

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Evaluación de la actividad antimicrobiana de la flor de Jamaica
utilizada como aditivo natural en yogur**

Angie Nahomy Godoy Luna

Ingeniería en Alimentos

**Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniera en Alimentos**

Quito, 10 de diciembre de 2024

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Título del Trabajo de la materia final de carrera

Angie Nahomy Godoy Luna

María José Andrade Cuvi, Ph.D

María Lorena Mejía Castañeda, Ph.D

Quito, 10 de diciembre de 2024

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Angie Nahomy Godoy Luna

Código: 00322403

Cédula de identidad: 1004448153

Lugar y fecha:

Quito, 10 de diciembre de 2024

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

El estudio de aditivos alternativos en yogur es fundamental para desarrollar productos más saludables, funcionales y alineados con las tendencias de consumo que demandan opciones naturales y libres de compuestos sintéticos. Este trabajo evaluó el efecto de la flor de Jamaica añadida como mermelada como aditivo natural en yogur, enfocándose en su impacto sobre las bacterias ácido-lácticas (BAL), *E. coli* y coliformes, y características fisicoquímicas del producto durante el almacenamiento refrigerado. Se elaboraron dos tipos de yogur: naturales (YN) y con flor de Jamaica (YFJ). Se inoculó una población de 10^3 UFC/ml de *E. coli* y coliformes y se almacenó el yogur a 4°C durante 12 días. A los 0, 4, 8 y 12 días se realizó el recuento de BAL, *Escherichia coli* y coliformes, además se analizó el pH, acidez, sinéresis, viscosidad. El diseño experimental fue factorial completo general, con tres réplicas por tratamiento. Los resultados mostraron que el YFJ tuvo inicialmente una mayor población de BAL debido al proceso de homogenización. Durante el almacenamiento esta población disminuyó significativamente, probablemente debido a la acción antimicrobiana de los polifenoles y ácidos orgánicos de la flor de Jamaica. Respecto a *E. coli* y coliformes, en el YFJ se redujo más rápidamente comparado con el YN. Estos resultados destacan el efecto antimicrobiano de la flor de Jamaica sobre bacterias patógenas. En los parámetros fisicoquímicos, el YFJ mayor acidez, y menor pH, sinéresis y viscosidad significativamente respecto al YN, manteniendo esta tendencia durante el almacenamiento. En conclusión, la flor de Jamaica tiene potencial como aditivo natural para yogur, aportando propiedades antimicrobianas y funcionales. No obstante, se requieren ajustes en la formulación del yogur para garantizar la viabilidad de las BAL y preservar los beneficios probióticos del yogur durante su vida útil.

Palabras clave: *Hibiscus*, actividad antimicrobiana, yogur, calidad fisicoquímica

ABSTRACT

Research on alternative additives in yogurt is essential for the development of healthier, more functional products in line with consumer trends that demand natural options free from synthetic compounds. This study evaluated the effect of hibiscus flower, incorporated as jam, as a natural additive in yogurt, focusing on its effect on lactic acid bacteria (LAB), *Escherichia coli*, coliforms, and the physicochemical properties of the product during refrigerated storage. Two types of yogurt were prepared: natural yogurt (YN) and yogurt with hibiscus flower (YFJ). A population of 10^3 CFU/ml of *E. coli* and coliforms was inoculated and the yogurt was stored at 4°C for 12 days. LAB, *E. coli* and coliform counts were performed and pH, acidity, syneresis and viscosity were analyzed on days 0, 4, 8 and 12. The experimental design was a full factorial with three replicates per treatment. The results showed that YFJ initially had a higher LAB population due to the homogenization process. However, during storage, this population decreased significantly, probably due to the antimicrobial activity of the polyphenols and organic acids present in the hibiscus flower. Regarding *E. coli* and coliforms, YFJ showed a more rapid reduction compared to YN. These results highlight the antimicrobial activity of hibiscus flower against pathogenic bacteria. In terms of physicochemical parameters, YFJ showed higher acidity and lower pH, syneresis and viscosity compared to YN and maintained this trend throughout storage. In conclusion, hibiscus flower has potential as a natural additive for yogurt, offering antimicrobial and functional properties. However, adjustments to the yogurt formulation are required to ensure LAB viability and maintain the probiotic benefits of yogurt throughout its shelf life.

Keywords: *Hibiscus*, antimicrobial activity, yogurt, physicochemical quality

TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	10
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	16
2.1	Diseño del experimento	16
2.2	Materia prima.....	16
2.3	Formulación de yogur con flor de Jamaica	17
2.4	Preparación de mermelada de flor de Jamaica	17
2.5	Producción de yogur	18
2.6	Inoculación artificial del yogur	19
2.7	Análisis microbiológico del yogur durante el almacenamiento	20
2.7.1	Recuento de <i>E.coli</i> y coliformes:.....	20
2.7.2	Recuento de mohos y levaduras.....	21
2.7.3	Recuento de bacterias ácido lácticas (BAL).....	21
2.8	Análisis de características fisicoquímicas del yogur	22
2.8.1	pH y acidez titulable	22
2.8.2	Sinéresis	22
2.8.3	Viscosidad	23
2.9	Análisis estadístico	23
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
3.1	Análisis de calidad de la leche y yogur	24
3.2	Pruebas bioquímicas de <i>Lactobacillus spp.</i>	25
3.3	Efecto de la adición de flor de Jamaica sobre la población de bacterias ácido lácticas (BAL)	26
3.4	Efecto de la adición de flor de Jamaica sobre el crecimiento de <i>E. coli</i> y coliformes	28
3.5	Efecto de la adición de flor de Jamaica sobre la calidad fisicoquímica del yogur	31
4.	CONCLUSIONES	35
5.	RECOMENDACIONES	36
6.	REFERENCIAS	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Formulación del yogur	17
Tabla 2. Requisitos microbiológicos específicos en leche fermentada sin tratamiento térmico posterior a la fermentación y análisis microbiológico del yogur natural y con flor de Jamaica.	24
Tabla 3. Resultados de pruebas bioquímicas.....	25
Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos del yogur durante el almacenamiento refrigerado (4°C)	31

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo de la elaboración de yogur con flor de Jamaica.....	19
Figura 2. Bacterias ácido lácticas (BAL) en el yogur durante los días de almacenamiento. ...	26
Figura 3. Población de (a) <i>E. coli</i> y (b) Coliformes en yogur natural y yogur con flor de Jamaica almacenados a 4°C durante 12 días.	28
Figura 4. Apariencia visual de: a) Yogur natural y b) Yogur de flor de Jamaica luego de 12 días de almacenamiento refrigerado	34

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad se ha incrementado el interés por incorporar ingredientes naturales y saludables en el desarrollo de nuevos productos, aportando con varios beneficios adicionales para la salud y bienestar del consumidor preocupado por tener una buena alimentación y nutrición básica. La creciente demanda permite que los consumidores busquen cada vez más productos con alternativas saludables a los aditivos sintéticos y que no solo los nutra, sino que también ofrezcan propiedades funcionales que permitan combatir enfermedades y mejorar su calidad de vida, alineándose con estilos de vida modernos (García et al., 2008).

Las tendencias actuales en la industria alimentaria se orientan hacia el desarrollo de alimentos funcionales elaborados con ingredientes de origen natural que permiten obtener productos más saludables, libres de conservantes y colorantes artificiales. La reducción del uso de aditivos en los alimentos es fundamental para responder a la creciente demanda de los consumidores por productos más naturales y saludables. En los últimos años ha aumentado la preocupación por los efectos a largo plazo del consumo de aditivos sintéticos como conservantes, colorantes y saborizantes artificiales, los cuales han sido asociados con posibles riesgos para la salud como alergias, trastornos digestivos e incluso enfermedades crónicas (Beristain et al., 2012). Centrado en una mayor investigación sobre el uso de compuestos bioactivos presentes en plantas, frutas y flores ha tomado relevancia ya que no solo aportan sabor y color, sino que también contienen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y conservantes (Balseca, 2020). Estos compuestos, además de mejorar las características sensoriales de los productos, mejoran el perfil nutricional, contribuyen a su funcionalidad y seguridad, lo que los convierte en alternativas atractivas a los aditivos sintéticos.

Un aditivo natural como la flor de Jamaica ha despertado un gran interés en la elaboración de varios productos, posicionándose como un ingrediente clave en el desarrollo de alimentos

funcionales (Martínez et al., 2014). Su versatilidad culinaria y sus propiedades favorables han impulsado su incorporación en diversos productos, convirtiéndola en una tendencia innovadora y de esta manera mejorar las condiciones y cualidades de un nuevo producto, siendo más natural y saludable. Además, la flor de Jamaica tiene un fuerte arraigo en diversas regiones, siendo valorada por sus propiedades medicinales (Gutiérrez et al., 2019). Por lo que resulta interesante desarrollar y formular un producto innovador a base de este aditivo natural, añadiéndolo como mermelada en un yogur bebible y potenciar su sabor.

La flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es una planta tropical que puede alcanzar hasta 2 metros de altura y pertenece a la familia Malvaceae, se caracteriza por sus flores de color rojo intenso y es originaria de la África tropical (García & Lozano, 2022). Se le conoce por sus diversos nombres comunes como té rojo, rosa de Jamaica, flor de dardo, rosa abisinia, rosa de Jericó, rosella, flor roja (Delgadillo, 2011). Estos sinónimos varían según la región o país, pero todos hacen referencia a las características y usos tradicionales de la planta, se usa para la preparación de bebidas frías o calientes, mermeladas, colorantes naturales, gelatinas, vinos y conservas (Carvajal et al., 2006).

Se cultiva en los diferentes países donde el clima tropical y subtropical facilite su crecimiento, actualmente su cosecha se extiende por México, Estados Unidos, América Central, América del sur y por el sudeste asiático (Carrillo, 2012). Los países principales que son mercados de exportación son China e India con un porcentaje de producción de 27,76% y 17,91%, respectivamente. En el todo el mundo se produce más de 97 mil toneladas de flor de Jamaica. En América latina, México es el mayor productor donde se cultivan alrededor de 19.000 hectáreas con un rendimiento promedio de 289 kilos de materia seca por hectárea (Aguillon, 2020).

En el Ecuador su cultivo es temporal pero su producto se encuentra disponible durante todo el año y su siembra se da en áreas específicas de la Amazonía en la cual existen pequeñas áreas de producción en la provincia de Napo, Pastaza y Morona Santiago. El rendimiento de materia seca por hectárea se encuentra entre 14 y 15 toneladas métricas (Aguillon, 2020).

La flor de Jamaica, al ser un alimento natural con elevado potencial como ingrediente, tiene un sabor agradable con una acidez pronunciada por sus ácidos oxálico y succínico (Salinas et al., 2012). En estudios recientes se menciona que el ácido hibiscus al encontrarse en formas libres y glucosilada también da esa sensación de acidez (Ramírez et al., 2011). Su color rojo atractivo y característico se da por su cáliz, que es rico en ácido málico y se relaciona con el contenido de antocianinas (300mg/100g), expresado como cianidina 3-glucósido, volviéndolo un pigmento natural hidrosoluble (Galicia, 2008).

También es conocida por sus diversos beneficios para la salud y propiedades terapéuticas y nutraceuticas, también se destaca por su acción diurética, su capacidad de proteger la oxidación de lipoproteínas de baja densidad y poseer acción vasodilatadora, hipoglucemiante e hipotensora (Falco et al., 2022). Sus extractos contienen altos niveles de compuestos con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias principalmente por sus antocianinas, flavonoides y ácidos fenólicos los cuales ayudan a combatir el estrés oxidativo en el cuerpo reduciendo el riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares (Piovesana et al., 2019). Al poseer los compuestos mencionados como ácidos orgánicos y flavonoides, inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y bacterias coliformes, dándole características antimicrobianas (Efenberger-Szmechtyk et al., 2021).

El cultivo de la flor de Jamaica, que requiere prácticas agrícolas sostenibles, puede integrarse en estrategias de economía circular, minimizando el impacto ecológico y potenciando el

aprovechamiento de recursos locales. Este enfoque holístico convierte al yogur con flor de Jamaica en una alternativa que satisface tanto las tendencias del mercado como las exigencias de sostenibilidad (Montaño et al., 2024).

En el caso de los productos lácteos fermentados como el yogur que al adicionar ingredientes como la flor de Jamaica no solo podría mejorar la seguridad del producto al reducir la presencia de microorganismos patógenos, sino también podría influir en el equilibrio de bacterias benéficas. La interacción entre los compuestos bioactivos de la flor de Jamaica y las bacterias ácido-lácticas, como *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus spp.*, es crucial para asegurar que se mantenga la calidad probiótica del yogur (Mendoza, 2021). Además, colocar un aditivo natural como la flor de Jamaica mejoraría las cualidades organolépticas, como el sabor, la textura y el color, haciéndolo más atractivo para el consumidor al incorporar compuestos bioactivos presentes en esta planta, lo que resulta una mejora notable en las propiedades antioxidantes del yogur (Rasdhari et al., 2008).

Comúnmente, los productos lácteos representan el 60% del mercado, posicionándose como los más populares debido a los numerosos beneficios que ofrecen, destacando el yogur y sus productos relacionados (Roberts, 2009). Las tendencias actuales en el mercado del yogur se centran en la elaboración de un producto tipo orgánico, artesanal, con alto contenido de probióticos, alto valor proteico y de fibra, siendo una alternativa saludable como postre y diseñado especialmente para niños (Usulli & Klever, 2023).

El yogur es un producto lácteo fermentado. Se obtiene a partir del proceso fermentativo de la leche mediante la acción de bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) que metabolizan lactosa y otras moléculas que se encuentran en la leche. Durante este proceso de fermentación, los azúcares presentes, como la lactosa, se transforman en ácido

láctico, lo que provoca una disminución del pH y da al yogur una textura cremosa y con un sabor ligeramente ácido (Tiwari et al., 2021).

El yogur es una excelente fuente de calcio, zinc, vitamina B y nutrientes que fortalecen el sistema inmunológico, mejora la digestión y el equilibrio de la microbiota intestinal, también, contribuye a mejorar la salud ósea, reducir la inflamación, disminuir el proceso de envejecimiento y prevenir diversas enfermedades (El-Abbadi et al., 2014).

El yogur es un alimento probiótico al que se le atribuye propiedades digestivas debido a que promueve una microbiota intestinal saludable, por lo que se ha diversificado ampliamente al incorporar ingredientes como frutas, sabores adicionales o endulzantes, aditivos naturales, mermeladas, entre otros, adaptándose a las preferencias y necesidades alimentarias.

Es de suma importancia que las bacterias del yogur permanezcan viables durante su vida útil, ya que la pérdida de viabilidad bacteriana puede ocurrir por factores como el almacenamiento prolongado, temperaturas inadecuadas o la exposición al oxígeno, lo que afecta la calidad y el valor nutricional. Las ETAs relacionadas con el yogur son menos comunes que en otros productos lácteos debido a la acidez del yogur, que inhibe el crecimiento de muchos patógenos. Sin embargo, la contaminación durante su procesamiento, almacenamiento o manipulación puede favorecer el desarrollo de microorganismos patógenos. En los últimos años, se han identificado brotes asociados al consumo de yogur contaminado con cepas patógenas de *E. coli* (O157:H7), Norovirus, Hepatitis A (CSU, 2023).

Para analizar la calidad e inocuidad del yogur, se puede realizar un recuento de coliformes totales y *E. coli*. Los coliformes son un grupo de enterobacterias que pueden ser ambientales y sirven como indicadores de fallos en las prácticas de higiene (AuWerter, 2021). Este grupo incluye a *Escherichia coli*, cuya presencia en un alimento indica una contaminación fecal directa, lo que puede provocar infecciones gastrointestinales graves en los consumidores

(Armstrong et al., 1996). Por otro lado, *Staphylococcus aureus* es capaz de producir toxinas resistentes al calor que pueden sobrevivir al proceso de fermentación del yogur; si el producto no se maneja correctamente, especialmente en la fase de enfriamiento o distribución, la toxina puede causar intoxicaciones alimentarias con síntomas como vómitos y diarrea (Feng et al., 2020).

El control del recuento microbiano en los productos es esencial para evaluar la seguridad alimentaria. A través de este proceso, se cuantifican las bacterias presentes en el alimento, permitiendo verificar si los niveles cumplen con los límites establecidos por normativas sanitarias, como la norma INEN. De tal manera, que al mantener las concentraciones bacterianas dentro de los rangos permitidos no solo protege la salud de los consumidores, sino que también garantiza que el producto final cumpla con los estándares de calidad exigidos por la industria, siendo esto clave para prevenir posibles riesgos asociados a la contaminación microbiana (Sperber & Doyle, 2009).

Objetivo general:

- Evaluar el efecto antimicrobiano de la flor de Jamaica utilizada como aditivo natural en yogur

Objetivos específicos:

- Comparar la población del cultivo iniciador del yogur natural y yogur con flor de Jamaica durante el almacenamiento refrigerado.
- Analizar los cambios en la cantidad de bacterias indicadores de calidad e inocuidad inoculados artificialmente al yogur natural y al yogur con flor de Jamaica como aditivo natural.
- Determinar el efecto de la adición del yogur con flor de Jamaica sobre las características fisicoquímicas durante el almacenamiento refrigerado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Diseño del experimento

El experimento se dividió en el ensayo microbiológico y en el ensayo fisicoquímico. Para el ensayo microbiológico, yogur recién elaborado se dividió en dos partes: 1) yogur natural (YN) y 2) yogur con flor de Jamaica (YFJ). A su vez, cada uno se dividió en dos tratamientos: 1) yogur con cultivo iniciador (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus spp.*) y 2) yogur inoculado con *E.coli* y *Enterobacter amnigenes*. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración durante 12 días. A los 0, 4, 8 y 12 días de almacenamiento se realizó el recuento de BAL, *E. coli* y coliformes.

Para el ensayo fisicoquímico, en los mismos tiempos de muestreo se tomaron muestras de cada tratamiento para analizar la acidez, pH, viscosidad y sinéresis. Se aplicó un diseño con arreglo factorial 2x4. Los factores fueron: 1) el tipo de yogur (2 niveles: natural y mermelada de flor de Jamaica) y 2) tiempo de almacenamiento (4 niveles: 0, 4, 8 y 12 días). Para cada combinación de los factores (tipo de yogur y tiempo de almacenamiento) se tuvieron 3 réplicas.

2.2 Materia prima

Para la elaboración del yogur se utilizó: leche cruda obtenida directamente de la Hacienda San Mateo (Pifo, Pichincha). La leche en polvo (La Vaquita) y azúcar blanca refinada se adquirieron en el mercado local. Para el proceso de aromatización se utilizó flor de Jamaica deshidratada (marca La Hormigueta de Oro). Los cultivos lácticos (marca FERLAC) contenían *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. El producto final se envasó en frascos de vidrio de 125 ml, previamente esterilizados, para garantizar la seguridad microbiológica y conservar la calidad del yogur.

2.3 Formulación de yogur con flor de Jamaica

El proceso de elaboración del yogur se basó en la formulación de la tabla 1.

Tabla 1. Formulación del yogur

Ingredientes	Yogur Natural (%)	Yogur flor de Jamaica (%)
Leche cruda	76	71
Leche en polvo	3	2
Cultivo láctico	2	1
Azúcar	19	13
Mermelada de flor de Jamaica	--	13
Total	100	100

2.4 Preparación de mermelada de flor de Jamaica

Se llevó a cabo la recepción y verificación de los ingredientes, asegurando que cumplan con los estándares de calidad requeridos. Posteriormente, se seleccionaron las mejores flores secas de Jamaica en óptimas condiciones y se sometieron a una precocción con 5% de azúcar. Este proceso produce ablandamiento y extracción uniforme de sabores. Utilizando el agua de cocción se licuaron las flores de Jamaica hasta obtener una mezcla homogénea. A continuación, esta mezcla se mantuvo en ebullición durante 30 minutos, incorporando 20% de azúcar y 2% de pectina. Transcurrido el tiempo de cocción, se enfrió a temperatura ambiente y se transfirió a un recipiente de vidrio estéril. La mermelada se almacenó en condiciones controladas hasta su posterior uso.

2.5 Producción de yogur

En la Figura 1 se presenta el diagrama de flujo del proceso de elaboración del yogur con flor de Jamaica, destacando en color rojo la etapa de la elaboración de la mermelada de flor de Jamaica.

El proceso inicia con la recepción de la leche, donde se evaluó la densidad, asegurando su cumplimiento con los estándares establecidos. En la etapa de estandarización, se ajustó el contenido de sólidos al 12%, añadiendo un 3% de leche en polvo y un 10% de azúcar. La mezcla fue homogeneizada a 55 °C y 100 bares, y luego se pasteurizó a 85 °C durante 10 minutos, posteriormente se enfrió la mezcla a 35-40 °C y se añadió el 3% del cultivo láctico. La incubación se llevó a cabo a 36 °C durante 9 horas, siguiendo las especificaciones del cultivo para favorecer el desarrollo bacteriano y la coagulación. Finalizada esta etapa, el yogur fue enfriado y almacenado a 4 °C durante 8 horas. El yogur elaborado se aromatizó añadiendo un 15% de mermelada de flor de Jamaica, seguido de un batido lento a 10-12 °C para garantizar una consistencia homogénea.

Finalmente, tanto el yogur natural como el de flor de Jamaica fue envasado en frascos de vidrio esterilizados de 125 ml y sellados en condiciones asépticas, posteriormente se almacenaron a 4 °C durante 12 días. A los 0, 4, 8 y 12 días de almacenamiento se tomaron muestras para el análisis de calidad fisicoquímico y microbiológico.

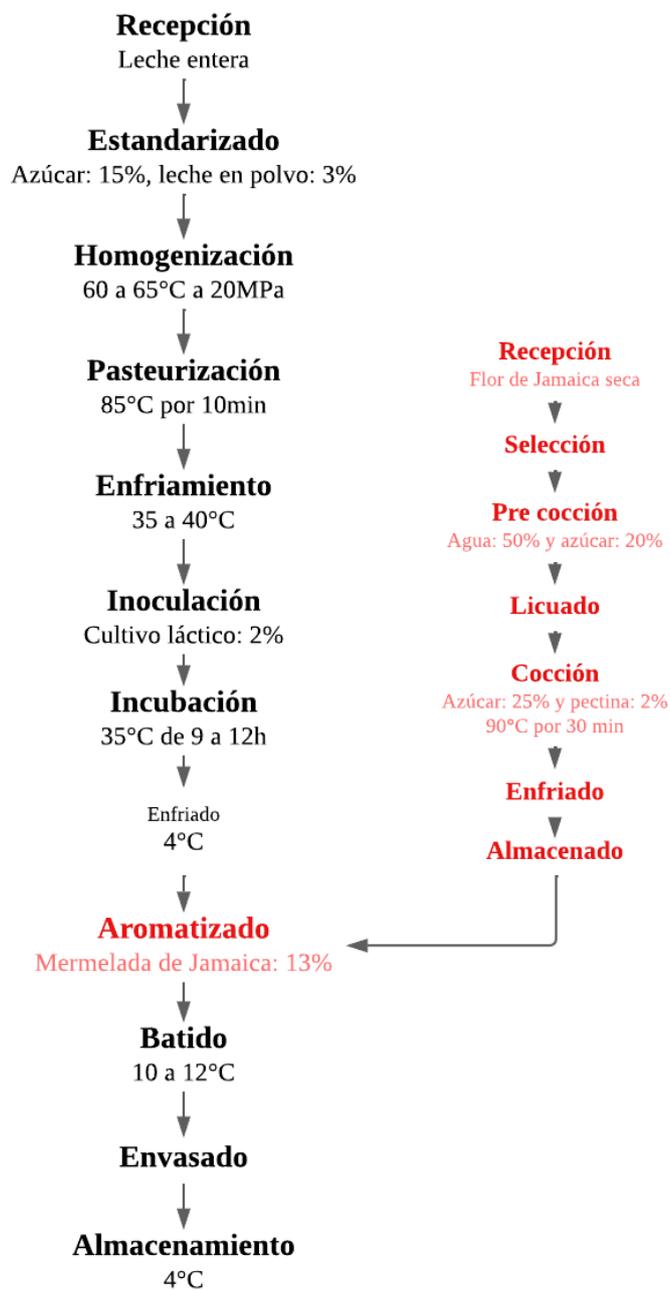


Figura 1. Diagrama de flujo de la elaboración de yogur con flor de Jamaica

2.6 Inoculación artificial del yogur

Se utilizaron cepas ATCC de *Escherichia coli* (25922TM) y *Enterobacter amnigenes*. Para su activación, cada una se inoculó en agar nutritivo y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Se

preparó una mezcla de los dos cultivos, tomando con un hisopo estéril tres colonias de cada uno que se transfirieron a solución salina estéril hasta ajustar la turbidez según la escala de MacFarland N°2, lo que corresponde a una concentración aproximada de $6,0 \times 10^8$ UFC/ml.

A partir de esta suspensión inicial, se realizaron diluciones seriadas inversamente en solución salina para obtener concentraciones de 10^3 UFC/ml. La dilución final de 10^3 UFC/ml se utilizó para la inoculación artificial del yogur. Este procedimiento garantizó la precisión en la preparación de las muestras y la reproducibilidad de los análisis.

2.7 Análisis microbiológico del yogur durante el almacenamiento

Previo a la inoculación artificial del yogur, se verificó su calidad microbiológica según el cumplimiento de los requisitos establecidos por la norma INEN 2395, evaluando la cantidad de *Escherichia coli* y coliformes totales, bacterias ácido-lácticas, mohos y levaduras.

Con el fin de monitorear la estabilidad microbiológica del producto y evaluar su evolución a lo largo del tiempo bajo condiciones de refrigeración, se realizaron recuentos de *E. coli*, coliformes y bacterias ácido-lácticas.

2.7.1 Recuento de *E.coli* y coliformes:

Se realizaron diluciones seriadas de 10^{-1} y 10^{-2} a partir de las muestras de yogur pesando 10g y mezclando con 90ml de agua peptonada estéril. De cada dilución, se tomó un volumen de 1mL y se inoculó en placas NeoGen™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliformes (EC). Las placas fueron incubadas a una temperatura a 37°C , y se evaluó el crecimiento bacteriano tras 24 y 48 horas

de incubación. *E. coli* se desarrolla como colonias de color morado, mientras que las otras bacterias del grupo coliforme crecen de color rosado. Los resultados se expresaron como UFC/g.

2.7.2 Recuento de mohos y levaduras

Se realizaron diluciones seriadas de 10^{-1} y 10^{-2} a partir de las muestras de yogur pesando 10g y mezclando con 90ml de agua peptonada estéril. De cada dilución, se tomó un volumen de 1mL, el cual fue inoculado por vertido en cajas Petri con Agar DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol). Las placas se incubaron a una temperatura controlada de 25-28°C durante 72 horas. Los resultados se expresaron como UFC/g.

2.7.3 Recuento de bacterias ácido lácticas (BAL)

Se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-6} a partir de las muestras de yogur pesando 10g en 90ml de agua peptonada estéril. Las diluciones 10^{-5} y 10^{-6} se utilizaron para el recuento de BAL por vertido en placa, depositando 1 mL de la muestra en cajas Petri y se añadió Agar MRS. Las placas fueron incubadas durante 5 días en un ambiente anaeróbico, utilizando una jarra Gaspak a 30°C. Tras el periodo de incubación, las colonias bacterianas obtenidas fueron analizadas individualmente.

Para ello se tomó una cantidad adecuada de cada colonia y se colocó sobre un portaobjetos y se mezcló con solución salina estéril. Se realizó una tinción Gram y las pruebas de catalasa y oxidasa. Para la prueba de catalasa se colocó una pequeña cantidad de la muestra bacteriana en un portaobjetos limpio y se aplica una gota de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 3%. Un resultado negativo está dado por ausencia de producción de burbujas. Posteriormente, se llevó a cabo la prueba de oxidasa aplicando una porción de la colonia sobre la tirilla comercial. Un

resultado negativo está dado por falta de cambio de color en el inóculo. Los *Lactobacillus* son bacterias catalasa y oxidasa negativos.

2.8 Análisis de características fisicoquímicas del yogur

2.8.1 pH y acidez titulable

La medición de pH se realizó introduciendo en el yogur directamente el electrodo del potenciómetro (marca Metter Toledo) previamente calibrado.

Para la determinación de acidez se utilizó el método 942.15 (AOAC, 2000). Se diluyó 5 ml de yogur en 20ml de agua destilada y se tituló NaOH a 0.1N usando fenolftaleína como indicador (Reyes et al., 2015). Los resultados se expresaron como el porcentaje de ácido láctico utilizando la ecuación 1. Los análisis se realizaron por triplicado.

$$Acidez (\%) = \frac{A * B * C}{D} \times 100 \quad [1]$$

Donde:

A: ml de NaOH gastado

B: Normalidad del NaOH (0.1)

C: Peso equivalente del ácido predominante en gramos

D: Peso de la muestra expresado en gramos

2.8.2 Sinéresis

Se aplicó la técnica de Kessler (1998). En tubos Falcon se pesaron 20 g de yogur y se centrifugaron a 6000 rpm durante 20 minutos, utilizando una centrífuga marca HERMLE. Se

pesó el suero expulsado después de la centrifugación para calcular el porcentaje de sinéresis mediante la ecuación 2:

$$\text{Sinéresis (\%)} = \frac{WE}{NY} \times 100 \quad [2]$$

Donde:

WE: Peso del suero expulsado expresado en gramos

NY: Peso de la muestra en gramos

2.8.3 Viscosidad

Se utilizó un reómetro marca Brookfield DV-III se colocó el yogur en un vaso de precipitación y se introdujo el husillo #62 hasta la marca. Se aseguró que el torque sea mayor al 10% con una velocidad de giro de 5 rpm para el yogur de Jamaica y 10 rpm para el yogur natural. Se registraron los valores de viscosidad en Cp. Los resultados se expresaron como el promedio de medidas obtenidas durante un min. Los Análisis se realizaron por triplicado.

2.9 Análisis estadístico

Cada punto de datos experimentales se analizó por triplicado. Los datos se expresaron como la media \pm desviación estándar de tres réplicas. La comparación de los valores medios se realizó con un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el Post Hoc de Tukey ($p < 0,05$). Antes de realizar el ANOVA, se verificaron los supuestos de normalidad y la homogeneidad. Se utilizó el software de Minitab.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de calidad de la leche y yogur

Los parámetros de calidad en la leche cruda son de gran importancia para la elaboración de yogur. Se obtuvo una densidad de 1030 kg/m³ siendo un valor que cumple con los parámetros de la norma INEN 9 (2012) que contempla un valor máximo de 1032 kg/m³. Se evaluó la densidad de la leche ya que resulta determinante a la hora de incorporar aditivos como la mermelada de flor de Jamaica, influenciando en la textura y la estabilidad del producto elaborado.

Una vez elaborado el yogur se analizó su calidad microbiológica. En la tabla 1 se indican los requisitos microbiológicos establecidos por la norma NTE INEN 2395 (INEN, 2012) para yogur. Estos valores son indicadores clave de la calidad e inocuidad del producto permitiendo garantizar que es apto para el consumo humano. En el análisis microbiológico de las muestras de yogur natural (YN) inmediatamente después de su elaboración se encontraron valores <10 UFC/g tanto para mohos y levaduras como para *Escherichia coli* y coliformes. En el caso del yogur con flor de Jamaica (YFJ) se encontraron 50 UFC/g para mohos y levaduras y <10 UFC/g para *E. coli* y coliformes. A pesar del resultado de mohos y levaduras del YFJ, los yogures cumplen con los requisitos establecidos por la norma, por lo tanto, son aptos para el consumo humano.

Tabla 2. Requisitos microbiológicos específicos en leche fermentada sin tratamiento térmico posterior a la fermentación y análisis microbiológico del yogur natural y con flor de Jamaica.

NTE INEN 2395			Análisis microbiológico	
Requisito	m	M	Natural	Jamaica
Coliformes totales (UFC/g)	10	100	<10	<10
<i>E. coli</i> (UFC/g)	<1	-	<10	<10
Mohos y levaduras (UFC/g)	200	500	<10	50

m =Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M=Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad

La población de mohos y levaduras reportada en el YFJ estaría relacionada directamente con la flor de Jamaica deshidratada debido probablemente a prácticas inadecuadas durante su manejo postcosecha, especialmente en el proceso de secado. Una humedad residual superior al 10-12% en los cálices favorece su desarrollo (Ruiz et al., 2015). Asimismo, la falta de control en las condiciones de almacenamiento, como temperatura y humedad, pueden propiciar la proliferación de mohos y levaduras. Al incorporar la mermelada de flor de Jamaica al yogur se podría haber alterado ligeramente el pH (por el aporte de ácidos orgánicos) o la actividad de agua del yogur, generando condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos (García et al., 2008).

3.2 Pruebas bioquímicas de *Lactobacillus spp.*

En la Tabla 2 se observa que la prueba de catalasa fue negativa para *Lactobacillus spp.* en ambos yogures (YN y YFJ), confirmando lo reportado por Sierra y Guillen (2017). La prueba de oxidasa también resultó negativa, lo que concuerda con las características de este género bacteriano. En la tinción de Gram, ambas muestras mostraron resultados positivos en la observación al microscopio (bacilos Gram +), consistente con lo descrito por López et al. (2014). Esto confirma la presencia de *Lactobacillus spp.* en ambos tipos de yogur.

Tabla 3. Resultados de pruebas bioquímicas

Pruebas bioquímicas	Resultado
Catalasa	-
Oxidasa	-
Tinción Gram	+

Los resultados encontrados permiten confirmar la presencia de *Lactobacillus spp.* en el yogur elaborado que asegura la correcta identificación tras el recuento, descartando posibles contaminantes.

3.3 Efecto de la adición de flor de Jamaica sobre la población de bacterias ácido lácticas (BAL)

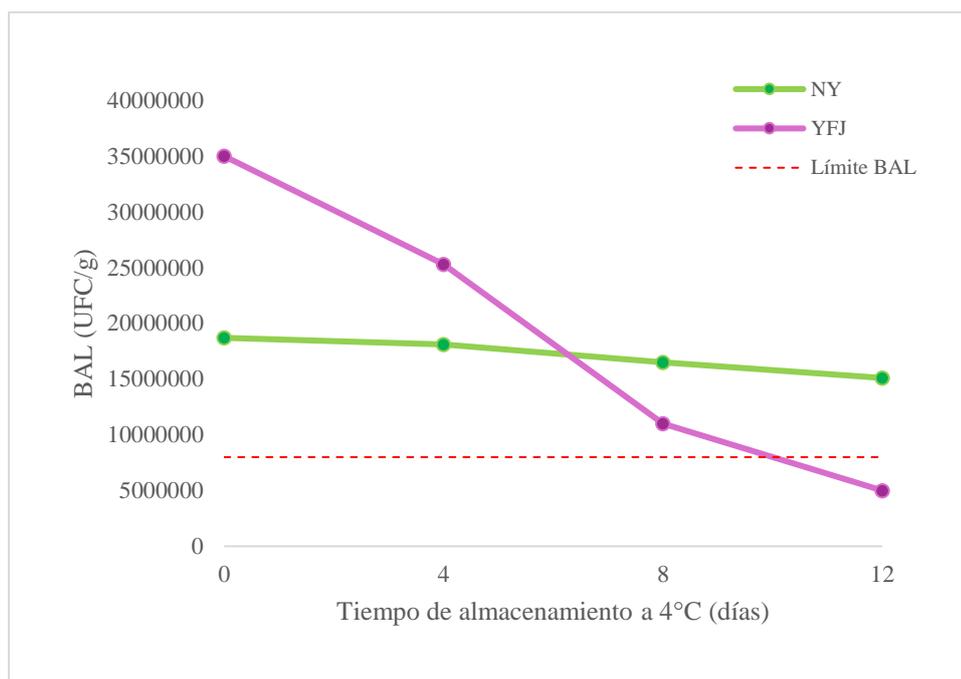


Figura 2. Bacterias ácido lácticas (BAL) en el yogur durante los días de almacenamiento. YN= yogur natural; YFJ = yogur de flor de Jamaica

El cultivo iniciador se comercializa como sobres de microorganismos liofilizados de 5g para 25 litros en leche. Los lotes que se prepararon fueron de 4 litros. Luego de la adición del cultivo a la leche la mezcla se mantuvo a 37°C por 9 horas, luego a 4°C durante 8 horas. La homogenización con la mermelada de flor de Jamaica se realizó a 12°C, mientras que el YN se mantuvo a 4°C, así las muestras alcanzaron una población inicial de $1,87 \times 10^7$ y $3,5 \times 10^7$ UFC/g en el YN y YFJ, respectivamente, cumpliendo con la normativa nacional vigente que exige que un yogur debe contener al menos 10^6 UFC/g de bacterias probióticas (NTE INEN 2395, 2012). La diferencia en la población de BAL encontrada en el día 0 se habría producido por el aumento

de temperatura en el proceso de homogenización que favoreció al crecimiento de BAL en el YFJ.

Como se puede observar en la Figura 1, el YN cumple con el requisito normativo de la cantidad de microorganismos específicos (10^6 UFC/g) durante los 12 días de almacenamiento. Como se mencionó anteriormente, en el día 0 el YN presentó una población de BAL de $1,87 \times 10^7$ UFC/g, hacia el final del almacenamiento se produjo una disminución del 20% alcanzando un valor de $1,51 \times 10^7$ UFC/g. A diferencia del YFJ que cumple con la normativa hasta el día 8. Hacia el final del almacenamiento (día 12) la población de BAL disminuye 85% alcanzando un valor de 10^5 UFC/g, inferior al establecido por la norma. La menor población de BAL en el YFJ podría relacionarse con el contenido de compuestos bioactivos como polifenoles de la flor de Jamaica que afectan la membrana celular de las bacterias, inhibiendo su crecimiento (Bergmeier et al., 2014), en consecuencia, la flor de Jamaica estaría ejerciendo un efecto antimicrobiano. Esta propiedad no distingue entre bacterias beneficiosas como las responsables de la fermentación en el yogur (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*), y bacterias patógenas y contaminantes como *Escherichia coli* y coliformes (Pacheco et al., 2019). Por lo tanto, la adición de flor de Jamaica en el yogur puede disminuir la población de BAL necesarias para mantener la textura y los atributos probióticos del producto. No existe evidencia científica que indique un efecto antimicrobiano de especies de *Hibiscus* sobre BAL. Resultaría interesante continuar este estudio para explicar el comportamiento de la población de BAL aquí reportado. En contraste, *Hibiscus* presenta un comprobado efecto antimicrobiano sobre bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y hongos *Candida albicans* (Alharbi et al., 2024).

3.4 Efecto de la adición de flor de Jamaica sobre el crecimiento de *E. coli* y coliformes

Al inicio del experimento (día 0) se inoculó una población ajustada a 10^3 UFC/g en los dos tipos de yogur (YN y YFJ) utilizando cepas ATCC de *Escherichia coli* (25922TM) y *Enterobacter amnigenes*. Los yogures inoculados se refrigeraron a 4°C y se almacenaron por 12 días, los resultados obtenidos se presentan en la Figura 2.

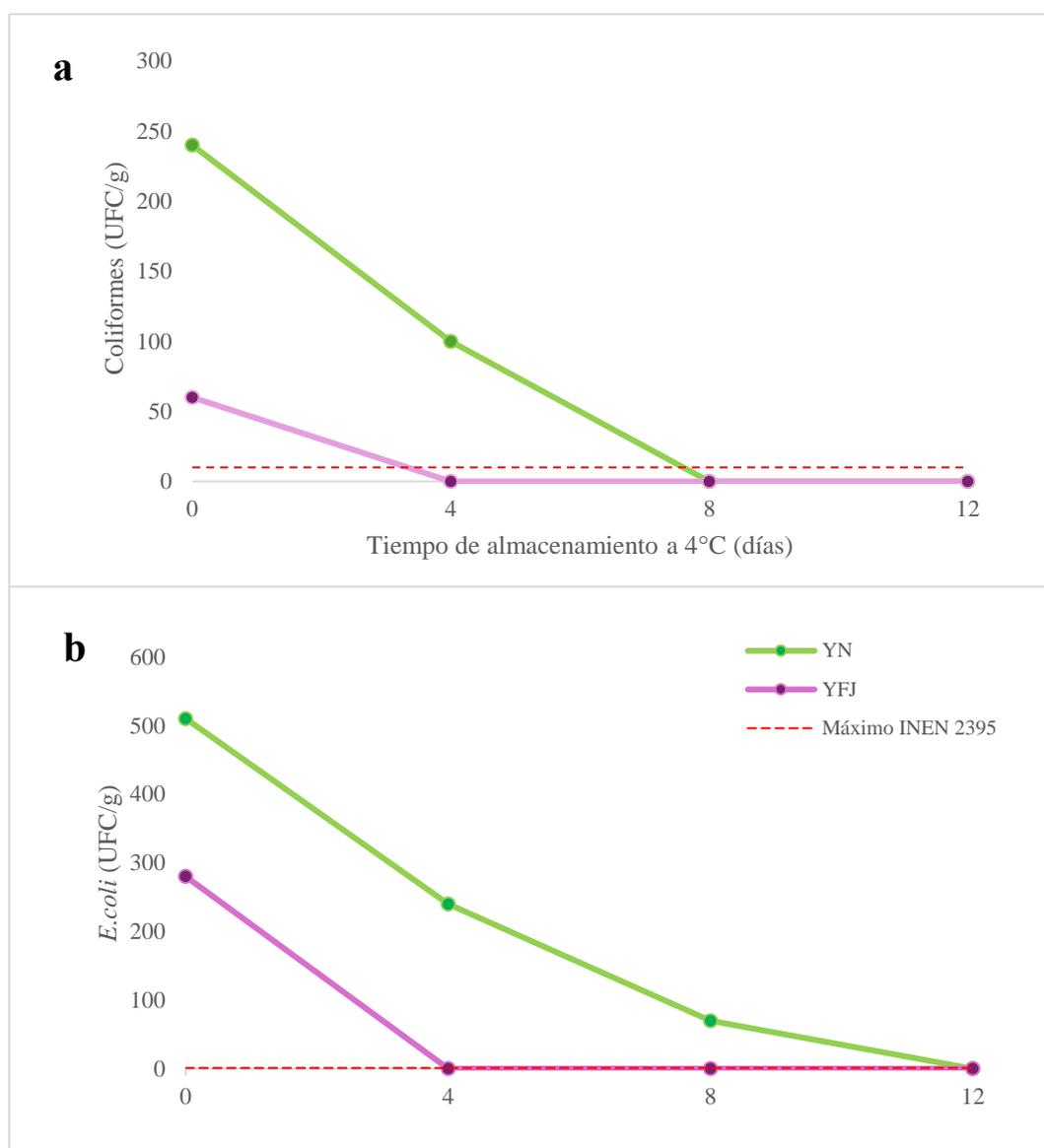


Figura 3. Población de (a) *E. coli* y (b) Coliformes en yogur natural y yogur con flor de Jamaica almacenados a 4°C durante 12 días.

YN= yogur natural; YFJ = yogur de flor de Jamaica

Los resultados evidencian un efecto antimicrobiano asociado a la incorporación de flor de Jamaica en el yogur. Inmediatamente después de la inoculación (día 0) se observa una reducción del 99 y 98 % en la población de *E. coli* (Figura 2a) y coliformes (Figura 2b), respectivamente. A tiempos intermedios de almacenamiento (días 4 y 8) esta diferencia se acorta observándose mayor efecto antimicrobiano sobre *E. coli*.

En el YFJ, *Escherichia coli* deja de detectarse a partir del día 4 mientras que en el YN se observa una población 53% mayor para este tiempo de almacenamiento. Para el día 8, aunque la carga de *E. coli* en ambos tipos de yogur se reduce, YN aún presenta una concentración detectable de la bacteria. Finalmente, para el día 12, ningún tipo de yogur muestra la presencia de *E. coli*, confirmando la acción antimicrobiana en ambos casos, pero con un mayor efecto en el yogur con flor de Jamaica.

La reducción de coliformes a lo largo del almacenamiento mostró un comportamiento similar a *E. coli*. En la gráfica 2b, se observa que la reducción de coliformes en los dos tipos de yogures muestra un patrón a lo largo del tiempo que se acelerado por la adición de flor de Jamaica. En el día 0, el YFJ presentó una diferencia de 4 unidades logarítmicas menos en comparación con el YN, e igual que frente a *E. coli*, se evidencia un efecto antimicrobiano de los compuestos presentes en la flor de Jamaica. Para el día 4, esta diferencia se redujo 2 unidades logarítmicas, con coliformes completamente ausentes en el yogur con flor de Jamaica. Finalmente, para los días 8 y 12, no se detectó la presencia de coliformes en ninguno de los yogures, lo que refleja el impacto acumulativo de las condiciones desfavorables del medio.

La reducción y pérdida de *Escherichia coli* y coliformes durante el almacenamiento se debe principalmente a la acidificación del medio. Durante el proceso de fermentación, las BAL como *Lactobacillus* y *Streptococcus thermophilus* producen ácido láctico, lo que reduce el pH del yogur a niveles entre 4.0 y 4.4 (López et al., 2017). Este ambiente ácido prolongado resulta

hostil para *E. coli* y coliformes, bacterias que no toleran estas condiciones de acidez, lo que lleva a su inactivación progresiva y eventual eliminación. Como se mencionó anteriormente, en el YFJ se evidencia desde el inicio una menor población de *E. coli* y coliformes probablemente debido al efecto antimicrobiano de los compuestos bioactivos presentes en la flor, como los ácidos orgánicos y polifenoles, que contribuyen a una reducción adicional del pH y generan condiciones menos favorables para la supervivencia de esta bacteria (Zhen et al., 2016).

Otro factor crucial es la competencia por nutrientes. En el entorno cerrado del yogur, las bacterias beneficiosas tienen una ventaja adaptativa y compiten directamente con *E. coli* y coliformes por los recursos limitados. Esto dificulta la proliferación de estas bacterias, restringiendo su capacidad para sobrevivir en el medio. Además, las BAL producen compuestos antimicrobianos secundarios como peróxido de hidrógeno, bacteriocinas y CO₂. Estos compuestos actúan como barreras adicionales contra la bacteria, inhibiendo su crecimiento de manera efectiva (Heredia et al., 2017). Estos metabolitos contribuyen significativamente a la estabilidad microbiológica del yogur. Además, el tiempo prolongado de exposición a estas condiciones hostiles (12 días) asegura que *E. coli* y coliformes no solo se vean inhibidas, sino que eventualmente experimenten muerte celular.

El yogur elaborado no contiene conservantes añadidos, si se compara la vida útil de un yogur comercial (30 días) en el que normalmente se utiliza sorbato de potasio y benzoato de sodio como conservantes, el uso de la flor de Jamaica es una alternativa natural de conservación, no obstante, es un producto con 8 días de vida útil ya que a los 12 días deja de cumplir con la normativa respecto a la población de BAL.

3.5 Efecto de la adición de flor de Jamaica sobre la calidad fisicoquímica del yogur

Para conocer el efecto de la adición de flor de Jamaica sobre las características fisicoquímicas del yogur, durante el periodo de almacenamiento se midió el pH, acidez, sinéresis y viscosidad, en los cuales se encontró diferencia significativa entre el YFJ y el YN (Tabla 3). No se encontraron diferencias significativas en la viscosidad para ninguno de los factores evaluados ($p > 0,05$).

Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos del yogur durante el almacenamiento refrigerado (4°C)

Parámetro	Tipo de yogur	Tiempo de almacenamiento (días)			
		0	4	8	12
pH	YN	4,28 ± 0,02A	4,25 ± 0,03A	4,25 ± 0A	4,24 ± 0,02A
	YFJ	3,75 ± 0,02B	3,73 ± 0,01BC	3,71 ± 0,01BC	3,69 ± 0,01C
Acidez (%ac. Láctico)	YN	0,88 ± 0,01EF	0,91 ± 0,02F	0,91 ± 0,01C	0,92 ± 0,01A
	YFJ	1,21 ± 0,04CD	1,19 ± 0,01DE	1,15 ± 0,01CD	1,13 ± 0,03B
Sinéresis	YN	29,5 ± 0,8C	35,5 ± 0,5	40,33 ± 1,5A	40,6 ± 0,5A
	YFJ	34,6 ± 0,5B	36,3 ± 3,2AB	35,1 ± 2,0B	39,0 ± 1,0AB
Viscosidad (Cp)	YN	1919 ± 9EF	1768 ± 115F	5025 ± 79C	27821 ± 1496A
	YFJ	4002 ± 165CD	3421 ± 365DE	4486 ± 93CD	11184 ± 231B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

El pH del YN se mantuvo estable a lo largo del almacenamiento ($\text{pH} = 4,2$), a diferencia del YFJ en el que se observó una ligera disminución; la adición de flor de Jamaica provocó que el yogur presente un $\text{pH} = 3,75$ (día 0) alcanzando en el día 12 un valor de $\text{pH} = 3,69$. Es común observar esta ligera reducción del pH durante el almacenamiento, tal como muestran estudios de estabilidad y vida útil (Miranda y Paredes, 2015). Los resultados encontrados en el presente estudio sugieren que la formulación del YN tiene una mayor capacidad de amortiguación de proteínas (caseína) y resistencia a los cambios en el pH durante el almacenamiento (Tamine &

Robinson, 2007). Además, la fermentación bacteriana alcanza un punto de equilibrio una vez que las bacterias lácticas consumen la mayor parte de la lactosa disponible, reduciendo significativamente su actividad metabólica durante el almacenamiento (Lucey, 2004). La reducción del pH producida en el YFJ, de acuerdo con Méndez et al. (2017), estaría relacionada con la interacción de los compuestos bioactivos que contiene la Jamaica como los ácidos orgánicos (ácido málico, ácido tartárico y ácido cítrico), que inicialmente contribuyen a una ligera acidificación, que pueden amortiguarse con el tiempo debido a interacciones químicas con la matriz proteica del yogur. Estos compuestos, junto con los polifenoles presentes en la flor de Jamaica, pueden actuar como agentes quelantes, interactuando con las proteínas y minerales del yogur, lo que podría reducir la disponibilidad de protones libres y estabilizar el pH (Cisse et al., 2009). Además, la flor de Jamaica posee antioxidantes como las antocianinas, que también pueden influir en el equilibrio químico del yogur al ralentizar la actividad metabólica de las bacterias lácticas, promoviendo una menor producción de ácido láctico durante el almacenamiento (Mahadevan et al., 2009).

Respecto a la acidez, el YFJ presentó valores significativamente mayores al YN a lo largo del almacenamiento. Se observó un ligero incremento de este parámetro en el YN, en contraste, el YFJ mostró una ligera reducción. En el día 0 la acidez fue de 0,88% y 1,21 % y en día 12 los valores registrados fueron 0,93 y 1,13%, para el YN y el YFJ, respectivamente. De acuerdo con Lucey. (2004), estos cambios en la acidez están relacionados con una desaceleración en la actividad metabólica de las bacterias lácticas que ocurre una vez que el yogur alcanza un pH crítico y las condiciones de almacenamiento son constantes. La estabilidad de la acidez titulable permitió que el proceso fermentativo se completara en gran medida antes del almacenamiento, limitando la producción adicional de ácido láctico. Además, la capacidad amortiguadora de las proteínas lácteas podría contribuir a mantener la acidez dentro de un rango controlado, incluso con ligeros cambios en las condiciones de almacenamiento (Beal et al., 2017).

Respecto a la sinéresis, se muestra un aumento significativo tanto en el YN como en el YFJ durante el almacenamiento. Al inicio (día 0), se observó un promedio de 29,5 y 34,67 para YN y YFJ, mientras que al día 12 estos valores aumentaron un 38 y 12,5% respectivamente. Este incremento refleja un deterioro progresivo de la estabilidad estructural del producto, por lo que la reducción de la cohesión en la matriz de gel del yogur debido a la reorganización de las micelas de caseína y la desestabilización de las redes proteicas durante el almacenamiento (Lucey, 2004). En este sentido, Castillo et al. (2017) señalan que el envejecimiento del gel lleva a una redistribución del agua atrapada y al debilitamiento de las interacciones proteicas, especialmente bajo condiciones de almacenamiento a temperaturas refrigeradas. En un yogur sin aditivos con función de estabilizantes, el incremento de la sinéresis es inevitable debido a los cambios fisicoquímicos propios del envejecimiento (Tamime & Robinson, 2007). La magnitud del aumento en la sinéresis también podría verse influenciada por el contenido inicial de sólidos totales y el pH, factores que afectan la retención de agua en el gel. Además, al incorporar un aditivo como la flor de Jamaica, se introduce sólidos adicionales y compuestos como ácidos y azúcares que pueden alterar el equilibrio osmótico y reducir la capacidad de retención de agua en la matriz proteica (Acevedo et al., 2010). La sinéresis es un defecto común en el yogur porque supone el deterioro de la textura del producto y afecta su aspecto visual. En la Figura 3 se puede observar el YN y YFJ, esta apariencia se mantuvo durante los 12 días el almacenamiento, lo que demuestra que el producto se mantiene estable, no obstante, se debe recalcar que a los 8 días el YFJ no presenta la población mínima requerida de BAL.

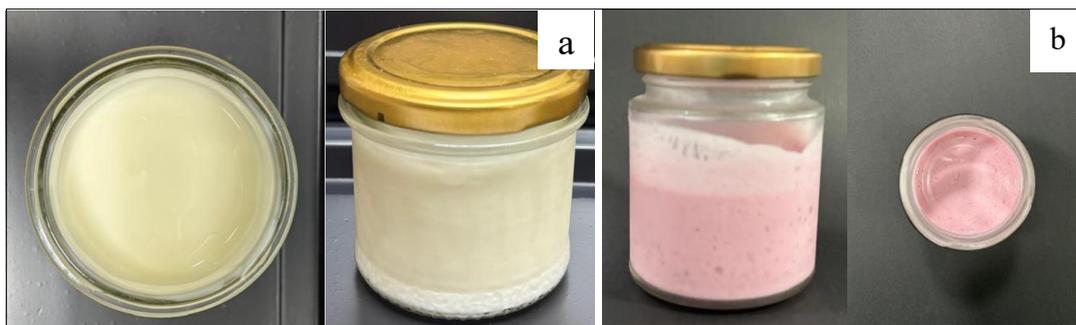


Figura 4. Apariencia visual de: a) Yogur natural y b) Yogur de flor de Jamaica luego de 12 días de almacenamiento refrigerado

Por otro lado, la viscosidad del yogur aumentó significativamente en los dos yogures. En el YN el aumento fue de 14 veces el valor inicial, en tanto que en el YFJ este aumento fue de 2,7 veces. En el día 12 se encontraron valores de viscosidad de 27821 y 11184 cP para el YN y YFJ, respectivamente. Cambios en la viscosidad del yogur son observados cuando en la formulación se incorporan ingredientes como fibra, gomas o concentrados de fruta que producen rompimiento del gel durante el proceso de elaboración (Jiménez et al., 2004). En el yogur elaborado el aumento de la viscosidad indica que el gel pierde firmeza y consistencia, esto podría deberse a la pectina incorporada en la mermelada de flor de Jamaica. Esta forma una red tridimensional al interactuar con el agua y otros componentes del yogur, incrementando la resistencia al flujo y mejorando la consistencia del producto, especialmente si la pectina interactúa con un pH ácido como en el caso del yogur (Thakur et al., 1997). Además, la pectina puede interactuar con las proteínas de la leche, reforzando la estructura del gel y contribuyendo a una mayor viscosidad, lo que resulta en una textura más espesa y homogénea (Beal et al., 2017). Esta incorporación específica en la mermelada explica el aumento de viscosidad del YFJ en comparación con el YN, que no contiene este ingrediente. Además, la actividad de las BAL puede contribuir a la formación de exopolisacáridos (EPS), compuestos que incrementan la retención de agua y refuerzan la red proteica (Guénard et al., 2020).

4. CONCLUSIONES

A pesar de que el yogur con flor de Jamaica presenta inicialmente una mayor población de BAL respecto al La flor de Jamaica, su adición podría no ser favorable para mantener la viabilidad de las BAL necesarias para los atributos probióticos del producto por más de 8 días de almacenamiento refrigerado. Por lo tanto, su uso como aditivo requiere ajustes en la formulación o en las condiciones de almacenamiento para garantizar que no se comprometa la calidad funcional del yogur.

La flor de Jamaica mostró efecto antimicrobiano significativo frente a *Escherichia coli* y coliformes en el yogur. La adición de flor de Jamaica redujo más rápidamente estas bacterias en comparación con el YN, atribuida a la acción de los ácidos orgánicos y polifenoles presentes en la flor de Jamaica. Desde el inicio del almacenamiento, *E. coli* dejó de ser detectable en el YFJ a partir del día 4, mientras que en el YN permaneció detectable hasta el día 8. Asimismo, la carga de coliformes en el YFJ mostró una reducción significativa en las primeras etapas del almacenamiento, reflejando un efecto antimicrobiano más eficiente en comparación con el YN.

La adición de flor de Jamaica tuvo un impacto leve pero significativo en las características fisicoquímicas del yogur. Es evidente que la presencia de los componentes químicos (polifenoles y ácidos orgánicos) de la flor de Jamaica incrementan la acidez y reducen el pH, la sinéresis y la viscosidad del yogur manteniendo estos parámetros con menores valores en comparación al YN, en consecuencia, el yogur mantiene su estabilidad fisicoquímica por más tiempo. Además, el YFJ podría ofrecer propiedades funcionales adicionales (como la capacidad antioxidante) derivadas de los compuestos antioxidantes y bioactivos de la flor de Jamaica.

La incorporación de flor de Jamaica en yogur se propone como una alternativa natural como aditivo, aportando propiedades antimicrobianas al yogur. El color y sabor intenso de la flor de

Jamaica pueden sustituir a colorantes y saborizantes artificiales, según las tendencias actuales hacia productos más naturales y funcionales. Sin embargo, es necesario optimizar la formulación para mantener la población de BAL dentro de los requisitos microbiológicos establecidos por la normativa.

5. RECOMENDACIONES

Sería interesante estudiar el uso de la flor de Jamaica como aditivo natural en yogur, particularmente en relación con su efecto sobre las propiedades reológicas y la vida útil sensorial del producto. La incorporación de flor de Jamaica podría influir en características como la textura y la estabilidad del gel del yogur, aspectos que determinan la aceptabilidad sensorial del producto. Sería recomendable conocer el perfil de compuestos bioactivos de la flor de Jamaica (polifenoles y ácidos orgánicos) y cómo interactúan con la matriz proteica y afectan las propiedades estructurales del yogur.

Por otro lado, es necesario determinar cómo la adición de flor de Jamaica afecta parámetros sensoriales como el sabor, el color y la textura a lo largo del almacenamiento. Los resultados así obtenidos permitirían optimizar la formulación de un producto con características funcionales y estabilidad durante toda su vida útil.

6. REFERENCIAS

- Aguillon, J. (2020). Comportamiento agronómico del cultivo de Jamaica (*Hibiscus sabdarifa*) sometidos a diferentes distanciamientos de siembra y dosis de fertilización edáfica en Alfredo Baquerizo Moreno (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Babahoyo, Alfredo Baquerizo Moreno, Ecuador.
- Balseca Gaibor, K. M. (2020). *Elaboración de un yogur con aceite esencial de jengibre (*Zingiber Officinale*) y aceite esencial de canela (*Cinnamomum Verum*) como*

- preservantes naturales* (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.
- Beristain-Bauza, S. C., Palou, E., & López-Malo, A. (2012). Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(2), 64-78.
- Carvajal, O., Waliszewski, S., & Infanzón, R. M. (2006). Los usos y maravillas de la Jamaica. *Revista Ciencia y el Hombre*, (2).
- Carrillo, P. (2012). Características químicas de la flor de Jamaica para su uso en la industria alimentaria (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México.
- Delgadillo López, O. E., Machado Castillo, A. R., & Munguía Lacayo, O. D. (2011). *Diseño de planta procesadora de Flor de Jamaica de la Cooperativa Multisectorial " Juan Francisco Paz Silva" dado en el periodo de julio-septiembre de 2010* (Tesis de grado). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua.
- El-Abbadi, N. H., Dao, M. C. y Meydani, S. N. (2014). Yogurt: Role in healthy and active aging. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99(5 Suppl), 1263S-70S.
- Falco Sánchez, A., Rodríguez, J. L., Relly, E. C. O., Campos, A. C., de Villavicencio, M. N., Fernández, L., & Rodríguez, O. R. (2022). Conservación de jalea gelificada de flor de Jamaica preservation of Jamaica flower gellified jelly. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 32(2), 33-38.
- Feng, P., Weagant, S. D., & Grant, M. A. (2020). *Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria from Food*. *Journal of Food Protection*, 83(1), 113-116.
- Galicia-Flores L, Salinas-Moreno Y, Espinoza-García, B. 2008. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Nacional e importada. *Revista Chapingo*. 14(2): 150-160.
- García Patiño, A. C., & Lozano Peña, J. E. (2022). Potencial agronómico, desarrollo y producción de la flor de Jamaica *hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) de cáliz morado bajo las condiciones climáticas de la granja de la Universidad de los Llanos.
- García Barrero, J. A., Nitola, J. C., Otero, L. C., & Parra, R. A. (2008). Evaluación fisicoquímica, sensorial y microbiológica de un yogurt elaborado con *Hibiscus*

- sabdariffa* (flor de Jamaica) endulzado con Panela (Trabajo de grado). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia.
- Mendoza Mendoza, R. E. (2021). *Propiedades y características reológicas aplicadas en el yogur* (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Montaño, O., Corona J., Ortega A & Garnica J. (2024). La flor de Jamaica como producto estratégico para la salud humana en el contexto de México. *Inter disciplina*, 12(33), 117-142.
- Usulli, P., & Klever, A. (2023). *Plan de negocio para la elaboración y comercialización de yogurt de higo* (Tesis de licenciatura). Universidad Tecnológica Indoamérica, Ambato, Ecuador.
- Piovesana A, Rodríguez E, Noreña CPZ. (2019). Composition analysis of carotenoids and phenolic compounds and antioxidant activity from *Hibiscus calyces* (*Hibiscus sabdariffa* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *Phytochem Anal* 2019; 30:208-17.
- Ramírez, M., Plaza, M., Azeredo, A., Balaban, M & Marshall, M. (2011). Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Food Science* 76(3): C428–C435
- Roberts, William A. (2009, Mayo 1). Yogurt Culture. Artículo: prepared foods. Obtenido el 22 de octubre de 2011 de <http://www.preparedfoods.com/articles/article-yogurt-culture-may-2009>
- Salinas, Y., Zúñiga, A., Jiménez, L., Serrano, V & Sánchez, C. (2012). Color in calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) and their relationship with physicochemical characteristics of their aqueous extracts. *Revista chapingo. Serie horticultura*, 18(1), 33-43.
- Tiwari, S., Kavitate, D., Devi, P. B., & Shetty, P. H. (2021). Bacterial exopolysaccharides for improvement of technological, functional and rheological properties of yoghurt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1585-1595.
- Rasdhari M., Parekh T., Dave N. y Patel V. (2008). Evaluation of various physico-chemical properties of *Hibiscus sabdariffa* and *L. casei* incorporated probiotic yoghurt. *Journal*

of Food Science and Technology, 45(3), 231-235.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19266923/>

- Sperber, W. H., & Doyle, M. P. (2009). *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages* (Vol. 1, pp. 1-352). Springer.
- Sumaya Martínez, Ma. Teresa; Medina Carrillo, Raquel E.; Machuca Sánchez, Ma. Luisa; Jiménez Ruiz, Edgar; Balois Morales, Rosendo; Sánchez Herrera, Leticia Mónica
 POTENCIAL DE LA JAMAICA (HIBISCUS SABDARIFFA L.) EN LA
 ELABORACIÓN DE ALIMENTOS FUNCIONALES CON ACTIVIDAD
 ANTIOXIDANTE Revista Mexicana de Agronegocios, vol. 35, julio-diciembre,
 2014, pp. 1082-1088 Sociedad Mexicana de Administración Agropecuaria A.C.
 Torreón, México
- Gutiérrez, T. J., Toro-Márquez, L. A., Merino, D., & Mendieta, J. R. (2019). Hydrogen-bonding interactions and compostability of bionanocomposite films prepared from corn starch and nano-fillers with and without added Jamaica flower extract. *Food Hydrocolloids*, 89, 283-293.
- Armstrong, G. L., Hollingsworth, J., & Morris Jr, J. G. (1996). Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157: H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world.
- AuWerter, J. P. (2021). The implications of switching from total coliform to Enterobacteriaceae as an indicator organism in a food manufacturing facility: a literature review.
- Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A., & Czyzowska, A. (2021). Plant extracts rich in polyphenols: Antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(1), 149-178.
- CSU Food Source information. (2023). *Yogurt*. Key Facts. Colorado State University. Fort Collins, Colorado. <https://www.chhs.colostate.edu/fsi/food-articles/animal-products/yogurt/>
- AOAC INTERNATIONAL. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 17th Edition. Gaithersburg, MD, USA.

NTE INEN 2395. (2011). Leches fermentadas. Requisitos. Primera edición.

https://studylib.es/doc/5365063/n-te-inen-2395--leches-fermentadas.-requisitos#google_vignette

Reyes, J., Pérez, M., & Gómez, L. (2015). "Determinación de la acidez titulable en productos lácteos fermentados". *Revista de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 10(2), 123-130.

Kessler, R., & Mroczek, D. Final Versions of our Non-Specific Psychological Distress Scale. Retrieved from <https://www.scienceopen.com/document?vid=2987d9ec-beca4fc6-a58a-a6ede4f532b3>. 1994