

**DESARROLLO AREQUIPE CON FIBRA Y CULTIVOS PROBIÓTICOS**

**GYNNA LYCSETH ANGARITA ALDANA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
ESPECIALIZACION EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA INTERFACULTADES  
BOGOTA, D.C.  
2009**

**DESARROLLO AREQUIPE CON FIBRA Y CULTIVOS PROBIÓTICOS**

**GYNNA LYCSETH ANGARITA ALDANA**

**01107399**

Trabajo de grado para optar al título de Especialista en Ciencia y Tecnología de  
Alimentos

**DIRIGIDO POR:**

**CARLOS FERNANDO NOVOA CASTRO**

Profesor Asociado

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

**ESPECIALIZACION EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**PROGRAMA INTERFACULTADES**

**BOGOTA, D.C.**

**2009**

## TABLA DE CONTENIDO

	pág.
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>12</b>
<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	<b>14</b>
1.1.DULCE DE LECHE	14
1.2.MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS	19
1.3.INULINA	23
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>27</b>
2.1.OBJETIVO GENERAL	27
2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>28</b>
3.1.MATERIAS PRIMAS	28
3.2.EQUIPOS	28
3.2.1. Equipos de laboratorio	28
3.2.2. Equipos de planta piloto	28
3.3.METODOLOGÍA	29
3.3.1. Preparación de dulce de leche	29
3.3.2. Análisis sensorial	29
3.3.3. Análisis fisicoquímico	30
3.3.4. Análisis microbiológico	31
3.3.5. Diseño experimental	31
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>32</b>

<b>4.1. CURVA DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA</b>	<b>32</b>
<b>4.2. MATERIA PRIMA Y RENDIMIENTO</b>	<b>34</b>
<b>4.3. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL DULCE DE LECHE</b>	<b>36</b>
<b>4.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE DULCE DE LECHE</b>	<b>37</b>
<b>4.5. ANÁLISIS SENSORIAL DE DULCE DE LECHE</b>	<b>41</b>
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>44</b>
<b>6. RECOMENDACIONES</b>	<b>45</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>46</b>
<b>ÍNDICES</b>	<b>49</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>53</b>

## **AGRADECIMIENTOS**

Hugo Antonio Parada Sánchez

Carolina Parra

por su colaboración y dedicación en el desarrollo de este proyecto

A mis padres, hermano y amigos

por su apoyo incondicional

Carlos Andrés Montenegro

por animarme siempre para continuar

## RESUMEN

### DESARROLLO AREQUIPE CON FIBRA Y CULTIVOS PROBIÓTICOS

Una de las áreas de investigación más importantes dentro del mundo de los alimentos funcionales es la relacionada con la leche y los productos lácteos, ligada a los microorganismos probióticos y la fibra, esto ha permitido reconocer los efectos beneficiosos sobre la salud y la nutrición humanas.

Este trabajo evaluó la adición de fibra y cultivos probióticos en un dulce de leche. Se evaluaron dos niveles de adición de inulina 3,2 %m/m y 6,4% m/m y la viabilidad de dos cepas de bacterias probióticas *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium lactis*.

Los resultados obtenidos mostraron que el producto que presentó las mejores características sensoriales fue el adicionado con 3,2% m/m de inulina, con un aporte de 5,64% del requerimiento diario de fibra y por lo tanto no se clasifica como fuente de fibra. El dulce de leche adicionado con 6,4% m/m de inulina puede considerarse fuente de fibra, pues la porción aporta el 11,28% del requerimiento diario, sin embargo este producto no presenta buenas características sensoriales.

La adición de cultivos probióticos no afecta la textura ni el flavor del producto y se observan mejores resultados con el cultivo de *Bifidobacterium lactis* en el cual se reportan valores de  $10^6$  UFC/g al inicio y al final del almacenamiento (30 días).

**PALABRAS CLAVE:** Fibra, Probióticos, Inulina, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium lactis*, dulce de leche.

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT OF “AREQUIPE” WITH FIBER AND PROBIOTICS

One of the most important areas of researching in the world of functional food is related with milk and its derivatives; in addition, it is related with probiotic microorganisms and fiber, because of the positive effects in the human health and nutrition.

This research work evaluated the addition of fiber and probiotics in “dulce de leche”. There were two levels of addition of inulin evaluated 3,2% m/m and 6,4% m/m and the viability of two strains of probiotic bacteria *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium lactis*.

The results obtained showed that the product with better sensorial characteristics was the one with inulin addition of 3,2% m/m, with a report of 5,64% of the daily requirement of fiber and as a result it is not classified as a food source of dietary fiber. “El dulce de leche” added with 6,4% m/m of inulin can be considered like a source of fiber, due to the portion contributes 11,28% of the daily requirement, however this product does not present good sensorial characteristics.

The addition of probiotics does not affect the texture and flavor of the product and better results are observed with the cultivation of *Bifidobacterium lactis* in which values are reported from  $10^6$  UFC/g to the beginning and the end of the storage (30 days).

**KEY WORDS:** Fiber, probiotics, inulin, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium lactis*, “dulce de leche”.

## INTRODUCCIÓN

Cada día aumenta la búsqueda de beneficios en los alimentos que contribuyan a mejorar la salud, por tal motivo los consumidores se preocupan por adquirir productos alimenticios que proporcionen ventajas nutricionales y beneficien la salud humana, estos alimentos se denominan alimentos funcionales y actualmente toman fuerza en la dieta diaria de la población.

Según Patiño (1) una de las áreas de investigación más importantes dentro del mundo de los alimentos funcionales es la relacionada con la leche y los productos lácteos, que a su vez está ligada a los probióticos y en muchos otros casos a la fibra.

Los probióticos son microorganismos vivos que proporcionan efectos benéficos sobre la flora intestinal y se les atribuyen papeles importantes en las funciones inmunitarias, digestivas y respiratorias y de balance microbiológico, además juegan un papel importante en la prevención de enfermedades, lo que permite que alimentos adicionados con estos hagan parte de la dieta diaria de personas sanas.

Se ha determinado que los probióticos contribuyen a disminuir la concentración de sustancias potencialmente cancerígenas en el intestino, y a estimular la capacidad inmunológica del huésped (2).

Otro de los actores en los alimentos funcionales es la fibra, se considera que por definición las fibras dietarias no son digeridas por las enzimas de los mamíferos, de los animales monogástricos. Por lo tanto, ellas transitan por el intestino y sirven como ayudantes de la digestión.



Se propuso elaborar un dulce de leche adicionado con microorganismos probióticos y fibra realizando la caracterización correspondiente con respecto a aspectos fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos, para asegurar la calidad del producto obtenido, el tiempo de almacenamiento y la concentración de la fibra. En la parte microbiológica se realizó el recuento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* comprobando la viabilidad de estos en un derivado lácteo como el dulce de leche que tiene baja actividad acuosa lo cual podría alterar la actividad y supervivencia de los microorganismos probióticos.

## JUSTIFICACIÓN

La demanda de los alimentos funcionales ha llevado a la industria alimenticia a preocuparse por la producción, elaboración e investigación de este tipo de alimentos, diferentes estudios han permitido reconocer los efectos beneficiosos de los probióticos y la fibra sobre la salud y la nutrición humanas.

Los microorganismos probióticos aparecen en el tracto gastrointestinal del hombre desde etapas tempranas de la vida, pero al pasar el tiempo y debido a factores como la edad, la dieta, el ambiente, el estrés y la medicación, descienden a cantidades que pueden llegar a ser muy pequeñas lo cual puede favorecer el crecimiento de bacterias patógenas. El consumo de alimentos adicionados con probióticos permiten que estos se conserven en número o vuelvan a alcanzar niveles importantes en el intestino, de esta forma el hospedero puede experimentar una serie de beneficios como el mejoramiento de la tolerancia a la lactosa, acción contra bacterias patógenas y el mejoramiento de la respuesta inmune, reducción del colesterol sanguíneo y una mejor respuesta antitumoral (3).

Por otra parte, el uso de la inulina o sus derivados para cumplir funciones tecnológicas, simultáneamente aporta beneficios a la salud, el primero de ellos es su función de fibra dietética, con los efectos fisiológicos atribuibles a este tipo de compuestos, como son la disminución de los niveles lipídicos y glucosa en sangre y la acción laxante. Otro beneficio comprobado ligado al anterior, es la capacidad de la inulina de modular la flora intestinal, esto se debe a su efecto prebiótico (4).

Las bebidas lácteas, yogurt, leches fermentadas, quesos, han sido adicionados con probióticos y en otros casos con fibra, sin embargo no se encuentran

reportes acerca del estudio de dulce de leche como alimento funcional, con base en esto el presente proyecto elaboró un dulce de leche adicionado con probióticos y con fibra (inulina) la cual puede actuar como prebiótico, generando un producto alimenticio funcional apto y de interés para una gran cantidad de población, debido a las características sensoriales.

## **1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1. DULCE DE LECHE**

A partir de la leche fresca se elaboran distintos derivados, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en el mercado: quesos, yogurt, mantequilla, crema, dulce de leche entre muchos otros.

Los dulces de leche son definidos como los productos lácteos obtenidos por concentración de sus ingredientes (pérdida de agua) a través del calor aplicado a la leche que previamente ha sido mezclada con el azúcar. En algunos dulces de leche es deseable una coloración marrón denominada pardeamiento enzimático, producida por la reacción de Maillard. (5)

En este proyecto se hace referencia al dulce de leche, conocido en Colombia como arequipe, La Norma Técnica Colombiana 3757 (6) define el dulce de leche como el producto higienizado obtenido por la concentración térmica de una mezcla de leche, sacarosa u otros edulcorantes y aditivos permitidos por la legislación nacional vigente.

El dulce de leche es un producto que se caracteriza por su color, este se asocia a la reacción de Maillard y a la caramelización de la sacarosa. La presencia de caseína y lactalbúmina favorecen la reacción de Maillard. En la elaboración de arequipe en Colombia se utiliza bicarbonato de sodio que sirve para neutralizar parte de la acidez de la leche, evitando que esta precipite con el calor, y a la vez favorece la reacción de Maillard.

**Tabla 1.** Clasificación de dulce de leche, según NTC 3757 (6)

<b>Tipo de dulce de leche</b>	<b>Descripción (NTC 3757)</b>
Arequipe o dulce de leche	Es el producto higienizado obtenido por la concentración térmica de una mezcla de leche, sacarosa u otros edulcorantes y aditivos permitidos por la legislación nacional vigente.
Arequipe o dulce de leche de bajo contenido calórico	Es el producto higienizado obtenido por la concentración térmica de una mezcla de leche, al cual se le han modificado sus ingredientes con el fin de obtener una disminución calórica de acuerdo con lo establecido en la legislación nacional vigente para productos de bajo contenido calórico.
Manjar blanco	Es el producto higienizado obtenido por la concentración térmica de una mezcla de leche, sacarosa u otros edulcorantes con el agregado de harina o almidones y aditivos permitidos por la legislación nacional vigente
Manjar blanco de bajo contenido calórico	Es el producto higienizado obtenido por la concentración térmica de una mezcla de leche, con el agregado de harina o almidones. A este producto se le han modificado sus ingredientes con el fin de obtener una disminución calórica.

La leche utilizada para la elaboración de arequipe debe ser de óptima calidad, con un grado de acidez no mayor a 0,17% (expresada como ácido láctico), ya que una acidez mayor puede presentar precipitación de la proteína y da al producto una apariencia cortada, sin brillo y no homogénea (7).

A nivel industrial en la elaboración de arequipe se realiza una operación de hidrólisis de la lactosa en la leche empleada, consiste en adicionar la enzima  $\beta$ -galactosidasa para degradar la lactosa dejándola en incubación a 37 – 40°C durante el tiempo necesario para alcanzar el porcentaje de hidrólisis deseado (recomendado el 40%), este proceso para obtener leche deslactosada permite obtener mejores resultados al contener una baja concentración de lactosa, componente que por su baja solubilidad y la posibilidad que tiene de formar cristales grandes genera una sensación de “arenosidad” al consumir el producto. (5) La leche hidrolizada es más dulce y pardea más rápidamente por lo que es necesario disminuir la dosis de azúcar y neutralizante (7).

En la elaboración de arequipe, las materias primas se someten a temperaturas sobre los 100° C por más de una hora, lo que hace innecesario una pasteurización previa. Al iniciar el proceso, la mezcla tiene una concentración de sólidos solubles cercana al 20-35%; a medida que se produce la evaporación se va incrementando este valor hasta llegar aproximadamente a 70° Brix, lo que indica el punto final de la evaporación (7).

En el empaque del arequipe, no es conveniente enfriar a menos de 60° C ya que esto aumentaría demasiado la viscosidad, lo cual dificulta las operaciones de empaque y aumenta los riesgos de contaminación durante ésta operación (7).

La composición del dulce de leche presenta variaciones según el país, algunas de estas se presentan en la tabla 2.

**Tabla 2.** Composición química del dulce de leche

	<b>Instituto de Nutrición de Centroamerica y Panamá* contenido en 100 g de alimento</b>	<b>Perú** (contenido en 100 g de alimento)</b>	<b>Colombia ***(en 100 g de parte comestible)</b>	<b>Arequipe Comercial**** (en 100 g de parte comestible)</b>
Agua	2,00g	21,4 g	Humedad 9,8 g	No reporta
Energía	392,00Kcal	333 Kcal	No disponible	320 KCal
Proteína	0,10 g	7,2 g	No disponible	8,0 g
Grasa	2,80 g	6,7 g	No disponible	8,0 g
Carbohidratos	94,90 g	62,8 g	No disponible	58,0 g
Fibra Dietaria Total	No reporta	0,0 g	No disponible	0,0 g
Ceniza	0,20 g	1,9 g	1,40 g	No reporta
Calcio	14,00 mg	No reporta	No reporta	5 g
Fósforo	10,00 mg	No reporta	No reporta	No reporta
Sodio	No reporta	No reporta	No reporta	120 mg
Hierro	2,10 mg	No reporta	No reporta	0 g
Tiamina	0,02 mg	No reporta	No reporta	No reporta
Riboflavina	0,01 mg	No reporta	No reporta	No reporta
Niacina	0,77 mg	No reporta	No reporta	No reporta
Vitamina C	4,00 mg	No reporta	No reporta	No reporta

\*Tabla de Composición de Alimentos. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

\*\* Tabla de Composición de Alimentos del Perú. Alimento: Manjar Blanco. Dulce de leche entera

\*\*\* Tabla de Composición de Alimentos Colombianos. ICBF.

\*\*\*\* Venezuela, Ecuador, Colombia

Con respecto a las investigaciones que se han realizado acerca del dulce de leche, se han determinado las características fisicoquímicas, características sensoriales, tiempo de almacenamiento e integración en el mercado.

Entre los estudios sensoriales del arequipe se encuentra el trabajo Sensory Shelf Life of Dulce de Leche (8), en el que se determinó al tiempo óptimo de almacenamiento en relación a los cambios sensoriales del producto y a la temperatura de almacenamiento. Las características sensoriales analizadas fueron el sabor (plástico, cocido, metálico, óxido), cambios de color. Se concluye que el empaque puede generar un sabor a plástico en el producto y el contenido de grasa puede generar sabor a óxido por lo tanto son puntos sensoriales críticos durante el almacenamiento. Con respecto a las

temperaturas de almacenamiento se encontró que una temperatura de 25°C permite un tiempo de almacenamiento del producto de 109 días sin que se vean afectadas las características sensoriales evaluadas. A medida que aumenta la temperatura el tiempo de vida útil del producto se ve reducido (37°C, 53 días - 45°C, 9 días).

A nivel local se encuentra el trabajo de García, N. (9) quien desarrolló y evaluó tres formulaciones de arequipe con diferentes contenidos de sacarosa (9%, 12%, 15%). Se observó la influencia de la concentración de sacarosa en la mezcla inicial sobre las características sensoriales de apariencia y color, aroma, sabor, cuerpo y textura en los productos obtenidos. Se realizaron determinaciones de contenido de humedad, porcentaje de materia grasa, concentración de sólidos solubles, contenido de proteína y pH a las muestras de arequipe de cada formulación. Con el análisis sensorial se determinó que las formulaciones de mejor aceptación fueron las de 12% y 15%.

Determinando el comportamiento reológico del producto arequipe con concentración media de sacarosa se concluye que este es un fluido pseudoplástico. Por medio de la observación se notó que los productos de concentración media no presentaban cristales que se pudieran percibir en forma visual o táctil al paladar. El arequipe de baja concentración de sacarosa, no presentaba la consistencia y apariencia adecuada, formaron grumos que aunque no se percibían en la boca, afectaban desfavorablemente su apariencia. El rendimiento de los productos fue proporcional a la concentración de sacarosa en la mezcla inicial.

Por otra parte se encuentran los estudios de mercado, en el artículo *Reconversion of the agricultural enterprises: vertical integration in milk: alternative of production, industrialization and sale of dulce de leche (sweet milk dessert)* (10) se describe la integración vertical como una alternativa válida para la mejora de la rentabilidad en el sector agropecuario. Para el caso del sector



lácteo, se estudio el mercado interno, la cadena comercial y se enumeraron alternativas para dicha integración, seleccionando la producción, industrialización y venta a mayoristas y minoristas de dulce de leche.

## **1.2. MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS**

Los alimentos funcionales son considerados como alimentos que promueven la salud o previenen enfermedades, más allá de su usual valor nutricional. Actualmente se han convertido en productos de la canasta familiar, debido a las características atribuidas para mejorar y cuidar la salud, especialmente en personas con enfermedades crónico-degenerativas. (11)

Los microorganismos probióticos aparecen en el tracto gastrointestinal del hombre desde etapas tempranas de la vida, pero al pasar el tiempo y debido a factores como la edad, la dieta, el ambiente, el estrés y la medicación, descienden a cantidades que pueden llegar a ser muy pequeñas lo cual puede favorecer el crecimiento de bacterias patógenas (3).

Cuando se logra que los probióticos se conserven en número o vuelvan a alcanzar niveles importantes en el intestino, el hospedero puede experimentar una serie de beneficios como el mejoramiento de la tolerancia a la lactosa, acción contra bacterias patógenas y el mejoramiento de la respuesta inmune, reducción del colesterol sanguíneo y una mejor respuesta antitumoral. Cabe destacar, que los beneficios citados anteriormente, no son generales de todos los probióticos sino de cepas específicas (3).

Las cepas utilizadas pertenecen, en su mayoría, a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que son comensales humanos han sido aplicados históricamente de forma segura en la fermentación de alimentos. (12)

En el desarrollo de este proyecto intervienen dos factores de gran importancia, los microorganismos probióticos y la fibra, que están siendo ampliamente utilizados en diferentes alimentos, especialmente en derivados lácteos (bebidas, quesos y yogurt).

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) redefinió los probióticos (13), como microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al hospedero un beneficio para la salud. Entre los *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* que son probióticos se encuentran cepas determinadas como el *Bifidobacterium longum*, *B. lactis*, *B. infantis*, *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. plantarum* y *L. delbruecki ssp. bulgaricus*. (3)

Se considera que los microorganismos probióticos utilizados en los alimentos deben ser capaces no sólo de sobrevivir al paso por el aparato digestivo, sino también de proliferar en el intestino. Esto significa que deberían ser resistentes a los jugos gástricos y poder crecer en presencia de bilis, en las condiciones existentes en los intestinos, o ser consumidos en un alimento que, actuando como vehículo, les permita sobrevivir al paso por el estómago y a la exposición a la bilis. (13)

Con respecto a la producción y el almacenamiento, los requisitos más importantes son que las bacterias probióticas sobrevivan en el producto en la cantidad suficiente, que se garantice su estabilidad física y genética durante el almacenamiento y que se mantengan todas sus propiedades benéficas esenciales después del consumo. Los probióticos no deben tener efectos adversos en el sabor o aroma del producto y no deberán aumentar la acidez durante el almacenamiento de este. (14)

En general, se considera necesario que diariamente entre  $10^9$  y  $10^{10}$  organismos viables alcancen el intestino delgado. Por ello, se sugiere que estos

productos mantengan unos valores de viables de  $10^6$ - $10^7$  UFC/mL ó g. De hecho, en Japón, la Asociación de Leches Fermentadas y Bebidas Lácteas, y en Suiza, el Organismo de Regulación Alimentaria, han establecido que los productos que contengan bifidobacterias deben presentar valores de  $10^6$  y  $10^7$  UFC/mL, respectivamente (15).

En el desarrollo de productos con probióticos se deben considerar las características fisicoquímicas del alimento al que se piensan introducir, así como las condiciones de procesamiento a las que éste es sometido, todo esto, para no contrarrestar la actividad probiótica de las bacterias utilizadas.

**Tabla 3.** Temperaturas de crecimiento de especies de probióticos (14)

Especies	Temperatura de Crecimiento °C		
	Mínimo	óptimo	Máximo
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	22	45	52
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Lactis</i>	18	40	50
<i>Lactobacillus helveticus</i>	22	42	54
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	27	37	48
<i>Lactobacillus kéfir</i>	8	32	43
<i>Lactobacillus brevis</i>	8	30	42
<i>Lactobacillus casei subsp. Casei</i>		30	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	22	40	52
<i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i>	8	30	40
<i>Lactococcus lactis subsp. Cremoris</i>	8	22	37
<i>Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar. diacetylactis</i>	8	22-28	40
<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris</i>	4	20-28	37
<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. dDextranicum</i>	4	20-28	37
<i>Bifidobacterium (bifidum, infantis, etc)</i>	22	37	48

Entre las condiciones relevantes para la supervivencia de los microorganismos probióticos está la temperatura, esta condición se debe tener en cuenta, estableciendo el momento apropiado para la adición de los microorganismos

sin causar la muerte de estos por efecto de las altas temperaturas que se deben manejar en la operación de empaque. Las condiciones óptimas y máximas de temperatura se muestran en la tabla 3.

En el desarrollo del proyecto se usó HOWARU™ Bífido LYO 40 DCU y *L. casei* -01. El cultivo de *Bifidobacterium* presenta tolerancia notablemente elevada al bajo pH del estómago, elevada resistencia a las sales de bilis, aptitud para sobrevivir al medio gastrointestinal hostil y elevada adherencia las células intestinales (16). Para los *Lactobacillus* se han identificado un grupo de propiedades como la habilidad de adherirse a las células, exclusión o reducción de adherencia patogénica, persistencia, producción de ácidos, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas antagonistas al crecimiento de patógenos, ser seguros y no invasivos, no carcinógenos y no patógenos, y agregarse para formar una flora normal y balanceada (17).

Corrales, A., Henderson, M. y Morales, I., (3) muestran con base en estudios realizados que es posible adicionar microorganismos probióticos a los helados, en cantidades que sean beneficiosos para la salud. Generalmente se emplean procesos comunes y previo a la etapa de congelación y batido de la mezcla se adiciona leche cultivada con los probióticos, o se realizan fermentaciones controladas de la mezcla total, obteniéndose como resultado un yogurt batido congelado que proporciona los beneficios ya estudiados generados por los probióticos al consumidor.

El trabajo de Sarmiento, L. (18) titulado Utilización de Cultivos Probióticos en la Elaboración de Queso Fresco Tipo Campesino evaluó la viabilidad del uso de los cultivos probióticos *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium lactis*. Los resultados obtenidos mostraron que los quesos con adición de cultivos probióticos presentaron un menor contenido de humedad, por otra parte los conteos microbiológicos mostraron que la cantidad de los dos tipos de cultivo utilizados no mostraron una disminución apreciable del recuento a lo largo de

los 30 días de vida útil, almacenado a 4°C. Con respecto al análisis sensorial no se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre el queso control y los adicionados con probióticos.

Aunque existen diversos derivados lácteos estudiados con adición de probióticos, no se encuentran reportes de investigaciones de este tipo relacionadas con el dulce de leche.

### **1.3. INULINA**

En lo referente a la fibra y con base en el trabajo de Ruiz, K. (19) este proyecto pretende adicionar inulina al dulce de leche. La inulina es un fructooligosacárido lineal, fibra dietaria soluble, constituyente natural de muchas plantas, vegetales y frutas, como la cebolla, el ajo, el tomate, el banano, el trigo, la alcachofa, los espárragos. La inulina está formada por fructosas unidas por enlace  $\beta 2 \rightarrow 1$  y una glucosa terminal, con un grado de polimerización variable entre 3 y 60.

La inulina es industrialmente obtenida de la raíz de achicoria (*Cichorium intybus*) por medio de una extracción con agua caliente, seguida de una refinación y un secado por aspersion. Algunos estudios (20) han demostrado la resistencia a procesos térmicos de la inulina, usando temperaturas menores a 140°C.

La inulina se emplea en la preparación de varios alimentos para darles cuerpo, textura, consistencia, viscosidad y humedad, proporciona una sensación en la boca similar a la grasa y se ha empleado con éxito para reemplazar la grasa en postres helados, aderezos, rellenos y productos lácteos, así como para añadir fibra a productos alimenticios con un bajo aporte calórico. (21)

El uso de la inulina o sus derivados para cumplir funciones tecnológicas, simultáneamente aporta beneficios a la salud, el primero de ellos es su función de fibra dietética, con los efectos fisiológicos atribuibles a este tipo de

compuestos, como son la disminución de los niveles lipídicos y glucosa en sangre y la acción laxante. Otro beneficio comprobado ligado al anterior, es la capacidad de la inulina de modular la flora intestinal, esto se debe a su efecto prebiótico (4).

La inulina no es digerida ni absorbida en el intestino delgado, por lo cual llega al colon donde es fermentada por la microbiota. La inulina representa un sustrato preferencial para bacterias beneficiosas para la salud como los *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* por lo cual es considerada también como prebiótico (22).

Cuando la inulina es fermentada en el colon produce ácidos grasos de cadena corta que acidifican el contenido del lumen; se considera que este fenómeno mejora la resistencia a agentes patógenos, facilita la absorción de minerales como el calcio y contribuye a disminuir los niveles circulantes de colesterol y triglicéridos (22).

La única limitación para la incorporación de estos compuestos en los alimentos es la tolerancia gastrointestinal, ya que el consumo de cantidades elevadas puede producir meteorismo, borborismo, sensación de distensión abdominal, dolor abdominal y deposiciones blandas que pueden llegar hasta la diarrea (22). En la actualidad se considera que un producto con fibra soluble debe aportar por lo menos 10% del valor diario recomendado para ser considerado fuente de fibra o 20% para ser alto en fibra, esto según la NTC 512-2.

Diferentes estudios demuestran el uso de la inulina en la industria alimenticia.

En el trabajo "Iogurte" de soya suplementado con oligofrutose e inulina. Renata Hernández Barros Fuchs, Dionísio Borsato, Evandro Bona, María Celia de Oliveira Hauly, (23), determinaron las mejores condiciones para el desarrollo de un yogur de soya complementado con oligofruktosa e inulina. El análisis muestra que las mejores condiciones se dan para la formulación que contiene

14,24% de oligofruktosa, 4,43% de inulina y 6 horas, Este trabajo permite concluir que pueden usarse oligofruktosa e inulina para complementar el yogur de la soya lo que permite obtener un producto con ingredientes funcionales.

Otras investigaciones permiten conocer acerca de las propiedades curativas de la inulina como es el caso del estudio realizado por Martin Gotteland R., Oscar Brunser T., (22); en el cual se evaluó el efecto del consumo de un yogur que contenía 2,36 g de inulina y 1,77 g de polidextrosa, en comparación con un yogur control sin inulina para pacientes sanos y constipados. Se realizaron observaciones semanales aumentando la cantidad de producto consumido anotando diariamente la intensidad de los síntomas digestivos así como el número de deposiciones emitidas y su consistencia. Los resultados muestran que a partir de un consumo diario de 2 yogures con inulina existe un aumento significativo de la sintomatología digestiva en los sujetos sanos, debido principalmente a la mayor emisión de gases rectales. Observaciones similares se realizaron en los sujetos constipados con el consumo de 3 productos diarios, sin embargo en aquellos se observó además un mejoramiento significativo tanto en la frecuencia de las deposiciones como en su consistencia. Este estudio sugiere que el consumo del producto con inulina contribuye a aliviar las molestias de los individuos constipados pero que en los sujetos sanos un consumo de dos yogures al día aumenta los síntomas desagradables.

A nivel local se encuentra el trabajo desarrollado por Ruiz, K. (19) en el que se evaluaron dos fuentes de fibra, inulina y el biopolímero BILAC en la elaboración de queso petit suisse. Se concluye que se puede adicionar inulina en un 3,2% y 6,4% para que el producto sea considerado como buena fuente de fibra y alto en fibra, además esto contribuyó a mejorar las características sensoriales del producto. Por otro lado con la adición de 3,3% y 6,5% de biopolímero BILAC se observó deterioro en las características del producto.

La adición simultanea de probióticos y prebióticos es denominada simbiosis, demostrándose con la elaboración de diferentes alimentos que los prebióticos y

los probióticos pueden tener una acción sinérgica contra ciertas afecciones cuando se encuentran juntos. La simbiosis afecta beneficiosamente al hospedero mejorando la supervivencia y la implantación de suplementos dietéticos a base de microbios vivos en el aparato digestivo de este (13) y estimulando selectivamente el crecimiento o activando el metabolismo de un número limitado de bacterias promotoras de la salud.

Con base en lo anterior este proyecto utiliza la combinación de inulina como fuente de fibra y la inclusión de dos cepas de microorganismos probióticos como son *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium lactis*. Ya que se ha observado que cuando una persona cuenta con un número significativo de bifidobacterias y lactobacilos en el colon, se esperaría una buena respuesta a la ingesta de un prebiótico, pero si estas especies son casi inexistentes, el efecto de los prebióticos será menor. (13)

Existen alimentos comerciales en donde ya se aplica esta fórmula simbiótica; principalmente en productos lácteos fermentados como el Yogur. Se encuentra el trabajo de investigación Influence of inulin and potentially probiotic *Lactobacillus plantarum* strain on microbiological quality and sensory properties of soft cheese (24). En esta investigación se evalúa la influencia de inulina HPX y un probiótico *Lactobacillus* 14 en la calidad microbiana y propiedades organolépticas de queso blando. También se examina el efecto de inulina en la concentración del probiótico durante 45 días de almacenamiento a 6°C. El número de bacterias del probiótico fue afectado por la cantidad de inulina HPX, también la calidad sensorial fue afectada positivamente por la presencia de inulina en los productos. Después de la producción y 45 días de almacenamiento las propiedades más deseables se encontraron en los quesos que tenían adición de inulina.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la utilización de una fuente de fibra y de un cultivo probiótico en la calidad del dulce de leche (arequipe).

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

3.2.1. Determinar la influencia de la inclusión de tres niveles de inulina en las características fisicoquímicas y sensoriales del dulce de leche.

3.2.2. Determinar el efecto de la utilización de cultivos probióticos en las características fisicoquímicas y sensoriales del dulce de leche

3.2.3. Evaluar la viabilidad de dos cepas de bacterias probióticas en el producto final.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAS PRIMAS

Para realizar el estudio se utilizaron las instalaciones y equipos de la planta piloto de leches y los laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

Las materias primas empleadas fueron:

- Leche de bovino de raza normando proveniente del hato de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.
- Sacarosa comercial
- Cultivos lácticos probióticos (anexos E y F)
- Bicarbonato de sodio
- $\beta$ -galactosidasa (anexo G)
- Inulina (anexo H)

#### 3.2. EQUIPOS

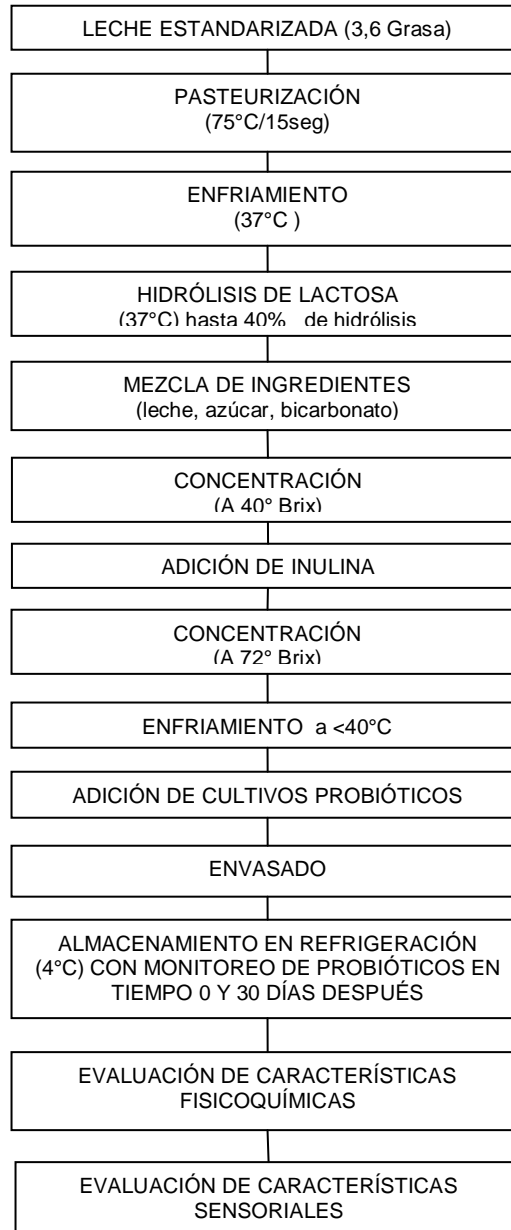
**3.2.1. Equipos de laboratorio** Balanza analítica, refractómetro de Brix, potenciómetro, incubadora, termómetro, estufa, centrífuga de Gerber, digestor 2006 foss tecator, destilador kjeltec system 1002 distilling unit, velp scientifica csf6 filtration system, crioscopio electrónico, material volumétrico.

**3.2.2. Equipos de planta piloto** Marmita de 20 litros, agitador, báscula, empaques (100 g), bolsas plásticas.

### 3.3. METODOLOGÍA

#### 3.3.1. Preparación del dulce de leche

Figura 1. Preparación del dulce de leche



**3.3.2. Análisis sensorial** Se aplicó la prueba descriptiva de puntajes con seis panelistas entrenados, basados en el formato para leche condensada planteado por Mahecha (25), tomando en cuenta los siguientes atributos: a. Apariencia, b. Aroma y Sabor y c. Textura. (anexo A)

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ( $P \leq 0,05$ ) con nueve muestras pareadas.

**3.3.3. Análisis fisicoquímico** Inicialmente se evaluó la calidad de la leche a emplear y de ser necesario se realizó estandarización hasta 3,6%. Las pruebas que se realizaron a la leche se especifican en la tabla 4.

**Tabla 4.** Pruebas fisicoquímicas de calidad de la leche

<b>Prueba</b>	<b>Método</b>	<b>Valor de referencia*</b>
Materia grasa	Gerber B.S696:1969	Mínimo 3,0% m/v
pH	AOAC 10.035/1980	6,6 – 6,8
Acidez titulable como ácido láctico	AOAC 947.05	0,13 – 0,17% m/v
Densidad a 15 °C	AOAC 16.021	1,030 – 1,033 g/mL
Sólidos Totales (extracto seco)	NTC 4979:2001	Mínimo 11.3% m/m
Prueba del alcohol 68%p/p	Decreto 616/2006 Ministerio de la Protección Social	Negativa
Presencia de antibióticos	Snap	Negativo
Índice Crioscópico	Crioscopia electrónica	-0,530 -0,510 °C

\*Decreto 616 (26)

**Tabla 5.** Pruebas fisicoquímicas realizadas en producto final

<b>Característica</b>	<b>Método</b>	<b>Valor de Referencia*</b>
Materia grasa (%m/m)	Cálculos Predictivos	Min 8% m/m
Carbohidratos Totales	Cálculos Predictivos	
Proteína (%m/m)	AOAC 988.05/2000	7-9% m/m
Fibra Total	AOAC 985.29	
pH	AOAC 947.05/2000	6,4 - 6,7
Contenido de sólidos solubles (grados Brix)	Refractométrico	70 - 72

\*Resolución 2310/ 1986(27)

**3.3.4. Análisis microbiológico** Las pruebas microbiológicas que se realizaron al producto final se especifican en la tabla 6.

**Tabla 6.** Pruebas microbiológicas realizadas en producto final.

<b>Prueba</b>	<b>Método</b>
Recuento de bacterias acidolácticas	Recuento en placa INVIMA No. 2
Mohos y Levaduras	Recuento en placa INVIMA No. 7

Se determinaron las UFC/g de bacterias acidolácticas porque se considera que no hay presencia de otras cepas diferentes a las adicionadas al producto.

**3.3.5. Diseño experimental** Las unidades experimentales estuvieron conformadas por lotes de 15 L de mezcla de leche provenientes del mismo tanque, estandarizada a 3,6% de grasa para obtener un producto final con un contenido de grasa del 8%.

Se utilizó un diseño escalonado, en el cual se van eliminando variables a medida que se obtienen resultados. Los niveles de adición de inulina a la mezcla de leche y azúcar fueron 0,0%, 3,2% y 6,4% teniendo en cuenta que una porción de dulce de leche corresponde a 50 g del producto y evaluando el aporte diario de fibra por el producto. Se evaluaron dos cepas de cultivos probióticos. Cada uno de los lotes obtenidos fue dividido en tres partes iguales, dejando un control, y los otros dos con adición de cultivos probióticos *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium lactis*, respectivamente, dosificados al doble recomendado por el fabricante, esto teniendo en cuenta las condiciones extremas del arequipe como la temperatura de inoculación y la baja actividad de agua, para lograr una población mínima de  $10^6$  UFC/g.

Los resultados de evaluación sensorial se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del 5%.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 4.1. CURVA DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA

**Tabla 7.** Medidas del punto crioscópico en leche

Tiempo (min.)	lectura 1	lectura 2	Promedio
Sin enzima	-0,507	-0,513	-0,510
0	-0,519	-0,528	-0,524
15	-0,552	-0,557	-0,555
30	-0,571	-0,575	-0,573
45	-0,585	-0,584	-0,585
60	-0,599	-0,563	-0,581
75	-0,611	-0,611	-0,611
90	-0,622	-0,624	-0,623
105	-0,629	-0,631	-0,630
120	-0,635	-0,64	-0,638
135	-0,643	-0,645	-0,644
150	-0,648	-0,651	-0,650
165	-0,655	-0,655	-0,655
180	-0,658	-0,658	-0,658
195	-0,66	-0,661	-0,661
210	-0,664	-0,669	-0,667
225	-0,673	-0,667	-0,670
240	-0,675	-0,674	-0,675
255	-0,675	-0,678	-0,677
270	-0,679	-0,679	-0,679
285	-0,683	-0,684	-0,684*
300	-0,687	-0,683	-0,685
315	-0,686	-0,688	-0,687
330	-0,687	-0,687	-0,687

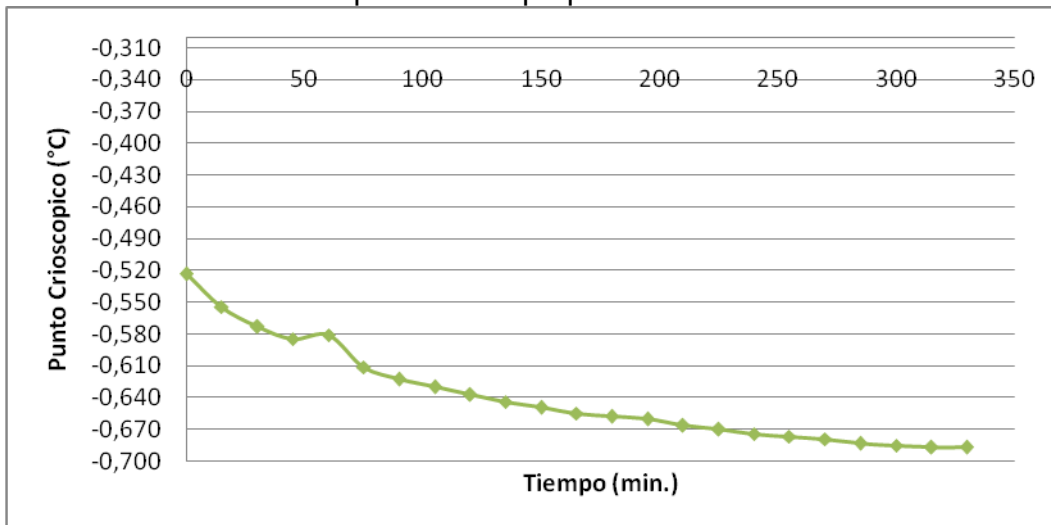
\*Se toma como punto crioscópico en el que la lactosa se ha hidrolizado un 100%

La hidrólisis se realizó adicionando la enzima  $\beta$ -galactosidasa (Maxilact® L2000 suministrada por Interenzimas) en la proporción indicada por el proveedor (7 mL/40 L) y a una temperatura constante de 40°C. Primero se

realizó la prueba para un litro de leche estandarizada (3,6% m/v) y previamente pasteurizada a la que se le determinó el punto crioscópico, luego se adicionó la enzima y se llevo a incubación con control del punto crioscópico cada 15 min (Tabla 7) hasta obtener una temperatura de congelación constante.

La curva obtenida (Grafica 1) permite establecer un 0% de hidrólisis en el punto crioscópico inicial (-0,524) y un 100% de hidrólisis en el punto final en el que la medida no presenta variaciones considerables en el intervalo de tiempo establecido (-0,684), con la grafica obtenida (Gráfica 2) se establece el punto crioscópico y el tiempo aproximado para obtener una hidrólisis de la lactosa del 40% recomendada para controlar el problema de formación de cristales en el producto final, en el proceso de elaboración del dulce de leche se controló el punto crioscópico a partir de los 45 minutos de incubación y por cada 10 minutos hasta alcanzar el punto correspondiente de -0,588.

**Grafica 1.** Punto crioscópico vs tiempo para hidrólisis de la lactosa

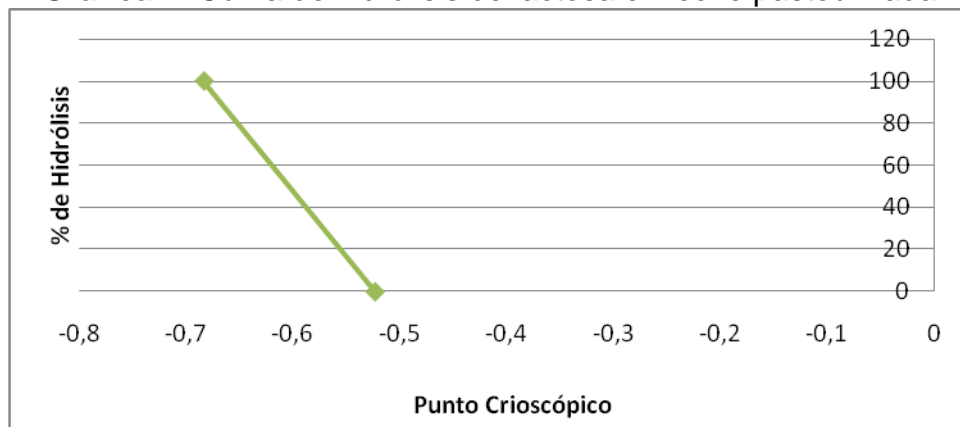


**Tabla 8.** Porcentajes de hidrólisis de lactosa

% de Hidrólisis	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
0	-0,524	0
40	-0,588*	45-60
100	-0,684	285
<b>Ecuación de la Gráfica 2</b>		$y = -625x - 327,5$

\*Datos calculados con base en la ecuación de la gráfica

**Gráfica 2.** Curva de hidrólisis de lactosa en leche pasteurizada



#### 4.2. MATERIA PRIMA Y RENDIMIENTO

En la tabla 9 se presentan los datos del análisis fisicoquímico realizados para la leche, con respecto a estos datos fue importante controlar el porcentaje de grasa para obtener la leche estandarizada (3,6 %m/v).

**Tabla 9.** Resultados análisis fisicoquímicos para leche estandarizada

Prueba	Resultado	Valor de referencia
Materia grasa leche entera	4,6% m/v	Mínimo 3,0% m/v
Materia grasa leche descremada	0,1% m/v	0,1 – 0,5 %m/v
Materia grasa leche estandarizada	3,6% m/v	3,6 % m/v*
pH	6,79	6,60 – 6,80
Acidez titulable como ácido láctico	0,13% m/v	0,13 – 0,17% m/v
Densidad a 15 °C	1,032	1,030 – 1,033 g/mL
Sólidos Totales (extracto seco)	12,34% m/m	Mínimo 11.30% m/m
Prueba del alcohol 68%p/p	Negativa	Negativa
Presencia de antibióticos	Negativo	Negativo
Índice Crioscópico**	-0,510 °C	-0,530 a -0,510 °C

\*valor calculado por balance de materia

\*\* Determinado en leche pasteurizada



Los datos obtenidos en el análisis fisicoquímico de la leche cruda cumplen con los requisitos establecidos por el Decreto 616 de 2006, lo que permite argumentar que la leche utilizada en el proceso es apta para el consumo humano y puede ser utilizada en la elaboración de alimentos. El resultado negativo obtenido para la presencia de antibióticos permite la adición de los cultivos probióticos sin ningún riesgo de inhibición. Un valor alto de sólidos totales permite obtener un buen rendimiento en la elaboración del arequipe.

Para calcular el rendimiento obtenido se realizaron balances de materia así:

1. Se determinó la masa de producto con los valores esperados (resolución 2310/1986 Min. Salud)

$$\text{g. de leche} + \text{g. de azúcar} = \text{g. de producto} + \text{g. de vapor}$$

*Balance de Sólidos Lácteos no Grasos*

$$15000(0,09) + \text{azúcar (0)} = \text{producto (0,20)} + \text{vapor (0)}$$

$$\text{Producto} = 6750 \text{ g}$$

2. Cálculo del porcentaje de grasa en la leche

*Balance de Grasa*

$$15000(X) + \text{azúcar (0)} = (6750)(0,08) + \text{vapor (0)}$$

$$X = 0,036 = 3,6\% \text{ de grasa en la Leche}$$

3. Cantidad de azúcar a agregar

*Balance de Sólidos*

Esperando un producto final con 74°Bx

$$15000 (0,09) + \text{Azúcar (1)} = (6750)(0,74) + \text{vapor (0)}$$

$$\text{Azúcar} = 3545 \text{ g.}$$

Para la adición de bicarbonato se utiliza la cantidad recomendada de 0,65g/Kg de leche (28).

Se adicionaron los cultivos probióticos *L. casei-01* de CHR-HANSEN (anexo E) y *Bifidobacterium*, (*HOWARU Bifido LYO*) de DANISCO (anexo F), dosificados una unidad por cada 2,5 Kg de producto.

**Tabla 10** Cálculos para la elaboración de tres lotes de arequipe con adición de inulina.

Lote	Leche (g)	Azúcar (g)	Bicarbonato (g)	Inulina (g)	Cultivos Probióticos (g)
Control	15000	3545	9,75	0	0
					0,250 Lactobacillus
					0,225 Bifidobacterium
3,2% inulina	15000	3545	9,75	216	0
					0,250 Lactobacillus
					0,225 Bifidobacterium
6,4% inulina	15000	3545	9,75	432	0
					0,250 Lactobacillus
					0,225 Bifidobacterium

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{g. de arequipe obtenido}}{\text{g. ingredientes}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{6600 \text{ g. de arequipe}}{18550 \text{ g. de leche}} \times 100 = 35\%$$

Se obtuvo el rendimiento esperado (36%), considerando pérdidas de proceso del orden del 1%.

#### 4.3. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DEL DULCE DE LECHE

Los resultados obtenidos en los análisis físicoquímicos realizados al producto final se muestran en la tabla 11.

El porcentaje de materia grasa está por debajo del esperado de 8 %m/m, se encuentra entre los parámetros presentados en tablas de composición de alimentos y en algunos productos comerciales (tabla 2). Con respecto al contenido de carbohidratos totales se observa cambio a medida que aumenta el porcentaje de inulina, ya que está formada por polímeros de fructosa.

**Tabla 11.** Resultados de análisis fisicoquímicos para dulce de leche

Prueba	Resultado								
	0/0	0/L	0/BIFI	3,2/0	3,2/L	3,2/BIFI	6,4/0	6,4/L	6,4 /BIFI
Materia grasa (%m/m)	7,48	7,48	7,48	7,24	7,24	7,24	7,02	7,02	7,02
Carbohidratos Totales (%m/m)	57,68	57,68	57,68	58,58	58,58	58,58	59,42	59,42	59,42
Proteína (%m/m)	7,66	7,8	7,65	7,42	7,55	7,41	7,19	7,32	7,18
Fibra Total (%)	0	0	0	2,82	2,82	2,82	5,66	5,66	5,66
pH	6,61	6,62	6,69	6,70	6,63	6,61	6,52	6,47	6,58
Contenido de sólidos solubles (°bx)	70	70	70	71	71	72	71	71	72

El producto adicionado con 3,2% m/m de inulina, corresponde a un contenido de fibra de 2,82% m/m, con este contenido de fibra no se puede denominar como fuente de fibra pues la porción de 50 g aporta solamente el 5% del requerimiento diario (29).

El dulce de leche adicionado con 6,4% m/m de inulina presentó un contenido de fibra del 5,66%; este producto puede considerarse fuente de fibra, pues la porción aporta más del 10% del requerimiento diario (29).

Los valores de pH obtenidos se encuentran dentro de los valores permitidos en la resolución 2310 de 1986 (27) del ministerio de salud y además son rangos óptimos para permitir el crecimiento de los cultivos probióticos.

#### **4.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE DULCE DE LECHE**

Para el día uno solo se realizó análisis microbiológicos con respecto a la presencia de cultivos probióticos con repetición a los 30 días de almacenamiento, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 12.

Se observa que para el día uno el resultado de UFC/ g (anexo B) se encuentra cumpliendo el valor de referencia para las muestras con 0% m/m y 3,2% m/m de inulina con ambos cultivos, mientras que para las muestras correspondientes

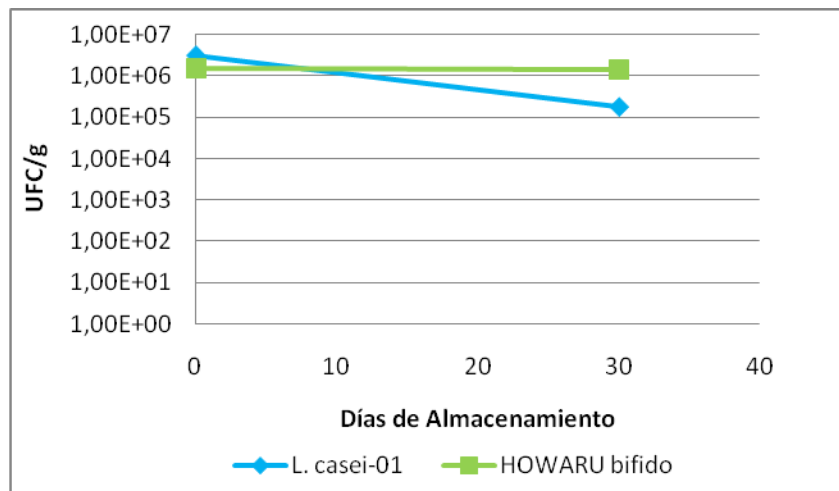
a 6,4% m/m de inulina los valores se encuentran por debajo del valor de referencia.

Después de 30 días de almacenamiento la cantidad de UFC/g (anexo C) se mantienen en valores de  $10^6$  UFC/g en las muestras con 0% m/m y 3,2% m/m de inulina en las que se inoculo HOWARU Bifido LYO (Graficas 3 y 4) mientras que para las mismas muestras inoculadas con L. casei-01 se observa una disminución en el número de UFC/g hasta valores de  $10^5$ , identificando una mayor viabilidad para los Bifidobacterium en el dulce de leche.

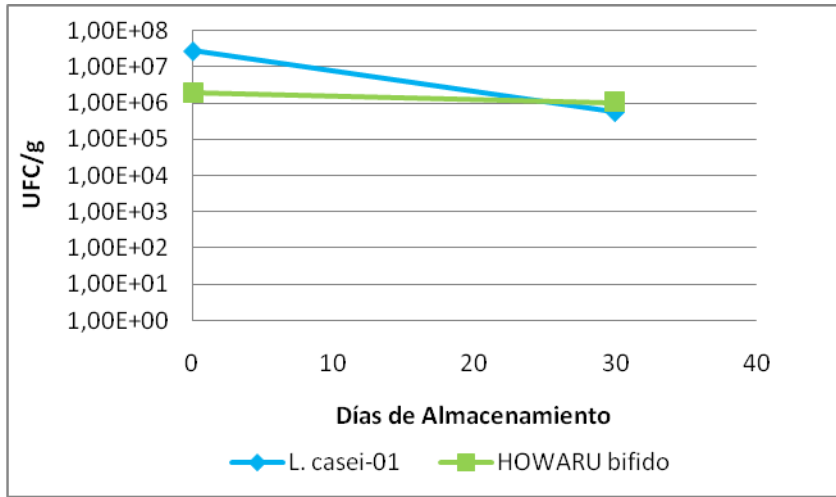
**Tabla 12.** Recuento de bacterias acidolácticas en el dulce de leche primer ensayo (anexos B y C)

	0% m/m inulina		3,2% m/m inulina		6,4% m/m inulina		Valor de Referencia
	Dia 1	Dia 30	Dia 1	Dia 30	Dia 1	Dia 30	
L. casei-01	$3,1 \times 10^6$	$1,83 \times 10^5$	$2,79 \times 10^7$	$5,7 \times 10^5$	$1,43 \times 10^4$	$1,42 \times 10^6$	Min $10^6$
HOWARU Bifido LYO	$1,5 \times 10^6$	$1,44 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	$1,04 \times 10^6$	$3 \times 10^3$	$1,01 \times 10^6$	

**Gráfica 3.** Viabilidad de cultivos probióticos en dulce de leche con 0% m/m de inulina

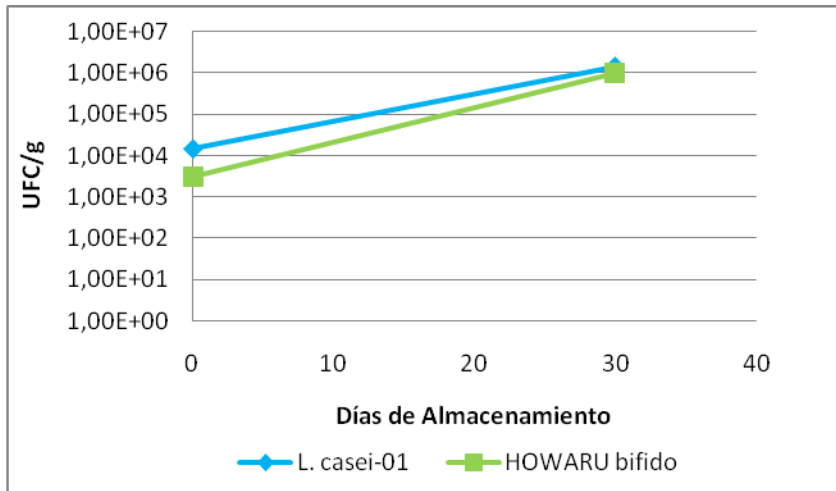


**Gráfica 4.** Viabilidad de cultivos probióticos en dulce de leche con 3,2% m/m de inulina



En las muestras de 6,4% m/m de inulina se observa un aumento de UFC/g después de 30 días de almacenamiento, para ambos cultivos (grafica 5).

**Gráfica 5.** Viabilidad de cultivos probióticos en dulce de leche con 6,4% m/m de inulina



Estos resultados indican que el producto elaborado con la adición del cultivo probiótico HOWARU Bifido LYO en cualquiera de los niveles de inulina, cumple con las características necesarias para ser considerado un alimento con probióticos y que las condiciones de actividad de agua y temperatura utilizada

para la inoculación no afectan notablemente la viabilidad de las bacterias, viabilidad que también se ve favorecida por la simbiosis generada entre la fibra y los cultivos probióticos.

En un segundo ensayo se evaluó nuevamente la viabilidad de los dos cultivos en un nivel de inulina del 3,2% m/m obteniendo los resultados (anexo D) que se muestran en la tabla 13.

**Tabla 13.** Recuento de bacterias acidolácticas en dulce de leche segundo ensayo (anexo D)

Cultivo	3,2% m/m inulina	Valor de Referencia
L. casei-01	$2,6 \times 10^4$	Min $10^6$
HOWARU Bifido LYO	$2,66 \times 10^5$	

Estos resultados muestran que adicionar una cantidad mayor de cultivos lácticos no ayudan a aumentar las UFC/mL en el dulce de leche, por el contrario se obtienen valores menores al valor de referencia. Estos resultados se explican por la competencia que existe entre los microorganismos por el prebiótico (fibra) y el agua.

Después de los 30 días de almacenamiento se realizaron análisis microbiológicos para establecer la calidad sanitaria del producto, estos resultados se muestran en la tabla 14.

**Tabla 14.** Resultados de análisis microbiológicos

Análisis	Resultado	Valor de Referencia*
Mohos y Levaduras	<10 UFC/mL	10-100

\*Resolución 2310/1986 (27)

#### 4.5. ANÁLISIS SENSORIAL DE DULCE DE LECHE

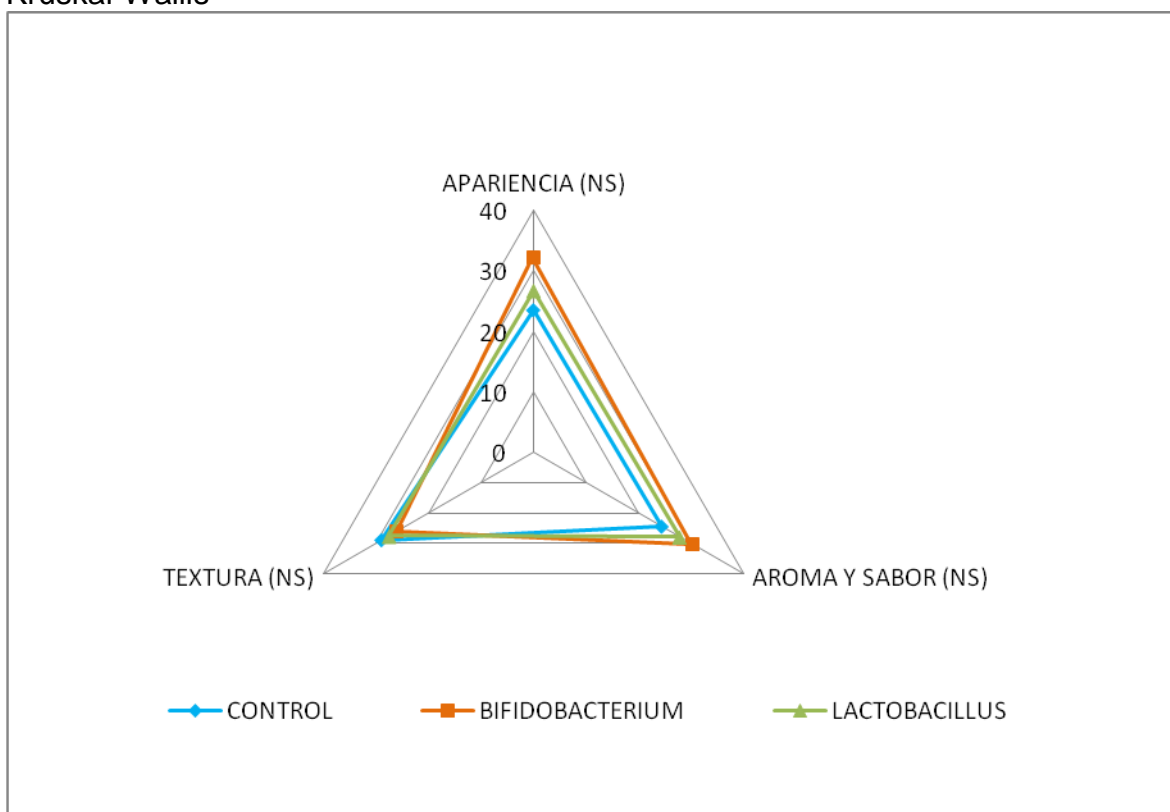
Los resultados obtenidos en el panel sensorial se muestran en las tablas 15 y 16, con respecto a las variables cultivo probiótico e inulina, respectivamente.

**Tabla 15.** Influencia de los probióticos en los rangos según la prueba de Kruskal-Wallis

	APARIENCIA	AROMA Y SABOR	TEXTURA
<b>CONTROL</b>	a	a	a
<b>BIFIDOBACTERIUM</b>	a	a	a
<b>LACTOBACILLUS</b>	a	a	a

Letras diferentes denotan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ )

**Grafica 6.** Influencia de los probióticos en los rangos según la prueba de Kruskal-Wallis



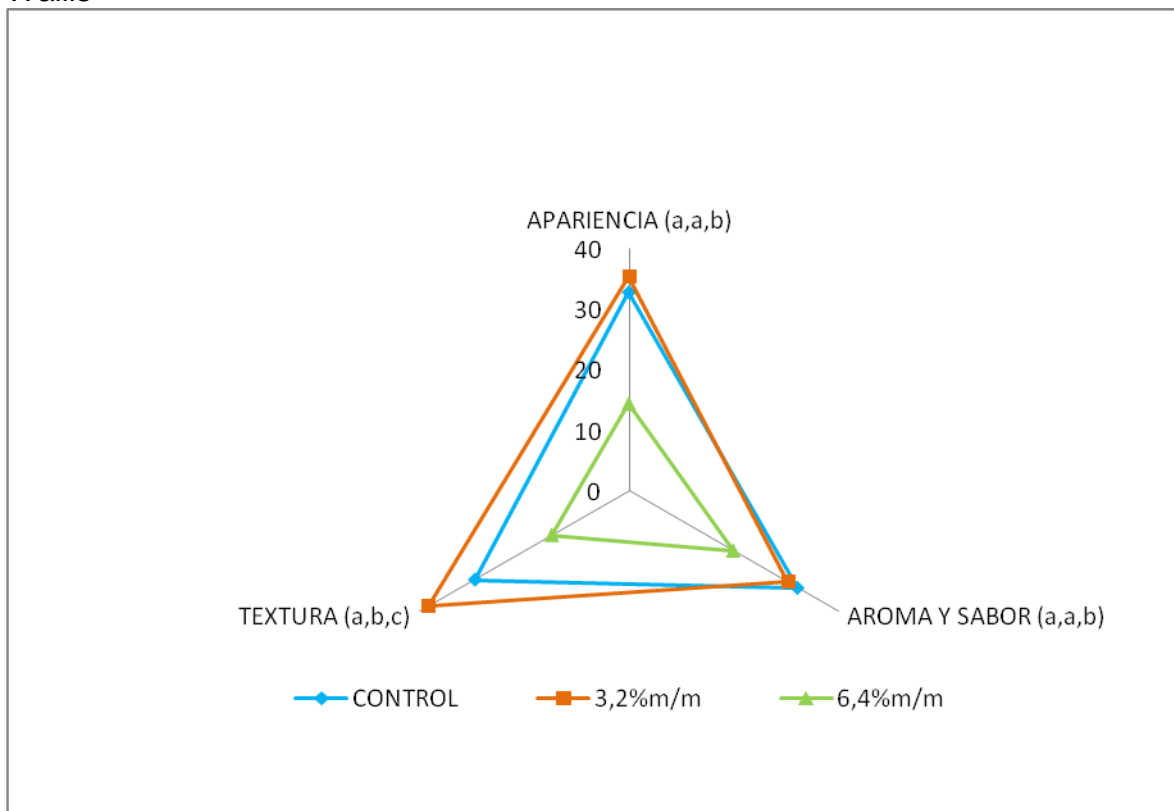
Con respecto a la variable probióticos, letras iguales denotan que no se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ), por tanto el cultivo no tiene efecto en los factores de calidad evaluados.

**Tabla 16.** Influencia de la fibra en los rangos según la prueba de Kruskal-Wallis

	APARIENCIA	AROMA Y SABOR	TEXTURA
<b>CONTROL</b>	a	a	a
<b>MENOR % INULINA</b>	a	a	b
<b>MAYOR % INULINA</b>	b	b	c

Letras diferentes denotan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ )

**Grafica 7.** Influencia de la fibra en los rangos según la prueba de Kruskal-Wallis



Con respecto a la variable inulina (adición de fibra) se observa que el nivel alto (6,4% m/m) afecta negativamente la apariencia, la textura y el flavor, mientras que el nivel menor (3,2% m/m) no afecta el flavor, ni la apariencia, sin embargo se afecta de forma positiva la textura del producto.



No se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) para textura y flavor entre el control y el producto con 3,2% m/m de inulina, se presenta diferencia significativa con respecto a la textura siendo favorable la adición de inulina. Se encuentran diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre las dos primeras muestras y el producto adicionado con 6,4% de inulina, siendo este el que presenta menor calidad sensorial.

## 5. CONCLUSIONES

Se desarrolló dulce de leche (arequipe) con la adición de dos niveles de inulina y dos cultivos probióticos *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium lactis*. Observando que la inulina afecta características sensoriales del producto mientras que con la adición de microorganismos probióticos no se observan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ).

El producto que presento las mejores características sensoriales fue el adicionado con 3,2% m/m de inulina, que corresponde a un contenido de fibra de 2,82% m/m. Con este contenido de fibra no se puede denominar como fuente de fibra pues la porción aporta solamente el 5% del requerimiento diario.

La adición de inulina en un nivel de 3,2% m/m no afecta el flavor, ni la apariencia, sin embargo se afecta de forma positiva la textura del producto.

El dulce de leche adicionado con 6,4% m/m de inulina presentó un contenido de fibra del 5,66%; aunque este producto podría considerarse fuente de fibra, pues la porción aporta el 10% del requerimiento diario, se ven afectadas negativamente la apariencia, la textura y el flavor.

Con respecto a la adición de cultivos probióticos no se encontraron diferencias significativas al 5%, concluyéndose que el cultivo no genera efecto en los factores de calidad sensorial evaluados.

La evaluación de la viabilidad de los cultivos probióticos demuestra que es posible adicionar este tipo de microorganismos al dulce de leche con una vida útil de 30 días, cumpliendo con el requisito ( $10^6$  UFC/g). Siendo el cultivo más apto el *Bifidobacatrium lactis*.

## 6. RECOMENDACIONES

Para estudios posteriores es importante diseñar un sistema que permita mantener el dulce de leche en estado líquido a una temperatura de 40°C, por un tiempo adecuado que permita una mejor inoculación de los cultivos probióticos.

Se recomienda estandarizar la grasa a un porcentaje más alto (3,7-3,8% m/m) para cumplir con el valor estipulado en la legislación colombiana.

Se sugiere para trabajos posteriores evaluar la adición de inulina variando la cantidad de sacarosa en la mezcla para dulce de leche, evaluando las diferentes características sensoriales y fisicoquímicas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Patiño E. Alimentos Funcionales Derivados de la Leche. Artículo Técnico. Peruláctea. Argentina; 2009. Disponible en URL : <http://www.perulactea.com/2009/04/26/alimentos-funcionales-derivados-de-la-leche/>
2. Henriquez M. y Moreno C. Probióticos: Legislación en Marcha. Secretaria de Agricultura, Gandería, Pesca y Alimentos. Buenos Aires, Argentina; 2009. Disponible en URL: <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/revistas/r39/articulos/Probioticos.htm>
3. Corrales C., Henderson M. y Morales I. Sobrevivencia de microorganismos probióticos en helado batido *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis* en helado batido. Rev Chil Nutr [serial online] 2007 [citado 5 ago 2009] 34(2):157-63. Disponible en URL: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182007000200008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182007000200008&script=sci_arttext)
4. Madrigal L, Sangronis E.. La Inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. Arch Latinoam Nutr 2007. 57(4):387-96
5. Novoa C. Osorio D. Guía para la elaboración de algunos productos derivados de la leche. Universidad Nacional de Colombia. Colciencias. Dulce de Leche. Bogotá 2009, p.68-72.
6. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC. Arequipe o dulce de leche y manjar blanco. NTC (2008). 9p. (3757). Bogotá.
7. Novoa C. F. Memorias, Seminario Taller Elaboración de dulces de leche. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia Vicerrectoría Académica. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos;1993.
8. Garitta L, Hough G, Sánchez R. Sensory Shelf Life of Dulce de Leche. J.Dairy Sci. 87:1601-07
9. García N. Evaluación de la influencia de la concentración de sacarosa en la mezcla para arequipe, sobre algunas de sus características físicas y sensoriales. [Trabajo de Grado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias – Programa Interfacultades. Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos;1999.

10. Nimo M.B. Reconversion of the agricultural enterprises: vertical integration in milk: alternative of production, industrialization and sale of dulce de leche (sweet milk dessert). Argentina: Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires. Dirección Nacional de Producción Agropecuaria; 1994.
11. Mena C, Wilding R, Humphries A. Alimentos Funcionales. Enfoque en alimentación [on line] 2007 sept. 19. [citado 6 sept 2009]. Disponible en URL:<http://www.alimentacion.enfoque.com/notas/7265-alimentos-funcionales> . 2007.
12. Sanz Y, Collado M.C, Dalmau J. Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Acta Pediatr Esp 2003; 61(9):58-64
13. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Estudio FAO alimentación y nutrición. Roma 2006
14. Heller K. Bacterias Probióticas en Alimentos Fermentados. Características de los productos y microorganismos indicadores. Mundo lácteo y cárnico [on line] 2008 [citado 10 ago. 2009]:24-30. Disponible en URL: <http://www.alimentariaonline.com/>
15. Shin H-S, Lee J-H, Pestka JJ, Ustunol Z.. Viability of bifidobacteria in commercial dairy products during refrigerated storage. J Food Prot. 2000; 63: 327-31
16. Gill H., Rutherford K. J., Cross M. L. y Gopal P. K. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis*. Am. J. Clin. Nutr. 2001;74(6):833-3
17. Reid G. The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. Appl Environ Microbiol 1999; 65(9): 3763-66.
18. Sarmiento L. Utilización de cultivos probióticos en la elaboración de queso fresco tipo campesino. [Trabajo de grado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias – Programa Interfacultades. Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos; 2008
19. Ruiz K. Desarrollo de Queso tipo Petit Suisse con Adición de Fibra. [Trabajo de Grado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias – Programa Interfacultades. Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos; 2009

20. León O., Manrique M. y Antolín G. Influencia de la etapa de deshidratación sobre el contenido de inulina en *Cichorium intybus L.* Parque Tecnológico de Boecillo y Universidad de Valladolid; 2005
21. Niness K. R. Inulin and oligofructose: What are they?. *J Nutr* 1999;129: 1402S-6S
22. Gotteland M. y Brunser T. Efecto de un Yogur con Inulina sobre la Función Intestinal de Sujetos Sanos o Constipados. *Rev. chil. nutr.* [serial online] 2006 [citado 5 ago 2009] 33(3):553-60 . Disponible en URL: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182006000500012&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182006000500012&lng=es&nrm=iso)
23. Hernandez R., Borsato D. y de Oliveira, M.C. "Iogurte" de soja suplementado con oligofructose e inulina. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [serial online] 2005 [citado 4 ago 2009] 25(1):175-81 . Disponible en URL: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612005000100029&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000100029&lng=en&nrm=iso)
24. Modzelewska M., Klcbukowska L. y Kornacki K. Influence of Inulin and Potentially Probiotic *Lactobacillus plantarum strain* on microbiological quality and sensory properties of soft cheese. *Pol J Food Nutr Sci* 2007; 57 (2):143-46.
25. Mahecha G. Evaluación Sensorial en el control de calidad de alimentos procesados. Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia Bogota: Ed. carrera 7; 1985.
26. República de Colombia. Ministerio de la Protección Social. Decreto 616 de 2006.
27. Republica de Colombia. Resolución 2310 de 1986. Ministerio de Salud. Capítulo 9.
28. Novoa, C. Guía de Práctica: Elaboración de arequipe. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia 2009
29. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC. Industrias alimentarias. Rotulado o etiquetado. Parte 2. Rotulado nutricional de alimentos envasados. NTC (2006). 58p. (512-2). Bogotá.

## ÍNDICE DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1.</b> Clasificación del dulce de leche, según NTC 3757	15
<b>Tabla 2.</b> Composición química del dulce de leche	17
<b>Tabla 3.</b> Temperaturas de crecimiento de especies de probióticos	21
<b>Tabla 4.</b> Pruebas fisicoquímicas de calidad de la leche	30
<b>Tabla 5.</b> Pruebas fisicoquímicas realizadas en producto final	30
<b>Tabla 6.</b> Pruebas microbiológicas realizadas en producto final	31
<b>Tabla 7.</b> Medidas del punto crioscópico en leche	32
<b>Tabla 8.</b> Porcentajes de hidrólisis de lactosa	33
<b>Tabla 9.</b> Resultados de análisis fisicoquímico de leche estandarizada	34
<b>Tabla 10.</b> Calculos para la elaboración de tres lotes de arequipe con adición de inulina	36
<b>Tabla 11.</b> Resultados de análisis fisicoquímicos para dulce de leche	37
<b>Tabla 12.</b> Recuento de bacterias acidolácticas en el dulce de leche, primer ensayo	38
<b>Tabla 13.</b> Recuento de bacterias acidolácticas en el dulce de leche, segundo ensayo	40
<b>Tabla 14.</b> Resultados de análisis microbiológico: Mohos y Levaduras	40
<b>Tabla 15.</b> Influencia de los probióticos en los rangos según la prueba de Kruskal-Wallis	41
<b>Tabla 16.</b> Influencia de la fibra en los rangos según la prueba de Kruskal-Wallis	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Preparación del dulce de leche	29



## ÍNDICE DE GRÁFICAS

	<b>pág.</b>
<b>Gráfica 1.</b> Punto crioscópico vs tiempo para hidrólisis de la lactosa	33
<b>Gráfica 2.</b> Curva de hidrólisis de la lactosa en leche pasteurizada	34
<b>Gráfica 3.</b> Viabilidad de cultivos probióticos en el dulce de leche con 0% m/m de inulina	38
<b>Gráfica 4.</b> Viabilidad de cultivos probióticos en el dulce de leche con 3,2% m/m de inulina	39
<b>Gráfica 5.</b> Viabilidad de cultivos probióticos en el dulce de leche con 6,4% m/m de inulina	39
<b>Gráfica 6.</b> Influencia de los probióticos en los rangos según la prueba de Kruskal-Wallis	41
<b>Gráfica 7.</b> Influencia de la fibra en los rangos según la prueba de Kruskal-Wallis	42

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>pág.</b>
<b>Anexo A.</b> Formato de evaluación sensorial para dulce de leche con panelistas entrenados	53
<b>Anexo B.</b> Reporte de análisis microbiológico: recuento de bacterias acidolácticas, día 1 (primer ensayo)	54
<b>Anexo C.</b> Reporte de análisis microbiológico: recuento de bacterias acidolácticas, día 30 (primer ensayo)	56
<b>Anexo D.</b> Reporte de análisis microbiológico: recuento de mohos y levaduras (primer ensayo) y recuento de bacterias acidolácticas (segundo ensayo)	57
<b>Anexo E.</b> Ficha técnica del cultivo probiótico L.casei-01	58
<b>Anexo F.</b> Ficha técnica del cultivo probiótico HAWARU Bifido LYO	61
<b>Anexo G.</b> Ficha técnica de la enzima $\beta$ -Galactosidasa	63
<b>Anexo H.</b> Ficha técnica de la inulina	64

## ANEXO A

### FORMATO DE EVALUACIÓN SENSORIAL PARA DULCE DE LECHE CON PANELISTAS ENTRENADOS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Nombre \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

#### Puntaje de los factores de calidad de arequipe

##### Apariencia y color

- 4 color característico, uniforme. Consistencia uniforme sin formación de cristales, grumos o espuma.
- 2 Color no uniforme y levemente desviado del característico, capas más claras, muy viscoso o muy fluido
- 1 Con cristales o grumos. Color demasiado oscuro. Con mohos.

##### Aroma y sabor

- 9 Característico, a caramelo, dulce.
- 5 Sabor y aroma levemente desviado del característico
- 1 Metálico, rancio, a sebo, a producto químico, quemado

##### Cuerpo y Textura

- 9 textura uniforme, suave, esparcible
- 5 grumos pequeños casi no detectables
- 1 Arenoso, con cristales, grumos grandes, separación de grasa o de suero, áspero, muy duro, muy blando, textura de caramelo.

Código muestra									
Apariencia y color									
Aroma y sabor									
Cuerpo y Textura									

##### Observaciones

---

---

---

## ANEXO B

# REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO: RECuento DE BACTERIAS ACIDOLÁCTICAS, DÍA 1 (PRIMER ENSAYO)



### REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO - INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA

Consecutivo No.

ID-101

#### I. Información del usuario

GYNNA ANGARITA ALDANA Nombre	01107339/20866486 Código / No. Cédula	07/10/2009 Fecha de recepción muestra
CARLOS F. NOVCA Director Trabajo	3144849954 Tel. Estudiante	PECTA Carrera / Curso
Desarrollo de dulce de leche con adición de fibra y probióticos Titulo Trabajo		

#### II. Identificación de la(s) muestra (s):

Código Muestra	No.	Cantidad	Identificación	Fecha de Producción	Análisis Solicitados
ID-101.1	1	100g	0/0	N.R	Recuento de Bacterias Acidolácticas
ID-101.2	1	100g	0/L	N.R	Recuento de Bacterias Acidolácticas
ID-101.4	1	100g	3,2/O I/P	N.R	Recuento de Bacterias Acidolácticas
ID-101.5	1	100g	3,2/L	N.R	Recuento de Bacterias Acidolácticas

Valores de referencia tomados de: NTC 1325, INVIMA

#### III. Resultados de los análisis de Laboratorio Microbiológico

ANÁLISIS	ID	MÉTODO	RESULTADO	* VALOR DE REFERENCIA
Recuento de bacterias acidolácticas	ID-101.1	Recuento en placa INVIMA No. 2	15X10 <sup>5</sup> UFC	/
Recuento de bacterias acidolácticas	ID-101.2	Recuento en placa INVIMA No. 2	31X10 <sup>5</sup> UFC	/
Recuento de bacterias acidolácticas	ID-101.4	Recuento en placa INVIMA No. 2	19X10 <sup>5</sup> UFC	/
Recuento de bacterias acidolácticas	ID-101.5	Recuento en placa INVIMA No. 2	279X10 <sup>5</sup> UFC	/

#### OBSERVACIONES:

1. Los resultados del presente reporte corresponden a la muestra suministrada por el usuario.
2. Este reporte solo puede ser reproducido en forma total con la debida autorización por escrito del Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos.

#### NOTA:

  
 GREGORIO HERNANDO MEDINA ROMERO  
 Analista - Laboratorio Microbiología

  
 MARTHA STELLA HOLGUIN HERNÁNDEZ  
 Bacterióloga

FIN DE REPORTE

C I E N C I A Y T E C N O L O G Í A P A R A E L P A Í S

Carrera 30 No. 45-03, Edificio 500C, piso 1  
 Conmutador: 57 (1) 316 50 00 ext. 19213  
 Telefax: Conmutador: 57 (1) 316 50 00 ext. 19205  
 Correo electrónico: inscta\_bog@unal.edu.co  
 Bogotá Colombia, Sur América



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE BOGOTÁ  
INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS  
LABORATORIO MICROBIOLOGÍA

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO - INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA

Consecutivo No.

ID-105

I. Información del usuario

HUGO ANTONIO PARADA SÁNCHEZ

Nombre

07732092/1032393113

Código / No.  
Cédula

13/10/2009

Fecha de recepción  
muestra

CARLOS FERNANDO NOVDA

Director Trabajo

3183651286

Tel. Estudiante

ZOOTECNIA

Carrera / Curso

Desarrollo de dulce de leche con adición de fibra y probióticos  
Titulo Trabajo

II. Identificación de la(s) muestra (s):

Código Muestra	No.	Cantidad	Identificación	Fecha de Producción	Análisis Solicitados
ID-105.1	1	130g	6,4/L	N.R	Recuento de Bacterias Acidolacticas
ID-105.2	1	130g	6,4/BIF	N.R	Recuento de Bacterias Acidolacticas

Valores de referencia tomados de: NTC 1325, INVIMA

III. Resultados de los análisis de Laboratorio Microbiológico

ANÁLISIS	ID	MÉTODO	RESULTADO	* VALOR DE REFERENCIA
Recuento de bacterias acidolacticas	ID-105.1	Recuento en placa INVIMA No. 2	143X10 <sup>3</sup> UFC	/
Recuento de bacterias acidolacticas	ID-105.2	Recuento en placa INVIMA No. 2	3X10 <sup>3</sup>	/

OBSERVACIONES:

- Los resultados del presente reporte corresponden a la muestra suministrada por el usuario.
- Este reporte solo puede ser reproducido en forma total con la debida autorización por escrito del Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos.

NOTA:

  
GREGORIO HERNANDO MEDINA ROMERO  
Analista - Laboratorio Microbiología

  
MARTHA STELLA HOLGUIN HERNÁNDEZ  
Bacterióloga

FIN DE REPORTE

ciencia y tecnología para el país

Carrera 30 No. 45-03, Edificio 500C, piso 1  
Conmutador: 57 (1) 316 50 00 ext. 19213  
Telefax: Conmutador: 57 (1) 316 50 00 ext. 19205  
Correo electrónico: inscta\_bog@unal.edu.co  
Bogotá Colombia, Sur América

## ANEXO C

### REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO: RECuento DE BACTERIAS ACIDOLÁCTICAS, DÍA 30 (PRIMER ENSAYO)



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO - INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA

Consecutivo No.

ID-116

**I. Información del usuario**

HUGO ANTONIO PARADA SÁNCHEZ

1032393113/732092

06/11/2009

Nombre

Código / No. Cédula

Fecha de recepción muestra

CARLOS FERNANDO NOVOA

2680280

ZOOTECNIA

Director Trabajo

Tel. Estudiante

Carrera / Curso

DESARROLLO DE AREQUIPE CON ADICIÓN DE FIBRA Y PROBIÓTICOS

Título Trabajo

**II. Identificación de la(s) muestra (s):**

Código Muestra	No.	Cantidad	Identificación	Identificación de la muestra	Análisis Solicitados
ID-116.1	1	130 g	Arequipe con adición de fibra y probióticos	O/L	Recuento de Bacterias Acidolácticas
ID-116.2	1	130 g	Arequipe con adición de fibra y probióticos	O/ BIFI	Recuento de Bacterias Acidolácticas
ID-116.3	1	130 g	Arequipe con adición de fibra y probióticos	3,2/ L	Recuento de Bacterias Acidolácticas
ID-116.4	1	130 g	Arequipe con adición de fibra y probióticos	3,2/BIFI	Recuento de Bacterias Acidolácticas
ID-116.5	1	130 g	Arequipe con adición de fibra y probióticos	6,4 L	Recuento de Bacterias Acidolácticas
ID-116.6	1	130g	Arequipe con adición de fibra y probióticos	6,4/ BIFI	Recuento de Bacterias Acidolácticas

**III. Resultados de los análisis de Laboratorio Microbiológico**

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADO	* VALOR DE REFERENCIA
Recuento de Bact Acido lácticas muestra 116.1	Recuento en placa INVIMA No. 2	183000 Ufc/ml	/
Recuento de Bact Acidolácticas para la muestra 116.2	Recuento en placa INVIMA No. 2	1440000 Ufc/ml	/
Recuento de Bact Acidolácticas para la muestra 116.3	Recuento en placa INVIMA No. 2	570000 Ufc/ml	/
Recuento de Bact Acidolácticas para la muestra 116.4	Recuento en placa INVIMA No. 2	1040000 Ufc/ml	/
Recuento de Bact Acidolácticas para la muestra 116.5	Recuento en placa INVIMA No. 2	1420000 Ufc/ml	/
Recuento de Bact Acidolácticas para la muestra 116.6	Recuento en placa INVIMA No. 2	1010000 Ufc/ml	/

**OBSERVACIONES:**

- Los resultados del presente reporte corresponden a la muestra suministrada por el usuario.
- Este reporte solo puede ser reproducido en forma total con la debida autorización por escrito del Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos.

*Gregorio Medina R*  
GREGORIO HERNÁNDO MEDINA ROMERO  
Analista - Laboratorio de Microbiología

*M. Stella Holguín Hernández*  
MARTHA STELLA HOLGUÍN HERNÁNDEZ  
Bacterióloga

FIN DE REPORTE

ciencia y tecnología para el país

Carrera 30 No. 45-03, Edificio 500C, piso 1  
Commutador: 57 (1) 316 50 00 ext. 19213  
Telefax: Commutador: 57 (1) 316 50 00 ext. 19205  
Correo electrónico: inscta\_bog@unal.edu.co  
Bogotá Colombia, Sur América

## ANEXO D

# REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO: RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS (PRIMER ENSAYO) Y RECUENTO DE BACTERIAS ACIDOLÁCTICAS (SEGUNDO ENSAYO)



### REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO - INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA

Consecutivo No.

128

**I. Información del usuario**

HUGO ANTONIO PARADA SÁNCHEZ	732092 / 1032393113	26/11/2009
Nombre	Código / No. Cédula	Fecha de recepción muestra
CARLOS FERNANDO NOVOA	2680280	ZOOTECNIA
Director Trabajo	Tel. Estudiante	Carrera / Curso

**ELABORACIÓN DE AREQUIPE CON ADICIÓN DE INULINA Y PROBIÓTICOS**

Título Trabajo

**II. Identificación de la(s) muestra (s):**

Código Muestra	No.	Cantidad	Identificación	Identificación de la muestra	Análisis Solicitados
ID. 128.1	1	130 g	Arequipe con adición de inulina y probióticos	3.2 / BIFI	Rto de Mohos y levaduras
ID. 128.2	1	200 g	Arequipe con adición de inulina y probióticos	3.2/ L	Rto de Bacterias acidolácticas
ID. 128.3	1	200 g	Arequipe con adición de inulina y probióticos	3.2/ B	Rto de Bacterias acidolácticas

**III. Resultados de los análisis de Laboratorio Microbiológico**

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADO	* VALOR DE REFERENCIA
Recuento de Mohos y levaduras 3.2/ BIFI	Recuento en placa INVIMA No. 7	<10 ufc/ml	10-100
Recuento de Bacterias Acidolácticas 3.2 / L	Recuento en placa INVIMA No. 2	26000 ufc/ml	/
Recuento de Bacterias Acidolácticas 3.2 / B	Recuento en placa INVIMA No. 2	266000 ufc/ml	/

**OBSERVACIONES:**

1 Los resultados del presente reporte corresponden a la muestra suministrada por el usuario.

2 Este reporte solo puede ser reproducido en forma total con la debida autorización por escrito del Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos.

NOTA: El producto se encuentra Dentro de las especificaciones de la norma para el análisis del recuento de Mohos y levaduras.

GREGORIO HERNANDO MEDINA ROMERO  
Analista - Laboratorio Microbiología

MARTHA STELLA HOLGUIN HERNÁNDEZ  
Bacterióloga

FIN DE REPORTE

ciencia y tecnología para el país

Carrera 30 No. 45-03, Edificio 500C, piso 1  
Conmutador: 57 (1) 316 50 00 ext. 19213  
Telefax: Conmutador: 57 (1) 316 50 00 ext. 19205  
Correo electrónico: inscta\_bog@unal.edu.co  
Bogotá Colombia, Sur América

## ANEXO E

### FICHA TÉCNICA DEL CULTIVO PROBIÓTICO L.CASEI-01



#### FD-DVS L.casei-01 nu-trish®

Información de Producto

Versión: 1 PI-EU-ES 04-09-2008

<b>Descripción</b>	Cultivo ácido láctico mesófilo. El cultivo es una cepa simple definida con una larga historia de uso seguro.		
<b>Taxonomía</b>	Lactobacillus paracasei		
<b>Envase</b>	<b>No Material:</b> 100088	<b>Tamaño</b> 5X25 G	<b>Tipo</b> Sobre (s) en caja
<b>Propiedades Físicas</b>	<b>Color:</b>	Blanco a ligeramente rojizo o marrón	
	<b>Aspecto Físico:</b>	Granulado	
<b>Aplicación</b>	<b>Uso</b> El cultivo es utilizado en la producción de productos lácteos fermentados. El cultivo es aplicado fundamentalmente en combinación con cultivos ácido lácticos como Streptococcus thermophilus o cultivos de yogur, pero puede también ser utilizado sólo. Una evaluación de riesgos y control de puntos críticos ha sido desarrollada para productos lácteos fermentados. Para otras aplicaciones una evaluación de riesgos debería ser completada antes de que el producto sea liberado para la venta ya que los riesgos para la seguridad alimentaria son distintos de los productos fermentados. <b>Dosis recomendada</b> Se recomienda que L.casei-01 sea inoculado de acuerdo con el recuento deseado de células probióticas en el producto final. Esto está influido por la caducidad, el pH y la temperatura de almacenamiento del producto final. Para los productos fermentados la interacción con otras cepas además del tiempo de fermentación y la temperatura pueden también afectar al recuento final de células probióticas.		

[www.chr-hansen.com](http://www.chr-hansen.com)

Página: 1 (3)

La información aquí contenida es según nuestro conocimiento verdadera y correcta, y presentada de buena fe. Puede sufrir modificaciones sin previo aviso. Ninguna garantía contra infracción o patentes está implícita o inferida. Esta información es ofrecida solamente para su consideración y verificación. Copyright © Chr. Hansen A/S. Todos los derechos reservados.



## FD-DVS L.casei-01 nu-trish®

Información de Producto

Versión: 1 PI-EU-ES 04-09-2008

**CHR HANSEN**

### Directivas para su uso

Sacar el cultivo del congelador justo antes de su utilización. No descongelar. Limpiar la parte superior del sobre con cloro. Abrir el sobre y añadir los gránulos liofilizados directamente al producto pasteurizado mientras se agita suavemente. Agitar la mezcla durante 10-15 minutos para distribuir el cultivo homogéneamente. La temperatura recomendada de incubación depende de la aplicación en la que se va a utilizar el cultivo. Para más información sobre aplicaciones específicas, por favor, consulte nuestros catálogos técnicos y recetas recomendadas.

**Gama** L.casei-01 está disponible en forma congelada y liofilizada.

**Almacenaje y manipulación** < -18 °C / < 0 °F.

**Vida útil** Como mínimo 24 meses desde la fecha de fabricación cuando se almacena siguiendo las recomendaciones.  
A +5°C (0°F) la caducidad es de como mínimo 6 semanas.

### Información técnica

#### Métodos analíticos

Los métodos de referencia y analíticos están disponibles bajo petición.

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

El producto está destinado a ser utilizado en alimentos.

**Seguridad alimentaria** No existe garantía de seguridad alimentaria implícita para aplicaciones de este producto distintas de las indicadas en la sección de utilización. Si desea utilizar este producto en otra aplicación por favor, contacte con su representante de Chr. Hansen para solicitar ayuda.

**Ingredientes** Disponible bajo requerimiento.

**Etiquetado** Etiquetado recomendado "cultivo ácido láctico" o "cultivo iniciador", sin embargo, la legislación puede variar. Por favor, consulte la legislación local.

[www.chr-hansen.com](http://www.chr-hansen.com)

Página: 2 (3)

*La información aquí contenida es según nuestro conocimiento verdadera y correcta, y presentada de buena fe. Puede sufrir modificaciones sin previo aviso. Ninguna garantía contra infracción de patentes está implícita o inferida. Esta información es ofrecida solamente para su consideración y verificación. Copyright © Chr. Hansen A/S. Todos los derechos reservados.*

---

## FD-DVS L.casei-01 nu-trish®

Información de Producto

Versión: 1 PI-EU-ES 04-09-2008

The logo for Chr Hansen, featuring the text "CHR HANSEN" in white on a dark blue rectangular background, with a small green diamond shape below the "H".

Marcas comerciales	Las marcas que aparecen en este documento pueden no estar registradas en su país, aun si poseen el signo ®. Las marcas son propiedad de Chr Hansen o usadas bajo licencia.
Certificados alimentarios	Kosher:                      Kosher Lácteo exclu. Pasoua
Servicio técnico	Personal de los Laboratorios de Aplicación y Desarrollo de Productos de Chr Hansen están a su disposición si necesita más información.

## ANEXO F

### FICHA TÉCNICA DEL CULTIVO PROBIÓTICO HAWARU Bifido LYO

CULTURES DIVISION  
cultures@danisco.com  
www.danisco.com

Seite 1 / 2

**DANISCO**

First you add knowledge ...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 201110-4.0DE

Materialnr. 13588064

**HOWARU™ Bifido LYO 40 DCU**  
HOWARU™ Premium Probiotics

#### Beschreibung

Konzentrierte, gefriergetrocknete Kultur für die Direktbeimpfung der Prozeßmilch

Einstammkultur

#### Gebrauchsanleitung

Vor dem Öffnen desinfizieren des Öffnungsbereiches mit Ethanol (ca. 70 %ig). Verpackung aufschneiden und Kultur unter aseptischen Bedingungen direkt in die Prozeßmilch geben. Es ist zu beachten, daß je Ansatz der gesamte Packungsinhalt zu verwenden ist, um eine gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten.

Für nicht bestimmungsgemäßen Einsatz kann keine Gewährleistung übernommen werden.

#### Zusammensetzung

Bifidobacterium lactis

#### Eigenschaften

Langsam säuernde Kultur. Sie bildet L(+)-Milchsäure und Essigsäure. HOWARU Bifido wurde nach einem Screening auf bedeutende in vitro Eigenschaften hin aus 2000 Stämmen ausgewählt. In mehreren Tier- und Humanversuchen wurde nachgewiesen, dass der Stamm das Immunsystem stärkt und zu einer gesunden Darmflora beiträgt.

#### Mikrobiologische Spezifikationen

Mikrobiologische Qualitätskontrolle - Standardwerte und Methoden [UM-]

Untersuchung der Kultur:

Keimzahl	$\geq 1,0E+11$ / DCU	[UM-006]
Nicht-Milchsäurebakterien	< 100 / g	[UM-030]
Enterobacteriaceae	< 1 / g	[UM-031]
Hefen und Schimmeln	< 10 / g	[UM-017]
Enterokokken	< 10 / g	[UM-033]
Staphylococcus aureus	< 1 / g	[UM-034]
Bacillus cereus*	< 10 / g	[UM-041]
Salmonellen*	neg. / 25 g	[UM-038]
Listerien*	neg. / 25 g	[UM-039]

\* wird nicht notwendigerweise für jedes Lot untersucht, wird aber durch das HACCP System sowie durch Betriebs- und Personahygiene gewährleistet.

#### Lagerung

12 Monate ab Produktionsdatum bei  $\leq -18$  °C

#### Verpackung

Verbundfolie aus PE, PET, Al

#### Reinheit und rechtlicher Status

HOWARU™ Bifido LYO 40 DCU erfüllt die von der EU-Gesetzgebung festgelegten Standards.

Die Bestimmungen zur Lebensmittelkennzeichnung sollten stets hinsichtlich des Status dieses Produktes zu Rate gezogen werden, da die Gesetzgebung betreffend der Verwendung in Lebensmitteln von Land zu Land unterschiedlich sein kann.

#### Sicherheit und Handhabung

Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich.

#### Koscher Status

Milch-Koscher

Die Informationen in diesem Dokument basieren auf unseren eigenen Forschungs- und Entwicklungsarbeiten und sind nach unserem besten Wissen zuverlässig. Anwender sollen jedoch eigene Tests durchführen, um die Eignung unserer Produkte für ihre spezifischen Zwecke zu gewährleisten, und sicherstellen, dass die gesetzlichen Bestimmungen für den angestrebten Einsatz der Produkte eingehalten werden. Die in diesem Dokument gemachten Aussagen stellen keine direkte oder indirekte Garantie dar. Es wird keine Haftung für mögliche Patentverletzungen übernommen.

**PRODUCT DESCRIPTION - PD 201110-4.0DE**

**Materialnr. 13588064**

**HOWARU™ Bifido LYO 40 DCU**  
HOWARU™ Premium Probiotics

**Allergene**

Die nachfolgende Tabelle gibt an, welche der folgenden Allergene und der daraus hergestellten Produkte enthalten sind:

Ja	Nein	Allergene	Beschreibung der Bestandteile
	X	Weizen	
	X	anderes glutenhaltiges Getreide	
	X	Krebs- und Schalentiere	
	X	Eier	
	X	Fisch	
	X	Erdnüsse	
	X	Soja	
X		Milch (einschließlich Laktose)	verwendet als Fermentationsnährstoff*
	X	Schalenfrüchte	
	X	Sellerie	
	X	Senf	
	X	Sesam	
	X	Schwefeldioxid und Sulfite (> 10 mg/kg)	
	X	Lupine	
	X	Weichtiere	

\* verwendet als Fermentationsnährstoff. Danisco stellt fest, daß die Fermentationsnährstoffe außerhalb des Geltungsbereichs der US-Regelungen und EU-Richtlinien zur Allergienkennzeichnung liegen.  
Regionale Bestimmungen sollten stets zu Rate gezogen werden, da die Kennzeichnungsanforderungen zur Allergienkennzeichnung von Land zu Land unterschiedlich sein können.

**Zusatzinformationen**

Die hier zusammengestellten Werte entsprechen den Ergebnissen aus den standardisierten Labor-Untersuchungen. Sie dienen ausschließlich zu Ihrer Orientierung. Unter Praxisbedingungen sind je nach Produkt und Technologie andere Ergebnisse zu erwarten. Ferner können aufgrund des technischen Fortschritts und laufender Produktoptimierung Änderungen der Standardwerte erforderlich werden.

**GMO Status**

HOWARU™ Bifido LYO 40 DCU besteht weder aus gentechnisch veränderten Organismen im Sinne der Europäischen Richtlinien (EU) 1829/2003 und 1830/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003, noch enthält es diese oder wurde daraus hergestellt.  
Für Rohmaterialien, die möglicherweise aus gentechnisch veränderten Organismen hergestellt sein können, haben wir von unseren Lieferanten schriftliche Bestätigungen erhalten, daß die Rohmaterialien nicht aus gentechnisch veränderten Organismen gemäß der Definitionen der o. g. Europäischen Richtlinien produziert werden.

Die Informationen in diesem Dokument basieren auf unseren eigenen Forschungs- und Entwicklungsarbeiten und sind nach unserem besten Wissen zuverlässig. Anwender sollten jedoch eigene Tests durchführen, um die Eignung unserer Produkte für ihre spezifischen Zwecke zu gewährleisten, und sicherstellen, dass die gesetzlichen Bestimmungen für den angestrebten Einsatz der Produkte eingehalten werden. Die in diesem Dokument gemachten Aussagen stellen keine direkte oder indirekte Garantie dar. Es wird keine Haftung für mögliche Patentverletzungen übernommen.

## ANEXO G

### FICHA TÉCNICA DE LA ENZIMA $\beta$ -GALACTOSIDASA

#### Maxilact® L 2000 Lactasa

DESCRIPCIÓN	Maxilact® L 2000 es una preparación purificada de lactasa líquida, derivada de la levadura láctica <i>Kluyveromices lactis</i> . Número internacional de la enzima: EC 3.2.1.23.
CARACTERÍSTICAS	
APARIENCIA:	Líquido amarillo ligeramente amarronado
ACTIVIDAD:	2000 NLU / g Un gramo de Maxilact® L 2000 contiene 2000 Unidades Neutras de Lactasa (NLU). Una NLU es la cantidad de enzima que formará 1 micromol ONP por minuto, bajo las condiciones de la prueba.
INHIBIDORES	Metales pesados, Sodio y Calcio
ACTIVADORES	Potasio, Magnesio y Manganeseo
EFFECTOS DE LA TEMPERATURA	A su pH óptimo, la temperatura óptima es de unos 35 - 40°C
EFFECTOS DEL pH	A una temperatura de 30°C, el pH óptimo se encontrará entre 6.3 y 6.7
ESTABILIDAD	La enzima debe de almacenarse en un lugar fresco (4 - 15°C), lejos de la luz solar directa y el envase cerrado. En estas condiciones la vida media del producto es de un año, sin pérdida de actividad.
APLICACIÓN	Hidrólisis de lactosa en leche y suero de leche.

## ANEXO H

### FICHA TÉCNICA DE LA INULINA

<b>NOMBRE:</b>	<b>INULINA</b>
<b>CÓDIGO:</b>	<b>821</b>
<b>INSTRUCCIONES PARA EL USO:</b> La INULINA es una fibra vegetal soluble (fructooligosacarido), extraída por procesos físicos de la raíz de Achicoria, la cual incrementa el valor nutricional a los alimentos, mientras aporta sabor y textura. Es un ingrediente reconocido como GRAS, no presenta niveles máximos de consumo, aunque cantidades excesivas como 30g día puede generar procesos diarreicos, y desde 3g diarios se pueden obtener efectos prebióticos.	
<b>INGREDIENTES:</b> Carbohidratos solubles de la raíz de achicoria.	
<b>ALERGENOS*:</b> No Aplica.	

\*Pueden causar hipersensibilidad en algunas personas susceptibles a estos componentes

<b>ESPECIFICACIONES</b>		
<b>REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>MÉTODO DE INSPECCIÓN Y</b>
ASPECTO	Polvo fino granulado.	EO-CC-11
COLOR APARENTE	Blanco.	EO-CC-12
OLOR	Característico.	EO-CC-13
SABOR	Neutro a ligeramente dulce.	EO-CC-14

<b>REQUISITOS FÍSICOQUÍMICOS</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>MÉTODO DE INSPECCIÓN Y</b>
TOTAL CARBOHIDRATOS (%)	Min. 96	ND
TOTAL FIBRA DIETARIA (%)	Min. 88	ND
AZUCARES (%)	Min. 8	ND
TOTAL MATERIA SECA (%)	Min. 95.0	ND
CENIZAS (%)	Máx. 0.3	ND
pH	5.0 – 7.0	ND
Calorías por gramo de inulina	1 Kcal	ND

<b>REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>MÉTODO DE INSPECCIÓN Y</b>
RTO. DE MESÓFILOS ufc/g	Máx. 1000	EO-CC-03
RTO MOHOS Y LEVADURAS ufc/g	Máx. 20	EO-CC-04
NMP DE COLIFORMES FECALES ufc/g.	< 3.0	EO-CC-05
SALMONELLA / 25 gramos	Negativo	EO-CC-09

### **CARACTERÍSTICAS CRÍTICAS**

Las características críticas de la INULINA son el aspecto, el color, olor, sabor, ph y fibra total.

### CONDICIONES DE EMPAQUE Y EMBALAJE

La INULINA se empaqa por 20kg en saco multi-capas de papel, debidamente identificado con código, nombre del producto, peso neto, número de lote, fecha de producción y fecha de vencimiento.

Nota: puede empacarse en otra cantidad requerida por el cliente, en un empaque que garantice su conservación (sujeto a negociación).

### CONDICIONES DE CONSERVACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La INULINA debe almacenarse sobre plataformas elevadas del piso, en bodegas cubiertas, en ambientes secos, con buena ventilación y a temperatura ambiente.

En las bodegas de almacenamiento se debe contar con un plan integral de control de plagas, limpieza y buenas prácticas de manufactura.

Una vez se abra el empaque, para emplear una parte, se debe cerrar inmediatamente para evitar la exposición a la humedad del ambiente, la pérdida de aromas y la contaminación microbiana.

Este producto se debe transportar en vehículos limpios, se debe colocar sobre estibas, nunca sobre el piso del vehículo, no se debe transportar con sustancias tóxicas, químicos o animales.

### VIDA ÚTIL

La INULINA tiene una vida útil de doce (12) meses en su empaque original, siempre y cuando se someta a los requisitos de conservación, almacenamiento y transporte recomendados.