

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Desarrollo de una bebida fermentada saborizada de soya

Carla Almendáriz

Elizabeth Bolaños

Tesis de grado presentada para la obtención
del Título de Ingeniería en Alimentos

Quito

Enero 2012

Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Agricultura, Alimentos y Nutrición

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

Desarrollo de una bebida fermentada saborizada de soya

Carla Almendáriz

Elizabeth Bolaños

Javier Garrido, MSc.

Director de Tesis

Coordinador Ingeniería de Alimentos

Lucía Ramírez C, DSc.

Miembro del Comité de Tesis

Bárbara Yamila Álvarez, Dr.C.

Miembro del Comité de Tesis

Stalin Santacruz, Ph.D.

Miembro del Comité de Tesis

Michael Koziol, DPhil

Decano del Colegio CAAN

Quito, enero de 2012

©Derechos de autor

Carla Almendáriz y Elizabeth Bolaños

2012

Dedicatoria

A nuestros padres y hermanos, por su amor y apoyo incondicional, por su ejemplo y confianza en nosotras y por enseñarnos a actuar siempre con responsabilidad y honestidad; teniendo presentes los preceptos de Dios.

Agradecimiento

A todos nuestros maestros de la especialización; Javier Garrido, Lucía Ramírez, Yamila Álvarez, Francisco Carvajal y Stalin Santacruz, por sus valiosas enseñanzas a lo largo de nuestra formación académica; especialmente a Javier y Lucía, por su inestimable aporte al desarrollo de este proyecto de grado.

A Mario Caviedes, por su constante apoyo y contribución para esta tesis. Y, finalmente, pero no desmerecido agradecimiento al Departamento de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito, por su colaboración en este trabajo.

Resumen

Se desarrolló una bebida fermentada y saborizada de soya con el fin de obtener producto a base de esta leguminosa que presentara características organolépticas agradables para un amplio sector de la población. Para conocer cuál sería la formulación que permitiría obtener las propiedades deseadas del producto se realizó un diseño factorial completamente al azar 2^3 en los que se estudiaron las siguientes variables: concentración de sacarosa (S 1.5 % y 3 %), concentración de goma (G 0.25 % y 0.5 %) y temperatura de fermentación (T 36 °C y 44 °C). Luego del análisis de los datos obtenidos durante el desarrollo del diseño experimental se determinó que el mejor tratamiento era la combinación S 3 %, G 0.5 % y T 36 °C.

Con esta formulación se procedió al análisis sensorial en el cual se trabajó sobre distintos sabores agregados a la mezcla base y la textura final del producto deseada por los consumidores. Se realizó el estudio sensorial final con muestras saborizadas con vainilla y guanábana. Para analizar los datos obtenidos en la Evaluación Sensorial se utilizaron las pruebas *t*, *d'* e Índice *R*. El análisis de los tres datos estadísticos dio como resultado diferencia entre el nivel de agrado de ambos sabores siendo el de guanábana el que tuvo una mejor respuesta por parte de los consumidores.

Se determinó la vida útil del producto utilizando como variables para el análisis: pH, porcentaje de acidez, recuento total de bacterias y mohos y levaduras. El cálculo se realizó con el valor de pH el cual va disminuyendo conforme transcurre el tiempo de almacenamiento, obteniéndose un resultado de tiempo de vida útil de 30 días cuando el producto se mantiene en refrigeración a 4 °C.

También se realizó una investigación de mercado con el fin de identificar objetivamente una plaza de consumidores y medir su tamaño. Se aplicó una encuesta para estimar la demanda potencial del producto, siendo ésta de 1.6 L/mes por persona. Además, se determinó que los consumidores preferentemente estarían dispuestos a comprar una porción de 240 mL y a pagar por ésta \$0.70.

Una porción (240 mL) de la bebida fermentada saborizada de soya aporta con 130 calorías, es buena fuente de proteína (14% VDR), tiene 3 g de grasa y 17 g de carbohidratos totales, de los cuales únicamente 2 g son azúcares. El producto desarrollado recibió el nombre de bSoy elaborado por la empresa BFoods localizada en Pichincha, Ecuador.

Abstract

A fermented flavored soy based drink was developed in order to create a product which presented palatable organoleptic characteristics for a wide section of the population. A completely randomized design 2^3 was used, in which the next variables were tested: sucrose concentration (S 1.5 % and 3 %), guar gum concentration (G 0.25 % and 0.5 %) and fermentation temperatura (T 35 °C and 44 °C). After the analysis of the data, it was determined that the best combination was S 3%, G 0,5 % and T 35 °C.

The Sensory Analysis was applied on this formula. Special attention required the flavors added to the prebase and the final texture of the product, in order to satisfy what the consumers expected. This study was realized using vanilla and guanabana flavors. The objective of the Sensory Evaluation was to determine if any difference between the levels of satisfaction of each sample exists. Both traditional and Thurstonian Model based methods of analysis were used, obtaining recurrent results on the higher satisfaction of the guanabana sample over vanilla.

Shelf life of the product was calculated using as variables of control the pH, acidity, total bacterial count, and yeast and mould count. The analysis showed that the pH decreased when time was increased, being the drink stable for 30 days when kept refrigerated at 4 °C. On the other hand, a market study was completed to obtain data on the monthly potential demand of the product. A survey was applied to this demand, getting a result of 1,6 L/month for each person. Data also showed that consumers would prefer a presentation of 240 mL and a price of \$0.70 the unit.

One portion (240 mL) of the fermented flavored soybased drink provides 130 calories. It is a good source of protein (14% DRV), has 3 g of fat and 17 g of total carbohydrates of which only 2 g are sugars. This product received the name of bSoy and will be elaborated by BFoods company located in Pichincha, Ecuador.

Índice de Contenidos

I.	Definición del Producto	1
II.	Grupo Objetivo	1
III.	Introducción	2
IV.	Objetivos.....	6
	General.....	6
	Específicos	6
V.	Justificación	7
VI.	Revisión Bibliográfica	12
	Alimentos Fermentados y uso de bacterias ácido lácticas	12
	Características de las Bebidas Fermentadas	14
	Efecto de los iones sodio en el sabor	15
	Efecto de la fermentación en el sabor	16
	Efecto de la fermentación sobre las proteínas.....	17
	Efecto de la fermentación sobre las isoflavonas	17
VII.	Formulación y Diseño Experimental	18
	Elección de materia prima	18
	Elección del cultivo iniciador	18
	Desarrollo de la formulación	19
	Diseño Experimental.....	20
	Preparación de las muestras	22
	Medición de variables.....	23
	Análisis estadístico	24
VIII.	Resultados y Discusión.....	25
	Tiempo de fermentación (h)	25
	Viscosidad (cP).....	27
	Acidez (Porcentaje de ácido láctico)	30
	Cambio en el contenido de sólidos solubles (Porcentaje de sólidos solubles)	32
IX.	Evaluación Sensorial	37
	Estudio sensorial preliminar 1	37

Estudio sensorial preliminar 2	38
Estudio sensorial	38
Análisis Tradicional	40
Análisis según el Modelo Thurstoniano.....	41
Resumen de los resultados obtenidos mediante los tres estadísticos (Modelo Tradicional y Thurstoniano)	44
X. Formulación y Elaboración Final del Producto	45
Formulación	45
Descripción de cada etapa.....	47
Elaboración industrial	49
XI. Estudio de Mercado	51
Desarrollo de la Encuesta.....	52
Cálculo de la Demanda Aparente	56
Conclusiones.....	56
XII. Estudio de Costos (Costos de materias primas y material de empaque)	58
XIII. Estudio de Vida Útil y compatibilidad con el envase.....	61
XIV. Composición Final y Métodos Analíticos e Instrumentales	62
XV. Situación Legal	64
Creación de la compañía.....	64
Registro Sanitario	65
Etiquetado	66
Logo y Etiqueta Nutricional	67
XVI. Documentación de la producción	69
Especificaciones de materia prima	69
Especificaciones producto semi-elaborado.....	78
Especificaciones de producto terminado	83
Programas de control	85
XVII. Seguridad Alimentaria	91
Limpieza y Desinfección	91
HACCP.....	94
Control de plagas	100

Plan de Muestreo	102
XVIII. Conclusiones	104
XIX. Recomendaciones	105
XX. Bibliografía	107

Índice de Tablas

Tabla 1. Producción Mundial de Soya en toneladas métricas	2
Tabla 2. Formulación del prototipo final.....	20
Tabla 3. Diseño Experimental Aplicado: DCA con arreglo factorial 2 ³	21
Tabla 4. Especificaciones de las variables del diseño experimental	23
Tabla 5. Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) del Tiempo de Fermentación de los tratamientos	25
Tabla 6. Tiempo de fermentación de los tratamientos.....	26
Tabla 7. Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) de la Viscosidad de los tratamientos .	27
Tabla 8. Viscosidad de los tratamientos	28
Tabla 9. Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) de la Acidez de los tratamientos.....	30
Tabla 10. Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) del cambio en el contenido de Sólidos Solubles de los tratamientos	32
Tabla 11. Cambio en el contenido de sólidos solubles de los tratamientos	33
Tabla 12. Tabla de ponderación de variables	34
Tabla 13. Tabla de ponderación de variables para cada tratamiento analizado	35
Tabla 14. Formulación final, previa la Evaluación Sensorial.....	36
Tabla 15. Categorías de los sabores Guanábana (923) y Vainilla (692)	42
Tabla 16. Resumen de los resultados obtenidos mediante los tres estadísticos	44
Tabla 17. Formulación final de la bebida saborizada de soya.....	45
Tabla 18. Costos de las materias primas para la bebida fermentada saborizada de soya	58
Tabla 19. Costo de la producción de una unidad de bebida fermentada saborizada de soya	59
Tabla 20. Análisis Físico-Químicos y Microbiológicos de la bebida fermentada saborizada de soya.....	62
Tabla 21. Información nutricional de bSoy	68
Tabla 22. Características sensoriales del grano de soya.....	69
Tabla 23. Características microbiológicas del grano de soya.....	69
Tabla 24. Características físico-químicas y sensoriales del agua potable	70
Tabla 25. Características microbiológicas del agua potable.....	71
Tabla 26. Características físico-químicas de la goma guar	71
Tabla 27. Características microbiológicas de la goma guar	72
Tabla 28. Características físico-químicas de la sucralosa	72
Tabla 29. Características microbiológicas de la sucralosa	72
Tabla 30. Características sensoriales del benzoato de sodio	73
Tabla 31. Características físico-químicas del ácido láctico.....	74
Tabla 32. Características sensoriales del ácido láctico.....	74
Tabla 33. Características físico-químicas de la lectina de soya	75

Tabla 34. Características sensoriales de la lecitina de soya	75
Tabla 35. Características microbiológicas de la lecitina de soya	75
Tabla 36. Características físico-químicas de la esencia de yogurt	76
Tabla 37. Características sensoriales de la esencia de yogurt	76
Tabla 38. Características físico-químicas de la esencia de guanábana.....	77
Tabla 39. Características sensoriales de la esencia de guanábana.....	78
Tabla 40. Características físico-químicas del EHS	78
Tabla 41. Características sensoriales del EHS.....	79
Tabla 42. Características microbiológicas del EHS	79
Tabla 43. Características físico-químicas de la mezcla para fermentación	80
Tabla 44. Características sensoriales de la mezcla para fermentación	80
Tabla 45. Características microbiológicas de la mezcla para fermentación.....	81
Tabla 46. Características físico-químicas de la mezcla fermentada.....	81
Tabla 47. Características sensoriales de la mezcla fermentada	82
Tabla 48. Características microbiológicas de la mezcla fermentada.....	82
Tabla 49. Características físico-químicas de la bebida de soya	83
Tabla 50. Características sensoriales de la bebida de soya.....	83
Tabla 51. Características microbiológicas de la bebida de soya	84
Tabla 52. Programa de limpieza y sanitización.....	91
Tabla 53. Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control	94

I. Definición del Producto

El producto es una bebida que se elabora utilizando como materia prima granos secos de soya, los cuales pasan por un proceso de hidratación, cocción en solución de bicarbonato de sodio, licuado, filtrado, homogenizado y pasteurizado para obtener el extracto hidrosoluble de soya (EHS), al cual se le adiciona sacarosa, goma guar, lecitina y benzoato de sodio. Esta mezcla será modificada por una fermentación ácido láctica por *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*. Posteriormente la mezcla fermentada es licuada para obtener la textura deseada, endulzada con sucralosa y saborizada con sabor artificial de guanábana y yogurt. Tiene una presentación de 240 mL.

II. Grupo Objetivo

El grupo objetivo de consumidores para este producto está enfocado a aquellos que buscan productos bajos en azúcar y contenido de grasa, de origen vegetal, sin colesterol y sin lactosa. Por eso es recomendable su consumo por personas que sufren de intolerancia a la lactosa, personas que buscan controlar o reducir su peso corporal y aquellos que sufren de problemas cardíacos por los beneficios otorgados por la proteína de soya para la salud del corazón.

III. Introducción

Durante las dos décadas pasadas, investigadores han documentado los beneficios del consumo de la proteína de soya principalmente para aquellos que la ingieren diariamente. Estudios epidemiológicos indican que las poblaciones que consumen con mayor frecuencia productos a base de soya tienen menor incidencia de cáncer de seno, colon y próstata; enfermedades cardíacas, osteoporosis y síntomas de menopausia.

Los granos de soya son una excelente y relativamente económica fuente de proteína de alta calidad. Los productos a base de soya han sido consumidos desde hace siglos por hombres y mujeres adultos y por niños, como parte de la dieta tradicional, en Asia (AlproSoya, 2008).

La producción mundial de soya para el año 2009 fue de 210 millones de toneladas. Los mayores productores de soya a nivel mundial se presentan en la tabla con sus respectivas cantidades expresadas en millones de toneladas métricas (The America Soybean Association, 2011).

Tabla 1. Producción Mundial de Soya en toneladas métricas

País	Millones de toneladas métricas
Estados Unidos	80,7
Brasil	57
Argentina	32
China	15,5
India	9,1
Paraguay	3,9
Canadá	9,3
Otros	9,3

En lo referente a la producción nacional, el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (Magap, 2010) provee de datos sobre la producción de soya a nivel nacional y su evolución a través de los últimos años. Las mayores fluctuaciones se encuentran en el área destinada para la producción de este cultivo.

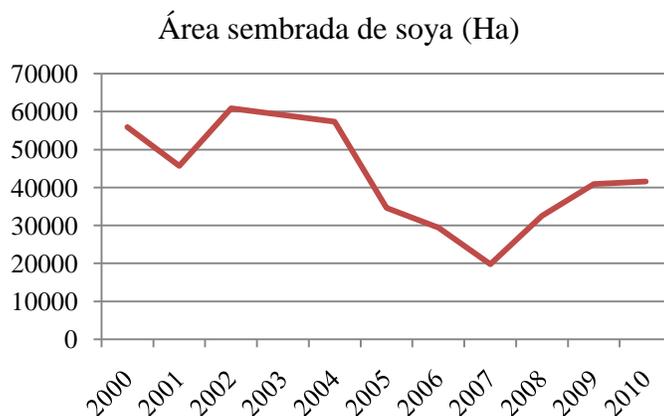


Gráfico 1. Área sembrada de soya: récord histórico 2000-2010 (SIGAGRO: Sistema de Información Geográfico y Agropecuario).

La variabilidad del área de producción de soya a nivel nacional se refleja en amplias fluctuaciones en la cantidad producida. Sin embargo el rendimiento de la producción de esta leguminosa se ha mantenido constante a lo largo de la década pasada.

A nivel nacional la soya no es uno de los principales cultivos por lo que se realizan importaciones especialmente de países de la zona andina. El gráfico 2 muestra las importaciones realizadas para el año 2008 y su correspondiente cantidad en toneladas y miles de dólares utilizados en esta actividad económica.

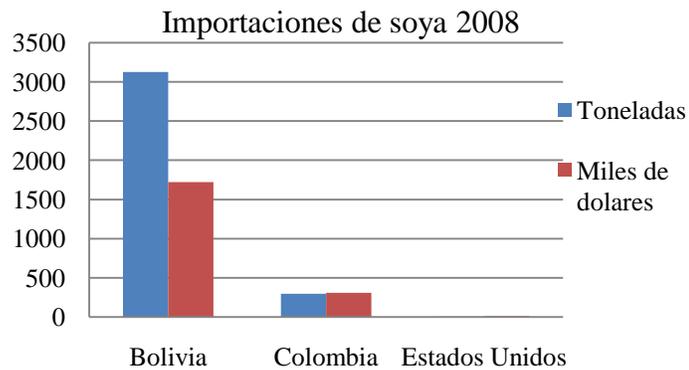


Gráfico 2. Importación de soya 2008 (FAO Dirección de Estadística 2011).

Debido a las características de la materia prima, los productos a base de soya tienen una puntuación química de aminoácidos corregido por digestibilidad de proteína, PDCAAS por sus siglas en inglés, sobre el 0.9, el cual es similar al encontrado en la proteína de la leche y de la carne (Sarwar, 1985). La diferencia de digestibilidad de la proteína ocurre durante el procesamiento. Recientes revisiones de literatura afirman que los productos a base de soya son tan buenos como otras fuentes de proteína en la promoción de la pérdida de peso y que pueden proveer otras ventajas como reducción del colesterol (AlproSoya, 2008). Contiene un 18% de grasa, este contenido es muy rico en ácidos grasos insaturados (54% de ácido linoléico, 22% de ácido oléico y 7,5% de ácido linolénico) y contiene 0,5% de lecitina (Brower, 2004).

Su contenido de humedad es del 14% y de carbohidratos del 30% dividiéndose éste en un 15% de carbohidratos solubles como sacarosa, rafinosa y estaquiosa y 15% de carbohidratos insolubles y fibra dietaria (Singh, 2008), la cual es una mezcla de componentes estructurales celulósicos y no celulósicos (Brown, 1993). Los oligosacáridos rafinosa y estaquiosa son los responsables de la flatulencia (Steggerda, 1966). El contenido de estos carbohidratos en la soya es ligeramente mayor que en otro tipo de leguminosas. Sin embargo,

pueden existir efectos beneficiosos asociados al consumo de los oligosacáridos, debido a su propiedad prebiótica, que estimulan el crecimiento y/o la actividad de uno o de un limitado número de bacterias del colon y por lo tanto mejoran la salud del individuo. Se ha manifestado que los oligosacáridos de la soya promueven la salud del colon, incrementando la longevidad y disminuyendo el riesgo de cáncer de colon (Gibson, 1995). Varios estudios han demostrado que los oligosacáridos presentes en la soya incrementan la población de bifidobacteria de 2 a 10 veces en seres humanos (Hayakawa, 1990).

El contenido de vitaminas de la soya es similar al encontrado en otras leguminosas, por lo tanto, es alto en folato y otras vitaminas del grupo B, también es una buena fuente de minerales como potasio, fósforo, manganeso y magnesio. La soya provee aproximadamente el 30% de hierro, menos del 10% de zinc y 10% de calcio, basándose en el requerimiento de adultos diario de minerales. La mayoría del hierro de la soya está presente en la forma de ferritina, que aparentemente es una forma biodisponible. Por otro lado, la soya contiene componentes que pueden inhibir la absorción mineral, como el oxalato y el fitato (AlproSoya, 2008).

IV. Objetivos

General

Elaborar una bebida fermentada a partir de un extracto hidrosoluble de soya que presente características organolépticas agradables para un amplio sector de la población.

Específicos

- Modificar el sabor amargo y afrijolado de la soya en el producto final.
- Obtener una bebida que cumpla con las normas establecidas por la FDA para productos provenientes de soya.

V. Justificación

La soya y sus subproductos tienen innumerables aplicaciones en el área de los alimentos, tanto aquellos destinados para el consumo humano como aquellos destinados para el consumo animal, entre estos se pueden nombrar bebidas; productos de panadería y pastelería; spreads como mayonesa, margarina y mantequilla de maní; productos en polvo como suplementos de proteína, bebidas, cremas para café; alimentos tradicionales a base de soya como el miso, tempeh, “leche de soya”, tofu y salsa de soya; sustitutos de carne, entre muchos otros (The American Soybean Association, 2011).

Se han realizado estudios para desarrollar imitaciones de leche, es decir productos que se obtienen desde materiales alimenticios de origen vegetal (Yadav, 2010), obteniéndose productos tipo leche y yogurt en base no láctea a partir de arroz, soya, maní y otras legumbres. Los principales problemas encontrados se deben a la dificultad para obtener características de textura, apariencia y calidad sensorial comparables a las que posee el producto ordinario. Las investigaciones han incluido el uso de diferentes materiales como fuente de sustratos que sirvan de base para la fermentación, incluyendo a aquellos provenientes de la leche como lactosa, suero y caseína (Martensson, 2001).

En la India se desarrolló un producto tipo yogurt utilizando maní para preparar un sustituto de leche a partir de la hidratación y molienda de maníes con agua seguida por un proceso de filtrado. Se identificó al hexanal como uno de los compuestos responsables del indeseable sabor a “nuez” y este puede ser removido durante la fermentación que provoca el desarrollo de ácido, consumo de carbohidratos, desarrollo de sabor y de una cantidad viable de microorganismos (Yadav, 2010).

El sabor es un factor limitante al momento de desarrollar productos a base de soya. Dispersiones de harina de soya, concentrados y aislados de proteína y productos tradicionales a base de soya han sido evaluados sensorialmente y su sabor ha sido descrito como afrijolado, amargo, sabor a tiza y astringente por los panelistas sensoriales (Aldin, 2006).

El grupo de compuestos responsables del sabor rechazable de la soya es amplio y entre ellos se encuentran:

- Ácidos fenólicos: que pueden contribuir al sabor amargo.
- Ácidos grasos insaturados: si estos se oxidan pueden generar sabores extraños, amargos y afrijolados.
- Isoflavonas y saponinas: otorgan atributos sensoriales amargos y astringentes (Aldin, 2006).
- Péptidos de sabor amargo: se observa su formación en los productos a base de soya cuando estos han soportado procesamientos que inducen la hidrólisis y se ha identificado que las fracciones de peso molecular de 0,32- 2,1 kDa son responsables del mismo (Maehashi, 2009).
- Aldehídos, cetonas y alcoholes: proveen el sabor afrijolado (Blagden, 2005).

Métodos propuestos para remover o eliminar estos sabores incluyen tratamiento térmico, acidificación, tratamiento enzimático, extracción con dióxido de carbono supercrítico, alteración genética de la soya y adición de compuestos con sabor. Aun cuando todos estos procedimientos tienen el potencial de remover o enmascarar el sabor afrijolado, todos tienen aspectos negativos ya sea con respecto a la funcionalidad de la proteína hasta la adición de otros atributos sensoriales negativos (Blagden, 2005).

La soya es una buena fuente de fitoesteroles (Tatematsu, 2004), compuestos funcionalmente análogos al colesterol (Bean, 1973) y en la actualidad son considerados un producto no farmacéutico importante para disminuir los niveles elevados de colesterol en la sangre (Wolfs, 2006). Contiene isoflavonas que tienen efectos hormonales y no hormonales y han sido objeto de estudio debido a su papel importante en el mejoramiento de los síntomas de las mujeres menopaúsicas, especialmente en el alivio los sofocos (Messina, 2007). Las isoflavonas son compuestos difenólicos que tienen una estructura química similar a la del estrógeno. (AlproSoya, 2008). Después de la ingesta, las isoflavonas son hidrolizadas por las glucosidasas intestinales, encargadas de liberar las agliconas (Cassidy, 2006).

Las poblaciones asiáticas tradicionalmente han consumido soya en forma de alimentos fermentados, y dado que estos alimentos contienen una mayor proporción de isoflavonas aglicona, se ha sugerido que puede ser más biodisponible ya que estas agliconas no requieren de la hidrólisis en el intestino antes de la absorción.

Otro de los fitoquímicos importantes presentes en la soya es el inhibidor Bowman-Birk, que ha despertado el interés de los científicos por sus posibles efectos anticancerígenos (Kennedy, 1998).

Adicionalmente, uno de los motivos por los cuales esta leguminosa es de interés investigativo es debido a su utilidad en el grupo de la población que presenta intolerancia a la lactosa la cual es la causa principal de los problemas intestinales como el síndrome del intestino irritable (IBS). La intolerancia a la lactosa sucede cuando alguien consume este disacárido y el intestino no puede digerirla eficientemente (AlproSoya, 2008). Los síntomas resultantes de la sensibilidad a la lactosa son causados por la producción de gases, como el

metano e hidrógeno (Campbell, 2005). Por todos estos motivos, los productos a base de soya es un sustituto ideal a la leche de vaca y sus derivados.

Basándose en la evidencia científica, incluir en la dieta 25-50 g de proteína de soya dos veces al día produjo cambios favorables y significativos en las lipoproteínas séricas como son disminución del colesterol LDL y triglicéridos mientras que el colesterol HDL aumentó.

La ingesta de proteína de soya disminuye el colesterol sérico y los valores del colesterol LDL en humanos y reduce los riesgos de arteroesclerosis en modelos animales (Meeker, 1940). Estas investigaciones utilizaron proteína aislada de soya (ISP Isolated Soy Protein), EHS, productos de EHS fermentado y bebidas a base de esta leguminosa, recalando que el EHS y el EHS fermentado tienen efectos hipocolesterolémicos significantes (AlproSoya, 2008).

Debido a esto la Administración de Alimentos y Medicamentos, FDA por sus siglas en inglés, estableció que el consumo de veinticinco gramos de proteína de soya como parte de una dieta baja en grasas saturadas y colesterol, puede reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. La FDA ha aprobado el rotulado de la “declaración de salud” para la proteína de soya en los Estados Unidos y ha acordado que los productos que contienen 6,25 g de proteína de soya y que son bajos en grasa, grasa saturada y colesterol, pueden elegir entre estas dos opciones de “declaración” (Singh, 2008):

- 25 g de proteína de soya al día como parte de una dieta baja en grasas saturadas y colesterol puede reducir el riesgo de enfermedades cardíacas.
- Una dieta baja en grasas saturadas y colesterol que incluyen 25 g de proteína de soya al día pueden reducir el riesgo de enfermedades cardíacas.

Un estudio sobre la reducción del colesterol sérico en adultos hipercolesterolémicos realizado por Hori, determinó que el consumo de 3 y 6 gramos de una preparación de los péptidos de soya reduce el colesterol sérico y el colesterol LDL en un 26 y 42% respectivamente. Se sugiere que estos péptidos reducen el colesterol LDL mediante la regulación de los receptores LDL en el hígado, proceso que tiene un papel importante en la eliminación del colesterol LDL encontrado en la circulación (Lovati, 2000).

Alimentos a base de soya que no han sido expuestos a un calentamiento agresivo pueden tener mayor efecto hipocolesterolémico, debido a que los péptidos bioactivos de la soya no han sido degradados de forma aleatoria (AlproSoya, 2008).

En la actualidad, es generalmente aceptado que la proteína es el macronutriente que produce mayor saciedad (Poppit, 1998). La proteína de soya puede tener una propiedad saciante mayor, cuando es comparada con otras fuentes de proteína (AlproSoya, 2008).

La digestión de la proteína lidera la estimulación de muchas respuestas fisiológicas y metabólicas conocidas por estar involucradas en la regulación de la ingesta de alimentos. Se conoce que el consumo de proteína desencadena señales de saciedad desde el intestino (Douglas, 1988).

VI. Revisión Bibliográfica

Alimentos Fermentados y uso de bacterias ácido lácticas

Los alimentos fermentados se definen como aquellos alimentos en los que microorganismos han causado reacciones bioquímicas deseables las cuales conllevan a cambios significativos en los alimentos. Durante el proceso de fermentación un sustrato orgánico, usualmente un carbohidrato se oxida incompletamente y existe un compuesto orgánico el cual actúa como aceptor final de electrones (Sahlin, 1999).

La fermentación de alimentos ofrece ciertas ventajas entre ellas (Steinkraus, 1996):

- Provee alimentos resistentes al deterioro y al desarrollo de toxinas.
- Menor probabilidad de que los alimentos transfieran microorganismos patógenos.
- Se consigue un tiempo de vida útil más prolongado.
- Existe modificación del sabor original de los ingredientes y mejoran el valor nutricional.

Tradicionalmente las bacterias ácido lácticas son los microorganismos más utilizados como cultivos iniciadores para realizar fermentaciones controladas en alimentos ya sea en productos lácteos, cárnicos o a base de vegetales. Su importancia está asociada a su actividad metabólica segura mientras crecen en los alimentos utilizando carbohidratos disponibles para la producción de ácidos orgánicos y otros metabolitos.

El grupo de las bacterias ácido lácticas es heterogéneo y presenta las siguientes características generales: reacción positiva al test de Gram, son no esporulantes, presentan ausencia de catalasa, carecen de citocromos, su metabolismo es anaerobio pero presentan cierto grado de aerotolerancia y su principal producto final durante la fermentación de

carbohidratos es el ácido láctico. Pueden agruparse en 20 géneros, entre los más conocidos y utilizados se encuentran *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*. *Lactobacillus* es el género más amplio y comprende alrededor de 80 especies reconocidas.

Debido a la incapacidad para sintetizar porfirinas, las bacterias ácido lácticas no poseen ni catalasas ni citocromos, por lo tanto no poseen una cadena de transporte de electrones y dependen de la fermentación para generar energía. Existen dos rutas metabólicas principales para la fermentación de monosacáridos (hexosas) las cuales son la fermentación homoláctica, es decir glucólisis y la fermentación heteroláctica o ruta de 6-fosfogluconato-fosfoquetolasa, en la cual además de la producción de ácido láctico existe la producción de etanol y dióxido de carbono; basado en el metabolismo, las bacterias ácido lácticas pueden dividirse en 3 categorías metabólicas: homofermentativas, heterofermentativas, y heterofermentativas facultativas (Aarnikunnas, 2006).

Las bacterias ácido lácticas que utilizan la ruta metabólica de la glucólisis usan una mol de glucosa para la obtención neta de 2 moléculas de ATP y se obtiene como producto de la fermentación lactato. Por otro lado las bacterias ácido lácticas que utilizan la ruta 6-fosfogluconato-fosfoquetolasa obtienen un mol de ATP por mol de glucosa en un proceso heterofermentativo que produce etanol y lactato.

Además, la importancia de la acción metabólica de las bacterias ácido lácticas se ve reflejada en la producción de exopolisacáridos, es decir polisacáridos que son secretados al exterior de la pared celular (Cerning, 1995) con un peso molecular aparente de 4×10^4 hasta 6×10^6 (De Vuyst, 1999) y funcionan como compuestos espesantes que aportan a la textura y estabilidad del producto. La síntesis y secreción de exopolisacárido ocurre durante diferentes etapas del crecimiento y el tipo de polímero es influenciado por las condiciones de crecimiento

como temperatura y tiempo de incubación (Cerning, 1995). Los exopolisacáridos producidos por bacterias ácido lácticas pueden dividirse en dos grupos:

- Homopolisacáridos: entre los que se encuentran los α -D-glucanos, β -D-glucanos, fructanos, oligopolisacáridos
- Heteropolisacáridos: producidas por bacterias ácido lácticas mesófilas o termófilas.

Lactobacillus dellbruckii spp. bulgaricus no utiliza la sacarosa pero se desarrolla en sinergia con *Streptococcus salivarius spp. thermophilus* puesto que es capaz de fermentar lactosa, glucosa, fructosa y galactosa.

Características de las Bebidas Fermentadas

Entre los atributos físicos de las bebidas fermentadas se incluyen la falta de separación visual de suero y la viscosidad percibida. Estabilizantes como la pectina o gelatina son usualmente agregados a la base de leche para mejorar y/o mantener las propiedades apropiadas del yogur, incluyendo la textura, sensación bucal, apariencia, viscosidad, consistencia y prevención de separación del suero. El uso de estabilizantes ayuda a proveer una consistencia más uniforme y menor variación entre lotes.

Bebidas con características similares a los yogures tienen características de textura de materiales pseudoplásticos, exhibiendo un comportamiento de “pérdida de viscosidad por corte” dependiente del tiempo. No es un material tixotrópico verdadero debido a que el efecto del esfuerzo cortante aplicado causa un rompimiento no reversible aun cuando éste para (Lee, 2010).

La textura de este tipo de productos puede presentar diversos defectos lo cuales otorgan características indeseables en el producto, como por ejemplo (Lucey, 2004):

- Cuerpo muy ligero: causado por un bajo contenido de sólidos, poca concentración de estabilizante, exagerada desnaturalización de proteínas por tratamiento térmico, altas temperaturas de incubación y excesiva ruptura de la estructura del gel debido a tratamiento mecánico.
- Desuerado: causado por un temperatura de incubación muy alta, bajo contenido de sólidos como proteína y grasa, cambios de temperatura drásticos durante la manipulación (almacenamiento y transporte). El suero formado en la superficie del gel durante la incubación es en cierta medida reabsorbido cuando la temperatura del producto baja.
- Granulosidad: causado por grandes agregados proteicos (1-5mm), temperaturas de incubación demasiado elevadas y ciertos tipos de cultivo. Este efecto puede disminuir con el mezclado y batido.

Efecto de los iones sodio en el sabor

Existen pocos inhibidores del amargor, pero estudios psicoquímicos han demostrado que la supresión del sabor amargo es un efecto periférico oral de los iones a un nivel celular/epitelial mas no un efecto cognitivo, es decir del proceso central de la percepción del sabor.

Se han realizado investigaciones utilizando sales de sodio como gluconato de sodio, glutamato monosódico, adenosin monofosfato (Keast, 2004) y bicarbonato de sodio (Kanda H. W., 1976). La cocción en soluciones de bicarbonato es una técnica empleada en países asiáticos para la elaboración del EHS (Kanda H. W, 1976). El mecanismo por el cual la cocción con soluciones de sodio mejora el sabor de los productos a base de soya no se ha

dilucidado por completo pero se asume que el responsable de disminuir el sabor característico del EHS es el incremento de la concentración de iones sodio mas no el aumento en sí del pH (Bourne, 1976).

Efecto de la fermentación en el sabor

Por otro lado, la fermentación provoca la disminución del pH y enmascara sabores desagradables. Esta técnica se ha utilizado durante largo tiempo en Asia para la producción de algunos productos de soya como son el miso, la salsa de soya y el tempeh. Desde 1960 se empezó a emplear los mismos cultivos empleados en la industria láctea en la fermentación de productos a base de soya. Estudios (Kanda H. W, 1976) (Bourne, 1976) han reconocido que la fermentación mejora la palatabilidad y la aceptabilidad de los consumidores por este tipo de productos.

Los mecanismos por los cuales la fermentación mejora las características organolépticas del producto son acidificación de la leche y el metabolismo bacteriano. Las bacterias ácido lácticas pueden reducir la concentración de n-hexanal, un compuesto que es responsable del sabor desagradable en productos a base de soya.

El EHS es potencialmente nutritivo para el crecimiento de bacterias especialmente por su contenido predominante de α -galactosil, oligosacáridos, rafinosa y estaquiosa por lo que el consumidor se beneficia en cuanto la reducción de la concentración de estos azúcares que son causantes de la flatulencia como son la rafinosa y la estaquiosa. Se producen además otros compuestos volátiles responsables del aroma y sabor de los alimentos fermentados (Estévez, 2010).

Efecto de la fermentación sobre las proteínas

La acidificación de la leche conlleva al rompimiento de las propiedades estructurales internas de la proteína. Al acercarse el pH al punto isoeléctrico existe un incremento en la atracción electrostática y aumenta la atracción entre moléculas de proteína (proteína-proteína) debido a que existen mayores interacciones hidrofóbicas.

Efecto de la fermentación sobre las isoflavonas

Estudios realizados con diferentes cepas de bacterias ácido lácticas han mostrado aumentos en la concentración de la forma agliconada de las isoflavonas en 5 a 8 veces con relación a la concentración hallada en el EHS no fermentado (Chun, 2007).

VII. Formulación y Diseño Experimental

Elección de materia prima

La materia prima utilizada es soya de la marca La Pradera, la cual ha sido sometida al proceso de pulido. La ficha técnica proporcionada por la empresa nos indica que las variedades utilizadas para elaborar este producto son INIAP 303 y 305. Además a este producto se le han realizado tanto análisis sensorial como análisis microbiológico.

En el análisis sensorial se incluyen color, café blanquecino; olor, suave y ausencia de olores extraños; aspecto, homogéneo y libre de partículas extrañas. En el análisis microbiológico se han realizado pruebas para determinar la ausencia de mohos y levaduras, coliformes totales y *E. coli*, además del conteo de aerobios totales, el cual debe ser menor a 10 UFC/mL.

La variedad 303 está adaptada a las condiciones ambientales de la Zona Central y se puede sembrar en época tempranas (febrero-marzo) y oportunas (mayo-junio). Es una variedad de alta producción y resistente al volcamiento (Díaz, 1985).

La variedad 305 fue desarrollado para la siembra en el litoral en el área de la Cuenca Alta y Baja del Río Guayas, durante la época seca, luego de la cosecha de arroz y/maíz (Guamán, 1993).

Elección del cultivo iniciador

Se utilizó el cultivo DRI SET 432 el cual presenta una composición de *Lactobacillus delbrueckii subs. bulgaricus* y *Streptococcus salivaricus subsp. thermophilus*. Este producto se obtiene por el proceso de liofilización y se empaca en sobre de aluminio laminado.

El uso de este producto en pruebas a nivel de laboratorio conlleva a la producción de yogur con sabor típico, alta viscosidad, una baja post-acidificación y sin producción de gas.

Desarrollo de la formulación

Se comenzó a desarrollar el prototipo de la bebida de soya partiendo de un EHS hecho con una relación 1:8, es decir, 1 parte de granos cocidos de soya y 8 partes de agua. Se determinó que esta relación producía un EHS poco concentrado, por lo que se probó con relaciones 1:5 y 1:3, resultando la relación 1:3 idónea para las características deseadas en el EHS.

Posteriormente, para poder reducir el sabor afrijolado de la soya y basándose en el estudio de Kanda et al (1976), se emplearon dos técnicas: remojo de los granos de soya durante 16 horas a temperatura ambiente y cocción de los granos hidratados en una solución de bicarbonato de sodio al 0.2% p/v.

Sin embargo, los granos de soya cocidos en la solución de bicarbonato de sodio al 0.2% p/v daban como resultado un EHS con un pH muy básico y por lo tanto, el tiempo de fermentación aumentaba; por lo que, se decidió cocer los granos de soya en una solución al 0.02% p/v y se observó que el efecto en la reducción del sabor afrijolado de la soya era tan efectivo como el proporcionado por la solución al 0.2% p/v.

Para la fermentación, se utilizó la especie *Lactobacillus*, basándose de igual manera en el estudio de Kanda et al (1976).

La bebida resultante de la fermentación, a veces, presentó separación de fases; para poder evitar este problema se utilizó goma, las concentraciones de este aditivo se mencionan en el Diseño Experimental.

Con todas estas consideraciones se elaboró el prototipo final sobre el cual se aplicó el diseño experimental con la siguiente formulación en base a 1L de EHS:

Tabla 2. Formulación del prototipo final

Ingrediente	Cantidad
Extracto hidrosoluble de soya	1 L
Goma guar	NE
Sacarosa	NE
Lecitina	0.2 g
Benzoato de sodio	0.2 g
Solución de fermento*	400 µL

^{NE} No especificado, las cantidades a utilizar de goma guar y sacarosa se especifican en el Diseño Experimental.

* La solución de fermento se prepara utilizando un sobre para 50 L de Fermelac, contenido del cual se disuelve en 20 mL de EHS y se inocula utilizando una micropipeta dependiendo de la cantidad de producto a fermentar.

Diseño Experimental

Se utilizó el diseño completamente al azar con un arreglo factorial 2^3 correspondiente a la combinación de 3 factores con 2 niveles cada uno y con 3 repeticiones. Los factores a evaluarse fueron sacarosa (utilizando concentraciones de 1.5% y 3%), temperatura de incubación (35°C y 44°C) y concentración de goma guar (0.25% y 0.5%).

Se emplearon concentraciones de 3% y 1.5% basándose en el proceso de fermentación desarrollado por Kanda (1976), donde se utilizó 5% de sacarosa; sin embargo Kanda usó sacarosa para darle un nivel equilibrado de dulzor mas no como sustrato para la fermentación porque no es fundamental para el crecimiento de las bacterias. Por esta razón, se determinaron niveles más bajos de sacarosa para el diseño experimental.

Se utilizó 35 °C para la fermentación de acuerdo a la temperatura utilizada en el estudio de Kanda (Kanda H. W., 1976) y 44 °C, porque es la temperatura ideal para el desarrollo de las bacterias fermentativas (Fermeto Láctico FERMELOC).

Las concentraciones de goma guar utilizadas fueron 0.5% y 0.25%. Se estableció como nivel máximo 0.5% porque es el máximo porcentaje permitido en bebidas lácteas fermentadas y como nivel inferior 0.25% porque, experimentalmente, cuando se utilizaban porcentajes menores a éste, el producto fermentado presentaba sinéresis no deseada en su textura.

Aplicando este diseño se obtuvieron 24 unidades experimentales detalladas a continuación.

Tabla 3. Diseño Experimental Aplicado: DCA con arreglo factorial 2³

Factores	Tratamiento							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentración de sacarosa	1.5%	1.5%	3%	3%	1.5%	1.5%	3%	3%
Concentración de goma	0.25%	0.50%	0.25%	0.50%	0.25%	0.50%	0.25%	0.50%
Temperatura de incubación	35	35	35	35	44	44	44	44

Preparación de las muestras

1. Recepción de materia prima.
2. Selección de los granos de soya, separando impurezas como piedras y cáscaras.
3. Remojo de los granos secos de soya durante 16 h a temperatura ambiente utilizando 1 L de agua por cada 100 g de grano seco de soya.
4. Drenado del agua utilizada en el remojo.
5. Preparación de la solución de bicarbonato de sodio al 0.02%.
6. Ebullición de los granos en la solución de bicarbonato de sodio durante 5 min utilizando la relación 1 L de solución por cada 100 g de grano seco de soya.
7. Drenado el agua utilizada en la cocción.
8. Licuado de los granos con agua en una relación 1:3 en el orden respectivo.
9. Ebullición del producto del paso anterior durante 10 min.
10. Filtrado de la mezcla utilizando un lienzo, buscando extraer la mayor cantidad de extracto hidrosoluble de soya libre de ocará (bagazo de soya).
11. Regulación de la temperatura de la leche a 70 °C para su posterior homogenización.
12. Homogenización: 2 ciclos a 400 kPa.
13. Pasteurización del extracto hidrosoluble de soya (EHS) obtenido durante 10 min en ebullición.
14. Almacenamiento del EHS o continuación de proceso.
15. Adición de goma, sacarosa, benzoato de sodio y lecitina al EHS.
16. Regulación de la temperatura hasta 38-40 °C.
17. Adición del fermento láctico necesario para la cantidad de EHS a fermentar.

18. Fermentación del EHS en un envase tapado, para favorecer las condiciones de fermentación, hasta llegar a pH final de 4.2-4.5.
19. Saborizado.
20. Envasado.
21. Enfriamiento y almacenamiento del producto fermentado a temperatura de refrigeración.

Medición de variables

Las variables a medir fueron tiempo de fermentación, acidez titulable, viscosidad y cambio en el valor de sólidos solubles.

Las especificaciones de las variables se tomaron de acuerdo al producto fermentado a base de soya “Nutrivital”, datos presentados en la siguiente tabla.

Tabla 4. Especificaciones de las variables del diseño experimental

Especificación	Valor	Unidades
Acidez titulable	0.4	% de ácido láctico
Viscosidad	3041	cP

Con respecto a la variable valor de sólidos solubles, el producto mencionado anteriormente no pudo ser tomado como especificación debido a que posee azúcar y fruta, tampoco se pudo establecer como parámetro a un yogurt diet encontrado en el mercado, porque son obtenidos mediante la fermentación de la lactosa. Por lo que la especificación para esta variable se basó buscando un contenido de sólidos solubles menor que el encontrado en yogurt diet natural, para asegurar que su aporte calórico proveniente de azúcares sea bajo. Tanto el yogurt diet natural Toni, como Chivería, tienen 10.1% de sólidos solubles.

La medición de los sólidos solubles se realizó mediante el Método Refractométrico AOAC 932.12.

La acidez titulable se realizó a través del método AOAC “Titrimetric Method” 947.05.

El tiempo de fermentación fue medido en horas, entre el momento de la inoculación hasta alcanzar un pH entre 4.2-4.5 a 20°C.

La medición de la viscosidad se realizó en un viscosímetro Brookfield RV con una aguja número 4 y a 20 rpm, este equipo permite determinar la viscosidad de materiales líquidos newtonianos y no newtonianos (Özer B. , 2004) (Brookfield Engineering).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) individual para cada variables. Luego se realizó una prueba de separación de medias y significancia estadística utilizando el test de Tukey.

VIII. Resultados y Discusión

Tiempo de fermentación (h)

En la tabla 5 se presenta el resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) del tiempo de fermentación de los tratamientos.

Tabla 5. Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) del Tiempo de Fermentación de los tratamientos

Fuentes	Grados de libertad	SC	CM	Fcal.	F esp. 0.01	F esp. 0.05
Total	23	675.458				
Tratamientos	7	672.125	96.018	1792.333**	4.280	2.770
Temperatura (T)	1	672.042	672.042	12544.778**	8.860	4.600
Sacarosa (S)	1	0.0000	0.000	0.000 ^{NS}		
Goma (G)	1	0.0000	0.000	0.000 ^{NS}		
Interacción T*S	1	0.0000	0.000	0.000 ^{NS}		
Interacción T*G	1	0.0000	0.000	0.000 ^{NS}		
Interacción S*G	1	0.042	0.042	0.778 ^{NS}		
Interacción T*S*G	1	0.042	0.042	0.778 ^{NS}		
Error exp	14	0.750	0.054			

** Significativo al 1% de error para la prueba F.

^{NS} No Significativo ni al 1%, ni al 5% de error para la prueba F.

Como se puede observar en la tabla anterior, el ANOVA muestra que existió diferencia significativa entre los tratamientos con un error del 1%. Se analizó la influencia de los diferentes factores y de las interacciones entre éstos sobre el tiempo de fermentación, siendo la temperatura el único factor que influyó.

A continuación se muestra la prueba de separación de medias de los tratamientos para el tiempo de fermentación.

Tabla 6. Tiempo de fermentación de los tratamientos

Tratamiento	Tiempo (h)
2	21.83 (a)
3	21.83 (a)
4	21.75 (a)
1	21.67 (a)
5	11.17 (b)
6	11.17 (b)
7	11.17 (b)
8	11.17 (b)

Medias seguidas por las mismas letras no difieren entre sí al 1% de probabilidad por la prueba de Tukey.

Como se muestra en la Tabla 6, la prueba de Tukey no encontró separación entre las medias de los tratamientos a una misma temperatura, por lo que se asignó el rango (a) a aquellos incubados a 35 °C y el rango (b) a los que fueron incubados a 44 °C. La medición de la variable durante las 3 repeticiones otorgó datos con un desviación estándar (δ) de 0,2315 y un coeficiente de variación (CV) de 1.4063%. Tanto el valor de la desviación estándar como el del coeficiente de variación fueron bajos, indicando que la toma de datos fue precisa para esta variable (Cochran & Cox, 1965). Los mejores tratamientos para el tiempo de fermentación fueron los incubados a 35 °C, porque en bebidas fermentadas mediante la acción de bacterias ácido lácticas, una menor temperatura de incubación conlleva a un tiempo de gelación más largo pero se forman geles más firmes, viscosos y menos susceptibles a sufrir sinéresis (Lucey, 2004). Por lo que, los tratamientos no recomendados para esta variable fueron los incubados a 45 °C.

Viscosidad (cP)

En la Tabla 7 se muestra el resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) de la viscosidad de los tratamientos.

Tabla 7. Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) de la Viscosidad de los tratamientos

Fuentes	Grados de libertad	SC	CM	Fcal.	F esp. 0,01	F esp. 0,05
Total	23	10625780.990				
Tratamientos	7	10143585.156	1449083.594	45.532**	4.280	2.770
Temperatura (T)	1	4256731.510	4256731.510	133.751**	8.860	4.600
Sacarosa (S)	1	965006.510	965006.510	30.322**		
Goma (G)	1	3475106.510	3475106.510	109.192**		
Interacción T*S	1	820475.260	820475.260	25.780**		
Interacción T*G	1	316825.260	316825.260	9.9550**		
Interacción S*G	1	140683.594	140683.594	4.420 ^{NS}		
Interacción T*S*G	1	168756.510	168756.510	5.303*		
Error exp	14	445560.938	31825.781			

** Significativo al 1% de error para la prueba F.

* Significativo al 5% de error para la prueba F.

^{NS} No Significativo ni al 1%, ni al 5% de error para la prueba F.

Como se puede observar en la tabla 7, en el ANOVA existió una diferencia significativa entre los tratamientos con un error del 1%. La temperatura, sacarosa, goma, interacción temperatura-sacarosa e interacción temperatura-goma influyeron sobre esta variable con un error del 1%. Además, la interacción temperatura-sacarosa-goma también influyó sobre la viscosidad con un error del 5%. Por otro lado, la interacción sacarosa-goma no influyó significativamente sobre esta variable.

En la siguiente tabla se muestra la prueba de separación de medias para la viscosidad de los tratamientos.

Tabla 8. Viscosidad de los tratamientos

Tratamiento	Viscosidad (cP)
4	3150.00 (a)
2	3133.33 (a)
8	3075.00 (b)
3	2633.33 (c)
1	2587.50 (d)
6	1983.33 (e)
7	1763.33 (f)
5	1313.33 (g)

Medias seguidas por las mismas letras no difieren entre sí al 1% de probabilidad por la prueba de Tukey.

Como se muestra en la Tabla 8, los tratamientos con mayor viscosidad fueron el número 2 y 4, siendo éstos diferentes estadísticamente a los demás tratamientos, en cambio, el tratamiento con menor viscosidad fue el número 5. Los tratamientos 1, 3, 6, 7 y 8 fueron diferentes estadísticamente entre ellos y también con respecto a los tratamientos 2, 4 y 5. La media de la variable viscosidad se obtuvo a partir de datos con una δ de 178.3978 y un CV de 7.267%. A pesar de que el valor de la desviación estándar fue alto, el valor del coeficiente de variación, indicó que la toma de datos fue precisa (Cochran & Cox, 1965). La dispersión de los datos de viscosidad con respecto a su promedio pudo darse debido a la existencia de partículas suspendidas en la bebida.

Los mejores tratamientos, según esta variable, fueron el 2 y 4, porque presentaron una mayor viscosidad comparada con la de los demás tratamientos y con la de la especificación. Además, mostraron una mejor formación del gel, la cual se da por la conexión de proteínas ligadas para producir una red tridimensional que atrapa el agua libre. Esta estructura tridimensional incluye enlaces covalentes y no covalentes los cuales otorgan las características físicas del producto. Las propiedades físicas y la microestructura del yogurt están

influenciadas por la temperatura de incubación (Özer B. S., 1999). El uso de altas temperaturas resulta en una disminución en el tiempo de formación de geles, valores menores de consistencia y viscosidad y una mayor separación de suero en comparación al uso de temperaturas más bajas. Este resultado indica que a mayor temperatura los geles son más débiles y poseen poros más grandes lo que induce a una mayor separación del suero (Lee, 2010).

Durante la formación de geles de yogurt a una temperatura de incubación baja, ocurre una lenta agregación de proteínas resultando en la formación de un gran número de enlaces entre proteínas y menos re-arreglos de partículas. Una red de proteínas con gran número de enlaces entrecruzados tiene poros de menor tamaño. Se obtiene una mayor viscosidad a temperaturas menores a 40°C comparados con geles formados por incubación a temperaturas mayores a esta (Lee, 2010). Además, es recomendable el uso de una temperatura de incubación menor cuando los geles tienen bajo contenido de sólidos (Lucey, 2004), por lo tanto, el tratamiento menos adecuado para esta variable fue el número 5.

Acidez (Porcentaje de ácido láctico)

En la siguiente tabla se presenta el resumen del ANOVA de la Acidez de los tratamientos.

Tabla 9. Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) de la Acidez de los tratamientos

Fuentes	Grados de libertad	SC	CM	Fcal.	F esp. 0,01	F esp. 0.05
Total	23	0.040				
Tratamientos	7	0.017	0.002	2.907*	4.280	2.770
Temperatura (T)	1	0.011	0.011	12.489**	8.860	4.600
Sacarosa (S)	1	0.001	0.001	1.166 ^{NS}		
Goma (G)	1	0.001	0.001	1.259 ^{NS}		
Interacción T*S	1	0.001	0.001	1.077 ^{NS}		
Interacción T*G	1	0.000	0.000	0.010 ^{NS}		
Interacción S*G	1	0.002	0.002	2.646 ^{NS}		
Interacción T*S*G	1	0.001	0.001	1.701 ^{NS}		
Error exp	14	0.012	0.001			

** Significativo al 1% de error para la prueba F.

* Significativo al 5% de error para la prueba F.

^{NS} No Significativo ni al 1%, ni al 5% de error para la prueba F.

En la Tabla 9, el ANOVA muestra que existió diferencia significativa entre los tratamientos con un error del 5%. Con el 1% de error el factor temperatura influyó significativamente sobre esta variable, pero no el resto de factores y sus interacciones.

Al realizar la prueba de separación de medias, Tukey, no se encontró diferencia entre los tratamientos según la variable acidez, por lo tanto todos son adecuados. Esta igualdad estadística entre los tratamientos puede deberse a que al pretender llegar a un pH entre 4-4.2 en todos ellos la acidez no presentó valores diferentes.

Varios estudios han analizado las propiedades de productos tipo “yogurt” de soya en comparación con el yogurt tradicional. Se ha observado aumento del tiempo de fermentación y una menor acidez titulable final (Drake, 2000). La aplicación del diseño experimental permitió

obtener mediciones de esta variable con δ de 0.0291 y CV de 9.1811%, valores que permitieron afirmar que la toma de datos para esta variable fue precisa (Cochran & Cox, 1965).

La producción de ácidos por bacterias ácido lácticas resulta en cambios en las propiedades físicoquímicas de la proteína. Se reduce la carga superficial hasta casi ser nula mientras más se acerca al punto iso-eléctrico de la proteína. Esto permite el acercamiento y agregación de las moléculas por interacciones hidrofóbicas y electroestáticas (Lucey, 2004).

También se ha intentado incrementar la producción de ácido a través del incremento significativo de la cantidad de inóculo agregado para la fermentación, pero se ha observado que la producción de ácido láctico no es satisfactoria en el EHS aún cuando se utilizan nivel de inóculo mucho mayores a los recomendados (Yazici, 1997).

Cambio en el contenido de sólidos solubles (Porcentaje de sólidos solubles)

En la siguiente tabla se muestra el Análisis de Varianza (ANOVA) del cambio en el contenido de Sólidos Solubles (CSS).

Tabla 10. Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) del cambio en el contenido de Sólidos Solubles de los tratamientos

Fuentes	Grados de libertad	SC	CM	Fcal.	F esp. 0,01	F esp. 0.05
Total	23	24.245				
Tratamientos	7	23.085	3.298	61.355**	4.280	2.770
Temperatura (T)	1	0.540	0.540	10.047**	8.860	4.600
Sacarosa (S)	1	11.482	11.482	213.612**		
Goma (G)	1	10.140	10.140	188.651**		
Interacción T*S	1	0.327	0.327	6.078*		
Interacción T*G	1	0.015	0.015	0.279 ^{NS}		
Interacción S*G	1	0.540	0.540	10.047**		
Interacción T*S*G	1	0.042	0.042	0.775 ^{NS}		
Error exp	14	0.753	0.054			

** Significativo al 1% de error para la prueba F.

* Significativo al 5% de error para la prueba F.

^{NS} No Significativo ni al 1%, ni al 5% de error para la prueba F.

En la Tabla 10, el ANOVA indica que existió diferencia significativa entre los tratamientos con un error del 1%. También, se analizó la influencia de los diferentes factores, siendo la temperatura, sacarosa y goma los factores que influyeron al 1% de error. En cuanto a las interacciones entre los factores, la interacción sacarosa-goma influyó al 1% de error y la interacción temperatura-sacarosa al 5% de error.

Tabla 11. Cambio en el contenido de sólidos solubles de los tratamientos

Tratamiento	CSS (%)
4	5.90 (a)
8	5.23 (ab)
3	4.77 (ab)
2	4.50 (ab)
6	4.47 (ab)
7	4.37 (b)
1	2.93 (c)
5	2.83 (c)

Medias seguidas por las mismas letras no difieren entre sí al 1% de probabilidad por la prueba de Tukey.

Como se observa en la Tabla 11, el tratamiento que presentó el mayor consumo de sólidos fue el número 4, siendo el mejor tratamiento según esta variable. Aunque este tratamiento no fue significativamente diferente del 2, 3, 6 y 8; el tratamiento 7 fue diferente estadísticamente de todos los demás. Los tratamientos con menor consumo de sólidos fueron 1 y 5, siendo estadísticamente iguales. Los datos utilizados para calcular la media del tratamiento tuvieron una δ de 0.2318 y un CV de 5,2992%, valores que permitieron afirmar que la toma de datos para esta variable fue precisa.

Además se analizó la correlación entre el aumento del contenido de sólidos y el aumento en la viscosidad. Se determinó que el coeficiente de correlación (r) entre las variables viscosidad y contenido de sólidos solubles fue 0.626. Este coeficiente indicó que las dos variables tuvieron una relación lineal directa, sin embargo no fue significativo estadísticamente debido a que el valor r_{crit} fue de 0.7067, por lo que el incremento de viscosidad no se pudo atribuir al aumento en el contenido de sólidos. El coeficiente de determinación (R^2) resultante de r fue igual a 32.279%, por lo tanto, este porcentaje del incremento en la viscosidad estuvo dado por el aumento en contenido de sólidos solubles.

Los coeficientes de variación de las variables tiempo de fermentación, viscosidad y consumo de sólidos presentaron valores menores al 8%, adecuados para experimentos realizados en el laboratorio en condiciones controladas, mientras que el coeficiente de variación de los datos de la variable acidez es mayor al 8% y menor al 12%, lo cual es adecuado para trabajos a nivel de planta piloto (Cochran & Cox, 1965).

Para determinar el mejor tratamiento se asignó una ponderación a cada variable analizada, es decir un valor de importancia siendo estos:

Tabla 12. Tabla de ponderación de variables

Variable	Valor
Consumo de Sólidos Solubles	1
Tiempo de Fermentación	2
Acidez	3
Viscosidad	4

Debido a la necesidad de asemejar la bebida fermentada de soya a los productos fermentados a base de leche de vaca encontrados en el mercado, la variable que se consideró más importante en el análisis de los tratamientos fue la variable “viscosidad” por lo que se le asignó el valor de 4. En segundo lugar se determinó a la variable “acidez” con un valor de 3, debido a que se busca conseguir una acidez adecuada para enmascarar el sabor característico de la soya. La variable “tiempo de fermentación” recibió una ponderación de 2 buscando que el tiempo sea el adecuado para obtener una textura semejante a los productos a base de leche de vaca. Finalmente la variable “consumo de sólidos” recibió un valor de 1 debido a que en

todos los prototipos se obtuvo el objetivo planteado, conseguir un contenido de sólidos solubles menor que el encontrado en los yogurt diet a base de leche de vaca.

Tabla 13. Tabla de ponderación de variables para cada tratamiento analizado

Tratamientos	Consumo de Sólidos	Tiempo de Fermentación	Acidez	Viscosidad	Total
1	0	2	3	0	5
2	1	2	3	4	10
3	1	2	3	0	6
4	1	2	3	4	10
5	0	0	3	0	3
6	1	0	3	0	4
7	0	0	3	0	3
8	1	0	3	0	4

Los tratamientos número 2 y 4 recibieron 10 puntos, por lo que se consideró que fueron los mejores tratamientos.

Para determinar cuál fue la mejor formulación entre estos dos tratamientos se evaluaron visualmente para determinar en cuál se dio una mejor formación de gel. Se eligió el tratamiento 4 porque presentaba un gel más uniforme y con más brillo, esto pudo darse debido a que en éste tratamiento se usó mayor porcentaje de sacarosa que en el número 2.

La formulación del tratamiento 4, que fue utilizada en la Evaluación Sensorial es la siguiente:

Tabla 14. Formulación final, previa la Evaluación Sensorial

Ingrediente	Cantidad
Extracto hidrosoluble de soya	1 kg
Goma guar	5 g
Sacarosa	30 g
Lecitina	0.2 g
Benzoato de sodio	0.2 g
Solución de fermento	400 μ L

IX. Evaluación Sensorial

La Evaluación Sensorial es una rama de las ciencias de los alimentos que utiliza el juicio humano para analizar las características sensoriales de los alimentos, a través de técnicas y pruebas sensoriales que permiten conocer la respuesta que tiene un consumidor hacia determinado alimento o producto. Es una metodología científica que se utiliza para provocar, medir, analizar e interpretar reacciones que producen las características de un producto o alimento tal y como se perciben por los sentidos de la vista, olfato, gusto y oído (Lawles & Heymann, 1999).

En este capítulo se explicarán las pruebas sensoriales empleadas, así como el análisis estadístico utilizado para el estudio de los resultados. Para todos los estudios sensoriales realizados, las muestras fueron codificadas y presentadas de forma aleatoria y contrabalanceada.

Previamente al estudio sensorial se realizó una prueba preliminar y un grupo focal en la que se evaluaron las características de la bebida con el objetivo de saber la opinión de los posibles consumidores y determinar qué propiedades del producto debían ser mejoradas (Professionals, 2010).

Estudio sensorial preliminar 1

Se utilizó como consumidores a 18 estudiantes de la Universidad San Francisco de Quito, campus Cumbayá. Se les presentó cuatro muestras de la misma formulación (Tabla 14, Capítulo VIII: Resultados y Discusión) con adición de distintos sabores: mora, fresa, vainilla y yogurt natural; adquiridos en la casa comercial Florasíntesis. Se aplicó el cuestionario (Anexo 2), siendo una prueba del método afectivo útil para evaluar el nivel de agrado.

Los resultados fueron de inconformidad respecto a la textura de la bebida y a una baja concentración de los distintos sabores analizados, ya que los jueces no los identificaron. Tomando esta prueba como un indicador para mejorar el producto, se decidió licuar nuevamente la bebida después de la fermentación para homogenizar la textura, además se aumentó la concentración del sabor con el fin de incrementar el agrado.

Otro aspecto de interés del consumidor es el color de la bebida, por lo que, para realizar el estudio sensorial, se decidió añadir sabores que impartan al producto color neutro, propio de este tipo de bebida. Se seleccionaron los sabores guanábana, yogurt natural y vainilla. Una vez mejorada la bebida, se realizó un nuevo estudio sensorial a 25 personas.

Estudio sensorial preliminar 2

Se les presentó a los jueces muestras de la bebida de los tres sabores anteriormente mencionados. Las muestras debían ser calificadas con una escala hedónica de 9 puntos. Además, si se daba el caso de empate entre las muestras se forzó al juez a ordenar a las muestras según su preferencia, según Anexo 3.

Los resultados de esta encuesta arrojaron que los sabores preferidos por los consumidores fueron guanábana y vainilla y que, efectivamente, se obtuvo una notable mejora en la textura de la bebida.

Estudio sensorial

Con estos nuevos resultados se realizó el estudio sensorial definitivo a 100 personas (Norma ISO 6658:1985). Se presentaron dos muestras de sabores guanábana y vainilla, que debían ser calificadas con una escala hedónica de 9 puntos, de acuerdo al anexo 6. Esta escala ha sido modificada bajo la teoría del Modelo Thurstoniano, donde se usan dos criterios, el

nivel de agrado y el nivel de preferencia con la metodología de Calificación por Rango (Angulo & O'Mahony, 2009). Se seleccionó este tipo de evaluación porque es adecuada para detectar diferencias en la preferencia de diferentes muestras (Ruiz, Angulo, & O'Mahony, 2008). Así mismo, cuando se daba el caso de empate entre las muestras, se forzó a ordenar las muestras de acuerdo a la preferencia.

Como se puede observar en el gráfico, los resultados del estudio sensorial definitivo demostraron que la bebida saborizada a base de soya agrada a los consumidores.

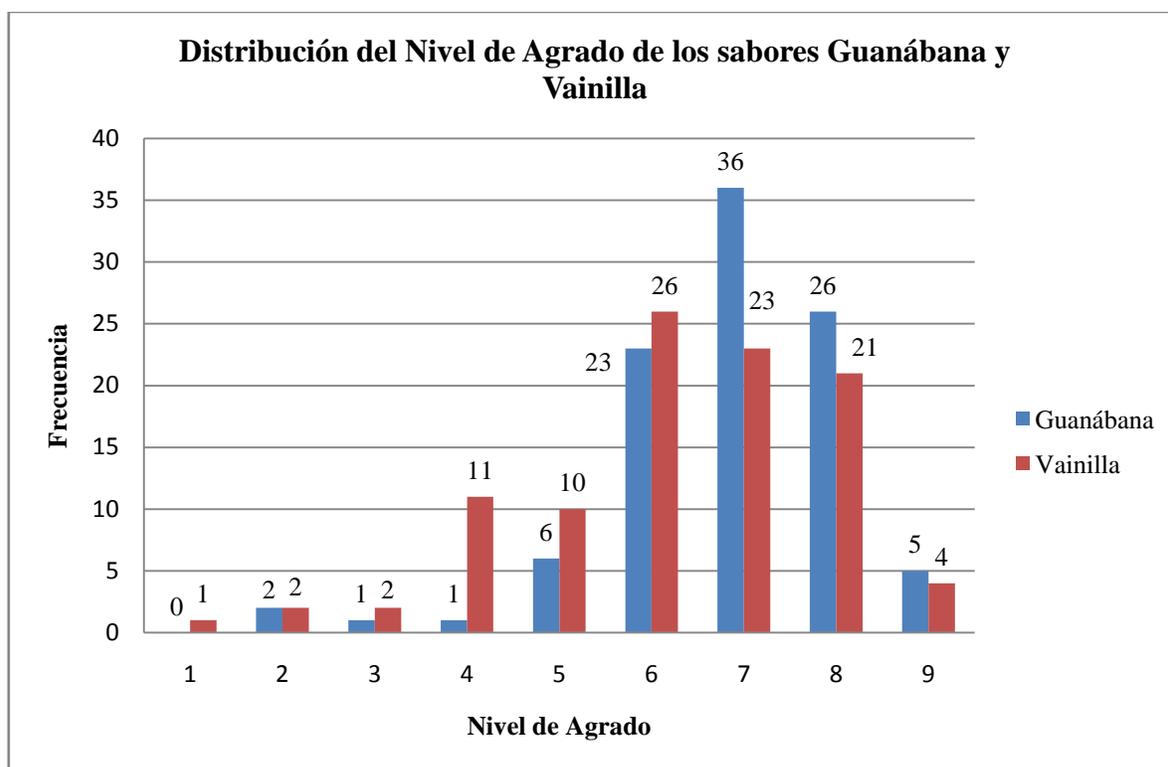


Gráfico 3. Niveles de agrado de la muestra de sabor Guanábana y de sabor Vainilla

A continuación se presenta un gráfico con la comparación de sumatoria de las categorías 6-9 y las observaciones totales.

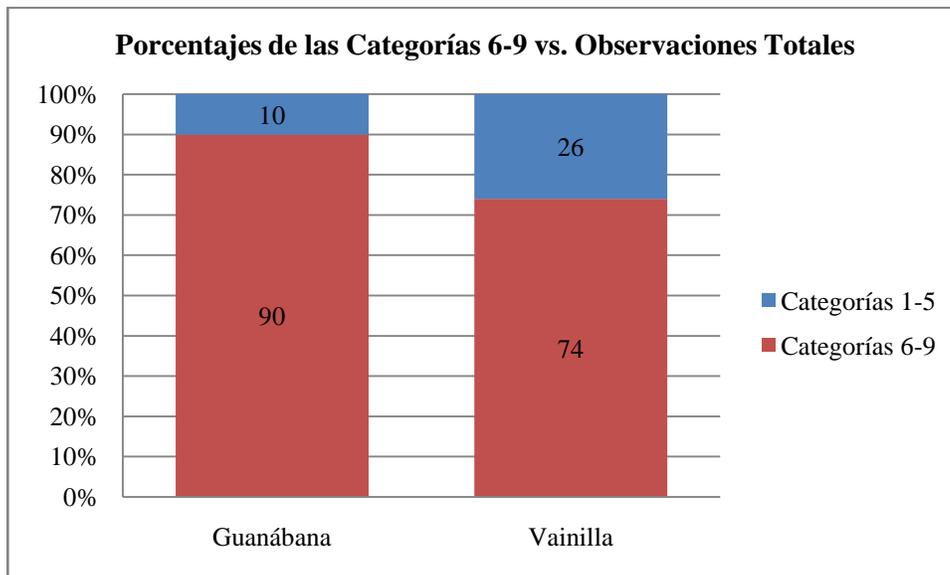


Gráfico 4. Porcentajes de las Categorías 6-9 vs. Observaciones Totales

El análisis de los datos se realizó tomando en cuenta el Modelo Tradicional y el Thurstoniano. Se calcularon los estadísticos t , d' e Índice R , con la finalidad de conocer si existía una diferencia estadísticamente significativa en la preferencia entre los dos sabores.

Análisis Tradicional

Prueba t de Student

La prueba t de Student es un estadístico de hipótesis el cual permite realizar una decisión basada en la diferencia estadística entre la media de dos grupos de datos en el caso de realizarse como una prueba pareada o de datos emparejados (Blair & Taylor, 2008). En este caso se aplicó una prueba t con un alfa de 0.05 para decidir si el nivel de agrado entre las muestras presentadas a los consumidores de guanábana y vainilla difería o no.

H_0 = No existe diferencia en el nivel de agrado de las muestras.

H_1 = Existe diferencia en el nivel de agrado de las muestras.

La muestra del sabor de guanábana obtuvo una media de 6.84 con una varianza de 1.67 mientras que la media para el sabor de vainilla fue de 6.25 y su varianza de 2.64. Se calculó el estadístico p el cual tuvo un valor de 0.0051 mientras que el valor del α de estudio fue de 0.05. Al ser el p calculado menor al valor del α se rechazó la hipótesis nula por lo cual se concluyó que existió diferencia entre el nivel de agrado de las muestras analizadas al 5% de nivel de significancia, siendo el sabor de guanábana la muestra preferida.

Análisis según el Modelo Thurstoniano

Índice R

El Índice R es un valor de probabilidad introducido por Brown en 1974. Es un estadístico caracterizado por ser útil, simple y susceptible a análisis paramétricos estadísticos que permite determinar el grado de diferencia entre dos muestras (O'Mahony, Sensory Evaluation of Food, 1986). Este índice expresa la magnitud de la diferencia en términos de probabilidad; es la probabilidad de que un juez discrimine exitosamente dos estímulos en pruebas sensoriales o de que pueda reconocer una señal sensorial proveniente de un entorno ruidoso; es decir, la probabilidad de que pueda distinguir entre una señal y un ruido (O'Mahony, Understanding discrimination tests: a user-friendly treatment of response bias, rating and ranking R-index tests and their relationship to signal detection., 1992). En este estudio los conceptos de señal y ruido son asignados a la muestra con sabor a guanábana y con sabor a vainilla respectivamente.

En la Tabla 15 se muestra la distribución de la escala hedónica para el cálculo del Índice R (Anexo 4). Cada uno de los puntos de la escala hedónica son denominados como categorías, la muestra con sabor a guanábana fue analizada como la Señal y la muestra con sabor a vainilla fue el Ruido.

Tabla 15. Categorías de los sabores Guanábana (923) y Vainilla (692)

	Categoría	9	8	7	6	5	4	3	2	1	N
Señal	Guanábana	5	26	36	23	6	1	1	2	0	100
Ruido	Vainilla	4	21	23	26	10	11	2	2	1	100

El Índice R resultante fue de 60.40, con una varianza de 0.002. Al evaluar este Índice R calculado con el valor de R crítico obtenido de la tabla igual a 56.67; se rechazó la hipótesis nula, al ser mayor el Índice R calculado que el crítico; por lo tanto, sí existió la probabilidad de distinguir el nivel de agrado entre las dos muestras y la formulación con sabor de guanábana resultó ser la preferida por los consumidores.

Estadístico d'

El estadístico d' , permite estimar la distancia entre las medianas, δ , de las distribuciones de dos muestras en un estudio sensorial. Este estadístico, obtiene δ basándose en los datos obtenidos en la prueba sensorial (Norma ASTM E2262-03 Standard Practice for Stimating Thurstonian Discriminal Distances). La ventaja principal de usar d' para el estudio estadístico de evaluaciones sensoriales, es que éste es una medida directa de la habilidad perceptual de discriminación de los jueces (Kim, Ennis, & O'Mahony, 1998).

Para el cálculo de d' (Anexo 5), se identificaron las medianas de las dos muestras. En la Tabla 15 se muestra la distribución de la escala hedónica para el cálculo de este estadístico. La muestra con sabor a guanábana obtuvo la mediana más alta igual a 36, por esta razón fue llamada A.

La norma ASTM E2262-03 Standard Practice for Stimating Thurstonian Discriminal Distances indica que para determinar si las dos muestras en el estudio son perceptiblemente diferentes se debe analizar si su desviación estándar es mayor a cero, para esto se compara el estadístico p el cual tuvo un valor de 0.00147 con el valor del α de estudio 0.05.

- $t = 3.27$
- p (dos colas) = 0.00147
- α de estudio = 0.05

En base a la comparación entre los valores de p y α de estudio se concluyó que se rechaza la hipótesis nula, al ser menor el valor de p menor que el valor de α de estudio (Pagano, 2006). Lo que declara que sí existió diferencia entre la preferencia de los sabores de guanábana y vainilla, y como resultado se obtuvo un mayor nivel de agrado para la muestra con sabor a guanábana.

Como se puede observar en el Gráfico 5, los intervalos de confianza para el estadístico d' fueron:

LCL máx: 0.84

LCL mín: 0.14

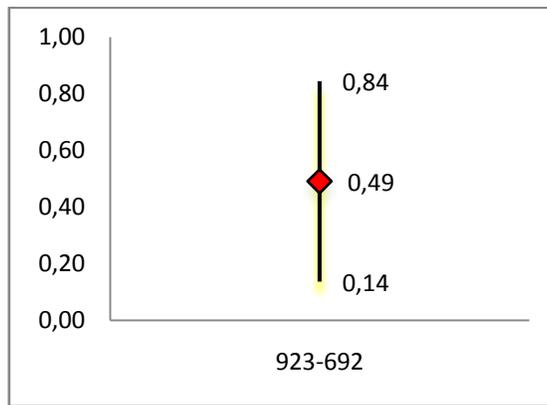


Gráfico 5. Intervalos de confianza para el valor de d'

Se puede asegurar con un 95% de confianza que el verdadero valor de d' se encuentra entre 0.14 y 0.84.

Resumen de los resultados obtenidos mediante los tres estadísticos (Modelo Tradicional y Thurstoniano)

Tabla 16. Resumen de los resultados obtenidos mediante los tres estadísticos

Estadístico	Prueba t		Índice R		d'	
	P	α de estudio	R calculado	R critic	p	α de estudio
Valores	0.0051	0.05	60.4	55.67	0.00147	0.05
Conclusión	<i>Sí existió diferencia</i>		<i>Sí existió diferencia</i>		<i>Sí existió diferencia</i>	

Al obtener el mismo resultado en tres pruebas estadísticas, como son la prueba t , Índice R y d' ; se pudo corroborar que sí existió diferencia en la preferencia de las dos muestras, siendo la muestra sabor a guanábana la que obtuvo mayor nivel de agrado y se decidió realizar la formulación final de la bebida de soya con sabor a guanábana.

X. Formulación y Elaboración Final del Producto

Formulación

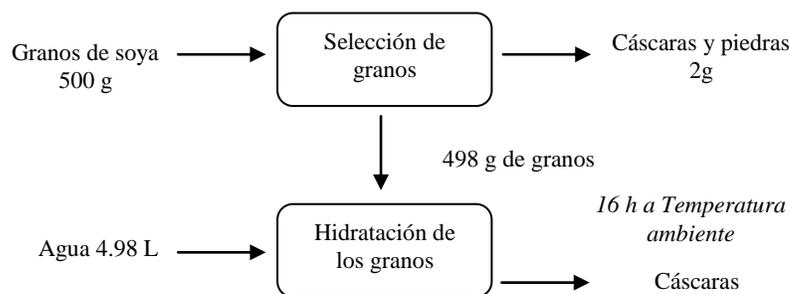
En la Tabla 17 se presenta la formulación final de la bebida saborizada de soya:

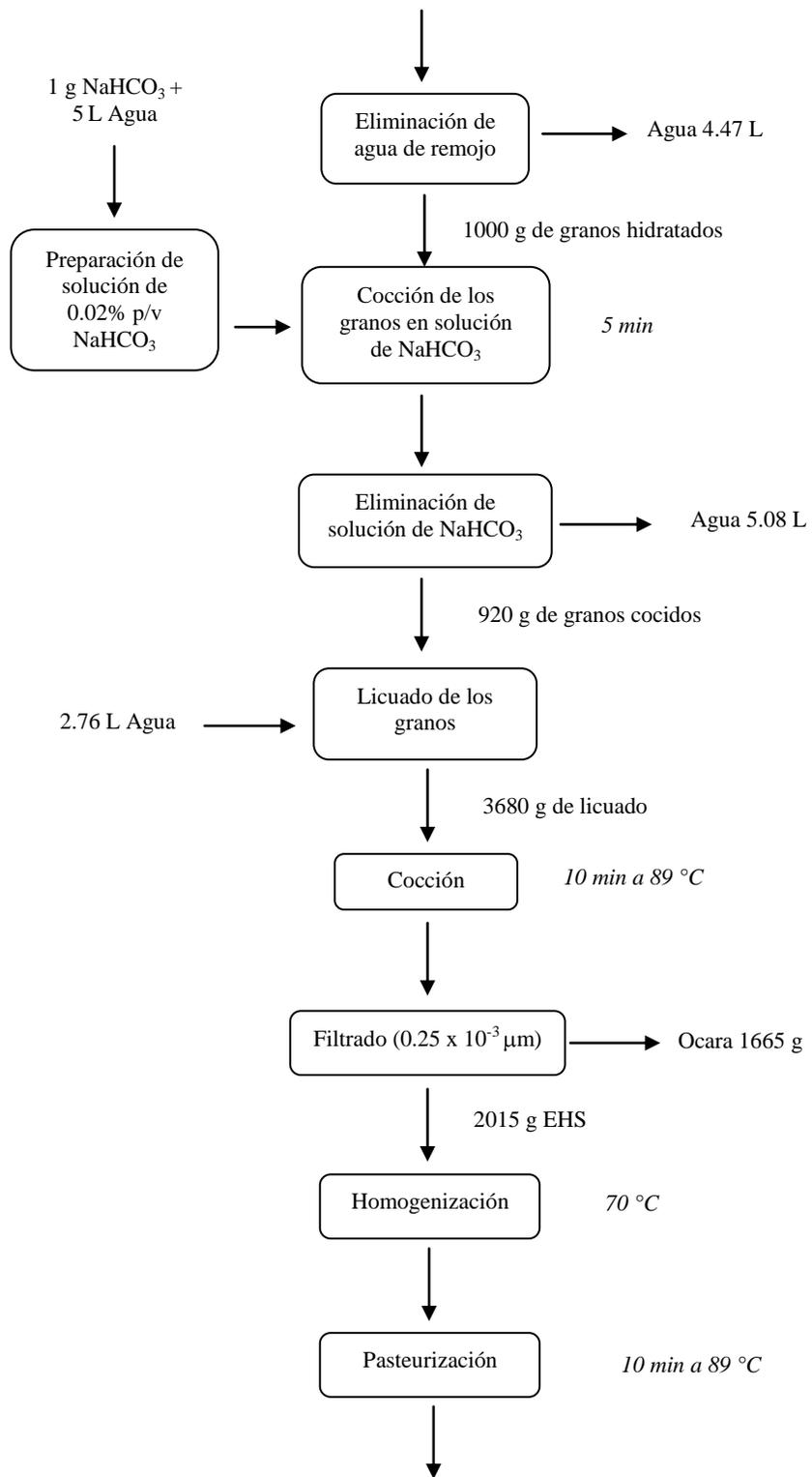
Tabla 17. Formulación final de la bebida saborizada de soya

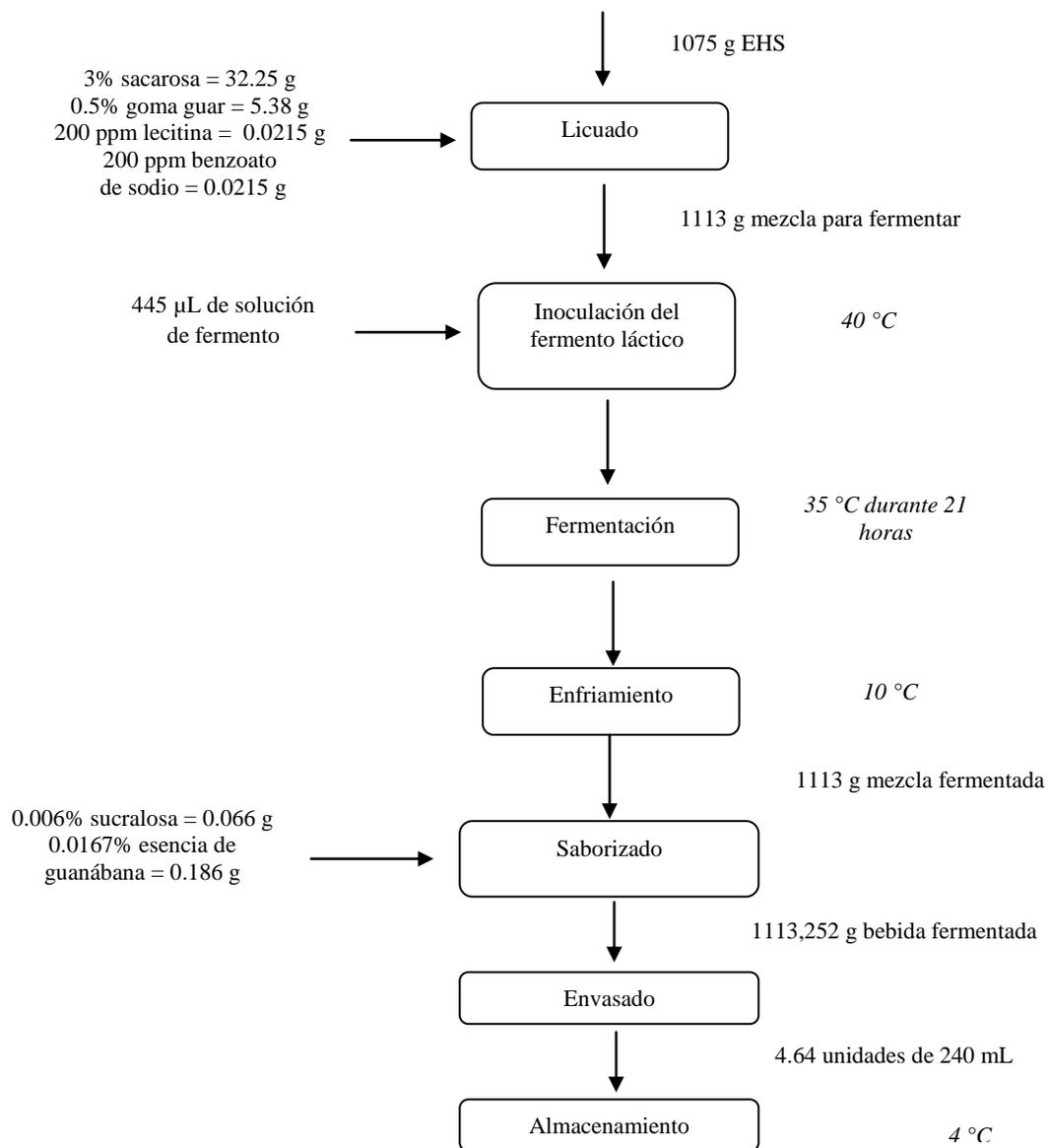
Ingrediente	Cantidad
Extracto hidrosoluble de soya	1 kg
Goma guar	5 g
Sacarosa	30 g
Lecitina	0.2 g
Benzoato de sodio	0.2 g
Solución de fermento	400 μ L
Esencia de yogur	0.9 g
Esencia de guanábana	1.7 g
Sucralosa	0.06 g

A continuación se presenta el diagrama de flujo y el balance de masa para la elaboración de la bebida:

Flujograma 1. Etapas de proceso de elaboración de la bebida fermentada saborizada de soya







Descripción de cada etapa

Selección e hidratación de los granos de soya y eliminación del agua de remojo

Se seleccionan los granos de soya para eliminar los materiales extraños como son piedras y cáscaras. Posteriormente, se rehidratan los granos utilizando una proporción de 1 L de agua por cada 100 g de grano seco durante 16 horas a temperatura ambiente. Después del tiempo de hidratación se deben eliminar otras impurezas encontradas especialmente las

cáscaras que se separan cuando el grano aumenta de tamaño. El grano tiene una tasa de rehidratación del 100.8%. Se elimina el agua de hidratación y se enjuaga el grano con agua.

Cocción de los granos en solución de NaHCO_3 y eliminación de la solución

Se prepara una solución de NaHCO_3 al 0.02% p/v en una proporción de 1 L por cada 100 g de grano seco. Se hierven los granos en esta solución durante 5 minutos. A continuación se elimina la solución de bicarbonato y se enfrían los granos con agua.

Licuada de los granos, cocción y filtrado

Se licúan los granos utilizando tres porciones de agua por cada porción de grano hidratado. Se cocina el licuado durante 10 minutos con el objetivo de inhibir las enzimas provenientes del grano especialmente la lipooxigenasa. Se deja enfriar el licuado y se filtra para obtener el EHS separado de la oca.

Homogenización, pasteurización y enfriamiento

Se calienta el EHS hasta 70 °C para ser homogenizado. Posteriormente, se pasteuriza el EHS durante 10 minutos a temperatura de ebullición. Se regula la temperatura a 40 °C.

Licuada, inoculación del fermento láctico y fermentación

Se adicionan al EHS las siguientes materias primas: benzoato de sodio, lecitina de soya, sacarosa, goma guar. Se adiciona a la mezcla anterior el fermento láctico y se lleva a incubación a 35 °C. El tiempo de fermentación es de alrededor de 21 horas, el cual será finalizado cuando el pH de la mezcla a 20°C se encuentra entre 4.2-4.5.

Enfriamiento, saborizado, envasado y almacenamiento

Se enfría la mezcla hasta 4 °C para detener este proceso. Se licúa la mezcla adicionando sucralosa y esencia de guanábana y yogurt, se envasa con 240 mL por unidad y se almacena el producto en refrigeración a 4 °C.

Elaboración industrial

Es importante mencionar que, la elaboración industrial se daría de la manera que se detalla a continuación, siempre y cuando se tenga una demanda de producción mayor a la determinada en la presente tesis debido a que la capacidad de las máquinas supera la demanda aparente obtenida en este estudio.

Selección e hidratación de los granos de soya y eliminación del agua de remojo

Se separan las impurezas que pueden estar presentes al momento de la recepción de los granos de soya, para esto se usa un tamiz con una malla N°. 5. Después se procede al remojo de los granos dentro de un tanque, en una proporción de 1 L de agua por cada 100 g de grano seco. Se mantiene durante 16 horas en remojo y se elimina el agua empleada en este proceso.

Cocción de los granos en solución de NaHCO_3 y eliminación de la solución

Se transfieren los granos hidratados a un tanque enchaquetado en el cual ya se ha preparado la solución de bicarbonato de sodio al 0.02% p/v y se encuentra a temperatura de ebullición. Los granos se mantienen en esta solución en ebullición durante 5 minutos.

Obtención del EHS

Se colocan los granos en un procesador MJ300-1-1D SoyMilk Machine en el que se da el proceso de molido, filtrado y cocción para obtener el extracto hidrosoluble y la o cara a partir de los granos de soya.

Homogenización, pasteurización y enfriamiento

Se enfría el EHS hasta 70 °C para ser homogenizado a 17 MPa. Posteriormente, se pasteuriza el EHS. Se regula la temperatura a 40 °C.

Inoculación del fermento láctico y fermentación

Se transfiere el EHS a un tanque fermentador con aspas de agitación para permitir el mezclado con otros ingredientes. Se añaden la sacarosa, benzoato de sodio, lecitina de soya y goma, además del fermento láctico preparado para el volumen a fermentar. Se realiza la fermentación a una temperatura constante de 35°C durante 21 horas, siendo el tiempo final cuando la mezcla llegue a un pH de 4.2-4.5.

Enfriamiento, saborizado, envasado y almacenamiento

Se enfría la mezcla en el mismo tanque fermentador hasta una temperatura de 4°C. Se adicionan los sabores y la sucralosa mezclándolos con las aspas de agitación. Se envasa con una máquina llenadora de vasos de 240 mL BG60A-4C, que dosifica el producto y centra la tapa de foil. Se almacena a 4°C en cámara de refrigeración hasta que se obtengan los resultados de análisis microbiológicos que permitirían su distribución para ser vendido e ingerido por los consumidores.

XI. Estudio de Mercado

Se desarrolló una investigación de mercado con el fin de identificar objetivamente una plaza de consumidores y medir su tamaño (BusinessDictionary, 2011) de tal manera que se pueda conocer al consumidor para tomar decisiones de bajo riesgo (Nadal, 1997).

El estudio de mercado realizado fue destinado a “estimar la demanda potencial del producto”. Además, el conocer la demanda potencial es necesario para poder realizar el estudio de factibilidad en el futuro (López, 2011).

La encuesta utilizada para este estudio (Anexo 8) buscaba obtener información sobre la frecuencia de consumo, plaza, cantidad demandada, presentación preferida, precio que el consumidor estaría dispuesto a pagar por la bebida, así como información demográfica complementaria.

Para el cálculo del número de encuestas se utilizó la siguiente fórmula (Torres & Paz, 2002):

$$N = \left(\frac{z \times S}{k} \right)^2$$

en donde;

N = número de encuestas

z = nivel de significancia al 95% (1.96)

S = desviación estándar de una muestra previa (30 encuestas)

k = error del estudio de mercado

Desarrollo de la Encuesta

Se aplicó la encuesta a 262 personas en diferentes lugares de la ciudad de Quito como: Quicentro Shopping Center, parque La Carolina, Centro Histórico y Centro Comercial El Recreo.

La encuesta se dirigió a personas de todos los estratos sociales utilizando los quintiles para la provincia de Pichincha, como estimadores de la ciudad de Quito, y con edades comprendidas entre 15 y 64 años (INEC, 2011).

Las respuestas obtenidas para las diferentes preguntas de esta encuesta fueron las siguientes:

1. *¿Es usted consumidor regular de productos a base de soya?*

SÍ = 27.10% **NO** = 72.90%

Con los porcentajes obtenidos en esta pregunta se puede observar que un poco más de un cuarto de las personas encuestadas consumen regularmente productos a base de soya, sin embargo el porcentaje de no consumidores sigue siendo alto.

2. *¿Estaría usted dispuesto a consumir una bebida tipo yogurt a base de soya y con sabor a guanábana?*

SÍ = 75.19% **NO** = 24.81%

En estos resultados se observa que existe una predisposición a la compra por parte de los consumidores, ya que el 75% de las personas encuestadas estarían dispuestas a consumir este producto.

Las personas que respondieron NO, explican su respuesta de la siguiente manera:

No me gusta el sabor a soya = 43.08%

No me gusta el sabor a guanábana = 50.77%

No me gusta el yogurt = 6.15%

Es importante tomar en cuenta que el 25% que no lo consumiría se basa en que les desagrada el sabor de la soya y de la guanábana, por lo tanto, se podría ganar este mercado con un producto sin sabor afrijolado e incrementando la variedad de sabores.

3. *Indique, ¿con qué frecuencia estaría dispuesto usted a consumir este producto?*

Todos los días = 13.20%

2 veces por semana = 51.27%

1 vez por semana = 22.84%

1 vez al mes = 11.17%

Otra (2 veces por mes) = 1.52%

Como se puede apreciar en estos resultados el mercado preferentemente estaría dispuesto a consumir este producto dos veces por semana, frecuencia que se podría incrementar con publicidad acerca de los beneficios de la soya.

4. *¿Qué cantidad del producto bebería, cada vez que lo consuma?*

Media taza (120 mL) = 14.72%

Una taza (240 mL) = 77.66%

Dos tazas (480 mL) = 7.11%

Otra (4 tazas o 960 mL) = 0.51%

5. *Indique, ¿en qué presentación le gustaría encontrar a usted este producto?*

240 mL = 71.06%

200 mL = 25.38%

Otra = 3.56 % (Presentaciones entre 50 mL y 1 L)

La presentación preferida es una taza (240 mL).

6. *Indique, ¿cuánto estaría dispuesto a pagar usted por la presentación que escogió?*

Presentación de 240 mL

\$0.40 a \$0.60 = 1.53%

\$0.70 a \$0.80 = 42.13%

\$0.81 a \$0.90 = 20.80%

\$0.91 a \$1.00 = 6.59%

Presentación de 200 mL

\$0.70 a \$0.80 = 9.64%

\$0.81 a \$0.90 = 12.18%

\$0.91 a \$1.00 = 3.05%

\$2.50 = 0.51%

Para otras presentaciones

75 mL

\$0.70 a \$0.80 = 1.02%

100 mL

\$0.81 a \$0.90 = 0.51%

500 mL

\$0.70 a \$0.80 = 1.02%

1 L

\$0.70 a \$0.80 = 0.51%

\$2.00 = 0.51%

El mercado está dispuesto a pagar preferentemente \$0.70 a \$0.80 por la presentación de 240 mL.

7. *¿Dónde le gustaría encontrar el producto? (puede escoger más de una respuesta).*

Tiendas = 53.30%

Supermercados = 77.16%

Tiendas naturistas = 11.17%

Otra = 0%

Los lugares preferidos para encontrar el producto son supermercados y tiendas.

8. *Personas que respondieron SÍ, por grupo de edad:*

De 15 de 17 años = 0%

De 18 a 29 años = 42.14%

De 30 a 39 años = 20.81%

De 40 a 49 años = 16.24%

De 50 a 64 años = 20.81%

El rango de edad al que preferentemente estaría dirigida la bebida sería al que se encuentra entre los 18 y 29 años.

9. *Género:* **F** = 62.60% **M** = 37.40%

El mayor porcentaje de participación fue de mujeres, por lo que se puede observar que este género muestra mayor interés por este tipo de productos.

10. *Personas que respondieron SÍ, por grupo socio-económico (Nicho de Mercado):*

Quintil 1 = 17.77%

Quintil 2 = 16.24%

Quintil 3 = 14.21%

Quintil 4 = 11.68%

Quintil 5 = 40.10%

Se realizó este estudio de mercado utilizando los quintiles de Ingreso Corriente Total con los cuales el INEC clasifica a la población de Pichincha, según el Censo de Población y Vivienda 2010. De acuerdo con los datos obtenidos, el producto sería aceptado en todos los quintiles, en especial por el quintil 5.

Cálculo de la Demanda Aparente

Para obtener la demanda aparente de este producto en la provincia de Pichincha, se utilizó los datos del censo de población del INEC realizado en el año 2010.

Conociendo que, la población de Pichincha comprendida entre los 15-64 años es 1'173 499 (INEC, 2011) y el consumo promedio mensual de la bebida saborizada de soya calculada a partir de la encuesta de mercado es 1.606 L, la demanda aparente en la provincia de Pichincha para el año 2010 se estimaría en 1885.5 kL mensuales.

Conclusiones

De acuerdo a este estudio de mercado se determinó que:

1. A pesar de que la mayoría de personas no consumen productos a base de soya, el 75 % de los encuestados estarían dispuestos a consumir la bebida tipo yogurt hecha a partir de esta leguminosa (preguntas 1 y 2).
2. Las personas, consumirían de preferencia, una taza de la bebida saborizada de soya dos veces por semana (preguntas 3 y 4)
3. La presentación que los consumidores estarían dispuestos a comprar sería de 240 mL y, pagaría por ésta entre \$0.70 y \$0.80 (preguntas 5 y 6).
4. Los lugares en los que preferentemente les gustaría encontrar la bebida saborizada de soya serían supermercados y tiendas (pregunta 7).
5. El rango de edad que estaría dispuesto a consumir, preferentemente la bebida, se encuentra entre 18 y 29 años, siendo las mujeres las más interesadas (preguntas 8 y 9).

6. Todos los quintiles tienen predisposición de compra, especialmente el quintil 5 (pregunta 10).
7. El consumo promedio mensual de la bebida saborizada de soya podría ser de 1.606 L (ver Cálculo de la Demanda Aparente).
8. Este estudio de mercado tiene un error del 15.87% y una desviación estándar de 2.1 L/mes. El error fue calculado con la ecuación 1, indicada anteriormente, utilizando el mismo nivel de significancia.

XII. Estudio de Costos (Costos de materias primas y material de empaque)

Los precios de las materias primas según los proveedores seleccionados son:

Tabla 18. Costos de las materias primas para la bebida fermentada saborizada de soya

Materia prima	Precio (USD)	Unidades
Granos de soya	0.488	kg
Agua	0.001	kg
Goma	5.3	kg
Fermento láctico	2.8	1 sobre (cantidad para fermentar 50 L)
Azúcar	2.62	kg
Benzoato de sodio	3.34	kg
Bicarbonato de sodio	3.25	kg
Esencia de guanábana	22.92	kg
Lecitina de soya	6.72	kg
Sucralosa	150	kg
Envase	0.1	1 unidad

De acuerdo a la formulación y al balance de materia (Capítulo X. Formulación y Elaboración Final del Producto), se obtuvieron las cantidades y costos para la producción de una unidad de la bebida (240 mL). A continuación se especifican los costos para dicha producción.

Tabla 19. Costo de la producción de una unidad de bebida fermentada saborizada de soya

Materia prima	Cantidad (kg/240 mL)	Precio (USD/kg)	Total (USD)
Granos de soya	0.108	0.488	0.05161
Agua	2.655	0.001	0.002655
Goma	0.00115	5.3	0.006105
Fermento láctico	Cantidad para 50 Litros	2.8	0.0134
Azúcar	0.0069	2.62	0.01811
Benzoato de sodio	0.0000048	3.34	0.000016
Bicarbonato de sodio	0.000216	3.25	0.00070
Esencia de guanábana	0.0000403	22.92	0.000924
Lecitina de soya	0.0000048	6.72	0.000032
Sucralosa	0.0000144	150	0.00216
Envase	1 envase	0.1	0.1
		Precio total (USD)	0.19567

El costo por cada unidad de 240 mL de la bebida fermentada de soya es de \$0.2 aproximadamente, según el balance de materia y los cálculos de costoso realizados anteriormente.

De acuerdo con el estudio de mercado y para tratar de incluir los costos de mano de obra y de producción que no se tomaron en cuenta en este estudio, el precio de cada unidad se

estableció en \$0.70. Este precio se aproxima al encontrado en la bebida tipo yogurt a base de soya encontrada en el mercado marca “Nutrivial”.

XIII. Estudio de Vida Útil y compatibilidad con el envase

Con el objetivo de determinar el tiempo total en el que se mantiene viable el producto, conservando sus características tanto sensoriales como físico-químicas, se realizó un estudio de vida útil, en el cual se analizó los parámetros de acidez, pH y recuento total microbiano.

La bebida se encontraba previamente envasada en un vaso de polietileno de baja densidad de 80 micras el cual se cierra con una lámina aluminizada. Se eligió este envase puesto que sus materiales son compatibles con el uso en alimentos y debido a la comodidad que representa para los consumidores en comparación con las botellas en el cual el desperdicio del producto es mayor en el fondo y las paredes del mismo.

Las características del material del envase que lo hacen indicado para el uso en este producto son bajo costo, protección contra la luz, resistencia a los golpes. Mientras que las láminas aluminizadas utilizadas como tapas son adecuadas puesto que se adhieren con calor a superficies plásticas, ofreciendo un buen sellado pero de fácil apertura, se puede imprimir artes de buena calidad y definición en su superficie.

Se utilizó la metodología de estudio de vida útil acelerado, para lo cual se colocó la bebida en 2 cámaras de temperatura controlada a 4°C y 20°C (Fennema, 2000). No se encontró a disposición una cámara con una temperatura intermedia, por lo que se realizó el estudio y el cálculo solo con los datos obtenidos de las temperaturas anteriormente mencionadas para obtener un resultado de tiempo de vida útil de 29.88 días. Por lo tanto, la bebida fermentada saborizada de soya tiene un tiempo de vida útil de 30 días.

XIV. Composición Final y Métodos Analíticos e Instrumentales

A continuación se presenta la composición final del producto, obtenida mediante los análisis físicoquímicos realizados en el laboratorio de análisis de alimentos y de microbiología de la Universidad San Francisco de Quito.

Tabla 20. Análisis Físico-Químicos y Microbiológicos de la bebida fermentada saborizada de soya

Análisis Físico-Químicos			
Determinación	Resultado	Método	Norma/Referencia
Nitrógeno Total	0.492 %	Método Kjeldahl	AOAC 979.09
Acidez	0.349 % de ácido lactic	Método Titrimétrico	AOAC 947.05
Grasa	1.445 %	Método de Weibull-Stoldt	Análisis de Alimentos: Fundamentos, Métodos y Aplicaciones. Matissek, Schnepel y Steiner. 1998. Pág: 35 y 36
Azúcares	0.695 %	Método de fenol/ácido sulfúrico	Food Analysis S.S. Nielsen
Sodio	58 mg	Método de Mohr	Análisis de los alimentos: Fundamentos, métodos, Aplicaciones. Matissek, Schnepel y Steiner. 1998. Pag. 238-242
Sólidos soluble	5.9 %	Método Refractométrico	AOAC 932.12
Cenizas	0.309%	Método Gravimétrico	AOAC 945.46

Humedad	87.771%	Postre de gelatina. Determinación de la humedad	NTE 1517:87
pH	4.25	Alimentos acidificados	AOAC 981.12
Carbohidratos Totales	7.398%		Por diferencia

Análisis Microbiológicos			
Determinación	UFC/g	Método	Norma
Recuento total	NE	Film seco rehidratable	AOAC 989.10
Coliformes totales	Ausencia	Film seco rehidratable	AOAC 989.10
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Enumeración de coliformes en todos los productos	AOAC 991.14
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Método microbiológico	AOAC 980.37
Mohos y levaduras	<10	Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables. Detección.	NTE 1529-11:98

^{NE} No Especificado en la Norma para Leches Fermentadas. Requisitos. NTE INEN 2395:2011.

XV. Situación Legal

Creación de la compañía

Se decidió establecer una compañía anónima, las cuales se distinguen según la Ley de Compañías por poseer las siguientes características (Ley de Compañías, 1999):

Art. 143.- La compañía anónima es una sociedad cuyo capital, dividido en acciones negociables, está formado por la aportación de los accionistas que responden únicamente por el monto de sus acciones.

Art. 144.- Se administra por mandatarios amovibles, socios o no. La denominación de esta compañía deberá contener la indicación de "compañía anónima" o "sociedad anónima", o las correspondientes siglas. No podrá adoptar una denominación que pueda confundirse con la de una compañía preexistente. Los términos comunes y aquellos con los cuales se determine la clase de empresa, como "comercial", "industrial", "agrícola", "constructora", etc., no serán de uso exclusivo e irán acompañadas de una expresión peculiar. En este caso se eligió el nombre de "BFoods S.A."

Art. 145.- Para intervenir en la formación de una compañía anónima en calidad de promotor o fundador se requiere de capacidad civil para contratar. Sin embargo, no podrán hacerlo entre cónyuges ni entre padres.

Art. 146.- La compañía se constituirá mediante escritura pública que, previo mandato de la Superintendencia de Compañías, será inscrita en el Registro Mercantil. La compañía se tendrá como existente y con personería jurídica desde el momento de dicha inscripción. Todo pacto social que se mantenga reservado será nulo.

Art. 150.- La escritura de fundación contendrá:

1. El lugar y fecha en que se celebre el contrato;
2. El nombre, nacionalidad y domicilio de las personas naturales o jurídicas que constituyan la compañía y su voluntad de fundarla;
3. El objeto social, debidamente concretado;
4. Su denominación y duración;
5. El importe del capital social, con la expresión del número de acciones en que estuviere dividido, el valor nominal de las mismas, su clase, así como el nombre y nacionalidad de los suscriptores del capital;
6. La indicación de lo que cada socio suscribe y paga en dinero o en otros bienes; el valor atribuido a éstos y la parte de capital no pagado;
7. El domicilio de la compañía;
8. La forma de administración y las facultades de los administradores;
9. La forma y las épocas de convocar a las juntas generales;
10. La forma de designación de los administradores y la clara enunciación de los funcionarios que tengan la representación legal de la compañía;
11. Las normas de reparto de utilidades;
12. La determinación de los casos en que la compañía haya de disolverse anticipadamente; y,
13. La forma de proceder a la designación de liquidadores.

Registro Sanitario

Por otra parte, para realizar el comercio de productos alimenticios procesados en el Ecuador se debe obtener previo a su comercialización el Registro Sanitario el cual está regulado por el “Reglamento de Registro y Control Sanitario”.

El Ministerio de Salud Pública, a través del Instituto Nacional de Higiene y Salud Tropical “Leopoldo Izquieta Pérez”, es el organismo encargado de otorgar, mantener, suspender, cancelar el Registro Sanitario y de disponer su reinscripción (Quiles, 2006).

Para la tramitación de dicho permiso se deben anexar los siguientes formularios junto con los análisis respectivos.

Etiquetado

El etiquetado de la bebida se basó en las normas NTE INEN 1334-1:2011 (Normalización, Rotulado de productos alimenticios para consumo humano Parte 1. Requisitos, 2011) y NTE INEN 1334-2:2011 (Normalización, Rotulado de productos alimenticios para consumo humano Parte 2. Rotulado Nutricional. Requisitos, 2011), en las cuales se indica que la etiqueta debe constar de:

1. Nombre comercial del producto
2. Lista de ingredientes
3. Contenido neto
4. Fecha de elaboración y vencimiento
5. Nombre y dirección del fabricante, envasador o importador
6. Lugar de origen o procedencia
7. Modo de empleo
8. Lote de fabricación
9. Etiqueta nutricional: tamaño de porción y porciones por envase
10. Registro Sanitario

Logo y Etiqueta Nutricional

En el siguiente gráfico se presenta el logo diseñado para la bebida bebida fermentada saborizada de soya, nombrada como **b.Soy**. Este logo se va a ubicar en la parte frontal del envase.

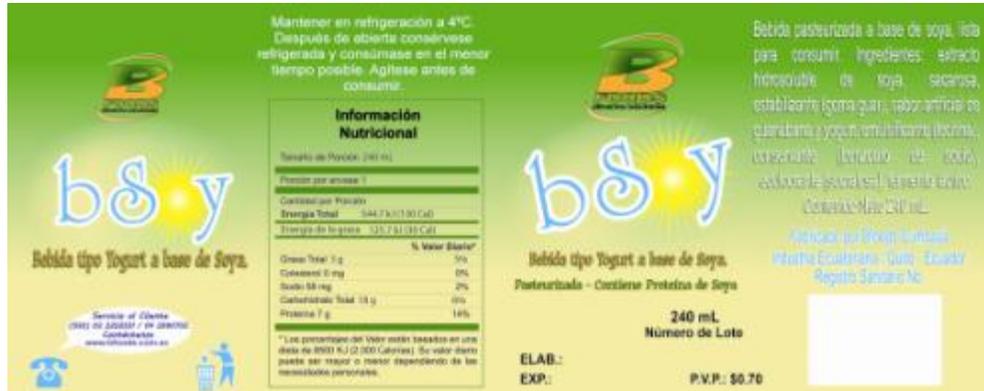


Ilustración 1. Etiqueta de la bebida fermentada saborizada de soya

La siguiente tabla nutricional indica los valores de cada macro y micro nutriente en cada porción, de acuerdo a los análisis realizados.

Tabla 21. Información nutricional de bSoy

Información Nutricional	
Tamaño por porción	1 Vaso (240 mL)
Porciones por envase	1
Cantidad por porción	
Energía Total	544.7 kJ (130 Calorías)
Energía de la grasa	125.7 kJ (30 Calorías)
% del Valor Diario*	
Grasa Total 3 g	5 %
Colesterol 0 mg	0 %
Sodio 58 mg	2 %
Carbohidratos Totales 18 g	6 %
Azúcares 2 g	
Proteína 7 g	14 %
<p>* Los porcentajes de valores diarios están basados en una dieta de 8380 kJ (2000 Calorías). Sus valores diarios pueden ser más altos o más bajos dependiendo de sus necesidades calóricas.</p>	

XVI. Documentación de la producción

Para llevar controles tanto de materia prima como de los procesos de producción se contarán con las especificaciones y con programas de control.

Especificaciones de materia prima

Producto: **Soya pelada**

Descripción: Granos de soya sometidos al proceso de pulido pertenecientes a las variedades INIAP 303 y 305.

Presentación: Sacos de 45 kg

Características físicas

Contenido de material extraños (piedras, palos, cáscaras) menor al <5% del peso envasado.

Características sensoriales

Tabla 22. Características sensoriales del grano de soya

Parámetro	Especificación
Color	Café blanquecino
Olor	Olor suave característico a soya, libre de olores extraños
Aspecto	Homogéneo, libre de material extraño

Características microbiológicas

Tabla 23. Características microbiológicas del grano de soya

Parámetro	Unidad	Especificación	Método
Mohos y Levaduras	Ufc/mL	Ausencia	Petrfilm

Coliformes totales	Ufc/mL	Ausencia	Petrifilm
<i>E. coli</i>	Ufc/mL	Ausencia	Petrifilm
Aerobios totales	Ufc/mL	<10	Petrifilm

Almacenamiento: Mantener en lugar fresco y seco a temperatura ambiente (15-20°C).

Tiempo de vida útil: 180 días desde el procesamiento.

Producto: **Agua potable**

Descripción: El control de calidad del agua tiene como objetivo asegurar la calidad del agua empleada en la planta de producción mediante el cumplimiento de las normas establecidas, las cuales indican los parámetros considerados para proveer de un agua de buena calidad los cuales son obtenidos a partir de análisis tanto físico-químicos como microbiológicos (Castillo & Chavez, 2008) (INEN, 2011).

Análisis físico-químicos y sensoriales:

Tabla 24. Características físico-químicas y sensoriales del agua potable

Parámetro	Unidad	Especificación
Color	Unidades de color aparente (Pt-Co)	Max. 15
Turbiedad	NTU	Max. 5
Olor	N/A	No objetable
Sabor	N/A	No objetable

Características microbiológicas:

Tabla 25. Características microbiológicas del agua potable

Parámetro	Unidad	Especificación
Coliformes fecales	NMP/100 mL	Ausencia
<i>Cryptosporidium</i>	Número de ooquistes/100 L	Ausencia
<i>Giardia</i>	Número de quistes/100 L	Ausencia

Producto: **Goma guar**

Descripción: Polímero natural obtenido del endospermo de *Cyamopsis tetragonolobus*. Es soluble tanto en agua fría como caliente y tienen funciones de espesante, texturizante, gelificante, estabilizante, emulsificante, adhesivo, extensor, previene la gelatinización y floculante (Badui, 2006)

Características físico-químicas

Tabla 26. Características físico-químicas de la goma guar

Parámetro	Unidad	Especificación
Contenido de gona	Porcentaje	>80
Humedad	Porcentaje	<12
Proteína	Porcentaje	<5
pH (solución al 1% a 25°C)	Unidades de pH	5.5-6.5
Tamaño de partícula (malla 200)	Porcentaje (w/w)	>95
Aspecto	N/A	Polvo blanco homogéneo

Características microbiológicas

Tabla 27. Características microbiológicas de la goma guar

Parámetro	Unidad	Especificación
Mohos y Levaduras	NMP/g	<300
<i>E. coli</i>	Ufc/mL	Ausencia
Recuento total	Ufc/g	<5000
<i>Salmonella</i>	Ufc/g	Ausencia en 25 g

Producto: **Sucralosa**

Descripción: Edulcorante no calórico descubierto en 1976 y aprobado como endulzante de uso general por la FDA en 1999 (Council, 2011).

Características físico-químicas

Tabla 28. Características físico-químicas de la sucralosa

Parámetro	Unidad	Especificación
Humedad	Porcentaje	<2
Tamaño de partícula (malla 80)	Porcentaje	>95
pH (solución acuosa al 10%)	Unidades de pH	5-8
Aspecto	N/A	Polvo blanco

Características microbiológicas

Tabla 29. Características microbiológicas de la sucralosa

Parámetro	Unidad	Especificación
-----------	--------	----------------

Recuento total	Ufc/g	<250
Mohos y levaduras	Ufc/g	<50
Coliformes	NMP/100g	<30
<i>Salmonella</i>	Ufc/g	Ausente

Producto: **Benzoato de sodio**

Descripción: La sal sódica de ácido benzoico es uno de los conservantes utilizados más ampliamente en la industria alimenticia. (Badui, 2006).

Características sensoriales

Tabla 30. Características sensoriales del benzoato de sodio

Parámetro	Unidad	Especificación
Contenido (como material seco)	Porcentaje	>99.5
Aspecto	N/A	Polvo color crema, homogéneo, libre de material extraño

Producto: **Fermento láctico FERMEALAC**

Descripción: Cultivo termófilo de *Lactobacillus delbruckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* para inoculación directa en leche. Cultivo liofilizado granulado.

Presentación: 100 U

Almacenamiento: Conservarlo congelado entre -4 y -18°C.

Tiempo de vida útil: 2 años a partir de la fecha de fabricación.

Producto: **Acido láctico**

Descripción: Acido orgánico utilizado para llevar el pH de la mezcla base para la bebida fermentada de soya al valor adecuado para iniciar la fermentación.

Características físico-químicas

Tabla 31. Características físico-químicas del ácido láctico

Parámetro	Unidad	Especificación
Concentración	Porcentaje	84.5-85.5
Azúcares reductores		Ausencia
Densidad (20°C)	g/mL	1.19-1.21

Características sensoriales

Tabla 32. Características sensoriales del ácido láctico

Parámetro	Especificación
Color	Incoloro homogéneo
Olor	Agradable
Sabor	Característico

Producto: **Lecitina de soya**

Descripción: Obtenido de la refinación del aceite de soya, se utiliza como emulsionante para mejorar la textura de los alimentos (Badui, 2006).

Características físico-químicas

Tabla 33. Características físico-químicas de la lecitina de soya

Parámetro	Unidad	Especificación
Humedad	Porcentaje	0.3
Viscosidad (25°C)	cP	125
Valor ácido	Porcentaje	20.5
Indice de peróxido	mEq	0

Características sensoriales

Tabla 34. Características sensoriales de la lecitina de soya

Parámetro	Especificación
Textura	Viscosa, sin partículas en suspensión
Olor	Típico de soya
Aspecto	Puro, típico de soya, no ácido no rancio
Partículas oscuras	Ausencia

Características microbiológicas

Tabla 35. Características microbiológicas de la lecitina de soya

Parámetro	Unidad	Especificación
Recuento total	Ufc/g	$1.5 \cdot 10^2$
Coliformes totales	Ufc/g	<10 (sin desarrollo de colonias)

<i>E. coli</i>	Ufc/g	Ausencia
Mohos y levaduras	Ufc/g	<10 (sin desarrollo de colonias)
<i>Salmonella</i>	Presencia en 25g	Ausencia

Producto: **Esencia de yogurt 3MF03375**

Descripción: Esencia utilizada con el objetivo de impartir, modificar y acentuar el sabor de bebida láctea del producto (Codex, 2008).

Presentación: 1 litro.

Almacenamiento: Mantener en lugar fresco y seco.

Características físico-químicas

Tabla 36. Características físico-químicas de la esencia de yogurt

Parámetro	Unidad	Especificación
Estado físico	N/A	Líquido
pH	Unidades de pH	Aprox. 2.4
Densidad picnométrica (25°C)	g/cc	Aprox. 1.10030
Sólidos solubles	Porcentaje	55-57 °Brix
Índice de Refracción (20°C)	N/A	1.4325-1.4355

Características sensoriales

Tabla 37. Características sensoriales de la esencia de yogurt

Parámetro	Especificación
Aspecto	Libre de partículas extrañas

Color	Transparente, ligeramente amarillento
Olor	Característico
Sabor	Característico

Producto: **Esencia de guanábana Fl. 3.FS00904**

Descripción: Esencia, sabor a guanábana, concentrada para la aplicación en bebidas, panadería y pastelería, confites, lácteos, entre otras (Florasíntesis, 2009).

Presentación: 1 kg.

Almacenamiento: Mantener en lugar fresco y seco.

Transporte: No acompañarlo con otros materiales de naturaleza diferente, ni con productos para uso químico o cosmético.

Tiempo de vida útil: 2 años a partir de la fecha de fabricación

Características físico-químicas

Tabla 38. Características físico-químicas de la esencia de guanábana

Parámetro	Unidad	Especificación
Estado físico	NA	Líquido
Solubilidad	NA	Algo soluble en agua y soluble en alcohol
Densidad	g/mL	1.002-1.022
Índice de Refracción		1.4230-1.4290

Características sensoriales

Tabla 39. Características sensoriales de la esencia de guanábana

Parámetro	Especificación
Color	Ligeramente amarillo
Olor	Frutal
Sabor	Característico

Especificaciones producto semi-elaborado

Producto: **Extracto hidrosoluble de soya (EHS)**

Descripción: Extracto hidrosoluble de soya obtenido mediante la filtración de la molienda de granos de soya hidratados con agua, al cual se le aplica un tratamiento térmico con el objetivo de inactivar los factores antinutricionales presentes y para asegurar su seguridad a través de una pasteurización adecuada (America, 1996).

Características físico-químicas

Tabla 40. Características físico-químicas del EHS

Parámetro	Unidad	Especificación
Agua*	Porcentaje	91.5%
Proteína total*	Porcentaje	1.88%
Grasa total*	Porcentaje	1.65%
Cenizas*	Porcentaje	0.65%
Carbohidratos totales*	Porcentaje	3.29%
Azúcares*	Porcentaje	2.47%

Sólidos solubles Porcentaje 3-3.2%

*Tomado de “USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24 (2011)” (USDA, 2011)

Características sensoriales

Tabla 41. Características sensoriales del EHS

Parámetro	Especificación
Color	Blanco cremoso
Olor	Olor suave característico a soya, libre de olores extraños
Sabor	Sabor suave característico a soya, libre de sabores extraños
Textura	Homogénea, con poca arenosidad

Características microbiológicas

Tabla 42. Características microbiológicas del EHS

Parámetro	Unidad	Especificación
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ufc/mL	Ausencia
<i>Escherichia coli enteropatógena</i>	Ufc/mL	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ufc/mL	Ausencia
Recuento total	Ufc/mL	<20000
Coliformes totales	Presencia en 1mL	Ausencia

Almacenamiento: Mantener en refrigeración a menos de 4°C hasta máximo 7 días después de su elaboración.

Producto: **Mezcla para fermentación**

Descripción: La mezcla para fermentación se elabora a partir del extracto hidrosoluble de soya con la adición de sacarosa, goma guar, lecitina, benzoato de sodio, fermento láctico en las cantidades adecuadas y ácido láctico en caso de ser necesario.

Características físico-químicas

Tabla 43. Características físico-químicas de la mezcla para fermentación

Parámetro	Unidad	Especificación
pH	Unidades de pH	6.8-7.1
Sólidos solubles	Porcentaje	9.5-10.5
Acidez	Porcentaje	0.04-0.07

Características sensoriales

Tabla 44. Características sensoriales de la mezcla para fermentación

Parámetro	Especificación
Color	Blanco cremoso
Olor	Olor suave característico a soya, libre de olores extraños
Sabor	Sabor suave característico a soya, dulce, libre de sabores extraños
Textura	Uniforme, sin grumos, poca arenosidad

Características microbiológicas

Tabla 45. Características microbiológicas de la mezcla para fermentación

Parámetro	Unidad	Especificación
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ufc/mL	Ausencia
<i>Escherichia coli enteropatógena</i>	Ufc/mL	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ufc/mL	Ausencia
Recuento total	Ufc/mL	<20000
Coliformes totales	Presencia en 1mL	Ausencia

Recomendaciones: De preferencia utilizar inmediatamente.

Producto: **Mezcla fermentada**

Descripción: La mezcla fermentada se obtiene luego de un proceso de fermentación hasta llegar a un pH entre 4.2 y 4.5.

Características físico-químicas

Tabla 46. Características físico-químicas de la mezcla fermentada

Parámetro	Unidad	Especificación
pH	Unidades de pH	4.2-4.5
Sólidos solubles	Porcentaje	4-4.5
Acidez	Porcentaje	0.30-0.36
Viscosidad	cP	3000-3300

Características sensoriales

Tabla 47. Características sensoriales de la mezcla fermentada

Parámetro	Especificación
Color	Blanco cremoso
Olor	Olor suave característico a yogurt, libre de olores extraños
Sabor	Sabor suave característico a yogurt, ligeramente ácido, libre de sabores extraños
Textura	Uniforme, sin grumos, poca arenosidad

Características microbiológicas

Tabla 48. Características microbiológicas de la mezcla fermentada

Parámetro	Unidad	Especificación
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ufc/mL	Ausencia
<i>Escherichia coli enteropatógena</i>	Ufc/mL	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ufc/mL	Ausencia
Recuento total	Ufc/mL	10 ⁶ -10 ⁷
Coliformes totales	Presencia en 1mL	Ausencia

Recomendaciones: De preferencia utilizar inmediatamente.

Especificaciones de producto terminado

Producto: **Bebida de soya**

Características físico-químicas

Tabla 49. Características físico-químicas de la bebida de soya

Parámetro	Unidad	Especificación
pH	Unidades de pH	4.2-4.5
Sólidos solubles	Porcentaje	4-4.5
Acidez	Porcentaje	0.30-0.36
Viscosidad	cP	1800-2000

Características sensoriales

Tabla 50. Características sensoriales de la bebida de soya

Parámetro	Especificación
Color	Blanco cremoso
Olor	Olor suave característico a yogurt, libre de olores extraños
Sabor	Sabor suave característico a yogurt, ligeramente ácido y dulce de sabores extraños
Textura	Homogénea, con poca arenosidad

Características microbiológicas

Tabla 51. Características microbiológicas de la bebida de soya

Parámetro	Unidad	Especificación
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ufc/mL	Ausencia
<i>Escherichia coli enteropatogénica</i>	Ufc/mL	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ufc/mL	Ausencia
Recuento total	Ufc/mL	10 ⁶ -10 ⁷
Coliformes totales	Presencia en 1mL	Ausencia

Almacenamiento: Almacenar 4 semanas a 4°C

Programas de control

Control de Calidad de Agua

Programa de Control de Calidad de Agua						
	Fecha de elaboración	Fecha de aprobación	Versión	Código	Página	
	3 de octubre 2011	10 de octubre 2011	1	0001	1 de 1	
Norma N° 1		Control de Calidad de Agua				
Lote	Fecha					
Parámetro	Especificación	Cumple	No cumple	Observaciones	Firma del Responsable	
Sabor	No objetable					
Olor	No objetable					
Dureza						
Coliformes Fecales	Ausencia					
Elaboró:	Revisó:					Aprobó:
Cargo:	Cargo:					Cargo:

Control de Calidad de Granos de Soya

Programa de Control de Calidad de Granos de Soya						
	Fecha de elaboración	Fecha de aprobación	Versión	Código	Página	
	3 de octubre 2011	10 de octubre 2011	1	0002	1 de 1	
	Norma Nº 2					
Lote	Fecha	<u>Control de Calidad de Granos de Soya</u>				
Parámetro	Especificación	Cumple	No cumple	Observaciones	Finna del Responsable	
Color	Café blanquecino					
Olor	Olor suave característico a soya, libre de olores extraños					
Aspecto	Homogéneo, libre de material extraño					
Mohos y Levaduras	Ausencia					
Coliformes totales	Ausencia					
E. coli	Ausencia					
Aerobios totales	<10					
Elaboró:	Revisó:			Aprobó:		
Cargo:	Cargo:			Cargo:		

Control de Calidad de Extracto Hidrosoluble de Soya

Programa de Control de Calidad de Extracto Hidrosoluble					
Fecha de elaboración	Fecha de aprobación	Versión	Código	Página	
	3 de octubre 2011	10 de octubre 2011	1	0003	1 de 1
Norma N° 3					
Lote	Control de Calidad de Extracto Hidrosoluble				
Fecha					
Parámetro	Especificación	Cumple	No cumple	Observaciones	Firma del Responsable
Sólidos solubles	3 – 3.2%				
Color	Blanco cremoso				
Olor	Olor suave característico a soya, libre de olores extraños				
Sabor	Sabor suave característico a soya, libre de sabores extraños				
Textura	Homogénea, con poca arenosidad				
Elaboró:	Revisó:		Aprobó:		
Cargo:	Cargo:		Cargo:		

Control de Calidad de Mezcla para Fermentar

Programa de Control de Calidad de Mezcla para Fermentar						
	Fecha de elaboración	Fecha de aprobación	Versión	Código	Página	
	3 de octubre 2011	10 de octubre 2011	1	0004	1 de 1	
Norma Nº 4						
Lote	<u>Control de Calidad de Mezcla para Fermentar</u>					
Fecha						
Parámetro	Especificación	Cumple	No cumple	Observaciones	Firma del Responsable	
pH	6.8 - 7.1 unidades de pH					
Sólidos solubles	9.5 - 10.5%					
Acidez	0.04 - 0.07%					
Color	Blanco cremoso					
Olor	Olor suave característico a soya, libre de olores extraños					
Sabor	Sabor suave característico a soya, dulce, libre de sabores extraños					
Textura	Uniforme, sin grumos, poca arenosidad					
Elaboró:	Revisó:		Aprobó:			
Cargo:	Cargo:		Cargo:			

Control de Calidad de Mezcla Fermentada

Programa de Control de Calidad de Mezcla Fermentada					
	Fecha de elaboración	Fecha de aprobación	Versión	Código	Página
	3 de octubre 2011	10 de octubre 2011	1	0005	1 de 1
Norma N° 5					
Lote	<u>Control de Calidad de Mezcla Fermentada</u>				
Fecha					
Parámetro	Especificación	Cumple	No cumple	Observaciones	Firma del Responsable
pH	4.2 - 4.5 unidades de pH				
Sólidos solubles	4 - 4.5%				
Acidez	0.30 - 0.36%				
Viscosidad	3000-3300 Cp				
Color	Blanco cremoso				
Olor	Olor suave característico a yogurt, libre de olores extraños				
Sabor	Sabor suave característico a yogurt, ligeramente ácido, libre de sabores extraños				
Textura	Uniforme, sin grumos, poca arenosidad				
Elaboró:	Revisó:				Aprobó:
Cargo:	Cargo:				Cargo:

Control de Calidad de Producto Fermentado

Programa de Control de Calidad de Producto Fermentado					
	Fecha de elaboración	Fecha de aprobación	Versión	Código	Página
	3 de octubre 2011	10 de octubre 2011	1	0006	1 de 1
Norma Nº 6					
Lote	Control de Calidad de Producto Fermentado				
Fecha					
Parámetro	Especificación	Cumple	No cumple	Observaciones	Firma del Responsable
pH	4.2 - 4.5 unidades de pH				
Sólidos solubles	4 - 4.5%				
Acidez	0.30 - 0.36%				
Viscosidad	1800 - 2000 Cp				
Color	Blanco cremoso				
Olor	Olor suave característico a yogurt, libre de olores extraños				
Sabor	Sabor suave característico a yogurt, ligeramente ácido y dulce de sabores extraños				
Textura	Homogénea, con poca arenosidad				
Elaboró:	Revisó:				Aprobó:
Cargo:	Cargo:				Cargo:

XVII. Seguridad Alimentaria

Para garantizar la calidad tanto de materia prima como del producto procesado se manejarán programas de sanitización y limpieza, controles de plagas, sistema de análisis de peligros y puntos críticos (HACCP) y plan de muestreo.

Limpieza y Desinfección

El programa de limpieza y sanitización debe cumplir con los requerimientos particulares del proceso y el producto a elaborarse:

Tabla 52. Programa de limpieza y sanitización

Área	Producto	Especificaciones
Lavado de equipos (Ecolab, 2010)	P3-topax 66 Detergente con función de limpiador y sanitizante para remover materia orgánica (Ecolab, 2010)	Concentración 2-5% (2% contiene 800 ppm de cloro disponible) t=15 min T=20-60°C (Ecolab, 2010) Realizarse después de 8 horas de producción.
Área externa de equipos (Ecolab, 2010)	P3-asepto MT Producto medianamente alcalino con fosfatos (Ecolab, 2010)	Concentración 2-5% Temperatura ambiente (Ecolab, 2010) Realizarse después de 8 horas de producción
Procesador SoyMilk Machine	Proceso de CIP (Clean in Place)	1. Después de las primeras 8 horas de producción se realizará un lavado simple, es decir solo enjuague y limpieza alcalina.

2. Agua bombeada sin recirculación hasta que no salgan restos de leche. T= 40-50°C.
3. Solución de hidróxido de sodio recirculada por 40 min. T= 50°C
Concentración= 0.2-2%
4. Enjuague con agua recirculada por 5 min. T= temperatura ambiente.

Luego de otras 8 horas de producción se realiza una limpieza doble, es decir tanto alcalina como ácida.

Pasos: 1,2,3. Iguales a las especificaciones descritas anteriormente.

4. Solución de ácido nítrico recirculada por 40 min. T= 70°C
Concentración 0.5%
5. Enjuague con agua recirculada por 5 min. T= temperatura ambiente.
6. Antes del reinicio de la producción se bombea solución de hipoclorito con 200 ppm de cloro disponible, sin recirculación y se enjuaga sin recirculación Fuente especificada no válida..

Utensilios (limpieza manual por inmersión) (Ecolab,	P3-topax 99 Detergente y desinfectante	Concentración: 1-2% T=20-60°C
---	---	----------------------------------

2010)	neutro basado en amino acetatos (Ecolab, 2010)	T=15 min (Ecolab, 2010) Realizarse después de 8 horas de producción
Pisos y paredes (Ecolab, 2010)	P3-topax 66 Limpiador y sanitizante ácido para remover material orgánico (Ecolab, 2010)	Concentración 2-5% Temperatura ambiente (Ecolab, 2010) Realizarse después de 8 horas de producción

HACCP

Tabla 53. Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control

Ingredientes o Etapas de Proceso	Peligros potenciales	¿Requiere ser abordado en el plan HACCP? (Sí/No)	¿Requiere ser abordado en BPM's? (Sí/No)	¿Por qué?	Medidas a tomar	PCC
Recepción de los granos de soya	Biológicos Mohos ¹ , levaduras, coliformes, <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i>	No	Sí	Para garantizar una materia prima de calidad y asegurar la inocuidad en los siguientes procesos	Selección de proveedores	No
	Químicos Pesticidas	No	Sí			No
Recepción de aditivos	N/A	No	Sí	Son productos elaborados en industrias de alta calidad	N/A	No
Selección de los granos de soya	Físicos Piedras, granos dañados, pelos	Sí	Sí	Este paso es el único en el que se puede eliminar la basura presente	Selección de proveedores, correcta elección de los granos en óptimo estado	No
Pesaje de los aditivos	N/A	No	Sí	Una mala manipulación de los aditivos o exceso en el consumo de ellos conlleva a diferentes problemas ²	Mantenimiento y calibración de las balanzas	No

Ingredientes o Etapas de Proceso	Peligros potenciales	¿Requiere ser abordado en el plan HACCP? (Sí/No)	¿Requiere ser abordado en BPM's? (Sí/No)	¿Por qué?	Medidas a tomar	PCC
Remojo de los granos de soya. Tiempo: 16 h Temperatura: 25 °C	Biológicos <i>Coliformes</i> , <i>Escherichia coli</i> , mohos y levaduras ambientales	Sí	Sí	El agua de remojo puede estar contaminada	Realizar análisis físicos, químicos y microbiológicos del agua utilizada en la planta	No
Drenado del agua de remojo	N/A	No	Sí	N/A	N/A	No
Preparación de la solución de bicarbonato de sodio al 0.02%	<u>Biológicos</u> <i>Coliformes</i> , <i>Escherichia coli</i> , mohos y levaduras ambientales	Sí	Sí	La solución debe contener la concentración correcta de bicarbonato de sodio. El agua utilizada puede estar contaminada	Realizar análisis físicos, químicos y microbiológicos del agua utilizada en la planta	No
Ebullición de los granos de soya en la solución de bicarbonato de sodio Tiempo: 10 min Temperatura: 89 °C	Biológicos <i>Coliformes</i> , <i>Escherichia coli</i> , mohos y levaduras ambientales	Sí	Sí	El agua utilizada en ebullición puede estar contaminada	Realizar análisis físicos, químicos y microbiológicos del agua utilizada en la planta. Buenas prácticas de manipulación, BPM's e higiene industrial	No

Ingredientes o Etapas de Proceso	Peligros potenciales	¿Requiere ser abordado en el plan HACCP? (SI/No)	¿Requiere ser abordado en BPM's? (SI/No)	¿Por qué?	Medidas a tomar
Drenado del agua de cocción	N/A	No	Sí	N/A	N/A
Licuado de los granos de soya	<u>Biológicos</u> Coliformes, <i>Escherichia coli</i> , mohos y levaduras ambientales. Contaminación cruzada	Sí	Sí	El agua utilizada puede estar contaminada. Contaminación cruzada con instrumentos que no se encuentren limpios.	Realizar análisis físicos, químicos y microbiológicos del agua utilizada en la planta. Buenas prácticas de manipulación, BPM's e higiene industrial
Ebullición del licuado Tiempo: 5 min Temperatura: 89 °C	N/A	No	Sí	N/A	N/A
Filtrado del licuado	Biológicos Contaminación cruzada	Sí	Sí	El agua utilizada puede estar contaminada. Contaminación cruzada con instrumentos que no se encuentren limpios.	Realizar análisis físicos, químicos y microbiológicos del agua utilizada en la planta. Buenas prácticas de manipulación, BPM's e higiene industrial

Ingredientes o Etapas de Proceso	Peligros potenciales	¿Requiere ser abordado en el plan HACCP? (Sí/No)	¿Requiere ser abordado en BPM's? (Sí/No)	¿Por qué?	Medidas a tomar	PCC
Regulado de la temperatura a 70 °C	N/A	No	Sí	N/A	N/A	No
Homogenización a temperatura a 70 °C	Biológicos Contaminación cruzada	Sí	Sí	Los residuos que pueden existir en el homogenizador pueden contaminar el producto	Buenas prácticas de manipulación, BPM's e higiene industrial	No
Pasteurización del EHS Tiempo: 10 min Temperatura 89 °C	Biológicos Coliformes, <i>Escherichia coli</i> , mohos y levaduras ambientales. Contaminación cruzada	Sí	Sí	Es el único paso en el que se pueden eliminar las bacterias patógenas y eliminar/reducir los mohos y levaduras y la microbiota acompañante	Limpieza (Capítulo 13) y mantenimiento del pasteurizador	Sí PCC 1
Almacenamiento del EHS	Biológicos Contaminación cruzada	Sí	Sí	Puede contaminarse el producto si se almacena en recipientes sucios.	Buenas prácticas de manipulación, BPM's e higiene industrial	No
Regulado de la temperatura 38-40 °C	N/A	No	Sí	N/A	N/A	No

Ingredientes o Etapas de Proceso	Peligros potenciales	¿Requiere ser abordado en el plan HACCP? (Sí/No)	¿Requiere ser abordado en BPM's? (Sí/No)	¿Por qué?	Medidas a tomar	PCC
Adición de aditivos y del fermento láctico	<u>Biológicos</u> Contaminación cruzada	Sí	Sí	El EHS puede contaminarse si los instrumentos están sucios	Buenas prácticas de manipulación, BPM's e higiene industrial	No
Fermentación del EHS Tiempo: 21 h Temperatura: 35 °C	<u>Biológicos</u> Contaminación cruzada	Sí	Sí	El fermento puede contaminarse si se encuentra en recipientes sucios y que no sean herméticos. Se debe vigilar el tiempo de fermentación, mediante cronómetros, para alcanzar el pH adecuado para que el producto se mantenga	Buenas prácticas de manipulación, BPM's e higiene industrial	No
Adición de aditivos	<u>Biológicos</u> Contaminación cruzada	Sí	Sí	Puede contaminarse el producto con instrumentos de cocina que no se encuentran limpios	Buenas prácticas de manipulación, BPM's e higiene industrial	No

Ingredientes o Etapas de Proceso	Peligros potenciales	¿Requiere ser abordado en el plan HACCP? (Sí/No)	¿Requiere ser abordado en BPM's? (Sí/No)	¿Por qué?	Medidas a tomar	PCC
Envasado del producto	Biológicos Contaminación cruzada	Sí	Sí	Puede contaminarse el producto con envases que no se encuentren limpios y con residuos de materiales físicos	Cuidar el aseó de los recipientes lavándolos con agua clorada (200 ppm de cloro disponible) (Moore & Potter, 1953).	No
	Físicos Polvo, pedazos de plástico					
Enfriamiento y almacenamiento del producto	N/A	Sí	Sí	El producto puede dañarse si no es mantenido a la temperatura correcta	Controlar la temperatura de la cámara de refrigeración (4 °C) con termómetros	No

¹ Pueden causar micotoxicosis que se caracteriza por los síntomas: daño hepático y renal, problemas reproductivos, abortos y convulsiones (Jacobsen, Coppock, & Mostrom, 2009).

² Ácido láctico: en exceso tiene efectos irritantes al contacto con la piel, ojos y mucosa del tracto respiratorio (Chemtrec, 2011)
 Benzoato de sodio: en exceso causa ligera irritación al contacto con los ojos y su consumo excesivo puede causar náuseas, vómito y desórdenes intestinales (Merck, 2010)
 Bicarbonato de sodio: en exceso ligeramente irritante para la piel y ojos, ligeramente tóxico al ser inhalado e ingerido (Chemtrec Sodium bicarbonate MSDS, 2011)
 Lecitina: ligeramente irritante para piel y ojos (Chemtrec Lecithin MSDS, 2011)

Control de plagas

Programa de Control y erradicación de plagas				
	Fecha de elaboración	Fecha de aprobación	Versión	Código
	3 de octubre 2011	10 de octubre 2011	1	0007
Inspeccionado por:				Fecha:
Responsable de la planta:				
Área	Cebos			Insecticida
	Producto Colocado	Consumos	Ratas muertas	Producto Colocado
				Volumen aplicado
				Evidencia vectores
Elaboró:			Revisó:	Aprobó:
Cargo:			Cargo:	Cargo:

		Programa de Control y erradicación de plagas				Página 2 de 2
Fecha de elaboración 3 de octubre 2011	Fecha de aprobación 10 de octubre 2011	Versión 1	Código 0007	Fecha:		
Inspeccionado por:						
Responsable de la planta:						
Mes	Area			Observaciones		
	Laboratorio	Cuarto de máquinas	Area de desechos			
Enero						
Febrero						
Marzo						
Abril						
Mayo						
Junio						
Julio						
Agosto						
Septiembre						
Octubre						
Noviembre						
Diciembre						

Plan de Muestreo

La demanda mensual probable en Pichincha de la bebida saborizada de soya es 1885.5 kL (ver Estudio de Mercado). En un comienzo BFOODS se propone producir el 0.1% de la demanda mensual total estimada debido al riesgo inicial que supone la creación de una nueva empresa y además por restricciones en el capital de inversión. El 0.1% de la demanda mensual corresponde a 1885.5 L.

BFOODS se establece trabajar 6 días a la semana, por lo que la producción diaria correspondería a 78.5 kg equivalentes a 327 envases diarios de 240 mL.

Para garantizar la calidad del producto terminado se realizarán controles de acuerdo con la Norma NTE INEN para Leches Fermentadas . Los parámetros a controlar son:

- Grasa Total (Norma NTE INEN 12)
- Proteína (Norma NTE INEN 16)
- Presencia de adulterantes (Norma NTE INEN 1500)
- Grasa Vegetal (Norma NTE INEN 1500)
- Coliformes Totales (Norma NTE INEN 1529-7)
- Recuento de *E. coli* (Norma NTE INEN 1529-8)
- Recuento de mohos y levaduras (Norma NTE INEN 1529-10)

Además, para cumplir con estándares internos establecidos por BFOODs se realizarán los siguientes controles:

- pH (AOAC 981.12)

- Sólidos solubles (AOAC 932.12)
- Acidez (AOAC 947.05)
- Viscosidad (en vista de que no existe un método normalizado para la medición de la viscosidad, se realizará este control con el protocolo indicado para el Viscosímetro Brookfield RV)

La cantidad de muestra a ser controlada es obtenida de acuerdo a la Norma NTE INEN 0476:80 para muestreo al azar de productos envasados o empaquetados. Según la norma indicada, para un tamaño de lote de 327 unidades corresponde analizar una muestra de 35. Las mismas que serán extraídas aleatoriamente de su posición en el transcurso de la producción.

XVIII. Conclusiones

Evaluando los objetivos planteados en esta tesis, se pudo concluir que la elaboración del producto cumplió con todas las metas propuestas:

1. Se logró elaborar una bebida fermentada a partir del EHS que presentó características organolépticas agradables para un amplio sector de la población.
2. Se modificó el sabor afrijolado y amargo de la soya mediante la cocción de los granos en la solución de bicarbonato de sodio al 0.02% p/v y la fermentación del EHS con cultivo láctico.
3. Se obtuvo un producto que cumple con las normas establecidas por la FDA para alimenticios provenientes de soya, porque la bebida presenta 7.39 gramos de proteína de soya por porción; siendo posible ser declarado como un contribuyente para reducir las enfermedades cardiovasculares cuando forma parte de una dieta baja en grasas saturadas y colesterol (UnitedSoybeanBoard, 2010).

XIX. Recomendaciones

Durante el desarrollo de esta investigación se reconoció las limitaciones que presenta este estudio. Al tomar en cuenta estas se generaron las recomendaciones que permitirían complementar este trabajo investigativo a fin de obtener mayor cantidades de información que pueda ser necesaria para el desarrollo de bebidas fermentadas a base de soya.

1. Es importante estudiar el efecto de una temperatura intermedia a las utilizadas en la fermentación pues que esta es determinante en los resultados obtenidos en cada una de las variables analizadas.
2. Por otro parte se podrían realizar diferentes sustratos de fermentación o aplicar combinaciones de los mismos, para determinar sus efectos sobre las variables de estudio.
3. Para obtener una acidez mayor en el producto final se puede estudiar la adición de sales de calcio, como por ejemplo el carbonato, pues estas actúan como buffers que retardan la disminución del pH provocando que se necesite una mayor concentración de ácido en el producto fermentado. Aunque a su vez esta adición prolongaría el tiempo de fermentación del producto.
4. Para mejores resultados en la distribución de grasa en el producto se obtendrían mejores resultados si se homogenizara a mayores presiones puesto que estudios han mostrado excelentes atributos sensoriales hasta con la aplicación de 17 MPa.
5. Dependiendo del grado de homogenización que se obtenga en el producto se debe estudiar las aplicaciones de colorantes en base acuosa u oleosa para determinar cual da mejores resultados en homogeneidad del color donde no se observe separación de fases y por ende se afecte la solubilidad del colorante.

6. Además, se podría utilizar una tercera temperatura con el fin de evaluar completamente el tiempo de vida útil del producto

XX. Bibliografía

Aarnikunnas, J. (2006). Metabolic engineering of lactic acid bacteria and characterization of novel enzymes for the production of industrially important compounds. Helsinki.

Aldin, E. R. (2006). Bitterness of soy extracts containing isoflavones and saponins. *Journal of Food Science* , 71 (3), 211-215.

AlproSoya. (2008). En AlproSoya, *Discover the World of Soy: impact on health*.

America, T. S. (Marzo de 1996). Voluntary Standards for the Composition and Labeling of Soymilk in the United States.

Angulo, O., & O'Mahony, M. (2009). Aplicación del modelo de Thurstone a las pruebas sensoriales. *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION* , 349-357.

Association., T. A. (s.f.). *SoyStats: A Reference Guide to Important Soybean Facts and Figures*. Recuperado el 25 de Febrero de 2011, de <http://www.soystats.com/2010/Default-frames.htm>

Aziz, A. (2003). Extendin-4, a GLP-1 receptor agonist, interacts with proteins and their products of digestion to suppress food intake in rats. *Journal of Nutrition* , 133:2326-2330.

Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. Mexico.

Bean, G. (1973). Phytosterols. *Advances in lipid research* , 11:193-218.

Bhathena, S. (2007). Role of dietary protein in obesity. *International Journal of Medical Sciences* , 4(2):72-82.

Blagden, T. G. (2005). Reduction of levels of volatile components associated with the "beany" flavor in soymilk by Lactobacilli and Streptococci. *Journal of Food Science* , 70 (3), M186-M189.

Blair, C., & Taylor, R. (2008). *Bioestadística*. México: pearson.

Board, U. S. (2010). *soyconnection.com*. Recuperado el 11 de noviembre de 2011, de http://www.soyconnection.com/health_nutrition/heart_health/health_claim_guide.php

Bourne, M. C. (1976). Effect of sodium alkalis and salts on pH and flavor of soy milk. *Journal of Food Scienc* , Vol. 41, 62–65.

Brookfield Engineering, L. *Brookfield Dial Viscosimeter: Operating Instructions*. Manual No. M/85-150-P700.

Brower, I. (2004). Dietary alpha-linolenic acid is associated with reduced risk of fatal coronary heart disease, but increased prostate cancer risk: a meta-analysis. *Journal of Nutrition* , 134:919-22.

Brown, K. (1993). Effect of dietary fiber (soy polysaccharide) on the severity, duration and nutritional outcome of acute, watery diarrhea in children. *Pediatrics* , 92:241-7.

BusinessDictionary. (2011). Recuperado el 15 de Octubre de 2011, de <http://www.businessdictionary.com/definition/market-research.html>

Campbell, A. (2005). *Tony's Lactose Free Cookbook - the science of lactose intolerance and how to live without lactose*.

Cassidy, A. (2006). Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans. *Journal of AOAC* , 89(4):1182-8.

Castillo, J., & Chavez, C. (2008). *Implementación de la documentación de las BUneas Prácticas de Manufactura y establecimiento de los manuales de procedimiento de las pruebas físicoquímicas en la planta de enfriamiento*. Bogotá D.C.

Cerning, J. (1995). Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and diary porpionibacteria. *Lait* (75), 463-472.

Chan, A. (1988). Functional response of healthy and diseased glomeruli to a large, protein-rich meal. *Journal of Clinical Investigation* , 81:245-54.

Chun, J. K. (2007). Conversion of isoflavone glucosides to aglycones in soymilk by fermentation with Lactic Acid Bacteria. *JFS M: Food Microbiology and Safety* , Vol 72 (2).

Clair, R. (2005). Soy, isoflavones and atherosclerosis. *Handbook of Experimental Pharmacology* , 301-23.

Cochran, W., & Cox, G. (1965). *Diseños experimentales*. México: Editorial Trillas.

Codex. (2008). *Directivas para el uso de aromatizantes CAC/GL 6-2008*.

Council, T. C. (2011). *All About Sucralose*. Recuperado el 29 de Septiembre de 2011, de http://www.sucralose.org/pdf/ADAFactSheet_FINAL.pdf

De Vuyst, L. D. (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* (23), 153-177.

Díaz, G. P. (1985). *INIAP-303: Una variedad de soya de gran producción y resistente al volcamiento*. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Quito: Departamento de Comunicación Social y Relaciones Públicas del INIAP.

Douglas, B. (1988). The influence of different nutrients on plasma cholecystokinin levels in the rat. *Experientia* , 44:21-23.

Drake, M. C. (2000). Soy Protein Fortification Affects Sensory, Chemical and Microbiological Properties of Dairy Yogurts. *Journal of Food Science: Sensory and Nutritive Qualities of Food* , Vol. 65 (7).

Ecolab. (2010). *Cleaning, Sanitizing, Chain Lubricating*. Dusseldorf.

Estévez, A. M. (2010). Effect of solid content and sugar combinations on the quality of soymilk-based yogurt. *Journal of Food Processing and Preservation* , 34, 87-97.

Fang, N. (2004). Comprehensive phytochemical profile of soy protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 52:4012-4020.

FAO Dirección de Estadística 2011. (s.f.). *FAOSTAT PriceStat*. Recuperado el 23 de Febrero de 2011, de <http://faostat.fao.org/site/570/DesktopDefault.aspx?PageID=570#anchor>

Fennema, O. (2000). *Química de los Alimentos* (2nda ed. ed.). Ed. Acribia.

Froetschel, M. (1996). Bioactive peptides in diesta that regulate gastrointestinal function and intake. *Journal of Animal Science* , 74:2500-2508.

Gibson, G. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* , 125:1401-12.

Guamán, R. P. (1993). *INIAP-305: nueva variedad de soya*. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias.

Hayakawa, K. (1990). Effects of soybean oligosaccharides on human faecal flora. *Microbial Ecology in Health and Disease* , 3:292-303.

INEC. (2011). *Resumen del Censo de Población y Vivienda 2010 para la provincia de Pichincha*.

INEN. (2011). Agua potable, Requisitos. *NTE 1108:2011* .

Kanda, H. W. *Yoghurt production by Lactobacillus fermentation of soybean milk*. Northern Regional Research Laboratory. USA Department of Agriculture.

Kanda, H. W. (1976). Yoghurt production by Lactobacillus fermentation of soybean milk. *Process Biochemistry* .

Keast, R. C. (2004). The influence of sodium salts on binary mixtures of bitter tasting compounds. *Chemical Senses* , 29, 431-439.

Kennedy, A. (1998). The Bowman-Birk inhibitor from soybeans as an anticarcinogenic agent. *The American Journal of Clinican Nutrition* , 68:1406S-12S.

Kim, J. (2005). Effects of pinitol isolated from soybeans on glyacemic control and cardiovascular risk factors in Korean patients with type II diabetes mellitus: a randomized controlled study. *European Journal of Clinical Nutrition* , 59:456-8.

Kim, K.-O., Ennis, D., & O'Mahony, M. (1998). A new approach to category scales of intensity II: use of d' values. *Journal of Sensory Studies* , 251-267.

Kontessis, P. (1990). Renal, metabolic and hormolan responses to ingestion of animal and vegetable proteins. *Kidney International* , 38:136-44.

Lau, D. (2006). Metabolic Syndorme: A Marker of Patients at High Cardiovascular Risk. *Canadian Journal of Cardiology* , 22: 85B-90B.

Lawles, & Heymann. (1999). *Sensory Evaluation of Food*. New York: Springer.

Lee, W. L. (2010). Formation and Physical Properties of Yogurt. *The Asian-Australian Journal of Animal Sciences* , Vol. 23 (9), 1127-1136.

Ley de Compañías. (5 de Noviembre de 1999).

L'Hereux-Bouron, D. (2004). Preabsorptive factors are not main determinants of intake depression induced by a high-protein diet in the rat. *Physiology of Behavior* , 81:499-504.

Lifshitz, F. (1996). Congenital lactose deficiency. *Journal of Pediatrics* , 69:229-237.

Lihn, A. (2005). Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obesity Reviews* , 6:13-21.

López, N. A. (2011). *Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, Dirección Nacional de Servicios Académicos Virtuales*. Recuperado el 12 de Octubre de 2011, de <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/sedes/manizales/4010039/Lecciones/CAPITULO%20II/tecnicas.htm>

Lovati, M. (2000). Soy protein peptides regulate cholesterol homeostasis in Hep G2 cells. *Journal of Nutrition* , 130:2543-9.

Lucey, J. (2004). Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology* , Vol. 57 (2/3).

Lukaszuk, J. (2007). Preliminary study: soymilk as effective as skim milk in promoting weight loss. *Journal of the American Dietetic Association* , 28:1349-1352.

Maehashi, K. H. (2009). Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences* (66), 1661-1671.

Manzoni, M. (2005). Fermented soy product supplemented with isoflavones affected fat depots in juvenile rats. *Nutrition* , 21:1018-1024.

Martensson, O. A. (2001). Formulation of an oat-based fermented product and its comparison with yoghurt. *Journal of Science of Food and Agriculture* (81), 1314-1321.

Mauchbach, J. (2004). Distribution of soy-derived phytoestrogens in human breast tissue and biological fluids. *Obstetrics & Gynecology* , 103(5 Pt 1):892-8.

Meeker, D. (1940). Experimental atherosclerosis and high protein diets. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* , 45:543-5.

Messina, M. (2007). Skeletal benefit of soy isoflavones: a review of the clinical trial and epidemiologic data. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* , 146:839-47.

Nadal, J. M. (1997). *Guías prácticas de Marketing: Prontuarios y check list*. Madrid: Diaz de Santos.

Norma ISO, 6. Sensory analysis - Methodology - General guidance.

Normalización, I. E. (s.f.). NTE INEN 2 395:2009 Leches Fementadas Requisitos. *Norma Técnica Ecuatoriana* .

Normalización, I. E. (2008). *Rotulado de productos alimenticios para consumo humano Parte 1. Requisitos*.

Normalización, I. E. (2008). *Rotulado de productos alimenticios para consumo humano Parte 2. Rotulado Nutricional. Requisitos*.

O'Mahony, M. (1986). *Sensory Evaluation of Food*. New York: Marcel Dekker.

O'Mahony, M. (1992). Understanding discrimination tests: a user-friendly treatment of response bias, rating and ranking R-index tests and their relationship to signal detection. *Journal of Sensory Studies* , 7: 1–47. doi: 10.1111/j.1745-459X.1992.tb00519.x.

Özer, B. (2004). Destructive Effects of Classical Viscosimeters on the Microstructure of Yoghurt Gel. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* , 28, 19-23.

Özer, B. S. (1999). Effect of protein concentration on the properties and structure of concentrated yogurts. *INternational Journal of Diaty Technology* , VOL. 52 (4).

Pagano, R. (2006). *Estadística para las Ciencias del Comportamiento* (7 ed ed.). Mexico: Thomson.

Poppit, S. (1998). Short-term effects of macronutrient preloads on appetite and energy intake in lean women. *Physiology of Behavior* , 64(3):279-85.

Professionals, T. S. (2010). *Sensory Society*. Recuperado el 23 de Noviembre de 2011, de http://www.sensorysociety.org/ssp/wiki/Focus_Group_Moderating/

Quiles, J. (Enero de 2006). *El Registro Sanitario en la República del Ecuador*. Recuperado el 5 de Octubre de 2011, de http://www.icex.es/staticFiles/Id%20397673%20Registro%20Sanitario%20Ecuador.pdf#_10880_.pdf

Rivas, M. (2002). Soymilk lowers blood pressure in men and women with mild to moderate essential hypertension. *Journal of Nutrition* , 132:1900-2.

Ruiz, X. V., Angulo, O., & O'Mahony, M. (2008). Hidden and False "Preferences" on the Structured 9-point Hedonic Scale. *Journal of Sensory Studies* , 780-790.

Sahlin, P. (Mayo de 1999). Fermentation as a method of food processing: production of organic acids, pH development and microbial growth in fermented cereals. Lund, Suecia.

Sarwar, G. (1985). Corrected relative net protein ratio (CRNPR) method based on differences in rat and human requirements for sulfur amino acids. *Journal - Association of Official Analytical Chemists* , 68:689-93.

Setchell, K. (2001). Soy isoflavones-benefits and risks from nature's selective estrogen receptor modulators (SERMs). *Journal of the American College of Nutrition* , 20:354S-62S.

Shi, J. (2004). Saponins from edible legumes: chemistry, processing, and health benefits. *Journal of Medicinal Food* , 7:67-78.

SIGAGRO: Sistema de Información Geográfico y Agropecuario. (s.f.). *SOYA: SUPERFICIE, PRODUCCIÓN Y RENDIMIENTO A NIVEL NACIONAL*. Recuperado el 23 de Febrero de 2011, de <http://www.magap.gob.ec/sigagro/index.php>

Singh, P. K. (2008). Functional and Edible Uses of Soy Protein Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* , Vol. 7.

Steggerda, F. (1966). Effects of various soybean products on flatulence in the adult man. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* , 121:1235-9.

Steinkraus, K. (Ed.). (1996). *Handbook of Indigenous Fermented Foods* (2nda ed. ed.). Ithaca, Nueva York.

Tatematsu, K. (2004). Factors other than phytostrerols in some vegetables oils affect the survival of SHRSP rats. *Food and Chemical Toxicology* , 42:1443-51.

The American Soybean Association, T. A. (s.f.). *Soybean's many edible uses*. Recuperado el 23 de Febrero de 2011, de <http://www.soystats.com/2010/edibleuses.htm>

Torres, M., & Paz, K. (2002). Tamaño de una muestra para una Investigación de Mercado. *Boletín Electrónico de la Facultad de Ingeniería* , pág. 9.

UnitedSoybeanBoard. (2010). *soyconnection.com*. Recuperado el 11 de noviembre de 2011, de http://www.soyconnection.com/health_nutrition/heart_health/health_claim_guide.php

USDA. (2011). *National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24*. Recuperado el 5 de Octubre de 2011, de http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl

Velasquez, M. (2007). Role of dietary soy protein in obesity. *International Journal of Medical Sciences* , 4:72-82.

Vucenik, I. (2006). Protection agains cancer by dietary IP6 and inositol. *Nutrition and Cancer* , 55:109-25.

Welty, F. (2002). Soynuts lower systolic and diastolic blood plesure in hypertensive and normotensive menopausal women. *American Heart Association* .

Wolfs, M. (2006). Effectiveness of customary use of phytosterols/-stanol enriched margarines on blood cholesterol lowering. *Food and Chemical Toxicology* , 44(10):1682-8.

Yadav, D. S. (2010). Development of a peanut milk-based fermented curd. *International Journal of Food Science and Technology* (45), 2650-2658.

Yazici, F. A. (1997). Fermentation and Properties of Calcium-fortified Soymilk Yogurt. *Journal of Food Science* , Vol. 62 (3).

Young, V. (1991). Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *Journal of the American Dietetic Association* , 91:828-35.

Anexos

Anexo 1: Resultados y Discusión

Tiempo de fermentación (h)

Tratamiento	Repeticiones			Promedio
	I	II	III	
1	21.50	21.50	22.00	21.67
2	21.50	22.00	22.00	21.83
3	21.50	22.00	22.00	21.83
4	21.50	21.50	22.00	21.67
5	10.50	11.50	11.50	11.17
6	10.50	11.50	11.50	11.17
7	10.50	11.50	11.50	11.17
8	10,50	11.50	11.50	11.17

Tabla 53 Datos de tiempo de fermentación de cada tratamiento y su media

Viscosidad (cps)

Tratamiento	Repeticiones			Promedio
	I	II	III	
1	2450.00	2725.00	2587.50*	2587.50
2	3450.00	3050.00	2900.00	3133.33
3	2600.00	2500.00	2800.00	2633.33
4	3100.00	3050.00	3300.00	3150.00
5	1240.00	1350.00	1350.00	1313.33
6	1950.00	2100.00	1900.00	1983.33
7	1840.00	1650.00	1800.00	1763.33
8	3350.00	2800.00	3075.00*	3075.00

Tabla 54 Datos de viscosidad de cada tratamiento y su media

Los valores que presentan * fueron eliminados debido a que se consideró que estaban muy dispersos con respecto a los otros datos obtenidos. Este dato fue reemplazado por la media de las otras dos mediciones.

Acidez (% de ácido láctico)

Tratamiento	Repeticiones			Promedio
	I	II	III	
1	0.341	0.357	0.388	0.3620
2	0.376	0.354	0.288	0.3393
3	0.337	0.304	0.265	0.3020
4	0.343	0.352	0.352	0.3490
5	0.336	0.276	0.261	0.2910
6	0.365	0.272	0.268	0.3017
7	0.311	0.283	0.266	0.2867
8	0.358	0.274	0.283	0.3050

Tabla 55 Datos de acidez de cada tratamiento y su media

Cambio en el contenido de sólidos solubles

Tratamiento	Cambio en el contenido de sólidos solubles (%)			Promedio
	I	II	III	
1	3.00	2.60	3.20	2.93
2	4.70	4.30	4.50*	4.50
3	4.80	4.50	5.00	4.77
4	5.90*	5.50	6.30	5.70
5	2.50	2.80	3.20	2.83
6	4.60	4.20	4.60	4.47
7	4.40	4.50	4.20	4.37
8	5.40	5.20	5.10	5.23

Tabla 56 Datos de consumo de sólidos de cada tratamiento y su media

Los valores que presentan * fueron eliminados debido a que se consideró que estaban muy dispersos con respecto a los otros datos obtenidos. Este dato fue reemplazado por la media de las otras dos mediciones.

Datos de pH inicial y final de la fermentación

Tratamiento	pH inicial			pH final		
	I	II	III	I	II	III
1	7.04	6.98	6.86	4.36	4.42	4.20
2	7.03	6.97	6.85	4.42	4.34	4.23
3	7.04	7.00	6.86	4.44	4.27	4.20
4	7.01	7.03	6.86	4.42	4.29	4.21

5	7.09	6.94	7.00	4.50	4.50	4.50
6	7.08	6.94	6.97	4.50	4.48	4.50
7	7.10	6.94	7.03	4.50	4.48	4.50
8	7.06	6.94	7.04	4.47	4.48	4.48

Tabla 57 Datos de pH de la mezcla inicial y luego de terminar la fermentación de cada tratamiento. EL rango de pH final es de 4.2-4.5

Anexo 2: Evaluación Sensorial

Estudio sensorial preliminar 1

Género _____ Edad _____ Fecha _____

Para la muestra 752 recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su aceptación.

Me gusta extremadamente _____
Me gusta mucho _____
Me gusta ligeramente _____
Ni me gusta ni me disgusta _____
Me disgusta ligeramente _____
Me disgusta mucho _____
Me disgusta extremadamente _____

¿Compraría usted esta bebida? Sí _____ No _____

Para la muestra 491 recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su aceptación.

Me gusta extremadamente _____
Me gusta mucho _____
Me gusta ligeramente _____
Ni me gusta ni me disgusta _____
Me disgusta ligeramente _____
Me disgusta mucho _____
Me disgusta extremadamente _____

¿Compraría usted esta bebida? Sí _____ No _____

Para la muestra 983 recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su aceptación.

Me gusta extremadamente _____
Me gusta mucho _____
Me gusta ligeramente _____
Ni me gusta ni me disgusta _____
Me disgusta ligeramente _____
Me disgusta mucho _____

Me disgusta extremadamente _____

¿Compraría usted esta bebida? Sí _____ No _____

Para la muestra 564 recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su aceptación.

Me gusta extremadamente _____

Me gusta mucho _____

Me gusta ligeramente _____

Ni me gusta ni me disgusta _____

Me disgusta ligeramente _____

Me disgusta mucho _____

Me disgusta extremadamente _____

¿Compraría usted esta bebida? Sí _____ No _____

Anexo 3: Evaluación Sensorial

Estudio Sensorial Preliminar 2

Género _____ Edad _____ Fecha _____

Para la muestra 752 recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su aceptación.

- Gusta muchísimo _____
- Gusta mucho _____
- Gusta moderadamente _____
- Gusta poco _____
- Ni gusta ni disgusta _____
- Disgusta poco _____
- Disgusta moderadamente _____
- Disgusta mucho _____
- Disgusta muchísimo _____

¿Compraría usted esta bebida? Sí _____ No _____

Para la muestra 491 recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su aceptación.

- Gusta muchísimo _____
- Gusta mucho _____
- Gusta moderadamente _____
- Gusta poco _____
- Ni gusta ni disgusta _____
- Disgusta poco _____
- Disgusta moderadamente _____
- Disgusta mucho _____
- Disgusta muchísimo _____

¿Compraría usted esta bebida? Sí _____ No _____

Para la muestra 983 recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su aceptación.

Gusta muchísimo

Gusta mucho

Gusta moderadamente

Gusta poco

Ni gusta ni disgusta

Disgusta poco

Disgusta moderadamente

Disgusta mucho

Disgusta muchísimo

¿Compraría usted esta bebida?

Sí _____

No _____

Anexo 4: Evaluación Sensorial

Estudio Sensorial

Producto bebida

Edad: _____

Género: F____ M____

Instrucciones:

- Probar las muestras según el orden presentado en su formulario de izquierda a derecha.
- Marcar con una X en la descripción que indique su nivel de agrado.

	923	692
Gusta muchísimo	_____	_____
Gusta mucho	_____	_____
Gusta moderadamente	_____	_____
Gusta poco	_____	_____
Ni gusta ni disgusta	_____	_____
Disgusta poco	_____	_____
Disgusta moderadamente	_____	_____
Disgusta mucho	_____	_____
Disgusta muchísimo	_____	_____

- En caso de que haya marcado las muestras en el mismo nivel de agrado, por favor indique el orden de preferencia de ellas.
- Prefiero en primer lugar la : _____
- Segundo lugar: _____

Gracias

Anexo 4: Evaluación Sensorial

Cálculo del Índice R

(O'Mahony, Sensory Evaluation of Food, 1986)

Hipótesis nula: no existe diferencia entre la preferencia de las muestras de sabores guanábana y vainilla.

Tabla 1. Matriz del cálculo del Índice R adaptada de O'Mahony, 1986

		Respuesta del juez				
		S	S?	N?	N	
Muestras	S	a	b	C	d	$N_s = a+b+c+d$
	N	e	f	G	h	$N_n = e+f+g+h$

$$\text{Índice } R = \frac{a(f + g + h) + b(g + h) + ch + \frac{1}{2}(ae + bf + cg + dh)}{N_s \times N_n}$$

1. Ordenar las categorías, en la matriz del cálculo representadas con S, S?, N? y N; de acuerdo a cada uno de los puntos de la escala hedónica. El sabor de guanábana será analizada como Señal (S) y el de vainilla como Ruido (N). Cada una de las letras será reemplazada con el número de consumidores que escogieron ese punto de la escala hedónica. N, para las dos muestras será el total de consumidores evaluados.

Tabla 2. Categorías de los sabores Guanábana (923) y Vainilla (923)

Categoría	9	8	7	6	5	4	3	2	1	N	
Señal	923	5	26	36	23	6	1	1	2	0	100
Ruido	692	4	21	23	26	10	11	2	2	1	100

2. Realizar el cálculo como se presenta en la matriz superior, de la siguiente manera:

IR

$$= \frac{5(21 + 23 + 26 + 10 + 11 + 2 + 2 + 1) + 26(23 + 26 + 10 + 11 + 2 + 2 + 1) + 36(26 + 10 + \dots)}{100 \times 100}$$

IR=0.604

- 3. Calcular el Índice R y multiplicarlo por 100 para tener el porcentaje de Índice $R\%$.**

$$\text{Índice } R\% = 0.604 \times 100 = 60.4\%$$

- 4.** En la Tabla para valores críticos, expresados en porcentajes del Índice R , ubicar el valor de R crítico; de acuerdo al nivel de significancia, al tipo de estudio (una o dos colas) y al número de jueces evaluados. R crítico = $50 + 5.67 = 55.67$
- 5.** Evaluar los valores de R calculado y R crítico para aceptar o rechazar la hipótesis nula. R calculado $>$ R crítico, $60.4 > 55.67$; por lo tanto, se rechaza la H_0 y se concluye que sí existe diferencia entre la preferencia de las muestras con sabor a guanábana y sabor a vainilla.

Anexo 5: Evaluación Sensorial

Cálculo de d' , escala de 9 categorías (ASTM)

Frecuencia y nivel de agrado

1.

Tabla 3. Escala hedónica en categorías para el cálculo de d'

	Categoría	9	8	7	6	5	4	3	2	1	N
A	Guanábana	5	26	36	23	6	1	1	2	0	100
No-A	Vainilla	4	21	23	26	10	11	2	2	1	100

2. Seleccionar las muestras A y No-A (IRAM 15135, 1995). Revisando los datos y las medianas se observa que la mediana de la muestra Guanábana está en la categoría 7 y la mediana de Vainilla en la categoría 6. La mediana del sabor vainilla es menor y por lo tanto seleccionada como No-A.
3. Agrupar los datos de nivel de agrado en dos categorías: Baja y Alta. Identificar la categoría donde está la mediana de la muestra No-A y hacer una tabla.

Tabla 4. Separación de los datos según categorías

Muestra	Baja	Alta
no A	Y _{na}	X _{na}
A	Y _a	X _a

Muestra	Baja	Alta
no A	52	48
A	33	67

A = categoría 7-9, no A = categoría 1-6

4. Tabular las proporciones observadas y seleccionadas. P_a = proporción para la muestra A (X_a/N) y P_{na} = proporción para la muestra No-A (X_{na}/N).

$$P_a = \frac{X_a}{n} = \frac{67}{100} = 0.67$$

$$P_{na} = \frac{48}{100} = 0.48$$

5. Obtener d' y su varianza

5.1 Para $P_{na} = 0.48$ (columnas) y $P_a = 0.67$ (filas) en la tabla X1.9 “Valores de d' para el método A – No-A” (Norma ASTM Standard Practice for Estimating Thurstonian Discriminal Distances) $d' = 0.49$.

5.2 Para obtener la varianza se usa la tabla X1.10 “Valores de B en la estimación de la varianza de d' por el método A – No-A.

Se usa P_{na} y P_a . $B = 3.258$

$$\text{Varianza de } d' = S_{(d')}^2 = \frac{B}{n} = \frac{3.258}{100} = 0.03258$$

6. Probar si δ es diferente significativamente de cero. Se utiliza un nivel de significancia del 5%. La hipótesis nula asume que no hay diferencia perceptible entre las muestras ($\delta=0$). Se acepta o rechaza la hipótesis nula en base a los valores de p calculada y α de estudio.

$$\alpha = 0.05$$

$$p \text{ calculada} = 0.00447$$

$p < \alpha$ = Se rechaza la hipótesis nula. Por lo que se concluye que sí existe la probabilidad de diferenciar entre las muestras.

7. Calcular los intervalos de confianza de d'

$$\begin{aligned} LCL_{95\%} &= d' \pm Z_{\alpha/2} S(d') \\ &= 0.49 \pm 1.96 \sqrt{0.03258} \\ &= 0.49 \pm 0.354 = (0.14 - 0.84) \end{aligned}$$

La magnitud estimada de d' es 0.49. Se puede asegurar con un 95% de confianza que el verdadero valor de d' se encuentra entre 0.14 y 0.84.

Anexo 5: Estudio de Vida Útil

Variables físico-químicas

Tabla 5. Resultados de las variable físico-químicas analizadas para el estudio de vida útil a 4°C

Tiempo (d)	Acidez (%)	pH
0	0.293	4.27
7	0.344	4.23
14	0.375	4.23
21	0.409	4.2

Se observa que en almacenamiento a 4°C existe un aumento progresivo de la acidez mientras que el pH disminuye y es esta propiedad la que llega a su límite inferior de 4.2 en un tiempo total de 21 días.

Tabla 6. Resultados de las variable físico-químicas analizadas para el estudio de vida útil a 20°C

Tiempo (d)	Acidez (%)	pH
0	0.293	4.27
1	0.445	4.12
2	0.74	4.06

Las muestras colocadas a 20°C sufrieron un proceso de degradación a mayor velocidad por lo que se debió tomar valores solamente del día 1 y 2 para poner realizar el análisis matemático de este parámetro.

El comportamiento de estos parámetros es característico de un proceso fermentativo, que aunque se da a una tasa menor debido a que la temperatura está por debajo a la recomendad sigue causando cambios en el producto.

Variables Microbiológicas

Tabla 7. Resultados del recuento total bacteriano para el estudio de vida útil a 4°C

Tiempo (d)	Dilución	
	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
0	35	3,5
7	40.5	5
14	43.5	5
21	37.5	3

Tabla 8. Resultados del recuento total bacteriano para el estudio de vida útil a 20°C

Tiempo (d)	Dilución	
	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
0	35	3
1	33	6
2	35,5	10

Se debe tomar en cuenta que el método de recuento total permite cuantificar al cultivo láctico utilizado como inóculo en la producción de la bebida y a la flora contaminante acompañante.

Se observa que el recuento microbiológico a 4°C se comporta de manera descendente en función del tiempo, es decir que existe una disminución de la carga bacteriana y esto se debe al aumento de la acidez y al pH que afectan al desarrollo bacteriano. Mientras que a 20°C no tiene una tendencia clara. Por lo cual se decidió utilizar la variable de porcentaje de acidez para realizar el cálculo de tiempo de vida útil.

Se grafican los valores del logaritmo natural de los porcentajes de acidez de manera que se obtenga una reacción lineal. Una vez obtenidas las pendientes de estas rectas se obtienen las pendientes o constantes de la reacción a cada temperatura.

Tabla 9. Datos de tiempo y Ln de la acidez obtenidos a 4°C

Datos a 4°C	
Tiempo (d)	Ln Acidez
0	-1.2275827
7	-1.0671136
14	-0.9808293
21	-0.8940401

Tabla 10. Datos de tiempo y Ln de la acidez obtenidos a 20°C

Datos a 20°C	
Tiempo (d)	Ln Acidez
0	-1.2275827
1	-0.809681
2	-0.3011051

Ln de Porcentaje de Acidez vs. Tiempo

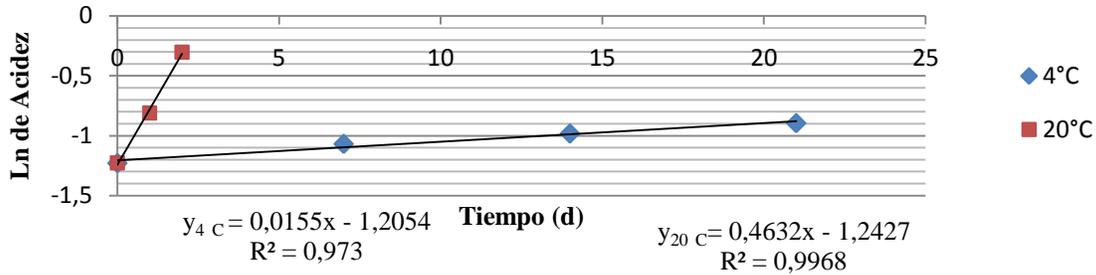


Gráfico1. Logaritmo Natural de Acidez vs. tiempo

Después se grafica el Ln de la constante (k) obtenida del anterior gráfico vs el inverso de la temperatura en Kelvin.

Tabla 10. Datos de Temperatura y constante de reacción K

Temperatura °C	Temperatura K	1/K	Cte (k)	Ln (k)
4	277	0.00361011	0.0155	-4.1669153
20	293	0.00341297	0.463	-0.7700282

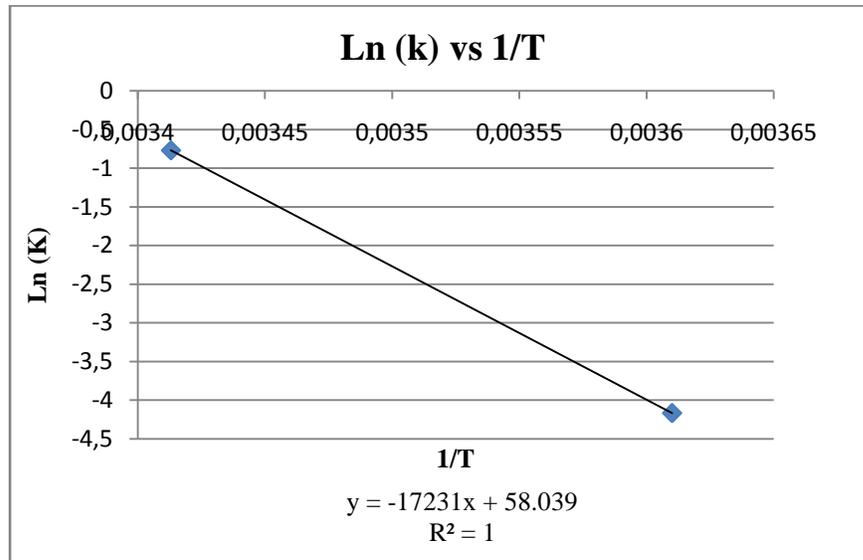


Gráfico 2. Ln de constante de reacción (k) vs 1/T en Kelvin

En la ecuación obtenida del gráfico anterior la pendiente de la recta es E_a/R . En donde E_a es igual a la energía de activación y R es la constante universal de los gases (1.987×10^{-3}). Se despeja la energía de activación de 34241.44 Kcal/mol. Con este dato se calcula K_0 para cada temperatura usando la siguiente ecuación:

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{Ea}{RT}\right)$$

Tabla 10. Datos de k_0

Temperatura °C	k_0
4	1.6068E+25
20	1.6068E+25
Promedio k_0	3.2135E+25

Con el dato de k_0 promedio se calcula la constante de reacción k a la temperatura de almacenamiento es decir a 4 °C, la cual es 0.03099.

Utilizando la siguiente ecuación se calcula el tiempo de vida útil utilizando los datos iniciales y finales de acidez.

$$\ln\left(\frac{\text{Acidez } t_f}{\text{Acidez } t_0}\right) = kt$$

$$\ln\left(\frac{0.74}{0.293}\right) = 0.03099t$$

$$t = 29.886 \text{ días} = 3.98 \text{ semanas}$$

Con estos cálculos se obtiene un tiempo de vida útil de 29.88 días lo cual es adecuado para este tipo de producto puesto que según la norma INEN para bebidas fermentadas el tiempo mínimo es de 21 días (INEN, 2009).

Además del recuento total, se realizaron análisis microbiológicos para comprobar que el producto fuera inocuo para el consumo. Con estas determinaciones se pudo verificar que el producto está libre de flora contaminante patógena como son ausencia de *Staphylococcus aureus* y bacterias del grupo Coliforme y *Escherichia coli* los cuales indicarían una posible contaminación fecal la cual debería ser verificada con otro indicador de este género bacteriano como *Salmonella*.