

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INULINA EN YOGURT CON
PROBIÓTICOS POR MEDIO DEL DISEÑO Y MONTAJE DE PRUEBAS PARA
ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO**

**NADIA MAYERLY ARDILA SANTAMARIA
ERIKA CONSTANZA PARRA MANTILLA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA
2007**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INULINA EN YOGURT CON
PROBIÓTICOS POR MEDIO DEL DISEÑO Y MONTAJE DE PRUEBAS PARA
ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO**

**NADIA MAYERLY ARDILA SANTAMARIA
ERIKA CONSTANZA PARRA MANTILLA**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar por el título de
Ingeniero Químico

Director

LEONARDO ACEVEDO DUARTE

Ph.D. Ingeniero Químico

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2007

A Dios por ayudarme a escoger el mejor camino y no desfallecer.

*A mis padres Aymer y Nubia, por ser mis amigos en los éxitos y dificultades,
por enseñarme lo valiosa que es la vida, por brindarme una caricia en el momento indicado y por
miles y miles de motivos más que no encuentro manera de agradecer.*

*A las personas que me quieren, me apoyan, me cuidan, me piensan y siempre están pendientes de
mí.*

A mis amigos, por todo lo que pude aprender de ellos.

Nadia

A Dios, por escucharme, por darme felicidad, por tranquilizar mi corazón en los momentos de angustia y colocarme en el momento y lugar indicado para triunfar.

A mi mami, por sus enseñanzas, por su constancia para no dejarme decaer en los momentos más difíciles, por su disciplina y apoyo, además por su sacrificio y entrega para permitirme llegar tan alto.

A mi papi y mi hermano William, que desde el cielo me dieron su apoyo porque en mi mente y mi corazón siempre estuvo presente su cariño y amor.

A mi amiga Natallie por estar pa`las que sea desde el colegio y por dejarme dormida en sus practicas de violín, pero ante todo gracias por apoyarme y escucharme siempre.

A mis amigos de la universidad por su aguante, por esas extensas jornadas de estudio, las caminatas a las cascadas, los asados y su comprensión.

A mi amiga Eddy por levantarse a las dos de la mañana para estudiar, por siempre estar ahí, para hablar, para escucharme, en fin por ser una buena amiga.

A Morcho, por ser tan especial, por hacerme sonreír, por sus cuidados, su comprensión y su apoyo en esta etapa tan importante en mi vida.

Erika

AGRADECIMIENTOS

Las autoras expresan sus agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Agroindustriales CIAGRO, la Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico y la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad Industrial de Santander UIS, por permitirnos el uso de sus instalaciones.

A la Profesora Alba Lucia Arámbula, por sus enseñanzas, dedicación y constancia.

Al Ingeniero Cesar Espinel y a la Ingeniera Luz Helena Villamizar, por sus aportes y asesoría.

Al Profesor Leonardo Acevedo, por su dirección del proyecto.

Al Profesor Jorge Enrique Vega y la Universitaria de Santander UDES por su valiosa colaboración.

A Eduardo y Wilson por con este proyecto de grado.

A la Universidad Industrial de Santander y a la Escuela de Ingeniería Química por brindarnos la formación profesional.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. GENERALIDADES	2
1.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	2
1.1.1 Yogurt	2
1.1.1.1 Historia	3
1.1.1.2 Beneficios del yogurt	4
1.1.1.3 Concepto de probiótico	4
1.1.1.4 ¿Qué se considera un alimento probiótico?	4
1.1.2 Prebióticos	5
1.1.2.1 Concepto de prebiótico	5
1.1.2.2 ¿Qué se considera un alimento prebiótico?	5
1.1.2.3 ¿Qué prebióticos se conocen?	6
1.1.2.4 ¿Qué es la inulina?	6
1.1.2.5 Descripción química de la inulina	7
1.1.2.6 Efectos saludables de la inulina	7
1.1.2.7 ¿Qué diferencia existe entre los probióticos y los prebióticos?	8
1.2 DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	9
1.2.1 Planteamiento del problema	9
1.2.2 Justificación	9
1.2.3 Análisis de antecedentes	9
1.2.4 Limitaciones y alcances	11
1.2.5 Objetivo	11
1.2.6 Planteamiento inicial de la metodología	11

1.2.6.1	Análisis fisicoquímico	11
1.2.6.2	Análisis microbiológico	11
1.2.6.2.1	Medida de la masa celular	12
1.2.6.2.2	Recuento de microorganismos	13
2.	METODOLOGIA DEL PROYECTO	14
2.1	ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE YOGURT CON INULINA	14
2.1.1	Etapas del diagrama de flujo para la elaboración industrial de yogurt con inulina	14
2.1.2	Montajes realizados para las pruebas al yogurt industrial con inulina	18
	<u>Prueba 1.</u> Análisis Fisicoquímico	19
2.2	ELABORACIÓN A ESCALA DE LABORATORIO DE YOGURT	19
2.2.1	Etapas del diagrama de flujo para la elaboración a escala de laboratorio de yogurt	19
2.2.2	Montajes para realizar pruebas al yogurt a escala de laboratorio	21
	<u>Prueba 1.</u> Análisis Fisicoquímico	21
	<u>Prueba 2.</u> Estudio del comportamiento de las variables con el tiempo en la etapa de fermentación	22
	<u>Prueba 3.</u> Conteo de microorganismos por el método de turbidimetría	23
	<u>Prueba 4.</u> Conteo de microorganismos viables	23
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	27
3.1	ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE YOGURT CON INULINA	27
3.1.1	Etapas del diagrama de flujo para la elaboración industrial de yogurt con inulina	27
3.1.2	Montajes realizados para las pruebas al yogurt industrial con inulina	29

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características de la leche entera	15
Tabla 2. Flujo, Temperatura y Presión de las corrientes involucradas en el proceso	28
Tabla 3. Comportamiento de la acidez con el tiempo	29
Tabla 4. Análisis fisicoquímico del Yogurt TIPO 1	30
Tabla 5. Análisis fisicoquímico del Yogurt TIPO 2	31
Tabla 6. Comportamiento de las variables durante el tiempo de fermentación del Yogurt TIPO 1	31
Tabla 7. Comportamiento de las variables durante el tiempo de fermentación del Yogurt TIPO 2	31
Tabla 8. UFC/ml de <i>S.thermophilus</i> y <i>L. delbrueckii subsp. lactis</i> , y <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> en el respectivo medio de cultivo	33

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura química de la inulina	7
Figura 2. Elaboración industrial de yogurt con inulina con los puntos de control del proceso	16
Figura 3. Elaboración de Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2 a escala de laboratorio	20
Figura 4. Montaje utilizado para la fermentación	23
Figura 5. Preparación del ROGOSA Agar y M-17 Agar	24
Figura 6. Cultivo de microorganismos en su respectivo medio de cultivo	25
Figura 7. Campana de anaerobiosis	26
Figura 8. Esquema del proceso para la obtención industrial del yogurt con inulina	28
Figura 9. Comparación del comportamiento de la acidez de diferentes sabores de yogurt con el tiempo	29
Figura 10. Comparación de la formación de ácido láctico durante el tiempo de fermentación entre el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2	32
Figura 11. Comparación de °Brix durante el tiempo de fermentación entre el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2	32
Figura 12. Comparación de pH durante el tiempo de fermentación entre el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2	33
Figura 13. Comparación de UFC /ml de <i>L. delbrueckii subsp. lactis</i> y <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> . En dilución 10^{-4} UFC /ml	34
Figura 14. Comparación de UFC /ml de <i>S. thermophilus</i> . En dilución 10^{-4} UFC /ml	34
Figura 15. Microorganismos probióticos en el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2	35

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Microorganismos Probióticos	41
ANEXO B. Ficha técnica del cultivo	43
ANEXO C. Ficha técnica de la inulina	45
ANEXO D. Control de Calidad	47
ANEXO E. Ficha técnica de ROGOSA Agar	49
ANEXO F. Ficha técnica de M-17 Agar	50
ANEXO G. Análisis fisicoquímico del yogurt obtenido	51

RESUMEN

TÍTULO: EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA INULINA EN YOGURT CON PROBIÓTICOS POR MEDIO DEL DISEÑO Y MONTAJE DE PRUEBAS PARA ANÁLISIS FISCOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO*

Autores: ARDILA SANTAMARIA N. M., PARRA MANTILLA E. C. **

Palabras claves

inulina, prebióticos, probióticos, yogurt, leche

Resumen ***

El presente trabajo de investigación tiene por objeto el desarrollo experimental para la elaboración de yogurt con probióticos utilizando fermentos lácticos concentrados para inoculación directa con la adición de inulina como fibra prebiótica.

Para obtener el yogurt con probióticos adicionado con inulina se hace un desarrollo experimental que se resume en un diagrama de flujo con las etapas del proceso de elaboración y estandarización. Se hicieron pruebas al yogurt industrial con inulina para determinar propiedades fisicoquímicas.

Debido a que eran muchas las variables involucradas en el proceso de elaboración del yogurt industrial con inulina se decidió hacer un yogurt a escala de laboratorio al que solo se le agregaba inulina, con el fin de tener una sola variable a cuantificar y analizar: El efecto de la inulina adicionada al yogurt. Se hicieron pruebas para determinar propiedades fisicoquímicas y microbiológicas.

Los ensayos al yogurt de laboratorio se diferencian así:

Yogurt TIPO 1. Leche con fermento láctico.

Yogurt TIPO 2. Leche con fermento láctico con inulina.

Los dos tipos de yogurt se obtuvieron bajo las mismas condiciones de proceso: la materia prima, la selección de las etapas y variables del proceso. Se hizo un estudio del comportamiento de las variables fisicoquímicas con el tiempo y los resultados no mostraron diferencias significativas entre el Yogurt TIPO 1 y el Yogurt TIPO 2. Se hicieron pruebas por el método turbidimétrico para medir cantidad de microorganismos y los resultados no cumplieron con el objetivo planteado.

En los ensayos por conteo de microorganismos viables se determinó la supervivencia de los microorganismos lácticos del yogurt y si éstos tenían el perfil de las cepas de *S. Thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. Lactis*, *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus*. Se obtuvieron los diferentes tipos de colonias resultantes en los medios para *L.* y *S.* lácticos. Se hizo el recuento del número de microorganismos totales que crecían en los medios para *L.* y *S.* lácticos. El análisis de los resultados mostró diferencias significativas entre el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2.

* Tesis de grado

** Facultad de Fisicoquímicas, Escuela de Ingeniería Química, Ph.D. Leonardo Acevedo Duarte.

***.Abreviaciones: L, Lactobacillus; S, Streptococcus

ABSTRACT

TITLE: EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF THE INULIN IN YOGURT WITH PROBIOTIC BY MEANS OF THE DESIGN AND ASSEMBLY OF PROOFS FOR PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ANALYSIS*

Authors: ARDILA SANTAMARIA N. M., PARRA MANTILLA E. C.**

Key words

inulin, prebiotic, probiotic, yogurt, milk

Description***

This work has the intention to do the experimental development of yogurt elaboration with probiotic using ferments concentrated for direct inoculation with the addition of inulin as fiber prebiotic.

The experimental development is showed in the flow chart with the steps of elaboration and standardization. The industrial yogurt with inulin was characterized with physicochemical analysis.

The elaboration process of commercial yogurt has many variables due to the commercial yogurt was done to laboratory scale and it was added the inulin, therefore the only variable analyzed and quantified was the effect of inulin added to yogurt also the physicochemical and microbiology proof was done to the commercial yogurt.

The test to laboratory yogurt were:

- Yogurt TYPE 1. Milk with lactic ferment.
- Yogurt TYPE 2. Milk with lactic ferment and inulin.

Both yogurt was done at the same conditions process: the raw material, the process stages and the process variables. The behavior of physicochemical variable with the time was studied and the results did not show significant differences between the Yogurt TYPE 1 and Yogurt TYPE 2.

The test for count of viable microorganism determined the survival of the lactic microorganism in the yogurt and if these had the profile of the vine-stocks of *S. Thermophilus*, *L. delbruekii supsp. Lactis*, *L. delbruekii supsp. Bulgaricus*. The were obtained the different types of resultant colonies in the environment for *L.* and *S. lactic*. The was done the re-count of the number of total microorganisms that were growing in the means for *L.* and *S. lactic*. The analysis of the results did show significant differences between the Yogurt TYPE 1 and Yogurt TYPE 2.

* Undergraduated thesis

** Faculty of Physic-chemical, School of chemical engineering, Ph.D. Leonardo Acevedo Duarte

*** Abbreviations: L, Lactobacillus; S, Streptococcus

INTRODUCCIÓN

Existen estudios relacionados con la adición de probióticos y prebióticos a los alimentos y la forma en que se incrementa su uso para el desarrollo de productos que promuevan beneficios nutricionales.

Sin embargo, existe poca información disponible sobre los desafíos tecnológicos de la industria en adicionar estos probióticos y prebióticos a los alimentos, por consiguiente, el objetivo de este trabajo es examinar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de un yogurt realizado por las mismas autoras del proyecto al que se le adiciona inulina y a través del diseño y montaje de pruebas poder verificar los estudios científicos relacionados.

Los microorganismos probióticos que se evaluaron fueron los *S. thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* y el prebiótico a adicionar fue la inulina.

El primer capítulo de este trabajo son las generalidades, en ella se encuentra la fundamentación teórica y la descripción del proyecto, posteriormente en el segundo capítulo se describe la metodología del proyecto llevada a cabo para la elaboración de yogurt con inulina de forma industrial y a escala de laboratorio y finalmente, el tercer capítulo presenta los resultados obtenidos, así como la discusión de los mismos, las conclusiones y recomendaciones.

1. GENERALIDADES

1.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1.1 Yogurt

De acuerdo al Codex Alimentarius^{*}, el yogurt se define como el producto de leche coagulada obtenida por fermentación láctica mediante la acción de dos microorganismos lácticos, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* y *S. thermophilus* a partir de la leche y son responsables de la acidificación del medio.

Numerosos productos alimenticios deben su producción y características a las actividades fermentativas de microorganismos. Algunos alimentos como los quesos, yogurt, encurtidos, entre otros, son productos conservados cuya durabilidad se prolonga considerablemente con respecto a la de la misma materia que están hechos. Además de hacerlos mas durables, todos los alimentos fermentados tienen un aroma y sabor característico que resulta de los organismos fermentadores. En algunos casos, el contenido de vitaminas del alimento fermentado aumenta a la vez que también aumenta la digestibilidad de las materias primas.

El yogurt se produce con un cultivo iniciador de yogurt, que es un cultivo mixto de *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* y *S. thermophilus* en la proporción 1:1. Aunque pueden crecer independientemente, el grado de producción de ácido láctico es mucho más alto cuando se utilizan ambos que cuando se utilizan individualmente. Inicialmente, el *S. thermophilus* crece más rápido que el *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* y es principalmente responsable de la producción

* Comisión creada para desarrollar normas y reglamentos alimentarios de uso internacional.

inicial de ácido, sin embargo, durante la fermentación, después de más o menos 3 horas las cantidades de microorganismos deben ser aproximadamente iguales.

El pH de la leche es de 6,8 y el *S. termophilus* se desarrolla más rápido produciendo ácido fórmico y dióxido de carbono, bajando así el pH hasta 5,0 aproximadamente. De este modo se estimula el crecimiento del *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. Al mismo tiempo, el desarrollo del *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* favorece el crecimiento del *S. termophilus* por la producción de nutrientes como ácido láctico, péptidos y aminoácidos. Entre tanto el *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* es el responsable del descenso del pH hasta 4,0 y esta aparición del ácido láctico es el que provoca el descenso del pH, que a su vez es el responsable de la coagulación de la leche.¹

Estos microorganismos son los responsables finalmente de la formación de aroma y textura típicos del yogur. Entre los compuestos responsables del aroma típico del yogur se encuentran: acetaldehído, acetoina, diacetilo, etanol.

1.1.1.1 Historia

La historia del yogurt se remonta a miles de años; el primer ejemplo de leche acidificada fue presumiblemente producido en forma accidental por los nómadas. La leche se volvía ácida y coagulaba bajo la influencia de ciertos microorganismos; posteriormente, el consumo de yogurt se fue incrementando cada vez más, principalmente en Europa Oriental y después en el resto del mundo².

A fines del siglo XIX, con el advenimiento de la industria lechera en los países occidentales, se inició el interés por los productos lácteos fermentados. Se dio gran importancia a la calidad de los fermentos y a las condiciones higiénicas de su producción, para controlar totalmente la elaboración y obtener finalmente un producto de calidad uniforme. Actualmente la tecnología de elaboración de yogurt

está al alcance de todo el mundo y se produce en forma industrial, semi-industrial o artesanal.

1.1.1.2 Beneficios del yogurt

Desde el punto de vista nutricional el yogurt es un excelente producto alimenticio de alto valor biológico, presenta un considerable enriquecimiento del patrimonio vitamínico, en especial de las vitaminas del complejo B, además de la presencia de ácido láctico que aumenta la disponibilidad de elementos, como el calcio y fósforo.

El yogurt es un alimento de fácil digestibilidad, la caseína que es la principal proteína de la leche es parcialmente hidrolizada en el proceso de fermentación, por tanto el organismo lo asimila con mayor facilidad. La lactosa, que es el azúcar de la leche es transformada en ácido láctico.

En aquellas personas cuyo sistema digestivo carece de la enzima lactasa, la lactosa no es descompuesta en azúcares más simples. Estas personas no pueden beber leche entera, sin embargo pueden tomar yogurt, en el cual la lactosa ha sido desdoblada por las enzimas bacterianas. Se han desarrollado y se continúan realizando diferentes investigaciones referente a las propiedades terapéuticas del yogurt y otras leches fermentadas, razón por la cual el consumo de este tipo de productos sigue creciendo en todo el mundo.

1.1.1.3 Concepto de probiótico

Se define probiótico como “suplemento alimentario vivo que afecta de forma ventajosa al huésped animal, mejorando su equilibrio intestinal microbiano”.^{3,4}

1.1.1.4 ¿Qué se considera un alimento probiótico?

Un alimento probiótico, según Lee y Salminen⁵, es aquel que cumple una serie de requisitos muy específicos, tales como:

- Los microorganismos activos que lo componen deben sobrevivir al ambiente ácido del estómago, a la presencia de sales biliares y al proceso digestivo.
- Sus componentes deben ser capaces de colonizar el intestino y formar una barrera protectora contra bacterias patógenas como la *Escherichia coli*, la *Salmonella*, la *Staphilococcus*, la *Cándida*, etc.
- Ha de ayudar a metabolizar los carbohidratos y a absorber las vitaminas en el tracto intestinal.
- Debe disminuir y prevenir el riesgo de contraer enfermedades además de mejorar el estado de salud.

El anexo A describe los microorganismos probióticos *S. thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* utilizados en este trabajo de investigación.

1.1.2 Prebióticos

1.1.2.1 Concepto de Prebiótico

Un prebiótico se define como “un ingrediente alimenticio no digerible que produce un efecto benéfico en el hospedador al estimular el crecimiento selectivo y/o la actividad metabólica de un número limitado de bacterias en el colon”.⁶

1.1.2.2 ¿Qué se considera un alimento prebiótico?

Los prebióticos son hidratos de carbono, no digeribles, no absorbibles y fermentables por las bacterias del colon, incluidos dentro de la clasificación de fibra dietética. Para que un ingrediente alimenticio pueda ser clasificado como prebiótico, según Roberfroid⁷, debe cumplir los siguientes criterios o requisitos:

- No debe ser hidrolizado u absorbido en la parte superior del tracto gastrointestinal, es decir, llegar intactos al intestino.
- Debe ser de origen vegetal.

- Debe ser un substrato selectivo tanto para uno o varios microorganismos benéficos al colon, que son estimuladas en su crecimiento y/o metabólicamente activados.

1.1.2.3 ¿Qué prebióticos se conocen?

Los prebióticos son sustancias no digeribles que se encuentran en los alimentos. La mayor parte de ellos se incluyen en el grupo de los fructanos. Entre los prebióticos más estudiados se encuentra la inulina y los fructooligosacáridos. Estos se encuentran naturalmente en algunos vegetales como la cebolla, ajo, puerros y frutos como la banana, y en cereales⁸.

En la actualidad se adicionan a diferentes productos alimenticios, como los lácteos para aprovechar sus propiedades. Se han descrito los siguientes productos prebióticos que puede dar un valor agregado a los alimentos.⁹

- Inulina
- Fructooligosacáridos
- Galactosacáridos
- Lactulosa
- Lactilol

1.1.2.4 ¿Que es la inulina?

La inulina es un polisacárido que se puede extraer de plantas de distintas familias *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* y *Compositae*, aunque la principal fuente de inulina es la achicoria (*Cichorium intybus*). De esta planta se obtiene un polisacárido complejo [α-D-glucopyranosil-(β-Dfructofuranosyl) n-1β-D-fructofuranósido], con un número de fructosas comprendidas entre 2 y 70.¹⁰

La inulina nativa es procesada en la industria alimentaría y transformada en fructanos (fructooligosacáridos ó FOS) de cadena corta con un grado de

polimerización entre 2 y 10 (normalmente 5) como resultado de la hidrólisis enzimática parcial por la inulinasa.

1.1.2.5 Descripción química de la inulina

La inulina es una cadena lineal de unidades de fructosa con una molécula de glucosa terminal, esta cadena de fructosas está unida por enlaces β (2-1), cuya estructura se puede representar con esta fórmula: GF_n

G = unidad de glucosa

F = unidad de fructosa

n = número de unidades de fructosa

La estructura química se muestra en la figura 1.

Figura 1. Estructura química de la inulina

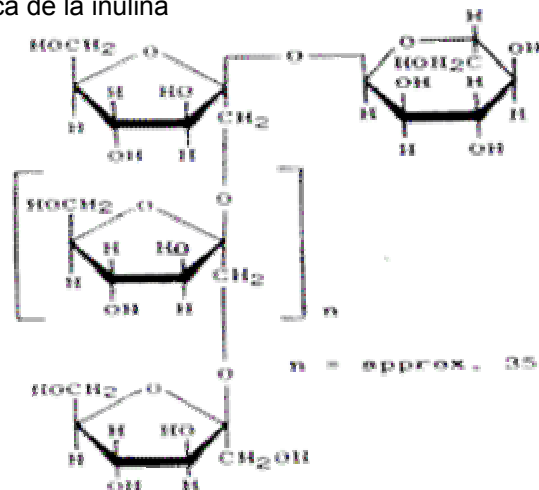


Imagen tomada de: www.qmc.ufsc.br/.../batata_yacon.html

1.1.2.6 Efectos saludables de la inulina

La inulina no es absorbida por el intestino delgado, ya que la inulina tiene enlaces predominantes β (2-1)^{*,11} entre las unidades de la fructosa que no son atacados por los procesos enzimáticos normales y llegan de esta forma inalterada al

* Fructanos con enlaces predominantes β (2-1) se denominan inulinas.

intestino grueso. En ese momento los probióticos que poseen las enzimas necesarias para romper los enlaces β (2-1) pueden fermentar la inulina y utilizar su energía para su multiplicación y proliferación.¹²

Esta es la razón por la que la inulina no aumenta la glicemia ni el nivel de insulina en la sangre; es por esta razón que pueden ser utilizadas también por diabéticos. En el colon, una parte de la inulina se transforma en ácidos grasos de cadena corta, o sea sustancias muy energéticas que tienen importantes efectos de nutrición de la mucosa intestinal.

Los prebióticos promueven el crecimiento de ciertas bacterias incluyendo especies que pueden ser tanto dañinas como benéficas¹³. La ingestión de prebióticos es causa de la formación de ácidos orgánicos de cadena corta en el colon, debido a la fermentación de los mismos, y el descenso de pH en el intestino aumenta la ionización de elementos como el calcio y el magnesio lo que facilita su absorción por difusión pasiva.

En conclusión, el consumo de prebióticos reduce el riesgo de contraer determinadas enfermedades¹⁴, incluyendo:

- Supresión de diarreas asociadas a infecciones intestinales.
- Reducción del riesgo de osteoporosis, pues la inulina favorece la fijación del calcio, aumentando la masa ósea.
- Reducción del riesgo de obesidad y de contraer diabetes.
- Disminución en la aparición de cáncer de colon.
- Reducción de los niveles de triglicéridos, colesterol y lipoproteínas.

1.1.2.7 ¿Qué diferencia existe entre los probióticos y los prebióticos?

Tanto los prebióticos como los probióticos logran beneficios sobre nuestra salud, promoviendo el desarrollo de la flora benéfica y previniendo la colonización de bacterias patógenas.¹⁵

Se diferencian en que los probióticos son alimentos que contienen microorganismos vivos no patógenos y los prebióticos son componentes no digeribles que son sustrato selectivo para estos microorganismos.¹⁷

1.2 DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

1.2.1 Planteamiento del problema

El desarrollo tecnológico ha generado avances importantes para elaborar y obtener yogurt en diferentes presentaciones tales como yogurt con frutas, yogurt bajo en grasa, yogurt deslactosado y yogurt con probióticos.

Entre las variedades de yogurt ofrecidos en el mercado se podría agregar a la lista el de yogurt con inulina, pero se desconocía la viabilidad y los diseños experimentales en la elaboración y obtención de este yogurt.

1.2.2 Justificación

Es interesante realizar un diseño experimental para elaborar yogurt con probióticos e inulina y hacer el diseño y montaje de pruebas que permitan evaluar el efecto de la inulina en este yogurt e identificar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas.

1.2.3 Análisis de antecedentes

El análisis de antecedentes se basa en los probióticos y su influencia en el organismo, puesto que en este proyecto para determinar los efectos de la inulina, se evalúan los microorganismos probióticos *S. thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*.

En la actualidad existen diversos estudios científicos que muestran el comportamiento de los probióticos en el organismo. Por esta razón se presenta una discusión de los estudios científicos relacionados.

La característica que define a un microorganismo como probiótico es que pueda sobrevivir a los efectos de los jugos gástricos y las sales biliares, llegando activo al intestino grueso para llevar a cabo sus funciones benéficas. Diversos experimentos tanto *in vitro* como *in vivo*, muestran la falta de resistencia al ácido y a la bilis de *L. delbrueckii* subs. *bulgaricus* y *S. thermophilus*. Tras comparar muchas especies en su resistencia a la acidez gástrica, Gilliland¹⁷, llega a la conclusión de que *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* no podría sobrevivir a la primera hora de exposición. Posteriormente el mismo autor¹⁸, opinaba que los microorganismos del yogurt no sobrevivirían, ni crecerían en el tracto intestinal por su falta de resistencia a la bilis. Además, la resistencia en el estómago debería extenderse a los 90 min que es el tiempo medio de vaciado gástrico para los productos lácteos y resistir la bilis al llegar al intestino delgado¹⁹.

En estudios *in vivo*, la resistencia del *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* en jugo gástrico solo ha llegado a los 40 min²⁰. Si *L. delbrueckii* subs. *bulgaricus* y *S. thermophilus* no cumplen esta condición de llegar y asentarse en el tubo digestivo, el denominado yogurt, no sería una leche fermentada por microorganismos probióticos²¹. Una afirmación que se contradice con las efectuadas por un grupo de investigadores italianos encabezados por Brigidi²², aseguran que los microorganismos del yogurt sí logran llegar al intestino grueso cuando se toman en cantidades elevadas. Así lo prueba el hecho de que se hayan encontrado esos microorganismos intactos en las heces de sujetos sanos a los que se suministró diariamente durante diez días una dieta elevada de leche fermentada con los microorganismos del yogurt.

Hay que añadir que la mayoría de los estudios sobre probióticos se efectúan usando gérmenes vivos. Sin embargo, según Vanderhoof²³, los gérmenes muertos y hasta componentes de gérmenes son suficientes para estimular reacciones inmunitarias.

La adición de inulina al yogurt fue estudiada por Zuleta, en donde hace comparaciones de leche fermentada con mandioca (yuca) y con inulina, usando *L.* y *S. thermophilus*.

1.2.4 Limitaciones y alcances

Este proyecto de investigación tiene la intención de desarrollar experimentalmente un yogurt con probióticos con la adición de inulina, y hacer el diseño y montaje de pruebas para análisis fisicoquímico y microbiológico que permitan evaluar el efecto de la inulina en este yogurt.

1.2.5 Objetivo

Realizar una evaluación del efecto de la inulina en yogurt con probióticos por medio del diseño y montaje de pruebas para análisis fisicoquímico y microbiológico.

1.2.6 Planteamiento inicial de la metodología

El planteamiento inicial de la metodología es una información teórica sobre el diseño y los montajes realizados para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos del yogurt con inulina.

1.2.6.1 Análisis fisicoquímico

El análisis fisicoquímico se realiza con el fin de conocer algunas características fisicoquímicas de la leche entera y del yogurt como la densidad, acidez y pH.

1.2.6.2 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realiza con el objetivo de medir la cantidad de microorganismos que crecen en el yogurt y compararla con los que crecen en un yogurt al que se le adiciona inulina.

Para realizar el análisis microbiológico se debe contar con un medio apropiado física y nutricionalmente ya que los nutrientes absorbidos y metabolizados permiten crecer al microorganismo. Las condiciones que influyen en el crecimiento son ambientales (pH, T, O₂, CO₂), nutricionales (% Concentración) y metabólicas.

El crecimiento de los microorganismos se mide por cambios sucesivos en el número de células o por el peso de la masa de las células. Existen varios métodos para contar las células o estimar la masa de éstas.^{24,25} Entre ellos la medida de la masa celular y el recuento de microorganismos.

1.2.6.2.1 Medida de la masa celular

En muchos estudios es necesario determinar el peso de las células más que el número. Sin embargo, debido a que la masa celular es proporcional al número se puede utilizar la determinación de un parámetro para estimar otro. Para determinar el número de microorganismos se puede utilizar el siguiente método:

- Turbidimetría

La medida de la turbidez ha sido utilizada para estudiar el crecimiento microbiano como una medida de la concentración. Los microorganismos (y cualquier otra materia suspendida), absorben y dispersan la luz transmitida la cual es medida de una frecuencia fija registrando así los cambios turbidimétricos del medio de cultivo líquido al relacionarlo con el control estéril, cambios cualitativos que indican el crecimiento microbiano y los mismos pueden ser cuantificables cuando son calibrados contra parámetros cuantificables conocidos, tales como el conteo celular y/o el peso seco²⁶. El Método Turbidimétrico es incluido en la mayoría de las diferentes revisiones sobre métodos rápidos de diagnóstico microbiológico empleados en alimentos.^{27,28} A través de un colorímetro o espectrofotómetro, se obtiene un registro en unidades de absorbancia o transmitancia y se preparan curvas estándar para cada microorganismo estudiado.

1.2.6.2.2 Recuento de microorganismos

Para determinar el número de microorganismos, también, se puede utilizar el siguiente método:

- Conteo de viables

Una célula viable es definida como aquella que es capaz de dividirse y formar una colonia en el medio de cultivo. El conteo en placas es el método más utilizado a través de la diseminación en placa ó siembra en placa por extensión.

El método más sensible para descubrir la presencia de una célula viable consiste en permitir que aumente su tamaño por si sola para formar una colonia visible. En este método, la muestra se pipetea directamente sobre la superficie de un medio sólido que es el agar preparado colocado en una caja petri. Las concentraciones y la temperatura dependen de cada microorganismo y del agar utilizado.

2. METODOLOGÍA DEL PROYECTO

En el presente capítulo se expone la metodología experimental llevada a cabo durante el desarrollo del proyecto con el fin de alcanzar el objetivo propuesto.

2.1 ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE YOGURT CON INULINA

De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada sobre la elaboración de yogurt y a las diferentes pruebas preliminares que se realizaron en Laboratorio de Lácteos del INSED, se definieron las etapas necesarias para el proceso de elaboración industrial de yogurt con inulina las cuales se presentan en el figura 2.

Para la elaboración del yogurt industrial con inulina se usó: Leche entera*, fermento láctico (Cultivo Choozit MY-800 LYO 5 DCU, DANISCO) e inulina (Beneo[†], ORAFTI), edulcorantes, estabilizantes, zumos de frutas. En el anexo B se encuentra la ficha técnica del cultivo y en el anexo C la ficha técnica de la inulina utilizada.

Los parámetros que se tuvieron en cuenta para el control de calidad del proceso están descritos en el anexo D.

2.1.1 Etapas del diagrama de flujo para la elaboración industrial de yogurt con inulina

* Obtenida de los hatos lecheros de Piedecuesta (Santander) y que cumplía las especificaciones técnicas según Decreto Número 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social.

[†] Beneo es el nombre comercial y símbolo de calidad que la empresa Belga ORAFTI, junto a otras compañías nutricionales como Nestlé, ha designado para que el consumidor puedan reconocer que el producto adicionado en la leche, yogurt, pan, entre otros, contiene la cantidad suficiente de inulina.

1. Recepción de la leche entera

Es un punto de control en donde deben realizarse verificaciones inmediatas de la calidad de la leche entera. Para el proceso de elaboración de yogurt con inulina se utiliza leche de vaca. En la tabla 1 se encuentran las características de la leche entera utilizada.

Tabla 1. Características de la leche entera

Parámetro/unidad	Resultado
Densidad 25 ⁰ C g/ml	1,032
Acidez expresado como ácido láctico %m/v	0,15
Ph	6,6

Fuente: Decreto Número 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social

2. Filtración

Se realiza la filtración de la leche entera para evitar el ingreso de partículas gruesas al proceso.

3. Homogenización 1

Se homogeniza la leche entera con el objeto de impedir la formación de nata y mejorar la consistencia del producto. Se regula el contenido de grasas.

4. Pasteurización

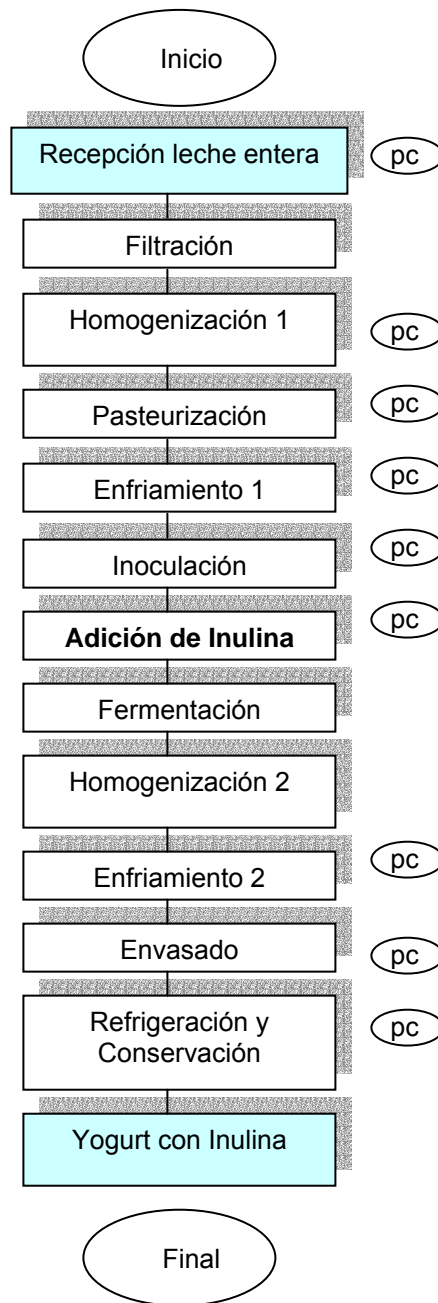
La leche entera se pasteuriza* hasta 80°C por un tiempo de 15 min. Para destruir los microorganismos patógenos. Esta combinación temperatura/tiempo se realiza en los procedimientos discontinuos de elaboración de yogurt.

5. Enfriamiento 1

Es un punto de control porque asegura la temperatura óptima de inoculación, permitiendo la supervivencia de los microorganismos del inóculo. Se enfría hasta la temperatura óptima de inoculación (42-45°C).

* Según Decreto Número 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social.

Figura 2. Elaboración industrial de yogurt con inulina con los puntos de control del proceso.*



Fuente: Autores del proyecto

* Punto de Control (PC): Son factores físicos, químicos o microbiológicos que pueden ser utilizados para prevenir un peligro. Dentro de estos encontramos por ejemplo pH, temperatura, concentración, etc.

6. Adición del Inóculo

Es un punto de control porque la cantidad de inóculo agregado determina el tiempo de fermentación y con ello la calidad del producto. Se buscan las características óptimas para obtener un producto de alta calidad en un menor tiempo, de 0,03 g inóculo /litro leche pasteurizada, a una temperatura de 42 °C. Se inocula los siguientes microorganismos probióticos: los *S. thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*.

7. Adición de inulina

Es un punto de control ya que determina la cantidad de inulina, siendo ésta el prebiótico a adicionar; de ella se nutren los probióticos adicionados a través del inóculo. Se le agrega en una cantidad aproximada de 10 g inulina/litro leche pasteurizada.

8. Fermentación

El proceso de fermentación se inicia con el inóculo de los fermentos y con la adición de inulina. Si la leche está libre de inhibidores, la actividad microbiana está determinada principalmente por la temperatura de incubación, la cantidad de inóculo agregado y el tiempo de fermentación.

En los productos lácteos fermentados, la fermentación culmina cuando se alcanza un valor de 4,2 a 4,5 de pH aproximadamente, o cuando se observa un valor de 0,65 a 0,8 de acidez expresado como ácido láctico (%m/v).

Este es un punto de control ya que determinada la cantidad de inóculo y la temperatura óptima de crecimiento, queda determinado el tiempo y se debe controlar junto con la temperatura para no generar un exceso de ácido láctico.

9. Homogenización 2

En la homogenización se rompe por agitación el coágulo formado en la etapa previa y se agregan edulcorantes, azúcar*, zumos de frutas según corresponda la variedad del producto (fresa, mora, guanábana), conservantes a 0,1%.

10. Enfriamiento 2

El enfriamiento se ha de realizar con la mayor brusquedad posible para evitar que el yogurt siga acidificándose. Se ha de alcanzar, como mucho en 1,5- 2 horas a una temperatura de 15°C.

A continuación se almacena en condiciones de refrigeración a 5-6°C. Transcurridas de 10 a 12 horas de almacenamiento, el yogurt estará listo. Se debe controlar la temperatura a la cual se enfría el producto para detener la fermentación.

11. Envasado

Se controla el cerrado del envase para mantener la inocuidad del producto. Se debe controlar que el envase y la atmósfera durante el envasado sean estériles.

12. Refrigeración y conservación

Es un punto de control, ya que la refrigeración adecuada y a la vez la conservación de la cadena de frío aseguran la calidad sanitaria. El yogurt se conserva bien a temperaturas de almacenamiento menores de 6°C durante 1-2 semanas sin conservantes y de 3-4 con conservantes.

2.1.2 Montajes realizados para las pruebas al yogurt industrial con inulina

Al yogurt se le realizó la siguiente prueba:

* El azúcar agregado es sacarosa, puede ser sustituido por fructosa o stevia.

Prueba 1. Análisis Fisicoquímico

Esta prueba se realizó con el fin de determinar propiedades fisicoquímicas al yogurt para determinar su tiempo de vida útil. Al yogurt con sabor a guanábana, fresa, mora se le determinó la acidez expresado como ácido láctico (%m/v) con respecto al tiempo.

2.2 ELABORACIÓN A ESCALA DE LABORATORIO DE YOGURT

Debido a que eran muchas las variables involucradas en el proceso de elaboración industrial del yogurt se decidió hacer un yogurt a escala de laboratorio al que solo se le agregaba inulina (Este yogurt no tiene edulcorantes, estabilizantes, zumos de frutas, azúcar, etc.) Todo esto con el fin de tener una sola variable a cuantificar y analizar: El efecto de la inulina adicionada al yogurt.

Para la elaboración de yogurt a escala de laboratorio se utilizó: Leche entera*, fermento láctico (Cultivo Choozit MY-800 LYO 5 DCU, DANISCO) e inulina (Beneo, ORAFTI).

Con la experiencia obtenida con el yogurt industrial con inulina, se definieron las etapas necesarias para el proceso de elaboración de yogurt a escala de laboratorio, las cuales se presentan en la figura 3.

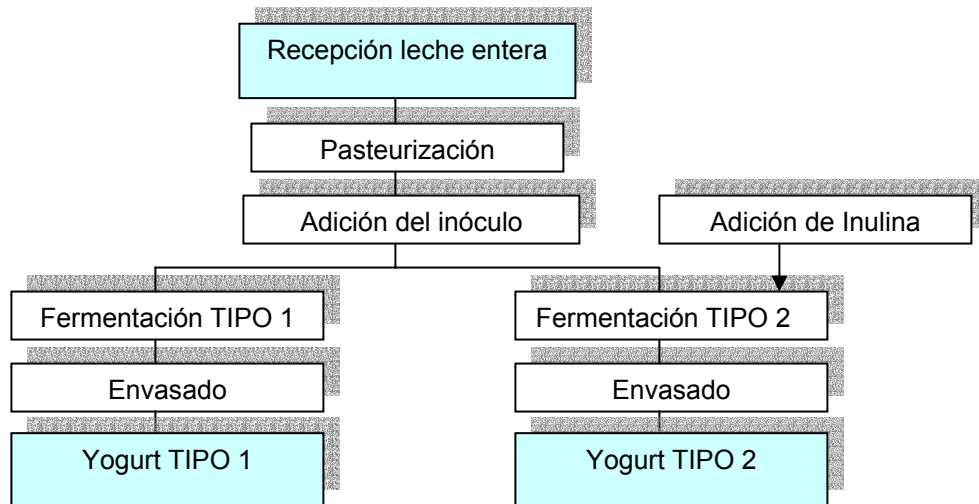
2.2.1 Etapas del diagrama de flujo para la elaboración a escala de laboratorio de yogurt

1. Recepción de la leche

La leche entera se pasó a un erlenmeyer con capacidad de 2 litros que contaba con un termómetro y un agitador magnético. Esta leche tenía las características mostradas en la tabla 1.

* Según Decreto Número 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social.

Figura 3. Elaboración de Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2 a escala de laboratorio



Fuente: Autores del proyecto

2. Pasteurización

La pasteurización discontinua*, se llevó a cabo ubicando el erlenmeyer en una placa de calentamiento que elevó la temperatura de la leche entera hasta 80°C seguido de un enfriamiento en un recipiente provisto en una mezcla hielo-agua en donde se disminuyó la temperatura de la leche entera a 45°C. La placa de calentamiento también proporcionaba una agitación de 150 rpm que garantizaba calentamiento homogéneo.

3. Adición del Inóculo

La leche pasteurizada fue inoculada a una temperatura de 45°C adicionando el fermento láctico en la siguiente cantidad: 0,03 g cultivo láctico/litro leche pasteurizada.

4. Fermentación

Antes de iniciar el proceso de fermentación se separó la leche pasteurizada con el inóculo en 2 erlenmeyer de 1 litro cada uno.

* Según Decreto Número 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social.

Fermentación TIPO 1. La fermentación láctica se llevó a cabo sumergiendo un erlenmeyer de 1 litro en un baño de agua a 42⁰C durante 4 horas.

Fermentación TIPO 2: Al otro erlenmeyer de 1 litro se le adicionó inulina en una cantidad de 10 g inulina/litro leche pasteurizada. La fermentación láctica se llevó a cabo sumergiendo el erlenmeyer de 1 litro en un baño de agua a 42⁰C durante 4 horas.

De esta forma se obtienen dos tipos de yogurt que se diferencian por la adición de inulina, por tanto, en el transcurso del libro se clasifican así:

Yogurt TIPO 1. Leche con fermento láctico.

Yogurt TIPO 2. Leche con fermento láctico más inulina.

5. Envasado

Esta etapa se llevó a cabo en envases de plástico de 1 litro, sometidos previamente a esterilización. Los envases se sellaron para evitar la contaminación de su contenido por el contacto con el aire.

2.2.2 Montajes para realizar pruebas al yogurt a escala de laboratorio

A partir del yogurt realizado a escala de laboratorio se realizaron 4 pruebas cada una con un objetivo específico:

Prueba 1. Análisis Físicoquímico

Esta prueba se realizó con el fin de determinar propiedades físicoquímicas al yogurt.

Al Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2 se le determinó la acidez expresado como ácido láctico (%m/v), pH y densidad en el Laboratorio de Procesos de la Escuela de Ingeniería Química. También fueron analizados físicoquímicamente

en el Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos C.I.C.T.A, con el fin medir parámetros como acidez, grasa, proteína y pH.

Prueba 2. Estudio del comportamiento de las variables con el tiempo en la etapa de fermentación

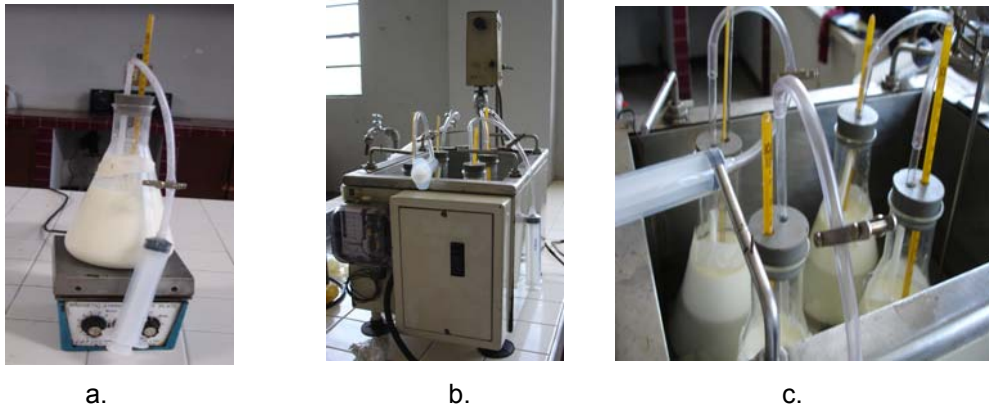
Esta prueba se realizó con el fin de conocer como cambiaba la acidez expresado como ácido láctico (%m/v), °Brix y pH del yogurt en el tiempo de fermentación y para conocer si con la adición de la inulina aumentaba la velocidad de fermentación del Yogurt TIPO 2 con respecto al Yogurt TIPO 1.

Para conocer como cambiaba la acidez expresado como ácido láctico, °Brix y pH en el yogurt, en la etapa de fermentación se realizaron pruebas en 4 erlenmeyer cada uno con capacidad de 1 litro. Cada uno contaba con un agitador magnético, un termómetro y un tubo de vidrio unido a una manguera con una válvula de estrangulamiento que conectaba a una jeringa para mantener el recipiente tapado herméticamente. Figura 4a.

Se usaron 4 erlenmeyer para obtener muestras por duplicado: 2 erlenmeyer fermentando Yogurt TIPO 1 y 2 erlenmeyer fermentando Yogurt TIPO 2. Aproximadamente, cada 20 minutos durante 4 horas se extraía una muestra de 10 ml con una jeringa para medir la acidez expresada como ácido láctico en %m/v, °Brix y pH, además se media la temperatura en °C. Figura 4b y 4c.

La figura 4 muestra el montaje realizado para la pasteurización discontinua y para la fermentación láctica.

Figura 4. Montaje utilizado para la fermentación. a. Pasteurización discontinua (calentamiento con agitación) b. Baño termostataado c. Fermentación láctica a 42⁰C.



Fuente: Autores del proyecto

Prueba 3. Conteo de microorganismos por el método de turbidimetría

Esta prueba se realizó con el fin de determinar cantidad de microorganismos por el método de turbidimetría.

A los mismos 4 erlenmeyer de la prueba anterior se les tomaba una muestra de 0,5 ml de cada tipo de yogurt: Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2, para pasarla a un tubo de ensayo con 9,5 ml de agua destilada. La muestra era translúcida para medir cantidad de luz que pasaba en forma de absorbancia y/o transmitancia y poder interpretar esos resultados en forma de cantidad de microorganismos que se encontraban en la muestra.

Esta prueba se realizó con un espectrofotómetro PERKIN-ELMER, Model 35 Spectrophotometer en el Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Ingeniería Química.

Prueba 4. Conteo de microorganismos viables

Esta prueba se realizó con el fin de evaluar el comportamiento de los probióticos en presencia de inulina con pruebas *in vitro*.

Para la elaboración de yogurt a escala de laboratorio se utilizó: Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2, ROGOSA Agar y M-17 Agar. La ficha técnica del ROGOSA Agar y M-17 Agar utilizado se encuentran en el anexo E y en el anexo F respectivamente.

Los microorganismos usados fueron *S. thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, contenidos en el fermento láctico utilizado para obtener el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2.

La forma en que se realizaron los ensayos se muestra a continuación:

- Preparación del Agar

Para el crecimiento del microorganismo *S. thermophilus* se prepara el M-17 Agar (Para suspensión de 55 g/litro, usar autoclave (15 min a 121⁰C), y ajustar el pH a 7,2 a 25⁰C).

Para el crecimiento de los microorganismos *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* se prepara el ROGOSA Agar (Para suspensión de 74,5 g/litro, ajustar el pH a 5,5 a 25⁰C con ácido acético al 96% (aprox. 1,3 ml/litro), no se usa autoclave). El ROGOSA Agar y el M-17 Agar se muestran en la figura 5.

Figura 5. ROGOSA Agar.(izquierda) y M-17 Agar (Derecha)



Fuente: Autores del proyecto

- Cultivo de microorganismos

El Yogurt TIPO 1 se diluyó en una solución peptonada hasta obtener una solución en concentración de yogurt de 10^{-1} . Se hacen diluciones hasta 10^{-5} para hacer el recuento de microorganismos, las cuales se hicieron por duplicado. Lo mismo se realizó con el Yogurt TIPO 2.

En cada caja petri que contenía M-17 Agar y ROGOSA Agar se adicionaban estas soluciones, respectivamente. El cultivo de microorganismos se muestra en la figura 6.

Figura 6. Cultivo de microorganismos en su respectivo medio de cultivo

a. Para *S. thermophilus* b. Para *L. delbrueckii subsp. lactis*, y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*



a.



b.

Fuente: Autores del proyecto

Las cajas petri sembradas en ROGOSA Agar se colocan en campanas de anaerobiosis a 37°C por 48 horas siendo el ambiente propicio para el crecimiento de *L. delbrueckii subsp. lactis* y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Las cajas petri sembradas en M-17 Agar se colocan en campanas de anaerobiosis a 50°C por 48 horas siendo el ambiente propicio para el crecimiento de *S. thermophilus*.

La campana de anaerobiosis utilizada se muestra en la figura 7. Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico.

Figura 7. Campana de anaerobiosis



Fuente: Autores del proyecto

Luego de 48 horas se abrieron las campanas de anaerobiosis y se retiraron las cajas petri para hacer el recuento de microorganismos. Se pueden contar los microorganismos por el aumento de su tamaño debido al proceso anteriormente descrito.

3. RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados de las pruebas que permitieron conocer el efecto de la inulina en el yogurt, reportando los datos obtenidos de los análisis fisicoquímico, microbiológico y de control de calidad necesario para la elaboración de yogurt con inulina que cumplan con las normas correspondientes.

3.1 ELABORACIÓN INDUSTRIAL DE YOGURT CON INULINA

3.1.1 Etapas del diagrama de flujo para elaboración industrial de yogurt con inulina

El esquema del proceso para la obtención de yogurt con inulina con sus respectivos flujos de entrada y salida se observan en la figura 8.

La figura 8 presenta una modificación de la elaboración de yogurt tradicional al entrar al proceso el flujo F_8 , en donde se adiciona la inulina antes de la etapa de fermentación.

El flujo, la temperatura y la presión de las corrientes involucradas en cada etapa del proceso se muestran en la tabla 2. Las mediciones de las corrientes se efectuaron a las mejores condiciones encontradas.

Figura 8. Esquema del proceso para la obtención industrial del yogurt con inulina

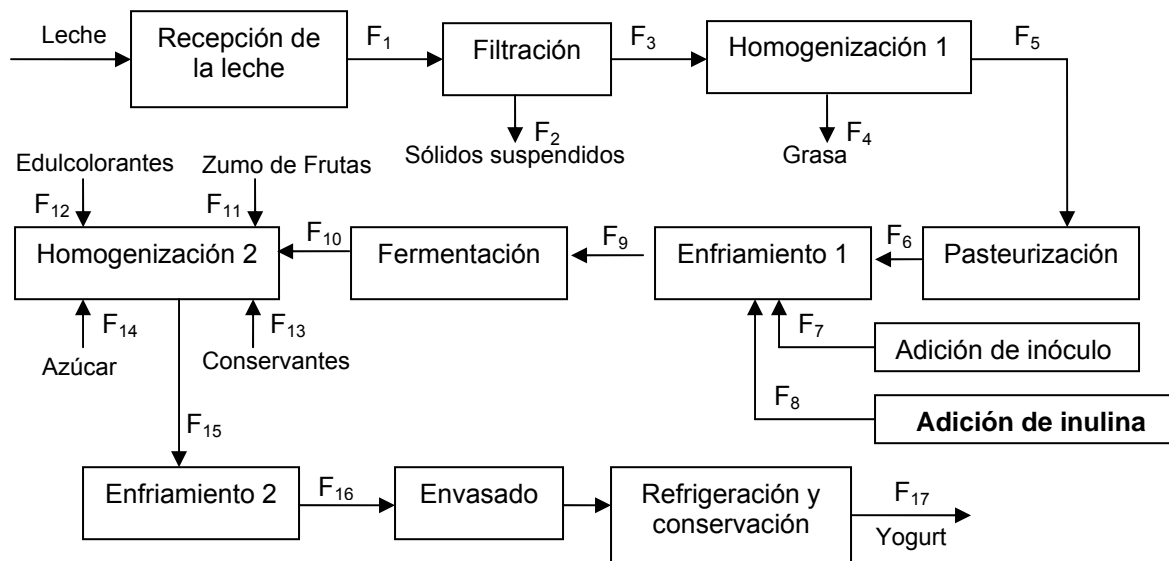


Tabla 2. Flujo, temperatura y presión de las corrientes involucradas en el proceso

Composición(Kg.)	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀	F ₁₁	F ₁₂	F ₁₃	F ₁₄	F ₁₅	F ₁₆	F ₁₇	
Leche	1,00000	0,00000	0,99000	0,00000	0,94050	0,94050	0,00000	0,00000	0,95053	0,95053	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	1,08253	1,08253	0,00000
Sólidos suspendidos	0,00000	0,01000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Grasa	0,00000	0,00000	0,00000	0,04950	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Fermento	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00003	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Inulina	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,01000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Zumo de Fruta	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,03000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Edulcolorantes	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00100	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Conservantes	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00100	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Azúcar	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,10000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
Yogurt	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	1,08253
Temperatura(°C)	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	80,0	25,0	25,0	42,0	42,0	25,0	25,0	25,0	25,0	40,0	15,0	6,0	
Presión (atm)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

3.1.2 Montajes realizados para las pruebas al yogurt industrial con inulina

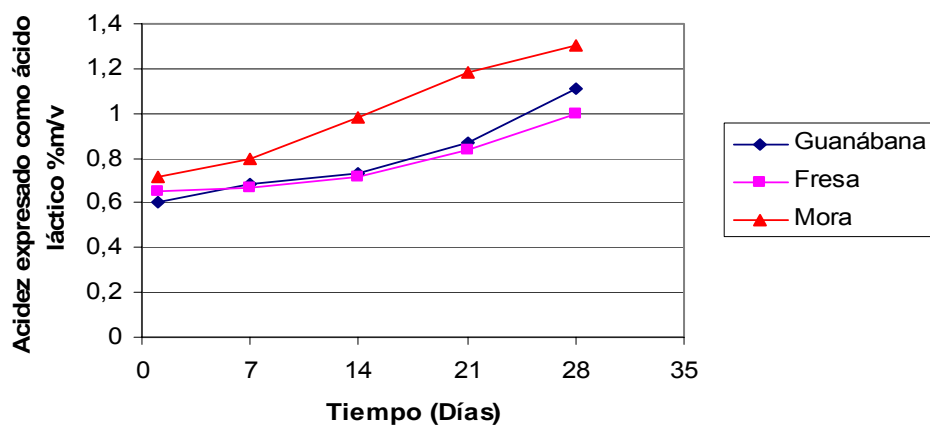
Prueba 1. Análisis fisicoquímico

La tabla 3 muestra el comportamiento de la acidez con el tiempo para diferentes sabores de yogurt permitiendo el análisis del tiempo de vida útil. La figura 9 compara los resultados mostrados en la tabla 3.

Tabla 3. Comportamiento de la acidez con el tiempo

Tiempo (Días)	Acidez expresado como ácido láctico %m/v				
	1	7	14	21	28
Guanábana	0,6	0,68	0,73	0,87	1,11
Fresa	0,65	0,67	0,72	0,84	1,09
Mora	0,72	0,8	0,98	1,18	1,3

Figura 9. Comparación del comportamiento de la acidez de diferentes sabores de yogurt con el tiempo



3.1.3 Análisis de resultados

Como se puede observar en la figura 8, la inulina es adicionada junto al inóculo antes de la fermentación para que a partir de esta etapa, los microorganismos probióticos encargados de la fermentación de la leche actúen con la inulina.

La tabla 2 muestra que el rendimiento del proceso es bastante alto, por cada 1,00 Kg de leche saldría 1,08 Kg de yogurt. Esto se debe a que entran en el proceso el zumo de fruta, edulcorantes, azúcar, preservantes, inóculo, e inulina y solo saldría del proceso la grasa y los sólidos suspendidos.

Según la figura 9, el tiempo de vida útil de yogurt con inulina es de 28 días aproximadamente, después de ese tiempo el yogurt ha pasado de 1,08 en acidez expresado como ácido láctico (%m/v), lo cual esta fuera del rango óptimo y es el máximo permitido, esto se debe a que se sigue generando ácido láctico aunque se refrigere el yogurt.

El comportamiento de la acidez en diferentes sabores de yogurt para evaluar la vida útil de cada uno se muestra en la figura 9. La curva de comportamiento es bastante parecida entre los sabores de fruta. La mora es la fruta en que más rápido llega al máximo punto de acidez láctico aceptable, comparado con la guanábana y la fresa.

El yogurt al que no se les adiciona inulina tiene el mismo comportamiento. Por tanto, se deduce que la inulina no produce un efecto significativo en la formación de ácido láctico en el yogurt.

3.2 ELABORACIÓN DE YOGURT A ESCALA DE LABORATORIO

3.2.1 Montajes para realizar pruebas al yogurt a escala de laboratorio

Prueba 1. Análisis fisicoquímico

En las tablas 4 y 5 se resumen los resultados del análisis fisicoquímico realizado al Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2.

Tabla 4. Análisis fisicoquímico del Yogurt TIPO 1

Parámetro/unidad	Resultado	Método de Análisis
Densidad 25 ⁰ C g/ml	1,032	Lactodensimetrico
Acidez expresado como ácido láctico (%m/v)	0,86	Volumétrico
Ph	4,20	Potenciométrico

Tabla 5. Análisis fisicoquímico del Yogurt TIPO 2

Parámetro/unidad	Resultado	Método de Análisis
Densidad 25 ⁰ C g/ml	1,032	Lactodensimetro
Acidez expresado como ácido láctico (%m/v)	0,83	Volumétrico
Ph	4,22	Potenciométrico

En el anexo G se reporta el informe de resultados del Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos C.I.C.T.A de la UIS para el Yogurt TIPO 1 (yogurt sin prebióticos), y para el Yogurt TIPO 2 (yogurt con prebióticos) estos reportan los acidez, grasa, proteína y pH.

Prueba 2. Estudio del comportamiento de las variables con el tiempo en la etapa de fermentación

La tabla 6 y 7 muestra el cambio con el tiempo de las variables influyentes en la fermentación para el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2, respectivamente.

Tabla 6. Comportamiento de las variables durante el tiempo de fermentación del Yogurt TIPO 1

Tiempo transcurrido (min)	Acidez expresado como ácido láctico (%m/v)	°Brix	pH
0	0,15	10	6,6
88	0,21	10	6,1
157	0,45	10	5,7
194	0,60	8	5,4
203	0,60	6	5
231	0,60	6	4,8
248	0,68	6	4,6
262	0,68	6	4,4

Tabla 7. Comportamiento de las variables durante el tiempo de fermentación del Yogurt TIPO 2

Tiempo transcurrido (min)	Acidez expresado como ácido láctico (%m/v)	°Brix	pH
0	0,15	10	6,6
106	0,20	10	5,9
165	0,47	8	5,5
192	0,53	6	5,2
205	0,60	6	4,9
233	0,60	6	4,8
249	0,65	6	4,7
264	0,66	6	4,5

Las figuras 10, 11 y 12 son comparaciones entre el Yogurt TIPO 1 y el Yogurt TIPO 2 en las variables fisicoquímicas de acidez expresado como ácido láctico (%m/v), °Brix y pH, respectivamente.

Figura 10. Comparación de la formación de ácido láctico durante el tiempo de fermentación entre el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2

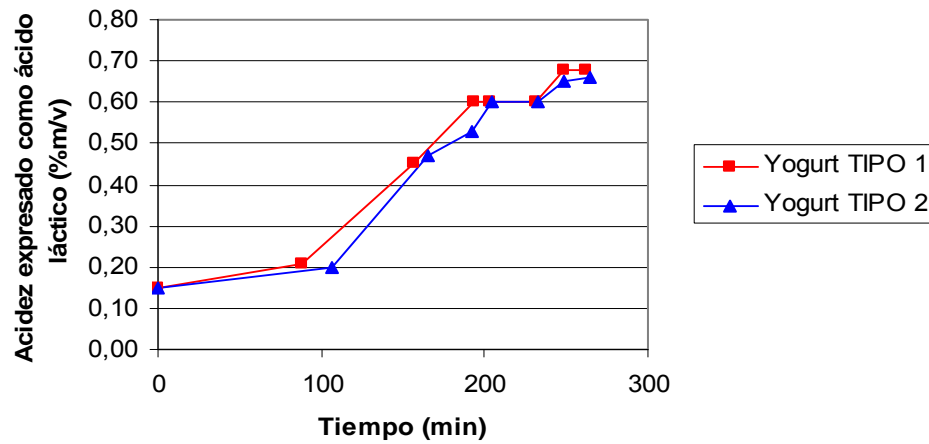


Figura 11. Comparación de °Brix durante el tiempo de fermentación entre el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2

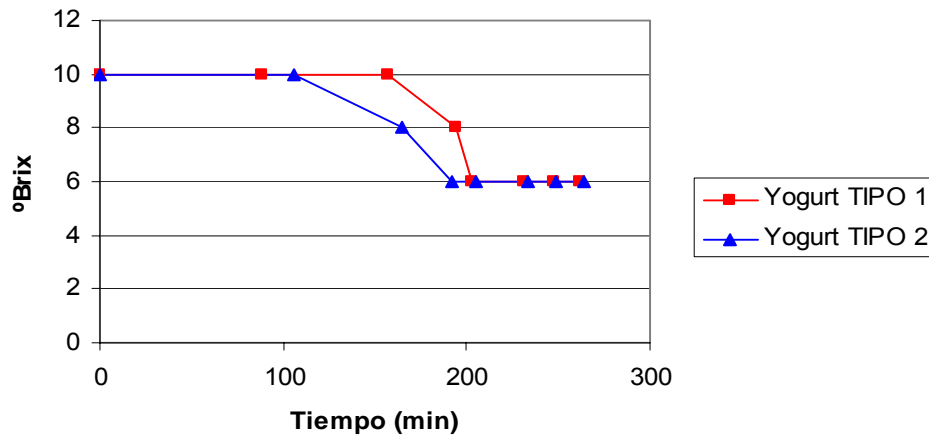
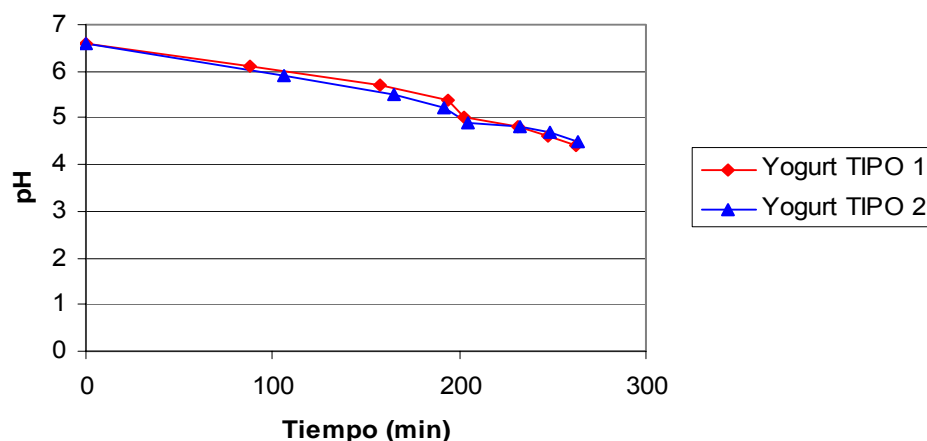


Figura 12. Comparación de pH durante el tiempo de fermentación entre el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2



Prueba 3. Crecimiento microbiológico por el método de turbidimetría

Los resultados de esta prueba no están acordes con lo que se estimaba, no reportan datos lógicos, por esta razón no se tomaron en cuenta y se decide usar el método de conteo de microorganismos viables.

Prueba 4. Conteo de microorganismos viables

En la tabla 8 se muestran las UFC/ml para Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2 presentes en las cajas petri que contenían un volumen de M-17 Agar y ROGOSA Agar.

Tabla 8. UFC/ml de *S.thermophilus* y *L. delbrueckii subsp. lactis*,y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* en el respectivo medio de cultivo

	Rogosa Agar		M-17 Agar	
	10^{-4} UFC/ml	10^{-5} UFC/ml	10^{-4} UFC/ml	10^{-5} UFC/ml
Yogurt TIPO 1	31,5	1,5	1646	466
Yogurt TIPO 2	81,5	15,5	2920	874

La figura 13 muestra la comparación de UFC/ml de *L. delbrueckii subsp. lactis*,y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* en ROGOSA Agar y la figura 14 muestra la comparación de UFC/ml de *S.thermophilus* en M-17 Agar. Ambas figuras en dilución de 10^{-4} y sembradas con Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2.

Figura 13. Comparación de UFC/ml de *L. delbrueckii subsp. lactis*, y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. En dilución 10^{-4} UFC/ml. Yogurt TIPO 1 (Izquierda) y Yogurt TIPO 2 (Derecha)

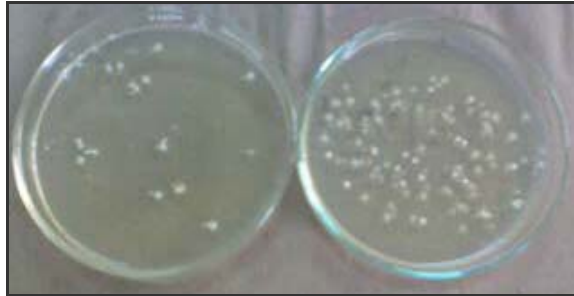
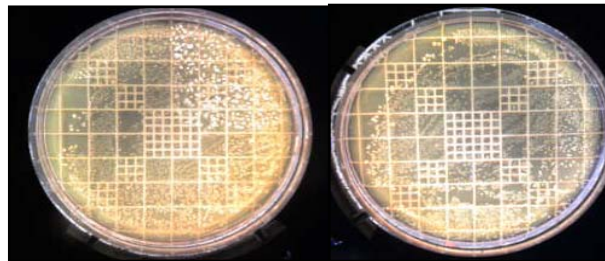


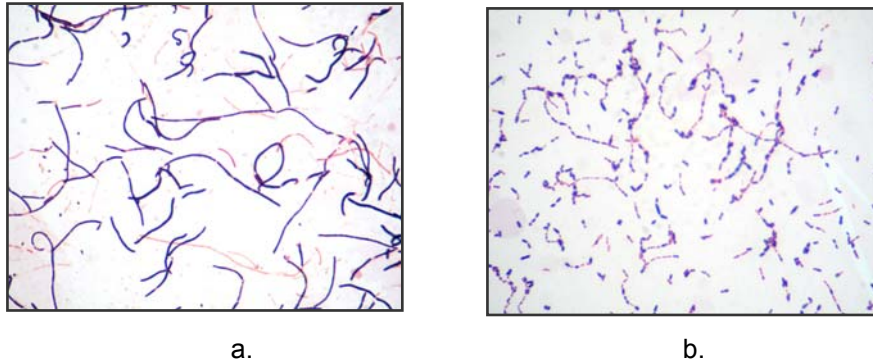
Figura 14. Comparación de UFC/ml de *S. thermophilus*. En dilución 10^{-4} UFC/ml. Yogurt TIPO 1 (Izquierda) y Yogurt TIPO 2 (Derecha)



Al observar los microorganismos contenidos en las cajas petri de ROGOSA Agar en el microscopio, se observan colonias de *L. delbrueckii*, pero no se diferencia entre las *subsp. lactis* y *subsp. bulgaricus*. Lo mismo sucede con los microorganismos contenidos en las cajas petri de M-17 Agar en el que solo se observa colonias de *S.* Por este motivo, para este análisis se confía en las especificaciones del cultivo láctico realizadas por el fabricante en donde especifica que los ingredientes del fermento son *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* y *S. thermophilus*. En el anexo A se encuentra la ficha técnica del cultivo.

La figura 15 es una imagen ampliada de los microorganismos presentes en el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2 obtenida por el microscopio OLYMPUS CX21 FS1 del Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico. La figura 15.a muestra los *L. delbrueckii subsp. lactis* y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* y la figura 15.b los *S. thermophilus*.

Figura 15. Microorganismos probióticos en el Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2 a. *L. delbrueckii subsp. lactis*, y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* b. *S. thermophilus*



Fuente: Autores del proyecto

3.2.2 Análisis de Resultados

La prueba 1 reporta los resultados a los análisis fisicoquímicos realizados al Yogurt TIPO 1 y al Yogurt TIPO 2; La tabla 4 y la tabla 5 no muestra amplias diferencias entre las variables fisicoquímicas medidas: densidad, acidez y pH. Por tanto, los resultados de la prueba 1 concluyen que la inulina no cambia las propiedades fisicoquímicas del yogurt.

La prueba 2 se realizó para estudiar el comportamiento de las variables con el tiempo en la etapa de fermentación; el objetivo era conocer si con la adición de inulina aumentaba la velocidad de fermentación del Yogurt TIPO 2 con respecto al Yogurt TIPO 1, sin embargo, los resultados arrojados en las tablas 6 y 7, como las gráficas comparativas (La figura 10 compara la formación de ácido láctico, la figura 11 compara los °Brix y la figura 12 compara el pH) entre el Yogurt TIPO 1 y el Yogurt TIPO 2, no reportan grandes diferencias. Se deduce de esta prueba que, la inulina no aumenta ni disminuye la velocidad de producción de yogurt, un efecto que podría beneficiar la industria láctea ya que se obtendría el yogurt en un menor tiempo de fermentación.

De las tablas 6 y 7 se observa que el tiempo necesario para la fermentación es aproximadamente 4 horas, ya que al cabo de este tiempo se alcanza las

condiciones óptimas del yogurt, es decir, se reporta un valor de 4,2 de pH aproximadamente y un valor de 0,68 de acidez expresado como ácido láctico (%m/v) (Rango óptimo de acidez titulable) y se han estabilizado los °Brix.

La prueba 4 es una prueba *in vitro* y se realizó con el fin de conocer que pasaba con los microorganismos probióticos adicionados al yogurt a través del inóculo.

Comparando las cajas petri sembradas con Yogurt TIPO 1 y Yogurt TIPO 2 en ROGOSA Agar y en M-17 Agar, respectivamente, en la misma dilución, se reportan diferencias en el número de UFC/ml de *S. thermophilus* y de *L. delbrueckii subsp. lactis*, y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*.

En estos ensayos por conteo de microorganismos viables se determinó la supervivencia de los microorganismos lácticos del yogurt. También se observó que éstos tenían el perfil de las cepas de *S. thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Los resultados de la prueba microbiológica mostraron que en las cajas petri con un volumen de M-17 Agar creció el microorganismo láctico *S. Thermophilus* y las cajas petri con un volumen de ROGOSA Agar mostraron el crecimiento del *L. delbrueckii subsp. Lactis*, y *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus* por la acción de la inulina.

4. CONCLUSIONES

- Se desarrolló experimentalmente un proceso para la elaboración de yogurt al que se le dio un valor agregado por la adición de una fibra prebiótica, en este caso la inulina.
- La inulina no aumenta ni disminuye la velocidad de fermentación del yogurt.
- La inulina no cambia las propiedades fisicoquímicas del yogurt y no tiene efecto sobre la formación de ácido láctico.
- Microbiológicamente, la población de *S. thermophilus* y *L. delbrueckii subsp. lactis*, y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* aumentó por la acción de la inulina.
- Con el presente trabajo de investigación se obtuvo un yogurt con inulina, que cumplió con las especificaciones técnicas del Decreto número 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social de la República de Colombia.

5. RECOMENDACIONES

- Ampliar la investigación evaluando otro tipo de microorganismos probióticos.
- Realizar pruebas *in vivo* para evaluar la influencia y el efecto de la inulina sobre el organismo, específicamente sobre los microorganismos benéficos del intestino.
- La corriente residual de la etapa de homogenización 1 puede ser estudiada para darle un verdadero aprovechamiento en la obtención de otros productos lácteos.
- Es necesario adelantar estudios más detallados que permitan conocer otros usos o beneficios, ya que existen empresas que ahora mismo están elaborando yogurt al que se le adiciona inulina.
- Si se decide tener este producto en el mercado, realizar un estudio técnico-económico que muestre la factibilidad de llevar a cabo el proceso industrialmente y evaluar la aceptación de los consumidores de este producto.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Disponible en internet: <http://www.mundohelado.com/materiasprimas/yogurt/yogurt02.htm>
- [2] Buttris J: Nutricional Aspects of Fermented Milk Productos. *Int J Dairy Technol*,1997.
- [3] Fuller R: Probiotics in Man and Animal. A Review. *J Appl Bacterol*, 1989.
- [4] Fuller R: Probiotics in Human Medicine. *Gut*, 1991.
- [5] Lee Y y Salminen: The Coming of Age of Probiotics. *Trends Food Sci Technol*, 1995.
- [6] Roberfroid MB: Prebiotics and symbiotics: concepts and nutritional properties.*Br. J. Nutr*, 1998.
- [7] Gibson GR, Roberfroid MB: Dietary modulation of the human colonia microbiota: introduction the concept of prebiotics. *J. Nutr*, 1995.
- [8] Duncan Hamisch y Borne Francis Conferencistas ESPEN, NIZA, 1998.
- [9] Schrezenmeir J: Probiotics, prebiotics and symbiotics approaching a definition. *Am J. Clin. Nutr*. 2001.
- [10] Marquina D, Santos A: Probióticos, prebióticos y salud. *Dpto. Microbiología III, Universidad Complutense*.Madrid.
- [11] Rodríguez P, García J, de Blas C: Fibra soluble y su implicación en nutrición animal: Enzimas y prebióticos. *Dpto. Biotecnología y Dpto. de producción animal. Universidad Politécnica de Madrid*.
- [12] Disponible en Internet:
<http://www.casapia.com/Paginacast/Paginas/Paginasdemenus/MenudeInformaciones/ComplementosNutricionales/LasFibrasPrebioticas.html>
- [13] Wang X, Gibson GR: Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacterial*, 1993.
- [14] Roberfroid MB: Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. *Am. J. Clin Nutr*. 2000
- [15] Teitelbaum JE, Allan W: Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Annual Review of Nutrition*, 2002.
- [16] Desmond C, Corcoran BM, Coakley M, Fitzgerald GF: Development of dairy-based functional foods containing probióticos and prebiotics. *Australian Journal of Dairy Technology*.2005
- [17] Gilliland SE: Beneficial Interrelationships between certain microorganisms and humans: Candidate Microorganisms for use as Dietary Adjuncts. *J Food Protection*, 1979.

- [18] Gilliland SE: Acidophilus Milk Products: A review of Potential Benefits to Consumers. *J Dairy Sci*,1989.
- [19] Symons H: Beneficios nutricionales de leches fermentadas con bifidobacterias. *Ibérica*,1995.
- [20] Conway PL, Gorbach SL y BR Goldin: Acid Bacteria in the Human Stomach and Adhesion to the Intestinal Cells. *J Dairy Sci*,1987.
- [21] Garcia JE, Jiménez PA, Reche MP, Alvarez F, Rojas AM: Estudio microbiológico comparativo de yogurt fresco y termizado em um modelo animal *in vivo*. *Nutrición Hospitalaria*.2003.
- [22] Brigidi P, Venturi A, Gionchetti P, Rizzelo F, Johansson R, Zucconi E, et al. Impact of the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999
- [23] Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ: Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in the children. *J. Pediatr*. 1999.
- [24] Disponible en internet: http://www.geocities.com/roberto_raul/crecimiento.html
- [25] Dávila N, Hernández JE: Métodos de ensayos rápidos de detección de microorganismos en la leche. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 2006.
- [26] Easter MC: Metabolic activity as a measure of microbiological evalualy. *Modern Microbiological Methods for Dairy Products*. Proceeding of International Seminary in Stander Spain.1989.
- [27] Fung DY: Rapad methods and automation in food microbiology. *Food Reviews International*, 1994.
- [28] White CH: Factores que afectan la vida de almacenamiento de los productos lácteos terminados. *Memorias del Congreso Panamericano de Mastitis y Calidad de la Leche*. México, 1998.

ANEXO A

Microorganismos probióticos*

- *L. delbrueckii subsp. lactis*: (Orla-Jensen) Bergey et al. 1934

(*Bacillus lactis acidi* Leichmann 1896, *Thermobacterium lactis* Orland Jensen 1919, *Lactobacillus lactis-acidi* (Leichmann) Bergey 1923, *Lactobacterium caucasicum* var. *Lactis* (Orla-jensen) Krasil'nikov, 1949). Lac'tis. L.n. *lac* leche; L. gen.n. *lactis* de la leche.

Tamaño de menos de 2 µm de ancho, a menudo aparecen en formas alargadas con una tendencia de convertirse en hilos. Generalmente, los gránulos se muestran con el azul de metileno. Colonia normalmente de 1-3 µm en diámetro y no pigmentado siendo blanca pasando luego a color gris Reacciones negativa, débil y variable con esculina. Leche coagulada con una acidez final de ácido láctico aproximadamente del 1.6 %.

No crecen a 15⁰C, crecimiento en 45⁰C, crece aun a 50-52⁰C y óptimo en 40-43⁰C. Aislado de la leche usados en la fabricación del queso y yogurt.

- *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*: (Orla-Jensen) Rogosa y Hansen 1971.

(*Thermobacterium bulgaricum* Orla-Jensen 1919) los nombres de organismos que relacionan a *L. Bulgaricus* son bastantes e inciertos: *Lactobacillus longus* Beijerinck 1901, *Bacille* 1905 Grigoroff, *Bacillus bulgaricus* Luerksen y Kuhn 1907, *Bacterium bulgaricum* (Luerksen y Kuhn); *Acidobacterium bulgaricum* (Luerksen y Kuhn) Schlirf 1925, *Plocamobacterium bulgaricum* (Luerksen y Kuhn) Lehmann y Neumann 1927; *Bacterium giogurt* de Rossi 1927; *Lactobacterium bulgaricum* (Luerksen y Kuhn) Krasil'nikov, 1949. Bul.ga'ri.cus. M.L.adj. *bulgaricus* búlgaro.

Esta especie es estrechamente relacionada con *L. delbrueckii subsp. Lactis*, siendo morfológicamente indistinguible, produciendo la misma cantidad de ácido láctico en la leche, pero fermentando menos azúcares que el *L. delbrueckii subsp. Lactis*.

- *S. Thermophilus*: (Orla-Jensen)1919

Ther.mo'phil.us. Gr. N. *therme* calor; Gr. Adj. *philus* amor; M.L. adj. *thermophilus* afinidad al calor. Células esféricas u ovoides, 0.7-0.9 μm en diámetro en pares a cadenas largas. La estructura es idéntica a él de *S. Faecalis* (Schleifer y Kandler, 1967).

La fermentación se realiza preferiblemente en sacarosa y lactosa, puede causar un potencial de hidrógeno inferior comparando con la glucosa. El ácido es producido en glucosa, fructosa, lactosa y sacarosa.

La temperatura óptima está entre 40 y 45⁰C. hay crecimiento 50⁰C, pero no a 53⁰C. Ningún crecimiento en temperaturas debajo 20⁰C. Sobrevive 65⁰C por 30 min. Esta especie fácilmente aprobada por su límite alto de temperaturas de crecimiento, tolerancia térmica.

ANEXO B

Ficha técnica del cultivo

LABORATORIO DE ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD FICHA TÉCNICA CULTIVOS



SABORES COLORES AROMAS

Versión: 2

Fecha de actualización: 2005-08-31

Página 1 de 2

PRODUCTO	:	CULTIVO CHOOZIT MY-800 LYO 5 DCU
CÓDIGO	:	Y1197
INGREDIENTES	:	Fermentos lácticos concentrados liofilizados para inoculación directa. (cultivos termofílos) <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i> <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
EMPAQUE	:	Sobre laminado y metalizado
PRESENTACIÓN	:	Sobre de 5 Unidades de Cultivo Danisco(Y1197-33)
FABRICANTE	:	DANISCO

ESPECIFICACIONES

PRUEBA DE ACTIVIDAD DEL CULTIVO	:	Diluir en agua la leche en polvo esterilizada y reconstituida (12% sólidos) Calentar 20 minutos a 110 °C Estandarizar el pH a 6.6
CONDICIONES DE SIEMBRA	:	Temperatura: 42 Tiempo: 3 horas Dosis de inoculación: 20 DCU x 100 L Delta de pH obtenido: 1.00

NORMAS BACTERIOLÓGICAS :

MICROORGANISMOS	NORMAS	MÉTODOS DE REFERENCIA
Coliformes totales	< 10 en 1 g	NF V08-015 IDF 73A 1985
Enterococos	< 20 en 1 g	Gelasa bile esculine y acid de sodio 48h - 37 °C
Levaduras y Mohos	< 10 en 1 g	NF V08-022 IDF 94B 1991
Staphylococcus coagulasa positiva	< 10 en 1 g	NF V08-057 IDF 145A 1997
Listeria monocytogenes	Ausencia en 25 g	NF V08-055 IDF 143A 1990
Salmonelas	Ausencia en 25 g	NF V08-052 IDF 93B 1995

LABORATORIO DE ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD FICHA TÉCNICA CULTIVOS

Versión: 2

SABORES COLORES AROMAS

Fecha de actualización: 2005-08-31

Página 2 de 2

ALMACENAMIENTO	:	Almacenar a temperatura de 4 °C
ESTABILIDAD	:	18 meses para un almacenaje a 4 °C *Asegúrese de que el producto esté en polvo (una ligera agitación del sobre antes de abrirlo, le permitirá comprobarlo) *Un bloque compacto significa que pasó la humedad ambiente. En este caso exclusivamente, el sobre no deberá utilizarse
FORMA DE USO	:	Leche fermentada, yoghurt Dosis promedio de inoculación 10 DCU por 100 litros de leche.
CAMPO DE APLICACIÓN	:	Exclusivo para la industria de alimentos

ANEXO C

Ficha técnica de la inulina

Product Sheet Beneo®GR

DOC.A4-03*01/02

Description

- Beneo®GR** is a food ingredient consisting mainly of chicory inulin. Beneo®GR is a GRanulated powder
- chicory inulin** is a mixture of oligo- and polysaccharides which are composed of fructose units linked together by $\beta(2-1)$ linkages. Almost every molecule is terminated by a glucose unit. The total number of fructose or glucose units (= Degree of Polymerisation or DP) of chicory inulin ranges mainly between 2 and 60.

Compositional Specifications

All values expressed on dry matter.

Analytical Methods : see our Technical Brochures.

inulin	> 90 %
glucose + fructose	≤ 4 %
sucrose	≤ 8 %
Dry Matter (d.m.)	97 \pm 1.5 %
Carbohydrate content	> 99.5 %
Average DP of the inulin	≥ 10
Ash (sulphated)	< 0.2 %
Conductivity (15 Brix)	< 250 μ S
Heavy Metals	Pb, As each < 0.1 mg/kg Cd, Hg each < 0.01mg/kg
pH (10°Brix)	5.0 - 7.0

Microbiological Specifications

All values expressed on dry matter.

Analytical Methods : see our Technical Brochures.

Mesophilic bacteria - total count	max. 1000/g
yeasts	max. 20/g
moulds	max. 20/g
Thermophilic aerobic spores	max. 1000/g
Anaerobic H ₂ S producing thermophilic spores	max. 25/g
Enterobacteriaceae	absent in 1 g
Bacillus cereus	max. 100/g
Staphilococcus aureus	absent in 1 g
Escherichia coli	absent in 1 g
Clostridium perfringens	absent in 1 g
Clostridium botulinum	absent in 1 g
Salmonella	absent in 100 g
Shigella	absent in 10 g



page 1

Doc.A4-03-01-02_06_2005.doc

ORAFI Active Food Ingredients • Aandorenstraat 1, B - 3300 Tienen Belgium • Tel +32 (0)16 801 301 Fax +32 (0)16 801 308
afi@orafli.com • www.orafli.com



Labelling

All values are average values expressed per 100 g commercial product.

Carbohydrates	8 (97 ¹⁾)	gluten	absent
Sugars	8	lactose	absent
Dietary Fibre ²⁾	89	Milk/meat/egg components	absent
Protein	absent	Seed/soy components	absent
Fat	absent	Insecticides, pesticides	absent
Vitamins and Minerals	Negligeable	Nuts, nut components	absent
Caloric value ³⁾	120 kcal/505 kJ	Colza	absent
Proteinheite ⁴⁾	0.65	Other allergens	absent
		Enzymatic activity	absent
		Folate	absent

N.D. = Not Detectable N/A = Not Applicable

1) including dietary fibre

2) measured by AOAC Method 997.08

3) based on a caloric value of 1 kcal/g for pure inulin. To be adapted to local regulations.

4) in accordance with German regulations.

Other Information

see also our Technical Brochures

Aspect	fine white granulated powder
Behaviour	hygroscopic
Taste	slightly sweet, without aftertaste
Solubility in water	120 g/l at 25°C - 350 g/l at 90°C
Wettability in water	Good.
Dispersability in water	Good. May require stirring.
Properties and Applications	See our Technical Brochures.
Particle Sizes	See document "Particle Sizes".
Density	approx. 580 ± 50 g/l
Labelling - Ingredients List	inulin
Safety	Safe. Not toxic. Not dangerous. Excessive consumption may cause laxative effects. Is, like other fine powders, when mixed with air and ignited, capable of causing an explosion.
Packaging	Paper bags on pallets, see 'Packaging Sheet Powders'
Optimal storage conditions	Cool and dry, in its original airtight packaging.
Maximum durability	See packaging (minimum 18 months upon delivery)
Transport conditions	According to document 'Transport Conditions'
Irradiation	Not irradiated
GMO	Not containing GMOs or GMO-derived components. Not produced using GMO-based technology.
Kosher	Certified, Orthodox Union
Halal	Certified, Halal Feed and Food Inspection Authority
Plant origin	Suitable for vegetarians & vegans
Produced by	ORAFI - address on first page

Represented by :

To the best of our knowledge, this information is reliable but should not be considered as a warranty of any kind. Specifications might be subject to change without notice



ORAFI Active Food Ingredients • Aandorenstraat 1, B - 3300 Tienen Belgium • Tel +32 (0)16 801 301 Fax +32 (0)16 801 308
afi@orafit.com • www.orafit.com



ANEXO D

Control de calidad

La industria alimentaria está relacionada ampliamente con la ingeniería de procesos y las operaciones unitarias. En la industria láctea se usa la transferencia de masa, transferencia de calor, mezclado, separación de fases, estabilización, transformaciones físicas y microbianas. El control de procesos también es un tema que compete a esta industria puesto que es necesario mantener en un determinado valor de operación, variables de proceso tales como temperatura, presión, flujo, tiempos y pH, que se relacionan con el producto, la seguridad y los índices de producción.

En el capítulo 2 se mostró los puntos de control de proceso en la figura 2 para la elaboración de yogurt con inulina. Estos son importantes ya que el control de calidad en un proceso productivo de yogurt debe ser minucioso desde la materia prima que es la leche, hasta el producto final que es el yogurt, incluyendo cada etapa del procesamiento. Asimismo se deben evaluar los insumos y todos los materiales que intervienen en el proceso.

- **Materia prima e insumos**

Se realiza antes del procesamiento, en el que se verifica la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche e insumos. Los principales análisis que se deben efectuar a la leche son: Acidez, grasa, densidad, pH, y recuento bacteriano. Los métodos que se emplean para la ejecución de estos análisis están especificados en el Decreto 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social.

- **Del proceso**

Se debe cumplir con el control de los parámetros técnicos como tiempos, temperaturas, pH y normas sanitarias.

- Del producto final

Consiste en evaluar los parámetros sensoriales, fisicoquímicos y microbiológicos del producto final.

ANEXO E

Ficha técnica de ROGOSA Agar

APHA

ROGOSA Agar (Lactobacillus Selective Agar)

LBS Agar

Medium proposed by ROGOSA, MITCHELL and WISEMANN (1951) for the isolation and enumeration of lactobacilli in the oral and intestinal microbial flora, meat, milk and other foodstuffs.

Mode of Action

The accompanying bacterial flora is largely suppressed by the high acetate concentration and the low pH value. Low concentrations of manganese, magnesium and iron ensure optimal growth of lactobacilli.

Typical Composition (g/litre)

Peptone from casein 10.0; yeast extract 5.0; D(+)-glucose 20.0; potassium dihydrogen phosphate 6.0; ammonium citrate 2.0; Tween® 80 1.0; sodium acetate 15.0; magnesium sulfate 0.575; iron(II) sulfate 0.034; manganese sulfate 0.12; agar-agar 15.0.

Preparation

Suspend 74.5 g/litre, adjust the pH to 5.5 with acetic acid 96 % (approx. 1.3 ml/litre).

■ Do not autoclave.

pH: 5.5 ± 0.2 at 25 °C.

The plates are clear and yellowish-brown.

Experimental Procedure

Inoculate by the pour-plate technique or by spreading the material on the surface of the culture medium.

Quality control (spiral plating method)

Test strains	Inoculum (cfu/ml)	Recovery rate %
Lactobacillus acidophilus ATCC 4356	10 ³ -10 ⁵	≥ 70
Lactobacillus casei ATCC 393	10 ³ -10 ⁵	≥ 70
Lactobacillus fermentum ATCC 9338	10 ³ -10 ⁵	≥ 70
Lactobacillus plantarum ATCC 8014	10 ³ -10 ⁵	≥ 70
Bifidobacterium bifidum ATCC 11863	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 (anaerobic)
Escherichia coli ATCC 11775	> 10 ⁵	≤ 0.01
Proteus vulgaris ATCC 13315	> 10 ⁵	≤ 0.01
Enterococcus faecalis ATCC 11700	> 10 ⁵	≤ 0.01

Incubation: up to 3 days at 35 °C or 5 days at 30 °C (SHARPE 1960) under anaerobic conditions in a 5 % carbon dioxide atmosphere.

Establish the bacterial count. For the purpose of identification, reinoculate individual colonies and subject them to the necessary tests (MITSUOKA 1969).

Literature

MITSUOKA, T.: Vergleichende Untersuchungen über Lactobazillen aus den Faeces von Menschen, Schweinen und Hühnern. – Zbl. Bakt. I. Orig., 210: 32-51 (1969).

ROGOSA, M.; MITCHEL, J.A., a. WISEMAN, R.F.: A selective medium for the isolation of oral and faecal lactobacilli. – J. Bact. 62: 132-133 (1951).

SHARPE, M.E.: Selective media for the isolation and enumeration of lactobacilli. – Lab. Practice, 9: 223-227 (1960).

Ordering Information

Product	Merck Cat. No.	Pack size
ROGOSA Agar (Lactobacillus Selective Agar)	1.05413.0500	500 g
Acetic acid min. 96 %	1.00062.1000	1 l



Lactobacillus acidophilus
ATCC 4356



Lactobacillus fermentum
ATCC 9338

ANEXO F

Ficha técnica de M-17 Agar

COMPF

M 17 Agar acc. to TERZAGHI

Media proposed by TERZAGHI and SANDINE (1975) for the cultivation and enumeration of lactic streptococci in milk and dairy products and for the differentiation of bacteriophages infecting lactic streptococci.

The M 17 media are superior to other comparable culture media for the cultivation of the fastidious species *Strept. cremoris*, *Strept. diacetylactis* and *Strept. lactis*. Mutants which are incapable of metabolizing lactose can also be isolated on these media.

Mode of Action

Addition of sodium β -glycerophosphate increases the buffering capacity of the medium; this promotes the growth of lactic streptococci and the development of large bacteriophage plaques.

Typical Composition (g/litre)

Peptone from soymeal 5.0; peptone from meat 2.5; peptone from casein 2.5; yeast extract 2.5, meat extract 5.0; lactose monohydrate 5.0; ascorbic acid 0.5; sodium β -glycerophosphate 19.0; magnesium sulfate 0.25; agar-agar 12.75.

Preparation

Suspend 55 g M 17 agar/litre, autoclave (15 min at 121 °C).

pH: 7.2 \pm 0.2 at 25 °C.

The prepared media are clear and brown.

- Prepared plates can be stored in the refrigerator (approx. 6–8 °C) for up to 10 days.

Experimental Procedure and Evaluation

Inoculate the plates.

Incubation: 24–48 hours at 28 °C aerobically.

Colonies of lactose-positive streptococci are clearly visible after 15 hours. Colonies of lactose-positive lactic streptococci have a diameter of 3–4 mm after 5 days while those of lactose-negative mutants have a diameter of less than 1 mm.

Phage infection can be recognized by the presence of large, distinct plaques in the opaque growth of the host bacteria grown on M 17 agar. The phage detection technique is described by TERZAGHI and SANDINE (1975), TERZAGHI (1976), KEOGH (1980), BRINCHMANN et al. (1983) and other authors.

Literature

BRINCHMANN, E., NAMORK, E., JOHANSEN, B.V., a. LANGSRUD, T.: A morphological study of lactic streptococcal bacteriophages isolated from Norwegian cultured milk. - *Milchwirtschaft.*, 38; 1–4 (1983).

KEOGH, B.P.: Appraisal of media and methods for assay of bacteriophages of lactic streptococci. - *Appl. Environ. Microbiol.*, 40: 798–802 (1980).

TERZAGHI, B.E.: Morphologies and host sensitivities of lactic streptococcal phages from cheese factories. - *N.Z.J. Dairy Sci. Technol.*, 11; 155–163 (1976).

TERZAGHI, B.E., a. SANDINE, W.E.: Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. - *Appl. Microbiol.*, 29: 807–813 (1975).

Ordering Information

Product	Merck Cat. No.	Pack size
M 17 Agar acc. to TERZAGHI	1.15108.0500	500 g

Quality control

Test strains	Growth
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 13813	good / very good
<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i> ATCC 19257	good / very good
<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>lactis</i> ATCC 19435	good / very good
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 11700	good / very good
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	good / very good
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	good / very good
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	fair / good
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	fair / good
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	fair / good

ANEXO G
Análisis fisicoquímico del yogurt

	CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS -CICTA-	REPORTE DE RESULTADOS DE ENSAYO	F-5.10-01	
			Fecha: 30-07-2004	Versión: 1
			Autorizó: Aidé Perea	Página 1 de 1

INFORME DE RESULTADOS

FECHA: 18 de abril de 2007

DATOS DEL CLIENTE

NOMBRE/EMPRESA: Erika Parra Mantilla

DIRECCIÓN: Calle 37 No. 17 - 57 Bucaramanga

TELÉFONO: 6 70 46 70 - 3156262551

DATOS GENERALES

PRODUCTO: Yogurt sin prebióticos

DESCRIPCIÓN: Yogurt sin prebióticos

CÓDIGO: M035

FECHA DE RECEPCIÓN: 10 de abril de 2007.

MUESTREO: Muestra traída por el cliente.

ANÁLISIS FISICOQUÍMICO

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO MUESTRA	MÉTODO DE ANÁLISIS
Acidez	% Ácido Láctico	0,86	Volumétrico
Grasa	%	3,3	Gerber
Proteína	%	3,05	Kjeldahl
pH		4,20	Potenciométrico

REALIZADO POR

AUTORIZADO POR

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LAS MUESTRAS ANALIZADAS, NO PUEDEN SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDOS SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO.

	CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS -CICTA-	REPORTE DE RESULTADOS DE ENSAYO	F-5.10-01	
			Fecha: 30-07-2004	Versión: 1
			Autorizó: Aidé Perea	Página 1 de 1

INFORME DE RESULTADOS

FECHA: 18 de abril de 2007

DATOS DEL CLIENTE

NOMBRE/EMPRESA: Erika Parra Mantilla

DIRECCIÓN: Calle 37 No. 17 - 57 Bucaramanga

TELÉFONO: 6 70 46 70 - 3156262551

DATOS GENERALES

PRODUCTO: Yogurt con prebióticos

DESCRIPCIÓN: Yogurt con prebióticos

CÓDIGO: M034

FECHA DE RECEPCIÓN: 10 de abril de 2007.

MUESTREO: Muestra traída por el cliente.

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO MUESTRA	MÉTODO DE ANÁLISIS
Acidez	% Ácido Láctico	0,83	Volumétrico
Grasa	%	3,3	Gerber
Proteína	%	3,03	Kjeldahl
pH		4,22	Potenciométrico

REALIZADO POR

AUTORIZADO POR

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LAS MUESTRAS ANALIZADAS, NO PUEDEN SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDOS SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO.

