

Caracterización de un alimento probiótico preparado con zumo de granada (*Punica granatum*)

*Characterization of a probiotic food prepared with pomegranate juice (*Punica granatum*)*

Luis P. Lugo-Salazar

Universidad Rafael Urdaneta, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química. Maracaibo, Venezuela.

 <https://www.orcid.org/0009-0000-1696-7564> | Correo electrónico: luispablolugosalazar@gmail.com

Laugeny Ch. Díaz-Borrego

Universidad Rafael Urdaneta, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química. Maracaibo, Venezuela.

Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias, Departamento de Biología. Maracaibo, Venezuela.

 <https://www.orcid.org/0000-0002-8263-081X> | Correo electrónico: laugenydiaz221172@gmail.com

Recibido: 15-09-2023 Admisión: 03-12-2023 Aceptado: 07-02-2024

Resumen

El objetivo de la presente investigación fue caracterizar un alimento probiótico tipo yogur elaborado con zumo de granada (*Punica granatum*). Para ello, se preparó un yogur con el zumo de granada incorporado, y posteriormente se determinaron sus propiedades fisicoquímicas y nutricionales, siguiendo las metodologías establecidas por la normativa COVENIN y AOAC, además de estimar su tiempo de vida útil durante su refrigeración. Como resultados, el alimento probiótico presentó acidez promedio de $9,56\% \pm 0,10$, contenido de grasas de $0,17\% \pm 0,04$ y proteínas de $5,19\% \pm 0,02$, con las siguientes características organolépticas: coloración amarillenta, separación de fases y calidad microbiológica. Como conclusión, el yogur con zumo de granada cumplió con los requerimientos fisicoquímicos, nutricionales y microbiológicos de la normativa COVENIN y exhibió un tiempo de vida útil de 21 días.

Palabras clave: *Punica granatum*, yogur, propiedades nutritivas, probiótico, vida útil.

Abstract

*The objective of this research was to characterize a yogurt-type probiotic food made with pomegranate juice (*Punica granatum*). To do this, a yogurt was prepared with the pomegranate juice incorporated, and its physicochemical and nutritional properties were subsequently determined, following the methodologies established by the COVENIN and AOAC regulations, in addition to estimating its shelf life during refrigeration. As results, the probiotic food presented average acidity of $9.56\% \pm 0.10$, fat content of $0.17\% \pm 0.04$ and proteins of $5.19\% \pm 0.02$, with the following organoleptic characteristics: coloration yellowish, phase separation and microbiological quality. In conclusion, the yogurt with pomegranate juice met the physicochemical, nutritional and microbiological requirements of the COVENIN regulations, with a shelf life of 21 days.*

Keywords: *Punica granatum*, yogurt, nutritional properties, probiotic, shelf life.

Introducción

Los diversos alimentos probióticos han mantenido un papel fundamental en la dieta del ser humano, por ser considerados una fuente de diferentes nutrientes y otorgar beneficios para la salud. Actualmente, la elaboración e innovación de estos alimentos, busca orientarse a distintos grupos de consumidores que pretenden aprovechar los diferentes beneficios que aporta. En este sentido, Aguilera *et al.*, [1] indican que éstos proporcionan un efecto beneficioso para la salud, bajo el concepto de adición, sustitución o eliminación de ciertos componentes a los alimentos habituales, con influencia positiva en el organismo en funciones fisiológicas, cardiovasculares

intestinales y psicológicas; todo ello dentro de una dieta balanceada, sana y en cantidades similares que las que se consumen con los demás alimentos.

La granada (*Punica granatum*) contiene un gran porcentaje de azúcares como la fructosa y sacarosa, además de ser una fuente de minerales como sodio, potasio, calcio, hierro, fósforo y magnesio; de vitaminas como B1, B2, C y niacina. Adicionalmente, es conocida por su alto contenido de ácidos orgánicos, como el ácido málico y el ácido cítrico, cuya versatilidad en la industria alimenticia hace que estos compuestos sean de interés para la fabricación de diferentes tipos de alimentos [2]. También se ha establecido que existen variaciones significativas en el contenido de ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, azúcares solubles, vitaminas y minerales en las granadas, dependiendo de la variedad y condiciones de cultivo [3]. Al respecto, Mekni et al. [4] reportaron variaciones en las características promológicas y bioquímicas de diferentes cultivares de granada, encontrándose en la semilla azúcares como fructosa, fructosa y arabinosa y ácidos orgánicos como ácido cítrico y ácido málico, como se mencionó anteriormente. En concordancia, Gil [5] establece que los efectos beneficiosos del zumo de granada han sido atribuidos a propiedades antioxidantes de los polifenoles derivados del ácido elágico, isómeros de la punicalagina, otros taninos hidrolizables y flavonoides como los antocianos.

Para el yogur, Rodríguez y Magro [6] establecen las dimensiones de la calidad, que motivan al consumidor para la compra del producto. Estas agrupan las características sensoriales o calidad hedónica; la calidad asociada a la salud, la cual agrupa los beneficios que el producto ofrece; la calidad asociada a la conveniencia, la cual engloba el tiempo y esfuerzo que se requieren para la compra, preparación y consumo, y la última se refiere a las características relacionadas con los diferentes procesos productivos que generen un interés al consumidor.

Por su parte, Coronel [7] en su trabajo sobre “Características fisicoquímicas y sensoriales de yogur enriquecido con quinua (*Chenopodium quinoa wild*)” obtuvo como resultado que las leches fermentadas presentaron variaciones de acidez a lo largo del proceso fermentativo y aumentó durante el proceso de almacenamiento, a la par de la disminución del pH, evidenciando una mayor sinéresis de las leches fermentadas en relación al grupo control.

En el trabajo de Alcaraz et al. [8] relacionado con el “Estudio de propiedades tecnológicas en yogurt elaborado con extracto de granada” se destaca que el yogur es una de las leches fermentadas más consumidas en el mundo por sus propiedades nutricionales, funcionales y sensoriales. Además, los yogures suplementados con extractos de granada presentaron características mejoradas de color, acidez, contenido de vitaminas y minerales, en comparación con el yogur patrón.

Por lo anteriormente expresado, la granada (*Punica granatum*), es idónea para el planteamiento que se desea llevar a cabo en esta investigación sobre la preparación de un alimento probiótico funcional tipo yogur, enriquecido con zumo de granada. El zumo de granada aporta valor agregado al yogur en cuanto a sus propiedades nutricionales y antioxidantes que son de gran importancia para satisfacer las necesidades del consumidor.

A partir de estas bases, se propone caracterizar un alimento probiótico tipo yogur elaborado con zumo de granada (*Punica granatum*) mediante análisis fisicoquímicos y nutricionales con la finalidad de determinar la calidad del alimento.

Materiales y métodos

Para el desarrollo de la investigación se siguió un enfoque cuantitativo [9], de tipo analítico [10] y de diseño experimental puro [11]. La unidad de análisis de esta investigación, estuvo representada por el alimento probiótico con la adición del zumo de granada, al cual se le practicaron los análisis fisicoquímicos, proximales, sensoriales y microbiológicos, para determinar la calidad nutricional y microbiológica del producto. Para la recolección de datos, se utilizó la observación, tanto directa como la observación documental, así como la técnica de la encuesta [12] y, en relación a la evaluación sensorial, se diseñó un cuestionario de preguntas abiertas aplicado a un panel de cinco expertos en el área de tecnología de los alimentos.

Con el propósito de cumplir con los objetivos planteados, la investigación se definió por fases que lograron que la variable fuese dimensionada y cuantificada a través de indicadores, y seguidamente del procedimiento a seguir en cada una de ellas, como se describe a continuación:

Fase I: Análisis fisicoquímicos del zumo de granada (*Punica granatum*)

Inicialmente se siguió el protocolo descrito por Pérez [13] el cual consistió en seleccionar los frutos con la maduración adecuada que presentaron color rojo-amarillento, luego se procedió al lavado y desinfección de éstos con agua y detergente, para posteriormente pasar al pelado de la corteza y el despulpado de la sección granular de la fruta. Para la obtención del zumo de granada, se mezcló la pulpa de la fruta con 100 mL de agua hasta observar total homogeneidad de la solución.

Para la caracterización fisicoquímica del zumo de granada, se siguieron los procedimientos establecidos por el Manual de Métodos Oficiales de Análisis de la AOAC [14] como se explica a continuación:

En primer lugar, para la determinación del pH se siguió el método del potenciómetro, empleando un pHmetro marca Oaklon pH 700. En segundo lugar, la determinación del porcentaje de acidez se realizó por medio de la titulación para la cuantificación del porcentaje de ácido cítrico presente en el zumo, el cual consistió en la titulación de 10 mL de la muestra con 0,1 N de NaOH, empleando fenolftaleína como indicador, expresando el resultado en porcentaje de ácido cítrico. En tercer lugar, la determinación de sólidos totales se realizó por métodos gravimétricos, las muestras de zumo de granada se desecaron en la estufa marca MEMMERT® modelo Universal Ufe-550 a $100 \pm 2^\circ\text{C}$, para luego estimar el porcentaje de sólidos totales. Por último, se procedió a la determinación de sólidos solubles de la muestra, donde se indicó el contenido de azúcares en 100 mL de solución, empleando un refractómetro marca AICHOSE® modelo SR-002BE previamente calibrado para la lectura de los grados Brix del zumo de granada.

Fase II: Preparación del alimento probiótico tipo yogur

La preparación del yogur se hizo de acuerdo a las indicaciones de Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) [15], la cual consistió en la aplicación de tratamiento térmico a una mezcla estandarizada de leche en polvo y leche descremada **a 85°C hasta homogeneizar en su totalidad**, para posteriormente dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente, agregar el cultivo iniciador comercial marca LyoPro, el cual contiene los fermentos lácticos liofilizados (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*), para posteriormente incubar la mezcla a $43\text{-}45^\circ\text{C}$ por 4-6 horas. Se estableció la culminación de la fermentación del yogur cuando se observó la formación del coágulo, el cual fue sometido a agitación mecánica en una licuadora a baja potencia marca Oster modelo GS 4655, y finalmente se añadió el zumo de granada a la mezcla. También se preparó una mezcla sin el zumo de granada, el cual sirvió como grupo control. Una vez obtenidos tanto el grupo control (yogur base) como el grupo tratamiento (alimento probiótico), por duplicado, se procedió a la estimación del peso y volumen, utilizando una balanza analítica marca Ohaus modelo AP2105 y un cilindro graduado, respectivamente.

En la Tabla 1 se muestran los ingredientes y la cantidad necesaria para obtener el yogur con las características deseadas.

Tabla 1. Listado de ingredientes para la elaboración del yogur base

Ingrediente	Cantidad
Leche descremada	1 litro
Leche en polvo	50 gramos
Cultivo iniciador	1 gramo

Con respecto al alimento probiótico, a este se le incorporó 150 mL de zumo de granada una vez obtenido el yogur base para su elaboración. En la Tabla 2 se tiene el peso y el volumen tanto del yogur base (control) como del yogur suplementado con el zumo de granada (tratamiento).

Tabla 2. Masa y volumen del alimento probiótico

	Control	Tratamiento
Masa(g)	798,159	828,555
Volumen (mL)	874	910

Fase III: Análisis fisicoquímicos del yogur con zumo de granada

Esta fase comprendió la caracterización fisicoquímica tanto del grupo control como del grupo tratamiento, de acuerdo a los procedimientos descritos por el Manual de la AOAC [14] tal como se explicó para los análisis del zumo de granada descritos en la Fase I. De tal forma que se empleó el método del potenciómetro para la medición de pH, el método de titulación para la determinación de acidez, el método del refractómetro para la determinación de sólidos solubles y el método de desecación para la determinación de sólidos totales.

Fase IV: Análisis proximal del yogur con zumo de granada

En esta fase se realizó el análisis proximal de Weende a las muestras del yogur con zumo de granada y del control, con el fin de conocer la composición nutricional del alimento, según los procedimientos especificados en el Manual de la AOAC [14], los cuales incluyeron: contenido de humedad, proteína cruda, extracto etéreo o grasas y cenizas, expresados en composición por porcentaje.

El contenido de humedad del alimento se realizó para la determinación de contenido de agua mediante la pérdida de peso del alimento, por desecación de la muestra en una estufa marca MEMMERT® modelo Universal Ufe- 550 a 110°C, hasta que el residuo sólido de la muestra mantuviera un peso constante. El porcentaje de humedad se obtuvo por el cociente del peso en gramos de la muestra y la pérdida de peso una vez terminado el proceso de desecado.

Para analizar el contenido de proteína cruda del alimento se empleó el método Kjeldahl, el cual determina el contenido de sustancias nitrogenadas presentes en la muestra. Para ello se digirió a una temperatura de 420 °C la solución conformada por la muestra, y se empleó un catalizador constituido por K_2SO_4 : $CuSO_4$: Se; H_2SO_4 concentrado y de H_2O_2 . La digestión de la muestra ocurrió hasta que la disolución adquirió un color verde esmeralda característico, se dejó enfriar, y se alcalinizó con agua destilada y una solución de NaOH 10 N, para finalmente realizar la destilación de la solución. La cuantificación de proteínas se realizó por medio de una volumetría empleando ácido clorhídrico o sulfúrico y como indicador, una disolución alcohólica de una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno.

El porcentaje de extracto etéreo se determinó por la medición de la grasa o lípidos en el alimento, a través del método de Rösse-Gottlieb, el cual emplea un disolvente orgánico para la extracción de la fracción de grasa del alimento. Para ello, se homogenizó la muestra con agua a 60°C en un tubo de extracción, y se añadió hidróxido de amonio (NH_4OH), alcohol etílico (C_2H_6O), tres gotas de fenoltaleína y de éter de petróleo, antes de centrifugar la solución a 600 rpm hasta presenciar una separación de capas. Después se transfirió una de las capas a una cápsula previamente tarada, y se agregaron dos solventes orgánicos (éter etílico y de petróleo), con la ayuda del tapón de un tubo graduado, modelo Richter. Una vez completada la extracción, se evaporó la cápsula en baño de María y se transfirió a una estufa a 102 °C \pm 1°C durante 1 hora. Una vez transcurrido el tiempo se dejó enfriar en un desecador y se pesó en la balanza analítica marca Ohaus modelo AP2105.

Por último, el análisis del contenido de cenizas del alimento se realizó por el método de incineración para determinar la fase inorgánica del alimento. Para esta prueba se carbonizó la muestra del alimento en un crisol de porcelana a 600 °C por dos horas. Una vez transcurrido el tiempo, se pesó la muestra y se obtuvo el porcentaje de cenizas mediante el cociente entre la pérdida de peso de la muestra y el peso de la muestra original.

Fase V: Tiempo de vida útil del yogur de zumo de granada

Esta fase consistió en el seguimiento de las propiedades del alimento probiótico desde el día 0 (D0) hasta el día 21 (D21) de refrigeración a temperatura de 4°C a través de la determinación de parámetros nutricionales

en relación a ciertos análisis fisicoquímicos y sensoriales, que tienden a variar en estas condiciones, y que ayudan a detectar indicios de deterioro o descomposición del alimento. Para esta parte de la metodología se consideró lo establecido en la norma COVENIN 2393-2001 [16], la cual contiene los requisitos generales de calidad del yogur.

Los análisis fisicoquímicos practicados al alimento probiótico durante el período de refrigeración fueron: determinación del pH y la acidez titulable, dado que éstos se relacionan con ciertos rasgos organolépticos del alimento, como son el aroma y el sabor, según lo sugerido por el INTI [15].

Adicionalmente, se realizó la evaluación de la calidad microbiológica del alimento, siguiendo la norma COVENIN 1126-77 [17] para la toma, identificación y preparación de muestras para análisis microbiológicos; la norma COVENIN 1337-90 [18] para el recuento de mohos y levaduras y la norma COVENIN 3006-93 [19] para el recuento de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, siendo estos microorganismos los responsables de la fermentación de la leche y de la textura del yogur [20].

Por último, se realizó un análisis sensorial del alimento probiótico, mediante un panel de catadores constituido por cinco (5) expertos en el área de tecnología de alimentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia, ubicada en Maracaibo, Venezuela. Con esta finalidad, se aplicó una encuesta que consistió en un cuestionario de preguntas abiertas con cinco (5) ítems, en el cual se evaluaron las siguientes características en el alimento: color, aroma, sabor, textura y apariencia del producto.

Análisis de los datos

Se empleó la estadística descriptiva para la presentación de datos en valores promedio y en porcentajes. Además, se comprobaron los supuestos de normalidad de los datos y se aplicó la prueba *t-student* para comparar los parámetros fisicoquímicos y nutricionales del yogurt base con los del alimento probiótico preparado con zumo de granada, empleando el paquete estadístico Statistix versión 10.

Resultados y discusión

Características fisicoquímicas del zumo de granada (*Punica granatum*)

En la Tabla 3 se presenta el perfil fisicoquímico del zumo de granada caracterizado de acuerdo al pH, acidez titulable, sólidos totales y grados Brix.

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del zumo de granada

Parámetro	Resultado	Especificaciones descritas en la literatura
pH	3,59 ± 0,01	2,2 - 5,8 (FAO, 2005)
%AC	0,24 ± 0,01	Máximo de 0,5% (FAO, 2005)
%ST	7,93 ± 0,22	-
°Brix	9,06 ± 0,17	Mínimo 12°Brix (FAO, 2005)

Leyenda: pH= Potencial de hidrógeno; %AC= Porcentaje de acidez titulable o ácido cítrico; %ST= Porcentaje de sólidos totales; °Brix= Grados Brix

En la Tabla 3 se muestra que el valor de pH del zumo de granada se mantuvo dentro del rango establecido por la FAO [21], exhibiendo pH ácido de 3,59 por la presencia del ácido cítrico, el cual es el ácido graso con mayor proporción dentro de la fruta. Con respecto al contenido de ácido cítrico, el valor de 0,24% fue mayor al obtenido por Gbarakoro, Ilomechine & Gbarato [22], para zumos de mango (0,10%) y de frutas cítricas (0,21%), por lo que el zumo de granada obtenido resulta beneficioso para la ingesta de vitaminas, el funcionamiento renal

y el sistema inmunológico; además de no sobrepasar el límite necesario para el procesamiento de néctares, el cual está estipulado en 0,5g/ml de acuerdo a la FAO [21]. Por su parte, el zumo de granada presentó un valor de 0,96° Brix el cual está por debajo de lo recomendado por la FAO [21], lo que indica un bajo contenido de azúcares en el zumo, por lo que se considera un zumo débil o acuoso. En consonancia, Raga Carreño *et al.* [23] en Venezuela, obtuvieron para el zumo de granada, valores de pH de 3,54, sólidos solubles totales de 13,3% y acidez (ácido cítrico) de 0,55 g/100 mL, con mayor contenido de azúcares que lo obtenido en el presente trabajo, lo cual puede deberse a la variedad del cultivo de granada.

Características fisicoquímicas del yogur con zumo de granada

La Tabla 4 expresa los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos por parte de los dos grupos analizados (control y tratamiento) en cuanto al pH, el porcentaje de acidez titulable, el porcentaje de sólidos totales y los grados Brix, con su respectivo análisis estadístico.

Tabla 4. Características fisicoquímicas del yogur con zumo de granada

Parámetro	Control	Tratamiento	t-estadístico	P (t≤0,05)
pH	5,91 ± 0,02	4,32 ± 0,01	127,22	0,0000618
%Acidez titulable	4,2 ± 0,08	9,56 ± 0,10	-55,32	0,00000064
%Sólidos totales	12,42 ± 1,28	14,97 ± 1,50	-1,82	0,14
Grados Brix	9,83 ± 0,17	6,83 ± 0,28	12,72	0,001

La Tabla 4 mostró que el yogur con zumo de granada acusó un descenso en cuanto al pH, en comparación al control, con diferencias significativas ($P < 0,05$), similar al valor de pH del yogur de mango con semillas de chía obtenido por Risco [24]. El pH es una característica relacionada a la alcalinidad de una solución, y esta puede disminuirse mediante la adición de ácidos como el ácido cítrico [23], siendo este uno de los ácidos más comunes presentes en los zumos de frutas, como el caso de la granada; no obstante, el alimento probiótico se mantuvo dentro del rango de pH recomendado para el yogur (entre 3,7 y 4,6) [25].

Se encontraron diferencias significativas entre el control y el tratamiento en cuanto al porcentaje de acidez, siendo mayor en yogur con zumo de granada ($P < 0,05$), esto se relaciona con la actividad metabólica de las bacterias ácido lácticas presentes en el alimento, las cuales transforman los azúcares contenidos en el zumo de granada, en ácido láctico. Esto de igual forma, se corresponde con la disminución de los grados Brix (sólidos solubles) del grupo tratamiento con respecto al control, que también presentó diferencias significativas ($P < 0,05$), puesto que este parámetro indica una relación del contenido de azúcares en una solución, tal como lo obtenido por Serna [26] al inocular diferentes jugos de frutas con bacterias ácido lácticas, registrando valores de 11,01% de acidez por encima del valor del grupo control y disminución del 22,24% de grados Brix respecto al grupo control. Sin embargo, hay que señalar que el contenido de ácido láctico del yogur con zumo de granada fue mayor al requerimiento mínimo establecido por la norma COVENIN 2393-2001 [16] del 0,7%.

Los sólidos totales no presentaron diferencias significativas entre el grupo control y el tratamiento ($P > 0,05$), pero el valor encontrado en el yogur con zumo de granada de 14,97% da cuenta de la suficiencia de minerales y vitaminas contenidos en el producto, aunque fue menor al resultado obtenido por Risco [24] en un yogur de mango enriquecido con semillas de chía, que se posicionó en 18,98%.

Propiedades nutricionales del yogur con zumo de granada

En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos por parte de los dos grupos analizados (control y tratamiento) en cuanto a las características nutricionales del producto, y su respectivo análisis estadístico.

Tabla 5. Parámetros nutricionales del yogur enriquecido con zumo de granada

Parámetro	Control	Tratamiento	t-estadístico	P ($t \leq 0,05$)
%Humedad	82,49 ± 0,43	88,47 ± 0,09	-21,90	0,002
%Extracto etéreo	1,24 ± 0,21	0,17 ± 0,04	8,54	0,01
%Cenizas	1,20 ± 0,01	1,29 ± 0,01	-11,02	0,0003
%Proteínas	3,24 ± 0,04	5,19 ± 0,02	-75,03	0,000005

El contenido de agua del alimento probiótico con zumo de granada de 88,47% reflejado por el porcentaje de humedad, fue mayor al valor obtenido por el grupo control de 82,49%, con diferencias significativas ($P < 0,05$), por lo que el agua presente en el zumo de granada contribuyó al aumento de este parámetro, lo que permite además, un ambiente propicio para el crecimiento de bacterias ácido lácticas presentes en el alimento [25].

El extracto etéreo corresponde a todos los componentes presentes en el alimento que se consideren nutrientes (ácidos grasos, colesterol, lípidos o vitaminas insolubles) [27]. Se encontraron diferencias significativas entre el yogur con zumo de granada con respecto al control ($P < 0,05$), siendo el contenido de grasas del grupo tratamiento de 0,17% menor con respecto al obtenido por el grupo control de 1,24%. De igual manera, el contenido de materia grasa del alimento probiótico se mantuvo dentro de lo establecido por la norma COVENIN 2393-2001 [16] para el yogur, la cual indica que un yogur con contenido de grasa menor al 1%, se considera un yogur semidescremado, como es el caso del yogur de zumo de granada.

El porcentaje de proteínas incluye todas las sustancias nitrogenadas contenidas en los alimentos, de alta digestibilidad en comparación con los carbohidratos [26]. El contenido de proteínas acusó diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el alimento probiótico de 5,19% con respecto al grupo control, cuyo valor fue del 3,24%; por lo tanto, el jugo de granada fue suficiente para aumentar el contenido proteico del alimento probiótico, proporcionando una fuente de proteínas para el consumidor, incluso con un valor mayor al reportado por Risco [24] de 3,92%. Por otro lado, el contenido de proteínas del yogur con zumo de granada se mantuvo dentro de lo estipulado en la norma COVENIN 2393-2001 [16] la cual establece un valor mayor de 3%, por lo que este alimento probiótico enriquecido con zumo de granada se puede considerar una fuente proteica asequible y de bajo costo de fabricación [27].

El contenido de cenizas, el cual representa los residuos inorgánicos contenidos en el alimento (principalmente minerales), fue mayor en el grupo tratamiento de 1,29% en relación al grupo control con 1,20%, y con diferencias significativas ($P < 0,05$). Este se mantuvo por encima de la cantidad mínima recomendada por Sánchez y Mendieta [27] de 0,7% de cenizas, por lo que el alimento probiótico enriquecido con zumo de granada constituye una buena fuente de minerales beneficiosos para la salud.

Tiempo de vida útil del yogur con zumo de granada

En la Tabla 6 se presentan las variaciones de los parámetros fisicoquímicos evaluados durante el tiempo de refrigeración del producto.

Tabla 6. Valores de pH y acidez del yogur enriquecido con zumo de granada durante la refrigeración

Día de refrigeración	pH	Acidez	t-estadístico	P ($t \leq 0,05$)
D0	4,33 ± 0,01	9,57 ± 0,10	72,74	0,00009
D21	3,91 ± 0,01	10,43 ± 0,11	-12,99	0,002

El análisis estadístico reveló diferencias significativas ($P < 0,05$) en los valores de pH y acidez del alimento probiótico enriquecido con zumo de granada al inicio y final del período de refrigeración, pautado en 21 días. Al tratarse de características relacionadas con las reacciones bioquímicas de las bacterias ácido lácticas, éstas

mantienen su actividad metabólica durante el proceso de refrigeración; siendo responsables del aumento de acidez titulable (% ácido láctico) en el alimento hacia el día 21 de refrigeración con el 10,43%, valor que se mantuvo dentro de lo aceptado por la norma COVENIN 2393-2001 [16]. Paralelamente al aumento de ácido láctico, se observó una disminución del pH del alimento probiótico hacia el día 21 de refrigeración, con pH de 3,91 el cual de igual forma, se ajustó al rango recomendado para el yogur según lo estipulado por el INTI [15].

En la Tabla 7 se pueden observar los resultados de los análisis microbiológicos practicados los días D0 y D21, expresados en UFC/gr.

Tabla 7. Análisis microbiológico del grupo tratamiento durante la refrigeración

	D0	D21
Mohos y levaduras (UFC/gr)	23	<10
<i>Lactobacillus</i> (UFC/gr)	Ausente	Ausente

La normativa oficial para el yogur (COVENIN 2393-2001) [16], establece que el contenido de mohos y levaduras debe estar comprendido entre 10 y 10² (UFC/g), por lo que el alimento probiótico de zumo de granada cumplió con lo indicado en la misma, tanto al inicio como al final del período de refrigeración. Es conveniente resaltar que después de la refrigeración el alimento presentó <10 UFC/g de mohos y levaduras; lo que indica que en estas condiciones se inhibe el crecimiento de estos microorganismos, haciendo del alimento un producto inocuo y apto para el consumo humano.

Con respecto a los *Lactobacillus*, hubo ausencia de estos tanto al inicio como al final de la refrigeración; lo cual es significativo si se considera que el mínimo requerido de esta bacteria según la norma debe ser mayor a 10⁶ UFC/g [16], por lo que se presume que en el cultivo iniciador su población fue baja en relación a la de otras bacterias ácido lácticas. Es probable que el aumento de la acidez evidenciada en el alimento probiótico se deba a la acción de otras bacterias ácido lácticas como *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* presentes en el cultivo iniciador y en el zumo de la granada, las cuales contribuyeron a la fermentación de la leche y a la textura del producto. En relación a lo anterior, se ha reportado que los extractos de granada estimulan el crecimiento de bacterias probióticas como *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus* spp. [28]. Como respaldo a los resultados de los análisis microbiológicos, se observó que el alimento probiótico presentó una calidad microbiológica aceptable, dado que cumple con lo pautado por la norma COVENIN 2393-2001 [16].

El estudio realizado por Risco [24] determinó el tiempo de vida útil del yogur mediante el seguimiento de pH durante su refrigeración, pues se considera una característica relevante por su efecto en el perfil organoléptico del producto, con valores de pH recomendados entre 3,7 y 4,6 [16], tal como el pH obtenido para el yogur con zumo de granada. Por su parte, Castro [29] afirma que el yogur mantiene sus especificaciones hasta 35 días después de su refrigeración.

En la Tabla 8 se observan los resultados de los análisis sensoriales practicados al alimento probiótico por parte del panel de catadores:

Tabla 8. Resultados de las pruebas sensoriales del alimento probiótico con zumo de granada al D0 y D21

	D0	D21
Color	Amarillento	Amarillento
Aroma	Asociado al proceso de fermentación	Asociado al proceso de fermentación
Sabor	Ligeramente ácido	Ligeramente ácido
Textura	Heterogénea	Heterogénea
Apariencia	Líquida/Grumosa/Separación de fases	Líquida/Grumosa/Separación de fases

A simple vista, los análisis sensoriales no arrojaron cambios entre los atributos evaluados durante la refrigeración del producto, además de no percibir signos de deterioro o descomposición del alimento durante ésta.

Como se puede observar, en la Tabla 8 se reflejan algunas características que se relacionan con la estética del producto. En el caso del color, el alimento probiótico presentó una tonalidad amarilla; lo cual es característico si se considera que el yogur regularmente presenta un color blanquecino; sin embargo, es importante mencionar que la adición del zumo de granada pudo afectar la coloración del producto, tal como lo obtenido por Alcaraz *et al.* [8] con yogur enriquecido con extractos de granada a diferentes concentraciones. En cuanto a la apariencia, el alimento presentó una separación de fases entre una fase líquida y una fase grumosa, algo inusual considerando que la apariencia del yogur estándar tiende a ser homogénea [30].

En cuanto al sabor del alimento probiótico, este presentó un ligero sabor ácido tanto al D0 como el D21, lo cual es aceptable si se considera que el sabor de un yogur puede ser ligera o medianamente ácido, esto además de la acidez adicional que aporta el zumo de granada producto, lo cual fue demostrado en los valores reportados de acidez titulable. Por su parte, la textura del alimento probiótico se mantuvo constante durante su refrigeración, presentando una consistencia heterogénea y viscosa, propia de los yogures naturales. En cuanto al aroma, este presentó un olor característico al proceso de fermentación, lo cual se puede considerar idóneo, tomando en cuenta que la fermentación es el proceso principal para la obtención del yogur. Debido a las características sensoriales exhibidas por el yogur artesanal producido en esta investigación, el tiempo de vida útil del producto es menor a los 21 días, tal como lo refiere el INTI [15] que es de una semana.

Conclusiones

De forma general, el zumo de granada es considerado un zumo acuoso o débil por la alta presencia de agua, con baja cantidad de azúcares y rangos de pH y acidez dentro de lo establecido por las normas, por lo que presenta propiedades adecuadas para su empleo como materia prima para el enriquecimiento del alimento probiótico.

El yogur enriquecido con zumo de granada (*Punica granatum*) presenta características fisicoquímicas ajustadas a las normas, y con diferencias con respecto al control. La presencia de ácido cítrico en el zumo de granada ocasiona la disminución del pH del yogur base; además, los azúcares presentes en el zumo de granada constituyen una fuente de nutrientes para las bacterias ácido lácticas, las cuales contribuyen al aumento de ácido láctico en el alimento probiótico tras la fermentación, lo cual a su vez fue concomitante con la disminución de los azúcares presentes en el alimento.

En el yogurt de zumo de granada la disminución del pH y aumento de acidez, se relaciona con la actividad metabólica de las bacterias ácido lácticas, que fomentan la continua producción de ácido láctico aún durante la refrigeración del producto. Adicionalmente, el alimento elaborado cuenta con la calidad microbiológica exigida por las normas, con recuentos bajos de mohos y levaduras. La ausencia de *Lactobacillus* en el alimento permite suponer que se encontraba en recuentos muy bajos en el cultivo iniciador; sin embargo, otras bacterias lácticas presentes en el fermento y en el zumo de granada, pudieron contribuir a la producción de ácido láctico durante la fermentación de la leche.

Se infiere que el alimento probiótico posee un tiempo de vida útil menor de 21 días, lo cual se corresponde con lo establecido en otros trabajos. Por otro lado, los parámetros sensoriales de olor, sabor y textura durante el período de refrigeración, dieron cuenta de un producto de tonalidad amarillenta y con separación de fases, lo cual puede comprometer la estética del producto.

El yogur con zumo de granada presentó calidad nutricional apropiada para su consumo, siendo este una fuente asequible de proteínas, de minerales y grasas saludables compatibles con los valores recomendados por las normas.

Referencias

- [1] C. Aguilera et al. *Alimentos funcionales. Aproximación a una nueva alimentación*. Madrid, España: Instituto de Nutrición y Trastornos Alimentarios, 2007.
- [2] C. García-Viguera y A. Pérez. “La granada: Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías”. *ANS*, Vol. 11, No. 4, pp.113-120, 2004.
- [3] F. Tezcan., M. Gultekin-Ozguven., T. Diken., B. Ozcelik, and F.B. Erim. “Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices”. *Food Chemistry*, Vol. 115, No 3, pp.873-877, 2009. [En Línea]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.103>
- [4] M. Mekni., W. Kharroubi., I. Cheraief and M. Hammami. “Promological, organoleptic and biochemical characterizations of Tunisian pomegranate fruits (*Punica granatum L.*)”. *American Jour of Plant Sciences*, Vol.10, No.7, pp. 1181-1195, 2019.
- [5] M. I. Gil., F. A. Tomás-Barberán., B. Hess-Pierce., D. M. Holcroft., and A. A. Kader. “Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing”. *Jour of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 48, No. 10, pp. 4581–4589, 2000.
- [6] V. Rodríguez y E. Magro. *Bases de la alimentación humana*. La Coruña, España: Editorial Netbiblio, 2008.
- [7] M. Coronel. “Estudios de las características físico-químicas y sensoriales de yogur enriquecido con quinoa (*Chenopodium quinoa*)”, tesis Doctoral, Univ. de Extremadura, Extremadura- España, 2018.
- [8] A. Alcaraz., D. Álvarez y M. B. López. “Estudio de propiedades tecnológicas en yogurt elaborado con extracto de granada”. *Anales de Veterinaria de Murcia*, Tomo. 33, pp.61-62, 2017.
- [9] R. Hernández., C. Fernández y P. Baptista. *Metodología de la investigación*. 6ta Edición. Distrito Federal, México: McGraw Hill, 2014.
- [10] J. Hurtado. *Metodología de investigación holística*. 3era Edición. Caracas, Venezuela: Fundación SYPAL, 2000.
- [11] C. Monje. *Metodología de la investigación cuantitativa y cualitativa Guía didáctica*. Colombia: Editorial Huila, 2011.
- [12] C. Sabino. *El proceso de investigación*. 3era Edición. Caracas, Vzla.: Editorial Panopo. Caracas, Venezuela. 1992.
- [13] A. Pérez. “Elaboración de pulpas, zumos, deshidratados, osmodeshidratados y fruta confitada”. [Documento de Curso], Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú, 2015. [En Línea]. Disponible en: <http://www.lamolina.edu.pe/postgrado/pmdas/cursos/dpactl/lecturas/Separata%20Pulpas%20n%C3%A8ctares,%20merm%20desh,%20osmodes%20y%20fruta%20confitada.pdf>
- [14] Association of Official Analytical Chemists, “Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs” en *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, Edición 15. Ed. Helrich, Kenneth, Vol. 1, Arlington, USA: The Association, 1990.
- [15] A. Zielinski, et al., Elaboración artesanal de yogur: cuadernillo para unidades de producción: apoyo al trabajo popular. San Martín: Inst. Nacional de Tecnología Industrial - INTI, 2013. [En Línea]. Disponible en: <https://plataformaiesthquando.com/wp-content/uploads/2023/02/Elaboracion-artesanal-de-yogurt.pdf>
- [16] Yogurt (3era Revisión), Norma Venezolana COVENIN 2393:2001, Caracas, Venezuela: Fondonorma, 2001.
- [17] Toma, identificación y preparación de muestras para análisis microbiológicos (2da Revisión). Norma Venezolana COVENIN 1126-2022, Caracas, Venezuela: Fondonorma, 2022.

- [18] Alimentos. Método de recuento de mohos y levaduras. Norma Venezolana COVENIN 1337-90, Caracas, Venezuela: Fondonorma, 1990.
- [19] Alimentos. Recuento de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Norma Venezolana COVENIN 3006-93, Caracas, Venezuela: Fondonorma, 1993.
- [20] B. Salazar y O. Montoya. “Importancia de los probióticos y prebióticos en la salud humana”. *VITAE, Revista de la Facultad de Química y Farmacéutica*. Vol. 10, No. 2, 20-26, 2003.
- [21] Norma general para zumos (jugos) y néctares de frutas, CXS 247-2005, Normas Internacionales de Alimentos, Comisión del Codex Alimentarius, FAO, OMS, 2005. [En línea]. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B247-2005%252FCXS_247s.pdf
- [22] S. Gbarakoro., A. Ilomechine., and B. Gbarato. “Analysis of the Physico-chemical properties of commercial fruit juices sold in a local market in the Port Harcourt, Nigeria”. *International Jour of Chemistry and Chemical Process*, Vol. 6, No. 1, pp.37-46, 2020.
- [23] J. Raga Carreño., Z. Mármol Pérez., Z. Pérez Pérez, K. Araujo y G. Páez. “Evaluación fisicoquímica y fitoquímica de granada (*Punica granatum* L.)”. *Tecnocientífica URU*, Núm. 8 Enero-Junio, pp. 47-55, 2015. [En línea]. Disponible en: <https://revistas.fondoeditorial.uru.edu/index.php/tecnocientificauru/article/view/ragamarmolperezpaezaraujon8a15>
- [24] J. Risco. “Elaboración y caracterización de yogurt a partir de leche de cabra (*Capra hircus*) edulcorado con estevia (*Stevia rebaudiana bertonii*), frutado con mango (*Mangifera indica* cv. Kent) y enriquecido con semillas de chía (*Salvia hispanica*)”, Trabajo de fin de grado. Univ. de Piura. Piura, Perú, 2015.
- [25] A. Morejon, y A. Viznay. “Control microbiológico y determinación de pH, acidez y grados Brix de jugos expendidos en los espacios públicos de la ciudad de Cuenca-Ecuador”, Trabajo de fin de grado, Univ. de Cuenca. Cuenca, Ecuador, 2018.
- [26] J. Serna. “Elaboración de jugo de frutas con adición de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico”, Tesis de Maestría. Univ. La Sabana. Chía, Colombia, 2012.
- [27] N. Sánchez y B. Mendieta. Determinación del valor nutritivo de los alimentos. Managua, Nicaragua, 2020. [En Línea]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/35166784.pdf>
- [28] V. Sorrenti et al. “Beneficial effects of promegenate peel extract and probiotics on pre-adipocyte differentiation”. *Front. Microbiol.* Vol. 10, Art. 660, pp.1-11, 2019.
- [29] K. Castro. *Tecnología de alimentos*. Editorial Ediciones de la U. Bogotá, Colombia, 2011.
- [30] J. Martínez. “Características Organolépticas del Yogurt”. [Documento en Scribd], 2015. Disponible en: <https://www.scribd.com/document/287167038/Caracteristicas-Organolepticas-Del-Yogurt>