

## Elaboración de yogurt con probióticos (*Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina

Yogurt making by using probiotics (*Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*) and Inulin

J.A. Ruiz Rivera y A.O. Ramírez Matheus

Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101. Aragua. Venezuela.

### Resumen

El propósito de esta investigación fue la elaboración de yogurt firme con incorporación de cepas probióticas (*Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina. Se utilizó leche cruda proveniente de la estación experimental "Santa María" –UCV y leche en polvo comercial, para obtener leche pasteurizada, inulina (Raftiline® HP), cultivos lácticos de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* y cepas probióticas de *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus*. Se hicieron tres formulaciones de yogurt: F<sub>1</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas, F<sub>2</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas + Inulina, F<sub>3</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico (Control). La leche cruda cumplió con los requisitos establecidos en la norma COVENIN (903:93). Los yogures cumplieron con los requisitos microbiológicos exigidos en la norma COVENIN (2392:01). La formulación 2 (probióticos e inulina), mostró mayor estabilidad fisicoquímica durante el tiempo de almacenamiento y además no presentó el fenómeno de sinéresis.

**Palabras clave:** Yogurt, *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus acidophilus*, inulina, estabilidad, leche cruda.

### Abstract

The purpose of this work was developing a solid yogurt with probiotic strains (*Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*) and inulin. Raw milk from the Experimental Station "Santa Maria" - UCV, commercial powdered milk, to obtain pasteurised milk, inulin (Raftiline® HP), lactic culture of

*Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* and probiotic strains used *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus* were used. There formulations of yogurt were made: F1= pasteurized milk + lactic culture + probiotic strains; F2= pasteurized milk + lactic culture + probiotic strains + inulin; F3= pasteurized milk + lactic culture (control). Raw milk fulfill with the requirements of COVENIN rules (903:93). In the same way, yogurts fulfilled with the microbiological standard COVENIN rules (2392:01). The formulation 2 (probiotics and inulin), showed major physicochemical stability during storage time and did not show the syneresis phenomenon.

**Key words:** Yogurt, *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus acidophilus*, inulin, stability, raw milk.

## Introducción

El yogurt es un gel de apariencia viscosa, resultante de la acidificación microbiana de la leche. Intervienen en su fermentación ácido láctica las bacterias *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*, las cuales deben encontrarse en relación 1:1 para una acción simbiótica efectiva (Salvatierra *et al.*, 2004). El yogurt probiótico puede ser un atractivo para los consumidores, porque la incorporación de ciertas bacterias probióticas incrementan el valor terapéutico del mismo y ayuda a los consumidores a ingerir alimentos nutricionales que tengan beneficios adicionales a la salud (Hekmat y Reid, 2006). Para la elaboración del yogurt se requiere leche y fermentos lácticos, siendo importante que la leche cumpla el requisito de estar en óptimas condiciones sanitarias, lo que se logra al ser sometida a proceso de pasteurización, además no debe poseer antibióticos, para que pueda ocurrir la fermentación láctica de manera adecuada, y obtener un producto

## Introduction

Yogurt is a gel of viscose appearance, as a result of the microbial acidification of milk. *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* bacteria, takes part of its acid lactic fermentation which have to be in a 1:1 relation for an effective symbiotic action (Salvatierra *et al.*, 2004). Probiotic yogurt can be an attractive to consumers, because the adding of some probiotic bacteria increases its therapeutic value and help them to consume nutritional foods with additional benefits to health (Hekmat and Reid, 2006). For the yogurt making, milk and lactic ferments are required, being important that milk fulfill the requirement of being in optimum healthy conditions, which it is achieved at the moment of the pasteurization process, also, do not need to have antibiotics, in order to the lactic fermentation can occurs in an adequate way, and to obtain a nutritional product with acceptable physicochemical and microbiological characteristics.

Between the substances used

alimenticio con características fisicoquímicas y microbiológicas aceptables.

Entre las sustancias utilizadas como fuente de fibra dietética de origen natural, se encuentra la inulina, la cual ha sido usada para enriquecer alimentos de fácil consumo, como productos lácteos y de panificación, ya que promueve el crecimiento de bifidobacterias en el intestino; microorganismos que son muy sensibles a los factores del ambiente, por lo tanto su incorporación a los alimentos, como probióticos o suplemento dietético de origen microbiano, con efecto beneficioso para la salud no es fácil. Por esta razón, se ha propuesto como alternativa la adición del prebiótico inulina a los alimentos, por ser una sustancia capaz de estimular la proliferación de las bacterias endógenas del intestino (Gibson y Roberfroid, 1995).

La inulina es un fructano u oligosacárido, cuya estructura básica consiste de unidades de fructosa unido por un enlaces  $\beta$  (2,1); una molécula de glucosa puede estar enlazada al final de la cadena por un enlace  $\alpha$  (1,2) (Zuleta y Sambucetti, 2001). Debido a la presencia del enlace glucosídico  $\beta$  (2,1), la inulina es resistente a la hidrólisis por las enzimas digestivas del intestino delgado, siendo rápidamente fermentada por las bacterias del colon, por lo que se considera un carbohidrato no digerible, estando hoy clasificada como fibra alimentaria soluble (Clemens, 2001).

Se ha observado que los probióticos tienen efectos más allá del valor nutritivo del alimento, incluyendo la exclusión, antagonismo e inter-

like dietetic fiber source of natural origin, it is possible to find inulin, which have been used to enrich easy-consumption foods, like dairy and bakery products, since promotes the bifidobacteria growth on intestine; microorganisms that are very sensitive to environment factors, therefore, its incorporation to foods, like probiotics or dietary supplement of microbial origin, with beneficial effect to health its not easy, in such a way that the inulin probiotic addition to foods have been proposed as alternative, by being a substance capable to stimulate the endogenous bacteria proliferation on intestine (Gibson and Roberfroid, 1995).

Inulin is a fructan or oligosaccharide, with a basic structure of fructose units joined by  $\beta$  links (2.1); one molecule of glucose can be joined to the end of chain by a  $\alpha$  link (1.2) (Zuleta and Sambucetti, 2001). Because of the  $\beta$  glucoside link (2.1) presence, the inulin is resistant to hydrolysis by the digestive enzymes of the thin intestine, being rapidly fermented by colon bacteria, it is considered as a no digestible carbohydrate, being classified like soluble alimentary fiber (Clemens, 2001).

It has been observed that probiotics have effects beyond food nutritive value, by including exclusion, antagonism and interference with pathogen microorganisms, the immunostimulation and immunomodulation, anti-carcinogenic and anti-mutagenic activities, relief of lactose intolerance symptoms, reduction of serum cholesterol, reduction of arterial pressure, diminish on

ferencia con microorganismos patógenos, la inmunoestimulación e inmunomodulación, actividades anticarcinogénicas y antimutagénicas, alivio de los síntomas de intolerancia a la lactosa, reducción de colesterol sérico, reducción de la presión arterial, disminución en la incidencia y duración de diarrea, prevención de vaginitis y mantenimiento de la integridad de las mucosas entre otras. Otros beneficios incluyen la estimulación de la síntesis de vitaminas y producción de enzimas, estabilización de la microflora, y reducción del riesgo de cáncer de colon (Berrocal *et al.*, 2002; Barrante *et al.*, 2004).

Son muchos los microorganismos utilizados como probióticos tanto en animales como en humanos, incluyendo los géneros *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* y, el más utilizado de todos el *Lactobacillus*. La producción de yogurt está basada en la adición de fermentos de *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* a la leche. Sin embargo, actualmente se considera que la introducción de microorganismos probióticos ha permitido, no sólo mejorar la producción del yogurt, por disminuir la postacidificación, sino también porque actúan como agente terapéutico, generando efectos beneficiosos en las personas que los ingieren (Barrante *et al.*, 2004; Demirer *et al.*, 2006).

No hay acuerdos generales en cuanto a la concentración mínima necesaria del probiótico para alcanzar ventajas terapéuticas. Algunos investigadores sugieren niveles de concen-

diarrhea incidence and duration, vaginitis prevention and maintenance of mucoses integrity, among others. Other benefits includes the vitamins synthesis stimulation and enzymes production, microflora stabilization, and risk reduction of colon cancer (Berrocal *et al.*, 2002; Barrante *et al.*, 2004).

There are many microorganisms used like probiotics, as well in animals as in humans, by including *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* and, the more used, *Lactobacillus* genre. Yogurt making is based on the ferment addition of *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* to milk. Nevertheless, nowadays the introduction of probiotics microorganisms have permitted not only improve the yogurt production, because the post-acidification, but also, they acts like therapeutic agent, by generating beneficial effects in people who consumes them (Barrante *et al.*, 2004; Demirer *et al.*, 2006).

There is no general agreements in relation to the required probiotic minimum concentration to reach therapeutical advantages. Some researchers suggest concentration levels superior to  $10^6$  ufc/ml, other agreed concentrations superior to  $10^7$  ufc/ml and  $10^8$  ufc/ml like satisfactory levels (Kailasapathy and Rybka, 1997; Lourens-Hattingh and Viljeon, 2001, Kurmann and Rasic, 1991).

Probiotics yogurt formulation improves the *Lactobacillus acidophilus* and *L. casei* viability in

tración mayores a  $10^6$  ufc/ml, otros estipulan concentraciones mayores a  $10^7$  ufc/ml y  $10^8$  ufc/ml como niveles satisfactorios (Kailasapathy y Rybka, 1997; Lourens-Hattingh y Viljeon, 2001, Kurmann y Rasic, 1991).

La formulación del yogurt con prebióticos mejora la viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* y del *L. casei*, en el yogurt durante su almacenamiento refrigerado, especialmente en presencia de la inulina. Se ha demostrado que este polisacárido es mejor estimulante del crecimiento del probiótico que el almidón de maíz; pues bajas concentraciones de la misma son suficientes para estimular el crecimiento y conservar la viabilidad de los organismos probióticos en el yogurt, además de causar un incremento de la viscosidad a diferencia del almidón de maíz (Donkor *et al.*, 2007).

Staffolo *et al.* (2004) reportaron que en yogurt con inulina se mantuvo estable el color y la actividad de agua; además no experimentó sinéresis durante el almacenamiento, y señalaron que las cualidades sensoriales en este yogurt, no eran perceptiblemente diferentes de las cualidades sensoriales del yogurt control y de los yogures que contenían otras fibras como trigo o bambú. Igualmente Seydin *et al.*, (2005) encontraron en yogures que contenían inulina un buen sabor y una textura lisa.

En productos lácteos fermentados, se ha encontrado que la disminución del pH es incrementado con la adición de inulina, la proporción de grasas de la leche y el cultivo iniciador (Hardi y Slacanac, 2000). Sin embargo, Guven *et al.*, (2005) señalaron que la inulina no afectó el pH ni

yogurt during its frozen storage, especially in the inulin presence. It has been determined that this polysaccharide is a better stimulating of probiotic growth than corn starch; because low concentrations are enough to stimulate growth and preserve the viability of probiotic organisms in yogurt, besides of causing an increase on viscosity unlike the corn starch (Donkor *et al.*, 2007).

Staffolo *et al.* (2004) reported that in yogurt with inulin, color and water activity kept stable; also, it did not experimented syneresis during storage, and they reported that sensorial qualities in this yogurt, there were not perceptibly different of sensorial qualities of the control yogurt and those having other fibers like wheat or bambu. In the same way, Seydin *et al.*, (2005) found in those having inulin a good taste and a smooth texture.

In fermented dairy products, the pH decrease is increased with the inulin addition, the milk fatty proportion and the beginner crop (Hardi and Slacanac, 2000). However, Guven *et al.*, (2005) reported that inulin did not affect pH nor the titrable acidity in non-fat yogurt; in the same way Staffolo *et al.* (2004) established that in yogurt with inulin, pH remained without any changes.

De Oliveira *et al.* (2005), said that in soja yogurts supplemented with probiotic strains (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) and inulin showed higher viscosity, cohesivity, adhesivity, and to the lower hardness in comparison to those no supplemented. Additionally, yogurt

la acidez titulable en yogurt sin grasa; de igual forma Staffolo *et al.* (2004) indicaron que en yogurt con inulina el pH se mantuvo sin cambios.

De Oliveira *et al.* (2005), comentan que en yogures de soya suplementados con cepas probióticas (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) e inulina presentaron mayor viscosidad, cohesividad, adhesividad, y la menor dureza en comparación con los no suplementados. Adicionalmente, el yogurt suplementado presentó una buena aceptación del consumidor, por lo que recomiendan el uso de probióticos e inulina para la formulación de yogures o alimentos en general.

Maragkoudakis *et al.* (2006), al trabajar con diferentes niveles de inóculos (1 y 2%) de cepas probióticas de *Lactobacillus* y temperaturas de incubación (37 y 42°C), en la formulación de yogurt, concluyeron que a mayor temperatura y mayor nivel de inóculo, se presentan las mejores propiedades fisicoquímicas y sensoriales del yogurt probiótico, almacenado por 14 días.

En base a lo anteriormente citado, el objetivo del presente estudio fue elaborar un yogurt firme con cepas probióticas (*Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina, y su evaluación fisicoquímica y microbiológica durante 21 días de almacenamiento a 4°C.

## Materiales y métodos

Se utilizó leche cruda proveniente de la estación experimental "Santa María", además de leche en polvo completa de marca comercial, para la elaboración

suplementado showed a good consumer acceptance, the use of probiotics and inulin is recommend for yogurts formulation or in general foods.

Maragkoudakis *et al.* (2006), when working with different inoculum levels (1 and 2%) of probiotic strains of *Lactobacillus* and incubation temperatures (37 and 42°C), in yogurt formulation, concluded that when temperature and inoculum level are higher, the best physicochemical and sensorial properties of probiotic yogurt at 14 storage days are shown.

The objective of this research was to make a solid yogurt with probiotic strains (*Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*) and inulin, and its physicochemical and microbiological evaluation during 21 storage days to 4°C.

## Materials and methods

Raw milk from the experimental station "Santa María", besides of complete milk of a commercial mark, for making pasteurized milk. Lactic ferments: a) Lactic culture: *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* strains and b) probiotic strains: *Bifidobacterium* and *Lactobacillus acidophilus* strains and inulin (Raftiline® HP) mark ORAFTI. Research was carried out in microbiology section of the Chemical Institute of the Agronomy Faculty – UCV. Three formulations were done by triplicate, which are detailed as follows:

de leche pasteurizada. Fermentos lácticos: a) Cultivo láctico: cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*, y b) cepas probióticas: cepas de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus acidophilus*, e inulina (Raftiline® HP) marca ORAFIT. La investigación se realizó en la sección de microbiología del Instituto de Química de la Facultad de Agronomía – UCV. Se realizaron por triplicado tres (03) formulaciones, las cuales se detallan a continuación, y aparecen en el cuadro 1:

F<sub>1</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas

F<sub>2</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas + Inulina

F<sub>3</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico (Control)

**Análisis químicos:**

Acidez titulable: COVENIN (658: 97).

pH: Se llevó a cabo mediante un pHmetro marca Standard modelo PHM 62 con un electrodo de vidrio.

**Análisis físicos:**

Viscosidad: Se utilizó un viscosímetro rotacional de Brookfield

F<sub>1</sub> = Pasteurized milk + Lactic culture + probiotic strains

F<sub>2</sub> = Pasteurized milk + Lactic culture + Probiotic strains + Inulin

F<sub>3</sub> = Pasteurized milk + Lactic culture (Control)

**Chemical analysis:**

Titration acidity: COVENIN (658: 97).

pH: It was carried out by a pHmeter mark Standard model PHM 62 with a glass electrode.

**Physical analysis:**

Viscosity: A Brookfield rotational viscosimeter of LVT model, 4 needles and rotation speed of 30 rpm.

Syneresis: It was done through methodology described by Staffolo *et al.*, (2004).

**Microbiological analysis to the raw milk:**

Recount of total coliforms: COVENIN (3339:97).

Recount of mesophilous aerobic bacteria: COVENIN (902:87).

Recount of mildews and yeast: Interpretation guide 3M Petrifilm yeast and mildews (<http://multimedia.mmm.com/mws/m e d i a>)

**Cuadro 1. Formulaciones del yogurt firme.**

**Table 1. Solid yogurt formulations.**

Ingredientes (%p/v)	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>
Leche en polvo	5,00	5,00	5,00
Fermentos lácticos	0,004	0,004	0,004
Inulina	0	3	0

F<sub>1</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas

F<sub>2</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas + Inulina

F<sub>3</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico (Control)

Modelo LVT aguja 4 y velocidad de rotación 30 rpm.

Sinéresis: Se realizó mediante metodología descrita por Staffolo *et al.*, (2004).

### **Análisis microbiológicos a la leche cruda:**

Recuento de coliformes totales: COVENIN (3339:97).

Recuento de bacterias aerobias mesófilas: COVENIN (902:87).

Recuento de mohos y levaduras: Guía de Interpretación 3M Petrifilm Levaduras y Mohos disponible en: <http://multimedia.mmm.com/mws/media/webserver.dyn?6666660Zjcf6lVs6EVs66SCfsCOrrrrQ->

### **Análisis estadístico:**

Se realizó un diseño completamente aleatorizado, en el cual se aplicó un análisis de varianza, para establecer si existen diferencias significativas entre las variables químicas determinadas en los lotes de leche cruda utilizados en la elaboración del yogurt, además se realizó una prueba de medias de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). En el caso de las variables fisicoquímicas del yogurt, también se utilizó un diseño completamente aleatorio, con un arreglo factorial (3 x 4), realizando tres (03) formulaciones con tres repeticiones, en cuatro (4) tiempos de almacenamiento (0, 7, 15 y 21 días), dando un total de 12 tratamientos. Se realizó un análisis descriptivo de las variables fisicoquímicas, y un análisis de varianza, seguido de una prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) (SAS, 1989).

## **Resultados y discusión**

### **Caracterización química y microbiológica de la leche cruda:**

webserver.dyn?6666660Zjcf6lVs6EVs66SCfsCOrrrrQ-

### **Statistical analysis:**

A complete at random design was applied to determine significant differences between chemical variables determined in raw milk batch used in yogurt elaboration. In case of physicochemical variables of yogurt, a complete at random design was also used, but with a factorial arrangement (3 x 4), by giving a total of 36 treatments, with three (3) fabrication processes for each formulation in four (4) storage times (0, 7, 15 and 21 days). A descriptive analysis of physicochemical variables was done, and a variance analysis, followed by a Tuckey mean comparison test ( $\alpha = 0.05$ ).

## **Results and discussion**

### **Chemical and microbiological characterization of raw milk**

In table 2, the pH and acidity of raw milk used in the three making processes of yogurts is observed. Both variables are within rank established by COVENIN rules (903:83), for this type of product.

In table 3, the mean values of total coliforms and mesophyllous aerobia of raw milk used are shown, it was observed that this milk fulfilled with microbiological requirements of COVENIN rule (903:83).

### **Solid yogurt formulation with probiotics strains and inulin**

Process was accomplished by following the technological scheme that is showed in figure 1. An incubation time of 4 hours was



En el cuadro 2, se observan los valores de pH y acidez de la leche cruda utilizada en los tres procesos de fabricación de los yogures. Ambas variables están dentro del rango establecido por la Norma COVENIN (903:83), para este tipo de producto.

En el cuadro 3, se muestran los valores promedios de coliformes totales y aerobios mesófilos de la leche cruda usada, se observó que esta leche cumple con los requisitos microbiológicos establecidos en la Norma COVENIN (903:83).

#### **Formulación de yogurt firme con cepas prebióticas e inulina:**

El proceso se llevó a cabo bajo el esquema tecnológico que se indica en la figura 1. Se estableció un tiempo de incubación de 4 horas, porque los fermentos lácticos utilizados en la formulación de los yogures (cuadro 1), provienen de un cultivo madre. En las formulaciones 1 y 2 se utilizaron cepas probióticas y cultivo láctico bajo la denominación comercial "EZAL MY B102 (1%)", y en la formulación 3 (control), se utilizó cepas de cultivo láctico denominadas "Yo FLEX - 380

established because lactic ferments used in yogurts formulation (table 1) comes from a mother culture. In formulations 1 and 2 probiotic strains and and lactic culture were used under commercial denomination "EZAL MY B102 (1%)", and with formulation 3 (control), lactic culture strains called "Yo FLEX-380 (3%)" were used. Pasteurization was carried out al laboratory level, plastic bottles of 250 ml were used, and they were done inside of a natural enviroment.

#### **Yogurts physicochemical and microbiological characterization during storage**

In table 4, initial values and during pH maintenance, acidity and viscosity of different yogurts are shown. Initial values of pH (4.07- 4.64) for yogurts done are similar to those reported in this type of product, by other authors (Xanthopoulos *et al.*, 2001; Briceño *et al.*, 2001; Blanco *et al.*, 2006; Pérez, 2005; De Oliveira *et al.*, 2005; Maragkoudakis *et al.*, 2006; Ramírez, 2007), who said that the characteristic pH of yogurt is between 3.8 and 4.5.

At 21 storage days a pH

### **Cuadro 2. Valores de pH y acidez de la leche usada en la elaboración de yogurt firme.**

**Table 2. pH values and acidity of milk used in the solid yogurt elaboration.**

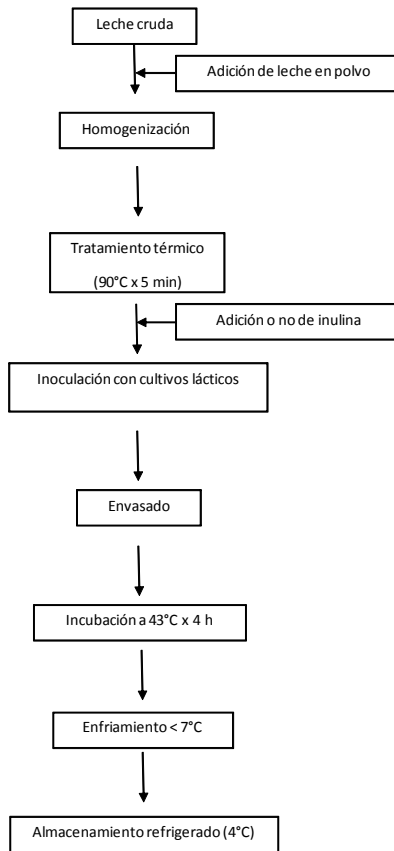
Lote	pH	Acidez mL NaOH 0,1 N/100 mL de leche
1	6,60 ± 7,07 x10 <sup>-3</sup> <sup>a</sup>	14,99 ± 0,25 <sup>a</sup>
2	6,62 ± 7,07 x10 <sup>-3</sup> <sup>a</sup>	14,93 ± 0,17 <sup>a</sup>
3	6,56 ± 7,07 x10 <sup>-3</sup> <sup>b</sup>	16,44 ± 0,91 <sup>a</sup>

Letras distintas en columnas indican diferencias estadísticamente significativas (P≤0,05).

**Cuadro 3. Valores promedios de coliformes totales y aerobios mesófilos en la leche utilizada para la elaboración de yogur firme.**

**Table 3. Mean values of total coliforms and aerobia mesophilous of milk used for the yogurt making.**

Lote	Coliformes totales (ufc/ml)	Aerobios mesófilos (ufc/ml)
1	$4,6 \times 10^3$	$1,95 \times 10^3$
2	$5,4 \times 10^2$	$3,4 \times 10^3$
3	$6,0 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$



**Figura 1. Esquema para la elaboración de yogur firme.**

**Figure 1. Yogurt making schema.**

(3%)". La pasteurización se realizó a nivel de laboratorio, los envases utilizados fueron vasos plásticos de 250 ml, y realizados en ambiente natural.

### **Caracterización fisicoquímica y microbiológica de los yogures elaborados durante el almacenamiento:**

En el cuadro 4, se presentan los valores iniciales y durante el almacenamiento de pH, acidez y viscosidad de los diferentes yogures elaborados. Los valores iniciales de pH (4,07- 4,64) para los yogures elaborados son similares a los reportados en este tipo de producto, por otros autores (Xanthopoulos *et al.*, 2001; Briceño *et al.*, 2001; Blanco *et al.*, 2006; Pérez, 2005; De Oliveira *et al.*, 2005; Maragkoudakis *et al.*, 2006; Ramírez, 2007), quienes señalan que el pH característico del yogurt está entre 3,8 y 4,5.

A los 21 días de almacenamiento se observó una disminución del pH en las tres formulaciones ( $F_1= 4,33$ ;  $F_2= 4,27$ ;  $F_3= 3,91$ ), lo cual puede atribuirse a que durante el almacenamiento refrigerado ocurre una actividad microbiana residual tal como lo señalan Lubbers *et al.* (2004), en yogures almacenados durante 28 días bajo refrigeración, lo que afecta el pH. Los valores de pH para cada tiempo de almacenamiento, no presentan diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones. Se observó que en las formulaciones 1 y 2, los valores de pH siempre fueron mayores que los del yogurt control, lo que pareciera indicar que con las cepas probióticas se obtienen yogures menos ácidos, además las cepas probióticas utilizadas, no contribuyeron con la disminución de la

decrease was observed in the three formulations ( $F_1= 4.33$ ;  $F_2= 4.27$ ;  $F_3= 3.91$ ), which can be attributed that during frozen storage occurs a residual microbial activity as reported by Lubbers *et al.* (2004), in stored yogurts during 28 days at refrigeration, that affect pH. pH values for each storage time, did not show significant statistically differences between formulations. In formulations 1 and 2, pH values observed always were superior to those of control, which would show that with probiotic strains, less acids yogurts, also, probiotics strains used did not contribute with product post-acidification during refrigerated storage, which is opposite to those established by several authors (Barranté *et al.*, 2004; Heller, 2001; Lourens-Hatting and Viljeon, 2001; Scherezenmeir and de Vrese, 2001; Shah, 2000). During 21 refrigerated storage, formulations 1 and 3 did not show significant statistically differences, but formulation 2 did it; this could be due to the inulin addition in fermented lactic products takes a pH decrease, like those reported by other authors (Hardi and Slacanac, 2000; Lubbers *et al.*, 2004; De Oliveira *et al.*, 2005; Maragkoudakis *et al.*, 2006; Ramírez, 2007).

In relation to acidity, it is observed that during 21 refrigerated storage days did not show significant statistically differences in formulations. Nevertheless, it is possible that at 7 days there is significant statistically differences between three formulations, this could be due to lactic bacteria are stabilized between 10 and 15

**Cuadro 4. Cambios en el pH, acidez (% de ácido láctico) y viscosidad (cps) en los yogures durante 21 días de almacenamiento.**

**Table 4. pH changes, acidity (% of lactic acid) and viscosity (cps) in yogurts during 21 storage days.**

Yogurt	Días de almacenamiento	pH	Acidez	Viscosidad
F <sub>1</sub>	0	4,64 ± 0,09 <sup>aA</sup>	1,02 ± 0,24 <sup>aA</sup>	6600 ± 1473 <sup>aA</sup>
F <sub>2</sub>		4,61 ± 0,15 <sup>aA</sup>	1,03 ± 0,26 <sup>aA</sup>	6667 ± 1351 <sup>aB</sup>
F <sub>3</sub>		4,07 ± 0,14 <sup>bA</sup>	1,23 ± 0,37 <sup>aA</sup>	9767 ± 160 <sup>aA</sup>
F <sub>1</sub>	7	4,45 ± 0,16 <sup>aA</sup>	1,01 ± 0,15 <sup>bA</sup>	7383 ± 1222 <sup>aA</sup>
F <sub>2</sub>		4,39 ± 0,07 <sup>aAB</sup>	1,33 ± 0,10 <sup>abA</sup>	9667 ± 729 <sup>aAB</sup>
F <sub>3</sub>		3,96 ± 0,07 <sup>bA</sup>	1,62 ± 0,23 <sup>aA</sup>	7450 ± 687 <sup>aB</sup>
F <sub>1</sub>	15	4,37 ± 0,22 <sup>aA</sup>	1,15 ± 0,26 <sup>aA</sup>	7567 ± 256 <sup>cA</sup>
F <sub>2</sub>		4,40 ± 0,05 <sup>aAB</sup>	1,41 ± 0,33 <sup>aA</sup>	11650 ± 614 <sup>aA</sup>
F <sub>3</sub>		4,06 ± 0,26 <sup>bA</sup>	1,79 ± 0,20 <sup>aA</sup>	9517 ± 404 <sup>bA</sup>
F <sub>1</sub>	21	4,33 ± 0,08 <sup>aA</sup>	1,36 ± 0,15 <sup>aA</sup>	7833 ± 889 <sup>bA</sup>
F <sub>2</sub>		4,27 ± 0,05 <sup>aB</sup>	1,37 ± 0,25 <sup>aA</sup>	11717 ± 1600 <sup>aA</sup>
F <sub>3</sub>		3,91 ± 0,19 <sup>bA</sup>	1,35 ± 0,22 <sup>aA</sup>	5633 ± 1159 <sup>bB</sup>

Letras minúsculas distintas en columnas indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0,05$ ), en los tratamientos para un mismo tiempo.

Letras mayúsculas distintas en columnas indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0,05$ ), en un tratamiento para los diferentes tiempos.

F<sub>1</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas

F<sub>2</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas + Inulina

F<sub>3</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico (Control).

postacidificación del producto durante el almacenamiento refrigerado, lo cual es contrario a los planteando por varios autores (Barrante *et al.*, 2004; Heller, 2001; Lourens-Hatting y Viljeon, 2001; Scherezzenmeir y de Vrese, 2001; Shah, 2000). Durante los 21 días de almacenamiento refrigerado, los formulaciones 1 y 3 no presentan diferencias estadísticamente significativas, pero si la formulación 2, esto se pudiera deber a que la adición

incubation days (De Penna *et al.*, 2003). Processed yogurts shows acidity values of 1.01 to 1.79% of lactic acid, by carrying out with the criteria establish in COVENIN norm (2393:01). Also, this values are similar to those reported by other authors (Briceño *et al.*, 2001; Ramírez, 2007). The acidity initial values are between 1.02 and 1.23% and ends between 1.35 and 1.37%, and even this increase is not significant, is possibly because

de inulina en productos lácteos fermentados conlleva a una disminución de pH, como lo han reportado otros autores (Hardi y Slacanac, 2000; Lubbers *et al.*, 2004; De Oliveira *et al.*, 2005; Maragkoudakis *et al.*, 2006; Ramírez, 2007).

Con respecto a la acidez, se observa que durante los 21 días de almacenamiento refrigerado no hubo diferencias estadísticamente significativas en las formulaciones. Sin embargo cabe señalar que a los 7 días si hay diferencias estadísticamente significativas entre las tres formulaciones, esto se puede deber a que las bacterias lácticas se estabilizan entre los 10 y 15 días de incubación (De Penna *et al.*, 2003). Los yogures elaborados presentan valores de acidez de 1,01 a 1,79% de ácido láctico, cumpliendo con el criterio establecido en la norma COVENIN (2393:01). Además son similares a los valores reportados por otros autores (Briceño *et al.*, 2001; Ramírez, 2007). Los valores iniciales de acidez se encuentran entre 1,02 y 1,23% y finalizan entre 1,35 y 1,37%, y aunque este aumento no es significativo, puede ser debido al hecho que aún bajo condiciones de refrigeración continúa la producción de acidez por los cultivos iniciadores que siguen fermentando la lactosa presente (Xanthopoulos *et al.*, 2001). En este sentido Adam y Moss (1997), señalan que el almacenamiento bajo refrigeración detiene el crecimiento de los microorganismos del cultivo iniciador, sin embargo la acidez continúa aumentando lentamente, por la actividad residual de las bacterias acidolácticas.

En los valores de viscosidad de

even under frozen conditions, the acidity production by the beginners cultures continues that through lactose fermentation (Xanthopoulos *et al.*, 2001). Adam and Moss (1997), says that refrigeration storage stop the microorganisms growth of beginner culture, however, acidity slowly continues increasing, because the residual activity of acidolactic bacteria.

In the viscosity values of yogurts during storage, statistically significant differences are shown in the formulations 2 and 3, in contrast to the formulation 1, with a tendency to be increased in formulations 1 and 2, and with a decrease on formulation 3. Viscosity variation in this last formulation, could be related to pH changes observed in this formulation, as reported by Wong (1995), who pointed out that gel viscosity decreases with acid pH, because proteins are solubilized to low pH. Formulation 2 shows the high mean value of viscosity during storage, which indicates that the inulin incorporation to yogurt have a positive influence in its viscosity, by being this validated by Kip *et al.* (2006) and Ramírez (2007) who report that inulin incorporation affect yogurt viscosity, because it has a high capacity for water retention, acting like a thickening agent that form complexes via hydrogen bridges with yogurt proteins. Processed yogurts showed a higher viscosity in comparison to those reported by Staffolo *et al.* (2004) (940-980 cps) and Lubbers *et al.* (2004) (670-780 cps); and inferior to those reported by De Oliveira *et al.* (2005) (21000 cps),

los yogures durante el almacenamiento, se presentan diferencias estadísticamente significativas en las formulaciones 2 y 3, no así en la formulación 1, tendiendo a aumentar en las formulaciones 1 y 2, pero a disminuir en la formulación 3. La variación de la viscosidad en esta última formulación, puede estar asociada a los cambios de pH observados en esta formulación, tal como lo indica Wong (1995), quien plantea que la viscosidad del gel disminuye con los pH ácidos, dado que las proteínas se solubilizan a pH bajos. La formulación 2 presenta el mayor valor promedio de viscosidad durante el almacenamiento, lo cual indica que la incorporación de inulina al yogurt influye de manera positiva en su viscosidad, siendo esto validado por Kip *et al.* (2006) y Ramírez (2007) quienes reportan que la incorporación de inulina afecta la viscosidad del yogurt, por tener una alta capacidad de retención de agua, actuando así como un espesante que forma complejos vía puentes de hidrógeno con las proteínas del yogurt. Los yogures elaborados presentaron una mayor viscosidad en comparación a la reportada por Staffolo *et al.* (2004) (940-980 cps) y Lubbers *et al.* (2004) (670-780 cps); e inferior a la señalada por De Oliveira *et al.* (2005) (21000 cps), Maragkoudakis *et al.* (2006) (188500-307500 cps) y Donkor *et al.* (2007) (30450-82050 cps).

#### **Sinéresis del Yogurt:**

No se observaron diferencias estadísticamente significativas, en los valores de sinéresis en las tres formulaciones (cuadro 5). En la formulación 2, no se observó este fenómeno quizás debido a la incorporación de

Maragkoudakis *et al.* (2006) (188500-307500 cps) and Donkor *et al.* (2007) (30450-82050 cps).

#### **Yogurt syneresis:**

Statistically significant differences were not observed in syneresis values in the three formulations (table 5). In formulation 2, this phenomenon was not observed perhaps because the inulin incorporation. Kip *et al.* (2006), establish that inulin is an agent with water absorption capacity, besides of acting like a thickener agent. Staffolo *et al.* (2004), noticed that this same behavior in yogurts processed with different types of fiber (apple, bamboo, wheat and inulin) to a concentration of 1.30%. Ramírez (2007) also detected that any of yogurts processed with different inulin levels showed syneresis during 21 days of refrigerated storage, probably by the capacity of water retention of this polysaccharide. This phenomenon in yogurt is so important because the exudate presence is a reject factor by consumer.

#### **Microbiological evaluation of yogurt:**

In table 6, the microbiological evaluation results carried out in yogurts 0 and 21 days of refrigerated storage are observed. All the processed yogurts fulfill with microbiological requirements established in COVENIN rule (2393:01), that in case of mildews and yeasts have to be among 10 and 100 ufc/ml and to coliforms, it has to be among 4 and 11 ufc/ml, this could be attributed to the adequate milk pasteurization, and the use of lactic ferments coming from a mother

inulina. Kip *et al.* (2006), plantean que la inulina es un agente con capacidad de absorción de agua, además de actuar como un espesante. Staffolo *et al.* (2004), notaron este mismo comportamiento en yogures elaborados con diferentes tipos de fibra (manzana, bambú, trigo e inulina) a una concentración de 1,30%. Igualmente Ramírez (2007) señaló que ninguno de los yogures elaborados con distintos niveles de inulina presentó sinéresis durante 21 días de almacenamiento refrigerado, probablemente por la capacidad de retención de agua de este polisacárido. Este fenómeno en el yogurt es de suma importancia, porque la presencia de exudado es un factor de rechazo por parte del consumidor.

### **Evaluación Microbiológica del Yogurt:**

En el cuadro 6, se observan los resultados de la evaluación microbiológica realizada en los yogures a los 0 y 21 días de almacenamiento refrigerado. Todos los yogures elaborados cumplen con los requisitos microbiológicos establecidos en la norma COVENIN (2393:01), que para el caso de mohos y levaduras debe estar entre 10 y 100 ufc/ml y para coliformes entre 4 y 11 ufc/ml, esto puede atribuirse a la adecuada pasteurización de la leche, el y al uso de fermentos lácticos provenientes de un cultivo madre, lo cual garantiza un producto de buena calidad. Por otra parte las condiciones de almacenamiento garantizaron la estabilidad microbiológica de los yogures elaborados. Los yogures formulados no presentaron coliformes totales lo que indica la adecuada calidad higiénica con que fueron elaborados. Adams y Moss

culture, which guarantee a good quality product. On the other hand, the storage conditions guarantee the microbiological stabilization of processed yogurts. The formulated yogurts did not show total coliforms which indicates its adequate hygienic quality. Adams and Moss (1997), says that coliforms microorganisms are not aciduric, so, they are not able to resist low pH and high values of lactic acid, conditions that are produced in yogurts during its storage, because the acidolactic bacteria behave like inhibitors of other microorganisms and this behavior is the base of its capacity to improve the quality and harmlessness of many harmless products, being a factor that cooperates in this, lactic acid production that takes to a decrease on pH, the nutrients exhaustion and the low redox potential. In general, fermented dairy products are free of pathogens and probiotic strains in processed yogurt seems to increase the inhibitory effect of this product on several pathogen bacteria (Berrocal *et al.*, 2002; Aryana and McGrew, 2007). In the same way, De Oliveira *et al.*, (2005), reported that there was not mildews and yeasts presence, total and fecal coliforms in yogurts during 28 storage days, because the viability of lactic bacteria protect to product of pathogen microorganisms.

### **Conclusions**

A solid yogurt with probiotic microorganisms strains and inulin can be prepared, through a simple and repeatable procedure, which even

**Cuadro 5. Valores de sinéresis en los yogures a los 21 días de almacenamiento.**

**Table 5. Yogurt syneresis values at the 21 storage days.**

Yogurt	Sinéresis (%)
F <sub>1</sub>	1,74 ± 1,60 <sup>a</sup>
F <sub>2</sub>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
F <sub>3</sub>	3,05 ± 3,36 <sup>a</sup>

Letras distintas en columnas indican diferencias estadísticamente significativas (P≤0,05)

F<sub>1</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas

F<sub>2</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas + Inulina

F<sub>3</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico (Control)

(1997), plantean que los microorganismos coliformes no son acidodúricos por lo que no resisten pH bajos y altos valores de ácido láctico, condiciones que se producen en los yogures durante su almacenamiento, debido a que las bacterias acidolácticas se comportan como inhibidoras de otros microorganismos y este comportamiento es la base de

showed a pH superior to the control, did not showed statistical differences in relation to the acidity and viscosity. During refrigerated storage, a decrease on pH and an increase on viscosity of this yogurt was observed, which seems to show that inulin affect in a significant way these variables; specifically the inulin incorporation in yogurt improved the product

**Cuadro 6. Caracterización microbiológica del Yogurt.**

**Table 6. Yogurt microbiological characterization.**

Yogurt	Días de almacenamiento	Coliformes totales (ufc/ml)	Mohos y Levaduras (ufc/ml)
F <sub>1</sub>	0	<10	<10
F <sub>2</sub>		<10	<10
F <sub>3</sub>		<10	<10
F <sub>1</sub>	21	<10	<10
F <sub>2</sub>		<10	<10
F <sub>3</sub>		<10	<10

F<sub>1</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas

F<sub>2</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico + Cepas Probióticas + Inulina

F<sub>3</sub> = Leche pasteurizada + Cultivo Láctico (Control).



su capacidad para mejorar la calidad y la inocuidad de muchos productos alimenticios, siendo algunos factores que coopera en esto, la producción de ácido láctico que conlleva a una disminución del pH, el agotamiento de nutrientes y bajo potencial redox. Por lo general los productos lácteos fermentados se encuentran libres de patógenos y las cepas prebióticas en el yogurt elaborado parecieran acentuar el efecto inhibitorio de este producto sobre algunas bacterias patógenas (Berrocal *et al.*, 2002; Aryana y McGrew, 2007). Igualmente De Oliveira *et al.*, (2005), señalaron que no hubo presencia de mohos y levaduras, coliformes totales y fecales en yogures durante 28 días de almacenamiento, debido a que la viabilidad de las bacterias lácticas protegen al producto de los microorganismos patógenos.

## Conclusiones

Se pudo elaborar un yogurt firme con cepas de microorganismos probióticos e inulina, mediante un procedimiento sencillo y repetible; el cual aunque presentó un pH mayor al control, no difirió estadísticamente de éste en cuanto a la acidez y la viscosidad. Durante el almacenamiento refrigerado, se observó una disminución en el pH y un aumento en la viscosidad de este yogurt, lo que pareciera indicar que la inulina afecta significativamente estas variables; específicamente la adición de inulina en el yogurt mejoró la viscosidad del producto, además no se apreció sinéresis durante el almacenamiento re-

frigerado del mismo; en cuanto a la acidez no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas respecto al control. Microbiológicamente el yogurt con cepas probióticos e inulina, cumplió con los requisitos establecidos en la Norma COVENIN (2393:01), al igual que el control. Por lo tanto se recomienda la elaboración de yogurt firme con cepas probióticas e inulina, porque no solo se mejorarían los efectos beneficiosos del yogurt

## Acknowledgement

Authors want to express their thanks to FUNDACITE ARAGUA, by the collaboration on development of this research.

*End of english version*

---

frigerado del mismo; en cuanto a la acidez no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas respecto al control. Microbiológicamente el yogurt con cepas probióticos e inulina, cumplió con los requisitos establecidos en la Norma COVENIN (2393:01), al igual que el control. Por lo tanto se recomienda la elaboración de yogurt firme con cepas probióticas e inulina, porque no solo se mejorarían los efectos beneficiosos del yogurt

en las personas que los ingieren, sino además algunas de sus propiedades reológicas como la viscosidad, sin presencia de sinéresis.

## Agradecimiento

Los autores expresan su reconocimiento a FUNDACITE ARAGUA, por la colaboración prestada en el desarrollo de esta investigación.

## Literatura citada

- Adams, M. y M. Moss. 1997. Microbiología de alimentos. Editorial Acribia. España. 547 p.
- Aryana, K. y P. McGrew. 2007. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. LWT – Food Sci. Technol. 40 (10):1808-1814.
- Barrante, X., D. Railey, M. Arias y C. Chaves. 2004. Evaluación del efecto de cultivos probióticos adicionados a yogurt comercial, sobre poblaciones conocidas de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7. Arch. Latin. Nutr. 54(3):293-297.
- Berrocal, D., M.L. Arias, M. Henderson y E. Wong. 2002. Evaluación de la actividad de cultivos probióticos sobre *Listeria monocytogenes* durante la producción y almacenamiento de yogurt. Arch. Latin. Nutr. 52(4):375-380.
- Blanco, S., E. Pacheco y N. Frágenas. 2006. Evaluación física y nutricional de un yogurt con frutas tropicales bajo en calorías. Rev. Fac. Agron. UCV. (32):131-144.
- Briceño, A., R. Martínez y K. García. 2001. Viabilidad y actividad de la flora láctica (*Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*) del yogurt en Venezuela. Acta Científica Venezolana. 52(1):46-54.
- Clemens, R. 2001. Redefining fiber. Food Techn. 55(2):100.
- COVENIN. Comisión venezolana de normas industriales. 2001. Norma 2393. Yogurt. Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- COVENIN. Comisión venezolana de normas industriales. 1997. Norma 658. Leche y sus derivados. Determinación de la acidez titulable (3ra. Revisión). Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- COVENIN. Comisión venezolana de normas industriales. 1997. Norma 3339. Productos lácteos. Recuento de coliformes totales. Método en placas con películas secas rehidratables de alta sensibilidad (PETRIFILM). Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- COVENIN. Comisión venezolana de normas industriales. 1993. Norma 903. Leche cruda. Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- COVENIN. Comisión venezolana de normas industriales. 1987. Norma 902. Alimentos Métodos para recuento de colonias de bacterias aerobias en placa de petri. Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- Demirer, S., S. Aydıntug, B. Aslım, I. Kepenekci, N. Sengül, O. Evirgen, D. Gerceker, M. Nalca Andrieu, C. Ulusoy y S. Karahüseynoglu. 2006. Effects of probiotics on radiation-induced intestinal injury in rats. Nutr. 22: (2):179-186.
- De Oliveira, M., R. Hernandez y S. Prudencio-Ferreira. 2005. Suplementação de iogurte de soja com frutooligosacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. Revista de Nutrição . Campinas. 18 (5):613-622.
- De Penna, E., P. Avendaño, D. Soto y A. Bunger. 2003. Caracterización fisicoquímica y sensorial de bizcochuelos enriquecidos con fibra dietética y micronutrientes

- para el anciano. Arch. Latin. Nutr. 53 (1):74-83.
- Donkor, O.N., S.L.I. Nilmini, P. Stolic, T. Vasiljevic y N.P. Shah. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. Int. Dairy J. 17(6):657-665.
- Gibson, G. y M. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. J. Nutr. 125(6):1401-1412.
- Güven, M., K. Yasar, O. Karaca y A. Hayaloglu. 2005. The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. Int. J. Dairy Technol. 58(3):180-184.
- Hardi, J. y V. Slacanac. 2000. Examination of coagulation kinetics and rheological properties of fermented milk products: The influence of starter culture, milk fat content and addition of inulin. Mijekarstvo. 50(3):217-226.
- Hekmat, S. y G. Reid. 2006. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. Nutr. Res. 163-166.
- Heller, J. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: Product characteristics and starter organisms. Am. J. Clin. Nutr. 73(Suppl.), 374S-379S.
- Kailasapathy, K. y S. Rybka. 1997. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Their therapeutic potential and survival in yoghurt. Aust. J. Dairy Technol. 52:28-35.
- Kip, P., D. Meyer y R. Jellema. 2006. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. Int. Dairy J. 16: 1098-1103.
- Kurmann, J.A. y J.L. Rasic. 1991. The health potential of products containing bifidobacteria. In R. K. Robinson (Ed.), Therapeutic properties of fermented milks. London, UK: Elsevier Applied Science. pp. 117-157.
- Lourens – Hattingh, A. y B. Viljoen. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. Int. Dairy J. 11:1-17.
- Lubbers, S., N. Decourcelle, N. Vallet y E. Guichard. 2004. Flavor release and rheology behaviour of strawberry fatfree stirred yogurt during storage. J. Agri. Food Chem. 52:3077-3082.
- Maragkoudakis, P., C. Miaris, P. Rojez, N. Manalis, F. Magkanari, G. Kalantzopoulos y E. Tsakalidou. 2006. Production of traditional Greek yoghurt using *Lactobacillus* strains with probiotic potential as starter adjuncts. Int. Dairy J. 16:52–60.
- Pérez, A. 2005. Elaboración de un yogurt firme saborizado con coco. Tesis Ing. Agr. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 80pp.
- Ramírez, A. 2007. Obtención de harinas de frutas tropicales. Utilización en productos para regímenes especiales de alimentación. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 400pp.
- Salvatierra, M., A. Molina, M. Gamboa y M. Arias. 2004. Evaluación del efecto de cultivos probióticos presentes en yogurt sobre *Staphylococcus aureus* y a la producción de termonucleasa. Arch. Latin. Nutr. 54(3):298-301.
- SAS. Statistical Analysis Systems Institute. 1989. User's guide. 4<sup>th</sup> ed. Vol 2. 846 pp.
- Schrezenmeir, J. y M. de Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics and synbiotics-Approaching a definition. Am. J. Clin. Nutr. 73(2), 361S-364S.
- Seydin, Z., G. Sarikus y O. Okur. 2005. Effect of inulin and dairy-Lo as fat replacers on the quality of set type yogurt. Milchwissenschaft. 60(1):51-55.
- Shah, N.P. 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. J. Dairy Sci. 83(4):894-907.

- Staffolo, M., N. Bertola, M. Martino y A. Bevilacqua. 2004. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *Int. Dairy J.* 14:263-268.
- Wong, D. 1995. *Química de los Alimentos. Mecanismos y Teoría.* Editorial Acribia. España. 476 pp.
- Xanthopoulos, V., N. Pedritis y N. Tzanetakis. 2001. Characterization and classification of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* strains isolated from traditional greek yogures. *J. Food Sci.* 66(5):747-752.
- Zuleta, A. y E. Sambucetti. 2001. Inulin determination for food labeling. *J. Agri. Food Chem.* 49:4570-4572.