Hassan, Z., Muhialdin, B., Eljamel, Y., Al-Mabrok, A. S., & Lani, M. N. (2012). Antibacterial Activity of *Lactobacillus acidophilus* Strains Isolated from Honey Marketed in Malaysia against Selected Multiple Antibiotic Resistant (MAR) Gram-Positive Bacteria. *Journal of Food Science*, 77(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02776.x>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. (E. Quintanar Duarte, Ed.), *Química de los alimentos (Cuarta)*. Naucalpan de Juárez: Pearson Educación. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Batt, C., & Lou Tortorello, M. (2014). *Encyclopedia of food microbiology*. (C. Bart, Ed.), *Encyclopedia of Food microbiology (Second)*. Oxford: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.01001-6>
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry (4th ed.)*. Heidelberg: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-40-69934-7>
- Bernal Castro, C. A. (2017). Evaluación del comportamiento de cultivos probióticos y prebióticos en bebidas de frutos rojos. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/61087/1/101841360.2017.pdf>
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), 677–689. <https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>
- Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., & Mahenthiralingam, E. (2013). The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: A tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial

- success. *FEMS Microbiology Letters*, 349(2), 77–87. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12293>
- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Akyuz Turumtay, E., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.024>
- Castro-Mercado, L., & Díaz-Moreno, C. (2016). Contenido de cenizas y perfil mineral de mieles de la Altillanura vichadense. *Agronomía Colombiana*, 34, 1029–1032. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.58241>
- Castro Mercado, L. (2018). Evaluación de la composición, calidad y generación de vaor de miel de abejas originaria de zonas forestales en la altillanura del departamento de Vichada. Universidad Nacional de Colombia.
- Chandan, R., White, C., Kilara, A., & Hui, Y. (2006). *Manufacturing yogurt and fermented milks (First)*. Oxford: Blackwell publishing professional.
- Chepulis, L. (2016). Honey Food or Medicine The How, Where and Why of Bioactivity Testing. *Bee World*, 92(4), 97–131.
- Chepulis, L. M. (2007). The effect of honey compared to sucrose, mixed sugars, and a sugar-free diet on weight gain in young rats. *Journal of Food Science*, 72(3). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00286.x>
- Corporación Autónoma Regional de la Orinoquia. (2012). Informe ejecutivo de la gestión ambiental del Vichada.
- da Silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Das, K., Choudhary, R., & Thompson-witrick, K. A. (2019). Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 108(February), 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.058>
- de Oliveira, M. N. (2014). Fermented Milks: Fermented Milks and Yogurt. En *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition (Second Edi, Vol. 2, pp. 908–922)*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00121-X>
- Dor Ginnie Ornella, L. M., & Fawzi, M. M. (2016). Traditional and Modern Uses of Honey: An Updated Review. En R. Ramirez (Ed.), *Honey: Geographical Origins, Bioactive Properties & Health Benefits* (pp. 81–98). New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Edwards, C. H., Rossi, M., Corpe, C. P., Butterworth, P. J., & Ellis, P. R. (2016). The role of sugars and sweeteners in food , diet and health : Alternatives for the future. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.008>
- El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D., & Shehata, M. G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2015.10.015>

- Erasso Arango, Natalia - Montoya Restrepo, L. A. (2010). Análisis de percepción de marca Producto Miel de Abejas en el mercado de Bogotá.
- FAO. (2011). Leche y Productos Lácteos Leche y Productos Lácteos. CODEX Alimentarius. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500010>
- FAO, & OMS. (1981). Codex Norma para la Miel.
- Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Rios-Solis, L., & Halim, M. (2018). Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods*, 48(July), 387–399. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2018.07.039>
- Frisvad, J. C., Huys, G., Bourdichon, F., Harnett, J., Powell, I. B., Hammes, W. P., ... Van Boven, A. (2011). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.030>
- Gaifullina, L., Saltykova, E., & Nikolenko, A. (2016). Prebiotic and Probiotic Properties of Honey. En R. Ramirez (Ed.), *Honey: Geographical Origins, Bioactive Properties & Health Benefits* (pp. 53–80). New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., ... Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 14(8), 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Gomes Machado, T. A. D., Gomes de Oliveira, M. E. G., Ferreira Campos, M. I., Antonio de Assis, P. O., Leite de Souza, E., Madruga, M. S., ... Ramos do Egypto Queiroga, R. de C. (2017). Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.013>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., ... Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- IALIMENTOS. (2016). Tendencias, necesidades y consumo de la industria láctea en Colombia. Recuperado de <http://revistaialimentos.com/news/tendencias-necesidades-y-consumo-de-la-industria-lactea-en-colombia.htm>
- ICA. (2015). El ICA organizó primer comité fitosanitario forestal de la Orinoquia en Puerto Carreño. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/Noticias/Agricola/2015/El-ICA-organizo-primer-comite-fitosanitario-forest.aspx>
- ICBF. (2018). Tabla de composición de alimentos. Bogotá D.C.: Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.
- ICONTEC. (2006). NTC 805. Productos lácteos. leches fermentadas. Bogotá D.C.

- Jay, J., Loessner, M., & Golden, D. (2009). *Microbiología Moderna de los Alimentos* (Quinta). Zaragoza: Acribia S.A.
- Kajiwara, S., Gandhi, H., & Ustunol, Z. (2002). Effect of Honey on the Growth of and Acid Production by Human Intestinal Bacterium spp.: An In Vitro Comparison with Commercial Oligosaccharides and Inulin. *Journal of Food Protection*, 65(1), 214–218.
- Khan, S. U., Anjum, S. I., Rahman, K., Ansari, M. J., Khan, W. U., Kamal, S., ... Khan, H. U. (2018). Honey: Single food stuff comprises many drugs. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.08.004>
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Von Wright, A. (2012). *Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects.* (Taylor & Francis Group, Ed.) (Fourth). Boca Raton, Florida.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Machado De-Melo, A. A., Almeida-Muradian, L. B. de, Sancho, M. T., & Pascual-Maté, A. (2017). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 8839(August), 1–33. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338444>
- Mandigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock biology of microorganisms.* <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Meo, S. A., Al-Asiri, S. A., Mahesar, A. L., & Ansari, M. J. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975–978. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>
- Ministerio de Salud. Resolución Número 2310, Pub. L. No. 2310 (1986). República de Colombia.
- Modric, J. (2016). Sweeteners: Relative Sweetness, Calories, Glycemic Index - Nutrients Review. Recuperado el 3 de octubre de 2019, de <http://www.nutrientsreview.com/articles/sweeteners.html>
- Mohan, A., Quek, S.-Y., Gutierrez-Maddox, N., Gao, Y., & Shu, Q. (2017). Effect of honey in improving the gut microbial balance. *Food Quality and Safety*, 1(May 2017), 107–115. <https://doi.org/10.1093/fqs/fyx015>
- Mora Adames, W. I. (2017). *Aplicación de fermentación láctica en el desarrollo de productos para la generación de valor en polen apícola.* Universidad Nacional de Colombia.
- Musa Özcan, M., & Al Juhaimi, F. (2015). Honey as source of natural antioxidants. *Journal of Apicultural Research*, 54(3), 145–154. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1144976>
- National Honey Board. (2017). *Honey: A Reference Guide to Nature's Sweetener.* Recuperado el 13 de julio de 2018, de <https://www.nal.usda.gov/fnic/nutritive-and-nonnutritive-sweetener-resources>

- Nielsen. (2016). Infografía: ingredientes y tendencias de comida fuera de casa en LATAM. Recuperado de <http://www.nielsen.com/co/es/insights/news/2016/Ingredientes-y-tendencias-de-comida-fuera-de-casa-en-Latam.html>
- Nurul Zaizuliana, R., Anis Mastura, A., Abd Jamil, Z., Norshazila, S., & Zarinah, Z. (2017). Effect of Storage Conditions on the Crystallisation behaviour of Selected Malaysian honeys. *International Food Research Journal*, 24, 475–480.
- Parra Huertas, R. A. (2012). Importancia terapéutica y estabilizantes-edulcorantes en la tecnología del yogur (Primera). Tunja: UPTC.
- Popa, D., & Ustunol, Z. (2011). Influence of sucrose, high fructose corn syrup and honey from different floral sources on growth and acid production by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *International Journal of Dairy Technology*, 64(2), 247–253. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00666.x>
- Radke-Mitchell, L. C., & Sandine, W. E. (1986). Influence of Temperature on Associative Growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Dairy Science*, 69(10), 2558–2568. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80701-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80701-9)
- Ray, B., & Bhunia, A. (2008). *Fundamental Food Microbiology (Fourth)*. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group.
- Reis, R. C., Minim, V. P. R., Bolini, H. M. A., Dias, B. R. P., Minim, L. A., & Ceresino, E. B. (2011). Sweetness equivalence of different sweeteners in strawberry-flavored yogurt. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2011.00378.x>
- Riazi, A., & Ziar, H. (2012). Effect of honey and starter culture on growth, acidification, sensory properties and bifidobacteria cell counts in fermented skimmed milk. *African Journal of Microbiology Research*, 6(3), 486–498. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.819>
- Ruales Guzman, B. V. (2012). Seguimiento de la producción del aroma del yogurt durante la fermentación ácido láctica mediante nariz electrónica y evaluación sensorial. Universidad Nacional de Colombia.
- Sanz, M. L., Polemis, N., Morales, V., Corzo, N., Drakoularakou, A., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2005). In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 2914–2921. <https://doi.org/10.1021/jf0500684>
- Sarao, L. K., & Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 344–371. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055>
- Serna Cock, L., & Rodríguez de Stouvenel, A. (2005). Producción Biotecnológica de ácido láctico: Estado del arte. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(1), 54–65.
- Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., ... Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147, 444–454. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>

- Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P. P., & Mafra, I. (2017). A Comprehensive Review on the Main Honey Authentication Issues: Production and Origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 00. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12278>
- Stellar University of Northshield. (2015). Sweetening Agents. Recuperado el 3 de octubre de 2019, de northshield.org
- Tacha Mahecha, F. A., & Moreno Rodriguez, J. A. (2016). Plan de manejo y aprovechamiento forestal de *Acacia mangium willd* en la finca El Delirio, Puerto Lleras Meta, periodo 2014-2030. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
- Tamime, A., & Robinson, R. (1991). *Yogur Ciencia y Tecnología*. Zaragoza: Acribia S.A.
- Ulrich Landry, B. K., Moumita, S., Jayabalan, R., & Ngoufack François, Z. (2016). Honey , Probiotics and Prebiotics : Review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(5), 2428–2438. <https://doi.org/0975-8585>
- Uriot, O., Denis, S., Junjua, M., Roussel, Y., Dary-Mourot, A., & Blanquet-Diot, S. (2017). *Streptococcus thermophilus*: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? *Journal of Functional Foods*, 37, 74–89. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.038>
- Venir, E., Spaziani, M., & Maltini, E. (2010). Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.012>
- Walstra, P. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos* (1a ed.). Zaragoza: Acribia S.A.
- Williams, E. B., Hooper, B., Spiro, A., & Stanner, S. (2015). The contribution of yogurt to nutrient intakes across the life course. *Nutrition Bulletin*, 40(1), 9–32. <https://doi.org/10.1111/nbu.12130>
- Yildez, F. (2010). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group.
- Zapata, I. C., Sepúlveda-Valencia, U., & Rojano, B. A. (2015). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas, probióticas y antioxidantes de yogurt saborizado con mortiño (*Vaccinium meridionale Sw*). *Información Tecnológica*, 26(2), 17–28. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000200004>

2.Efecto de la adición de miel en las características sensoriales y fisicoquímicas de un yogur

Las leches fermentadas son productos con versatilidad para la inclusión de ingredientes funcionales dentro de los cuales se encuentra la miel de abejas. Este edulcorante natural tiene aceptación en productos lácteos, con aceptación en productos ácidos como el yogur (Ali Riazi & Ziar, 2008), por sus características antioxidantes y beneficios asociados a la salud, tiene validez como sustituto de la sacarosa (Sert et al., 2011).

En este capítulo se estudió el efecto de la adición de miel en características sensoriales y fisicoquímicas del yogur. Se determinaron tres porcentajes de inclusión de miel (8.5%, 10% y 11.5%) a los cuales se les evaluaron parámetros fisicoquímicos como pH, acidez titulable, capacidad de retención de agua, viscosidad y color, además de se realizó una prueba sensorial de consumidores en la cual se conoció la opinión de estos en atributos como color, sabor y aroma, consistencia y apariencia general del producto en el día 5 de almacenamiento.

Seleccionado el porcentaje de inclusión de miel, se estudió durante 21 días el efecto del momento de inclusión sobre propiedades fisicoquímicas y sensoriales.

2.1 Materiales y métodos

2.1.1 Diseño de la bebida láctea

o Materias primas

Para la elaboración del yogur se empleó, leche de vaca, proveniente del hato ubicado en la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá; miel extrafloral de *Acacia mangium*, marca Miel del Bosque, producida en el departamento del Vichada, Colombia; como cultivo iniciador (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) se

utilizó la referencia FD-DVS YFL-811 Yo-Flex® de 5U, de la casa comercial Chr. Hansen (Ver anexo A) y como cultivo probiótico (*Lactobacillus acidophilus*) Lyofast La-3 de 5UC de a casa comercial Clerici Sacco (Ver anexo B).

- **Inóculo del cultivo iniciador *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus***

Para la inclusión del cultivo iniciador en la leche dispuesta para la elaboración del yogur, se elaboró un inóculo diluyendo 5U del cultivo (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*) YFL-811 en 500 ml de leche semidescremada UHT de marca comercial y se realizó la activación a 37°C por una hora. Una vez preparado el inóculo, se empleó el 2% (v/v) del volumen efectivo de trabajo de cada tratamiento para realizar la fermentación (Jay et al., 2009).

- **Inóculo del cultivo probiótico *Lactobacillus acidophilus***

Para la inclusión del cultivo (*L. acidophilus*) Lyofast LA-3, se siguió la metodología propuesta por Casarotti y colaboradores en 2018 para la elaboración y activación del inóculo, en el cual se diluyó 1 g de *L. acidophilus* de 5UC en 50 ml de leche semidescremada UHT de marca comercial y se incubó por una hora a 37°C (Casarotti, Borgonovi, Batista, & Penna, 2018). Una vez preparado el inóculo, se utilizó el 2% (v/v) del volumen efectivo de trabajo de cada uno de los tratamientos (Jay et al., 2009).

- **Determinación del porcentaje de inclusión de miel**

Para la elección del porcentaje de inclusión final, se realizaron las pruebas fisicoquímicas de pH, acidez titulable, color, viscosidad y capacidad de retención de agua y pruebas de consumidores al día 5 de la elaboración del yogur, teniendo en cuenta la baja post acidificación que caracteriza al cultivo *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*.

Para los tratamientos del ensayo, se tuvo en cuenta la concentración equivalente de miel de *Acacia mangium* con respecto al 7.5% de sacarosa, empleada como referencia, y pruebas sensoriales preliminares realizadas con consumidores en las que se encontraron que la población en general prefiere un producto con concentraciones superiores a la equivalente. Por lo tanto, las concentraciones de miel empleadas fueron 8.5% (T1), 10% (T2) y 11.5% (T3), que, a su vez, se compararon con un yogur control (CS) endulzado con 7.5% de sacarosa. Tanto la miel como la sacarosa se adicionaron en los yogures en la etapa de ruptura del coágulo.

- **Determinación del momento de inclusión de miel**

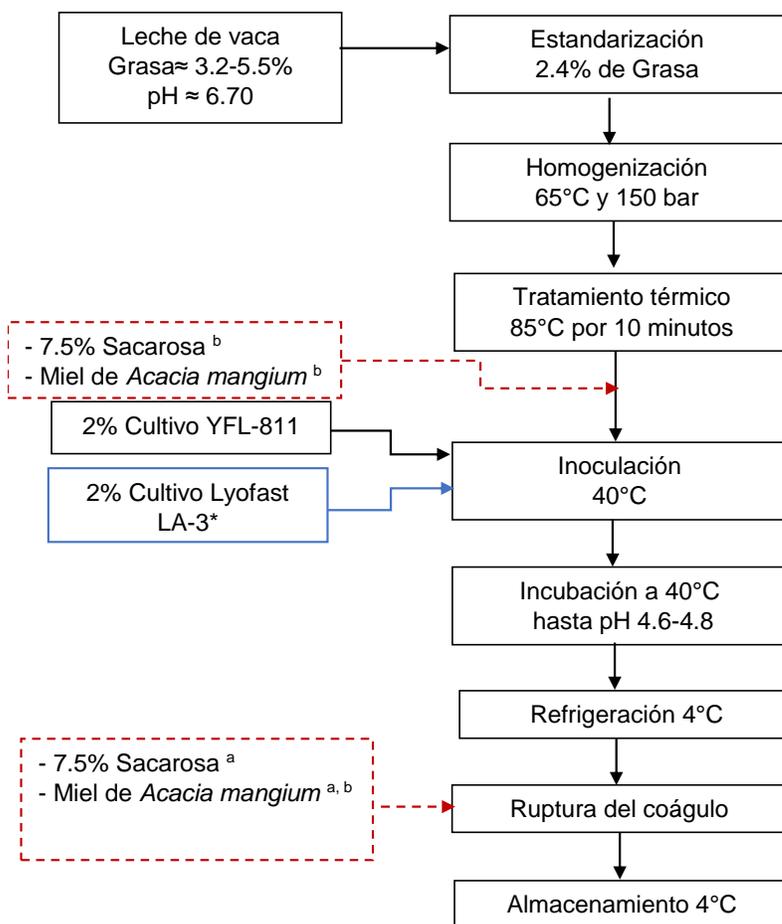
Una vez seleccionado el porcentaje de inclusión de miel con mayor aceptación sensorial y propiedades fisicoquímicas favorables para el producto, se analizaron dos tratamientos, uno con inclusión de 10% de miel antes de la fermentación (MA) y otro con 10% de miel después de la fermentación (MD), además de un yogur control (CSA) endulzado con 7.5% de sacarosa incluida antes de la fermentación.

Para este ensayo se realizaron análisis de pH y acidez durante cerca de 5.5 horas de fermentación, pruebas fisicoquímicas (pH y acidez titulable, color, viscosidad, capacidad de retención de agua, actividad antioxidante y contenido de fenoles totales) durante 21 días de almacenamiento (días 1,7,14 y 21) y análisis sensoriales (perfil de sabor y aroma) y pruebas de aceptación con consumidores realizadas al día 12 de almacenamiento.

○ Proceso de elaboración del yogur

El yogur se elaboró como se muestra en la Figura 2-1. Proceso de elaboración del yogur.

Figura 2-1. Proceso de elaboración del yogur



^a: Para el ensayo de elección del porcentaje de miel, se tuvieron en cuenta tres tratamientos, 8.5% (T1), 10%(T2) y 11.5% (T3) de miel y una muestra control endulzada con 7.5% de sacarosa (CS). Los edulcorantes fueron adicionados luego de la fermentación.

^b: Para el ensayo de determinación del momento de inclusión de miel, se tuvieron en cuenta dos tratamientos, 10% de miel antes de la fermentación (MA), 10% de miel después de la fermentación (MD) y una muestra control endulzada con 7.5% de sacarosa (CSA).

*: La Inclusión del cultivo *Lactobacillus acidophilus* Lyofast LA-3 no se realizó en el ensayo de elección del porcentaje de miel.

2.1.2 Características sensoriales

○ Entrenamiento del panel sensorial

Se seleccionaron panelistas semi entrenados del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) y se sometieron a entrenamiento en características sensoriales del yogur de acidez y nivel de dulzor.

Para el entrenamiento, se tuvo en cuenta la NTC 3915, la cual establece concentraciones específicas para que los evaluadores reconozcan y diferencien los gustos básicos (ICONTEC, 2012).

○ Entrenamiento del nivel de dulzor

Se seleccionaron tres concentraciones de sacarosa, usada como azúcar de referencia, las cuales fueron 6%, 10% y 15%. Estos valores son cercanos a las concentraciones altas empleadas en las pruebas de sensibilidad de la NTC 3915 (ICONTEC, 2012).

○ Entrenamiento nivel de acidez

Para esta prueba se empleó ácido cítrico como agente de referencia. Los porcentajes de acidez fueron seleccionados de acuerdo con los niveles de acidez descritos en las pruebas de sensibilidad de la NTC 3915 y el intervalo de acidez de un yogur comercial. De acuerdo con lo anterior, se seleccionaron los porcentajes de 0.72%, 0.155% y 0.04% expresados como ácido láctico (ICONTEC, 2012).

○ Determinación del porcentaje de inclusión de miel

○ Concentración equivalente y poder edulcorante

Para conocer la concentración equivalente, se realizó la prueba de estimación de la magnitud de atributos sensoriales de acuerdo con en la metodología descrita en NTC 4206 (Metodología. Estimación de la magnitud) y Reis y colaboradores en 2011 con algunas modificaciones (ICONTEC, 1997; Reis et al., 2011). A cada panelista entrenado, se le

presentaron ocho muestras de yogur, siete con concentraciones diferentes de miel de *Acacia mangium* (4.5%, 5.5%, 6.5%, 7.5%, 8.5%, 9.5% y 10.5%) y un yogur control endulzado con 7.5% de sacarosa. Cada muestra se codificó con tres dígitos al azar. Los panelistas proporcionaron una calificación numérica fija (modulo fijo) de 5 a la muestra control y a partir de esta brindaron calificaciones de 1 hasta 10, proporcionales a la intensidad de dulzor percibido de las muestras evaluadas.

Para la determinación de la concentración de miel de *Acacia mangium* equivalente a 7.5% de sacarosa, se graficaron los logaritmos (logaritmo natural) de las medianas de los valores asignados al estímulo y las concentraciones de miel empleadas en el yogur. Con la regresión lineal de la curva (Ecuación 2-1), se obtienen la pendiente y el intercepto que permiten conocer los valores de las constantes K y n correspondientes a la ecuación de Steven (2-2).

$$\ln R = \ln K + n \ln S \quad 2-1$$

$$R = KS^n \quad 2-2$$

Donde R es la intensidad percibida a través del estímulo, S la concentración que genera el estímulo, K y n son parámetros estimados en el modelo.

El poder edulcorante, fue establecido al relacionar la concentración equivalente de la miel con la concentración de sacarosa (7.5%) del yogur control (Ecuación 2-3), según la metodología seguida por (Reis et al., 2011).

$$P_{ed} = \frac{\text{Concentración equivalente del edulcorante}}{\text{Concentración de sacarosa en la referencia}} = \frac{C_{ed}}{7.5} \quad 2-3$$

○ Prueba de consumidores

Esta prueba se realizó con 50 consumidores entre los 18 y 60 años, pertenecientes a la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. La metodología llevada a cabo es basada en la propuesta por Hernández en 2005 y Rosas en 2014 (Hernandez, 2005; Rosas, 2014). Los consumidores recibieron 1.5 ml de cada tratamiento (cada uno codificado con 3 dígitos al azar) y respondieron una encuesta con escala hedónica de 7 puntos, me gusta extremadamente (7), me gusta mucho (6), me gusta (5), ni me gusta ni me disgusta (4), me disgusta (3), me disgusta mucho (2) y me disgusta extremadamente (1).

Cada consumidor juzgó características como textura, color, sabor y aroma, calidad general del producto y la intención de compra de cuatro muestras, (8.5%) T1, (10%) T2, (11.5%) T3 y CS (control con 7.5% de sacarosa).

- **Determinación del momento de inclusión de miel**

- **Prueba de consumidores**

La metodología llevada a cabo para este ensayo fue la misma descrita en el numeral anterior. Los consumidores evaluaron la preferencia por el sabor de las muestras MA (10% de miel incluida antes de la fermentación), MD (10% de miel después de la fermentación) y CSA (control con 7.5% de sacarosa).

- **Perfil de aroma y sabor**

La determinación del perfil de aroma y sabor se realizó con siete panelistas entrenados del ICTA, a los cuales les fue entregada una muestra codificada al azar de los tratamientos MA (10% de miel incluida antes de la fermentación), MD (10% de miel incluida después de la fermentación) y el control CSA (yogur endulzado con 7.5% de sacarosa antes de la fermentación). Para los descriptores, los panelistas fueron familiarizados con los atributos encontrados para miel y descritos por Piana en 2014 y con los mencionados por Castro Mercado en 2018 para la miel de *Acacia mangium* (Castro Mercado, 2018; Piana et al., 2004), además de las características de sabor y aroma para el yogur (Mahecha Latorre, 1985; USDA, 2001).

2.1.3 Análisis fisicoquímicos

- **Determinación de acidez titulable y pH**

Estos análisis se realizaron de acuerdo con el método oficial AOAC 947.05. La acidez, se determinó a partir de un método volumétrico, en el cual se pesa 10 g de muestra de yogur y se disuelven en 10 ml de agua destilada, la titulación se llevó a cabo con hidróxido de sodio 0.1 N, empleando como indicador fenolftaleína hasta que la muestra se tornó rosado pálido. Por su parte el pH se evaluó con un método de potenciometría (AOAC, 2012).

$$\% \text{ de acidez} = \frac{[(\text{Volumen NaOH}_{\text{gastado}})(N_{\text{NaOH}})(\text{Peso molecular}_{\text{ácido láctico}})]}{\text{peso de la muestra}} * 100$$

Donde el peso molecular del ácido láctico es de 90.08 g/mol.

- **Capacidad de retención de agua**

Para este análisis, se pesaron 20 g de muestra de yogur y se centrifugaron a 8000 x g manteniendo 4°C durante 15 minutos, una vez separadas las fases el sobrenadante fue pesado (Sert et al., 2011; Vanegas-Azuero & Gutiérrez, 2018). Según Mercan & Akin en 2017, el porcentaje de retención de agua se determina con la ecuación 2-5 (Mercan & Akin, 2017)

$$WHC = \frac{\text{peso de la muestra} - \text{peso del sobrenadante}}{\text{peso de la muestra}} * 100 \quad 2-4$$

○ **Determinación del color en el yogur**

La medición de color se efectuó empleando un colorímetro Konica Minolta CM-5, con un observador de 10° e iluminante D65. Los resultados obtenidos se reportaron en escala CIELab (Gomes Machado et al., 2017; Mora Adames, 2017).

○ **Determinación de la viscosidad**

Se empleó un viscosímetro rotacional VT550 Thermo Haake con un sensor MV-DIN. Las lecturas se tomaron a una temperatura constante de 10°C en baño termostatado. La curva de viscosidad fue ajustada empleando el modelo de ley de potencias (ecuación 2-6) (Gomes Machado et al., 2017; Vanegas-Azuero & Gutiérrez, 2018).

$$\tau = a\gamma^b \quad 2-5$$

Donde τ es el esfuerzo, a el índice de consistencia, b el índice de comportamiento de flujo y γ es la tasa de corte.

○ **Actividad antioxidante**

▪ **Extracto de yogur**

De acuerdo con la metodología propuesta por Mora Adames en 2017, se realiza la obtención de los extractos de yogur (Mora Adames, 2017). Se pesaron 10 g de muestra de yogur y se adicionaron alrededor de 2.5 ml de agua destilada, esta mezcla se ajustó a pH 4.0 con HCL 1N e incubada a 45°C durante 10 minutos. Posteriormente la mezcla fue centrifugada a 10000 r.p.m. a 4°C por 10 minutos para retirar el precipitado, el sobrenadante se ajustó a pH 7.0 con adición de NaOH 0.5M y fue nuevamente centrifugado.

▪ **Actividad antioxidante por el método TEAC (decoloración del catión radical ABTS)**

El ensayo se llevó a cabo empleando la metodología propuesta por Re en 1999 con algunas modificaciones (Re et al., 1999). Se utilizó 1 ml de la solución madre de ABTS y se leyó la absorbancia a 734 nm, posteriormente se adicionaron 10 µl del extracto de yogur y transcurridos 6 minutos fue determinada nuevamente la absorbancia. La medición espectrofotométrica se interpoló con la curva usando Trolox como estándar ($abs = 0.7042x + 0.0243$, con $R^2=0.997$) utilizando concentraciones entre 0.080 y 0.80 mM. Los resultados se expresaron en mmol de Trolox/kg de muestra.

▪ **Actividad antioxidante por ensayo de reducción de hierro (Fe⁺³) FRAP**

Este ensayo se llevó a cabo de acuerdo con la metodología propuesta por Benzie y Strain en 1996 con algunas modificaciones (Benzie & Strain, 1996). Se adicionaron 450 µl de reactivo FRAP, 735 µl de agua destilada y 20 µl del extracto de yogur, pasados 30 minutos se realizó la medición de la absorbancia a 593 nm. La medición espectrofotométrica se interpoló con la curva de calibración utilizando Trolox como estándar ($abs = 1.8225x + 0.0203$, con $R^2=0.997$) en soluciones cuyas concentraciones se encontraban entre 0.01 y 0.4 mM. Los resultados se expresaron como mmol Trolox/kg de muestra.

▪ **Contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu**

La metodología llevada a cabo se basó en la propuesta por Singleton en 1999 con algunas modificaciones (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999). Se adicionaron 500 µl de extracto de yogur, 500 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu y transcurridos 2 minutos se adicionó Carbonato de sodio al 20% y la solución se llevó a volumen en un balón aforado de 50 ml con agua destilada. Al cumplir dos horas de la reacción, se midió la absorbancia a 765 nm. La medición espectrofotométrica se interpoló con la curva de calibración preparada con ácido gálico como estándar ($abs = 0.506194 + 0.020943$, con $R^2=0.999$) con concentraciones entre 0.02 y 0.8 mg/mL. Los resultados se expresaron como mg GAE/kg de muestra.

2.1.4 Análisis estadístico

○ **Selección del porcentaje de inclusión de miel en yogur**

Los análisis fisicoquímicos fueron realizados por triplicado. Los datos fueron analizados con análisis de varianza (ANOVA). Para determinar diferencias entre los tratamientos, se emplearon pruebas de Tukey con un p-valor inferior al 5%. Los análisis de las pruebas

sensoriales se realizaron con pruebas de Kruskal-Wallis, para la determinación de diferencias con un p-valor inferior al 5%.

- **Influencia del momento de inclusión de miel**

Los análisis fisicoquímicos se realizaron por triplicado. Los datos se analizaron con análisis de varianza de 2 vías, para las diferencias significativas se emplearon pruebas de Tukey con un p-valor inferior al 5%.

2.2 Resultados y análisis de resultados

2.2.1 Características sensoriales

- **Concentración equivalente y poder edulcorante**

En la Figura 2-2, se observa la gráfica logarítmica de los valores del estímulo y la concentración de miel empleada en las muestras de yogur evaluadas por parte de los panelistas. Al realizar la regresión lineal, se obtiene la ecuación ($y = 1.6172x - 1.8292$), siendo el eje y el ln del estímulo y el eje x el ln de la concentración (p/p) de miel empleada, con un r^2 de 0.978, que permite la obtención de los parámetros de la ecuación de Steven que se pueden apreciar en la Tabla 2-1.

Figura 2-2. Gráfica logarítmica del porcentaje de inclusión de miel vs intensidad de dulzor.

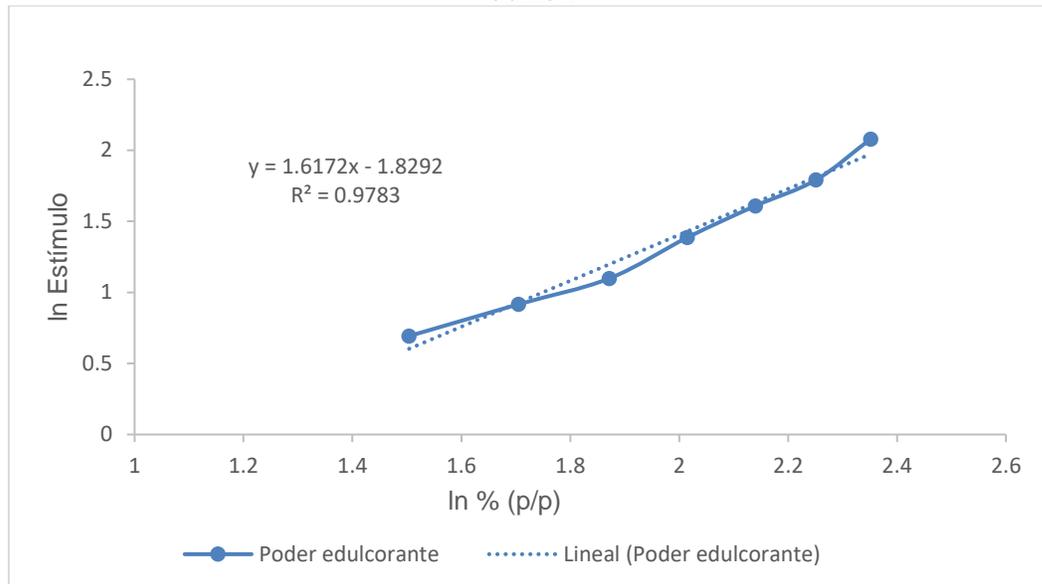


Tabla 2-1. Resultados de la estimación de la magnitud para la determinación de la concentración equivalente de miel en relación con 7.5% de sacarosa.

Ecuación de Steven	n	k	R ²
$R = 0.1605S^{1.6172}$	1.6172	0.1605	0.9783

Para la concentración equivalente, se tuvo en cuenta el módulo fijo (R=5) establecido para la muestra de referencia, por lo que el valor de la concentración de miel de *Acacia mangium* que debe ser adicionada a un yogur para alcanzar una percepción del dulzor igual a la de un yogur con 7.5% de sacarosa fue de 8.38%. Adicionalmente, el poder edulcorante de la miel de *Acacia mangium* es de 1.12 respecto a la sacarosa.

$$P_{ed} = \frac{8.38\%}{7.5\%} = 1.12$$

Estos valores pueden explicarse, porque dentro de la composición de la miel, se presenta un alto contenido de fructosa (34.9% aproximadamente) que permite que la percepción del dulce sea mayor, pues el poder edulcorante de este azúcar está entre 1.5 y 1.8 (Bogdanov et al., 2008; Edwards et al., 2016).

- **Prueba de consumidores**
 - **Evaluación porcentajes de inclusión de la miel**

La miel de abejas, es una alternativa natural frente a edulcorantes artificiales y refinados en la industria de alimentos para el desarrollo de productos naturales, debido a que llama la atención de los consumidores desde su punto de vista de seguridad, contenido de compuestos activos y propiedades biológicas (Edwards et al., 2016). La miel al ser utilizada como ingrediente en yogur, no solo influye en el sabor, sino en características específicas como el comportamiento físico (consistencia), color y sabor (Gomes Machado et al., 2017).

Color

Para el atributo color, evaluado por los consumidores durante la prueba, no hubo diferencias significativas dentro de los tratamientos (p-valor de 0.4883), sin embargo, los tratamientos T3 y T2 tuvieron una mayor aprobación con respecto a la tonalidad, pues esta permite asociar el sabor del producto con la miel, mientras que al observar un producto de color blanco como CS o una concentración menor como T1, los consumidores confundían el yogur con kumis.

Consistencia

En la evaluación de la consistencia de los productos, los consumidores prefirieron el tratamiento T2, a pesar de que no hubieron diferencias significativas entre los tratamientos (p-valor de 0.0788) contradiciendo lo mencionado por Gomes Machado y colaboradores, en donde la miel influía en la viscosidad del yogur (Gomes Machado et al., 2017).

Sabor y aroma

Para el atributo de sabor y aroma, se presentaron diferencias significativas (p-valor 0.0133) como se puede observar en la Tabla 2-2, ya que los consumidores percibieron diferencias en el sabor entre los tratamientos T1 y T3, además durante la prueba los consumidores mostraron preferencia hacia los sabores más dulces y en los que la miel tiene un mayor porcentaje.

Tabla 2-2. Resultados de la prueba de consumidores para sabor y aroma

	CS	T1	T2	T3
CS	-			
T1		-		X
T2			-	
T3		X		-

* Las X muestran las diferencias significativas entre los tratamientos, con un p-valor <0.05.

*Los tratamientos evaluados son CS (Yogur control 7.5% sacarosa); T1(Yogur 8.5% miel); T2 (Yogur 10% miel); T3 (Yogur 11.5% miel).

Percepción general del producto

Respecto a la percepción general del producto, hubo diferencias significativas (p-valor de 0.027) entre los T1 y CS, T1 y T3 como se evidencia en la Tabla 2-3, esto demuestra que si bien la concentración de miel (8.5%) es cercana a la equivalente de 7.5% de sacarosa, los consumidores prefieren un mayor dulzor en los productos. Estos resultados son acordes con la intención de compra de los tratamientos, pues los encuestados se inclinaron por los tratamientos T2 y T3.

Tabla 2-3. Resultados evaluación general del producto

	CS	T1	T2	T3
CS	-	X		
T1	X	-		X
T2			-	
T3		X		-

* Las X muestran las diferencias significativas entre los tratamientos, con un p-valor <0.05.

*Los tratamientos evaluados son CS (Yogur control 7.5% sacarosa); T1(Yogur 8.5% miel); T2 (Yogur 10% miel); T3 (Yogur 11.5% miel).

o **Determinación del momento de inclusión**

La evaluación de la aceptación del sabor de los tratamientos se realizó el día 12 de almacenamiento. Para este ensayo, hubo diferencia significativa entre la muestra control CSA con los tratamientos MA y MD (p-valor de 0.001) como se puede observar en la Tabla 2-4. Esto quiere decir que los consumidores no percibieron diferencia entre los tratamientos con inclusión de miel en los diferentes momentos de adición. Sin embargo, los consumidores tuvieron una mayor inclinación por el tratamiento MD, puesto que dentro de las observaciones mencionaban que se alcanzaba a percibir un mayor dulzor y era más evidente el sabor de la miel de abejas.

Tabla 2-4. Resultados de la prueba de consumidores para la determinación del momento de inclusión

	MA	MD	CSA
MA	-		X
MD		-	X

CSA	X	X	-
-----	---	---	---

* Las X muestran las diferencias significativas entre los tratamientos, con un p-valor <0.05.

*Los tratamientos evaluados son CSA (Yogur control 7.5% sacarosa); MA(10% miel antes); MD (10% miel después).

▪ Perfil de aroma y sabor

Los perfiles obtenidos para los tratamientos MA y MD en los que se evaluó la influencia del momento de inclusión, fueron diferentes a pesar de mantener el mismo porcentaje (10%) de inclusión de miel de *Acacia mangium* como se puede observar en la Figura 2-3 y Figura 2-4. Para los tratamientos MA y MD, se mantienen algunos de los descriptores identificados para la miel de *Acacia mangium* en el trabajo realizado por Castro Mercado, como el sabor caramelo, resinoso y animal (Castro Mercado, 2018).

Al realizar la comparación del perfil del tratamiento MA respecto al control (CSA) (Figura 2-5), se evidencia que se mantienen las notas lácteas y caramelo, sin embargo, se observa que la intensidad de estas notas es superior en el control. Al comparar el perfil del tratamiento MD con el control, se observa que en MD se mantienen notas lácteas, mantequilla y caramelo respecto al yogur control, también se puede observar que este tratamiento mantiene las notas acarameladas y resinosas descritas por Castro Mercado en el perfil de sabor y aroma de la miel (Castro Mercado, 2018).

Figura 2-3. Perfil de aroma y sabor para el tratamiento con inclusión de 10% de miel antes de la fermentación (MA).

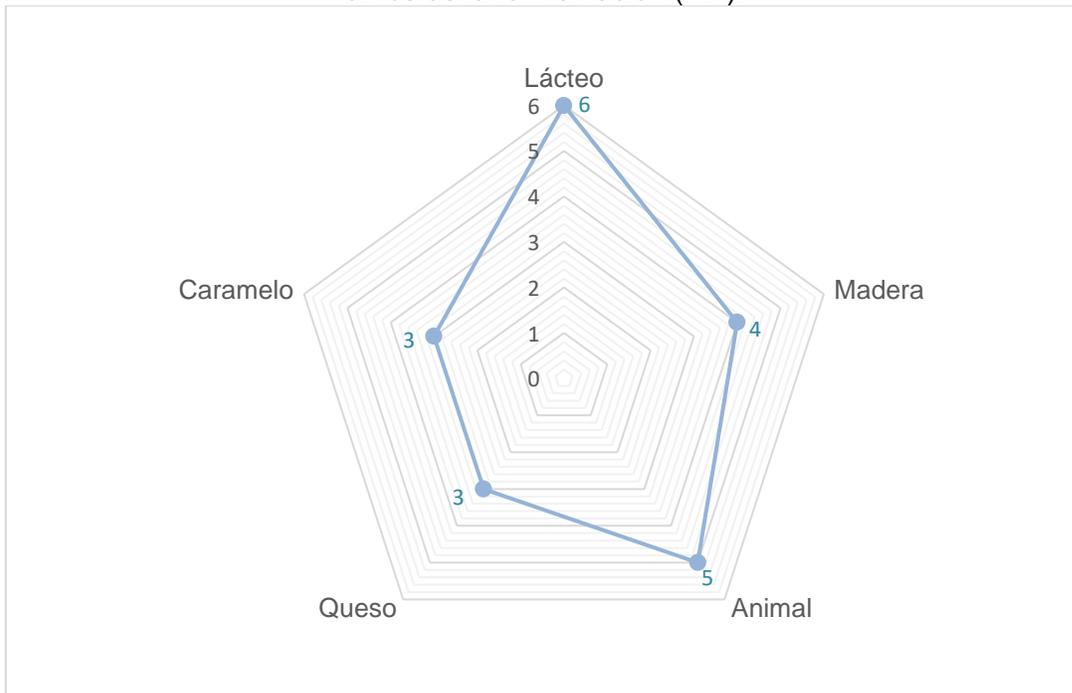


Figura 2-4. Perfil de aroma y sabor para el tratamiento con inclusión de 10% de miel después de la fermentación (MD).

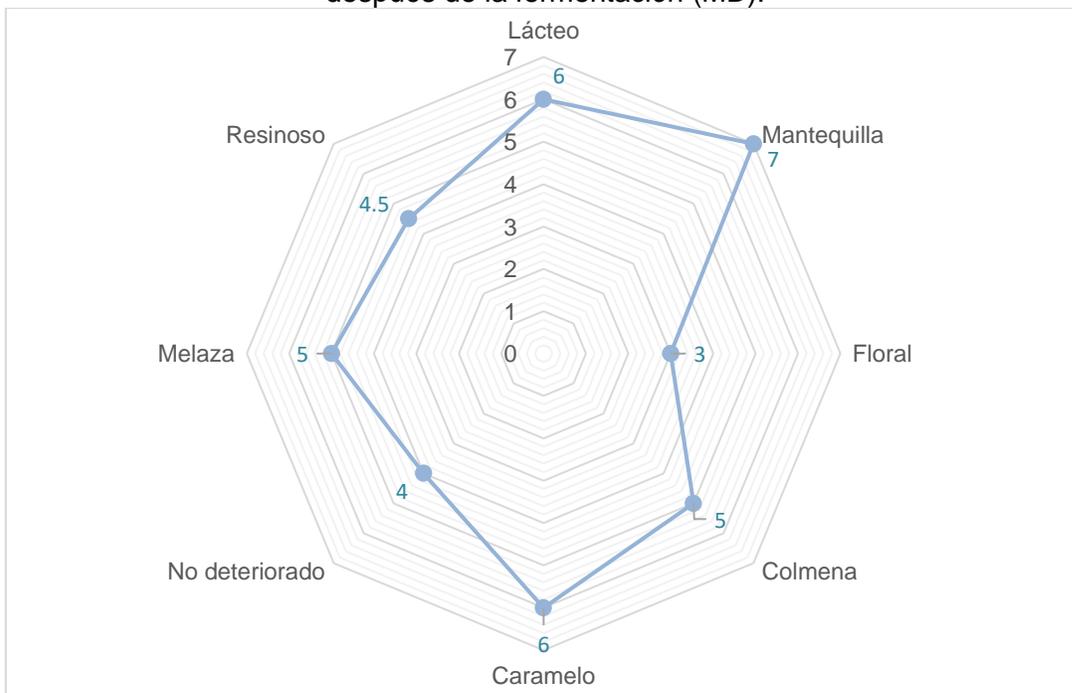
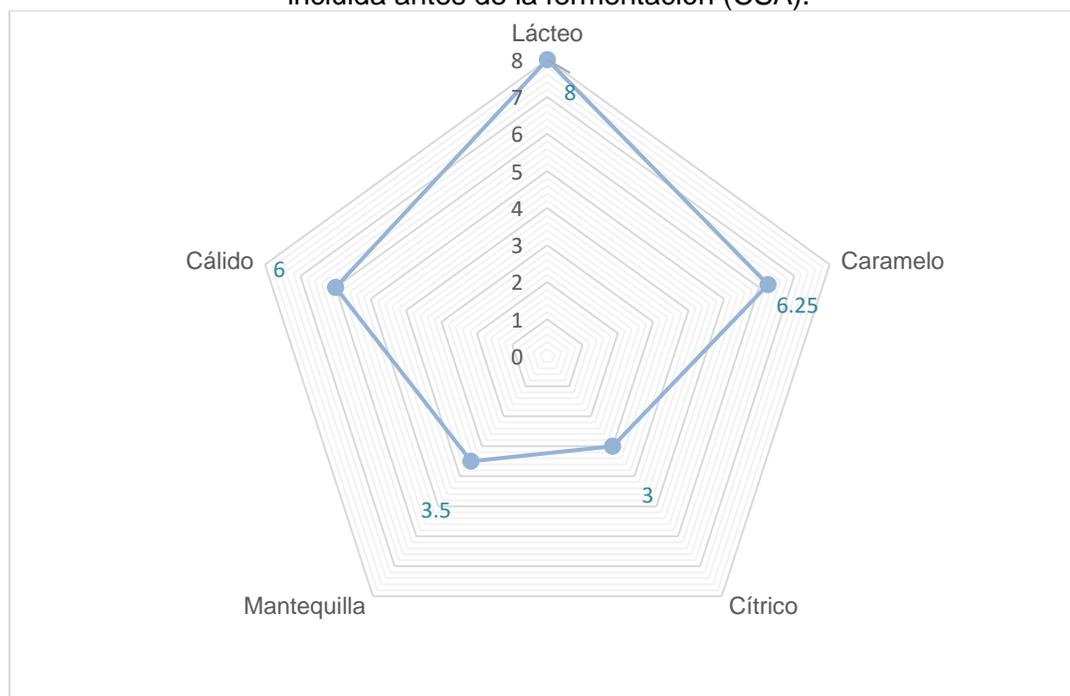


Figura 2-5. Perfil de aroma y sabor para yogur control endulzado con 7.5% de sacarosa incluida antes de la fermentación (CSA).



2.2.2 Características fisicoquímicas

- Selección del porcentaje inclusión de miel

Para la determinación del porcentaje de inclusión de miel, se realizaron las pruebas fisicoquímicas contempladas en la Tabla 2-5.

Tabla 2-5. Resultados pruebas fisicoquímicas para el ensayo de la selección del porcentaje de inclusión de miel

Tratamientos	Acidez (% ácido láctico)	pH	% Retención de Agua	Viscosidad	
				K (Índice de consistencia)	n (Índice de flujo)
CS	0.68±0.06 ^a	4.49±0.02 ^b	34.96±0.07 ^a	0.70±0.48 ^a	0.89±0.20 ^a
T1	0.72±0.05 ^a	4.36±0.02 ^a	37.71±0.5 ^b	0.89±0.50 ^a	0.85±0.048 ^a
T2	0.64± 0.01 ^a	4.39±0.05 ^a	41.24±0.6 ^c	1.25±0.87 ^a	0.77±0.07 ^a
T3	0.62±0.01 ^a	4.41±0.02 ^a	40.52±0.40 ^c	1.16±0.61 ^a	0.75±0.05 ^a

*Letras diferentes en cada columna, muestran diferencias significativas con un p-valor<0.05.

*Los tratamientos evaluados son CS (Yogur control 7.5% sacarosa); T1(Yogur 8.5% miel); T2 (Yogur 10% miel); T3 (Yogur 11.5% miel).

Acidez titulable

Esta prueba se realizó debido a que este es un requerimiento fisicoquímico reglamentado para la elaboración del yogur. El porcentaje de acidez expresado como ácido láctico no presenta diferencia significativa (p-valor 0.0613) entre los tratamientos como se muestra en la Tabla 2-5, a pesar de que los valores tienden a disminuir al aumentar el porcentaje de inclusión de miel. Los tratamientos T2 y T3 se encuentran con valores de acidez por debajo de lo estipulado en la Resolución 2310, donde establece que la acidez se debe encontrar entre 0.7 y 1.5% expresado como ácido láctico (Ministerio de Salud, 1986), estos cumplen con lo mencionado en Codex Alimentarius y la NTC 805 (Norma Técnica Colombiana para leches fermentadas) establecen que el porcentaje mínimo es de 0.6% (FAO, 2011; ICONTEC, 2006).

pH

Para los valores de pH (Tabla 2-5) se muestra que el yogur control (CS) presenta una diferencia significativa (p-valor de 0.004). Dentro de los resultados obtenidos, se puede observar que los tratamientos y el control se encuentran en un rango entre 4.49 y 4.36, similares a los obtenidos por Sert en 2011 cuando empleaba miel de girasol originaria de Turquía con porcentajes de inclusión entre 2 y 6%, cuyos valores de pH se encontraban entre 4.42 y 4.48 (Sert et al., 2011) y a los resultados reportados en el trabajo de Gomes Machado en 2017 cuando emplearon miel de abejas sin aguijón procedentes de Paraiba, Brasil con porcentajes de inclusión de 5, 10 y 15%, cuyos rangos se encontraban entre 4.57 y 4.21(Gomes Machado et al., 2017).

Capacidad de retención de agua

En el porcentaje de retención de agua (Tabla 2-5), muestra que los resultados obtenidos presentan una diferencia significativa (p-valor de 5.39×10^{-7}) de los tratamientos T1 y CS respecto a los tratamientos T2 y T3, además se observa que al aumentar el porcentaje de inclusión de miel incrementa el porcentaje de retención, lo cual implica una reducción de la sinéresis, que es un defecto castigado en el producto (USDA, 2001), esto se debe porque de acuerdo con Mercan y Akin, al tener la miel dentro de su composición una

cantidad importante de fructosa, favorece la retención de agua, ya que este monosacárido presenta una alta capacidad de retención de agua. (Mercan & Akin, 2017).

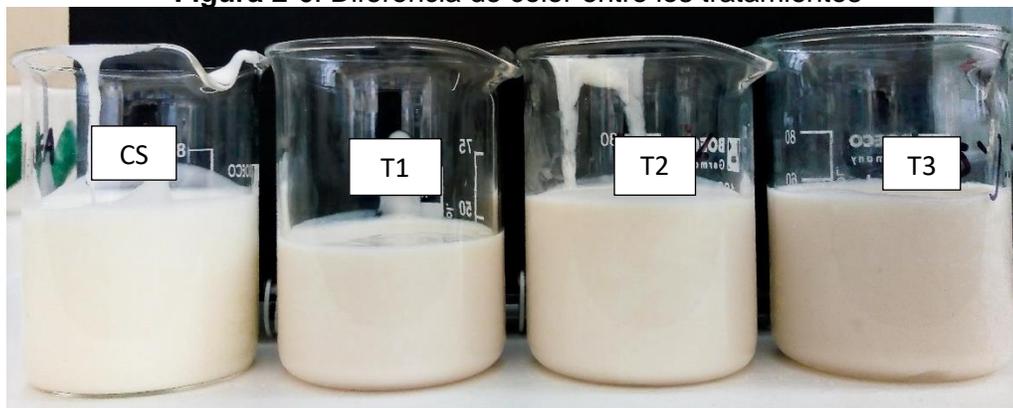
Viscosidad

Respecto a la viscosidad de los tratamientos y el yogur control, en la Tabla 2-5, se puede apreciar que no hay diferencias significativas entre los índices de consistencia de los tratamientos y el control, sin embargo, se observa que al aumentar el contenido de miel, el índice de consistencia aumenta, señalando un aumento en la viscosidad aparente de los tratamientos en comparación al control; este resultado sugiere que el gel presenta una estructura fuerte (Heydari, Amiri-rigi, & Reza, 2018). Por su parte el índice de flujo disminuye a medida que aumenta el contenido de miel, pero esto no es significativo, en todos los casos el índice de flujo es menor que 1, indicando que el fluido evaluado es de naturaleza pseudoplástica, lo que puede ser explicado por las interacciones electrostáticas e hidrófobas que influyen la textura del producto lácteo (Abu-Jdayil, Shaker, & Jumah, 2000; Mei, Feng, & Li, 2017).

Color

En la Figura 2-6, se puede apreciar el cambio de las tonalidades de los tratamientos y el control, mostrando la tendencia hacia tonalidades amarillas de los yogures con miel de *Acacia mangium*.

Figura 2-6. Diferencia de color entre los tratamientos



*Los tratamientos corresponden CS (Yogur control 7.5% sacarosa); T1 (Yogur 8.5% miel); T2 (Yogur 10% miel); T3 (Yogur 11.5% miel).

En la Tabla 2-6, se puede observar cómo cambian los parámetros de color, L^* , a^* y b^* de la escala CIELab con el aumento del porcentaje de inclusión de miel en el yogur. Para el parámetro L^* (luminosidad) se puede observar que hay diferencia significativa entre los tratamientos (p-valor de 6.56×10^{-14}), mostrando que el valor de este parámetro es mayor en el control CS y disminuye al aumentar el porcentaje de la inclusión de miel, siendo más bajo para los tratamientos T2 y T3. Los valores de a^* presentan diferencia significativa (p-valor de 4.05×10^{-14}) con la adición de miel en los tratamientos, este valor muestra una disminución en la muestra control. El parámetro b^* , presenta diferencia significativa (p-valor de 0.0009) para la muestra control CS y T3, los tratamientos T1 y T2 son iguales; este valor presenta un aumento con la adición de miel en los tratamientos. Para los valores de croma C^* , se evidencia una diferencia significativa (p-valor de 0.0009) entre el control CS y los tratamientos con inclusión de miel, esto indicaría que la inclusión de miel afecta la saturación entre tratamientos T1, T2 y T3, además se puede observar como este valor se incrementa de acuerdo con el porcentaje de adición. Los valores de tono h^* evidencian una diferencia significativa (p-valor de 4.7825×10^{-11}) entre el control y entre los tratamientos con miel, se puede percibir que el valor del ángulo de tono h^* es superior para el control CS; además al presentar un valor cercano a los 90° se podría apreciar que las muestras tienden a tonalidades amarillas y el color tiende a intensificarse con la adición de la miel (aumento en la saturación del color). Los resultados obtenidos para las coordenadas L^* , a^* y b^* se diferencian a los reportados por Sert, donde aunque el valor de a^* aumentaba con el porcentaje de miel, el de b^* y L^* disminuían cuando se emplea miel de girasol en porcentajes de 2, 4 y 6% (Sert et al., 2011), sin embargo son acordes con los reportados por Mercan y Akin, puesto que en su trabajo al utilizar miel de pino con concentraciones de 3, 5 y 7% los valores de L^* disminuían al aumentar el porcentaje de miel, mientras que los de a^* y b^* aumentaban (Mercan & Akin, 2017).

Tabla 2-6. Resultados de la evaluación de color para la determinación del porcentaje de inclusión de miel.

Tratamientos	Color					
	L^*	a^*	b^*	C^* (Croma)	h (tono)	ΔE
CS	91.11±0.08 ^d	-1.54±0.04 ^a	12.34±0.71 ^a	12.34±0.70 ^a	97.15±0.54 ^c	
T1	85.37±0.07 ^c	1.23±0.03 ^b	14.10±0.1 ^b	14.15±0.10 ^b	85.00±0.11 ^b	6.62
T2	84.45±0.05 ^a	1.50±0.01 ^d	14.26±0.55 ^b	14.34±0.05 ^b	83.99±0.06 ^a	7.57

T3	85.09±0.06 ^b	1.32±0.03 ^c	14.61±0.49 ^c	14.67±0.49 ^b	84.82±0.25 ^b	7.05
-----------	-------------------------	------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------	------

*Letras diferentes en cada columna, muestran diferencias significativas con un p-valor<0.05.

*Los tratamientos evaluados son CS (Yogur control 7.5% sacarosa); T1(Yogur 8.5% miel); T2 (Yogur 10% miel); T3 (Yogur 11.5% miel).

Respecto a la diferencia total de color (ΔE), se puede observar que los tratamientos con inclusión de miel presentan una diferencia superior a 3.3, puesto que para el T1 el valor de la diferencia es de 6.62, T2 es de 7.57 y T3 de 7.05, indicando que el cambio de color entre tratamientos respecto al control CS es evidente para el ojo humano (Burgain, Gaiani, Linder, & Scher, 2011).

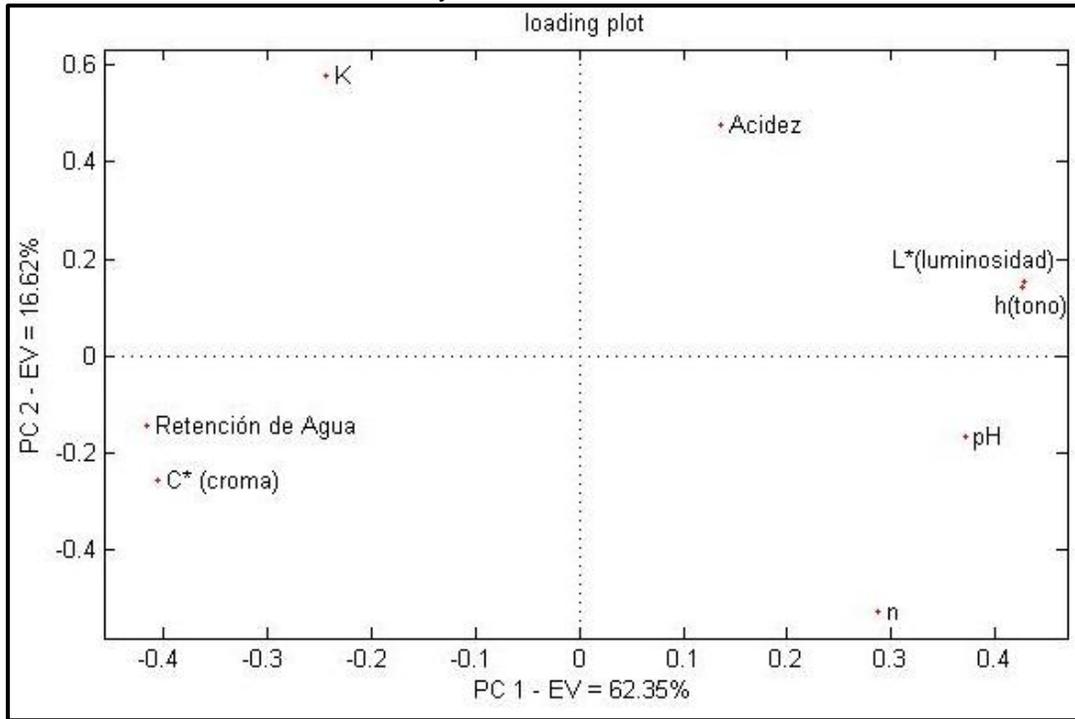
Análisis de componentes principales

Dentro de los resultados del análisis de componentes principales, se encuentra la relación entre variables y muestras, en este se puede observar una varianza de 78,97% para el total del análisis de los dos componentes principales. De acuerdo con los resultados obtenidos en la Figura 2-7, se podrían afirmar interacciones o posibles efectos entre variables.

Por ejemplo, las variables ubicadas en el eje positivo del componente principal 1, como pH, acidez, luminosidad, tono e índice de flujo podrían estar relacionadas; indicando que las muestras que están influenciadas por el pH tendrían efecto en el índice de flujo, además según los datos, las muestras que están influenciadas por L* y tono también tienen efecto en el porcentaje de acidez.

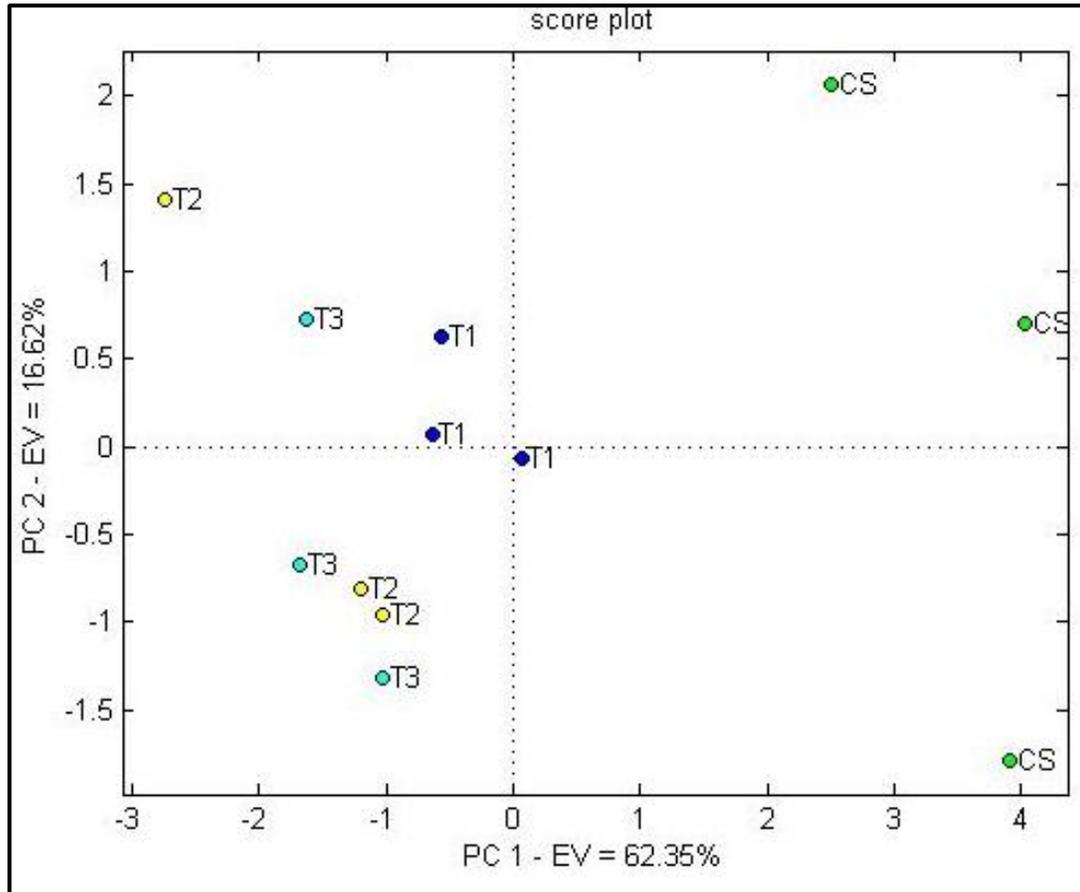
En el caso de las variables ubicadas en el eje negativo del componente principal 1, se puede observar la relación entre el índice de consistencia, la capacidad de retención de agua y el croma, demostrando que el porcentaje de inclusión de miel influye en la saturación del color, lo que podría ser un indicador sobre la capacidad de retención de agua y la viscosidad aparente del producto.

Figura 2-7. PCA loading plot, relación entre las variables medidas de los tratamientos T1, T2, T3 y la muestra control CS.



Para la comparación entre muestras (Figura 2-8), se puede observar que los tratamientos T3 y T2 son agrupados entre sí en el eje negativo del componente principal 1, indicando una posible similitud entre estos dos tratamientos, mientras que estos son contrarios a la muestra control CS el cual se encuentra en el eje positivo del componente principal 1.

Figura 2-8. PCA, score plot. Comportamiento entre los tratamientos T1, T2, T3 y el control CS.



*Los tratamientos corresponden a CS (Yogur control 7.5% sacarosa); T1(Yogur 8.5% miel); T2 (Yogur 10% miel); T3 (Yogur 11.5% miel).

De igual manera al analizar la Figura 2-7 y la Figura 2-8 en conjunto, es posible concluir que los tratamientos con mayor porcentaje de inclusión de miel (T2 y T3) se encuentran relacionados con un mayor porcentaje de retención de agua e índice de consistencia (evidenciando un aumento en la viscosidad aparente) y a su vez con saturación en el color; mientras el control se encuentra relacionado con porcentaje de acidez titulable, pH y características de color como luminosidad y tono. Para el tratamiento T1, al estar ubicado al origen, se puede concluir que este no se encuentra influenciado de manera significativa por las variables evaluadas.

o **Determinación del momento de inclusión de la miel**

Durante el almacenamiento por 21 días, se evaluaron los parámetros fisicoquímicos que se encuentran en la Tabla 2-7, la Tabla 2-8 y la

Tabla 2-9.

pH

Para el pH se encuentran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos y en el tiempo (Tabla 2-7); para los tratamientos MA y MD se puede observar una disminución de 0.41 y 0.32 unidades respectivamente, mientras que para el control CSA, solo presenta una disminución de 0.07 unidades, los resultados de los tratamientos son comparables con los mencionados por Varga, en el que los cambios de pH al utilizar concentraciones de 1%, 3% y 5% de miel de acacia (*R. pseudo-acacia L.*) en yogur durante el almacenamiento, pues el autor reporta una caída de 0.3 unidades (Varga, 2006), y también son acordes con los valores de caída de pH mencionados por Mercan y Akin, donde para los tratamientos con 3, 5 y 7% de miel de pino disminuyen entre 0.3 y 0.33 unidades durante 28 días de almacenamiento (Mercan & Akin, 2017).

Acidez titulable

Para la acidez expresada como porcentaje de ácido láctico, se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos MA y MD, durante los 21 días (Tabla 2-7), se observa que el control (CSA) aumenta en 0.14%, mientras que para el tratamiento MA y MD el aumento fue de 0.24% y 0.05% respectivamente; los resultados obtenidos para el tratamiento MA son cercanos a los reportados por (Stijepić, Đurđević-Milošević, & Glušac, 2012) donde al realizar inclusiones de miel de acacia las diferencias fueron de 0.12 unidades al realizar inclusiones de 2 y 4 %.

Capacidad de retención de agua

El porcentaje de retención de agua muestra un aumento significativo ($p < 0.05$) para todos los tratamientos durante los 21 días de almacenamiento, además se puede observar que la retención de agua del tratamiento MD y el control CSA presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto a la del tratamiento MA (Tabla 2-7). Aunque al inicio del almacenamiento el tratamiento MD presenta el menor porcentaje de retención de agua (10.69%), se puede observar que a los 21 días este porcentaje es superior al compararlo con MA y CSA. Adicionalmente se puede ver que las muestras MA y MD tienden a retener un mayor porcentaje de agua que el control, esto debido a que el incremento en la acidez durante el almacenamiento permite mejorar la estabilidad del gel al aumentar la capacidad de retención de las proteínas y también a las características de composición de la miel en la que permite el aumento de la viscosidad y la capacidad de retención de agua del producto

(Mercan & Akin, 2017; Sert et al., 2011). Por otra parte, la alta capacidad de retención de agua de la miel permite la reducción de la sinéresis al existir una reorganización estructural de la red de proteínas durante el almacenamiento (Stijepić et al., 2012).

Tabla 2-7. Resultados parámetros de pH, acidez y porcentaje de retención de agua durante el almacenamiento por 21 días en refrigeración a 4°C.

Parámetro	Día	Tratamientos		
		MA	MD	CSA
pH	1	5.01±0.07 ^{Db}	5.22±0.01 ^{Dc}	4.75±0.01 ^{Da}
	7	4.82±0.006 ^{Cb}	5.07±0.07 ^{Cc}	4.69±0.02 ^{Ca}
	14	4.69±0.03 ^{Bb}	4.98±0.02 ^{Bc}	4.72±0.02 ^{Ba}
	21	4.60±0.02 ^{Ab}	4.91±0.01 ^{Ac}	4.68±0.01 ^{Aa}
Acidez (% Ácido láctico)	1	0.540±0.01 ^{Ab}	0.63±0.02 ^{Aa}	0.62±0.02 ^{Aab}
	7	0.657±0.01 ^{Bb}	0.600±0.01 ^{Ba}	0.658±0.03 ^{Bab}
	14	0.712±0.005 ^{Cb}	0.656±0.002 ^{Ca}	0.731±0.009 ^{Cab}
	21	0.747±0.02 ^{BCb}	0.642±0.02 ^{BCa}	0.723±0.01 ^{BCab}
% Retención de agua	1	26.71±0.87 ^{Ab}	10.69±0.41 ^{Aa}	27.00±0.12 ^{Aa}
	7	31.6±0.68 ^{Bb}	36.27±0.19 ^{Ba}	29.91±1.06 ^{Ba}
	14	35.6±0.20 ^{Cb}	32.98±0.65 ^{Ca}	31.6±0.12 ^{Ca}
	21	36.64±0.22 ^{Db}	37.98±0.36 ^{Da}	31.42±0.40 ^{Da}

*Los tratamientos evaluados son CSA (Yogur control 7.5% sacarosa); MA(10% miel antes); MD (10% miel después).

*Las letras minúsculas en la misma fila indican diferencia significativa entre los tratamientos con un p-valor <0.05.

* Las letras mayúsculas en la misma columna para el mismo parámetro, indican diferencia significativa en el periodo de almacenamiento con un p-valor <0.05.

Viscosidad

Respecto a la viscosidad, se puede observar (Tabla 2-8) que a medida que pasa el tiempo, el índice de consistencia aumenta y es superior para el tratamiento MD, lo que indica que

la viscosidad aparente aumenta cuando la miel se incorpora luego de la fermentación. El índice de consistencia aumenta en los tratamientos y el control a medida que pasa el tiempo de almacenamiento, lo que puede ser explicado porque en las bebidas lácteas acidificadas, al presentar valores de pH en rangos entre 3.6 y 4.5, las micelas de caseína se agregan y forman una red tridimensional que durante el añejamiento se da una reorganización como resultado de las fuerzas de van der Waals y atracción electrostática al estar cerca del punto isoeléctrico (Doğan, 2011).

Tabla 2-8. Índice de consistencia e índice de flujo para modelamiento de la viscosidad de los tratamientos durante almacenamiento por 21 días en condiciones de refrigeración.

Parámetro	Día	Tratamientos		
		MA	MD	CSA
K (Índice de consistencia)	1	0.101±0.06 ^{Aab}	0.099±0.08 ^{Ab}	0.442±0.10 ^{Aab}
	7	0.503±0.22 ^{Bab}	0.700±0.03 ^{Bb}	0.457±0.13 ^{Bab}
	14	0.779±0.19 ^{BCab}	0.728±0.18 ^{BCb}	0.494±0.04 ^{BCab}
	21	0.912±0.11 ^{Cab}	1.128±0.08 ^{Cb}	0.405±0.03 ^{Cab}
n (Índice de flujo)	1	1.123±0.10 ^{Ca}	1.111±0.11 ^{Cb}	0.882±0.03 ^{Cb}
	7	0.759±0.09 ^{Ba}	0.813±0.01 ^{Bb}	0.860±0.07 ^{Bb}
	14	0.508±0.09 ^{Aa}	0.717±0.04 ^{Ab}	0.791±0.01 ^{Ab}
	21	0.525±0.01 ^{Aa}	0.581±0.01 ^{Ab}	0.824±0.03 ^{Ab}

*Los tratamientos evaluados son CSA (Yogur control 7.5% sacarosa); MA(10% miel antes); MD (10% miel después).

*Las letras minúsculas en la misma fila indican diferencia significativa entre los tratamientos con un p-valor <0.05.

* Las letras mayúsculas en la misma columna para el mismo parámetro, indican diferencia significativa en el periodo de almacenamiento con un p-valor <0.05.

Color

Los resultados de las coordenadas del atributo color, se presentan en la

Tabla 2-9. Para el parámetro L* se observa una diferencia significativa (p<0.05) entre los tratamientos y el control, siendo el control el que presenta un valor superior. Durante el almacenamiento, se puede observar que el valor L* en los tratamientos MA y MD disminuye. Para a*, se observa una diferencia significativa (p-valor<0.05) entre los

tratamientos MA y MD respecto al control, siendo mayores los valores para los tratamientos con miel. El valor de b^* muestra diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos y con la muestra control, siendo superior para el tratamiento MD, además se evidencia un aumento de este valor a lo largo de los 21 días para todos los tratamientos. Estos resultados son acordes con los reportados por Mercan, cuyo trabajo menciona que los valores de L^* para el control sin miel son superiores respecto a los tratamientos con 3, 5 y 7% y en todos los tratamientos disminuye a lo largo del almacenamiento, los valores de a^* y b^* aumentan en los tratamientos con miel y durante el almacenamiento (Mercan & Akin, 2017). De igual manera, ocurre en el trabajo realizado por (Kennas, Amellal-chibane, Kessal, & Halladj, 2018).

Tabla 2-9. Análisis de color durante almacenamiento por 21 días a condiciones de refrigeración.

Parámetro	Día	Tratamientos		
		MA	MD	CSA
L^*	1	82.64±0.04 ^{ABCb}	81.84±0.05 ^{ABCa}	89.23±0.06 ^{ABCc}
	7	82.26±0.08 ^{Ab}	81.86±0.19 ^{Aa}	89.49±0.15 ^{Ac}
	14	82.55±0.05 ^{Bb}	81.76±0.05 ^{Ba}	89.49±0.09 ^{Bc}
	21	82.54±0.02 ^{Cb}	81.59±0.05 ^{Ca}	89.72±0.09 ^{Cc}
a^*	1	0.30±0.02 ^{Ab}	0.33±0.05 ^{Ab}	-2.77±0.02 ^{Aa}
	7	0.43±0.01 ^{Bb}	0.32±0.06 ^{Bb}	-2.63±0.13 ^{Ba}
	14	0.28±0.01 ^{Ab}	0.21±0.04 ^{Ab}	-2.82±0.07 ^{Aa}
	21	0.40±0.01 ^{Bb}	0.51±0.02 ^{Bb}	-2.69±0.07 ^{Ba}
b^*	1	12.79±0.02 ^{Aa}	12.95±0.04 ^{Ac}	9.37±0.02 ^{Ab}
	7	12.84±0.05 ^{Ba}	13.32±0.12 ^{Bc}	10.23±0.21 ^{Bb}
	14	13.09±0.06 ^{Ca}	13.45±0.05 ^{Cc}	10.52±0.15 ^{Cb}
	21	13.05±0.03 ^{Ca}	13.26±0.02 ^{Cc}	10.88±0.13 ^{Cb}
C* (Croma)	1	12.79±0.02 ^{Ab}	13.06±0.071 ^{Ac}	9.78±0.014 ^{Aa}

Parámetro	Día	Tratamientos		
		MA	MD	CSA
	7	12.85±0.05 ^{Bb}	13.43±0.083 ^{Bc}	10.56±0.17 ^{Ba}
	14	13.09±0.06 ^{Cb}	13.50±0.065 ^{Cc}	10.89±0.12 ^{Ca}
	21	13.06±0.03 ^{Cb}	13.52±0.027 ^{Cc}	11.21±0.11 ^{Ca}
h (tono)	1	88.66±0.08 ^{Ba}	88.54±0.23 ^{Ba}	106.48±0.16 ^{Bb}
	7	88.07±0.05 ^{Aa}	88.61±0.29 ^{Aa}	104.43±0.97 ^{Ab}
	14	88.77±0.28 ^{Ba}	89.11±0.18 ^{Ba}	104.99±0.58 ^{Bb}
	21	88.24±0.04± ^{Aa}	87.81±0.07 ^{Aa}	103.91±0.51 ^{Ab}
ΔE (diferencia total de color)	1	-	-	-
	7	0.41	0.40	0.29
	14	0.31	0.52	0.14
	21	0.30	0.44	0.12

*Los tratamientos evaluados son CSA (Yogur control 7.5% sacarosa); MA(10% miel antes); MD (10% miel después).

*Las letras minúsculas en la misma fila indican diferencia significativa entre los tratamientos con un p-valor <0.05.

* Las letras mayúsculas en la misma columna para el mismo parámetro, indican diferencia significativa en el periodo de almacenamiento con un p-valor <0.05.

Respecto al croma, hay diferencia significativa ($p < 0.05$), demostrando un mayor valor para el tratamiento MD, adicionalmente se evidencia que durante el almacenamiento, tanto los tratamientos como el control aumentan la intensidad del color, pero este cambio no es significativo entre los días 14 y 21. El tono, por su parte muestra diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el control y los tratamientos MD y MA, siendo mayor el h^* para la muestra control, además durante el almacenamiento se puede observar un aumento en el valor de este parámetro para los tratamientos y el control.

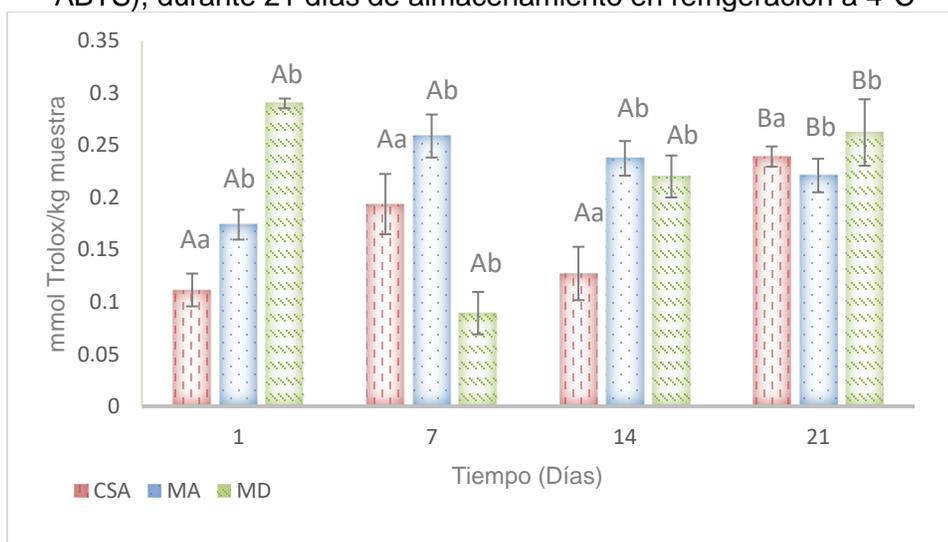
Con la diferencia total de color, se buscó identificar si en cada uno de los tratamientos se presentaban cambios de color que fueran percibidos por el ojo humano, es decir que fueran

superiores a 3.3, sin embargo, durante los 21 días se puede apreciar que el cambio de color no se percibe y que adicionalmente esta diferencia es menor entre los días 14 y 21.

Capacidad antioxidante

Para la capacidad antioxidante medida por el método de TEAC, se puede observar que los tratamientos con miel son estadísticamente diferentes (p -valor <0.05), mostrando que por este método no influye el momento de inclusión de miel. También se puede observar que durante los primeros 14 días de almacenamiento, la capacidad antioxidante se mantiene sin cambios significativos en el tiempo.

Figura 2-9. Actividad antioxidante por el método TEAC (Decoloración del catión radical ABTS), durante 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C



* Los tratamientos evaluados son MA (10% miel antes), MD (10% miel después) y control (CSA)

*Las letras minúsculas en el mismo día indican diferencia significativa entre los tratamientos con un p -valor <0.05 .

* Las letras mayúsculas en las diferentes horas, indican diferencia significativa en el periodo de almacenamiento con un p -valor <0.05 .

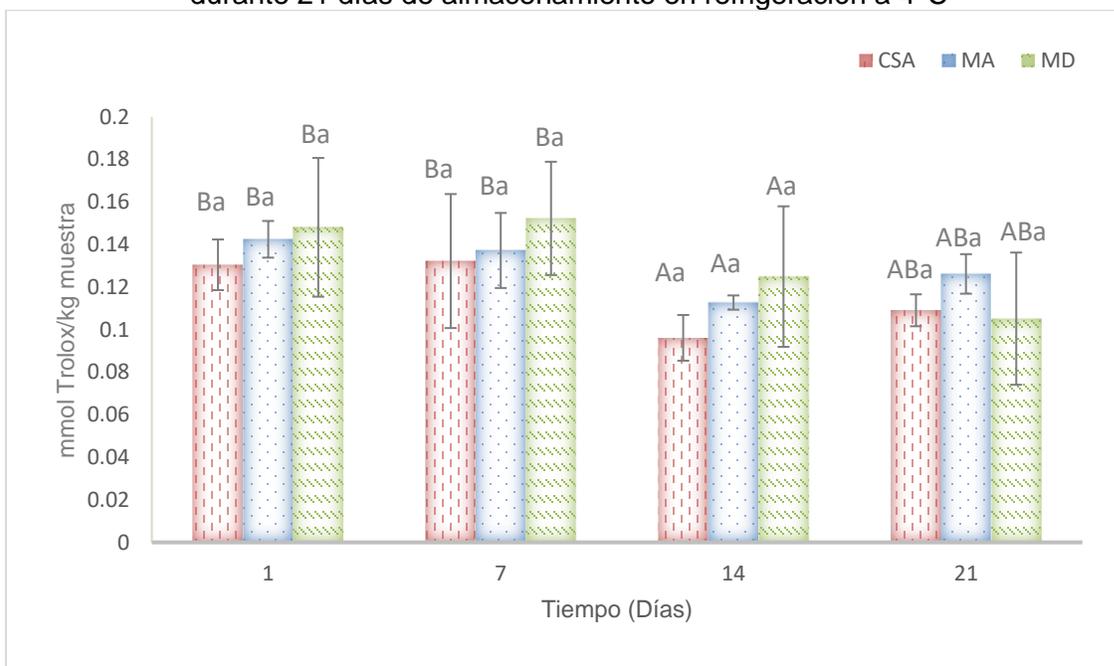
Al realizar el análisis de capacidad antioxidante por el ensayo de reducción de hierro (FRAP), se observa que no hay diferencia significativa entre los tratamientos. No obstante, durante el almacenamiento de los tratamientos MA y MD se mantiene una capacidad antioxidante superior a la del control.

Los resultados obtenidos tanto para TEAC como para FRAP, evidencian que sin importar el momento de adición de miel, la capacidad antioxidante tiende a aumentar respecto al control, esto coincide con lo reportado por (Perna, Intaglietta, Simonetti, & Gambacorta,

2014) puesto que en este estudio se menciona que la adición de miel de castaño aumenta la actividad antioxidante, lo que podría explicarse por el alto contenido de ácidos fenólicos y flavonoides dentro de su composición; sin embargo la adición de miel en yogur también podría generar complejos proteínas-polifenoles que influirían en la actividad antioxidante del producto.

La actividad antioxidante medida por ambos métodos, también demuestra que el yogur control presenta una actividad antioxidante, que puede ser debido a los péptidos de bajo peso molecular, resultantes de la proteólisis de las proteínas lácteas, realizada por las bacterias ácido-lácticas (Perna et al., 2014; Perna, Simonetti, & Gambacorta, 2019), adicionalmente, (Şanlıdere Aloğlu & Öner, 2011), indican que la producción de estos péptidos también se encuentra estrechamente relacionada con características específicas de la cepa que realice la hidrólisis.

Figura 2-10. Actividad antioxidante por el ensayo de reducción de hierro (Fe^{+3}) FRAP, durante 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C



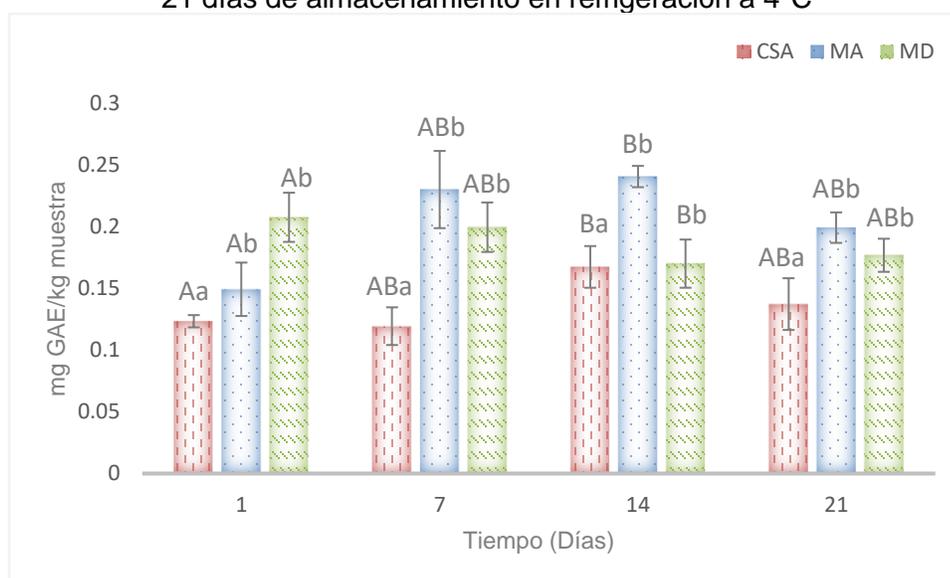
- * Los tratamientos evaluados son MA (10% miel antes), MD (10% miel después) y control (CSA)
- *Las letras minúsculas en el mismo día indican diferencia significativa entre los tratamientos con un p-valor <0.05.
- * Las letras mayúsculas en las diferentes horas, indican diferencia significativa en el periodo de almacenamiento con un p-valor <0.05.

Contenido de fenoles totales

Al realizar el análisis de contenido de fenoles totales, se observa que el control CSA tiene una diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto a los tratamientos, debido a su bajo contenido de fenoles totales, como se puede apreciar en la Figura 2-11. Este valor es acorde con el trabajo realizado por Merkan y Akin, donde se reportan contenidos de fenoles totales entre 8.8 y 31.55 mg GAE/100 g de muestra, además a lo largo del almacenamiento se aunque se observa una disminución de los compuestos fenólicos, los tratamientos con inclusión de miel muestran un contenido significativamente mayor (Merkan & Akin, 2017).

Adicionalmente, se puede observar que el yogur con miel antes (MA), tiende a mantener un contenido de fenoles totales superior al de los otros tratamientos. Lo cual podría ser, debido al aumento en el contenido de polifenoles durante el almacenamiento, causado por la acción proteolítica de las bacterias ácido lácticas en los complejos proteína-polifenol formados en el producto (Perna et al., 2019).

Figura 2-11. Contenido de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu, para durante 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C



* Los tratamientos evaluados son MA (10% miel antes), MD (10% miel después) y control (CSA)

*Las letras minúsculas en el mismo día indican diferencia significativa entre los tratamientos con un p-valor < 0.05 .

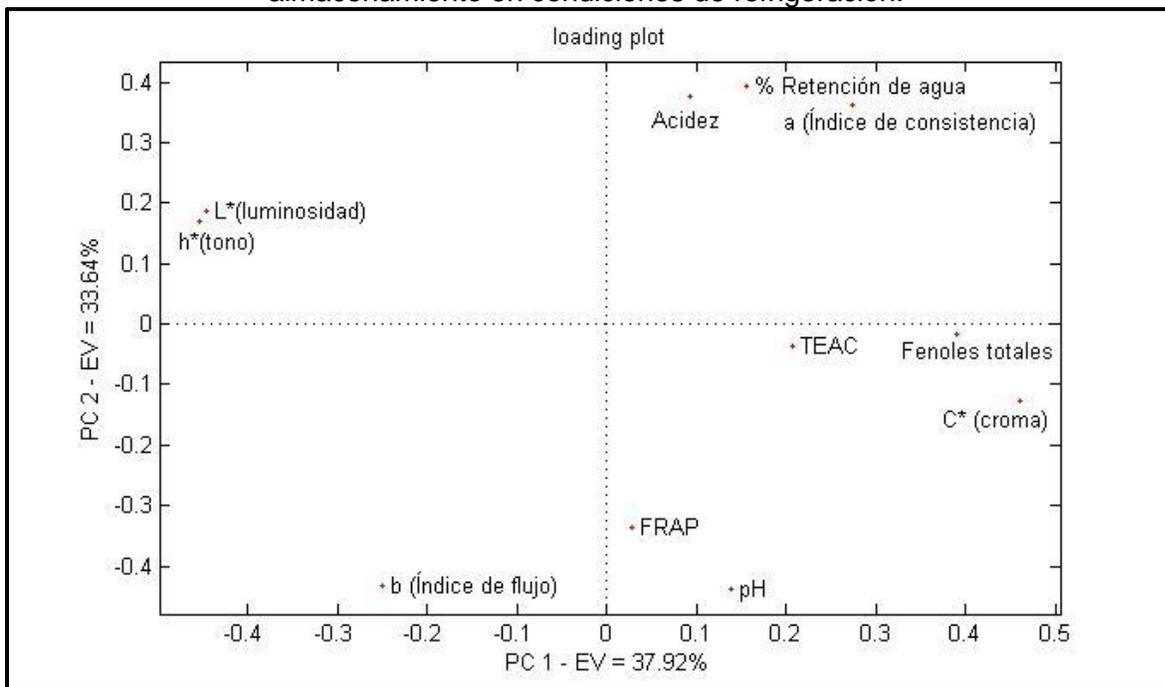
* Las letras mayúsculas en las diferentes horas, indican diferencia significativa en el periodo de almacenamiento con un p-valor < 0.05 .

Análisis de componentes principales

Como se puede observar en la Figura 2-12, el índice de consistencia, el porcentaje de acidez y la capacidad de retención de agua están relacionados el eje positivo del

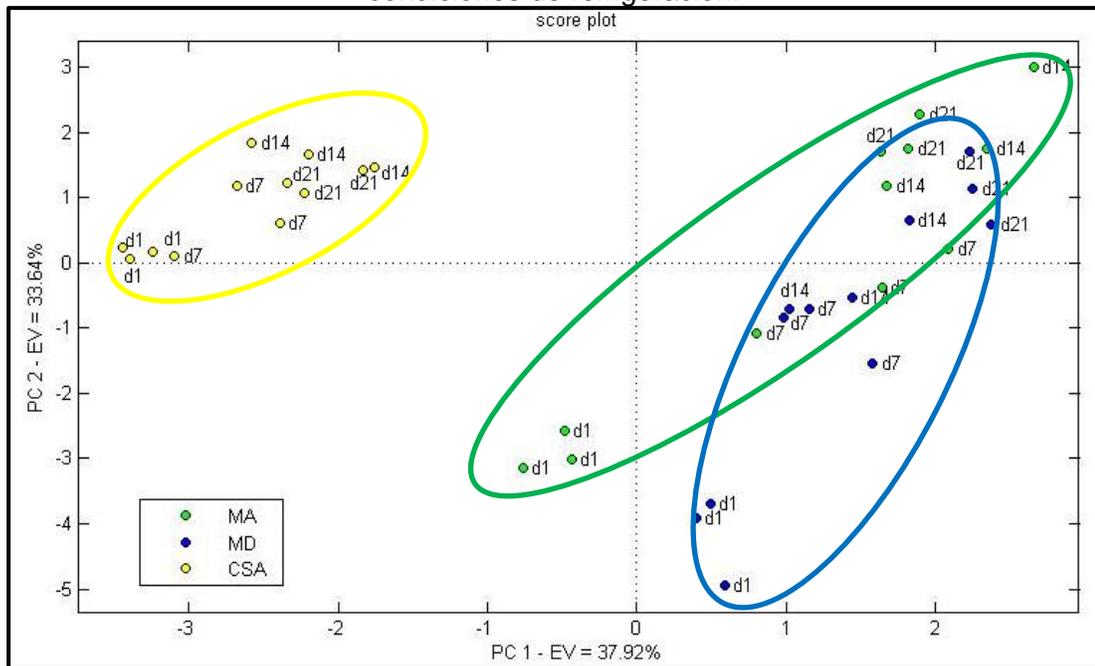
componente principal 1, y estos podrían tener relación con la actividad antioxidante y el croma, es decir que durante el almacenamiento los yogures con un porcentaje de acidez mayor podrían aumentar el porcentaje de retención de agua e incrementar el índice de consistencia, esto indicaría que posiblemente se puede evidenciar un aumento en la viscosidad del producto, adicionalmente se puede observar que el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante podría tener relación con la saturación del producto y a su vez con el pH, ya que en el tiempo este valor tiende a aumentar.

Figura 2-12. PCA Loading plot, relación entre variables medidas durante 21 días de almacenamiento en condiciones de refrigeración.



*Los tratamientos evaluados fueron MA (10% miel antes), MD (10% miel después) y control CSA

Figura 2-13. PCA score plot de los tratamientos durante 21 días almacenamiento en condiciones de refrigeración.



*Los tratamientos evaluados fueron MA (10% miel antes), MD (10% miel después) y control CSA

Así mismo en la Figura 2-13, se observa la agrupación de los tratamientos MA y MD y la diferencia de estos respecto al control, lo que muestra que durante el almacenamiento el momento de inclusión de miel no tiene efecto significativo.

Al comparar la Figura 2-12 y la Figura 2-13, se puede observar que los tratamientos con miel influyen en parámetros como la acidez, el porcentaje de retención de agua, color, contenido de fenoles totales y actividad antioxidante, mientras que el control CSA, está influenciado principalmente por los parámetros de color L^* y tono.

La agrupación de los tratamientos con inclusión de miel, que se percibe en la Figura 2-13, es debido a que la miel no solo influye en el color al intensificar la saturación, sino también a la capacidad de retención de agua que presenta gracias al porcentaje de fructosa dentro de la composición propia de la miel empleada; por otra parte, el proceso metabólico de los microorganismos utilizados para la elaboración del yogur, influye durante el almacenamiento, al aumentar la acidez y a su vez influir sobre la viscosidad y la estabilidad del gel. Además, se puede observar el aumento de la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales en los tratamientos con inclusión de miel respecto al control.

2.3 Conclusiones

La miel de abejas de *Acacia mangium*, al ser incluida en yogur en diferentes porcentajes, favorece la aceptación sensorial del producto, ya que aporta características de color y sabor al producto que permiten asociarlo al ingrediente adicionado.

Se evidenciaron diferencias en los perfiles de aroma y sabor de los yogures con inclusión de miel antes y después de la fermentación por parte de los panelistas entrenados, sin embargo, al realizar la evaluación de aceptación sensorial por parte de consumidores no hubo diferencias significativas entre los tratamientos.

Incluir 10% de miel de abejas dentro del yogur, demostró efectos positivos en las propiedades fisicoquímicas, al presentar una capacidad de retención de agua, mantener los niveles de acidez y generar cambios de color perceptibles al ojo humano respecto al tratamiento control.

Se observa que la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales fueron superiores en los tratamientos con miel, indicando que la miel podría ejercer un efecto positivo sobre estas características en el yogur.

2.4 Referencias

- Abu-Jdayil, B., Shaker, R. R., & Jumah, R. Y. (2000). Rheological behavior of concentrated yogurt (Labneh). *International Journal of Food Properties*, 3(2), 207–216. <https://doi.org/10.1080/10942910009524628>
- Albuquerque, L., Alves, É., Ribeiro, A., Rocha Júnior, V., Antunes, A., dos Reis, A., ... Espinosa Martinez, R. (2018). Viability of probiotic bacteria in bioyogurt with the addition of honey from Jataí and Africanized bees. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 53(2), 206–211. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000200009>
- Aliyu, M., Odunola, O., Farooq, A., Msaik, A., Choudhary, M., Erukainure, O., ... Jabeen, A. (2012). Fractionation of acacia honey affects its antioxidant potential in vitro. *Journal of Acute Disease*, 2(4), 115–119. [https://doi.org/10.1016/S2221-6189\(13\)60070-0](https://doi.org/10.1016/S2221-6189(13)60070-0)
- Alvarez-Suarez, J. M. (2017). *Bee products - chemical and biological properties*. *Bee Products - Chemical and Biological Properties*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1>
- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. (G. Latimer, Ed.) (19th ed.). Gaithersburg, Maryland: AOAC International.
- Aryana, K., & Olson, D. (2017). A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9987–10013.

- <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12981>
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2011). Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt - A review. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.008>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. (E. Quintanar Duarte, Ed.), *Química de los alimentos* (Cuarta). Naucalpan de Juárez: Pearson Educación. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Bakr, I. A., Mohamed, T. H., Tammam, A. A., & El-Gazzar, F. E. (2015). Characteristics of bioyoghurt fortified with fennel honey. *Internarional journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(3), 959–970.
- Batt, C., & Lou Tortorello, M. (2014). *Encyclopedia of food microbiology*. (C. Bart, Ed.), *Encyclopedia of Food microbiology* (Second). Oxford: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.01001-6>
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th ed.). Heidelberg: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-40-69934-7>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bernal Castro, C. A. (2017). *Evaluación del comportamiento de cultivos probióticos y prebióticos en bebidas de frutos rojos*. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/61087/1/101841360.2017.pdf>
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), 677–689. <https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>
- Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., & Mahenthiralingam, E. (2013). The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: A tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS Microbiology Letters*, 349(2), 77–87. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12293>
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467–483. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031>
- Casarotti, S. N., Borgonovi, T. F., Batista, C. L. F. M., & Penna, A. L. B. (2018). Guava, orange and passion fruit by-products: Characterization and its impacts on kinetics of acidification and properties of probiotic fermented products. *LWT - Food Science and Technology*, 98, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.010>
- Castro Mercado, L. (2018). *Evaluación de la composición, calidad y generación de vaor de miel de abejas originaria de zonas forestales en la altillanura del departamento de Vichada*. Universidad Nacional de Colombia.
- Chandan, R., White, C., Kilara, A., & Hui, Y. (2006). *Manufacturing yogurt and fermented milks* (First). Oxford: Blackwell publishing professional.

- Chepulis, L. (2016). Honey Food or Medicine The How, Where and Why of Bioactivity Testing. *Bee World*, 92(4), 97–131.
- Corporación Autónoma Regional de la Orinoquia. (2012). *Informe ejecutivo de la gestión ambiental del Vichada*.
- da Silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Das, K., Choudhary, R., & Thompson-witrick, K. A. (2019). Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 108(February), 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.058>
- de Oliveira, M. N. (2014). Fermented Milks: Fermented Milks and Yogurt. En *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (Second Edi, Vol. 2, pp. 908–922). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00121-X>
- Doğan, M. (2011). Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6(3), 327–332. <https://doi.org/10.1007/s00003-010-0643-6>
- Edwards, C. H., Rossi, M., Corpe, C. P., Butterworth, P. J., & Ellis, P. R. (2016). The role of sugars and sweeteners in food , diet and health : Alternatives for the future. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.008>
- El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D., & Shehata, M. G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2015.10.015>
- Erasso Arango, Natalia - Montoya Restrepo, L. A. (2010). Análisis de percepción de marca Producto Miel de Abejas en el mercado de Bogotá.
- FAO. (2011). *Leche y Productos Lácteos Leche y Productos Lácteos. CODEX Alimentarius*. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500010>
- FAO, & OMS. (1981). Codex Norma para la Miel.
- FAO, & OMS. (2011). *Codex Alimentarius. Leche y Productos Lácteos. Leche y Productos Lácteos* (Segunda ed). Roma. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500010>
- Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Rios-Solis, L., & Halim, M. (2018). Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods*, 48(July), 387–399. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2018.07.039>
- Frisvad, J. C., Huys, G., Bourdichon, F., Harnett, J., Powell, I. B., Hammes, W. P., ... Van Boven, A. (2011). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.030>
- Gaifullina, L., Saltykova, E., & Nikolenko, A. (2016). Prebiotic and Probiotic Properties of Honey. En R. Ramirez (Ed.), *Honey: Geographical Origins, Bioactive Properties & Health Benefits* (pp. 53–80). New York: Nova Science Publishers, Inc.

- Gebara, C., Ribeiro, M. C. E., Chaves, K. S., Gandara, A. L. N., & Gigante, M. L. (2015). Effectiveness of different methodologies for the selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* La5 from yoghurt and Prato cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 508–513. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.061>
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., ... Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 14(8), 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Gomes Machado, T. A. D., Gomes de Oliveira, M. E. G., Ferreira Campos, M. I., Antonio de Assis, P. O., Leite de Souza, E., Madruga, M. S., ... Ramos do Egypto Queiroga, R. de C. (2017). Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.013>
- Greenbaum, A., & Aryana, K. J. (2013). Effect of Honey a Natural Sweetener with Several Medicinal Properties on the Attributes of a Frozen Dessert Containing the Probiotic <i>Lactobacillus acidophilus</i>. *Open Journal of Medical Microbiology*, 03(02), 95–99. <https://doi.org/10.4236/ojmm.2013.32015>
- Hernandez, E. (2005). Evaluación Sensorial. *Universidad Nacional Abierta y a Distancia*, 1(Bogota), 1–85.
- Heydari, S., Amiri-rigi, A., & Reza, M. (2018). Rheological behaviour , sensory properties and syneresis of probiotic yoghurt supplemented with various prebiotics, 71(March), 175–184. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12491>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., ... Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- ICA. (2015). El ICA organizó primer comité fitosanitario forestal de la Orinoquia en Puerto Carreño. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/Noticias/Agricola/2015/El-ICA-organizo-primer-comite-fitosanitario-forest.aspx>
- ICBF. (2018). Tabla de composición de alimentos. Bogotá D.C.: Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.
- ICONTEC. (1997). NTC 4206. Análisis sensorial. Metodología. Estimación de la magnitud. Bogotá D.C.
- ICONTEC. (2002). NTC 5034. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de bacterias mesófilas de ácido láctico. Técnica de recuento de colonias a 30°C. Bogotá D.C.
- ICONTEC. (2006). NTC 805. Productos lácteos. leches fermentadas. Bogotá D.C.
- ICONTEC. (2012). NTC 3915. Análisis sensorial. Metodología. Método para investigar la sensibilidad del gusto.
- ISO. (2010). ISO 27205. Fermented milk products-Bacterial starter cultures- Standard of

identity. Bratislava: ISO.

- Jay, J., Loessner, M., & Golden, D. (2009). *Microbiología Moderna de los Alimentos* (Quinta). Zaragoza: Acribia S.A.
- Kajiwara, S., Gandhi, H., & Ustunol, Z. (2002). Effect of Honey on the Growth of and Acid Production by Human Intestinal Bacterium spp.: An In Vitro Comparison with Commercial Oligosaccharides and Inulin. *Journal of Food Protection*, 65(1), 214–218.
- Karbasi, M., Yarmand, M. S., & Mousavi, M. (2015). Fermentation Potential of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus acidophilus* in Date Syrup to Develop a Functional Fermented Beverage: A Comparative Study. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 863–870. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12297>
- Kennas, A., Amellal-chibane, H., Kessal, F., & Halladj, F. (2018). Effect of pomegranate peel and honey fortification on physicochemical, physical, microbiological and antioxidant properties of yoghurt powder. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.07.001>
- Kumar Puniya, A. (2016). *Fermented milk and dairy products*. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.03.003>
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Von Wright, A. (2012). *Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects*. (Taylor & Francis Group, Ed.) (Fourth). Boca Raton, Florida.
- Leclercq, H., Saint-Eve, A., Berthelo, S., Oettgen, W., & Delarue, J. (2015). How much sugar do consumers add to plain yogurts? Insights from behavioral and declarative study with French consumers. *11th Pangborn Sensory Science Symposium*, 99.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Machado De-Melo, A. A., Almeida-Muradian, L. B. de, Sancho, M. T., & Pascual-Maté, A. (2017). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 8839(August), 1–33. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338444>
- Mahecha Latorre, G. (1985). *Evaluación sensorial en el control de calidad de alimentos procesados*. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia.
- Mandigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock biology of microorganisms*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Martins, N., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Development of functional dairy foods. En J. Mérillon & K. Ramawat (Eds.), *Bioactive molecules in food* (pp. 1377–1395). Springer International Publisher. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_35
- Mei, J., Feng, F., & Li, Y. (2017). Effectiveness of different homogeneous methods on physicochemical, textural and sensory characteristics of soybean (*Glycine max* L.) yogurt. *CyTA - Journal of Food*, 15(1), 21–26. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1197315>
- Meo, S. A., Al-Asiri, S. A., Mahesar, A. L., & Ansari, M. J. (2017). Role of honey in modern

- medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975–978. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>
- Mercan, E., & Akin, Ni. (2017). Effect of different levels of pine honey addition on physicochemical, microbiological and sensory properties of set-type yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 70(2), 245–252. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12332>
- Ministerio de Salud. Resolución Número 2310, Pub. L. No. 2310 (1986). República de Colombia.
- Modric, J. (2016). Sweeteners: Relative Sweetness, Calories, Glycemic Index - Nutrients Review. Recuperado el 3 de octubre de 2019, de <http://www.nutrientsreview.com/articles/sweeteners.html>
- Mohan, A., Quek, S.-Y., Gutierrez-Maddox, N., Gao, Y., & Shu, Q. (2017). Effect of honey in improving the gut microbial balance. *Food Quality and Safety*, 1(May 2017), 107–115. <https://doi.org/10.1093/fqs/fyx015>
- Mora Adames, W. I. (2017). *Aplicación de fermentación láctica en el desarrollo de productos para la generación de valor en polen apícola*. Universidad Nacional de Colombia.
- Mortazavian, A. M., Ehsan, M. R., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. A. (2007). MRS-bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 62(3), 270–272.
- Musa Özcan, M., & Al Juhaimi, F. (2015). Honey as source of natural antioxidants. *Journal of Apicultural Research*, 54(3), 145–154. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1144976>
- National Honey Board. (2017). Honey: A Reference Guide to Nature's Sweetener. Recuperado el 13 de julio de 2018, de <https://www.nal.usda.gov/fnic/nutritive-and-nonnutritive-sweetener-resources>
- Ng, E. W., Yeung, M., & Tong, P. S. (2011). Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006>
- Nielsen. (2016). *Infografía: ingredientes y tendencias de comida fuera de casa en LATAM*. Recuperado de <http://www.nielsen.com/co/es/insights/news/2016/Ingredientes-y-tendencias-de-comida-fuera-de-casa-en-Latam.html>
- Nurul Zaizuliana, R., Anis Mastura, A., Abd Jamil, Z., Norshazila, S., & Zarinah, Z. (2017). Effect of Storage Conditions on the Crystallisation behaviour of Selected Malaysian honeys. *International Food Research Journal*, 24, 475–480.
- OMS. (2015). *Guideline: "Sugars intake for adults and children"*. World health Organization. https://doi.org/978_92_4_154902_8
- Ozturkoglu-Budak, S., Akal, H. C., Buran, İ., & Yetişemiyen, A. (2019). Effect of inulin polymerization degree on various properties of synbiotic fermented milk including *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 6901–6913. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16479>

- Parra Huertas, R. A. (2012). *Importancia terapéutica y estabilizantes-edulcorantes en la tecnología del yogur* (Primera). Tunja: UPTC.
- Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2014). Antioxidant activity of yogurt made from milk characterized by different casein haplotypes and fortified with chestnut and sulla honeys. *Journal of Dairy Science*, *97*(11), 6662–6670. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7843>
- Perna, A., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2019). Phenolic content and antioxidant activity of donkey milk kefir fortified with sulla honey and rosemary essential oil during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, *72*(1), 74–81. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12561>
- Piana, M. L., Persano Oddo, L., Bentabol, A., Bruneau, E., Bogdanov, S., & Guyot Declerck, C. (2004). Sensory analysis applied to honey: state of the art. *Apidologie*, *35*(1), 26–37. <https://doi.org/10.1051/apido>
- Pinheiro, M., & Oliveira, M. (2005). The effect of different sweeteners in low- calorie yogurts — a review. *International Journal of Dairy Technology*, *58*(4), 193–199. Recuperado de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0307.2005.00228.x/full>
- Popa, D., & Ustunol, Z. (2011). Influence of sucrose, high fructose corn syrup and honey from different floral sources on growth and acid production by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *International Journal of Dairy Technology*, *64*(2), 247–253. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00666.x>
- Radke-Mitchell, L. C., & Sandine, W. E. (1986). Influence of Temperature on Associative Growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Dairy Science*, *69*(10), 2558–2568. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80701-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80701-9)
- Ray, B., & Bhunia, A. (2008). *Fundamental Food Microbiology* (Fourth). Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, a., Pannala, a., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reis, R. C., Minim, V. P. R., Bolini, H. M. A., Dias, B. R. P., Minim, L. A., & Ceresino, E. B. (2011). Sweetness equivalence of different sweeteners in strawberry-flavored yogurt. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2011.00378.x>
- Rezaei, R., Khomeiri, M., & Aalami, M. (2014). Effect of inulin on the physicochemical properties , flow behavior and probiotic survival of frozen yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, *51*(10), 2809–2814. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0751-7>
- Riazi, A, & Ziar, H. (2012). Effect of honey and starter culture on growth, acidification, sensory properties and bifidobacteria cell counts in fermented skimmed milk. *African Journal of Microbiology Research*, *6*(3), 486–498. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.819>
- Riazi, Ali, & Ziar, H. (2008). Growth and viability of yogurt starter organisms in honey-sweetened skimmed milk. *Journal of Biotechnology*, *7*(12), 2055–2063.

- Rosas, E. (2014). Elaboración de un producto lácteo fermentado a base de *Morinda citrifolia* L., 65.
- Ruales Guzman, B. V. (2012). *Seguimiento de la producción del aroma del yogurt durante la fermentación ácido láctica mediante nariz electrónica y evaluación sensorial*. Universidad Nacional de Colombia.
- Şanlıdere Aلوğlu, H., & Öner, Z. (2011). Determination of antioxidant activity of bioactive peptide fractions obtained from yogurt. *Journal of Dairy Science*, *94*(11), 5305–5314. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4285>
- Sanz, M. L., Polemis, N., Morales, V., Corzo, N., Drakoularakou, A., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2005). In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(8), 2914–2921. <https://doi.org/10.1021/jf0500684>
- Sarao, L. K., & Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(2), 344–371. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055>
- Serna Cock, L., & Rodriguez de Stouvenel, A. (2005). Producción Biotecnológica de ácido láctico: Estado del arte. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, *5*(1), 54–65.
- Sert, D., Akin, N., & Dertli, E. (2011). Effects of sunflower honey on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics in set type yoghurt during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, *64*(1), 99–107. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00635.x>
- Shoab, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., ... Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, *147*, 444–454. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>
- Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. En *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152–178).
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, *51*(3), 456–467. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.05.060>
- Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P. P., & Mafra, I. (2017). A Comprehensive Review on the Main Honey Authentication Issues: Production and Origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *00*. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12278>
- Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., Dolatkhannejad, M. R., & Monfared, A. B. (2012). Suitability of MRS-bile agar for the selective enumeration of mixed probiotic bacteria in presence of mesophilic lactic acid cultures and yoghurt bacteria. *Iranian Journal of Biotechnology*, *10*(1), 16–21.
- Stellar University of Northshield. (2015). Sweetening Agents. Recuperado el 3 de octubre de 2019, de northshield.org
- Stijepić, M., Đurđević-Milošević, D., & Glušac, J. (2012). Production of Low Fat Yoghurt Enriched With Different Functional Ingredients. *Quality of Life (Banja Luka)* -

- APEIRON, 5(1–2), 5–12. <https://doi.org/10.7251/QOL1201005S>
- Tacha Mahecha, F. A., & Moreno Rodriguez, J. A. (2016). *Plan de manejo y aprovechamiento forestal de Acacia mangium willd en la finca El Delirio, Puerto Lleras Meta, periodo 2014-2030*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
- Tamime, A., & Robinson, R. (1991). *Yogur Ciencia y Tecnología*. Zaragoza: Acribia S.A.
- Ulrich Landry, B. K., Moumita, S., Jayabalan, R., & Ngoufack François, Z. (2016). Honey , probiotics and prebiotics : review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(5), 2428–2438. <https://doi.org/0975-8585>
- Uriot, O., Denis, S., Junjua, M., Roussel, Y., Dary-Mourot, A., & Blanquet-Diot, S. (2017). Streptococcus thermophilus: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? *Journal of Functional Foods*, 37, 74–89. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.038>
- USDA. (2001). USDA Specifications for Yogurt , Nonfat Yogurt and Lowfat Yogurt.
- USDA. (2019). FoodData Central search results: Yogurt, plain, whole milk. Recuperado el 20 de noviembre de 2019, de <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171284/nutrients>
- Vanegas-Azuero, A.-M., & Gutiérrez, L.-F. (2018). Physicochemical and sensory properties of yogurts containing sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and β -glucans from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Dairy Science*, 1020–1033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13235>
- Varga, L. (2006). Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, 108(2), 272–275. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.014>
- Venir, E., Spaziani, M., & Maltini, E. (2010). Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.012>
- Walstra, P. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos* (1a ed.). Zaragoza: Acribia S.A.
- Williams, E. B., Hooper, B., Spiro, A., & Stanner, S. (2015). The contribution of yogurt to nutrient intakes across the life course. *Nutrition Bulletin*, 40(1), 9–32. <https://doi.org/10.1111/nbu.12130>
- Yildez, F. (2010). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group.
- Zapata, I. C., Sepúlveda-Valencia, U., & Rojano, B. A. (2015). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas, probióticas y antioxidantes de yogurt saborizado con mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw). *Información Tecnológica*, 26(2), 17–28. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000200004>

3. Evaluación del crecimiento y la viabilidad de cultivos iniciadores y probiótico en un yogur con miel y su potencial prebiótico

El yogur, ha sido conocido por sobresalir como un producto funcional, ya que se emplea como vehículo de probióticos y prebióticos en los productos lácteos (Albuquerque et al., 2018). Esto ha aumentado la búsqueda de estudios y estrategias que permitan mantener la viabilidad de microorganismos probióticos al final de la vida útil de los productos (Ng, Yeung, & Tong, 2011) La miel de abejas, no solo ha sido empleada en productos lácteos por su capacidad edulcorante, sino también por haber demostrado tener un posible potencial prebiótico al estimular el crecimiento de microorganismos probióticos (Ulrich Landry et al., 2016).

En este capítulo se estudió el efecto del momento de inclusión del 10% de miel de *Acacia mangium* sobre el proceso de fermentación y la viabilidad durante 21 días de almacenamiento en refrigeración (4°C) del cultivo iniciador y probiótico. Además, se evaluó el posible efecto prebiótico de la miel de abejas de *Acacia mangium* sobre el probiótico *Lactobacillus acidophilus*, realizando la comparación con tratamientos con 1 y 2% de inulina, para las cinéticas de crecimiento y viabilidad durante el almacenamiento por 21 días en refrigeración (4°C).

3.1 Materiales y métodos

3.1.1 Cinética de crecimiento del cultivo iniciador y cultivo probiótico en el yogur con inclusión de miel de abejas durante fermentación

- **Elaboración del yogur**

El yogur se elaboró de acuerdo con la metodología descrita en el numeral 2.1.1. Los inóculos del cultivo probiótico (*Lactobacillus acidophilus*) y cultivo iniciador (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) contenían 9.41 ± 0.08 y 7.32 ± 0.26 UFC/ml respectivamente. Los tratamientos para el estudio de las cinéticas de crecimiento fueron un yogur control con 7.5% de sacarosa incluida antes de la fermentación (CSA), yogur sin edulcorar (YSI) y con 10% de miel de *Acacia mangium* adicionada antes de la fermentación (MA).

▪ **Preparación del medio de cultivo**

○ **Agar MRS+Bilis (1.5g/L)**

Este medio selectivo para *Lactobacillus acidophilus*, fue elaborado con sales biliares marca Sigma-Alorich y agar MRS (de Man, Rogosa y Sharpe) marca Pronadisa, siguiendo el procedimiento mencionado por Gebara y colaboradores en 2015. El agar MRS se preparó y se llevó a autoclave de acuerdo con las especificaciones del proveedor. Simultáneamente se realizó la solución de bilis pesando 10 g y disolviéndolos en 100 ml de agua destilada para posteriormente autoclavar. Para el agar, se emplearon 1.5 ml de solución de bilis y se adicionaron 100 ml de agar MRS (Gebara, Ribeiro, Chaves, Gandara, & Gigante, 2015).

○ **Agar MRS pH 5.4**

Este medio es selectivo para microorganismos iniciadores (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) (Ali Riazi & Ziar, 2008). Se utilizó agar MRS marca Pronadisa® y se siguieron las especificaciones del proveedor, este medio se acidificó desde pH 6.6 hasta 5.4 utilizando HCL 0.1N y posteriormente fue autoclavado a 121°C por 20 minutos.

▪ **Recuento de microorganismos por diluciones seriadas (recuento en placa por profundidad)**

Para el recuento de los microorganismos, se tuvo en cuenta la metodología de la norma ISO 27205:2010 y NTC 5035 con algunas modificaciones. La solución salina se preparó con Cloruro de sodio de la marca MERCK de acuerdo con las indicaciones del proveedor. Para las diluciones, se tomaron alícuotas de 1 ml y se adicionaron 9 ml de solución salina, evaluando las primeras siete diluciones (para el recuento de las cinéticas de crecimiento) y las primeras ocho (durante la viabilidad en almacenamiento en condiciones de refrigeración). La siembra se llevó a cabo en cajas de Petri por duplicado adicionando 15 ml de Agar e inoculando a 37°C por 48 horas en condiciones de anaerobiosis, utilizando

sobres generadores de anaerobiosis AnaeroGen™ Thermo Scientific de la marca Oxoid (ICONTEC, 2002; ISO, 2010)

- **Determinación de acidez titulable y pH**

Para la determinación de estas propiedades del yogur, se llevó a cabo la metodología descrita en el numeral 2.1.3.

- **Análisis estadístico**

Los recuentos microbiológicos fueron realizados por duplicado y los datos de acidez titulable y pH por triplicado. Los datos fueron analizados utilizando análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, para las diferencias significativas se emplearon pruebas de Tukey con un p-valor inferior a 5%.

3.1.2 Determinación de la viabilidad de bacterias ácido-lácticas (cultivos iniciadores y probiótico) durante almacenamiento en refrigeración (4°C)

- **Elaboración del yogur**

El yogur se elaboró según la metodología del numeral 2.1.1. Los inóculos de los cultivos probiótico (*L. acidophilus*) e iniciador (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*) contenían 10.55 ± 0.84 y 6.55 ± 0.02 UFC/ml respectivamente. Los tratamientos para este ensayo eran un yogur con 10% de miel antes de la fermentación (MA), 10% de miel después de la fermentación (MD) y un yogur control endulzado con 7.5% de sacarosa antes de la fermentación (CSA).

- **Recuento de microorganismos por diluciones seriadas (recuento en placa por profundidad)**

Para el recuento de microorganismos, se llevó a cabo según la metodología mencionada en el numeral 3.1.1.

- **Determinación de acidez titulable y pH**

Para la determinación de estas propiedades del yogur, se realizó según la metodología descrita en el numeral 2.1.3.

- **Análisis estadístico**

Los recuentos microbiológicos fueron realizados por duplicado y los datos de acidez titulable y pH por triplicado. Los datos fueron analizados utilizando análisis de varianza

(ANOVA) de dos vías, para las diferencias significativas se emplearon pruebas de Tukey con un p-valor inferior a 5%.

3.1.3 Potencial efecto prebiótico de la miel sobre *Lactobacillus acidophilus*

▪ Elaboración del yogur

Se empleó Inulina Orafiti® HSI de la marca Beneo, sacarosa y miel de abejas de acacia (*Acacia mangium*) y se siguió la metodología del numeral 2.1.1. Los inóculos de los cultivos probiótico (*L. acidophilus*) e iniciador (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*) contenían 7.99 ± 0.12 y 7.51 ± 0.07 log UFC/ml respectivamente para el ensayo de las cinéticas de crecimiento y de 9.63 ± 0.05 y 8.57 ± 0.29 log UFC/ml para la evaluación de la viabilidad durante el almacenamiento a 4°C. La inclusión de la inulina, la sacarosa y la miel en los tratamientos, se realizó antes de la fermentación láctica. Es importante aclarar que la inulina empleada presenta un nivel edulcorante de 30% respecto a la sacarosa, por lo tanto, en los tratamientos en los que se incluyó inulina, se realizó inclusión de un porcentaje de sacarosa, para mantener un nivel de dulzor similar al del control. Los tratamientos evaluados fueron T11 (1% inulina, 7.2% sacarosa), T12 (2.0% inulina, 6.9% sacarosa), YM10 (10% de miel incluida antes de la fermentación) y control CSA (7.5% de sacarosa).

▪ Recuento de microorganismos por diluciones seriadas (recuento en placa por profundidad)

Para el recuento, se llevó a cabo la metodología mencionada en el numeral 3.1.1.

▪ Determinación de acidez titulable y pH

Para la determinación de estas propiedades del yogur, se realizó según la metodología descrita en el numeral 2.1.3.

▪ Análisis estadístico

Los recuentos microbiológicos fueron realizados por duplicado y los datos de acidez titulable y pH por triplicado. Los datos fueron analizados utilizando análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, para las diferencias significativas se emplearon pruebas de Tukey con un p-valor inferior a 5%.

3.2 Resultados y análisis de resultados

3.2.1 Cinéticas de crecimiento del cultivo iniciador y probiótico en el yogur con miel durante fermentación

- **Identificación de colonias de *Lactobacillus acidophilus***

Las colonias de *L. acidophilus* en el medio MRS+bilis (Figura 3-1), se reconocen por ser de un solo tipo, redondeadas de color blanco cremoso con halos transparentes, similares a las descritas por Mortazavian en 2007 y Shrabvandi en 2012 (Mortazavian, Ehsan, Sohrabvandi, & Reinheimer, 2007; Sohrabvandi, Mortazavian, Dolatkahnejad, & Monfared, 2012).

Figura 3-1. Colonias de *Lactobacillus acidophilus* en medio MRS+bilis (1.5g/L)



- **Identificación de colonias del cultivo iniciador *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus***

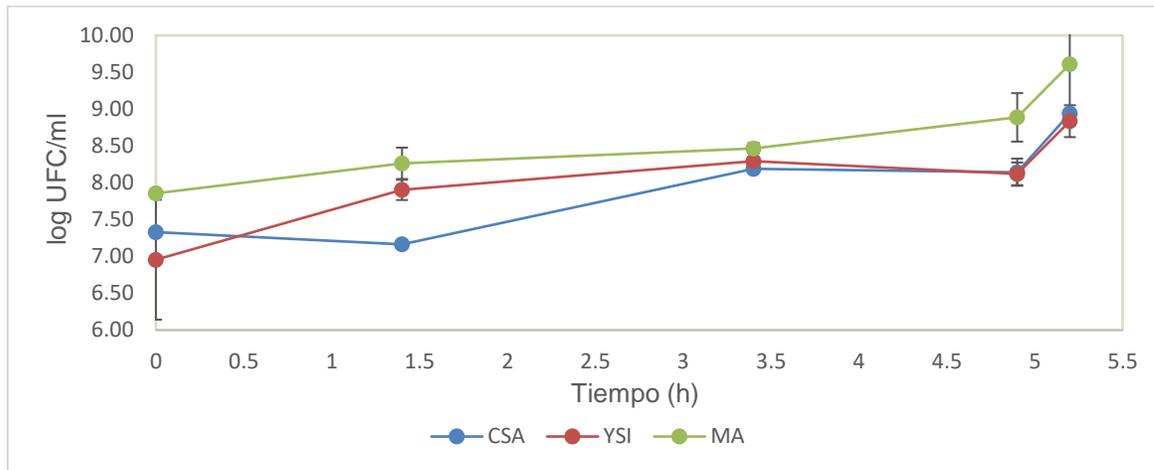
Se identificaron dos tipos de colonia (Figura 3-2), una de las colonias era de color blanco, pequeña y cremosa, la segunda era redonda, blanca y con un tamaño superior.

Figura 3-2. Colonias del cultivo iniciador *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*.



▪ **Cinética de crecimiento *Lactobacillus acidophilus***

En Figura 3-3, muestra la curva de las cinéticas de crecimiento de los tres tratamientos, durante la fermentación, a partir de la hora 1.4 se observa que no hay cambios significativos hasta la hora 5.2 en la que se muestra un aumento en la densidad celular, adicionalmente se evidencia que el tratamiento MA presenta una diferencia significativa (p -valor <0.05) respecto a YSI y CSA, ya que alcanza una densidad celular al final de la fermentación de 9.61 ± 0.74 log UFC/ml de *L. acidophilus* mientras los tratamientos CSA y YSI alcanzan una concentración promedio de 8.94 ± 0.02 y 8.84 ± 0.22 log UFC/ml respectivamente. Los resultados obtenidos de la cinética de crecimiento, sugieren que la miel podría tener un efecto estimulante en el microorganismo probiótico debido a los oligosacáridos que pueda tener esta dentro de su composición (Ulrich Landry et al., 2016).

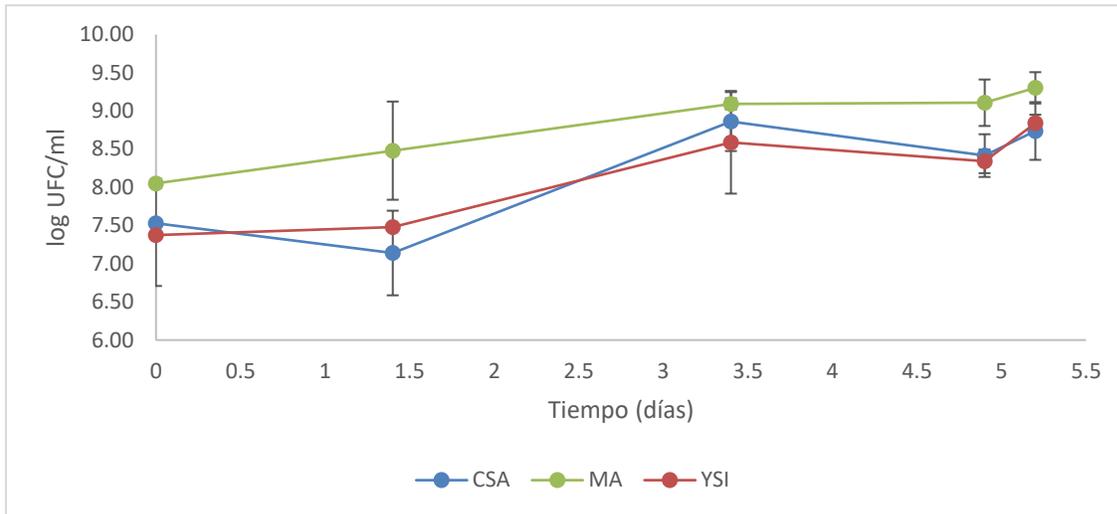
Figura 3-3. Cinética de crecimiento cultivo *Lactobacillus acidophilus*.

*Los tratamientos graficados fueron yogur con 10% de miel antes de la fermentación (MA), yogur sin edulcorar (YSI) y control con 7.5% de sacarosa incluida antes de la fermentación (CSA).

▪ Cinética de crecimiento *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*

En la Figura 3-4, se observa la cinética de crecimiento de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus* de cada uno de los tratamientos, al realizar el análisis estadístico se encontró que a partir de la hora 3.4 no hay diferencia significativa en la densidad celular indicando así el comienzo de la fase estacionaria; al realizar la comparación entre los tratamientos, MA presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto a CSA y YSI, ya que hay un aumento en la densidad celular alcanzada, presentando una concentración promedio de 9.30 ± 0.21 log UFC/ml, mientras CSA y YSI alcanzaron una densidad celular de 8.74 ± 0.38 y 8.84 ± 0.11 log UFC/ml respectivamente. Estos resultados demuestran que a pesar que la miel de *Acacia mangium* presenta actividad antimicrobiana, la inclusión de miel no inhibe el crecimiento de los microorganismos iniciadores del yogur al ser empleada en una concentración de 10%, puesto que la miel ayuda a la producción de ácido láctico por parte de las BAL de forma similar a edulcorantes como fructosa y sacarosa (Ali Riazi & Ziar, 2008), así mismo, los resultados obtenidos son acordes, con lo reportado por Sert y por Varga, en donde la miel no influye en el crecimiento de *S. thermophilus* ni *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Sert et al., 2011; Varga, 2006).

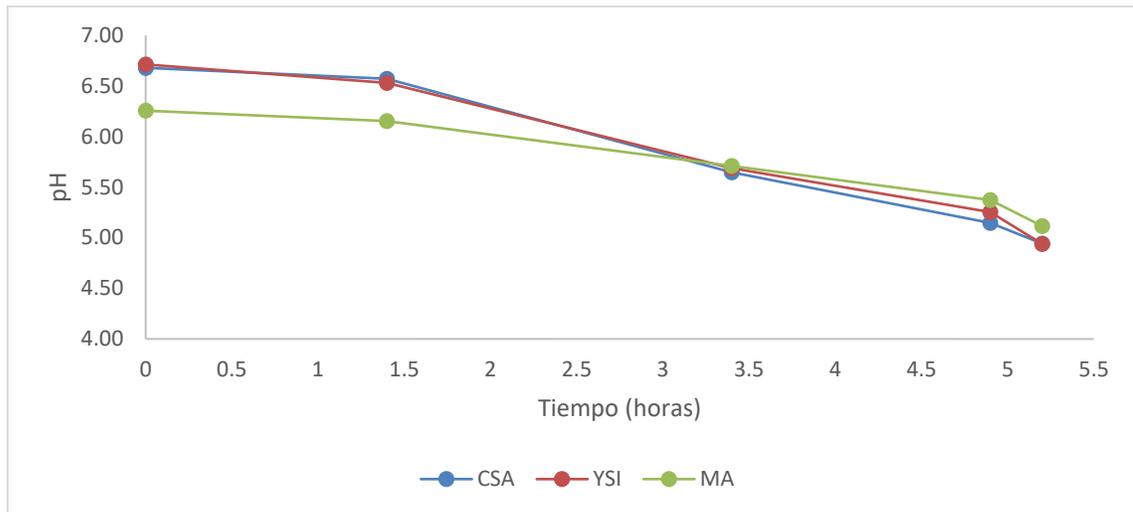
Figura 3-4. Cinética de crecimiento *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*



*Los tratamientos graficados fueron yogur con 10% de miel antes de la fermentación (MA), yogur sin edulcorar (YSI) y control con 7.5% de sacarosa incluida antes de la fermentación (CSA).

pH y acidez titulable durante el proceso de fermentación

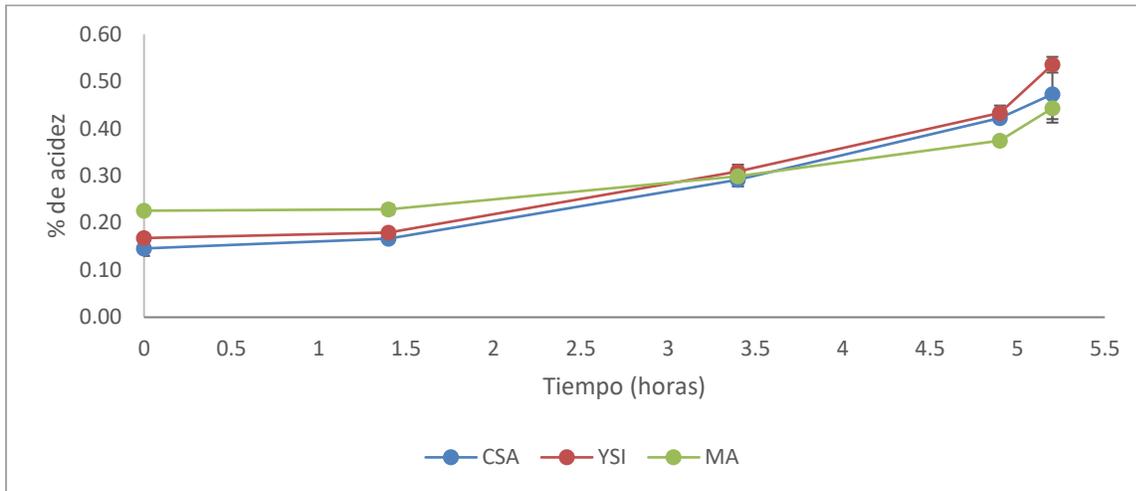
En la Figura 3-5, se puede observar un descenso en el pH a lo largo de la fermentación, como resultado de la acidificación de la leche. Para los tratamientos y el control, estadísticamente hay diferencia significativa (p -valor <0.05). Para el tratamiento CSA, se observa una caída de 1.74 unidades, llegando al final de la fermentación a un pH de 4.94 ± 0.015 . En el caso del tratamiento MA, se observa una caída de 1.14 unidades, alcanzando un pH al final de la fermentación de 5.12 ± 0.012 . El control CSA, por su parte, muestra una caída de 1.77 unidades en el pH, alcanzando un pH al final de 4.94 ± 0.01 . Los resultados obtenidos, presenta caídas similares durante la fermentación a las mencionadas por Ali Riazi y Ziar, ya que en este trabajo las caídas de pH son entre 1.28 y 1.38 unidades (Ali Riazi & Ziar, 2008). También se observa que los valores de pH al final de la fermentación son superiores a los mencionados por Sert, en los cuales alcanzan valores de pH entre 4.6 y 4.7 durante tres horas y media de fermentación, a pesar de esto, los resultados obtenidos coinciden al presentar valores superiores de pH en los tratamientos con inclusión de miel (Sert et al., 2011).

Figura 3-5. Evaluación de pH durante la fermentación.

*Los tratamientos graficados fueron yogur con 10% de miel antes de la fermentación (MA), yogur sin edulcorar (YSI) y control con 7.5% de sacarosa incluida antes de la fermentación (CSA).

El porcentaje de acidez titulable evaluado durante el proceso de fermentación (Figura 3-6), muestra que durante las primeras dos horas no hay diferencia en el tiempo, siendo acorde con el crecimiento de los microorganismos iniciadores, sin embargo a partir de la hora 3.4, se puede observar una disminución significativa de en el porcentaje de acidez para todos los tratamientos, en los cuales al final del proceso de fermentación alcanzan valores de porcentaje de acidez expresada como ácido láctico de 0.54 ± 0.017 , 0.47 ± 0.06 y 0.44 ± 0.023 para los tratamientos YSI, CSA y MA respectivamente. Se puede observar que justo al finalizar la fermentación, el porcentaje de acidez es inferior a 0.6% estipulado por la NTC 805 y a 0.7% reglamentado por la Resolución 2310 de 1986 (ICONTEC, 2006; Ministerio de Salud, 1986)

Figura 3-6. Desarrollo de la acidez durante la fermentación



*Los tratamientos graficados fueron yogur con 10% de miel antes de la fermentación (MA), yogur sin edulcorar (YSI) y control con 7.5% de sacarosa incluida antes de la fermentación (CSA).

*El porcentaje de acidez se encuentra expresado como ácido láctico.

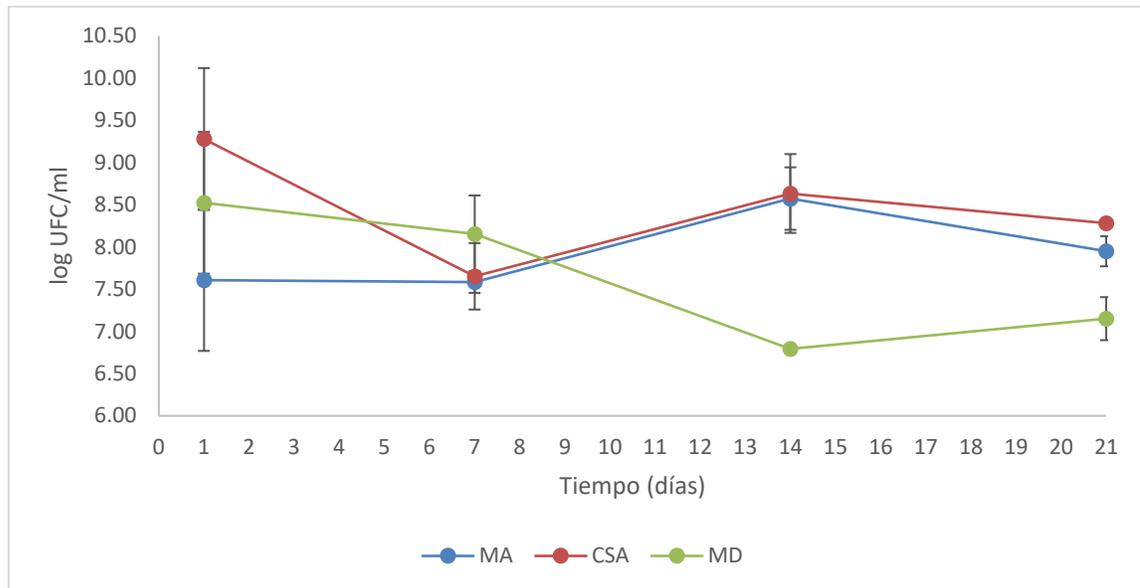
3.2.2 Determinación de la viabilidad de bacterias ácido-lácticas (cultivo iniciador y probiótico) durante almacenamiento en refrigeración a 4°C

▪ Viabilidad del cultivo probiótico *L. acidophilus*

Para identificar el efecto del momento de inclusión de la miel en la viabilidad del *L. acidophilus*, el estudio se realizó 24 horas después de detener la fermentación, es decir del primer día de almacenamiento. En la Figura 3-7, se observa el comportamiento de *L. acidophilus* a lo largo del almacenamiento por 21 días en refrigeración a 4°C. Se puede observar que entre los tratamientos hay diferencia significativa (p -valor <0.05), siendo los tratamientos con miel MA y MD diferentes al control, adicionalmente se puede observar que a partir del día 7 no se presentan diferencias significativas en la densidad celular de todos los tratamientos. Para el tratamiento con 10% de miel antes (MA), se observa un aumento de 0.34 unidades hasta el final del almacenamiento, debido a que el primer día de almacenamiento presenta 7.61 ± 0.13 log UFC/ml y al final 7.95 ± 0.18 log UFC/ml. Para el tratamiento con 10% de miel incluida después de la fermentación (MD), se observa una disminución de 1.37 unidades, puesto que el almacenamiento comienza en 8.52 ± 0.46 log UFC/ml y llega a una densidad celular de 7.15 ± 0.35 log UFC/ml. En el control se observa una disminución de 1 unidad en la densidad celular, en este caso el almacenamiento comienza con 9.28 ± 0.39 log UFC/ml y llega a 8.28 ± 0.13 log UFC/ml. En estos resultados, se observa que al final del almacenamiento para todos los tratamientos, la densidad celular

del probiótico es superior a 10^6 UFC estipulada tanto por el Codex Alimentarius como por la NTC 805 para microorganismos etiquetados (FAO, 2011; ICONTEC, 2006).

Figura 3-7. Viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días.



* Los tratamientos graficados fueron CSA (control con 7.5% de sacarosa antes de la fermentación, MA (10% de miel incluida antes de la fermentación) y MD (10% de miel incluida después de la fermentación).

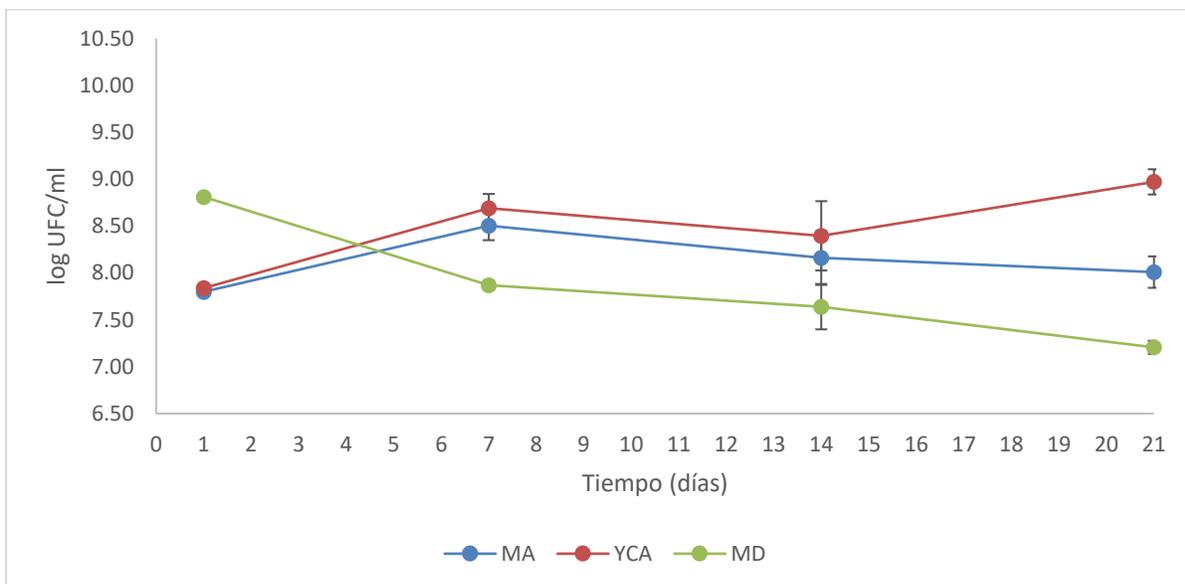
Estos resultados son acordes con los obtenidos por Albuquerque, ya que en su trabajo al utilizar 10% de miel de Jataí la disminución de 0,17 unidades y al utilizar 10% de miel de abejas africanizadas es de 0.26 unidades, para ambos casos la densidad celular al culminar 35 días de almacenamiento llega a 7.57 y 7.59 log UFC/ml respectivamente (Albuquerque et al., 2018).

▪ **Viabilidad del cultivo iniciador (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*)**

Para identificar la viabilidad del cultivo iniciador del yogur, el estudio se realizó 24 horas después de detener la fermentación, es decir a partir del primer día de almacenamiento del producto. En la Figura 3-8, se observa el comportamiento de los microorganismos iniciadores a lo largo de los 21 días de almacenamiento. En donde no se presentan diferencias significativas en el tiempo para todos los tratamientos, sin embargo, se puede observar que los tratamientos con inclusión de miel son diferentes significativamente (p -valor <0.05) al control. En el tratamiento con 10% de miel incluida antes de la fermentación (MA), en el día 1 se parte de una densidad celular de 7.80 ± 0.15 log UFC/ml, en el día 7

hubo un aumento a 8.50 ± 0.29 log UFC/ml y se puede observar que hasta el día 21 alcanza una densidad celular de 8.01 ± 0.05 log UFC/ml. Para el tratamiento con 10% de miel incluida después de la fermentación (MD), se puede observar una disminución en la densidad celular durante el almacenamiento, la cual comienza en el día 1 con una concentración de 8.81 ± 0.05 log UFC/ml y alcanza una concentración de 7.21 ± 0.51 log UFC/ml. Para el control se observa que hay un aumento en la concentración del iniciador, ya que para el primer día de almacenamiento se observa 7.84 ± 0.15 log UFC/ml y al final alcanza una densidad de 8.97 ± 0.37 log UFC/ml.

Figura 3-8. Viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días.



* Los tratamientos graficados fueron CSA (control con 7.5% de sacarosa antes de la fermentación, MA (10% de miel incluida antes de la fermentación) y MD (10% de miel incluida después de la fermentación).

Los resultados obtenidos, no coinciden con lo reportado por (Bakr, Mohamed, Tammam, & El-Gazzar, 2015), donde se menciona que tanto los microorganismos iniciadores *S. thermophilus* y *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, incrementan en la segunda semana de almacenamiento y gradualmente disminuye, ya que la densidad celular es superior en los tratamientos en los que se incluye miel. Sin embargo, en el trabajo de (Mercan & Akın, 2017) los microorganismos evaluados por separado, no presentan efectos significativos a lo largo del almacenamiento. En el estudio (Sert et al., 2011), al realizar se reporta que el

microorganismos *L. bulgaricus*, aumenta su densidad con la inclusión de miel en comparación con el control, mientras que el *S. thermophilus* presenta una disminución.

De acuerdo con lo mencionado tanto en el Codex Alimentarius como en la NTC 805, la suma de los microorganismos que comprenden el cultivo definido, que para este caso es *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *S. thermophilus*, debe ser mínimo 10^6 UFC (FAO, 2011; ICONTEC, 2006), lo que indica que, tanto para los tratamientos con miel como para el control, se cumple con lo establecido para el final del almacenamiento.

3.2.3 Potencial efecto prebiótico de la miel sobre *Lactobacillus acidophilus*

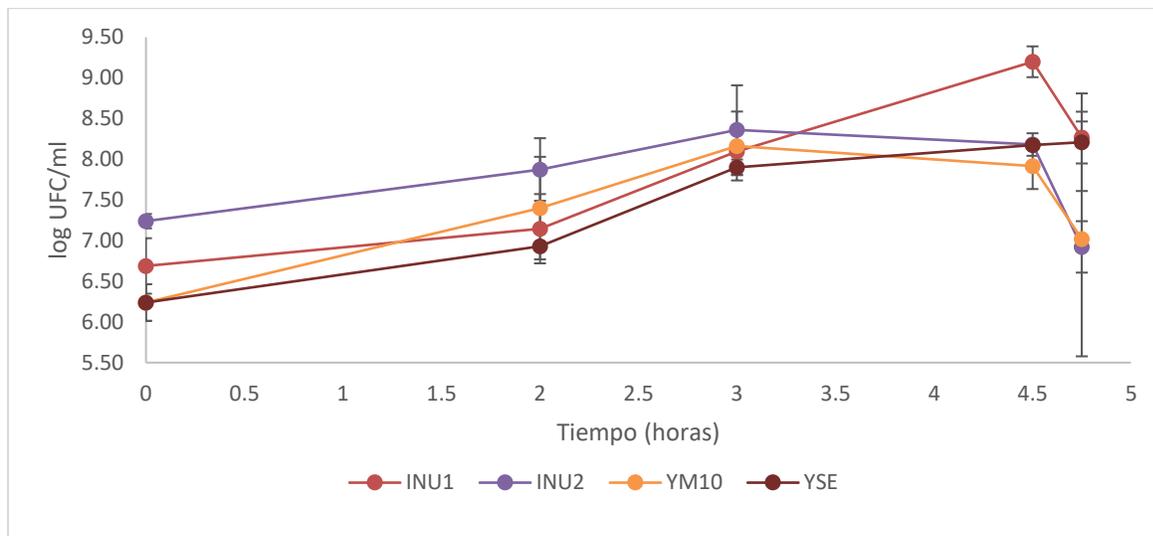
▪ Cinética de crecimiento del *Lactobacillus acidophilus* para la evaluación del posible efecto prebiótico

En la Figura 3-9, se puede observar la cinética de crecimiento del *L. acidophilus*, para este ensayo no se presenta diferencia significativa entre los tratamientos utilizados, demostrando que durante el proceso de fermentación no hay algún efecto por parte de la inulina o de la miel sobre el probiótico en el que se favorezca o se inhiba el crecimiento. Para los tratamientos, se puede observar que la densidad celular de INU1 presenta un aumento de 1.6 unidades logarítmicas llegando a una concentración de 8.27 log UFC/ml al final de la fermentación, en el caso del tratamiento INU2, se observa una disminución de la densidad celular de 0.31 unidades alcanzando una concentración promedio de 6.92 log UFC/ml; para el tratamiento YM10, el aumento en la densidad celular de 0.78 unidades durante la fermentación alcanzando una concentración de 7.02 log UFC/ml, sin embargo el control que se encontraba sin edulcorar YSE, muestra un aumento en la densidad de 1.97 unidades obteniendo una concentración final de 8.21 log UFC/ml. Sin embargo, estadísticamente no se evidencian diferencias significativas entre la densidad alcanzada a partir de la hora 2.

Una de las causas por las que posiblemente no hubo un aumento significativo en la densidad celular para los tratamientos con inulina, podría ser porque, a pesar que en leches fermentadas la viabilidad y el crecimiento de los probióticos aumenta con la inclusión de inulina, para el *L. acidophilus* se observa un mayor incremento cuando la

inulina presenta un grado de polimerización alto (Ozturkoglu-Budak, Akal, Buran, & Yetişemiyen, 2019).

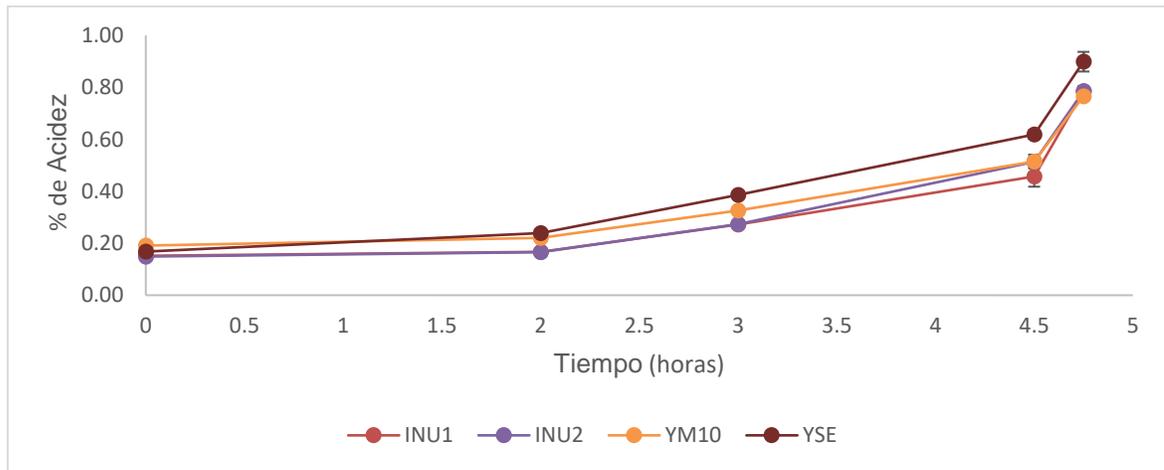
Figura 3-9. Cinética de crecimiento *Lactobacillus acidophilus*



*Los tratamientos graficados fueron INU1 (1% de inulina+7.2% sacarosa), INU2 (2% inulina+6.9% sacarosa), YM10(10% de miel) y YSE (control sin edulcorar).

Acidez titulable y pH

Respecto a la acidez titulable en la Figura 3-10, se puede observar el aumento que presenta durante aproximadamente 5 horas de fermentación. Durante este proceso, se puede observar que los tratamientos con inulina son estadísticamente diferentes (p -valor <0.05) al tratamiento YM10 y YSE. Al final de la fermentación, los tratamientos INU1 y INU2, alcanzan una acidez titulable expresada como ácido láctico de 0.79 ± 0.019 y 0.79 ± 0.011 , mientras para YM10 y YSE de 0.77 ± 0.001 y 0.90 ± 0.04 respectivamente.

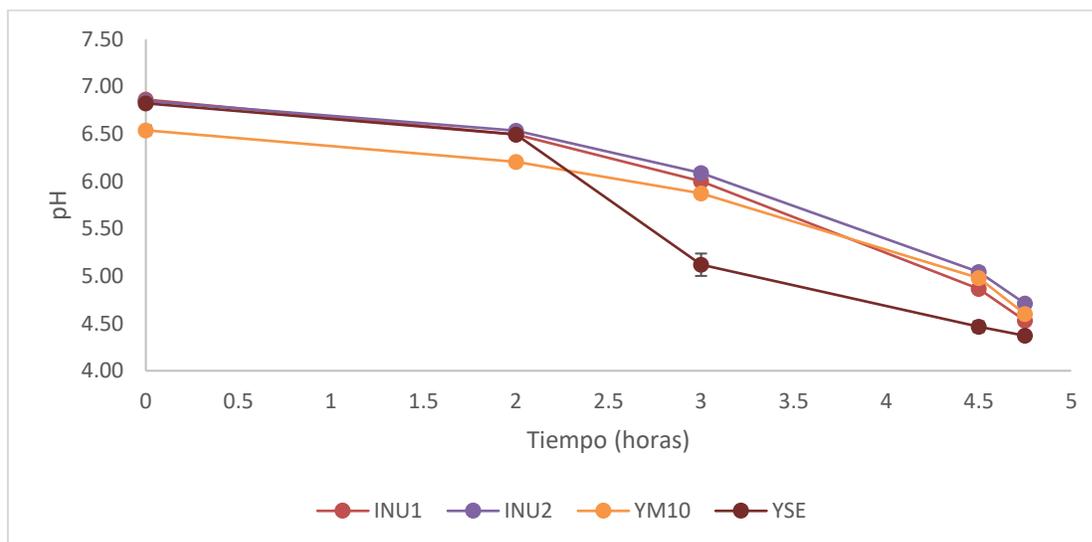
Figura 3-10. Evaluación de la acidez durante la fermentación.

*Los tratamientos graficados fueron INU1 (1% de inulina+7.2% sacarosa), INU2 (2% inulina+6.9% sacarosa), YM10(10% de miel) y YSE (control sin edulcorar).

*El porcentaje de acidez se encuentra expresado como ácido láctico.

En el caso del pH, en la Figura 3-11, se observa que todos los tratamientos presentan diferencia significativa entre sí y a lo largo de la fermentación (p -valor <0.05). Para el tratamiento INU1, el valor de pH presenta una disminución de 2.34 unidades, alcanzando al final de la fermentación un valor de 4.53 ± 0.03 . En el caso del tratamiento INU2, se observa una caída en el pH de 2.14 unidades, donde se alcanza un valor de 4.71 ± 0.04 . El tratamiento YM10, muestra una disminución de 1.94 unidades y llega a un valor al final de la fermentación de 4.6 ± 0.02 . Finalmente se puede apreciar que el control YSE, presenta una disminución de 2.45 unidades y alcanza un valor de 4.37. Estos datos de pH indican que, a pesar de las diferencias entre tratamientos, el yogur con inclusión del 10% de miel antes de la fermentación presenta un comportamiento similar al de los que presentan inclusión de inulina.

Figura 3-11. Evaluación del pH durante la fermentación.

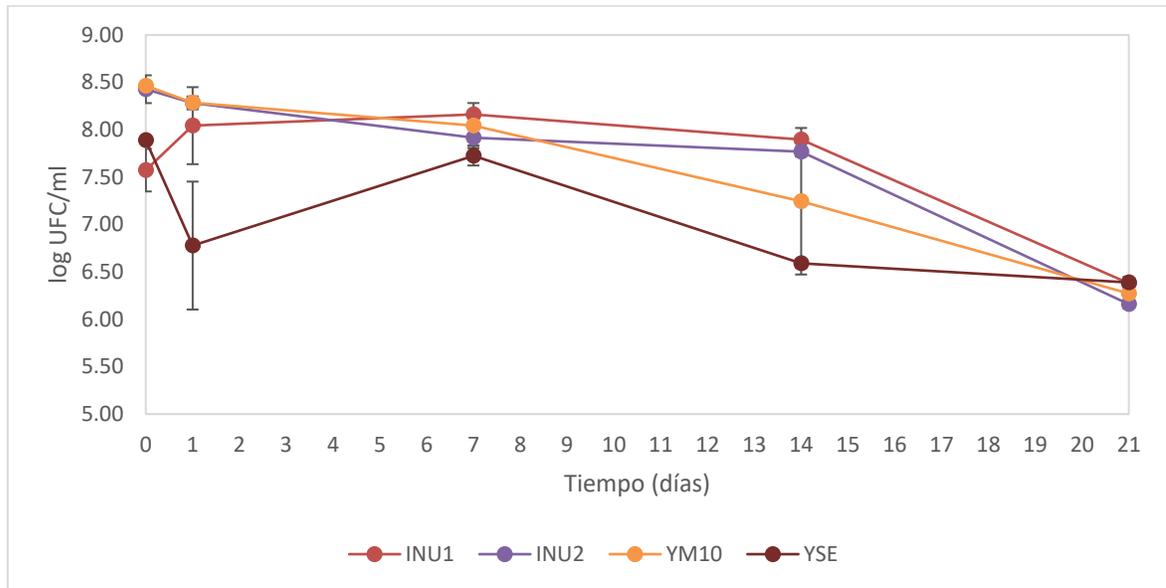


*Los tratamientos graficados fueron INU1 (1% de inulina+7.2% sacarosa), INU2 (2% inulina+6.9% sacarosa), YM10(10% de miel) y YSE (control sin edulcorar).

▪ **Viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* durante 21 días de almacenamiento para la determinación del posible efecto prebiótico**

En la Figura 3-12, se puede observar que durante los 21 días de almacenamiento hay una disminución en la densidad celular de los tratamientos, sin embargo, estadísticamente durante los días 0, 1 y 7 no se presenta diferencia significativa, pero a partir del día 14 hay una mayor caída de células viables, a pesar de la disminución, es importante mencionar que en todos los tratamientos la densidad celular llegó a 6.38, 6.16, 6.27 y 6.38 log UFC/ml para los tratamientos INU1, INU2, YM10 y YSE respectivamente, indicando que al final del almacenamiento se cumple con los criterios establecidos en el Codex Alimentarius, en donde se menciona que la densidad celular mínima para yogur de microorganismos etiquetados es de 10^6 UFC/g en total (FAO, 2011). De acuerdo con Albuquerque, la disminución en el microorganismo probiótico se debe, a que en el yogur estos microorganismos se enfrentan a condiciones adversas durante el almacenamiento como el estrés causado por el frío, la oxidación debido a la exposición al oxígeno y la postacidificación (Albuquerque et al., 2018).

Figura 3-12. Viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días.



*Los tratamientos graficados fueron INU1 (1% de inulina+7.2% sacarosa), INU2 (2% inulina+6.9% sacarosa), YM10(10% de miel) y YSE (control sin edulcorar).

Por otra parte, los tratamientos, INU1, INU2 y YM10 son diferentes significativamente (p -valor <0.05) al yogur sin edulcorar YSE, indicando que la inulina o la miel de *Acacia mangium* en el yogur permite a los microorganismos mantener la viabilidad de las células durante la etapa de almacenamiento, esto concuerda con lo reportado Ulrich Landry, en donde se muestra que la miel presenta un efecto similar a la de oligosacáridos comerciales como los FOS, GOS e inulina en el crecimiento y la actividad de *bifidobacterium* spp (Ulrich Landry et al., 2016).

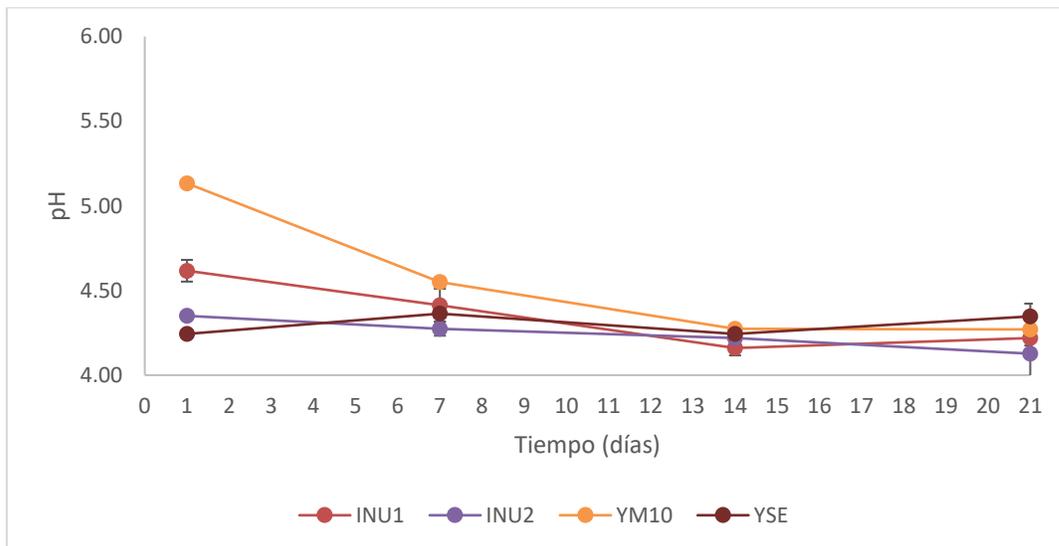
Tanto para la viabilidad como para el crecimiento, se ha demostrado que la miel puede presentar no solo un efecto protector sobre las células de los probióticos (Ulrich Landry et al., 2016)(Rezaei, Khomeiri, & Aalami, 2014). Además según (Kumar Puniya, 2016), una de las características de *L. acidophilus*, es que la mayoría de las cepas empleadas durante los procesos de fermentación, tienen la capacidad de metabolizar azúcares como celobiosa, fructosa, galactosa, lactosa, maltosa, manosa y trehalosa al presentar enzimas inducidas como β -fructofuranosidasa y β -galactosidasa, esto indicaría que la miel de *Acacia mangium* al presentar dentro de su composición algunos de los azúcares mencionados anteriormente, podría influir en el metabolismo del probiótico empleado; a su

vez coincide con el estudio de (Ulrich Landry et al., 2016), en el que se menciona que diferentes tipos de mieles presentan azúcares que han sido relacionados con una posible función prebiótica.

Acidez titulable y pH

En la Figura 3-13, se observa el cambio de pH a lo largo de los 21 días de almacenamiento en refrigeración. Este cambio muestra que entre los días 14 y 21 no hay cambios significativos, mientras las caídas más significativas se presentan entre los días 1 y 14. Respecto a los tratamientos, se evidencia que estos son significativamente diferentes (p -valor <0.05). Para el tratamiento INU1, se observa que una caída de 0.4 unidades, llegando a un valor de pH de 4.22; el tratamiento INU2, tiene una caída de 0.22 unidades, alcanzando un valor de pH de 4.13 en el día 21; el tratamiento YM10, muestra la mayor caída de pH, siendo esta de 0.86 unidades a lo largo del almacenamiento, donde al día 21 se mide un valor de pH de 4.27; para el control sin edulcorar (YSE), se encuentra que la disminución de pH es de 0.10 unidades y al final del almacenamiento logra un valor de pH de 4.34.

Figura 3-13. Seguimiento de pH durante almacenamiento en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días.

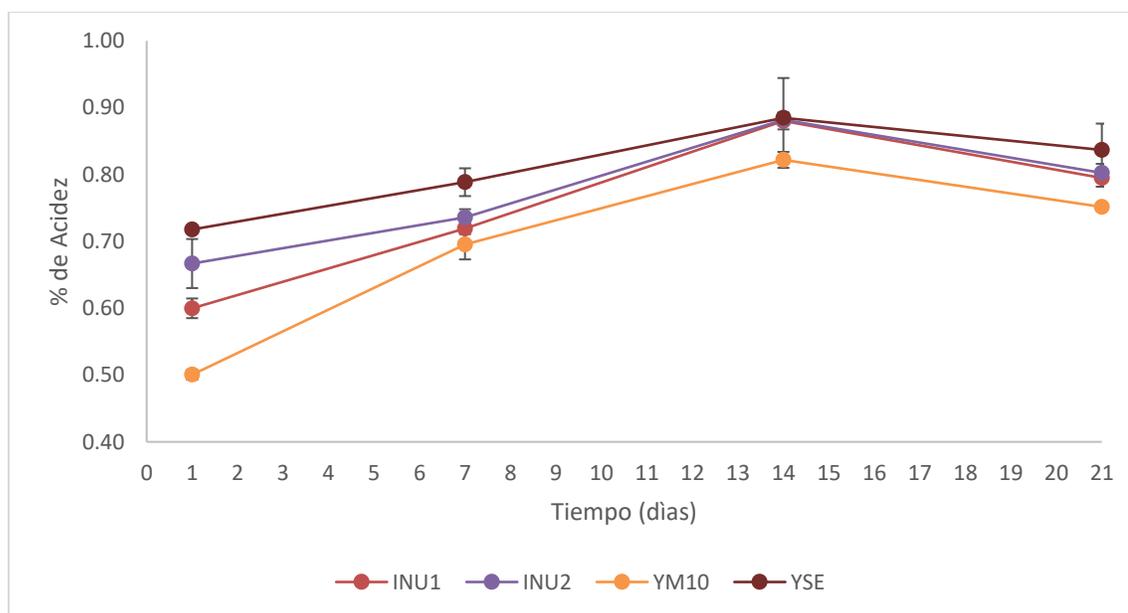


*Los tratamientos graficados fueron INU1 (1% de inulina+7.2% sacarosa), INU2 (2% inulina+6.9% sacarosa), YM10 (10% de miel) y YSE (control sin edulcorar).

Respecto al porcentaje de acidez expresado como ácido láctico, se observa que esta aumenta para todos los tratamientos hasta el día 14, y hacia el día 21 presenta una caída.

Todos los tratamientos son estadísticamente diferentes. En el tratamiento INU1, se muestra que el porcentaje de acidez el día 1 tiene un valor de $0.6\% \pm 0.015$, el día 14 alcanza un valor de acidez de $0.88\% \pm 0.012$ y el día 21 disminuye a $0.79\% \pm 0.013$. Para el tratamiento INU2, se observa que en el día 1 la acidez tiene un valor de 0.67 ± 0.04 , en el día 14 llega a un valor de 0.88 ± 0.06 y en el día 21 cae a un valor de 0.80 ± 0.013 . En el tratamiento con miel, el primer día de almacenamiento tiene un valor de acidez es de 0.50 ± 0.01 , durante el almacenamiento alcanza un valor al día 14 de $0,82 \pm 0,01$ y cae en el día 21 a un porcentaje de $0,75 \pm 0.01$; Finalmente para el control YSE, el porcentaje de acidez comienza en 0.72 ± 0.005 , el cual alcanza un valor máximo al día 14 de $0.88 \pm 0,01$ y tiene una caída al final del almacenamiento hasta alcanzar un valor de 0.84 ± 0.04 . Lo anterior indica que para el porcentaje de acidez, el control alcanza un valor mayor a los tratamientos con inulina y miel.

Figura 3-14. Seguimiento del porcentaje de acidez titulable expresado como ácido láctico almacenamiento en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días.



*Los tratamientos graficados fueron INU1 (1% de inulina+7.2% sacarosa), INU2 (2% inulina+6.9% sacarosa), YM10(10% de miel) y YSE (control sin edulcorar).

*El porcentaje de acidez se encuentra expresado como ácido láctico.

Los valores obtenidos, tanto de pH como de porcentaje de acidez titulable, contradicen a los reportados por (Rezaei et al., 2014), en los cuales emplear un porcentaje de 2% de inulina presentaba menores valores de pH y una acidez superior al resto de los tratamientos. Sin embargo, en el trabajo de Greenbaum y Aryana, emplear miel dentro de

las formulaciones, influye en el pH siendo significativamente más alto respecto al control (Greenbaum & Aryana, 2013).

3.3 Conclusiones

Incluir 10% de miel de *Acacia mangium*, no influye durante la viabilidad celular, ya que las densidades celulares alcanzadas en los tratamientos con miel al final del almacenamiento se encuentran entre 7.21 y 8.01 log UFC/ml, y 7.61 y 7.95 log UFC/mL para el cultivo iniciador y probiótico respectivamente.

Durante la fermentación, se observó un posible efecto estimulante de la miel sobre los microorganismos utilizados, ya que el tratamiento con 10% de miel (MA) para el caso del probiótico y del iniciador, mostró un aumento significativo ($p\text{-valor} < 0.05$) al alcanzar una densidad promedio de 9.30 y 9.61 log UFC/ml para el cultivo iniciador y probiótico respectivamente.

Al realizar la comparación de la miel con un prebiótico conocido como la inulina, se puede concluir que podría presentar un posible efecto prebiótico sobre *L. acidophilus*, ya que dentro de su composición se presentan azúcares que pueden llegar a ser metabolizados por el microorganismo e incluso podría tener un efecto protector sobre las células.

3.4 Referencias

- Albuquerque, L., Alves, É., Ribeiro, A., Rocha Júnior, V., Antunes, A., dos Reis, A., ... Espinosa Martinez, R. (2018). Viability of probiotic bacteria in bioyogurt with the addition of honey from Jataí and Africanized bees. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53(2), 206–211. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000200009>
- FAO. (2011). *Leche y Productos Lácteos Leche y Productos Lácteos. CODEX Alimentarius*. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500010>
- Gebara, C., Ribeiro, M. C. E., Chaves, K. S., Gandara, A. L. N., & Gigante, M. L. (2015). Effectiveness of different methodologies for the selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* La5 from yoghurt and Prato cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 508–513. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.061>
- Greenbaum, A., & Aryana, K. J. (2013). Effect of Honey a Natural Sweetener with Several Medicinal Properties on the Attributes of a Frozen Dessert Containing the Probiotic

- <i>Lactobacillus acidophilus</i>; *Open Journal of Medical Microbiology*, 03(02), 95–99. <https://doi.org/10.4236/ojmm.2013.32015>
- ICONTEC. (2002). NTC 5034. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de bacterias mesofílicas de ácido láctico. Técnica de recuento de colonias a 30°C. Bogotá D.C.
- ICONTEC. (2006). NTC 805. Productos lácteos. leches fermentadas. Bogotá D.C.
- ISO. (2010). ISO 27205. Fermented milk products-Bacterial starter cultures- Standard of identity. Bratislava: ISO.
- Ministerio de Salud. Resolución Número 2310, Pub. L. No. 2310 (1986). República de Colombia.
- Mortazavian, A. M., Ehsan, M. R., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. A. (2007). MRS-bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 62(3), 270–272.
- Ng, E. W., Yeung, M., & Tong, P. S. (2011). Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006>
- Ozturkoglu-Budak, S., Akal, H. C., Buran, İ., & Yetişemiyen, A. (2019). Effect of inulin polymerization degree on various properties of synbiotic fermented milk including *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 6901–6913. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16479>
- Rezaei, R., Khomeiri, M., & Aalami, M. (2014). Effect of inulin on the physicochemical properties, flow behavior and probiotic survival of frozen yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2809–2814. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0751-7>
- Riazi, A., & Ziar, H. (2008). Growth and viability of yogurt starter organisms in honey-sweetened skimmed milk. *Journal of Biotechnology*, 7(12), 2055–2063.
- Sert, D., Akin, N., & Dertli, E. (2011). Effects of sunflower honey on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics in set type yoghurt during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1), 99–107.

<https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00635.x>

- Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., Dolatkahnejad, M. R., & Monfared, A. B. (2012). Suitability of MRS-bile agar for the selective enumeration of mixed probiotic bacteria in presence of mesophilic lactic acid cultures and yoghurt bacteria. *Iranian Journal of Biotechnology*, 10(1), 16–21.
- Ulrich Landry, B. K., Moumita, S., Jayabalan, R., & Ngoufack François, Z. (2016). Honey , probiotics and prebiotics : review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(5), 2428–2438. <https://doi.org/0975-8585>
- Varga, L. (2006). Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, 108(2), 272–275. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.014>

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

La adición de miel de *Acacia mangium* dentro de la formulación de un yogur semidescremado presenta aceptación sensorial, lo cual, favorecería el uso de la miel dentro de un mercado diferente al del consumo directo.

Los diferentes porcentajes de miel empleados durante la experimentación demostraron tener efectos positivos sobre las propiedades fisicoquímicas de un yogur, especialmente en aquellas que podrían generar algún tipo de defecto sensorial.

Emplear 10% de miel de abejas dentro de las formulaciones del yogur, favorece la fermentación láctica en comparación al yogur control y mantiene la viabilidad celular de los microorganismos iniciador y probiótico en rangos por encima de lo estipulado en el Codex Alimentarius y en la Resolución 333 de 2011.

Gracias a algunos azúcares encontrados dentro de la composición de la miel de *Acacia mangium*, se podría atribuir un posible efecto prebiótico de la miel sobre *L. acidophilus*, al mantener la viabilidad celular de manera similar a la inulina empleada en los tratamientos.

4.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar el análisis fisicoquímico de diferentes porcentajes de miel durante el almacenamiento, para determinar posibles cambios en la vida útil del producto de acuerdo con la concentración de miel empleada.

Se recomienda seguir con investigaciones posteriores que permitan identificar un posible potencial prebiótico de la miel de *Acacia mangium* al realizar estudios *in vitro* que permita conocer la actividad potencial prebiótica.

Realizar la caracterización de ácidos fenólicos y flavonoides que puedan encontrarse en esta matriz, tras incluir miel como edulcorante.

Caracterizar los compuestos que puedan afectar sensorialmente el producto (volátiles y no volátiles) que influyan en el perfil de sabor y aroma.

Realizar un análisis de minerales, identificando el aporte de estos por parte de la miel.

A. Anexo: Ficha técnica cultivo iniciador YFL 811 Yo-Flex



FD-DVS YF-L811 Yo-Flex®

Información de Producto
Versión: 3 PI-EU-ES 24-11-2011

Descripción	Cultivo termófilo Yo-Flex®														
Taxonomía	Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus Streptococcus thermophilus														
Envase	No Material: 667295	Tamaño 10X50 U	Tipo Sobre (s) en caja												
Propiedades Físicas	Color:	Blanco a ligeramente rojizo o marrón													
	Aspecto Físico:	Granulado													
Aplicación	<p>Uso</p> <p>El cultivo producirá un yogur con un aroma muy suave, muy alta viscosidad y muy baja post-acidificación. Adecuado para la fabricación de yogur firme, batido y líquido.</p> <p>Dosis de inoculación recomendada</p> <table border="1"> <tr> <td>Cantidad de leche a inocular</td> <td>250 l/ 70 gal</td> <td>1,000 l/ 250 gal</td> <td>2,500 l/ 660 gal</td> <td>5,000 l/ 1,300 gal</td> <td>10,000 l/ 2,600 gal</td> </tr> <tr> <td>Cantidad de cultivo DVS</td> <td>50 U</td> <td>200 U</td> <td>500 U</td> <td>1,000 U</td> <td>2,000 U</td> </tr> </table>			Cantidad de leche a inocular	250 l/ 70 gal	1,000 l/ 250 gal	2,500 l/ 660 gal	5,000 l/ 1,300 gal	10,000 l/ 2,600 gal	Cantidad de cultivo DVS	50 U	200 U	500 U	1,000 U	2,000 U
Cantidad de leche a inocular	250 l/ 70 gal	1,000 l/ 250 gal	2,500 l/ 660 gal	5,000 l/ 1,300 gal	10,000 l/ 2,600 gal										
Cantidad de cultivo DVS	50 U	200 U	500 U	1,000 U	2,000 U										
	<p>Directivas para su uso</p> <p>Sacar el cultivo del congelador justo antes de su utilización. Limpiar la parte superior del sobre con cloro. Abrir el sobre y añadir los gránulos liofilizados directamente al producto pasteurizado mientras se agita suavemente. Agitar la mezcla durante 10-15 minutos para distribuir el cultivo homogéneamente. La temperatura recomendada de incubación es de 35-45°C (95-113°F). Para más información sobre aplicaciones específicas, por favor, consulte nuestros catálogos técnicos y recetas recomendadas.</p>														
Gama	La gama de cultivos Yo-Flex® de inoculación directa a cuba, Direct Vat Set (DVS®) varían desde cultivos muy suaves que aportan características distintivas de aroma de yogur con perfiles distintos de viscosidad.														
Almacenaje y manipulación	< -18 °C / < 0 °F														



FD-DVS YF-L811 Yo-Flex®

Información de Producto

Versión: 3 PI-EU-ES 24-11-2011

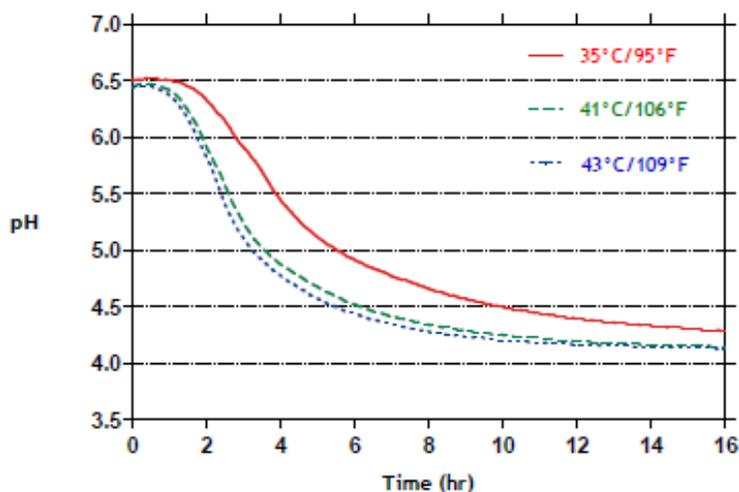
Vida útil

Como mínimo 24 meses desde la fecha de fabricación cuando se almacena siguiendo las recomendaciones.

A +5°C (0°F) la caducidad es de como mínimo 6 semanas.

Información técnica

Curva de acidificación



Condiciones de fermentación:

Leche entera +2 % leche desnatada en polvo (85°C/185°F, 30 minutos)

Inoculación: 500U/2500L

Métodos analíticos

Los métodos de referencia y analíticos están disponibles bajo petición.

Legislación

Chr. Hansen cumple con los requerimientos generales de seguridad alimentaria establecidos por el Reglamento 178/2002/EC. Las bacterias ácido lácticas son reconocidas de forma general como seguras y pueden ser utilizadas en alimentos, sin embargo, para aplicaciones específicas recomendamos que consulte la legislación nacional.

El producto está destinado a ser utilizado en alimentos.



FD-DVS YF-L811 Yo-Flex®

Información de Producto

Versión: 3 PI-EU-ES 24-11-2011

Seguridad alimentaria	No existe garantía de seguridad alimentaria implícita para aplicaciones de este producto distintas de las indicadas en la sección de utilización. Si desea utilizar este producto en otra aplicación por favor, contacte con su representante de Chr. Hansen para solicitar ayuda.				
Etiquetado	Etiquetado recomendado "cultivo ácido láctico" o "cultivo iniciador", sin embargo, la legislación puede variar. Por favor, consulte la legislación local.				
Marcas comerciales	Los nombres de productos, nombres de conceptos, logotipos, marcas y otras marcas comerciales mencionadas en este documento, figuren o no en mayúsculas, en negrita o con el símbolo ® o ™ son propiedad de Chr. Hansen A/S o utilizados bajo licencia. Las marcas registradas que aparecen en este documento pueden no estar registradas en su país, aunque estén marcadas con un ®.				
Certificados alimentarios	<table border="0"> <tr> <td>Kosher:</td> <td>Kosher Lácteo exclu. Pascua</td> </tr> <tr> <td>Halal:</td> <td>Certificado</td> </tr> </table>	Kosher:	Kosher Lácteo exclu. Pascua	Halal:	Certificado
Kosher:	Kosher Lácteo exclu. Pascua				
Halal:	Certificado				
Servicio técnico	Personal de los Laboratorios de Aplicación y Desarrollo de Productos de Chr Hansen están a su disposición si necesita mas información.				

Información GMO

Con arreglo a la legislación de la Unión Europea*, podemos declarar que FD-DVS YF-L811 no contiene OMG ni materias primas con la etiqueta MG.** Con arreglo a la legislación europea sobre etiquetaje en producto alimentario acabado**, podemos informar de que el uso de FD-DVS YF-L811 no requiere etiquetado MG del producto alimenticio final. La posición de Chr.

Hansen sobre GMO puede encontrarse en:

www.chr-hansen.com/About-us/Policies-and-positions/Quality-and-product-safety.

* Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo del 12 de marzo de 2001 sobre la liberación intencional en el medio de organismos modificados genéticamente y por la que se deroga la Directiva del Consejo 90/220/CEE.

** Reglamento (CE) 1829/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de septiembre de 2003 sobre alimentos y piensos modificados genéticamente. Reglamento (CE) 1830/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de septiembre de 2003 relativo a la trazabilidad y al etiquetado de organismos modificados genéticamente y a la trazabilidad de los alimentos y piensos producidos a partir de estos y por el que se modifica la Directiva 2001/18/CE.



FD-DVS YF-L811 Yo-Flex®

Información de Producto

Versión: 3 PI-EU-ES 24-11-2011

Información sobre Alergenos

List of common allergens in accordance with the US Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004 (FALCPA) and EU labeling Directive 2000/13/EC with later amendments	Presente como ingrediente en el producto
Cereales que contengan gluten* y productos derivados	No
Crustáceos y productos a base de crustáceos	No
Huevos y productos a base de huevo	No
Pescado y productos a base de pescado	No
Cacahuets y productos a base de cacahuets	No
Soja y productos a base de soja	No
Leche y sus derivados (incluida la lactosa)	Sí
Frutos de cáscara* y productos derivados	No
Lista de alérgenos de acuerdo con la Directiva sobre etiquetado 2000/13/EC de la UE, exclusivamente	
Apio y productos derivados	No
Mostaza y productos derivados	No
Granos de sésamo y productos a base de granos de sésamo	No
Altramuces y productos a base de altramuces	No
Moluscos y productos a base de moluscos	No
Anhidrido sulfuroso y sulfitos en concentraciones superiores a 10 mg/kg o 10 mg/litro expresado como SO ₂	No

* Please consult the EU Labeling Directive 2000/13 Annex IIIa for a legal definition of common allergens, see European Union law at: www.eur-lex.europa.eu

B. Anexo: Ficha técnica cultivo probiótico Lyofast LA3




Lyofast LA 3

Description Lyofast LA 3 consists of a single strain of *Lactobacillus acidophilus*. Lyofast LA 3 may be applied in generic probiotic products such as fermented milk products, and in feed. Furthermore, Lyofast LA 3 might also be used for pharmaceutical purpose.

Application Sprinkle the culture powder directly into process under aseptic conditions ensuring that the culture is well dispersed by gentle stirring.

Product	Dose/100 l	Product	Dose/100 l
Fermented milk	0.5-2.0		

Culture information Inoculation guideline for dairy application: sprinkle the culture powder directly into process milk under aseptic conditions ensuring that the culture is well dispersed by gentle stirring. 1 dose is 10¹¹ CFU and inoculated in 100 l milk 1 dose gives approx. 10⁶ CFU/ml milk.

Optimal temperature for growth	34-40 °C	Acid tolerance	+++
Bile tolerance	+++	Adherence test	++

Storage Unopened pouches should be kept at or below -18°C.

Package data The freeze-dried culture is packed in waterproof and airproof aluminium pouches. Lyofast LA 3 is available in 1, 5, 10 and 50 UC.

Shelf life 18 months when stored at or below -18°C. The shelf life includes up to 14 days of shipment at temperatures below 30°C.

Heavy metal specification

Pb (lead)	< 1 ppm
Hg (mercury)	< 0.03 ppm
Cd (cadmium)	< 0.1 ppm

Microbiological specification

<i>Bacillus cereus</i>	<100 CFU/g	Method: Sacco M10 (1)
Cosagulase positive staphylococci*	<10 CFU/g	Method: Sacco M11(2)
Enterobacteriaceae	<10 CFU/g	Method: Sacco M2 (3)
<i>Escherichia coli</i>	<1 CFU/g	Method: Sacco M27 (4)
<i>Listeria monocytogenes</i> *	Not detected in 25 g	Method: Sacco M13 (5)
Moulds & yeasts	<10 CFU/g	Method: Sacco M3 (6)
<i>Salmonella spp</i> *	Not detected in 25 g	Method: Sacco M12 (7)

* Analysed on regular basis. All analytical methods are available upon request.
(1)ISO 7932; (2)ISO 6888-1-2; (3)ISO 21528-1-2; (4)ISO 11856-1-2/ADF 170-1-2; (5)ISO 11290-1-2; (6)ISO 6611/ADF 94; (7)ISO 8785/ADF 93.

GMO The microbial strains are not genetically modified (GMO) in accordance with the European Directive 90/220/EEC. The strains are isolated from natural sources. The raw materials used are also GMO free in accordance with Regulation (EC) No. 1829/2003 and Regulation (EC) 1830/2003. Statement available upon request.

Allergens The raw materials used are generally based on dairy ingredients. All materials are free of the following components and their derivatives: peanut, tree nut, sesame, egg, fish, shellfish, mollusc, crustacean, sulphite, wheat, celery, mustard, soy and lupine. Statement available upon request.

Safety information Material Safety Data Sheet available on www.saccosrl.it

Certificate Lot certificate available upon request.

ISO Sacco S.r.l. is UNI EN ISO 9001:2000 certified since 1998. Sacco cultures are generally Kosher approved except for surface ripening cultures.

Kosher approval

Service Please contact your distributor for guidance and instructions for your choice of culture and processing. Information about additional package sizes and sales units is also available upon request.



Lyofast LA 3

Liability

This information is based on our knowledge trustworthy and presented in good faith.
No guarantee against patent infringement is implied or inferred.

Bibliografía

- Abu-Jdayil, B., Shaker, R. R., & Jumah, R. Y. (2000). Rheological behavior of concentrated yogurt (Labneh). *International Journal of Food Properties*, 3(2), 207–216. <https://doi.org/10.1080/10942910009524628>
- Albuquerque, L., Alves, É., Ribeiro, A., Rocha Júnior, V., Antunes, A., dos Reis, A., ... Espinosa Martinez, R. (2018). Viability of probiotic bacteria in bioyogurt with the addition of honey from Jataí and Africanized bees. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 53(2), 206–211. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000200009>
- Aliyu, M., Odunola, O., Farooq, A., Mesaik, A., Choudhary, M., Erukainure, O., ... Jabeen, A. (2012). Fractionation of acacia honey affects its antioxidant potential in vitro. *Journal of Acute Disease*, 2(4), 115–119. [https://doi.org/10.1016/S2221-6189\(13\)60070-0](https://doi.org/10.1016/S2221-6189(13)60070-0)
- Alvarez-Suarez, J. M. (2017). *Bee products - chemical and biological properties*. *Bee Products - Chemical and Biological Properties*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1>
- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. (G. Latimer, Ed.) (19th ed.). Gaithersburg, Maryland: AOAC International.
- Aryana, K., & Olson, D. (2017). A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9987–10013. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12981>
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2011). Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yogurt - A review. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.008>
- Aween, M. M., Hassan, Z., Muhiaddin, B., Eljamel, Y., Al-Mabrok, A. S., & Lani, M. N. (2012). Antibacterial Activity of *Lactobacillus acidophilus* Strains Isolated from Honey Marketed in Malaysia against Selected Multiple Antibiotic Resistant (MAR) Gram-Positive Bacteria. *Journal of Food Science*, 77(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02776.x>

- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. (E. Quintanar Duarte, Ed.), *Química de los alimentos* (Cuarta). Naucalpan de Juárez: Pearson Educación. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Bakr, I. A., Mohamed, T. H., Tammam, A. A., & El-Gazzar, F. E. (2015). Characteristics of bioyoghurt fortified with fennel honey. *Internarional journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(3), 959–970.
- Batt, C., & Lou Tortorello, M. (2014). *Encyclopedia of food microbiology*. (C. Bart, Ed.), *Encyclopedia of Food microbiology* (Second). Oxford: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.01001-6>
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th ed.). Heidelberg: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-40-69934-7>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bernal Castro, C. A. (2017). *Evaluación del comportamiento de cultivos probióticos y prebióticos en bebidas de frutos rojos*. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/61087/1/101841360.2017.pdf>
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), 677–689. <https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>
- Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., & Mahenthiralingam, E. (2013). The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: A tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS Microbiology Letters*, 349(2), 77–87. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12293>
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467–483. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031>

- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Akyuz Turumtay, E., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.024>
- Casarotti, S. N., Borgonovi, T. F., Batista, C. L. F. M., & Penna, A. L. B. (2018). Guava, orange and passion fruit by-products: Characterization and its impacts on kinetics of acidification and properties of probiotic fermented products. *LWT - Food Science and Technology*, 98, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.010>
- Castro-Mercado, L., & Díaz-Moreno, C. (2016). Contenido de cenizas y perfil mineral de mieles de la Altillanura vichadense. *Agronomía Colombiana*, 34, 1029–1032. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.58241>
- Castro Mercado, L. (2018). *Evaluación de la composición, calidad y generación de vaor de miel de abejas originaria de zonas forestales en la altillanura del departamento de Vichada*. Universidad Nacional de Colombia.
- Chandan, R., White, C., Kilara, A., & Hui, Y. (2006). *Manufacturing yogurt and fermented milks* (First). Oxford: Blackwell publishing professional.
- Chepulis, L. (2016). Honey Food or Medicine The How, Where and Why of Bioactivity Testing. *Bee World*, 92(4), 97–131.
- Chepulis, L. M. (2007). The effect of honey compared to sucrose, mixed sugars, and a sugar-free diet on weight gain in young rats. *Journal of Food Science*, 72(3). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00286.x>
- Corporación Autónoma Regional de la Orinoquia. (2012). *Informe ejecutivo de la gestión ambiental del Vichada*.
- da Silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Das, K., Choudhary, R., & Thompson-witrick, K. A. (2019). Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 108(February), 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.058>

- de Oliveira, M. N. (2014). Fermented Milks: Fermented Milks and Yogurt. En *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (Second Edi, Vol. 2, pp. 908–922). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00121-X>
- Doğan, M. (2011). Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6(3), 327–332. <https://doi.org/10.1007/s00003-010-0643-6>
- Dor Ginnie Ornella, L. M., & Fawzi, M. M. (2016). Traditional and Modern Uses of Honey: An Updated Review. En R. Ramirez (Ed.), *Honey: Geographical Origins, Bioactive Properties & Health Benefits* (pp. 81–98). New York: Nova Science Publishers, Inc
- Edwards, C. H., Rossi, M., Corpe, C. P., Butterworth, P. J., & Ellis, P. R. (2016). The role of sugars and sweeteners in food , diet and health : Alternatives for the future. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.008>
- El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D., & Shehata, M. G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2015.10.015>
- Erasso Arango, Natalia - Montoya Restrepo, L. A. (2010). Análisis de percepción de marca Producto Miel de Abejas en el mercado de Bogotá.
- FAO. (2011). *Leche y Productos Lácteos Leche y Productos Lácteos. CODEX Alimentarius*. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500010>
- FAO, & OMS. (1981). Codex Norma para la Miel.
- FAO, & OMS. (2011). *Codex Alimentarius. Leche y Productos Lácteos. Leche y Productos Lácteos* (Segunda ed). Roma. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500010>
- Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Rios-Solis, L., & Halim, M. (2018). Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods*, 48(July), 387–399. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2018.07.039>
- Frisvad, J. C., Huys, G., Bourdichon, F., Harnett, J., Powell, I. B., Hammes, W. P., ... Van Boven, A. (2011). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial

- (2014). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- IALIMENTOS. (2016). Tendencias, necesidades y consumo de la industria láctea en Colombia. Recuperado de <http://revistaialimentos.com/news/tendencias-necesidades-y-consumo-de-la-industria-lactea-en-colombia.htm>
- ICA. (2015). El ICA organizó primer comité fitosanitario forestal de la Orinoquia en Puerto Carreño. Recuperado de <https://www.ica.gov.co/Noticias/Agricola/2015/El-ICA-organizo-primer-comite-fitosanitario-forest.aspx>
- ICBF. (2018). Tabla de composición de alimentos. Bogotá D.C.: Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.
- ICONTEC. (1997). NTC 4206. Análisis sensorial. Metodología. Estimación de la magnitud. Bogotá D.C.
- ICONTEC. (2002). NTC 5034. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de bacterias mesofílicas de ácido láctico. Técnica de recuento de colonias a 30°C. Bogotá D.C.
- ICONTEC. (2006). NTC 805. Productos lácteos. leches fermentadas. Bogotá D.C.
- ICONTEC. (2012). NTC 3915. Análisis sensorial. Metodología. Método para investigar la sensibilidad del gusto.
- ISO. (2010). ISO 27205. Fermented milk products-Bacterial starter cultures- Standard of identity. Bratislava: ISO.
- Jay, J., Loessner, M., & Golden, D. (2009). *Microbiología Moderna de los Alimentos* (Quinta). Zaragoza: Acribia S.A.
- Kajiwara, S., Gandhi, H., & Ustunol, Z. (2002). Effect of Honey on the Growth of and Acid Production by Human Intestinal Bacterium spp. : An In Vitro Comparison with Commercial Oligosaccharides and Inulin. *Journal of Food Protection*, 65(1), 214–218.
- Karbasi, M., Yarmand, M. S., & Mousavi, M. (2015). Fermentation Potential of Lactobacillus

- rhamnosus and *Lactobacillus acidophilus* in Date Syrup to Develop a Functional Fermented Beverage: A Comparative Study. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 863–870. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12297>
- Kennas, A., Amellal-chibane, H., Kessal, F., & Halladj, F. (2018). Effect of pomegranate peel and honey fortification on physicochemical , physical , microbiological and antioxidant properties of yoghurt powder. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.07.001>
- Khan, S. U., Anjum, S. I., Rahman, K., Ansari, M. J., Khan, W. U., Kamal, S., ... Khan, H. U. (2018). Honey: Single food stuff comprises many drugs. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.08.004>
- Kumar Puniya, A. (2016). *Fermented milk and dairy products*. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.03.003>
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Von Wright, A. (2012). *Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects*. (Taylor & Francis Group, Ed.) (Fourth). Boca Raton, Florida.
- Leclercq, H., Saint-Eve, A., Berthelo, S., Oettgen, W., & Delarue, J. (2015). How much sugar do consumers add to plain yogurts? Insights from behavioral and declarative study with French consumers. *11th Pangborn Sensory Science Symposium*, 99.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Machado De-Melo, A. A., Almeida-Muradian, L. B. de, Sancho, M. T., & Pascual-Maté, A. (2017). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 8839(August), 1–33. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338444>
- Mahecha Latorre, G. (1985). *Evaluación sensorial en el control de calidad de alimentos procesados*. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia.
- Mandigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock biology of microorganisms*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- Martins, N., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Development of functional dairy foods. En J. Mérillon & K. Ramawat (Eds.), *Bioactive molecules in food* (pp. 1377–1395). Springer International Publisher. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_35
- Mei, J., Feng, F., & Li, Y. (2017). Effective of different homogeneous methods on physicochemical, textural and sensory characteristics of soybean (*Glycine max* L.) yogurt. *CyTA - Journal of Food*, 15(1), 21–26. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1197315>
- Meo, S. A., Al-Asiri, S. A., Mahesar, A. L., & Ansari, M. J. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975–978. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>
- Mercan, E., & Akin, Ni. (2017). Effect of different levels of pine honey addition on physicochemical, microbiological and sensory properties of set-type yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 70(2), 245–252. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12332>
- Ministerio de Salud. Resolución Número 2310, Pub. L. No. 2310 (1986). República de Colombia.
- Modric, J. (2016). Sweeteners: Relative Sweetness, Calories, Glycemic Index - Nutrients Review. Recuperado el 3 de octubre de 2019, de <http://www.nutrientsreview.com/articles/sweeteners.html>
- Mohan, A., Quek, S.-Y., Gutierrez-Maddox, N., Gao, Y., & Shu, Q. (2017). Effect of honey in improving the gut microbial balance. *Food Quality and Safety*, 1(May 2017), 107–115. <https://doi.org/10.1093/fqs/fyx015>
- Mora Adames, W. I. (2017). *Aplicación de fermentación láctica en el desarrollo de productos para la generación de valor en polen apícola*. Universidad Nacional de Colombia.
- Mortazavian, A. M., Ehsan, M. R., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. A. (2007). MRS-bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 62(3), 270–272.

- Musa Özcan, M., & Al Juhaimi, F. (2015). Honey as source of natural antioxidants. *Journal of Apicultural Research*, 54(3), 145–154. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1144976>
- National Honey Board. (2017). Honey: A Reference Guide to Nature's Sweetener. Recuperado el 13 de julio de 2018, de <https://www.nal.usda.gov/fnic/nutritive-and-nonnutritive-sweetener-resources>
- Ng, E. W., Yeung, M., & Tong, P. S. (2011). Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006>
- Nielsen. (2016). *Infografía: ingredientes y tendencias de comida fuera de casa en LATAM*. Recuperado de <http://www.nielsen.com/co/es/insights/news/2016/Ingredientes-y-tendencias-de-comida-fuera-de-casa-en-Latam.html>
- Nurul Zaizuliana, R., Anis Mastura, A., Abd Jamil, Z., Norshazila, S., & Zarinah, Z. (2017). Effect of Storage Conditions on the Crystallisation behaviour of Selected Malaysian honeys. *International Food Research Journal*, 24, 475–480.
- OMS. (2015). *Guideline: "Sugars intake for adults and children"*. World health Organization. <https://doi.org/9789241549028>
- Ozturkoglu-Budak, S., Akal, H. C., Buran, İ., & Yetişemiyen, A. (2019). Effect of inulin polymerization degree on various properties of synbiotic fermented milk including *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 6901–6913. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16479>
- Parra Huertas, R. A. (2012). *Importancia terapéutica y estabilizantes-edulcorantes en la tecnología del yogur* (Primera). Tunja: UPTC.
- Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2014). Antioxidant activity of yogurt made from milk characterized by different casein haplotypes and fortified with chestnut and sulla honeys. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6662–6670. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7843>
- Perna, A., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2019). Phenolic content and antioxidant activity of donkey milk kefir fortified with sulla honey and rosemary essential oil during

- refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1), 74–81. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12561>
- Piana, M. L., Persano Oddo, L., Bentabol, A., Bruneau, E., Bogdanov, S., & Guyot Declerck, C. (2004). Sensory analysis applied to honey: state of the art. *Apidologie*, 35(1), 26–37. <https://doi.org/10.1051/apido>
- Pinheiro, M., & Oliveira, M. (2005). The effect of different sweeteners in low- calorie yogurts — a review. *International Journal of Dairy Technology*, 58(4), 193–199. Recuperado de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0307.2005.00228.x/full>
- Popa, D., & Ustunol, Z. (2011). Influence of sucrose, high fructose corn syrup and honey from different floral sources on growth and acid production by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *International Journal of Dairy Technology*, 64(2), 247–253. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00666.x>
- Radke-Mitchell, L. C., & Sandine, W. E. (1986). Influence of Temperature on Associative Growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Dairy Science*, 69(10), 2558–2568. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80701-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80701-9)
- Ray, B., & Bhunia, A. (2008). *Fundamental Food Microbiology* (Fourth). Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, a., Pannala, a., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reis, R. C., Minim, V. P. R., Bolini, H. M. A., Dias, B. R. P., Minim, L. A., & Ceresino, E. B. (2011). Sweetness equivalence of different sweeteners in strawberry-flavored yogurt. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2011.00378.x>
- Rezaei, R., Khomeiri, M., & Aalami, M. (2014). Effect of inulin on the physicochemical properties , flow behavior and probiotic survival of frozen yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2809–2814. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0751-7>
- Riazi, A., & Ziar, H. (2012). Effect of honey and starter culture on growth, acidification,

- sensory properties and bifidobacteria cell counts in fermented skimmed milk. *African Journal of Microbiology Research*, 6(3), 486–498. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.819>
- Riazi, Ali, & Ziar, H. (2008). Growth and viability of yogurt starter organisms in honey-sweetened skimmed milk. *Journal of Biotechnology*, 7(12), 2055–2063.
- Rosas, E. (2014). Elaboración de un producto lácteo fermentado a base de *Morinda citrifolia* L., 65.
- Ruales Guzman, B. V. (2012). *Seguimiento de la producción del aroma del yogurt durante la fermentación ácido láctica mediante nariz electrónica y evaluación sensorial*. Universidad Nacional de Colombia.
- Şanlıdere Aloğlu, H., & Öner, Z. (2011). Determination of antioxidant activity of bioactive peptide fractions obtained from yogurt. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5305–5314. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4285>
- Sanz, M. L., Polemis, N., Morales, V., Corzo, N., Drakoularakou, A., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2005). In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 2914–2921. <https://doi.org/10.1021/jf0500684>
- Sarao, L. K., & Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 344–371. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055>
- Serna Cock, L., & Rodríguez de Stouvenel, A. (2005). Producción Biotecnológica de ácido láctico: Estado del arte. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(1), 54–65.
- Sert, D., Akin, N., & Dertli, E. (2011). Effects of sunflower honey on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics in set type yoghurt during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1), 99–107. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00635.x>
- Shoab, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., ... Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147, 444–454. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>

- Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. En *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152–178).
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, 51(3), 456–467. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.05.060>
- Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P. P., & Mafra, I. (2017). A Comprehensive Review on the Main Honey Authentication Issues: Production and Origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 00. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12278>
- Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., Dolatkahnejad, M. R., & Monfared, A. B. (2012). Suitability of MRS-bile agar for the selective enumeration of mixed probiotic bacteria in presence of mesophilic lactic acid cultures and yoghurt bacteria. *Iranian Journal of Biotechnology*, 10(1), 16–21.
- Stellar University of Northshield. (2015). Sweetening Agents. Recuperado el 3 de octubre de 2019, de northshield.org
- Stijepić, M., Đurđević-Milošević, D., & Glušac, J. (2012). Production of Low Fat Yoghurt Enriched With Different Functional Ingredients. *Quality of Life (Banja Luka) - APEIRON*, 5(1–2), 5–12. <https://doi.org/10.7251/QOL1201005S>
- Tacha Mahecha, F. A., & Moreno Rodriguez, J. A. (2016). *Plan de manejo y aprovechamiento forestal de Acacia mangium willd en la finca El Delirio, Puerto Lleras Meta, periodo 2014-2030*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
- Tamime, A., & Robinson, R. (1991). *Yogur Ciencia y Tecnología*. Zaragoza: Acribia S.A.
- Ulrich Landry, B. K., Moumita, S., Jayabalan, R., & Ngoufack François, Z. (2016). Honey , probiotics and prebiotics : review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(5), 2428–2438. <https://doi.org/0975-8585>
- Uriot, O., Denis, S., Junjua, M., Roussel, Y., Dary-Mourot, A., & Blanquet-Diot, S. (2017). Streptococcus thermophilus: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? *Journal of Functional Foods*, 37, 74–89.

- <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.038>
- USDA. (2001). USDA Specifications for Yogurt , Nonfat Yogurt and Lowfat Yogurt.
- USDA. (2019). FoodData Central search results: Yogurt, plain, whole milk. Recuperado el 20 de noviembre de 2019, de <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171284/nutrients>
- Vanegas-Azuero, A.-M., & Gutiérrez, L.-F. (2018). Physicochemical and sensory properties of yogurts containing sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and β -glucans from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Dairy Science*, 1020–1033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13235>
- Varga, L. (2006). Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, 108(2), 272–275. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.014>
- Venir, E., Spaziani, M., & Maltini, E. (2010). Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.012>
- Walstra, P. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos* (1a ed.). Zaragoza: Acribia S.A.
- Williams, E. B., Hooper, B., Spiro, A., & Stanner, S. (2015). The contribution of yogurt to nutrient intakes across the life course. *Nutrition Bulletin*, 40(1), 9–32. <https://doi.org/10.1111/nbu.12130>
- Yildez, F. (2010). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group.
- Zapata, I. C., Sepúlveda-Valencia, U., & Rojano, B. A. (2015). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas, probióticas y antioxidantes de yogurt saborizado con mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw). *Información Tecnológica*, 26(2), 17–28. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000200004>

