

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la
Producción**

“Aprovechamiento del grano de soya para el desarrollo de
alimentos funcionales”

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA DE ALIMENTOS

Presentada por:

Lady Elizabeth Saltos Arana

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2009

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la fortaleza para culminar esta etapa, a mi director de tesis, Ing. Luis Miranda, a Ana María Costa y Clarita Benavides por su invaluable ayuda y mis familiares por estar siempre a mi lado.

DEDICATORIA

A mi ángel guardián; mi mami, quien durante nuestra vida juntas demostró su inmenso amor y sacrificio por nosotras sus hijas.

A mis hermanas; Andrea y Madelayne, a mi segunda mama Mercy y a mi segundo papa Jorge.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Ing. Francisco Andrade S.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE



Ing. Luis Miranda S.
DIRECTOR DE TESIS



Ing. Priscila Castillo S.
VOCAL



Ing. Clara Benavides V.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”



BIBLIOTECA "GONZALO ZEVALLOS G
F. I. M. C. P.

(Reglamento de Graduación de la Espol)

A handwritten signature in black ink, appearing to be "L. S.", is written over a horizontal line.

Lady Elizabeth Saltos Arana

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS.....	IV
SIMBOLOGÍA.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1	
1. GENERALIDADES DE LAS MATERIAS PRIMAS	
1.1 Alimentos Funcionales: Definición y propiedades.....	2
1.2 Generalidades de la soya: Definición y características.....	5
1.2.1 Producción de la soya en el Ecuador.....	6
1.2.2 La soya como fuente alimenticia.....	7
1.2.3 Proceso de obtención de la leche de soya	10
1.2.4 Productos en el mercado a base de soya.....	13
1.3 Regulaciones para productos funcionales.....	16
1.4 Análisis del mercado.....	20
CAPÍTULO 2	
2. FASE EXPERIMENTAL	
2.1 Materiales y Métodos.....	23

2.1.1 Técnica para la obtención de la leche.....	23
2.1.2 Técnica para la formulación del dulce de leche.....	27
2.1.3 Técnica para la obtención del yogurt.....	31
2.1.4 Técnica para la formulación de la granola.....	36
2.2 Diseño del experimento	
2.2.1 Obtención de leche de soya	38
2.2.2 Desarrollo de la formulación para el dulce de leche	44
2.2.3 Desarrollo de la formulación del yogurt.....	51
2.2.4 Desarrollo de la formulación de la granola.....	59

CAPITULO 3

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Análisis Bromatológicos de los productos.....	64
3.2 Análisis Microbiológico en el yogurt.....	65
3.3 Información Nutricional.....	67
3.4 Pruebas sensoriales.....	68
3.5 Caracterización de los productos.....	79
3.6 Diseño del proceso.....	84
3.7 Costos de Formulaciones.....	95

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

FOS	Fructooligosacaridos
m	Metros
cm	Centímetros
Kg	Kilogramo
mg	Miligramo
g	Gramos
AA	Aminoácidos
h	Hora
Min.	Mínimo
Seg.	Segundo
Máx	Máximo
°C	Grados centígrados
min	Minuto
µm	Micras
rpm	Revoluciones por minuto
ml	Mililitros
g/cc	Gramos por centímetro cúbico

SIMBOLOGÍA

%	Porcentaje
#	Número

INDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1.1	Contenido de Inulina y Oligofructosa en el grano de soya.....	4
Figura 1.2	La Soya.....	5
Figura 1.3	Composición de la soya.....	7
Figura 1.4	Productos de soya.....	14
Figura 1.5	Producto con logo FOSHU.....	18
Figura 2.1	Productos de obtención de leche.....	39
Figura 2.2	Ingredientes para el dulce de leche.....	44
Figura 2.3	Incubación del yogurt.....	52
Figura 2.4	Azúcar.....	52
Figura 2.5	Yogurt prueba zT_2	55
Figura 2.6	Variaciones de pH a diferentes temperaturas de incubación.....	57
Figura 2.7	Ingredientes para la granola.....	59
Figura 3.1	Cepas Probióticas del yogurt.....	66
Figura 3.2	Puntuación de jueces para el dulce de leche.....	72
Figura 3.3	Grado de aceptación para el dulce de leche.....	72
Figura 3.4	Puntuación de jueces para el yogurt	75
Figura 3.5	Grado de aceptación para el yogurt	75
Figura 3.6	Puntuación de jueces para la granola.....	78
Figura 3.7	Grado de aceptación para la granola.....	78
Figura 3.8	Dulce de leche.....	79
Figura 3.9	Yogurt probiótico.....	81
Figura 3.10	Granola.....	82
Figura 3.11	Diagrama de flujo de leche de soya	85
Figura 3.12	Diagrama de flujo de dulce de leche.....	89
Figura 3.13	Diagrama de flujo del yogurt.....	91
Figura 3.14	Diagrama de flujo de granola.....	93

INDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1	Aminoácidos en la soya.....	8
Tabla 2	Procesos para obtención de leche de soya: 3 técnicas.....	24
Tabla 3	Comparación de la leche de vaca vs. Leche de soya.....	33
Tabla 4	Porcentaje de azúcar para la elaboración del yogurt.....	34
Tabla 5	Obtención de leche de soya: tres técnicas.....	40
Tabla 6	Variables y niveles para el dulce de leche.....	46
Tabla 7	Combinaciones de Variables y niveles para el dulce de leche..	47
Tabla 8	Pruebas para formulación del dulce de leche.....	49
Tabla 9	Variables y niveles para el yogurt.....	53
Tabla 10	Combinaciones de variables y niveles para el yogurt	54
Tabla 11	Pruebas para formulación del yogurt.....	55
Tabla 12	Variaciones de pH a diferente temperatura de incubación.....	56
Tabla 13	Variables y niveles para la granola.....	60
Tabla 14	Combinaciones de variables y niveles para la granola.....	61
Tabla 15	Pruebas para la formulación de la granola.....	63
Tabla 16	Análisis bromatológicos de los productos.....	65
Tabla 17	Determinación de cepa probiotica en yogurt.....	66
Tabla 18	Información nutricional de los productos.....	67
Tabla 19	Análisis de varianza del dulce de leche.....	70
Tabla 20	Comparación de valores F para el dulce de leche.....	71
Tabla 21	Análisis de varianza del yogurt.....	73
Tabla 22	Comparación de valores F para el yogurt... ..	74
Tabla 23	Análisis de varianza de la granola.....	76
Tabla 24	Comparación de valores F para la granola.....	77
Tabla 25	Formula del dulce de leche de soya.....	80
Tabla 26	Especificaciones del dulce de leche de soya.....	80
Tabla 27	Formula del yogurt.....	81
Tabla 28	Especificaciones del yogurt de soya... ..	82
Tabla 29	Formula de la granola.....	83
Tabla 30	Especificaciones de la granola.....	83
Tabla 31	Costos de la leche de soya.....	95
Tabla 32	Costos del dulce de leche.....	96
Tabla 33	Costos del yogurt.....	96
Tabla 34	Costos de la granola.....	97

RESUMEN

En el presente trabajo se realiza el aprovechamiento del grano de soya para el desarrollo de tres productos funcionales; un dulce de leche enriquecido con calcio, un yogurt con cepas probióticas y una granola para ello, inicialmente se procede a determinar el método de inactivación enzimática y ablandamiento del grano de soya, luego por medio de pruebas experimentales se procede a desarrollar la formulación del dulce de leche enriquecido con calcio y de la granola, para la formulación del yogurt se determina la concentración de azúcar para fermentar la leche de soya.

Posteriormente, una vez alcanzada la formulación de los productos, se realizan análisis bromatológicos para determinar los parámetros nutricionales de los mismos, análisis microbiológicos en el yogurt para cuantificar la cepa probiótica. Además se realizan pruebas sensoriales para determinar el grado de aceptación de los productos desarrollados.

Finalmente se plantea el proceso a nivel semiindustrial partiendo de los granos de soya y se evalúan los costos de las formulaciones.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los consumidores han desarrollado la conciencia por el cuidado de su salud, buscando en el mercado alimentos nutritivos, saludables y que vayan en línea con su estilo de vida. Por lo que, la industria transformadora de alimentos se encuentra en una búsqueda permanente de fuentes alimenticias que no solamente nutran sino también ayuden a prevenir y curar enfermedades, características que llevan consigo los alimentos funcionales.

La soya, es una de estas fuentes y considerando que existen estudios referente al Diseño de Proceso para la Industrialización de la misma, se vuelve necesario una investigación enfocada al desarrollo de productos que cumplan las características de funcionabilidad y que contribuyan con los requerimientos calórico – proteicos de la población nacional, brindando nuevos y variados productos que podrían ser fabricados en nuestro país y comercializados en base a su demanda.

Es por esto, que el presente trabajo está enfocado a cubrir las expectativas y requerimientos del consumidor, fusionando el aprovechamiento del aporte nutricional que nos brinda la soya con la búsqueda del fortalecimiento de nuestra salud y prevención de enfermedades en base al desarrollo de nuevos productos funcionales derivados de la misma, con la finalidad de proveer nuevos conceptos y variados productos, considerando el bajo costo del procesamiento de este grano.

Para lograrlo se desarrollo tres productos; un dulce de leche enriquecido con calcio, un yogurt probiótico y granola con avena.

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES DE LAS MATERIAS PRIMAS

1.1 Alimentos Funcionales: Definición y Propiedades

El término “Alimentos Funcionales” se refiere a todos aquellos productos alimenticios que en virtud de sus componentes proveen beneficios a la salud, reducción del riesgo de enfermedades, mas allá de la nutrición básica cuando estos son consumidos dentro de una dieta variada en niveles considerables (Asociación Dietética Americana en Estados Unidos, Revista Énfasis). Los ingredientes responsables de este efecto benéfico pueden estar presentes en forma natural en el alimento lo que se define como prebiótico o haber sido adicionados, como en el caso de los alimentos fortificados, enriquecidos o mejorados. Entre las principales propiedades atribuidas a los alimentos funcionales tenemos: crecimiento y desarrollo, fisiología o funcionamiento intestinal, disminución del

estrés, asma, infecciones urinarias, enfermedad de Parkinson, entre otras.

Los Prebióticos

Son productos alimenticios no digeribles o fibra que estimulan el crecimiento de especies bacterianas, como fuentes tenemos a la miel, cebolla, espárragos, soya, alcachofa, plátano, avena. Están presentes en el colon, contienen compuestos que nutren a la microflora intestinal. Entre los principales prebióticos tenemos a los fructooligosacaridos (FOS), que son azúcares simples de cadena corta, que están vinculados entre si por enlaces no digeribles que no pueden ser hidrolizados por las enzimas del intestino delgado y pasan directamente al intestino grueso.

En la soya se encuentran como fructooligosacaridos a la inulina y oligofructosa, figura 1.1, que tienen como características principales el control del estreñimiento, la prevención del cáncer de colon, mejorar la asimilación del calcio. Estas llegan intactas al colon donde son fermentadas por la microbiota intestinal (sobre todo bifidobacterias), estimulando su crecimiento. Este proceso es conocido como efecto prebiótico o bifidogénico.

Contenido de inulina y oligofruktosa en productos que forman parte de nuestra dieta los valores estan expresados en % de su peso fresco	Producto	Contenido en inulina	Contenido en oligofruktosa
		cebolla	2-6
	ajo	1-9	0,2-0,5
	puerro	3-10	3-7
	raiz de achicoria	16-20	5-8
	soya	4-10	7-10
	avena	4-7	1,5-2
	trigo	1-4	0,3-0,7

Figura 1.1 Contenido de inulina y oligofruktosa en el grano de soya

Fuente: <http://www.fhoemo.com/esp/Inulina.pdf>

Los Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que, ingeridos en cantidades entre 1×10^8 y 1×10^9 células por ración mínimo pueden ejercer efectos beneficiosos en la salud. (CHR HANSEN, Lácteos, noticias N. 51 marzo, abril 2006).

Entre los más conocidos encontramos a las *Bifidobacterias* que representan un papel importante en la limpieza del ambiente intestinal, por lo cual es necesario que sea el grupo dominante en la microflora, producen ácido láctico que inhibe el crecimiento de bacterias indeseables, tales como *Echerichia Coli* y *Salmonella*.

Adicionalmente tenemos al *Lactobacillus Bulgaricus* y el *Streptococcus Thermophilus* que son los responsables del proceso fermentativo que genera el yogurt, además al actuar como

reguladores de la flora intestinal ayudan a prevenir la aparición de gastroenteritis.

El *Lactobacillus Acidophilus* produce vitamina K, vitaminas del complejo B que ayudan en la digestión de alimentos, con lo que se impide la colonización por bacterias patógenas. Produce la enzima “lactasa”, la que ayuda a digerir la lactosa (azúcar de la leche).

1.2 Generalidades de la Soya: Definición y Características

La soya de nombre científico *Glycine Max*, es una leguminosa de alto valor nutritivo, originaria en Asia hace aproximadamente 4000 años, ha jugado desde entonces un papel muy importante en la alimentación China y Japón, en la actualidad se cultiva mayoritariamente en Estados Unidos, Brasil, Argentina y en menor proporción en Bolivia, Ecuador. Es una planta herbácea anual, cuyo ciclo vegetativo oscila de tres a siete meses, cuya planta alcanza una altura de 80 a 100 cm, la semilla de soya se produce en vainas de 4 a 6 cm de longitud y cada vaina contiene 2 a 3 granos de soya.



Figura 1.2 La soya

1.2.1 Producción de la soya en el Ecuador

El cultivo de la soya se desarrolla casi en su totalidad en la provincia de Los Ríos en las zonas de Quevedo, Mocache y Babahoyo y un 5% en la Provincia del Guayas (Convenio MAG – IICA; Guía Tecnológica y de Posibilidades de Investigación de Cultivos Tradicionales, 2006) Se puede verificar en el mapa de zonificación del cultivo en el Ecuador (ver apéndice 1).

El 95% de la producción nacional proviene de las siembras de verano, para lo que se aprovecha la humedad en el suelo luego de producir maíz o arroz en el invierno, con suelos desde franco arenosos a arcillosos. Las principales zonas de producción son:

Zona alta: Quevedo, Boliche, Valencia, Buena Fe;

Zona media: San Carlos, Mocache, Zapotal y Ventanas; y,

Zona baja: Montalvo, Babahoyo, Baba, Vinces y Febres Cordero.

La producción de soya abastece a las plantas agroindustriales existentes en el país, de las cuales 6 se encuentran localizadas en Guayaquil, 2 en Manta y 1 en Quito.

(Fuente: www.sica.gov.ec)

1.2.2 La soya como fuente alimenticia

La soya es altamente recomendable por sus principios digestibles lo que da un balance muy adecuado en la alimentación, es valiosa fuente de proteínas, en la figura 1.3 se visualiza la distribución porcentual de nutrientes del grano de soya.

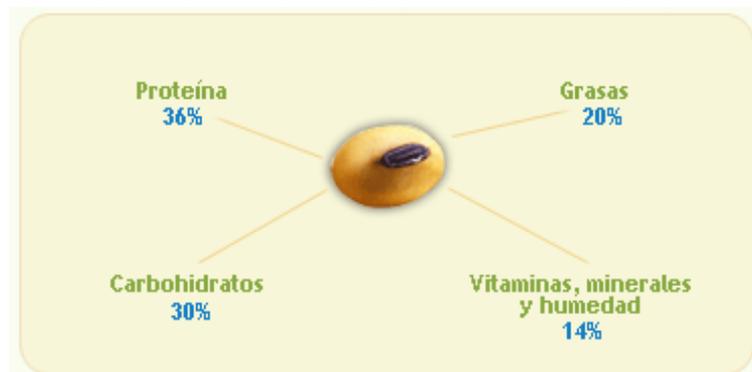


Figura 1.3 Composición de la soya

Proteínas: Contienen todos los aminoácidos esenciales, con la ventaja de que carece de compuestos purínicos por lo que no da lugar a la formación de ácido úrico, dándole un valor dietético incalculable. Cabe recalcar que las proteínas vegetales, tienen bajo nivel de aminoácidos con contenido de azufre (cistina y metionina), a los cuales se debe el aumento de la excreción de calcio, lo que conlleva a una mejor asimilación

de este mineral en el cuerpo, a continuación en la tabla 1 se detalla el contenido de aminoácidos presentes en la soya:

TABLA 1

AMINOÁCIDOS EN LA SOYA

Perfil de Aminoácido (AA)	% de AA/100gr de proteína	Perfil de Aminoácido (AA)	% de AA/100g de proteína
Triptofano	1.01	Isoleucina	4.77
Lisina	5.05	Leucina	8.13
Histidina	1.16	Tirocina	1.68
Arginina	10.95	Fenilalanina	4.21
Ac.Aspartico	13.95	Prolina	5.61
Treonina	6.88	Glisina	3.52
Serina	4.19	Alanina	2.84
Ac.Glutámico	18.53	Valina	5.08
Metionina	0.92		

Fuente: Industria Alimenticia, Soya, información nutricional, 2008

Grasas: Prácticamente son de forma digestible total, por su alto contenido en ácidos grasos insaturados, siendo los ácidos linoleicos (40 – 50%) y oleico (17 – 20%) los predominantes, seguidos de linolenico, palmítico, esteárico en proporciones entre 10 – 5%, cuya característica principal es que permiten emulsionar, es decir mezclar las grasas del organismo con el

agua para facilitar su expulsión, que ayuda a prevenir la formación de colesterol.

En la actualidad es reconocido que la grasa insaturada es benéfica para la salud al contrario que la saturada, por lo que entre los aceites vegetales, la lecitina de soya tienen un gran posicionamiento en el mercado.

Sin embargo, el aceite insaturado es también susceptible a la oxidación y deterioro de la calidad, por lo que el proceso convencional del aceite de soya ha sido confeccionado para reducir el grado de insaturación por hidrogenación selectiva de ácido linoleico el cual es el ácido graso que se oxida más rápido.

Carbohidratos: Comprenden entre el 25 y 30% y son en su mayor parte glúcidos que son consumidos o sintetizados en el organismo, incluso en los casos de diabetes, formando glucosa tan solo un 5-6% de ellos.

Vitaminas: Su mayor aporte se deriva a las vitaminas A y C cuya participación por cada 100g de granos de soya es 4,5mg y 2,3 mg respectivamente.

Minerales: Se encuentran presentes en la soya; el Calcio (200mg), Potasio (170mg), Hierro (3mg) todos por cada 100g de granos, valores que duplican a los aportados por la leche de vaca, triplican a la carne de res.

1.2.3 Proceso de obtención de la leche de soya

La leche de soya básicamente es un extracto acuoso del grano, es una dispersión estable de las proteínas de soya en agua, semejante, en apariencia, a la leche de vaca. El proceso para la elaboración de leche de soya ha ido evolucionando y tecnificándose con el pasar de los tiempos, sin embargo en la actualidad aun se prepara de forma artesanal: remojando los frijoles de soya durante una noche, seguido de un molido húmedo, filtrado y ebullición.

Existen tres factores que deben ser tomados en cuenta en la elaboración de la leche de soya; la eliminación del sabor afrijolado, la inactivación de factores biológicamente activos como los inhibidores de tripsina y la eliminación de azúcares responsables de la flatulencia.

La lipoxigenasa es la responsable de que aparezca el sabor afrijolado en la soya, esta cataliza la oxidación de los ácidos grasos insaturados para transformarlos en hidroperóxidos tales como ceto-vinil-etil-hexanal-n,ventanal y 1-octano-3-ol ; los cuales se descomponen para producir el sabor afrijolado. Como consecuencia, la activación de la lipoxigenasa es la responsable de los sabores y olores indeseables que se desarrollan durante el triturado del fréjol de soya, esta enzima es generalmente inactivada por medio del blanqueo.

El blanqueo tiene importantes funciones, por ejemplo: la hidratación de los cotiledones (o frijol de soya entero) e inactivación de las enzimas. El sabor residual afrijolado se desarrolla cuando los frijoles están dañados y la lipoxigenasa esta disponible para oxidar a los lípidos en presencia de agua y aire (oxígeno). Además de las lipoxigenasas, otras enzimas y componentes pueden ser los responsables del desarrollo de factores antinutricionales que pueden ser inactivados por medio del blanqueo.

Los inhibidores de tripsina presentes en la soya, deben ser inactivados a fin de facilitar la digestión de las proteínas. Desde

un punto de vista práctico, los inhibidores de tripsina no parecen ser un serio problema en la alimentación ni en los alimentos, ya que estos son casi totalmente inactivados cuando se someten a temperaturas de 80°C por 15 min o 90°C por 10 min. Los azúcares responsables de la flatulencia presentes en la soya son la rafinosa y la estaquiosa, que pueden ser eliminados también por medio del blanqueo, tratamiento térmico o con tratamiento enzimático (galactosidasa e invertasa).

En la actualidad, los frijoles de soya son sometidos a un proceso más técnico; la soya es limpiada por medio de una banda transportadora vibratoria removiendo de esta manera los materiales extraños, tales como paja, metales y hierbas, así también los granos inmaduros y dañados para minimizar la producción de sabor afrijolado. Luego se les elimina la cascarilla, existiendo dos métodos: el seco, que consiste en aplicar tratamiento térmico, resquebrajado del grano y separación de la cáscara. El método húmedo, en cambio consta de un remojo de la soya para desprender la cáscara y de una corriente de agua para retirar la cáscara por flotación. Seguidamente se someten a un blanqueo donde se calientan los cotiledones con una solución de bicarbonato de sodio a

90°C para reducir el sabor a fríjol, el escaldo también lava y remueve los azúcares responsables de la flatulencia. La soya remojada puede ser molida con agua fría o caliente usando una gran variedad de trituradores o molinos. Los residuos de soya insolubles se separan de la suspensión de soya por medio de una prensa para mejorar el sabor, la palatabilidad. Se pasteuriza la leche calentándola a temperaturas de 80-85°C durante 20 segundos. Luego se la enfría hasta que alcance una temperatura aproximada de 8°C y se almacena en tanques de acero inoxidable a 4°C (Fuente: International Soybean Program/INTSOY de la Universidad de Illinois)

1.2.4 Productos en el mercado a base de soya

La soya puede servir directamente como materia prima para la elaboración de una gran variedad de productos como son: la bebida o “leche de soya”, que puede ser natural o con sabores frutales o lácteos, okara (subproducto de la leche de soya), tofu (o “queso de soya”), tempeh (producto fermentado), miso y muchos más.



Figura 1.4 Productos de Soya

Leche de soya/Bebidas: Líquido parecido a la leche que se extrae de los granos de soya, puede encontrarse bajo su forma natural o de diversos sabores como vainilla, chocolate, así también combinada con frutas como naranja, sandía, durazno, son de fácil digestión.

Miso: Es una especie de pasta que se forma a partir de soya fermentada con sal y cereales. Requiere de maduración de unos 2 a 3 años en barriles de madera, utilizada para sazonar sopas, salsas.

Tempeh: Es un producto procedente de la fermentación de la soja que se presenta en forma de pastel. Es un producto originario de Indonesia, donde es muy popular, tiene un sabor a ahumado o a nuez.

Tofu: Se lo obtiene coagulando leche de soja y, a continuación, presionando el requesón resultante en cuadritos. Existen diferentes variedades de tofu, tanto fresco como procesado.

El tofu tiene muy poco sabor u olor de por sí, por lo que puede ser utilizado tanto en platos salados o dulces, y es a menudo sazonado o marinado para adaptarse a la forma de elaborarlo.

Salsa de soya: Se elabora tradicionalmente mediante la fermentación de granos de soja con trigo tostado partido, que se acomodan en bloques y se sumergen y sacan varias veces en un caldo frío de agua y sal, el proceso dura cerca de un año en ollas de barro, en ocasiones se le agregan hongos secos como champiñones.

1.3 Regulaciones para productos funcionales

La documentación de la existencia de alimentos funcionales comenzó tan temprano como en el año 1000 a E.C, dichas

investigaciones se basaban en un solo criterio: “*Que el alimento sea tu medicina y la medicina tu alimento*”. Casi 2500 años después, comenzando el Siglo XXI, este enunciado es de máxima importancia ya que es la filosofía del “alimento como medicina” la que soporta el paradigma de los *alimentos funcionales*. Este concepto de alimentos que contienen componentes específicos fisiológicamente activos se origina en Japón en los años 1980s. Se cambió oficialmente el término “alimentos funcionales” por el de FOSHU que significa “alimentos procesados que contienen ingredientes con específica ayuda funcional, además de ser nutritivos” y se reconocieron doce categorías de ingredientes favorecedores de la salud: fibra dietética, oligosacáridos, azúcar alcoholes, péptidos y proteínas, glucósidos, alcoholes, isoprenoides y vitaminas, colina, bacterias ácido lácticas, minerales, ácidos grasos poliinsaturados y otros.

En vista de que en nuestro país todavía no se cuenta con una regulación para dicho producto, se toma como referencia la legislación de Japón, en donde se ha desarrollado la licencia FOSHU ((Food for Specified Health Use – Alimento de uso específico para la salud), establecida en 1991, el cual es un sistema controlado por el Ministerio de Salud, Laboral y Bienestar que mediante estudios científicos, comprobados por organismos imparciales, disponen de

información correcta y confiable sobre los beneficios específicos que ofrecen y otorgan los alimentos funcionales.

Para ser aprobado el alimento debe cumplir con los siguientes criterios:

- 1.- Contribuir a mejorar los hábitos alimentarios, mantener y mejorar la salud.
- 2.- Los efectos beneficiosos para la salud atribuidos a el o a sus componentes deben estar basados en principios nutricionales claros.
- 3.- Se deberá definir la forma adecuada como se consumirá el alimento o sus componentes.
- 4.- El alimento y sus componentes deben ser considerados seguros.
- 5.- Estar bien definidos los métodos para determinar las propiedades físico-químicas de los componentes y para el análisis cualitativo y cuantitativo de los mismos.
- 6.- La composición nutricional del producto no debe ser significativamente inferior a la de los alimentos similares.
- 7.- El producto debe de tener la forma de un alimento normal, y no en forma de píldora, cápsula u otra forma de dosificación.

Una vez aprobado la licencia, dicha legislación indica que los productos deben contener en su etiqueta el logo FOSHU que se puede visualizar en la figura 1.5, siendo este un respaldo para que el consumidor pueda identificar fácilmente su certificación con solo observar el producto.



Figura 1.5 Producto con logo FOSHU

Fuente:http://www.unizar.es/med_naturista

A continuación se citarán ejemplos de declaraciones de beneficios para la salud aprobadas en Japón según el sistema FOSHU:

- Oligo cc, una bebida carbonatada que contiene oligosacáridos de soya: adecuada para personas con problemas gastrointestinales, ya que aumenta la concentración de bifidobacterias en el intestino y ayuda a mantener un medio intestinal adecuado.

- All braun, que contiene salvado de trigo: ayuda a regular la función gastrointestinal, ya que el salvado de trigo es rico en fibra alimentaria. Es un alimento sabroso que permite mantener una función gastrointestinal adecuada.

Así también en la actualidad el criterio de alimentos funcionales se encuentra expandido a nivel mundial, siendo así que en USA, la industria alimenticia ha centrado su interés principalmente en el estudio y lanzamiento al mercado de productos bajos en grasa y colesterol, sustitutos de grasa, con mayores concentraciones de fibra, con antioxidantes, como las vitaminas E, C y A, todo esto bajo el *Acta De Etiqueta Y Educación Nutricional (NLA)*.

En la Unión Europea, por su parte las directivas sobre alimentos con beneficios para la salud son dadas por la *ILSI (Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa)*, siendo los principales temas de interés las fibras dietéticas, los oligosacáridos, los ácidos grasos n-3 y algunos carotenoides.

1.4 Análisis del mercado

Hoy en día, el mercado de alimentos saludables se ha desarrollado de manera importante, debido a que los consumidores han adquirido

conciencia hacia el cuidado de la salud, buscando en el mercado alimentos nutritivos, saludables y que vayan en línea con sus nuevos estilos de vida.

La investigación científica que se ha llevado a cabo recientemente, ha demostrado el papel que juegan ciertos componentes químicos nutricionales en la prevención y tratamiento de muchas enfermedades. Esta situación ha provocado un cambio del simple concepto de alimento como fuente de nutrientes, a uno más integral que traduce la potencialidad que los alimentos pueden tener, no solo nutrir, sino también de prevenir y curar enfermedades, característica que llevan consigo los alimentos funcionales, como es el caso de productos de soya, entre ellos jugos, leche de soya en polvo, yogurt, barras energéticas, entre otros.

De esta manera diversas empresas con gran reconocimiento a nivel internacional han incluido alimentos de soya en su portafolio de productos. (Revista Industria Alimenticia, Febrero 2008, La soya y sus propiedades, Ing. Andrés Bustamante Diez, Gerente Técnico de Alitecno Brasil).

De acuerdo con el USDA (United States Department of Agriculture, 2009), la producción global de productos de soya se ha

incrementado a una tasa anual promedio entre el 15% y 20% durante los últimos tres años.

En nuestro país, las personas se están alineando a los cambios que existen actualmente en los hábitos de consumo a nivel global, interesándose por productos saludables, entre ellos derivados de soya, cuyo consumo en gran mayoría es de forma artesanal, debido a que no existen aun empresas de prestigio que hayan invertido en una marca comercial para los mismos, por lo que el desarrollo de productos a partir de esta oleaginosa es un gran potencial para el país, aprovechando producto interno como también de otras regiones como Paraguay, Bolivia y el oeste de Brasil.

CAPÍTULO 2

2. FASE EXPERIMENTAL

Las pruebas a nivel de laboratorio para obtener las formulaciones, análisis bromatológicos y microbiológicos, además de verificar la presencia de la cepa probiótica en el yogurt, fueron realizadas en los laboratorios de una empresa que se dedica a la elaboración de productos de consumo masivo, ubicada en la ciudad de Guayaquil.

Para elaborar las pruebas, se diseñaron los experimentos para los tres productos a desarrollar, basados en cambiar ciertas variables como por ejemplo; el porcentaje de jarabe de glucosa y carragenina en el dulce de leche, temperatura de incubación y porcentaje de azúcar en el yogurt, porcentajes de remanente de soya y azúcar morena en la granola, considerando como variable de respuesta el grado de aceptación por medio de paneles sensoriales.

La variedad de soya que se utilizó en las pruebas experimentales fue la INIAP 306 vigente en nuestro país, originaria de Boliche.

2.1. Materiales y Métodos

En esta etapa se describen los implementos a nivel de laboratorio que se utilizarán para la obtención de todos los productos y las técnicas a seguir.

2.1.1 Técnica para la obtención de la leche

En esta parte se describen las tres técnicas que se aplican y compararán para la obtención de leche de soya, siendo estas la primera una tradicional, la segunda de mejor técnica y la tercera tomada del International Soybean Program/INTSOY de la Universidad de Illinois.

Materiales y Reactivos:

- Granos de soya
- Cedazo metálico y liencillo
- Hornilla
- Ollas
- Licuadora

- Termómetro
- Bicarbonato de sodio
- Potenciómetro (pHmetro)
- Cribas 70(212um) – 150(99um)
- Balanza digital (sensibilidad 0.1)

Técnicas:

En la tabla 2 se mencionan las etapas de proceso que se utilizan en los tres métodos diferentes de obtención de leche de soya.

TABLA 2

**ETAPAS DE PROCESO PARA OBTENCION DE LECHE
DE SOYA POR TRES TECNICAS**

Etapas de Proceso	Técnica 1	Técnica 2	Técnica 3
Selección y Pesado	√	√	√
Remojo	√	√	-
Cocción	-	√	-
Descascarillado	√	√	√
Escaldado	-	-	√
Triturado	√	√	√
Filtrado	√	√	√
Pasteurización	√	√	√

Elaborado por: L. Saltos-2008

Técnica 1

Se pesan 250g. de soya y se seleccionan separando las partículas extrañas y los granos rotos. Se remojan los granos de 8 a 10 horas con 6 veces de agua en relación a su peso seco, cambiando el agua cada 2 horas. Se procede a realizar un descascarado manual de los granos, luego estos son triturados con 6 veces el contenido de agua con relación al peso en seco de los granos en una licuadora. El producto obtenido se lo filtra (dos veces) por medio de un cedazo metálico, sobre el cual se coloca un liencillo, con el que se procede a realizar un exprimido manual del contenido, para extraer el suero de leche, obteniendo a la vez un residuo semisólido al que se denomina remanente, cuyo contenido de humedad es de 80%.

La leche de soya obtenida se somete a un proceso de pasteurización a una temperatura de 85°C por 2 minutos como medio de preservación. Una vez pasteurizada la leche se enfría inmediatamente y se conserva a temperatura de 5°C, el remanente obtenido se lo seca en la estufa a 110°C por 1 hora

para su conservación, logrando una humedad del 12% al final de dicho proceso.

Técnica 2

Esta técnica se basa en la secuencia de pasos descrita en la anterior con la diferencia de que previo al descascarado existe un tratamiento térmico (cocción) de los granos de soya, a una temperatura de 75°C por 3 minutos, mejorando el desprendimiento del tegumento (cáscara) del grano de soya.

Técnica 3

Esta técnica contempla especificaciones citadas por el International Soybean Program INTSOY/ Universidad de Illinois Consiste en un proceso similar a las técnicas 1 y 2, se realiza el mismo proceso de selección de granos tal como se describió anteriormente, a continuación se descascararan los granos luego de someterlos al calor en seco (estufa) a 95°C por 15 minutos y posteriormente son sometidos a una corriente de aire a temperatura ambiente para remover las cáscaras.

Los granos descascarados son pesados y sumergidos en agua a 90°C (5 veces el peso de los granos secos), se le agrega 0.3% de bicarbonato de sodio, se mantiene en contacto por 10 minutos y se enjuaga con agua fría. Transcurridos los 10 minutos se escurren y enjuagan los granos, este proceso se lo denomina blanqueo, químicamente cumple con la función de inactivar enzimas. Los cotiledones escaldados, son licuados utilizando 6 veces el contenido de agua con relación al peso de los granos.

Los pasos siguientes también son similares a los de las técnicas anteriores con la diferencia de que en el triturado el suero se filtra con una criba con malla 70 y luego con filtro de criba con malla 150, con el objetivo de disminuir el contenido de sólidos suspendidos en el producto final.

2.1.2. Técnica para la formulación del dulce de Leche

Se parte de la leche de soya seleccionada en los ensayos anteriores y se procede a realizar las pruebas necesarias hasta obtener la formulación del producto requerido, se toma como referencia el proceso que se utiliza en la elaboración de dulce de leche tradicional, así también sus cantidades de azúcar,

estabilizante y preservante, rigiéndose a la Norma INEN 700 para dulce de leche, (ver apéndice 2).

La tabla de los requisitos de la Ingesta Diaria se encuentra en el Apéndice 3 donde se observa la cantidad de calcio que nuestro organismo requiere, del cual se busca cubrir el 10% con la adición de lactato de calcio que contiene entre un 30-35 % de calcio, como indica su hoja técnica (ver apéndice 4).

Referencias del Dulce de Leche

El dulce de leche es un producto obtenido por concentración mediante su calentamiento a presión normal de leche con la adición de azúcares, otros ingredientes o aditivos permitidos hasta alcanzar los requisitos establecidos para este producto. Normalmente en la elaboración de dulce de leche se adiciona bicarbonato de sodio como neutralizante, debido a que durante el proceso de elaboración el producto va evaporando humedad, el ácido láctico se va concentrando en fase acuosa progresivamente más pobre y la acidez va aumentando de una manera tal que el proceso podría culminar por producir una sinéresis (el dulce se corta).

El uso de leche con acidez elevada produciría un dulce de leche de textura arenosa, áspera. Asimismo una acidez excesiva impide que el producto terminado adquiera su color característico, ya que las reacciones de MAILLARD son retardadas por el descenso del pH. En este caso no es necesario el uso del bicarbonato de sodio puesto que la leche de soya no contiene ácido láctico por lo cual la disminución del pH del producto durante su procesamiento no tiene efecto.

Materiales y Reactivos:

- Leche de soya
- Carragenina
- Jarabe de Glucosa
- Azúcar
- Lactato de Calcio
- Espátula
- Sorbato de Potasio
- Refractómetro
- Termómetro
- Aroma de vainilla
- Hornilla

- Olla
- Beaker 200 ml
- Balanza digital sensibilidad 0,1

Técnica:

Se coloca 1litro de leche en una olla, se somete a tratamiento térmico (70 – 75°C) durante el cual se agita constantemente para evitar la formación de costras en las paredes del recipiente, se adiciona lentamente el azúcar evitando el contacto con las paredes y se continua hasta llegar a los 35°Brix aproximadamente.

Cuando el azúcar se ha disuelto completamente y el producto esta por los 64°Brix se agrega el jarabe de glucosa, posteriormente la carragenina y el aroma. El proceso de evaporación finaliza cuando la superficie se ve brillante y hay movimiento desde los bordes hacia dentro de la olla.

Si se interrumpe el tratamiento térmico el producto será fluido e inconsistente, y si se prolonga el mismo se obtendrá un producto duro y cristalizable. Para controlar la concentración se suele utilizar métodos empíricos como echar una gota del dulce

en un vaso con agua fría; si la gota llega al fondo sin disolverse está listo. De una forma más técnica se realiza en el laboratorio un control permanente de los °Brix y cuando el producto alcance los 67 – 70 °Brix se detiene la cocción.

La masa del dulce caliente a 70°C. sigue por sí misma evaporando agua hacia el ambiente y continúa perdiéndola en el proceso de trasvase y enfriamiento que debe ser hasta 60°C para evitar sobre cocción y oscurecimiento, llegando a estar dentro del envase con aproximadamente 72° Brix, obteniéndose un dulce de leche que resulta agradable al paladar.

2.1.3 Técnica para la formulación del Yogurt

Se parte con la leche seleccionada previamente, la formulación del yogurt está hecha en base a las especificaciones planteadas por el INEN en la Norma 710. (ver apéndice 5).

El contenido de cepa probiótica a dosificar en las diferentes pruebas está dado por la ficha técnica del proveedor (ver apéndice 6), la misma que indica que para obtener 1000 lt de yogurt se requiere de 200 unidades cuyo peso es de 320g,

como a nivel de laboratorio se realizan pruebas de 1 lt se utilizan 0,2 unidades que equivalen a un peso de 0,032g.

Referencias del yogurt

Este cultivo está formado por el *Lactobacillus Bulgaricus*, *Streptococcus Thermophilus*, *Lactobacillus Acidophilus* y *Bifidobacterias*, cultivos termófilos responsables de la acidificación del yogurt, producción de aromas característicos y funcionabilidad del mismo.

El proceso es similar al del yogurt de la leche de la vaca, incluye: Preparación de la leche, Formulación, Pasteurización, Enfriamiento, Adición de cultivo, Incubación, Corte y Enfriamiento, Mezclado, Envasado y Almacenamiento.

En virtud de que la leche de soya no contiene lactosa (azúcar de la leche de vaca), se adiciona sacarosa para producir la fermentación; este azúcar se descompone en glucosa y fructosa. El *Streptococcus Thermophilus* es capaz de fermentar la lactosa, sacarosa, glucosa y fructosa, el *Lactobacillus Bulgaricus* fermenta la lactosa, sacarosa, glucosa, fructosa y galactosa, el *Lactobacillus Acidophilus* la glucosa, lactosa,

maltosa y sacarosa, a su vez las *Bifidobacterias* metabolizan la glucosa y sacarosa.

La dosis de sacarosa se determina por medio de un análisis comparativo de la composición de la leche de vaca vs. la leche de soya:

TABLA 3

COMPARACION DE LECHE DE VACA VS. LECHE DE SOYA

Composición de la leche de soja y de la leche de vaca por cada 240 gr. (Un vaso)		
	Leche de vaca entera	Leche de soja
Calorías	148.84 kcal	79.20 kcal
Proteínas	8.05 g	6.72 g
Grasa	8.05 g	4.56 g
Carbohidratos	11.47 g	4.32 g
Sodio	119.56 mg	28.80 mg
Vitamina A	307.44 UI	76.80 UI
Vitamina C	2.20 mg	0.00 mg
Grasas saturadas	5.08 g	0.50 g
Colesterol	34.16 mg	0.00 mg

Fuente: www.botanical-online.com/sojaleche.htm

En la tabla 3 se indica que la leche de vaca contiene 11,47g de Carbohidratos y la leche de soya apenas 4,32g por cada 240g, esto a su vez se lo considera como el contenido de azúcar propia de la leche (lactosa) que promueve el proceso de fermentación. Al existir este déficit en la leche de soya se busco

compensarlo con sacarosa, tomando en cuenta que la cantidad necesaria para la compensación de la misma estaría alrededor de 7,15g/240g de producto, se utilizaron valores por encima y debajo con una diferencia de 1g cada una, como lo indica la tabla 4.

TABLA 4

% DE AZUCAR PARA ELABORACION DEL YOGURT

Contenido Azúcar/240g de leche de soya	Azúcar estimada 240g de leche de soya	Compensación de azúcar en 240g	Equivalente en %
4,32	10,47	6,15	2,6
4,32	11,47	7,15	3,0
4,32	12,47	8,15	3,4

Elaborado por: L – Saltos 2008

Al obtener estos datos se procedió a inocular tres muestras de leche de soya con contenidos de 2,6, 3,0 y 3,4% de sacarosa usando para ello la cepa probiótica.

Materiales y Reactivos:

- Leche de soya
- Goma Xanthan

- Cultivo probiótico
- Azúcar (Sacarosa)
- Espátula
- Hornilla
- Olla
- Balanza digital sensibilidad 0.1
- Incubadora
- Beaker 2000 ml
- Potenciómetro
- Refractómetro

Técnica:

Se mide en una olla 1 litro de leche obtenida según la técnica seleccionada, se calienta hasta 45°C y se adiciona el azúcar correspondiente para cada prueba. Luego, se inocula el cultivo y se deja en incubación manteniendo la temperatura de 37– 43°C durante 5-6 horas, se realiza un control constante del pH y °Brix, cuando el pH llega a un valor estable de 4 - 4.3 se procede a cortar el proceso de fermentación, es decir enfriando el producto a 2°C se envasa y conserva refrigerado a 5°C.

2.1.4 Técnica para la formulación de la Granola

Se toma como referencia los parámetros de la Norma INEN para galletas o productos horneados INEN (ver apéndice 7).

Además se debe considerar que las materias primas para la elaboración de este producto son considerados secos puesto que su humedad fluctúa entre 10 – 12%.

Materiales y Reactivos:

- Ajonjolí
- Pasas
- Avena en hojuelas
- Coco rayado
- Germen de trigo
- Azúcar morena
- Remanente de soya
- Hornilla
- Sartén
- Bandeja metálica
- Balanza digital sensorial 0,1

Técnica:

Se parte del remante o torta de soya seca con una humedad del 12% obtenida del proceso de elaboración de leche de soya. Se tuesta la avena a 60°C por 30 minutos, mezclamos los ingredientes en un mezclador en V con barras intensificadoras que ayudan a que los ingredientes se distribuyan homogéneamente, tiempo en el mezclador 15 minutos, 60 – 80 rpm. Se envasan en fundas de polipropileno de 200 g.

2.2 Diseño del experimento

Previo a la aplicación del diseño de experimentos para obtener las formulaciones de los productos a desarrollar, se realizan pruebas experimentales para la selección de la técnica a seguir en la obtención de la leche de soya, que depende de varios factores: la eliminación del sabor afrijolado, la inactivación de los inhibidores de tripsina, la eliminación de azúcares responsables de la flatulencia, que están directamente relacionados con las características organolépticas finales y tiempos de proceso.

Una vez seleccionada la técnica para la obtención de la leche de soya se realiza el diseño de experimentos para cada producto. Las

características que podrían influir en la aceptación serán llamadas variables que se evalúan a diferentes niveles, es decir a diferentes valores, obteniéndose diferentes muestras (combinaciones) que se someterán a un análisis técnico discriminatorio aplicando luego a las muestras escogidas un análisis de varianza de los datos recogidos de los panelistas.

Por cada característica a evaluar se realizan las combinaciones según las variables y niveles.

Cada combinación será una muestra y se codificara con letras distintivas.

2.2.1 Obtención de la leche de soya

Se realizaron por cada técnica 5 pruebas experimentales, donde las 3 primeras fueron para obtener los parámetros de rendimientos y comportamiento del producto y las 2 siguientes fueron de verificación. Para efectuar las pruebas se trabajó con 250g de muestra de frijol de soya entero para cada técnica.

En la figura 2.1 se visualiza los productos obtenidos en la elaboración de la leche, así también en la tabla 5 se encuentran los datos de cada etapa en las diferentes técnicas.



Figura 2.1 Productos de obtención de leche

TABLA 5

OBTENCIÓN DE LECHE DE SOYA: TRES TECNICAS

ETAPA	TECNICA 1	TECNICA 2	TECNICA 3
Selección y Pesado			
Peso inicial de los granos (g)	250,00	250,00	250,00
Peso de granos seleccionados (g)	247,40	246,40	247,25
Remojo			
Cantidad de agua (ml)	1500,00	1500,00	-
Tiempo (h)	8	8	-
Peso de granos hidratados (g)	495,3	504,85	-
Cocción			
Tiempo (min.)	-	10	-
Temperatura (°C)	-	70	-
Peso de granos cocidos (g)	-	505,00	-
Descascarado			
Temperatura de calentamiento (°C)	-	-	95
Tiempo de calentamiento (min.)	-	-	15
Peso de cotiledones (g)	436,92	445,35	235,22
Peso de cáscaras (g)	58,38	59,50	12,18
Blanqueo Alcalino			
Cantidad de agua (ml)	-	-	1400,00
Peso de bicarbonato de sodio (g)	-	-	4,20
Temperatura (°C)	-	-	90
Tiempo (min.)	-	-	10
Cantidad de agua de enjuague (ml)	-	-	1000,00
Temperatura agua de enjuague (°C)	-	-	28
Triturado			
Cantidad de agua (ml)	2600,00	2700,00	2340,00
Tiempo (seg.)	45	45	45
Cantidad de leche obtenida (ml)	2667,24	2720,00	2380,00
Peso de sólidos recuperados (g)	192,30	196,00	150,56

Filtrado			
Criba malla 70			
Cantidad de leche filtrada (ml)	2663,00	2715,00	2376,00
Peso de sólidos recuperados (g)	4,29	4,21	4,25
Criba malla 150			
Cantidad de leche filtrada (ml)	2661,00	2713,00	2374,00
Peso de sólidos recuperados (g)	1,58	2,06	2,00
Pasteurización			
Temperatura (°C)	90	90	90
Tiempo (seg.)	20	20	20
Características			
pH	6,7	6,8	7,1
Densidad g/cc	1,031	1,030	1,031
% Acidez (exp. Ac. Linoleico)	1,45	1,43	1,37
% Proteína (% N 5,77)	2,7	2,8	2,81
Sabor (afrijolado)	Abundante	Moderado	ligero
Color	Café claro	Beige	blanco hueso
Olor	propio	Propio	propio
Tiempo de proceso	9h	8h 30min	1h 30min

Elaborado por: L. Saltos-2008

Observaciones

- TECNICA 1: La leche de soya obtenida presentó una coloración café claro, con sabor poco agradable (afrijolado) y con notable presencia de sólidos en suspensión debido a que en el momento del descascarado quedan pequeños fragmentos de cáscaras

adheridos al grano, los que le dan este color, este proceso tiene una duración de 9 horas.

- TECNICA 2: La leche de soya resulta superior a la primera, tiene una reducción de tiempo de operación de media hora debido a que la cocción remueve las cáscaras del grano y facilita el proceso de descascarado, el producto tiene un color es más agradable y de textura menos afrechosa aunque el sabor de la leche presenta un residual afrijolado notorio aun. Esta mejora en las características del producto se da por efecto de la cocción previa al descascarado que como se mencionó anteriormente desactiva las lipoxigenasas.
- TECNICA 3: La leche obtenida posee características sensoriales mucho más agradables, debido a que el sabor afrijolado proveniente de las enzimas lipoxigenasas y el desarrollo de factores antinutricionales como los inhibidores de tripsina (que reducen la nutrición de las proteínas) son inactivados por medio del blanqueo, además es muy importante tomar en cuenta que por medio de este proceso se optimiza tiempo en la

elaboración de la leche de soya al no tener la necesidad de remojar los granos para su ablandamiento, proceso que se lleva 8 horas, el blanqueo cumple con esta función al realizarse con agua hirviendo.

Selección de la Técnica

1.- La técnica tres mostró ser la mejor, debido a las ventajas que presenta:

- Mejora notablemente el sabor y otros aspectos estudiados, como el olor y textura de la leche de soya al inactivar enzimas y antinutrientes antes de que estos entren en contacto con el resto de los componentes del grano y confieran sus características no deseables, por ende su color es el más atractivo.
- Por medio de esta técnica se optimiza el tiempo de obtención de leche al no ser indispensable el remojo de los granos que tiene una duración de 8 horas.

Notablemente resulta favorable seleccionar el proceso utilizado en el último ensayo, debido a que las características de la leche son superiores sin lugar a duda.

Una vez seleccionada la técnica para la obtención de la leche de soya (escaldado con Bicarbonato de Sodio) se procede a desarrollar la formula de los subproductos.

2.2.2 Desarrollo de la formulación del dulce de Leche

Durante el proceso de desarrollo de la formulación del dulce de leche se busca obtener un producto con aspecto homogéneo, de textura suave, sabor dulce característico, que cubra con las especificaciones de este producto en función de la Norma INEN citada anteriormente, en la figura 2.2 se puede notar los ingredientes que se usaron en la obtención del dulce de leche.



Figura 2.2 Ingredientes para el dulce de leche

Factores a considerar para la formulación del dulce de leche

Existen 3 factores fundamentales que afectan el aspecto, textura y sabor del dulce de leche que fueron escogidos en el diseño de experimentos y se detallan a continuación:

Dosis de Jarabe de Glucosa 80° Brix: Datos técnicos recomiendan el uso de jarabe de glucosa en la elaboración de dulce de leche entre un 1 y 2% en reemplazo de la sacarosa con la finalidad de evitar el azucaramiento o cristalización.

Dosis de Carragenina: Utilizada en la elaboración de postres y dulce, ya que interacciona muy favorablemente con las proteínas.

A partir de una concentración de 0,025% estos estabilizan suspensiones y de 0,15% proporcionan texturas sólidas.

Sabor: Considerando que existe un ligero residual de sabor de soya en la leche, se utilizara un aroma de vainilla que ayudara a obtener un producto final de agradables características.

Se planteo un diseño de experimentos con 3 variables, una de ellas con 3 niveles y las 2 restantes con 2, como se detalla en la tabla 6, obteniéndose un número de combinaciones posibles de $3 \times 2 \times 2 = 12$, ver tabla 6.

TABLA 6

VARIABLES Y NIVELES PARA EL DULCE DE LECHE

VARIABLES	NIVELES		
Dosis de jarabe de Glucosa 80 °Brix	0	1	2
Carragenina	a	b	
Sabor	s	c	

Elaborado por: L. Saltos-2008

Nomenclatura:

0: sin jarabe de glucosa

1: con sustitución del 1% de azúcar por jarabe de glucosa

2: con sustitución del 2% de azúcar por jarabe de glucosa

a: 0,1% de Carragenina

b: 0,2% de Carragenina

s: sin aroma

c: con aroma (dosis de aplicación según ficha técnica de proveedor 0,01%).

TABLA 7

COMBINACIONES DE VARIABLES Y NIVELES PARA EL DULCE DE LECHE

N. de muestra	Codificación
1	0as
2	0ac
3	0bs
4	0bc
5	1as
6	1ac
7	1bs
8	1bc
9	2as
10	2ac
11	2bs
12	2bc

Elaborado por: L. Saltos-2008

Análisis del diseño de experimentos

En el diseño se plantearon 12 pruebas a seguir, pero algunas se obvian por anticipar su resultado con información tecnológica. A continuación se presenta un análisis por cada muestra.

Se escogió al azar y se aplicó a nivel de laboratorio la combinación 0as (0% de jarabe de glucosa, 0,1% de Carragenina, sin aroma) obteniéndose un producto de textura arenosa, sin brillo, corroborando así las referencias técnicas que indican que es recomendable el uso de jarabe de glucosa en un dulce de leche como mejorador de textura, por lo tanto serán descartadas las combinaciones que no lo contienen.

Del mismo modo se escogió una combinación al azar sin contenido de aroma 3as (30% de jarabe de glucosa, 0,1% de Carragenina y sin aroma), obteniéndose un producto con un ligero sabor residual afrijolado, indicativo de uso de aroma que ayudara a mejorar el perfil, por lo tanto las combinaciones que no incluyan el uso de aroma serán descartadas.

Las combinaciones restantes del diseño de experimentos son evaluadas a nivel de laboratorio por duplicado, es decir las pruebas iniciales serán para determinar las características del producto y las finales para verificación. De acuerdo a las combinaciones las formulas se muestran en la tabla 8.

TABLA 8

PRUEBAS PARA FORMULACION DEL DULCE DE LECHE

INGREDIENTES	PRUEBA 1ac		PRUEBA 1bc		PRUEBA 2ac		PRUEBA 2bc	
	%	g	%	g	%	g	%	g
Leche de soya	79,67	1000,0	79,58	1000,0	79,63	1000,0	79,55	1000,0
Azúcar	19,72	247,5	19,70	247,5	19,51	245,0	19,49	245,0
Jarabe de Glucosa 80°Brix	0,25	3,1	0,25	3,1	0,50	6,3	0,50	6,3
Lactato de Calcio	0,24	3,0	0,24	3,0	0,24	3,0	0,24	3,0
Carragenina	0,10	1,2	0,20	2,5	0,10	1,2	0,20	2,5
Sorbato de Potasio	0,02	0,3	0,02	0,3	0,02	0,3	0,02	0,3
Aroma de Vainilla	0,01	0,1	0,01	0,1	0,01	0,1	0,01	0,1
Total	100,00	1255,2	100,00	1256,5	100,00	1255,9	100,00	1257,2

Elaborado por: L. Saltos-2008

Observaciones:

Se detalla a continuación las observaciones realizadas en cada prueba:

Prueba 1ac: El producto resultante tiene una apariencia ligeramente opaca, con presencia de cristales de azúcar, de textura arenosa y maleable, el contenido de aroma ayudo a suplir el sabor afrijolado de soya en el producto terminado.

Prueba 1bc: En esta prueba la apariencia del producto se mantuvo opaca y con cristales visibles. De textura más firme que la 1ac, su sabor es agradable no afrijolado.

Prueba 2ac: Esta prueba presenta un brillo característico, desaparecen los cristales de azúcar, a pesar de que su textura es maleable, es decir no muy compacta.

Prueba 2bc: Las características organolépticas de este producto tienen un perfil similar al de un dulce de leche tradicional, es decir; no se visualizan cristales, es de brillo característico, aspecto homogéneo y textura definida.

Luego de realizar las diferentes observaciones, las muestras obtenidas se sometieron a evaluación sensorial para definir el grado de aceptación y seleccionar la formulación final.

2.2.3 Desarrollo de la formulación del yogurt

Durante el proceso de desarrollo de la formulación del yogurt se busca obtener un producto con aspecto homogéneo, de consistencia pastosa característica, textura lisa y uniforme.

Factores a considerar para la formulación del yogurt

Existen 2 factores fundamentales que afectan la obtención del yogurt que fueron escogidos en el diseño de experimentos y se detallan a continuación:

Temperatura de incubación: La cepa probiótica se desarrollan bajo ciertas condiciones de temperatura, a veces resulta ser favorable o adversas por lo que asimismo su grado de fermentación aumenta o disminuye de acuerdo a este factor, las temperaturas utilizadas en el proceso fueron 37°C y 43°C en función de la ficha técnica del cultivo.



Figura 2.3 Incubación de yogurt

Concentración de azúcar: el contenido de azúcar a aplicar en las diferentes pruebas esta en función de los valores obtenidos de la tabla 4.



Figura 2.4 Azúcar

TABLA 9

VARIABLES Y NIVELES PARA EL YOGURT

VARIABLES	NIVELES		
Concentración de azúcar	x	y	z
Temperatura de incubación	T ₁	T ₂	

Elaborado por: L. Saltos-2008

Nomenclatura:

x: 2,6 % de azúcar

y: 3,0% de azúcar

z: 3,4% de azúcar

T₁: 37°CT₂: 43°C

Se planteo un diseño de experimentos con 2 variables, una de ellas con 3 y otra con 2 niveles, como se detalla en la tabla 9, obteniéndose un número de combinaciones posibles de $3 \cdot 2 = 6$, ver tabla 10.

TABLA 10

**COMBINACIONES DE VARIABLES Y NIVELES PARA EL
YOGURT**

N. de muestra	Codificación
1	x T ₁
2	y T ₁
3	z T ₁
4	x T ₂
5	y T ₂
6	z T ₂

Elaborado por: L. Saltos-2008

Análisis del diseño de experimentos

En el diseño se plantearon 6 pruebas a seguir, las mismas que se realizan a nivel de laboratorio por duplicado puesto que los datos de porcentajes de azúcar y temperaturas son teóricos y resulta necesario realizar una evidencia práctica, de acuerdo a las combinaciones las formulas se muestran en la tabla 11, cabe recalcar que son iguales para las dos temperaturas mencionadas anteriormente.

TABLA 11

PRUEBAS PARA FORMULACION DEL YOGURT

INGREDIENTES	PRUEBA x T _{1,2}		PRUEBA y T _{1,2}		PRUEBA z T _{1,2}	
	%	G	%	g	%	g
Leche de soya	96,894	1000,00	96,496	1000,00	96,098	1000,00
Azúcar	2,600	26,83	3,000	31,09	3,400	35,38
Goma Xanthan	0,503	5,19	0,501	5,19	0,499	5,19
Cepa Probiótica	0,003	0,03	0,003	0,03	0,003	0,03
TOTAL	100,000	1032,05	100,000	1036,31	100,000	1040,60

Elaborado por: L – Saltos 2008

Se visualizan en la tabla 12 el comportamiento de cada muestra, cuyos niveles de pH fueron disminuyendo con el transcurso del periodo de fermentación, en función de las diferentes concentraciones de azúcar (2,6, 3,0 y 3,4%) y las temperaturas de incubación 37°C y 43°C.

Figura 2.5 Yogurt prueba z T₂

TABLA 12

VARIACIONES DE pH A DIFERENTES TEMPERTURAS DE INCUBACION

Tiempo de incubación (h)	% de Azúcar					
	x = 2,6%		y = 3,0%		z = 3,4%	
	T ₁ 37°C	T ₂ 43°C	T ₁ 37°C	T ₂ 43°C	T ₁ 37°C	T ₂ 43°C
0	7,1	7,1	7,0	7,0	6,8	6,8
1	6,8	6,6	6,7	6,5	6,6	6,2
2	6,5	6,0	6,3	5,8	6,2	5,6
3	6,5	5,2	5,9	5,1	5,7	5,0
4	5,7	4,9	5,6	4,6	5,4	4,5
5	5,3	4,7	5,1	4,3	4,9	4,2
6	5,1	4,7	5,1	4,3	4,7	4,2
7	4,8	-	4,7	-	4,5	-
8	4,7	-	4,5	-	4,5	-
9	4,6	-	4,4	-	4,3	-
10	4,6	-	4,4	-	4,3	-

Elaborado por: L. Saltos-2008

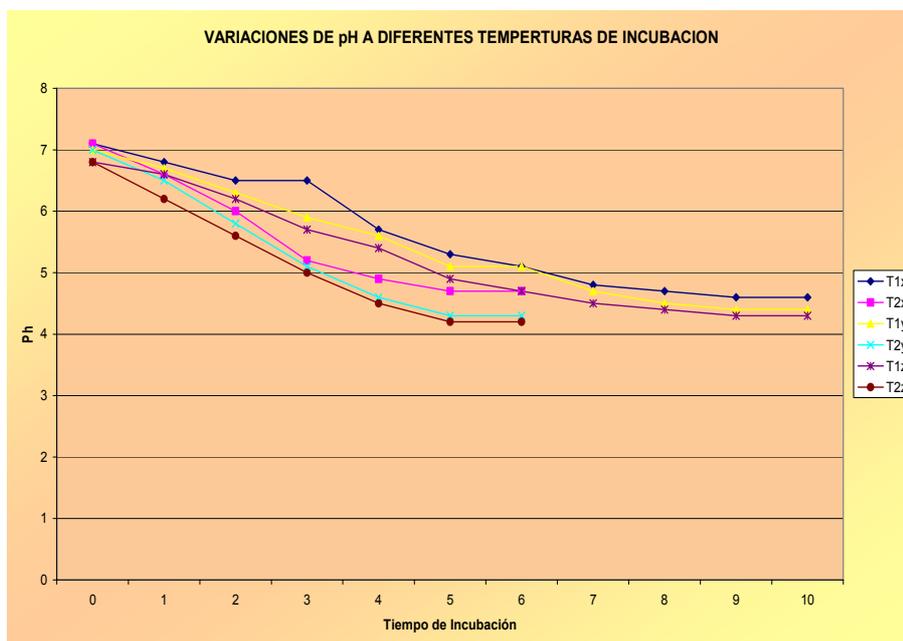


Figura 2.6 Variaciones de pH a diferentes temperatura de incubación

Observaciones:

Los resultados obtenidos de manera general ponen al descubierto la habilidad del cultivo para fermentar el azúcar adicionado.

Como se puede observar en la tabla 12, a temperatura de 37°C el tiempo de fermentación del azúcar es prolongado, no así a temperatura de 43°C donde el tiempo de fermentación es de 5 horas, este comportamiento esta ligado a las variaciones de pH donde las muestras que contenían menor concentración de azúcar (2,6 y 3%) presentaron una disminución lenta del mismo

a través del tiempo, no así aquellas muestras cuyo contenido de azúcar era de 3,4% en las cuales la variación de pH era acelerada es decir que el cultivo presento una mayor actividad con esta concentración.

Basada en esta experiencia, las combinaciones que presentan temperatura de incubación de 37°C son descartadas puesto que incurrirían en un costo elevado de fabricación por su prolongado tiempo de proceso (9 – 10 horas).

De las combinaciones a 43°C los resultados organolépticos obtenidos fueron:

Prueba x T₂: Se observo que el producto no es consistente, prueba de ello su textura no es lisa ni uniforme, su sabor es ligeramente acido, color blanco, existe una ligera separación de fases entre el suero y la leche fermentada (yogurt).

Prueba y T₂: El producto obtenido presenta sabor acido característico, de textura lisa y homogénea, color blanco, no se evidencia separación de fases.

Prueba z T₂: En esta prueba se obtuvo un producto de textura lisa, homogénea, consistente, sabor ácido característico, color blanco.

Realizadas las observaciones las muestras son sometidas a evaluación sensorial para definir el grado de aceptación y seleccionar la fórmula.

2.2.4 Desarrollo de la formulación de la granola

Durante el desarrollo de la formulación de la granola se busca obtener un producto con aspecto homogéneo, sabor ligeramente dulce característico, basado en las especificaciones de este producto en función de la Norma INEN citada anteriormente.



Figura 2.7 Ingredientes para la granola

Factores a considerar para la formulación de la granola

Para la elaboración de la granola se analiza la dosis a emplear de azúcar morena y remanente de soya sobre una combinación fija de los demás ingredientes, con la finalidad de obtener un producto de agradable sabor.

En la tabla 13 se muestra el diseño de experimentos planteado que consta de 2 variables y 3 niveles cada una.

TABLA 13

VARIABLES Y NIVELES PARA LA GRANOLA

VARIABLES	NIVELES		
Dosis de remanente de soya	d	e	f
Dosis de azúcar morena	4	6	8

Elaborado por: L. Saltos-2008

Nomenclatura:

d: 24 % de remanente de soya

e: 22 % de remanente de soya

f: 20 % de remanente de soya

4: 4% de azúcar morena

6: 6% de azúcar morena

8: 8 % de azúcar morena

Se realizan todas las combinaciones posibles según las variables seleccionadas y sus niveles, obteniéndose un número de $3 \times 3 = 9$, ver tabla 14.

TABLA 14

COMBINACIONES DE VARIABLES Y NIVELES PARA LA GRANOLA

N. de muestra	Codificación
1	d 4
2	d 6
3	d 8
4	e 4
5	e 6
6	e 8
7	f 4
8	f 6
9	f 8

Elaborado por: L. Saltos-2008

Análisis del diseño de experimentos

En el diseño se plantearon 9 pruebas, de las cuales aquellas que contenían el 24% de remanente de soya (combinaciones: d4, d6, d8) denotaron un sabor característico del grano de soya opacando el sabor del resto de ingredientes, para ello se considero que aquella muestra que tenía a su vez la menor proporción de azúcar morena debiera ser analizada por los jueces con la finalidad de mostrar en paneles una opción de un perfil diferente de granola (no muy dulce y con abundante sabor a soya) para conocer su grado de aceptación.

Las muestras con 22% de remanente de soya no mostraron mayor diferencia sensorial que las que contenían 24% denotando sabor elevado a soya no muy agradable, adicionalmente se descartan las muestras con valores extremos de azúcar morena (4 y 8%) puesto que bajo estas condiciones se altera la proporción porcentual de los demás ingredientes que son fijos en la formulación

Del tercer grupo de muestras (20% de remanente de soya) la que resulto más agradable sensorialmente fue aquella que contenía en su formulación el 8% de azúcar morena puesto que

este producto presenta un equilibrio en ingredientes y dulzor característico de los perfiles de granola que existe en el mercado.

Luego de realizar las diferentes observaciones, las muestras preseleccionadas (ver tabla 15) son sometidas a evaluación sensorial para definir el grado de aceptación y seleccionar la fórmula.

TABLA 15

PRUEBAS PARA FORMULACION DE LA GRANOLA

INGREDIENTES	d 4		e 6		f 8	
	%	g	%	g	%	g
Avena	30,0	150,0	30,0	150,0	30,0	150,0
Remanente seco de soya	24,0	120,0	22,0	110,0	20,0	100,0
Germen de trigo	18,0	90,0	18,0	90,0	18,0	90,0
Pasas	10,0	50,0	10,0	50,0	10,0	50,0
Ajonjolí	9,0	45,0	9,0	45,0	9,0	45,0
Azúcar morena	4,0	20,0	6,0	30,0	8,0	40,0
Coco rayado	5,0	25,0	5,0	25,0	5,0	25,0
Total	100,0	500,0	100,0	500,0	100,0	500,0

Elaborado por: L. Saltos-2008

CAPÍTULO 3

3. ANALISIS DE RESULTADOS

3.1 Análisis Bromatológicos de los productos

A continuación en la tabla 16 se muestran los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos realizados a cada producto desarrollado, análisis que están en función de los nutrientes de declaración obligatoria y Valor Diario Recomendada en la Norma de Rotulado de Productos Alimenticios para consumo humano INEN 1334-2: 2008.

Los valores se encuentran en función de una muestra de 100g de cada producto, se utilizan para la determinación de cada parámetro los Métodos de Análisis de la ASSOCIATION OF OFFICAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC).

TABLA 16

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LOS PRODUCTOS

Nutrientes	Unidad	Dulce de Leche	Yogurt Probiótico	Granola	Métodos utilizados
Grasa Total	g	1.4	1.5	2.0	AOAC 17th 952.06
Grasa Saturada	g	0.5	0.52	0.65	AOAC 17th 953.06
Colesterol	mg	-	-	-	AOAC 17th 955.06
Sodio	mg	20.0	20.1	20.0	AOAC 17th 961.06
Carbohidratos Totales	g	56.5	9.2	13.1	AOAC 17th 957.06
Fibra Dietética	g	4.1	4.0	5.5	AOAC 17th 981.06
Proteína	g	5.1	5.2	6.2	AOAC 18th 930.33
Vitamina A	UI	35.1	35.0	35.1	AOAC 18th 970.21
Vitamina C	mg	0.2	0.21	0.2	AOAC 18th 967.21
Calcio	mg	102.1	4.8	4.9	Absorción atómica
Hierro	mg	1.0	1.0	1.2	AOAC 18th 992.21

Elaborado por: L. Saltos-2008

3.2 Análisis Microbiológico en el yogurt

Para la determinación cuantitativa de la cepa probiótica en el yogurt se usó la técnica descrita en el Apéndice 8 del presente trabajo, en la figura 3.1 se puede observar una muestra de yogurt inoculada.

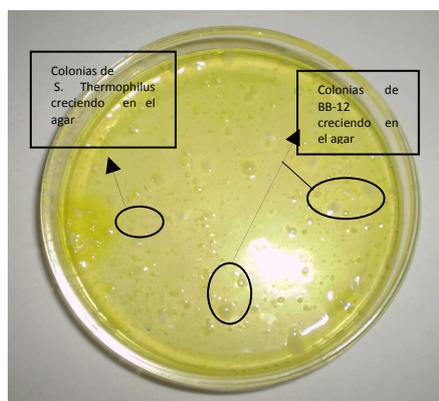


Figura 3.1 Cepa probiótica en yogurt

TABLA 17

DETERMINACION DE CEPA PROBIOTICA EN YOGURT

Resultados	Rango permitido UFC/ml		Método utilizado
1,2X10 ⁸ UFC/ml	Min 1x10 ⁸	Max -	Conteo cepas probióticas CHR HANSEN

Elaborado por: L. Saltos-2008

En la tabla 17 se puede observar que el contenido de cepa probiótica en una muestra de 1 ml de yogurt de soya fue de $1,2 \times 10^8$ UFC lo que denota que dicho microorganismo se encuentra presente en el producto obtenido y que este cumple con el requerimiento mínimo para conferir su efecto.

3.3 Información Nutricional

La tabla 18 muestra los porcentajes de aporte de nutrientes de cada producto desarrollado en función del Valor Diario Recomendado (VDR) para niños mayores a 4 años y adultos.

TABLA 18

INFORMACION NUTRICIONAL DE LOS PRODUCTOS

Nutrientes	Unidad	VDR	% Dulce de Leche	% Yogurt Probiótico	% Granola
Energía (Calorías)	Kcal	2000	135.0	75.0	93.8
Energía de la grasa (Calorías de la grasa)	Kcal	585	19	21	27.0
Grasa Total	g	65	2.1	2.3	3.0
Grasa Saturada	g	20	2.5	2.6	3.2
Colesterol	mg	300	0	0	0
Sodio	mg	2400	0.8	0.83	0.83
Carbohidratos Totales	g	300	18.83	3.1	4.3
Fibra Dietética	g	25	16.4	16	22
Proteína	g	50	10.2	10.4	12.4
Vitamina A	UI	5000	0.7	0.7	0.7
Vitamina C	mg	60	0.3	0.35	0.33
Calcio	mg	1000	10.21	0.5	0.5
Hierro	mg	18	5.5	5.5	6.6

Elaborado por: L. Saltos-2008

3.4 Pruebas Sensoriales

Se realizan evaluaciones sensoriales de los productos desarrollados con el propósito de conocer el grado de aceptación que tienen, estos análisis fueron realizados en el laboratorio del departamento de Desarrollo de la empresa de consumo masivo con un total de 30 jueces entre ellos hombres y mujeres cuyas edades fluctúan entre 18 y 50 años.

El método de evaluación escogido para los tres productos desarrollados fue el de intervalos (Category & Scaling test), el cual nos permite determinar el nivel de agrado entre varias muestras y es fácil de comprender y de aplicar, además no requiere de entrenamiento o experiencia de los participantes. El formato presentado fue lo suficientemente explícito. (ver apéndice 9).

Los productos se ofrecieron individualmente en horas de la mañana, proporcionándoles a los jueces un agente neutralizante (agua purificada) y complementos según la forma de consumo; sean estos utensilios y galletas en el caso del dulce de leche y yogurt, cada muestra se rotula con una codificación de tres dígitos tomada al azar.

Para analizar los resultados de las degustaciones de las diferentes muestras por producto las marcas obtenidas en las escalas fueron traducidas a puntuaciones numéricas empleando una regla y midiendo, teniendo como referencia de cero la marca en desagrada y diez la de gusta, para posteriormente aplicar el análisis de varianza de dos vías, el cual explica la diferencia entre dos factores por ejemplo, similitud entre muestras y similitud entre los fallos de los jueces.

A continuación se detalla los resultados obtenidos para cada producto:

Dulce de leche

Las muestras utilizadas para la evaluación sensorial del dulce de leche corresponden a las formulaciones obtenidas del diseño de experimentos planteado en el capítulo 2 y son:

- 1ac (1% de Jarabe de Glucosa/ 0,1 % de Carragenina/ 0,01% de aroma). Codificación: 165

- 1bc (1% de Jarabe de Glucosa/ 0,2 % de Carragenina/ 0,01% de aroma). Codificación: 254

- 2ac (2% de Jarabe de Glucosa/ 0,1 % de Carragenina/ 0,01% de aroma). Codificación: 711
- 2bc (2% de Jarabe de Glucosa/ 0,2 % de Carragenina/ 0,01% de aroma). Codificación: 901

Luego de realizar las pruebas sensoriales, se tabulan las calificaciones de los jueces, (ver apéndice 10), con dichos datos se realiza el análisis de varianza de las mismas, obteniendo los valores de F para las muestras y para los jueces. Ver tabla 19.

TABLA 19

ANALISIS DE VARIANZA DEL DULCE DE LECHE

	gl	SC	CM	F
Muestras	3,00	164,63	54,88	34,42
Jueces	29,00	53,03	1,83	1,15
Error	87,00	138,72	1,59	
Total	119,00	356,39		

Elaborado por: L. Saltos-2008

Los valores calculados de la relación de variación (F) se comparan con los valores críticos para F (valores de tablas); si los valores calculados son mayores a los de la tabla, se establece que existe diferencia significativa.

TABLA 20
COMPARACION DE VALORES F PARA EL DULCE DE
LECHE

	Nivel de Significancia	Tabla F	Compara	Valor F Calculado	Diferencia Significativa
Muestras	0,05	2,71	<	34,42	Si
	0,01	4,01	<	34,42	si
Jueces	0,05	1,589	>	1,15	no
	0,01	1,832	>	1,15	no

Elaborado por: L. Saltos-2008

Como se indica en la tabla 20, al 0.05 y 0.01 de significancia, es decir, con el 95% y 99% de confiabilidad, entre las muestras presentadas existe diferencia significativa es decir cada una presenta un perfil característico, mientras que entre las opiniones de los jueces no hay diferencia por lo tanto hay congruencia en sus juicios.

Las figuras 3.2 y 3.3 muestran la secuencia de calificaciones obtenidas y el promedio de las mismas respectivamente, por parte de los 30 jueces; lo que evidencia que la muestra 901 alcanza un mayor grado de aceptabilidad entre ellas, siendo esta la seleccionada para este producto.

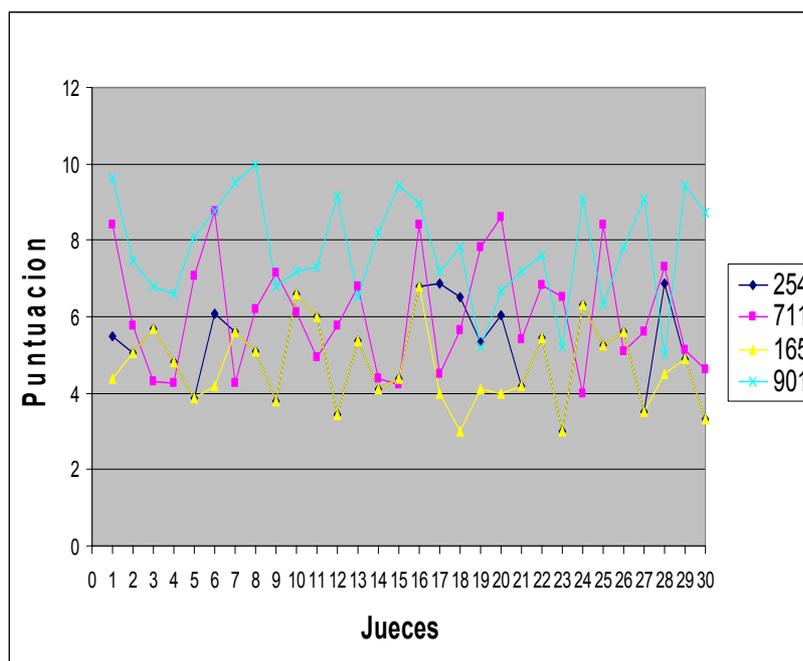


Figura 3.2 Puntuación de Jueces para el dulce de leche

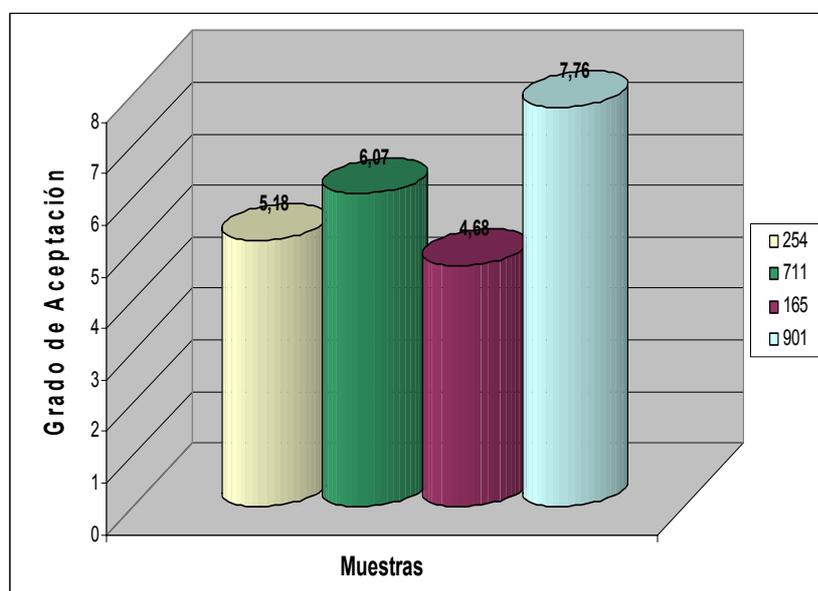


Figura 3.3 Grado de Aceptación para el dulce de leche

Yogurt Probiótico

Se utilizan las muestras las preseleccionadas del diseño de experimentos planteado en el capítulo 2 y son:

- x T₂ (2,6% de Sacarosa/ 42°C) Codificación: 567
- y T₂ (3,0% de Sacarosa/ 42°C) Codificación: 302
- z T₂ (3,0% de Sacarosa/ 42°C) Codificación: 615

Los resultados obtenidos de las pruebas sensoriales son tabulados (ver apéndice 11) los mismos que sirven para realizar el análisis de varianza, obteniendo los valores de F para las muestras y para los jueces. Ver tabla 21.

TABLA 21
ANALISIS DE VARIANZA DEL YOGURT

	GI	SC	CM	F
Muestras	2,00	96,08	48,04	43,58
Jueces	29,00	48,62	1,68	1,52
Error	58,00	63,93	1,10	
Total	89,00	208,63		

Elaborado por: L. Saltos-2008

Los valores F obtenidos se comparan con los valores críticos para F (valores de tablas); donde se observa si existe o no diferencia significativa.

TABLA 22
COMPARACION DE VALORES F PARA EL YOGURT

	Nivel de Significancia	Tabla F	Compara	Valor F Calculado	Diferencia Significativa
Muestras	0,05	3,156	<	43,58	si
	0,01	4,996	<	43,58	si
Jueces	0,05	1,589	>	1,52	no
	0,01	1,922	>	1,52	no

Elaborado por: L. Saltos-2008

Se puede observar en la tabla 22 que, al 0.05 y 0.01 de significancia, es decir, con el 95% y 99% de confiabilidad, entre las muestras presentadas existe diferencia significativa, mientras que entre los jueces no la hay lo que nos da la seguridad de que las muestras son apreciadas como diferentes y que los criterios de los jueces son validos.

A continuación en las figuras 3.4 y 3.5 muestran las calificaciones que los jueces le dieron a las muestras presentadas y el promedio de las mismas respectivamente, lo que evidencia que la muestra 615 alcanza un mayor grado de aceptabilidad entre ellas, siendo esta la seleccionada para este producto.

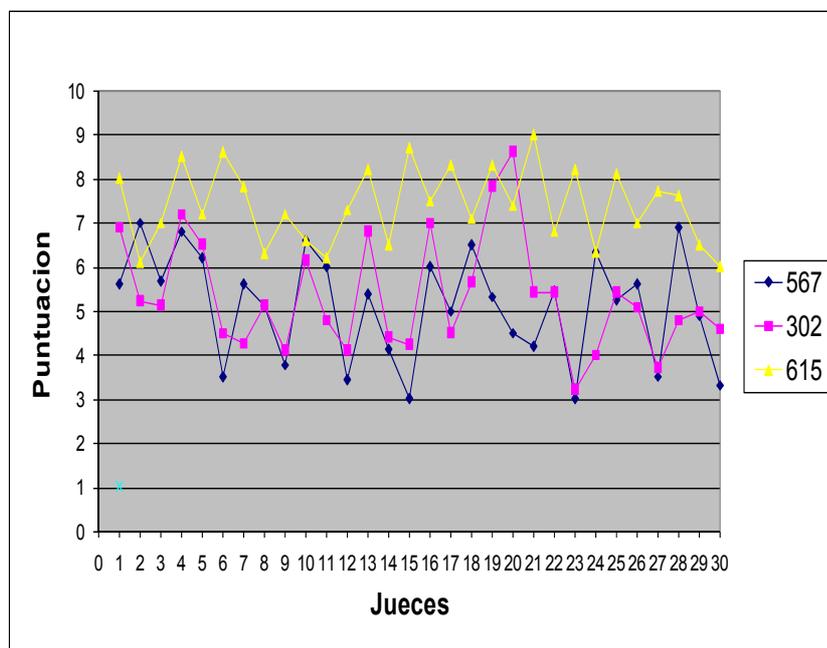


Figura 3.4 Puntuación de Jueces para yogurt

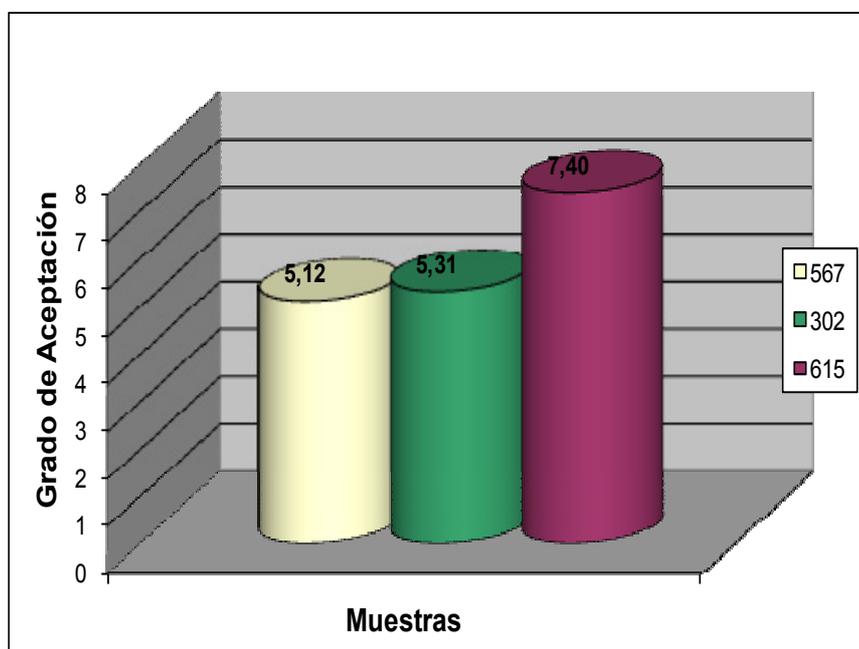


Figura 3.5 Grado de Aceptación para el yogurt

Granola

Utilizamos las muestras preseleccionadas del diseño de experimentos el capítulo 2 y son:

- d4 (24% de remanente de soya/ 4 % de azúcar morena)
- e6 (22% de remanente de soya/ 6 % de azúcar morena)
- f8 (24% de remanente de soya/ 8 % de azúcar morena)

Cuyas codificaciones son 109, 820 y 471 respectivamente. Se tabulan las pruebas sensoriales (ver apéndice 12) cuyos resultados sirven como datos para realizar el análisis de varianza, obteniendo los valores de F para las muestras y para los jueces, tabla 23.

TABLA 23

ANALISIS DE VARIANZA DE LA GRANOLA

	GI	SC	CM	F
Muestras	2,00	112,62	56,31	52,94
Jueces	29,00	31,23	1,08	1,01
Error	58,00	61,69	1,06	
Total	89,00	205,54		

Elaborado por: L. Saltos-2008

A continuación se realiza la comparación entre Los valores F obtenidos con los valores críticos para F (valores de tablas); donde se observa si existe o no diferencia significativa.

TABLA 24
COMPARACION DE VALORES F PARA LA GRANOLA

	Nivel de Significancia	Tabla F	Compara	Valor F Calculado	Diferencia Significativa
Muestras	0,05	3,156	<	52,94	si
	0,01	4,996	<	52,94	si
Jueces	0,05	1,589	>	1,01	no
	0,01	1,922	>	1,01	no

Elaborado por: L. Saltos-2008

Se observa en la tabla 24 que, al 0.05 y 0.01 de significancia, es decir, con el 95% y 99% de confiabilidad respectivamente, entre las muestras presentadas existe diferencia significativa, mientras que entre los jueces no la hay, lo que nos da la seguridad de que las muestras son consideradas como diferentes y que los criterios de los jueces son validos.

En las figuras 3.6 y 3.7 se observan las calificaciones otorgadas a cada muestra y el promedio de cada una respectivamente, dando como resultado que la muestra 471 es la de mayor agrado, siendo esta la seleccionada.

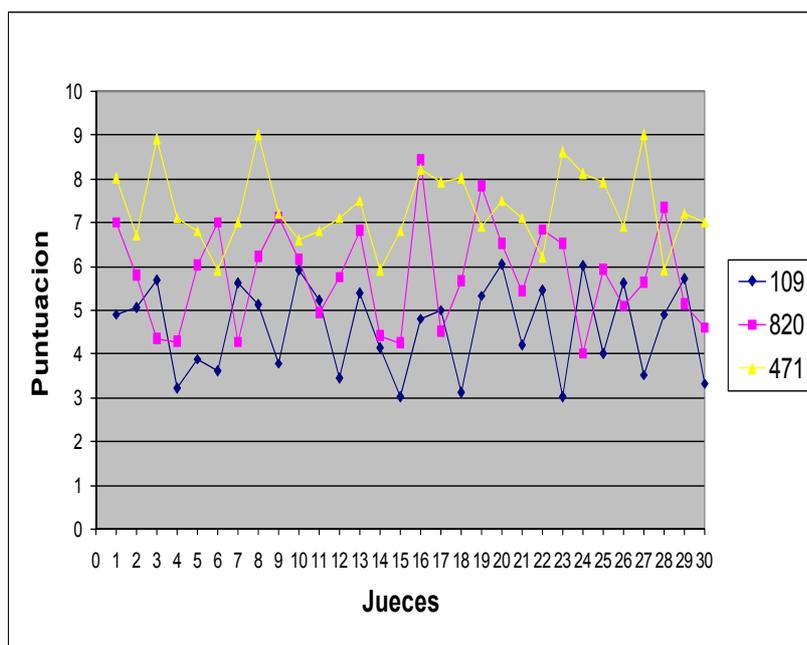


Figura 3.6 Puntuación de Jueces para la granola

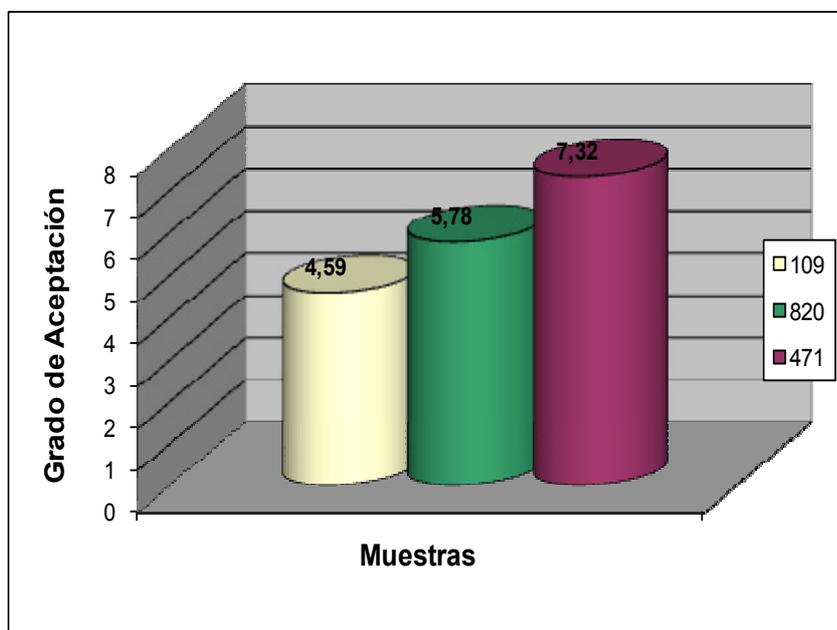


Figura 3.7 Puntuación de Jueces para la granola

3.5 Caracterización de los productos

Luego de realizar las diversas pruebas sensoriales para cada producto donde se determina el nivel de agrado de las muestras presentadas y se selecciona una, se presenta la fórmula definitiva con sus respectivas especificaciones y características.

Producto: Dulce de leche de soya enriquecido con calcio

Descripción: Es un producto obtenido por concentración, mediante calor a presión normal de la mezcla constituida por leche de soya, sacarosa, jarabe de glucosa y otros ingredientes.

De consistencia blanda, textura suave, dulce y agradable sabor, cuya fórmula seleccionada y especificaciones constan en las tablas 25 y 26 respectivamente.



Figura 3.8: Dulce de leche

TABLA 25

FORMULA DEL DULCE DE LECHE DE SOYA

INGREDIENTES	CANTIDAD (%)
Leche de soya	79,55
Azúcar	19,49
Jarabe de Glucosa 80°Brix	0,50
Lactato de Calcio	0,24
Carragenina	0,20
Sorbato de Potasio	0,02
Aroma de vainilla	0,01
Total	100,00

Elaborado por: L. Saltos-2008

TABLA 26

ESPECIFICACIONES DEL DULCE DE LECHE DE SOYA

Densidad	1.04 g/cc
°Brix	72.0
Condiciones de almacenamiento	4°C

Elaborado por: L. Saltos-2008

Beneficios: Cuenta con las bondades naturales de la soya, enriquecido con calcio; cubre con el 10% de la Ingesta Diaria.

Presentación: recipientes de polietileno de alta densidad de 200 g.

Producto: Yogurt probiótico



Figura 3.9 Yogurt probiótico

Descripción: El yogurt desarrollado es un producto de la fermentación de la leche de soya con cepas probióticas, de aspecto homogéneo, textura lisa y uniforme.

TABLA 27

FORMULA DEL YOGURT

INGREDIENTES	CANTIDAD (%)
Leche de soya	96,098
Azúcar (Sacarosa)	3,400
Goma Xanthan	0,499
Cepa Probiótica	0,003
Total	100,00

Elaborado por: L. Saltos-2008

Las tablas 27 y 28 detallan la formula de composición del yogurt obtenido.

TABLA 28

ESPECIFICACIONES DEL YOGURT DE SOYA

Densidad	1.15 g/cc
pH	4.2
% Acidez (exp. en ácido Linoleico)	0.81
Condiciones de almacenamiento	4°C

Elaborado por: L. Saltos-2008

Beneficios: Es una bebida nutritiva y natural, que favorece el funcionamiento del sistema inmunológico, digestión deprimida tras el uso de antibióticos, intolerancia a la lactosa, salud cardiovascular, problemas intestinales.

Presentación: Botellas de HDPE (Polietileno de alta densidad) de 200 ml.

Producto: Granola con avena



Figura 3.10 Granola

Descripción: Es un producto de textura crocante, ligeramente dulce, agradable sabor, cuenta con los componentes funcionales propios de la soya, así como también de pasas, ajonjolí, coco, germen de trigo y avena.

TABLA 29

FORMULA DE LA GRANOLA

INGREDIENTES	CANTIDAD (%)
Avena	30,00
Remanente seco de soya	20,00
Germen de trigo	18,00
Pasas	10,00
Ajonjolí	9,00
Azúcar morena	8,00
Coco rayado	5,00
Total	100,00

Elaborado por: L. Saltos-2008

Las tablas 29 y 30 muestran la formula de composición seleccionada de la granola y sus especificaciones respectivamente.

TABLA 30

ESPECIFICACIONES DE LA GRANOLA

% Humedad	12%
Condiciones de Almacenamiento	Temp. Ambiente

Elaborado por: L. Saltos-2008

Beneficios: Fuente de fibra y proteínas, importante para el buen funcionamiento del Sistema Nervioso, función cerebral y metabolismo, facilita el paso de la alimentación por el tracto digestivo, ayuda a la eliminación del colesterol perjudicial.

Contiene betaglucanos presentes en la avena que, según declaraciones de salud aprobadas por la FDA (enero 1997) favorecen la disminución del colesterol sanguíneo. Estos componentes absorben el colesterol y los ácidos biliares del intestino, evitando que los compuestos nocivos pasen al organismo.

Presentación: fundas de polipropileno de 200 g

3.6 Diseño del proceso

A continuación se muestra el diagrama de flujo junto con la descripción del proceso de elaboración a nivel semi industrial para cada producto desarrollado, desde la obtención de la leche de soya, que es el punto de partida para la obtención de nuestros productos.

Leche de soya

El diagrama de flujo de la figura 3.11 detalla los pasos para obtener la leche de soya.

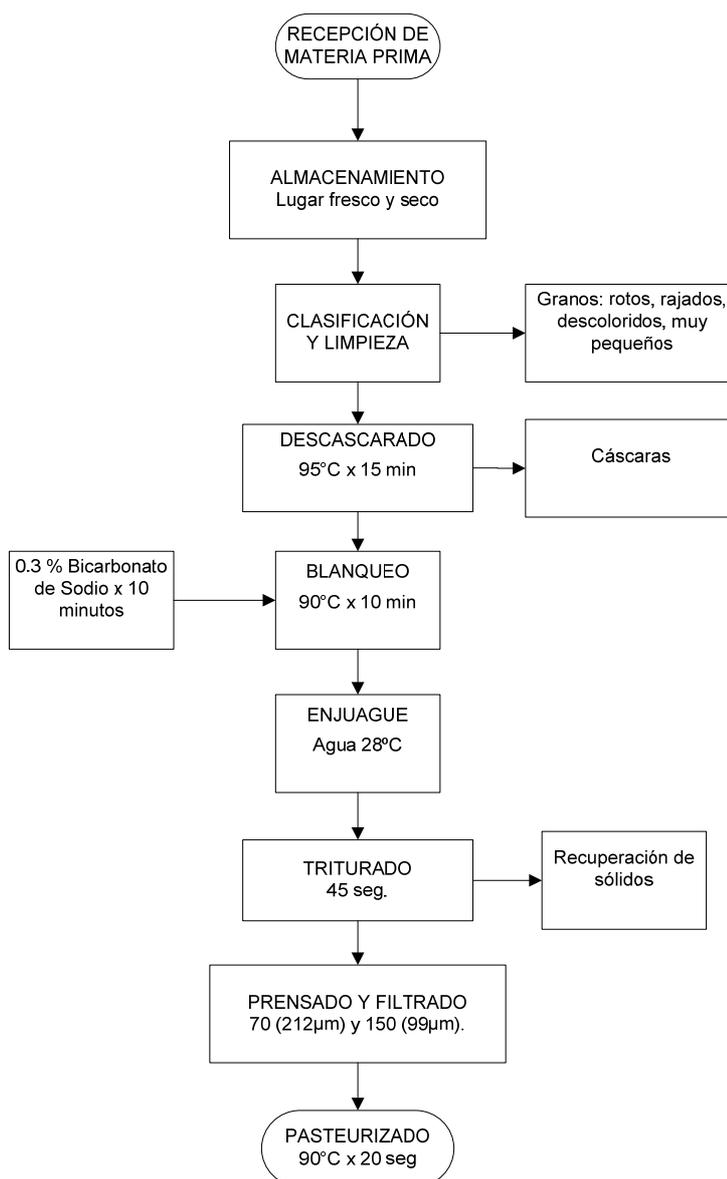


Figura 3.11 Diagrama de flujo Leche de soya
Elaborado por: L. Saltos-2008

Descripción del Proceso

a. Recepción de las materias primas

Las materias primas se reciben en la zona de descargue, inspeccionándose los pesos y la calidad de las mismas. Almacenándolas en un lugar fresco y libre de contaminación.

b. Clasificación y Limpieza de los granos

La soya normalmente contiene materiales extraños como piedras, paja, semillas de pasto, metales, suciedad, polvo, por lo tanto es necesario remover estos materiales indeseables por medio de un tamizado mecánico que se lo realiza en una banda vibratoria, la que posee un detector de metales, este proceso debe ser supervisado visualmente para verificar la eliminación completa de estos materiales indeseables.

c. Descascarado

La soya es calentada a través de un secador de aire (a 95°C por 15 minutos). La función de este tratamiento es la de romper las uniones para liberar las cascarillas de los cotiledones.

Las cascarillas son finalmente separadas de los cotiledones por medio de una corriente de aire fría.

d. Blanqueo

Consiste en sumergir los granos en un escaldador con agua a 90 °C (cinco veces el peso de los granos secos) conteniendo 0.3% de bicarbonato de sodio durante 10 minutos.

e. Enjuague

Se lava los granos de soya con agua a temperatura ambiente (28-30°C) con el objetivo de remover el residual de bicarbonato de sodio.

f. Triturado

El triturado consiste en la ruptura de la estructura celular de los cotiledones de la soya, en este proceso, los granos blanqueados se trituran con la ayuda de una licuadora semiindustrial por 45 segundos, con un contenido de agua de 6 veces el peso seco de los granos.

g. Prensado y Filtrado de la leche

El producto que resulta del triturado se lo hace pasar a través de un tamiz, al que se vacía la lechada, esta todavía contiene materiales insolubles muy finos, conocidos como lodo, lo que puede incrementar la tendencia de sedimentación en el producto. Estos materiales finos son removidos por las cribas con malla 70 (212 μ m) y 150 (99 μ m).

h. Recuperación de Sólidos

El remanente resultante del prensado posee un contenido de humedad del 80%, por lo que se hace necesario someterlo a un secado en un horno a 110 °C por 1 hora, hasta una humedad de 12%, con la finalidad de evitar posibles contaminaciones, este remanente es almacenado en recipientes metálicos con fundas de polietileno en su interior, que luego será utilizado en el proceso de la granola.

i. Pasteurización

La leche obtenida es sometida a un tratamiento térmico con temperatura de 90°C por 20 segundos, con la finalidad de destruir o minimizar carga microbiana.

Dulce de leche

El diagrama de flujo de la figura 3.12 detalla la secuencia de pasos para obtener el dulce de leche de soya.

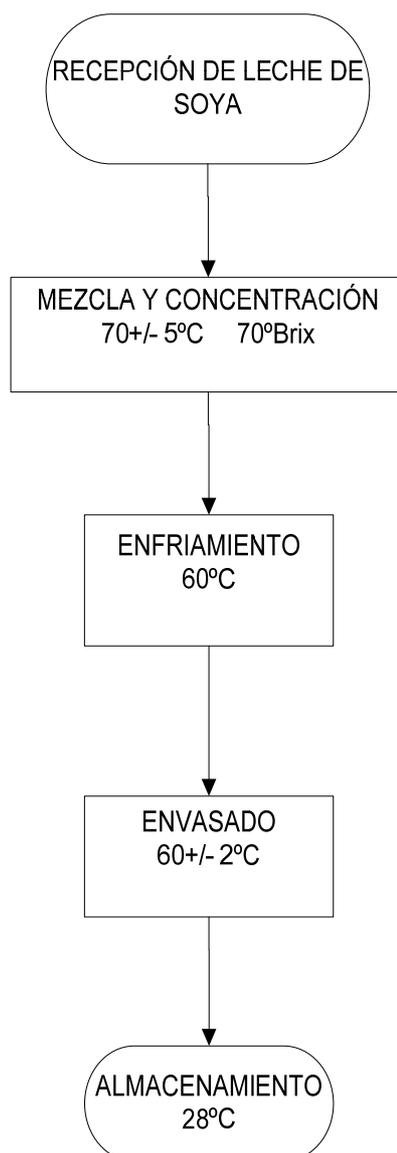


Figura 3.12 Diagrama de flujo Dulce de leche
Elaborado por: L. Saltos-2008

Descripción del Proceso

a. Recepción de la leche

La leche pasteurizada es enviada a una marmita destinada a la elaboración del dulce.

b. Mezcla de ingredientes y Concentración

Se calienta la leche a una temperatura entre 70 - 75 °C, se adiciona los ingredientes con constante agitación, se homogeniza la mezcla y se concentra hasta llegar al punto de consistencia, esto se logra controlando los °Brix del producto cada 15 minutos, teniendo como punto final 67 - 70 °Brix.

c. Enfriamiento

Enfriar el producto obtenido hasta una temperatura de 60°C con la finalidad de evitar sobre cocción y por ende oscurecimiento.

d. Envasado

Luego de concentrado el dulce de leche se envasa en recipientes plásticos de 200g.

e. Almacenado

El producto se almacena paletizado en un área fresca y seca, a temperatura ambiente 28°C, debido a que su concentración de azúcar impide el crecimiento de microorganismo.

Yogurt probiótico

El diagrama de flujo de la figura 3.13 detalla la secuencia de pasos para obtener el yogurt probiótico.

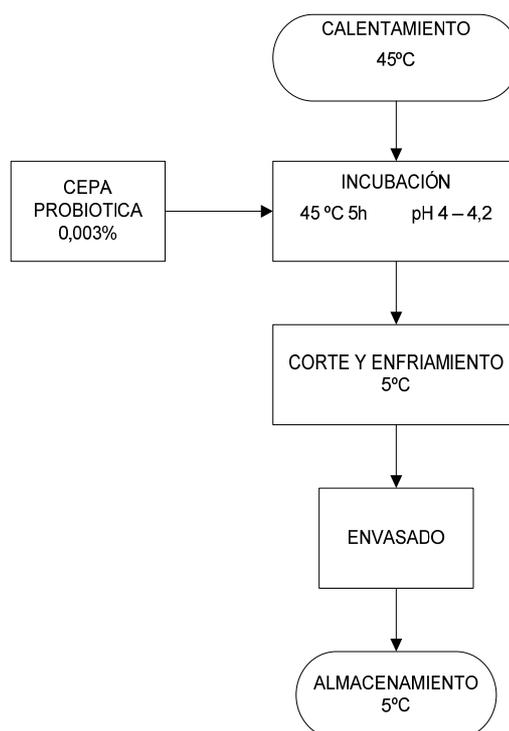


Figura 3.13 Diagrama de flujo Yogurt
Elaborado por: L. Saltos-2008

Descripción del proceso

a. Calentamiento

Para la elaboración del yogurt se parte de la leche pasteurizada que es calentada hasta 45°C, siendo esta la temperatura adecuada para realizar la adición del cultivo.

b. Incubación

Se inocula la cepa y se mantiene a temperatura de 45°C por 5 horas con controles periódicos de pH hasta alcanzar valores 4 – 4.2.

c. Corte y Enfriamiento

Se enfría a 5°C para cortar o finalizar el proceso de fermentación.

d. Envasado

El producto obtenido se envasa en botellas de HDPE (Polietileno de alta densidad).

e. Almacenamiento

El producto envasado se mantiene a una temperatura de 5°C para su conservación.

Granola

El diagrama de flujo de la figura 3.14 detalla la secuencia de pasos para obtención de la granola.

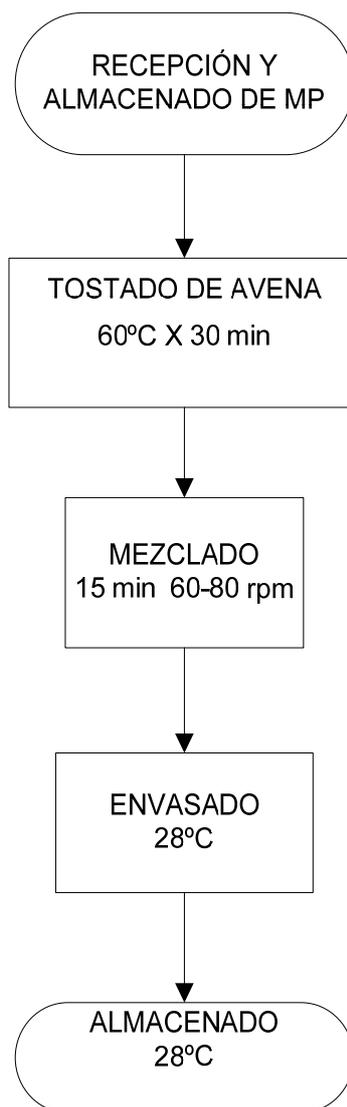


Figura 3.14 Diagrama de flujo granola
Elaborado por: L. Saltos-2008

Descripción del proceso

a. Recepción y Almacenado de la materia prima

Se procede a receiptar las pasas, coco rallado, ajonjolí, avena y el azúcar morena, que son almacenados en un ambiente fresco y seco, para su mejor conservación.

b. Tostado de avena

La avena se tuesta a 60°C por 30 minutos en un horno de calentamiento directo en bandejas de acero inoxidable.

c. Mezclado

El producto seco es llevado a un mezclador de sólidos en V de acero inoxidable, se mezcla por 10 minutos, utilizando la barra intensificadora, que nos va a ayudar en el proceso de mezclado, el tiempo de proceso es de 15 minutos, 60 – 80 rpm

d. Envasado

Aquí se procede al llenado manual de las fundas, cuyo contenido neto es de 200g., estas fundas (polipropileno) luego son pasadas por una selladora manual con resistencia eléctrica.

e. Almacenado

El producto terminado se almacena en un ambiente fresco con temperatura de 28°C.

3.7 Costos de Formulaciones

Partimos de los costos de la leche de soya (ver tabla 30), que influyen en los del dulce de leche y del yogurt.

TABLA 31

COSTOS DE LA LECHE DE SOYA

INGREDIENTES	PRECIO (USD/KILO)	CANTIDAD REQUERIDA (%)	COSTO (USD)
Agua	0,015	90,29	0,014
Granos de soya	0,55	9,55	0,053
Bicarbonato de sodio	5,00	0,16	0,008
TOTAL		100,00	0,075

Elaborado por: L. Saltos-2008

TABLA 32
COSTOS DEL DULCE DE LECHE

INGREDIENTES	PRECIO	CANTIDAD	COSTO
	(USD/KILO)	REQUERIDA (%)	(USD)
Leche de soya	0,075	79,55	0,060
Azúcar	0,450	19,49	0,088
Jarabe de Glucosa	6,000	0,50	0,030
Lactato de Calcio	1,400	0,24	0,003
Carragenina	6,850	0,20	0,014
Sorbato de Potasio	4,500	0,02	0,001
Aroma de Vainilla	9,350	0,01	0,001
TOTAL		100,00	0,164

Elaborado por: L. Saltos-2008

TABLA 33
COSTOS DEL YOGURT PROBIOTICO

INGREDIENTES	PRECIO	CANTIDAD	COSTO
	(USD/KILO)	REQUERIDA (%)	(USD)
Leche de soya	0,003	96,098	0,003
Azúcar	0,450	3,400	0,015
Goma Xanthan	5,420	0,499	0,027
Cepa Probiótica	720,000	0,003	0,022
TOTAL		100,000	0,067

Elaborado por: L. Saltos-2008

TABLA 34
COSTOS DE LA GRANOLA CON AVENA

INGREDIENTES	PRECIO	CANTIDAD	COSTO
	(USD/KILO)	REQUERIDA (%)	(USD)
Avena	0,75	30,00	0,225
Remanente seco de soya	0,60	20,00	0,110
Germen de trigo	0,55	18,00	0,099
Pasas	0,80	10,00	0,220
Ajonjolí	2,20	9,00	0,072
Azúcar morena	2,00	8,00	0,048
Coco rayado	2,00	5,00	0,100
TOTAL		100,00	0,874

Elaborado por: L. Saltos-2008

Las tablas 31, 32 y 33 detallan los costos en dólares de 1 kg de dulce de leche, yogurt y granola respectivamente, que arrojan valores de \$0.164, \$0,067, \$0,87.

CAPITULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se logro realizar un aprovechamiento del grano de soya, desarrollando productos funcionales; que con la finalidad de resaltar e incrementar su funcionabilidad, se toman en cuenta compuestos como el calcio enriquecedor del dulce de leche, la cepa probiótica en el yogurt y los betaglucanos de la avena.
- La metodología empleada en el presente trabajo, servirá como guía en el desarrollo de productos similares a los obtenidos.
- Se validó la técnica de obtención de leche de soya del International Soybean Program INTSOY/ Universidad de Illinois, logrando los mejores resultados con ella.

- En el desarrollo del yogurt probiótico se determinó que el producto fermenta en menor tiempo, con mejor consistencia, sabor y apariencia empleando un nivel de azúcar del 3,4%.
- Se determinó el aporte nutricional de los productos desarrollados determinando que los mismos cubren alrededor del 10 a 15% de la Ingesta Diaria Requerida.
- El costo por kilo de las formulaciones de los productos desarrollados es regularmente bajo, por lo que su producción puede catalogarse como rentable.
- Para la obtención de la leche de soya se recomienda a nivel doméstico, artesanal e industrial el uso del método de blanqueo alcalino (INSOY) que permite inactivar enzimas de deterioro y optimizar tiempo de proceso.
- Realizar un estudio complementario de estabilidad de los productos desarrollados.

BIBLIOGRAFIA

Textos

1. KOZEL, Carlos, *Guía de Medicina Natural*, Décima Novena Edición, Editorial de la Misión La Verdad Presente, Apartado Aéreo 9663, Santafe de Bogota, D.C., Colombia, 1994.
2. MAZZA, Gabriel, *Alimentos Funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado*, Editorial Acribia, Zaragoza España, 2000.
3. ANZALDUA-MORALES, Antonio, *La Evaluación Sensorial de los alimentos en la teoría y en la practica*, Editorial Acribia, Zaragoza España, 1994.
4. ASSOCIATION OF OFFICAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC), *Methods of analysis*, Décima Tercera Edición, Editor William Horwitz, 1980.
5. SCHEAFER, Richard; MENDENHALL, Willia; OTT, Lyman, *Elementos de muestreo*, Tercera Edicion, Editorial Iberoamerica, Mexico, 1987.
6. MONTERO, Roberto, *Manjar Blanco*, Proyecto San Martín, Lima Perú 2000.

7. PEDRERO, Daniel L.; PANGBORN, Rose Marie, *Evaluación Sensorial de los Alimentos, Métodos Analíticos*, Primera Edición, Editorial Alhambra Mexicana 1989.

8. Microbiology Manual Merck 2000. Copyright 1996: Merck KGaA, Darmstadt.

Publicaciones

1. INDUSTRIA ALIMENTICIA Revista. *Soya, Un alimento milagroso*, Enero 2005.

2. SOYERA Revista. *Soya y sus propiedades*, Abril 2005.

3. Énfasis Revista. *El poder de una proteína funcional*, Febrero 2007.

Web Sides

1. <http://food-info.net/es/ff/intro.htm>

2. www.sica.gov.ec

3. http://es.wikipedia.org/wiki/Leche_de_soja.

4. [http://lvidaencasa.com/alimentos/leche de soja](http://lvidaencasa.com/alimentos/leche_de_soja).

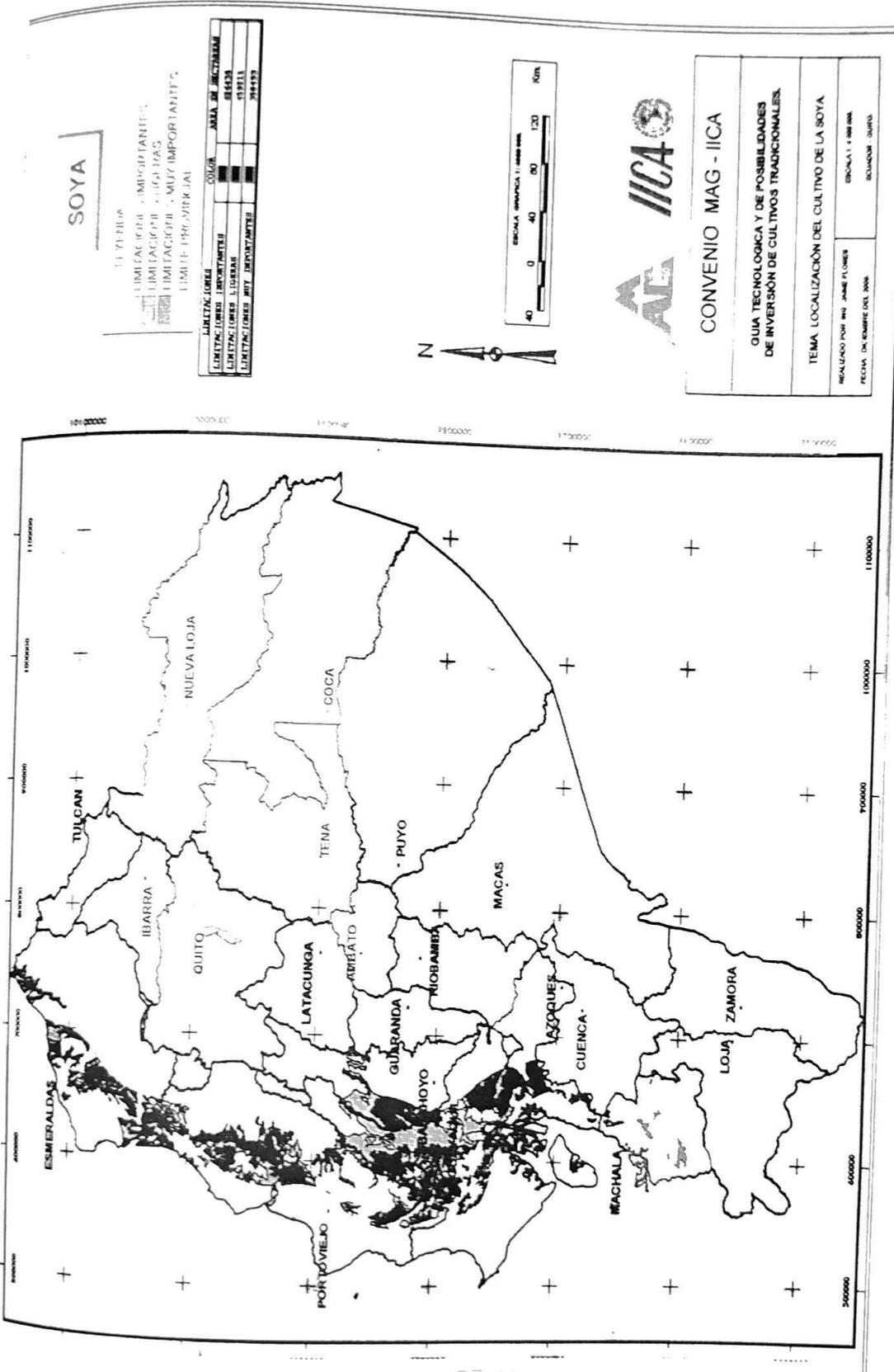
5. [http://INTSOY/Cienciasdelosalimentos/Yogurt de soja](http://INTSOY/Cienciasdelosalimentos/Yogurt_de_soja).

APENDICES



APENDICE 1

MAPA DE ZONIFICACION DE LA SOYA



SOYA

EL TEMA
 LIMITACIONES IMPORTANTES
 LIMITACIONES MUY IMPORTANTES
 LIMITACIONES MODERADAS
 LIMITACIONES MUY MODERADAS

LIMITACIONES	COLORES	AREA DE INVESTIGACION
LIMITACIONES IMPORTANTES	[White Box]	084424
LIMITACIONES MUY IMPORTANTES	[Light Gray Box]	152811
LIMITACIONES MODERADAS	[Medium Gray Box]	284422
LIMITACIONES MUY MODERADAS	[Dark Gray Box]	



CONVENIO MAG - IICA	
GUIA TECNOLÓGICA Y DE POSIBILIDADES DE INVERSIÓN DE CULTIVOS TRADICIONALES	
TEMA: LOCALIZACIÓN DEL CULTIVO DE LA SOYA	
REALIZADO POR: ING. JAMES FLORES	ESCALA: 1:100,000
FECHA DE ELABORACIÓN DEL MAPA:	BOGOTÁ - COLOMBIA

Clasificación 36.2125

60

APENDICE 2

INEN

CDU 637

AL 03.01-423

Norma Ecuatoriana

DULCE DE LECHE. REQUISITOS.

INEN 700

OBLIGATORIA

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION BIBLIOTECA

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe tener el dulce de leche.

2. TERMINOLOGIA

2.1 Dulce de leche. Es el producto lácteo, obtenido por concentración, mediante el calor a presión normal de la mezcla constituida por leche entera, crema de leche, sacarosa, eventualmente otros azúcares y otras sustancias como coco, miel, almendras, cacao y otras permitidas.

3. CLASIFICACION

3.1 De acuerdo con sus características, el dulce de leche se clasificará y designará en los siguientes tipos:

- Tipo I. Dulce de leche.
- Tipo II. Dulce de leche con crema.
- Tipo III. Dulce de leche mixto.

4. REQUISITOS DEL PRODUCTO

4.1 Designaciones

4.1.1 De acuerdo con sus características, el dulce de leche se designará de la manera siguiente:

- a) tipo,
- b) nombre.

Ejemplo:

Tipo II. Dulce de leche con crema.

4.2 Requisitos generales

4.2.1 El dulce de leche, cualquiera que fuese su designación, debe presentar un aspecto homogéneo, consistencia blanda, textura suave, uniforme, sabor dulce, olor característico del producto fresco.

4.2.2 El dulce de leche, cualquiera que fuese su designación, debe estar libre de microorganismos patógenos, causantes de la descomposición del producto, de hongos y levaduras.

(Continúa)

Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) - Calle N. Casilla 1999 - Baños del Azule, Quito - Ecuador - 6 de Diciembre - Prohíbese la reproducción

4.5.1.1 Los tres tipos de dulce de leche deben dar reacción negativa al yodo.

4.5.2 Los tres tipos de dulce de leche, clasificados en el numeral 3 y ensayados de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes, deberán cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la Tabla 2.

TABLA 2. Requisitos microbiológicos

REQUISITOS	TIPO I	TIPO II	TIPO III	METODO DE ENSAYO
	Máx. g	Máx. g	Máx. g	
Bacterias activas	8 000	8 000	8 000	INEN 170
Bacterias coliformes	neg	neg	neg	INEN 171
Bacterias patógenas	neg	neg	neg	INEN 720
Hongos y levaduras	neg	neg	neg	INEN 172

5. REQUISITOS COMPLEMENTARIOS

5.1 Envasado. Los tres tipos de dulce de leche, cualquiera que fuese su denominación, deberán expendirse en recipientes asépticos, que no afecten las características del producto.

5.2 Rotulado. El rótulo o la etiqueta del envase debe incluir la siguiente información:

- a) nombre del producto,
- b) tipo del dulce (según numeral 3),
- c) marca registrada,
- d) razón social de la empresa fabricante,
- e) masa neta en gramos o kilogramos,
- f) fecha de fabricación y tiempo máximo de consumo,
- g) aditivos añadidos,
- h) número de Registro Sanitario y fecha de emisión,
- i) ciudad y país de origen,
- j) forma de conservación,
- k) expresión de calorías por 100 g.
- l) número de lote.

5.3 La comercialización de este producto cumplirá con lo dispuesto en las Regulaciones y Resoluciones dictadas, con sujeción a la Ley de Pesas y Medidas.

6. MUESTREO

6.1 El muestreo se realizará de acuerdo con la Norma INEN 004.

(Continúa)

INFORMACION COMPLEMENTARIA

La Norma INEN 700 fue sometida a Consulta Pública de 1982-03-15 a 1982-05-28 y se tomaron en cuenta todas las observaciones recibidas.

La norma en referencia fue estudiada por el Subcomité Técnico AL 03.01 LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS y aprobada por éste en 1982-12-22.

Formaron parte del Subcomité Técnico las siguientes personas:

INTEGRANTES:	ORGANIZACION REPRESENTADA
Sr. Joffre Wirth Espinoza	AIPLE
Ing. Roberto Fiallos	UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
Dr. José Hanna	INDULAC – AIPLE
Dra. Teresa Avila	LABORATORIO MUNICIPAL DE HIGIENE
Ing. Nelson Jaramillo	INSOTEC
Ing. Patricio López	COMERCIAL DANESA
Dra. Yolanda de Fuentes	INEDLCSA
Dra. Rosa de León	INSTITUTO IZQUIETA PEREZ (Quito)
Dra. Mónica Sosa de Galárraga	INSTITUTO IZQUIETA PEREZ (Quito)
Dr. Gustavo Guerra	MINISTERIO DE SALUD
Dra. Magdalena Báus	MINISTERIO DE SALUD
Dr. Alberto Proaño	MINISTERIO DE AGRICULTURA
Ing. Eduardo Iturralde	LÁ AVELINA
Dra. Leonor Orozco	INEN

Esta norma fue aprobada por el Consejo Directivo del Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN, en sesión de 1983-06-14.

El señor Ministro de Industrias, Comercio e Integración autorizó y oficializó esta norma con el carácter de OBLIGATORIA, mediante Acuerdo No. 435 de 1983-09-01, publicado en el Registro Oficial No. 578 de 1983-09-14.

APENDICE Z

Z.1 NORMAS A CONSULTAR

- INEN 003. *Leche y productos lácteos. Definiciones.*
- INEN 004. *Leche y productos lácteos. Muestreo.*
- INEN 014. *Leche. Determinación de sólidos totales y cenizas.*
- INEN 164. *Mantequilla. Determinación de la pérdida por calentamiento.*
- INEN 165. *Mantequilla. Determinación del contenido de grasa.*
- INEN 170. *Mantequilla. Gérmenes comunes.*
- INEN 171. *Mantequilla. Contaje de bacterias coliformes.*
- INEN 172. *Mantequilla. Levaduras y hongos.*
- INEN 398. *Conservas vegetales. Determinación de azúcares.*
- INEN 720. *Leche y productos lácteos. Determinación de bacterias patógenas.*

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma IRAM 14019. *Dulce de leche.* Instituto Argentino de Racionalización de Materiales. Buenos Aires, 1972.

TABLA 1. Nutrientes de declaración obligatoria y Valor Diario Recomendada (VDR)

Nutrientes a declararse	Unidad	Niños mayores de 4 años y adultos
Energía (Calorías)	kJ	8 500
	kcal	2 000
Energía de la grasa (Calorías de grasa)	kJ	2 486
	kcal	585
Grasa total	g	65
Grasa saturada	g	20
Grasa trans	g	NE
Colesterol	mg	300
Sodio	mg	2 400
Carbohidratos totales	g	300
Fibra dietética	g	25
Azúcares	g	NE
Proteína	g	50
Vitamina A ¹	UI	5 000
Vitamina C	mg	60
Calcio	mg	1 000
Hierro	mg	18

NE No Establecido
¹ UI de la vitamina A = 0,3 µg *todo-trans-retinol* ó 0,6 µg *trans-β-caroteno*

b) La tabla a continuación presenta los nutrientes de declaración voluntaria así como los valores de Valor Diario Recomendada (VDR). Cuando se haga declaración voluntaria de nutrientes podrán enumerarse los que se hallen presentes en cantidades de 2% o más de la ingesta recomendada para la población pertinente. En el caso que antecedentes sanitarios y técnicos hagan conveniente introducir modificaciones a los VDR, la autoridad sanitaria competente propondrá los cambios necesarios.

TABLA 2. Nutrientes de declaración voluntaria y Valor Diaria Recomendada (VDR)

Nutrientes de declaración voluntaria	Unidad	Niños Mayores de 4 años y adultos 8 500 kJ (2 000 kcal)
Acido fólico	µg	400
Acido pantoténico	mg	10
Vitamina B ₅	mg	2,0
Vitamina B ₁₂	µg	6
Vitamina D ¹	UI	400
Vitamina E ²	mg	20
Vitamina K	µg	80
Tiamina	mg	1,5
Riboflavina	mg	1,7
Niacina	mg	20
Biotina	µg	300
Cobre	mg	2,0
Cromo	µg	120
Fósforo	mg	1 000
Manganeso	mg	2,0
Magnesio	mg	400
Molibdeno	µg	75
Potasio	mg	3 500
Selenio	µg	70
Yodo	µg	150
Zinc	mg	15

¹ 1µg = 40 UI
² 1 mg = 1,5 UI

(Continúa)



P.O. Box 21
4200 AA Gorinchem
The Netherlands

Certificate of Analysis

Phone +31 183 895 895
Fax +31 183 895 800
Email pnl@purac.com

<http://www.purac.com>

ABN-AMRO bank Gorinchem
Acc.nr. 47.22.15.248
VAT nr. NL003253235B01

Order Ref: OC03/2007
Product: PURACAL PP FCC
Order Nr: 432849
Calcium-L-Lactate 5-Hydrate Powder FCC
Lot No: 0705000517
Manufacturing Date: 07-May-2007
Expiry Date: 05-May-2012

Test	Units	Specification	Result
Assay	%	98.0 - 101.0	99.9
Assay Calcium	%	30.0 - 35.0	30.0
Loss on drying	%	22.0 - 27.0	25.2
Loss on drying (1 g product + 95 g water)		6.0 - 8.0	6.7
Particle size analysis <= 500 um	%	>=98	100
Colony forming units	counts/g	<=1000	<10
Microbial	counts/g	<=100	<10
Endotoxins	counts/g	<=100	<10

Parameters not tested in all lots but validated through in-process or final testing.

Test	Units	Specification
Appearance		White
Colour and taste		Neutral
Clarity and colour of solution		Passes test**
Solubility in water (1g/30ml)		Passes test**
Solubility in ethanol (95%)		Passes test**
Identification on calcium		Passes test**
Identification on lactate		Passes test**
Heavy metals total	ppm	<=10
Mercury	ppm	<=40
Arsenic	ppm	<=1
Chloride	ppm	<=1
Sulphate	ppm	<=80
Phosphate	ppm	<=400
Nitrate	ppm	<=150
Lead	ppm	<=0.4
Fluoride	ppm	<=15
Reducing substances		Passes test**
Free fatty acids		Passes test**
pH (as lactic acid)		Passes test**
Acidity and alkalisalts	%	<=1.0

PURAC biochem bv
Is part of the PURAC group
of companies, manufacturer
of natural lactic acid,
lactates and lactitol

Norma
Ecuatoriana

YOGUR.
REQUISITOS.

INEN 710

OBLIGATORIA

INSTITUTO ECUATORIANO
DE NORMALIZACION
BIBLIOTECA

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece las características que debe tener el yogur y el yogur con sabores.

2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica al yogur y yogur con sabores, provenientes de leche entera, semidescremada o descremada.

3. TERMINOLOGIA

3.1 **Yogur.** Es el producto lácteo obtenido por fermentación de la leche entera, semi-descremada o descremada, previamente pasteurizada o esterilizada y por acción de bacterias específicas: lactobacillus bulgaricus, streptococcus thermophilus, libre de bacillus pseudo lácticos proteolíticos.

3.2 **Yogur con frutas.** Es el producto lácteo que correspondiendo a las características de obtención, establecidas en el numeral 3.1, se le agrega durante el proceso de elaboración o posteriormente, frutas frescas o en conserva.

3.3 **Yogur de sabores.** Es el producto lácteo que correspondiendo a las características de obtención establecidas en el numeral 3.1, se le agregan saborizantes y colorantes de uso permitido.

4. CLASIFICACION

4.1 De acuerdo a sus características, el yogur, yogur con frutas y yogur de sabores, se clasifica según el contenido de grasa, proveniente de la leche, en los tipos siguientes:

- a) Tipo I. Elaborado con leche entera.
- b) Tipo II. Elaborado con leche semidescremada.
- c) Tipo III. Elaborado con leche descremada.

5. REQUISITOS DEL PRODUCTO

5.1 Requisitos generales

5.1.1 El yogur, yogur con frutas y yogur de sabores, debe presentar aspecto homogéneo; el sabor y olor deben ser características del producto fresco, sin materias extrañas, de color blanco cremoso u otro propio, resultante del color de la fruta o colorante natural añadido, de consistencia pastosa característica; textura lisa y uniforme, libres de hongos y levaduras, debiendo presentar gérmenes vivos de la flora normal.

(Continúa)

5.2 Requisitos de fabricación

5.2.1 El yogur, elaborado con cualquiera de las tres clases de leches según el numeral 4, debe provenir de leches debidamente pasteurizadas o esterilizadas, en condiciones sanitarias que permitan al mínimo su contaminación con microorganismos.

5.3 Ingredientes

5.3.1 Podrá agregarse al yogur, yogur con frutas y yogur de sabores, durante su proceso de fabricación, crema previamente pasteurizada, leche en polvo y/o leche evaporada.

5.3.2 Podrá añadirse al yogur de sabores, frutas frescas o desecadas, en conservas, congeladas, enteras o fraccionadas, puré de frutas, pulpa de fruta fresca o conservada. Debe usarse como único conservante, ácido sórbico o sus sales, en cantidad no superior a 100 mg/kg, jarabe de frutas o jugo de frutas; y se podrá o no agregar azúcar.

5.4 Aditivos

5.4.1 Podrá agregarse al yogur, yogur con frutas y yogur de sabores, durante su proceso de fabricación: gelificantes, siempre que la cantidad total, no sea superior a 0,5^o/o, alginatos de amonio, potasio, sodio, calcio, agar, carragenina, goma karaya, goma garroffín, goma de espina corona, pectina, goma arábiga, gelatina, en cantidades técnicamente adecuadas.

5.4.2 El yogur debe estar libre de conservantes como: ácido benzoico, anhídrido sulfuroso y otros.

5.4.3 El peso total de las sustancias agregadas al yogur no será superior al 30^o/o del peso total del producto.

5.5 Especificaciones

5.5.1 Los tres tipos de yogur, ensayados de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes, deberán cumplir con los requisitos establecidos en la Tabla 1

TABLA 1. Especificaciones del yogur

REQUISITOS	TIPO I		TIPO II		TIPO III		METODO DE ENSAYO
	Mín. ^o /o	Máx. ^o /o	Mín. ^o /o	Máx. ^o /o	Mín. ^o /o	Máx. ^o /o	
Contenido de grasa	3,0	—	1,50	2,00	—	0,1	INEN 165
Acidez*	0,60	1,50	0,60	1,50	0,60	1,50	INEN 162
Proteína	3,0	—	3,00	—	3,00	—	INEN 016
Sólidos lácteos no grasos	8,1	—	8,0	—	8,1	—	INEN 014
Alcohol etílico	—	0,25	—	0,25	—	0,25	INEN 379

* Expresado en ácido láctico

5.5.2 Los tres tipos de yogur, ensayados de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes, deberán cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la Tabla 2

INSTITUTO ECUATORIANO
DE NORMALIZACION
BIBLIOTECA

TABLA 2. Requisitos microbiológicos

REQUISITOS	UNIDAD POR g	METODO DE ENSAYO
Bacterias coliformes	neg	INEN 171
Bacterias patógenas	neg	INEN 720
Hongos	neg	INEN 172

5.5.3 El contenido de bacterias activas, de acuerdo a la Norma INEN 170, debe dar un porcentaje equivalente al 60% y 40%, entre el lactobacillus bulgaricus y streptococcus thermophilus.

6. REQUISITOS COMPLEMENTARIOS

6.1 Envasado. El yogur debe expendirse en envases asépticos y herméticamente cerrados, que aseguren la adecuada conservación del producto.

6.1.1 El yogur debe acondicionarse en envases cuyo material, en contacto con el producto, sea resistente a su acción y no altere las características organolépticas del mismo.

6.2 Rotulado. El rótulo o la etiqueta del envase debe incluir en caracteres legibles, la siguiente información:

- a) nombre del producto y el porcentaje de grasa,
- b) marca registrada,
- c) razón social de la empresa fabricante,
- d) masa neta en gramos o kilogramos,
- e) aditivos añadidos (especificación: natural o artificial),
- f) fecha de fabricación y tiempo máximo de consumo,
- g) número de Registro Sanitario y fecha de emisión,
- h) ciudad de origen,
- i) forma de conservación (manténgase en refrigeración),
- j) número de lote (cuando sea aplicable).

6.3 La comercialización de este producto cumplirá con lo dispuesto en las Regulaciones y Resoluciones dictadas, con sujeción a la Ley de Pesas y Medidas.

7. MUESTREO

7.1 El muestreo se realizará de acuerdo con la Norma INEN 004.

(Continúa)

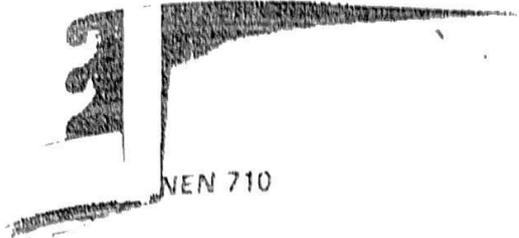
APENDICE 7

Z.1 NORMAS A CONSULTAR

- INEN 003. *Leche y productos lácteos. Definiciones.*
- INEN 004. *Leche y productos lácteos. Muestreo.*
- INEN 014. *Leche y productos lácteos. Determinación de sólidos totales y canizas.*
- INEN 016. *Leche y productos lácteos. Determinación de proteínas.*
- INEN 162. *Mantequilla. Determinación de la acidez titulable.*
- INEN 165. *Mantequilla. Determinación del contenido de grasa.*
- INEN 170. *Mantequilla. Gérmenes comunes.*
- INEN 171. *Mantequilla. Cuento de bacterias coliformes.*
- INEN 172. *Mantequilla. Levadura y hongos.*
- INEN 379. *Conservas vegetales. Determinación del alcohol etílico.*
- INEN 720. *Leche y productos lácteos. Determinación de bacterias patógenas.*

Z.2 BASES DE ESTUDIO

- Norma Centroamericana ICAITI 34132. *Yogur.* Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial. Guatemala, 1978.
- Norma Sanitaria de Alimentos. OFSANPAN - LALU TZ 022 - 01 - 02 B. *Yoghourt.* OPS/OMS. Oficina Sanitaria Panamericana. Washington, 1978.
- Código de principios referentes a la leche y productos lácteos No. A - 11. *Proyecto de norma para el yogur.* FAO/OMS, informe del décimo cuarto período de sesiones. Roma, 1971.
- Revilla Aurelio. *Tecnología de la leche. Procesamiento, manufactura y análisis. Leches fermentadas y conservadas.* Centro Regional de Ayuda Técnica. México, 1969.
- Código Latinoamericano de Alimentos. Octavo Congreso Latinoamericano de Química. *Yogur.* pp 111. Buenos Aires, 1964.
- Haggson H.E. *Manual de lechería para la América Tropical,* Superintendent of documents U.S. Government printing office. Washington 25, D.C.



INEN 710

1983-06

INFORMACION COMPLEMENTARIA

La Norma INEN 710 fue sometida a Consulta Pública de 1982-03-15 a 1982-05-28 y se tomaron en cuenta todas las observaciones recibidas.

La norma en referencia fue estudiada por el Subcomité Técnico AL 03.01 LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS y aprobada por éste en 1982-12-22.

Formaron parte del Subcomité Técnico las siguientes personas .

INTEGRANTES.

ORGANIZACION REPRESENTADA

Sr. Joffre Wirth Espinoza	AIPLE
Ing. Roberto Fiallos	UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
Dr. José Hanna	INDULAC - AIPLE
Dra. Teresa Avila	LABORATORIO MUNICIPAL DE HIGIENE
Ing. Nelson Jaramillo	INSOTLC
Ing. Patricio López	COMERCIAL DANESA
Dra. Yolanda de Fuentes	INEDECSA
Dra. Rosa de León	INSTITUTO IZQUIETA PEREZ (Quito)
Dra. Mónica Sosa de Galárraga	INSTITUTO IZQUIETA PEREZ (Quito)
Dr. Gustavo Guerra	MINISTERIO DE SALUD
Dra. Magdalena Báus	MINISTERIO DE SALUD
Dr. Alberto Proaño	MINISTERIO DE AGRICULTURA
Ing. Eduardo Iturralde	LA AVELINA
Dra. Leonor Orozco	INLN

Esta norma fue aprobada por el Consejo Directivo del Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN, en sesión de 1983-06-14.

El señor Ministro de Industrias, Comercio e Integración autorizó y oficializó esta norma con el carácter de OBLIGATORIA, mediante Acuerdo No. 427 de 1983-08-26, publicado en el Registro Oficial No. 572 de 1982-09-06.



CEPAS PROBIÓTICAS

1. Beneficios para la salud de las cepas probióticas

Los beneficios para la salud de las cepas probióticas han sido reconocidos por investigadores, médicos y consumidores. Estos beneficios incluyen efectos positivos establecidos y potenciales sobre:

- › intolerancia a la lactosa
- › diarrea (infantil y adultos)
- › inmunidad
- › digestión deprimida tras el uso de antibióticos
- › salud cardiovascular

2. El tracto gastro-intestinal y la inmunidad

El tracto gastrointestinal es la principal interfase entre los humanos y los alimentos que consumimos. El tracto digestivo de un humano adulto contiene unos 100 trillones de microorganismos. Esta microflora altamente compleja existe como un equilibrio muy delicado entre organismos beneficiosos y potencialmente dañinos. En determinadas condiciones, como estrés, viajes largos y tratamiento con antibióticos, el equilibrio de este ecosistema natural puede alterarse.

Durante estos períodos, el número de organismos beneficiosos disminuye y el número de organismos dañinos aumenta, lo que a menudo da como resultado una digestión deprimida, diarrea y estreñimiento. Este desequilibrio en la microflora intestinal puede afectar el correcto funcionamiento de otros sistemas fisiológicos como el sistema inmunológico.

Los mecanismos de la actividad probiótica están siendo ampliamente investigados. La mayoría de las teorías sugieren que los probióticos, junto a otras bacterias beneficiosas en el tracto gastrointestinal (tracto GI) compiten con los patógenos por los nutrientes y producen sustancias naturales inhibitorias. Se sabe que la interacción con el sistema inmunológico juega un papel importante en la actividad probiótica.

La superficie total de la mucosa del tracto GI de un adulto es de unos 300 m² y es, con mucha diferencia, la mayor superficie del cuerpo que está expuesta a sustancias externas, como alimentos y bacterias.

Los tejidos linfoides asociados al intestino (los GALT) hacen del tracto GI nuestro mayor órgano inmune. Existen cerca de 10 mil millones de células productoras de inmunoglobulina por metro en el intestino delgado, lo que significa el 80% de todos estos tipos de células en el cuerpo.

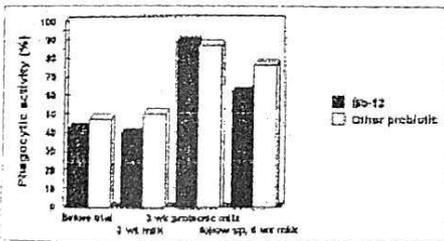


Fig. 1: BB-12 afecta la respuesta inmune innata. Schiffrin et al: 1995 (CH ref. n. 206)

Quando son ingeridas, las bacterias probióticas están expuestas a la capa mucosa del tracto GI y posteriormente al sistema inmune. Esto también sugiere la importancia de la adhesión de las cepas probióticas (ver punto 7).

3. Los beneficios para la salud son específicos de cada cepa. Diferentes cepas de una misma especie no tienen necesariamente la misma estabilidad probiótica, actividad y desarrollo de sabor. Fenotípicamente tales cepas pueden ser muy diferentes. Un origen clonado de una cepa bacteriana no garantiza su performan-

ce como probiótico en un alimento o en el cuerpo humano. El único modo de establecer la verdadera calidad y valor de una cepa probiótica es por medio de estudios sistemáticos *in vitro* y *in vivo* que incluyan estudios clínicos.

4. Asegurar la constancia en la identidad de las cepas

Para una cepa con actividad probiótica documentada es de vital importancia que no esté sujeta a ningún cambio genético o fisiológico. El punto de partida de la producción de todas nuestras cepas es la Colección de Cultivos de Chr. Hansen (CHCC). Un acepa que entra en producción es subcultivada y almacenada como un stock de material básico (BM). Cada lote de BM es suficiente para asegurar la producción para 60-100 años. El BM es posteriormente utilizado para la producción de Material de Pre-Inoculación (PIM). A fin de minimizar los cambios genéticos, se aplica el mínimo número de pasos sub-cultivo. La identidad de cada PIM es confirmada por análisis de ADN.

Desde la central danesa el material PIM se distribuye a otras instalaciones de producción de Chr. Hansen. Por lo tanto, estamos seguros de que independientemente de dónde se lleve a cabo la producción, ésta se realiza a partir del mismo material biológico. La fabricación y el control de calidad se desarrollan en línea con las buenas prácticas de manufactura, las normas ISO-9002 y APCC.

5. Tolerancia a ácidos gástricos y bilis

La actividad probiótica de un cultivo tendrá lugar vía sistema gástro-intestinal, principalmente el intestino delgado. Para que una bacteria probiótica alcance el intestino delgado debe ser capaz de sobrevivir al paso a través del estómago. El ambiente químico en el estómago es generalmente muy ácido (pH bajo). Por lo tanto, las bacterias probióticas deben ser capaces de tolerar fuertes condiciones ácidas durante un determinado período de tiempo, para sobrevivir al paso a través del estómago. (Ver figuras 2, 3, 4).

Todas las cepas probióticas de Chr. Hansen han sido analizadas *in vitro* con respecto a la tolerancia al ácido y a la bilis.

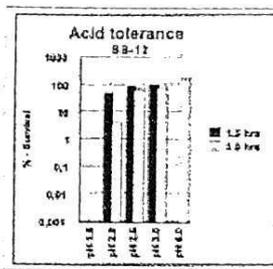
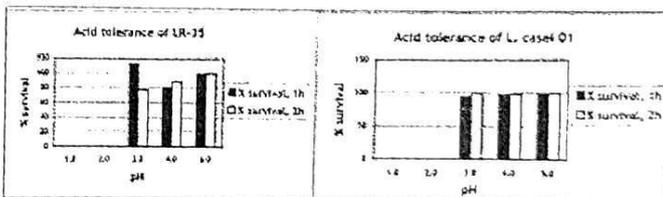


Fig. 2. Resistencia al ácido de BB-12 en HCl



Figs. 3 y 4. Resistencia al ácido de L. rhamnosus LR-35 y L. casei O1 en HCl.

6. Adhesión a las células epiteliales

La función principal de las células epiteliales que recubren el intestino delgado es transferir nutrientes desde el interior del intestino al torrente sanguíneo.

Las propiedades de adhesión de las bacterias probióticas son relevantes porque se cree que la adhesión es necesaria para que la cepa probiótica tenga una influencia positiva sobre el sistema inmune. Estudios recientes indican que la adhesión puede no ser esencial en todos los tipos de efectos sobre el balance inmunitario. Las células epiteliales especializadas en el intestino delgado fijan antígenos del lumen (y lo introducen en el sistema inmunológico). Mas aun, la células epiteliales normales están implicadas en el contacto entre la flora intestinal -incluyendo las bacterias probióticas- y el sistema inmune.

El mucus intestinal proporciona nutrientes a muchas bacterias intestinales y actúa como lubricante natural para los movimientos intestinales. Muchos investigadores creen que la adhesión al mucus prolonga el tiempo que la cepa probiótica estará activa en el sistema gastro-intestinal. En la figura 5 se muestran las propiedades de adhesión de diferentes cepas probióticas.

Adhesion of probiotic bacteria to intestinal mucins

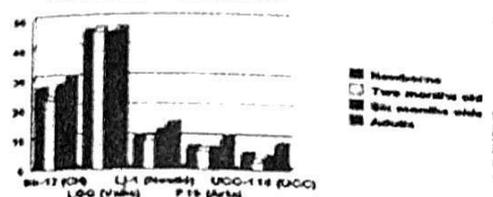


Fig. 5. Adhesión de BB-12 y otros probióticos. Kirjavainen et al. 1998 (CH ref. n. 316)

7. Estabilidad general de probióticos en alimentos

Para que un probiótico confiera cualquier tipo de efecto debe estar presente en un número suficiente. de forma generalizada se reconoce que son necesarios entre 1×10^8 y 1×10^9 células por ración, dependiendo de la cepa.

En un producto lácteo fermentado varios parámetros influyen sobre el número de células durante la vida útil de un producto. En algunos países la caducidad de un producto probiótico es superior a un mes, y la legislación puede estipular un recuento mínimo de la cepa probiótica, en el momento de la fecha de caducidad. El parámetro más importante es la estabilidad del cultivo por sí mismo. Su capacidad para soportar ácidos, oxígeno libre, carbohidratos, además de otros ingredientes en el producto es esencial. Las cepas probióticas de Chr. Hansen en la gama Probio-Tec han demostrado ser muy estables en la mayoría de las condiciones aplicadas en los productos fermentados de hoy en día.

La avanzada tecnología de fermentación de Chr. Hansen asegura recuentos muy elevados en los cultivos probióticos y mezclas. Este elevado recuento inicial de células es particularmente importante si el cultivo probiótico se aplica en un proceso de fermentación relativamente rápido, cuando otros parámetros del proceso no son los óptimos para el cultivo probiótico.

La presencia de otras bacterias ácido lácticas en el producto influye también sobre la estabilidad de la cepa probiótica. En las mezclas probióticas de Chr. Hansen se ha analizado las posibles acciones antagonistas contra las cepas probióticas de los cultivos.

asegurando un mínimo de comensalismos y a menudo simbiosis entre los cultivos, Chr. Hansen ofrece mezclas probióticas con una alta viabilidad.

8. Bifidobacterium BB-12

BB-12 es la cepa probiótica más reconocida de Chr. Hansen. Este cultivo ha sido utilizado durante más de 20 años en productos lácteos fermentados y en los últimos 12 años como suplemento dietético.

BB-12 es uno de las cepas probióticas disponibles con mayor documentación clínica, y como se ha mencionado antes, posee una excelente resistencia al ácido y la bilis y propiedades de adhesión. Como la mayoría de las bifidobacterias, BB-12 es fermentada en el intestino delgado y en el grueso de seres humanos sanos. Cuando está presente en número suficiente, compete con organismos patógenos tanto por los nutrientes como por los sitios de anclaje a los tejidos de las paredes intestinales. Consecuentemente, estos organismos pasan a través del tracto gastrointestinal sin causar ningún problema. Además BB-12 produce ácidos orgánicos como ácido láctico y acético, los cuales pueden inhibir el crecimiento de bacterias dañinas.

Así como las propiedades de adhesión de las bacterias probióticas son relevantes porque se cree que la adhesión es necesaria para que la cepa probiótica tenga una influencia positiva sobre el sistema inmune. Estudios recientes indican que la adhesión puede no ser esencial en todos los tipos de efectos sobre el balance inmunitario. Las células epiteliales especializadas en el intestino delgado fijan antígenos del lumen (y lo introducen en el sistema inmunológico). Mas aun, la células epiteliales normales están implicadas en el contacto entre la flora intestinal -incluyendo las bacterias probióticas- y el sistema inmune.

El mucus intestinal proporciona nutrientes a muchas bacterias intestinales y actúa como lubricante natural para los movimientos intestinales. Muchos investigadores creen que la adhesión al mucus prolonga el tiempo que la cepa probiótica estará activa en el sistema gastro-intestinal. En la figura 5 se muestran las propiedades de adhesión de diferentes cepas probióticas.

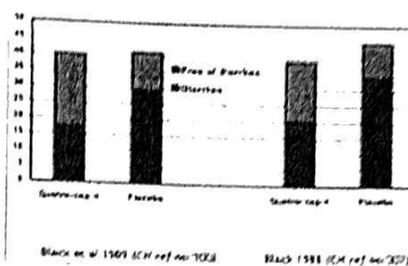


Fig. 6. Efecto del Quatro-cap-4 en la diarrea del viajero.

Otros estudios llevados a cabo por Björkstén y col. 2001 e Isolauri y col. 2000 han mostrado las propiedades inmuno-modulantes del BB-12 para reducir el eczema atópico. Éste es un desorden de la piel por el cual tiene lugar una reacción de hipersensibilidad en la piel, y ocurre sobre todo en bebés y niños pequeños. Los síntomas son inflamación, picazón, escamación y un sarpullido que comienza en las mejillas. En el estudio de Isolauri y col. 2000, se informa que el BB-12 reduce significativamente los síntomas y duración del eczema (figura 7).

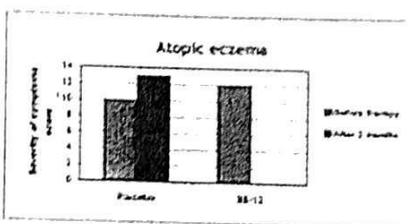


Fig. 7. Efecto del BB-12 en la severidad de los síntomas del eczema atópico. Isolauri et al. Clin. Exp. Allergy 2000 (CH ref. n. 388)

Con la creciente preocupación de los consumidores por la salud, ha habido un gran interés por la aplicación de los probióticos en alimentos más allá de los tradicionales yogures y leches fermentadas. Algunas de las aplicaciones potenciales de los probióticos incluyen productos no fermentados, como jugos y otras bebidas (fig. 9), helados (fig. 8), golosinas y untables. Los helados y el queso son potencialmente muy buenos vehículos de probióticos. El BB-12 es muy estable en helados de crema y de agua, con la estabilidad suficiente de una vida útil de hasta 24 meses.

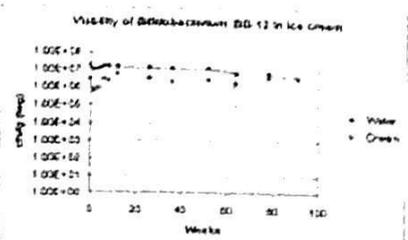


Fig. 8. Estabilidad de BB-12 en dos tipos de helado almacenados a -21°C (-6°F).

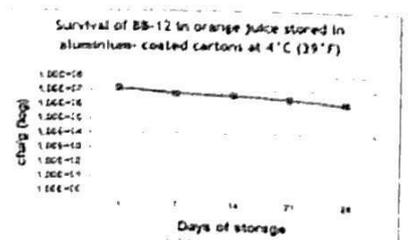


Fig. 9. Estabilidad de BB-12 en jugo de naranja

FD-DVS Yo-Fast-88

Product Information

Description

Chr. Hansen's Yo-Fast-88 culture is part of the Yo-Fast Culture System that has the added benefit of fast acidification profiles. Yo-Fast-88 contains strains of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and Bifidobacterium blended in a concentrated freeze-dried form to produce yoghurt with unique lasting flavor and body characteristics. Yo-Fast-88 is supplied in a convenient freeze-dried form.

Application

Yo-Fast-88 will produce yoghurt with a very mild flavor, high body and low post-acidification (acid development after cooling). Yo-Fast-88 is ideal for manufacturing the following types of yoghurt:

- Cup Set
- Stirred
- Frozen

Packing

Item number	Packing size
623899	10 X 50 U
623900	25 X 200U
623901	20 X 500U

Availability

The following Yo-Fast Series cultures are available:
Yo-Fast-10, Yo-Fast-12, Yo-Fast-15, Yo-Fast-16, Yo-Fast-17, Yo-Fast-20 (all frozen) and Yo-Fast-88, Yo-Fast-89 (freeze-dried).

Storage and shelf life

Freeze-dried cultures should be stored at -18°C (0°F) or below. If the cultures are stored at -18°C (0°F) or below, the shelf life is at least 24 months. At +5°C (41°F) the shelf life is at least 6 weeks. Freeze-dried cultures can be transported at ambient temperatures for up to 10 days.

Instructions

Remove cultures from the freezer just prior to use. Sanitize the top of the pouch with chlorine. Open the pouch and pour the freeze-dried granules directly into the pasteurized product using slow agitation. Agitate the mixture for 10 - 15 minutes to distribute the culture evenly. **Caution!** Foam on the milk may prevent the culture from getting into the milk.

FD-DVS Yo-Fast 88

Product Information

CHR HANSEN

Dosage

Recommended dosage of freeze-dried DVS cultures in Units (U):

DVS inoculation guideline	Amount of milk to be inoculated		
	~ 1000 l	~ 2,500 l	~ 300 gallons
	200U	500U	200U

** Doubling the inoculation rate will decrease the fermentation time by 20-40 minutes.

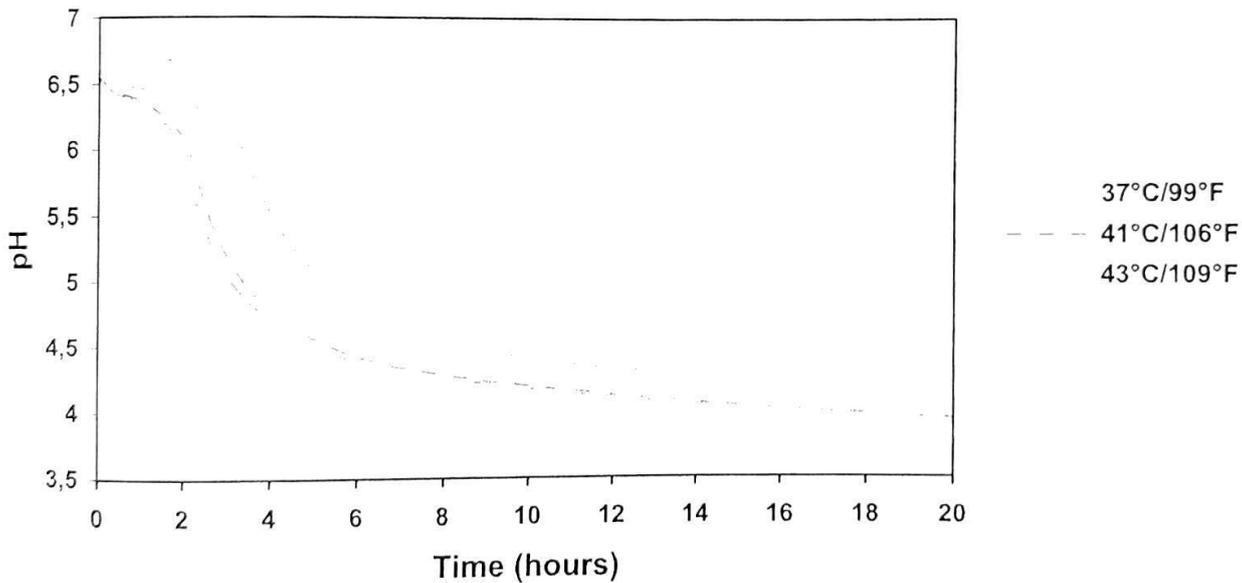
Kosher status

Yo-Fast Series cultures are Kosher approved (Circle K D) for year-round use, excluding Passover.

Technical information

Figure 1. The effect of temperature on acidification

FD-DVS Yo-Fast 88



Fermentation conditions:

Whole milk +2% skimmed milk powder: 85°C (185°F)/30 min
500U/2500l inoculation

NB: Note that the accuracy of these curves is relative and subject to experimental error.

F-DVS Yo-Fast-88 PI EN vs2 Dec 2003.doc/2:3

Chr. Hansen A/S -10-12 Bøge Allé - DK-2970 Hørsholm, Denmark - Phone: +45 45 74 74 74 - Fax: +45 45 74 88 88 - www.chr-hansen.com

The information contained herein is to our knowledge true and correct, and presented in good faith. However, no warranty, guarantee or freedom from patent infringement is implied or inferred. This information is offered solely for your consideration and verification, and may not be duplicated or used in any other form without Chr. Hansen's prior written consent.

FD-DVS Yo-Fast 88

Product information

The logo for Chr. Hansen, featuring the text "CHR. HANSEN" in white capital letters on a black, curved background.

Technical
service

Chr. Hansen's world-wide facilities and the personnel of our application and technology center are at your disposal with assistance and instruction.

References

References and analytical methods are available upon request.

F-DVS Yo-Fast-88 PI EN vs2 Dec 2003.doc/ 3.3

Chr. Hansen A/S - 10-12 Bøge Allé - DK-2970 Hørsholm, Denmark - Phone: +45 45 74 74 74 - Fax: +45 45 74 88 88 - www.chr-hansen.com

The information contained herein is to our knowledge true and correct, and presented in good faith. However, no warranty, guarantee or freedom from patent infringement is implied or inferred. This information is offered solely for your consideration and verification, and may not be duplicated or used in any other form without Chr. Hansen's prior written consent.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 2 085:2005
Primera revisión

GALLETAS. REQUISITOS.

Primera Edición

COOKIES. SPECIFICATIONS.

First Edition

DESCRIPTORES. Productos alimenticios, productos a base de harina, productos de pastelería, galletas, requisitos

AL 02.08-420

CDU: 664.665

CIU: 3117

ICS: 67.060.00

Norma Técnica
Ecuatoriana
Obligatoria

GALLETAS.
REQUISITOS.

NTE INEN
2 025.2005
Primera revisión
2005-05

1. OBJETO

1.1 Esta norma tiene por objeto establecer los requisitos que deben cumplir los diferentes tipos de galletas.

2. DEFINICIÓN

2.1 Galletas. Son productos obtenidos mediante el horneado apropiado de las figuras formadas por el amasado de derivados del trigo u otras farináceas con otros ingredientes aptos para el consumo humano.

2.1.1 Galletas simples. Son aquellas definidas en 2.1 sin ningún agregado posterior al horneado.

2.1.2 Galletas Saladas. Aquellas definidas en 2.1 que tienen connotación salada.

2.1.3 Galletas Dulces. Aquellas definidas en 2.1 que tienen connotación dulce.

2.1.4 Galletas Wafer. Producto obtenido a partir del horneado de una masa líquida (oblea) adicionada un relleno para formar un sánduche.

2.1.5 Galletas con relleno. Aquellas definidas en 2.1 a las que se añade relleno.

2.1.6 Galletas revestidas o recubiertas. Aquellas definidas en 2.1 que exteriormente presentan un revestimiento o baño. Pueden ser simples o rellenas.

2.1.7 Galletas bajas en calorías. Es el producto definido en 2.1 al cual se le ha reducido su contenido calórico en por lo menos un 35 % comparado con el alimento normal correspondiente.

2.2 Leudantes. Son microorganismos, enzimas y sustancias químicas que acondicionan la masa para su horneado.

2.3 Agentes de tratamiento de harinas. Son sustancias que se añaden a la harina para mejorar la calidad de cocción o el color de la misma; como agente de tratamiento de harina se considera a: los blanqueadores, acondicionadores de masa y mejoradores de harina.

3. CLASIFICACIÓN

3.1 Las Galletas se clasifican en los siguientes tipos:

3.1.1 Tipo I Galletas saladas

3.1.2 Tipo II Galletas dulces

3.1.3 Tipo III Galletas wafer

3.1.4 Tipo IV Galletas con relleno

3.1.5 Tipo V Galletas revestidas o recubiertas

(Continúa)

DESCRIPTORES Productos alimenticios, productos a base de harina, productos de pastelería, galletas, requisitos.

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo 454 y Ave. 6 de Diciembre - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

4. DISPOSICIONES GENERALES

4.1 Las galletas se deben elaborar en condiciones sanitarias apropiadas, observándose buenas prácticas de fabricación y a partir de materias primas sanas, limpias, exentas de impurezas y en perfecto estado de conservación.

4.2 La harina de trigo empleada en la elaboración de galletas debe cumplir con los requisitos de la NTE INEN 616.

4.3 A las galletas se les puede adicionar productos tales como: azúcares naturales, sal, productos lácteos y sus derivados, lecitina, huevos, frutas, pasta o masa de cacao, grasa, aceites, levadura y cualquier otro ingrediente apto para consumo humano.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos Específicos

5.1.1 Requisitos Bromatológicos. Las galletas deberán cumplir con los requisitos especificados en la tabla 1.

TABLA 1.

Requisitos	Min	Max	Método de ensayo
pH en solución acuosa al 10%	5,5	9,5	NTE INEN 526
Proteína % (%N x 5,7)	3,0	--	NTE INEN 519
Humedad %	--	10,0	NTE INEN 518

5.1.2 Requisitos Microbiológicos

5.1.2.1 Las galletas simples deben cumplir con los requisitos microbiológicos de la tabla 2.

TABLA 2.

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
R.E.P. ufc/g	3	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	1	NTE INEN 1529-5
Mohos y levaduras upc/g	3	$1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	1	NTE INEN 1529-10

5.1.2.2 Las galletas con relleno y las recubiertas deben cumplir con los requisitos microbiológicos de la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos microbiológicos para galletas con relleno y para galletas recubiertas

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
R.E.P. ufc/g	3	$1,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	1	NTE INEN 1529-5
Mohos y levaduras upc/g	3	$2,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$	1	NTE INEN 1529-10
Estafilococos aureus	3	$< 1,0 \times 10^2$	--	0	NTE INEN 1529-14
Coagulasa positiva ufc/g	3	$< 1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	1	NTE INEN 1529-7
Coliformes totales ufc/g	3	ausencia	--	0	NTE INEN 1529-8
Coliformes fecales ufc/g	3	ausencia	--	0	NTE INEN 1529-8

En donde:

- n número de unidades de muestra
- m nivel de aceptación
- M nivel de rechazo
- c número de unidades entre m y M

(Continúa)

5.1.3 Aditivos

5.1.3.1 A las galletas se les puede adicionar aditivos tales como saborizantes, emulsificantes, acentuadores de sabor, leudantes, humectantes, agentes de tratamiento de las harinas, antioxidantes y colorantes naturales en las cantidades permitidas de conformidad con la NTE INEN 2 074 y en otras disposiciones legales vigentes.

5.1.3.2 Se permite la adición del Dióxido de azufre y sus sales (metabisulfito, bisulfito, sulfito de sodio y potasio) como agentes de tratamiento de las harinas, conservantes o antioxidantes, en una cantidad máxima de 200 mg/kg, expresado como dióxido de azufre.

5.1.3.3 Para los rellenos de las galletas wafer y de las galletas con relleno, se permite el uso de colorantes artificiales que consten en las listas positivas de aditivos alimentarios para consumo humano según NTE INEN 2 074.

5.1.4 Contaminantes

5.1.4.1 El límite máximo de contaminantes, para las galletas en sus diferentes tipos, son los indicados en la tabla 4.

TABLA 4. Contaminantes

Metales pesados	Límite máximo
Arsénico, como As, mg/kg	1,0
Plomo, como Pb, mg/kg	2,0

6. INSPECCIÓN

6.1 Muestreo

6.1.1 Se efectúa de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 476

6.2 Aceptación o Rechazo

6.2.1 Si la muestra ensayada no cumple con uno o más de los requisitos indicados en esta norma, se repetirán los ensayos en la muestra testigo reservada para tales efectos. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, será motivo para rechazar el lote.

7. ENVASADO Y EMBALADO

7.1 Las galletas se deben envolver y empacar en material adecuado que no altere el producto y asegure su higiene y buena conservación.

7.2 La calidad de todos los materiales que conforman el envase, como por ejemplo: tinta, pegamento, cartones, etc.; deben ser grado alimentario.

8. ROTULADO

8.1 El rotulado debe cumplir con lo indicado en la NTE INEN 1 334-1 y 1 334-2. Además debe constar la forma de conservación del producto.

(Continúa)

APENDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 476:1980	<i>Productos empaquetados o envasados.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 518:1981	<i>Método de muestreo al azar</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 519:1981	<i>Harinas de origen vegetal. Determinación de la pérdida por calentamiento</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 526:1981	<i>Harinas de origen vegetal. Determinación de la proteína</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 616:1992	<i>Harinas de origen vegetal. Determinación del ión Hidrógeno</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 334-1:2000	<i>Harina de Trigo. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 334-2:2000	<i>Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 1. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-5:1990	<i>Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-7:1990	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos Aerobios mesófilos REP</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-8:1990	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del recuento de colonias</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-10:1998	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y escherichia Coli</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-14:1998	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de Mohos y levaduras viables</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 074:1996	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de staphylococcus aureus</i>
	<i>Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos</i>

Z.2 BASES DE ESTUDIO

- Instituto Colombiano de Norma Técnicas ICONTEC. Norma Técnica Colombiana NTC 1241. *Productos de molinería. Galletas* (quinta revisión), Bogotá 1996
- Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial ICAITI. Norma centroamericana 34 191:87, Guatemala 1987
- Comisión Panamericana de Normas Técnicas COPANT. Norma Panamericana 1451, Lima 1983
- Norma Venezolana COVENIN 1483-83 Caracas 1983
- American Institute of Baking. *Cooking Chemistry and Technology*. Kansas 1989.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento:
NIH INEN 2 085
Primera revisión
ORIGINAL

TÍTULO: GALLETAS, REQUERITOS

Código
AL-01 08 09

Fecha de iniciación del estudio:

REVISIÓN

Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 1996-01-11
Oficialización con el carácter de Obligatoria
por Acuerdo No. 152 de 1996-10-17
publicado en el Registro Oficial No. 62 de 1996-11-06

Fecha de iniciación del estudio: 2000-01

Fechas de consulta pública: de

a

Subcomité Técnico: GALLETAS

Fecha de iniciación: 2000-09-14

Integrantes del Subcomité Técnico:

Fecha de aprobación: 2000-11-09

NOMBRES:

Dr. Gonzalo Grijalva (Presidente)
Bioq. Arón Redrovin
Sr. Patricio Chimbo
Ing. Augusto Solano
Dra. Janet Córdova
Dr. Daniel Pazmiño
Ing. Luis Sánchez
Ing. Ana Correa
Dra. Rosa Rivadencira
Dra. Teresa Ávila
Tlga. María E. Dávalos (Secretaría Técnica)

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

HABISCO ROYAL
HABISCO ROYAL
CORDIALSA
PRODUCTOS SCHULLO
PARTICULAR
INDUSTRIAS SUPREMU HESTLE
COLEGIO DE INGENIEROS EN ALIMENTOS
MICIP, DIRECCIÓN DE COMPETITIVIDAD
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, QUITO
DIRECCIÓN METROPOLITANA DE SALUD
INEN - REGIONAL CHIMBORAZO

COMITÉ INTERNO 2001-04-17

Dr. Ramiro Gallegos (Presidente)
Bioq. Elena Larrea
Bioq. Miriam Romo

Sr. Galo Zuleta
Sr. Enrique Orbe

Ing. Gustavo Jiménez
Tlga. María E. Dávalos (Secretaría Técnica)

SUBDIRECTOR TÉCNICO
DIRECCIÓN DE VERIFICACIÓN ANALÍTICA
DIRECCIÓN DE DESARROLLO Y
CERTIFICACIÓN DE CALIDAD
DIRECCIÓN DE VERIFICACIÓN FÍSICA
DIRECCIÓN DE PROTECCIÓN AL
CONSUMIDOR
DIRECTOR DE NORMALIZACIÓN
REGIONAL CHIMBORAZO

Otros trámites:

El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2005-01-24

Oficializada como Obligatoria
Registro Oficial No. 11 de 2005-05-05

Por Acuerdo Ministerial No. 05 288 de 2005-04-20



L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria in fermented milk products - Guidelines

Technical Bulletin F-6

Method for counting probiotic bacteria

As use of probiotic cultures becomes increasingly popular it becomes ever more important to be able to document that the various bacteria are present in the final products. This guideline describes media and methods for counting of Chr. Hansen's probiotic cultures in different combinations. Photos of how the bacteria appear on agar plates and in a microscope are presented in the appendix.

Lactobacillus acidophilus as single culture or in AB, ABT or ABY combinations.

Medium	MRS-IM agar with maltose
Technique	Pour plate Aerobic incubation, 37°C (99°F), 3 days
Comments	<i>Streptococcus thermophilus</i> does not grow on MRS-IM agar Bifidobacteria do not grow on MRS-IM agar and under aerobic conditions. Maltose only allows growth of <i>Lactobacillus acidophilus</i> All colonies are counted as <i>Lactobacillus acidophilus</i>

Lactobacillus acidophilus in AC, ACT or ABC combinations.

Medium	MRS-IM agar with maltose
Technique	Pour plate Aerobic incubation, 37°C (99°F), 3 days
Comments	<i>Lactobacillus acidophilus</i> gives star-formed, irregular small colonies <i>Lactobacillus casei</i> 01 gives larger regular colonies <i>Streptococcus thermophilus</i> does not grow on MRS agar Only the star-formed, irregular small colonies should be counted as <i>Lactobacillus acidophilus</i>

Lactobacillus acidophilus in mixture with a mesophilic culture.

Medium	MRS-IM agar with maltose
Technique	Pour plate Anaerobic incubation, 43°C (109°F), 3 days
Comments	All big colonies are counted as <i>Lactobacillus acidophilus</i> An incubation temperature of 43°C (109°F) suppresses the mesophilic flora (may appear as pin point colonies)

L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria in fermented milk products - Guidelines

Technical Bulletin F-6
Method for counting probiotic bacteria



Lactobacillus casei as single culture or in AC, BC, ABC or in BCT combinations.

Medium MRS-IM agar with glucose
Technique Spread plate (for Lc-01)
Pour plate (for CRL 431)
Aerobic incubation, 20°C (68°F), 6 days

Lactobacillus casei gives white, round colonies.

Comments The aerobic conditions prevent Bifidobacteria from growing
Lactobacillus acidophilus does not grow at 20°C (68°F)
Streptococcus thermophilus does not grow on MRS agar
All colonies are counted as *Lactobacillus casei*

Bifidobacteria as single culture or in BC, ABC, ABY or in BCT combinations.

Medium MRS-IM agar with glucose and addition of the solutions A, B and C as described later in this guideline
Technique Pour plate
Anaerobic incubation, 37°C (99°F), 3 days

Comments All colonies are counted as bifidobacteria
The solutions A, B and C inhibit most lactic acid bacteria

Bifidobacteria mixed with mesophilic lactic acid bacteria.

Medium MRS-IM agar with glucose and addition of the solutions A, B and C
Technique Pour plate
Anaerobic incubation, 43°C (109°F), 3 days
Comments All colonies are counted. An incubation temperature of 43°C (109°F) suppresses the mesophilic flora

Generally it is always recommended to verify some of the colonies by microscopy to ensure that they represent the correct bacteria.

L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria in fermented milk products - Guidelines

Technical Bulletin F-6
Method for counting probiotic bacteria

CHR HANSEN

Preparation of MRS-IM agar:

Tryptone	10 g	Oxoid L 42
Yeast extract	5 g	Oxoid L 21
Tween 80	1 g	
di-Potassium hydrogen phosphate	2.6 g	Merck No 5104
Sodium acetate, 3 H ₂ O	5 g	Merck No 6267
di-Ammonium hydrogen citrate	2 g	Merck No 1154
Magnesium sulphate, 7 H ₂ O	0.2 g	Merck No 5882
Manganese(II)-sulphate, H ₂ O	0.05 g	Merck No 5960
Agar	13 g	SO-BI-GEL

Suspend the ingredients in 1000 ml of distilled water. Boil to dissolve the medium completely. Dispense into bottles and sterilise by autoclaving at 121°C (250°F) for 15 min.

pH after sterilisation: 6.9 ± 0.1

Preparation of MRS-IM agar with maltose:

1000 ml of MRS-IM agar, which is melted and subsequently cooled to 47°C (117°F) ± 1°C (34°F), is added:
100 ml of sterile 20% maltose solution

Preparation of 20% (w/v) maltose solution:

Maltose	20 g
Distilled water to make	100 ml

Sterilise by filtration (0.45 µm)
Cold storage

Preparation of MRS-IM agar with glucose and solutions A, B and C added:

1000 ml of MRS-IM agar, which is melted and subsequently cooled to 47°C (117°F) ± 1°C (34°F), is added:
100 ml of sterile 20% glucose solution
5 ml of sterile solution A
10 ml of sterile solution B
5 ml of sterile solution C

Preparation of 20% (w/v) glucose solution:

Glucose	20 g
Distilled water to make	100 ml

Sterilise by filtration (0.45 µm)
Cold storage

Preparation of solution A:

Dichlorallin	10 mg	Sigma D-9016
Distilled water to make	100 ml	

L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria in fermented milk products - Guidelines

Technical Bulletin F-6
Method for counting probiotic bacteria

CHR HANSEN

Sterilise by filtration (0.45 µm)
Cold storage, shelf life **maximum two weeks**

Preparation of Solution B:

LiCl	2 g	Merck No 5679
Distilled water	18 g	

Stir continuously until it is completely dissolved
Sterilise by filtration (0.45 µm)
Cold storage, shelf life **maximum two weeks**

Preparation of solution C:

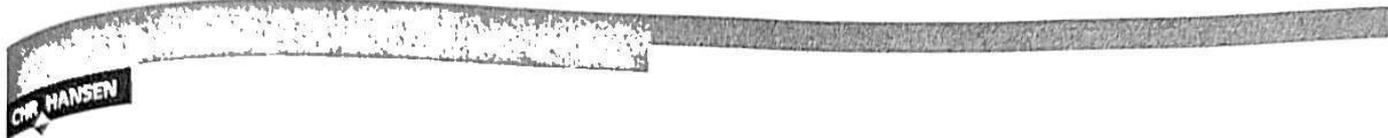
Cysteine hydrochloride	10 g	Merck No 2839
Distilled water to make	100 ml	

Sterilise by autoclaving
Storage at room temperature
Should be discarded if precipitated, shelf life **maximum 2 months**

When adding sugar and/or different solutions to the agar, please note that the agar must be used immediately after preparation.

L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria in fermented milk products - Guidelines

Technical Bulletin F-6
Method for counting probiotic bacteria



Appendix

Method for counting probiotic bacteria

When plating a product containing more than one bacterial strain, it is essential that the identity of the colonies appearing on the agar plate is verified by microscopy. Some probiotic bacteria, e.g. *L. acidophilus* and *L. casei*, look very similar on a MRS agar plate but differ in shape under a microscope. Examples of why it is important and how the colonies/bacteria appear on agar plates/in microscope are described in the following.

LA-5 in an AC or ACT blend

For enumerating *L. acidophilus* LA-5 in blends we recommend to plate the product on MRS-im + maltose and incubate the plates aerobically. However, *L. casei* LC-01 will also appear under these conditions, but the colonies can often be distinguished on the plates (figure 1). To verify the identity of the strain it is recommended to check the appearance in microscope. On agar plates, colonies of LC-01 will appear larger and more regular in shape than colonies of LA-5, which appear as irregular colonies on MRS-im + maltose.

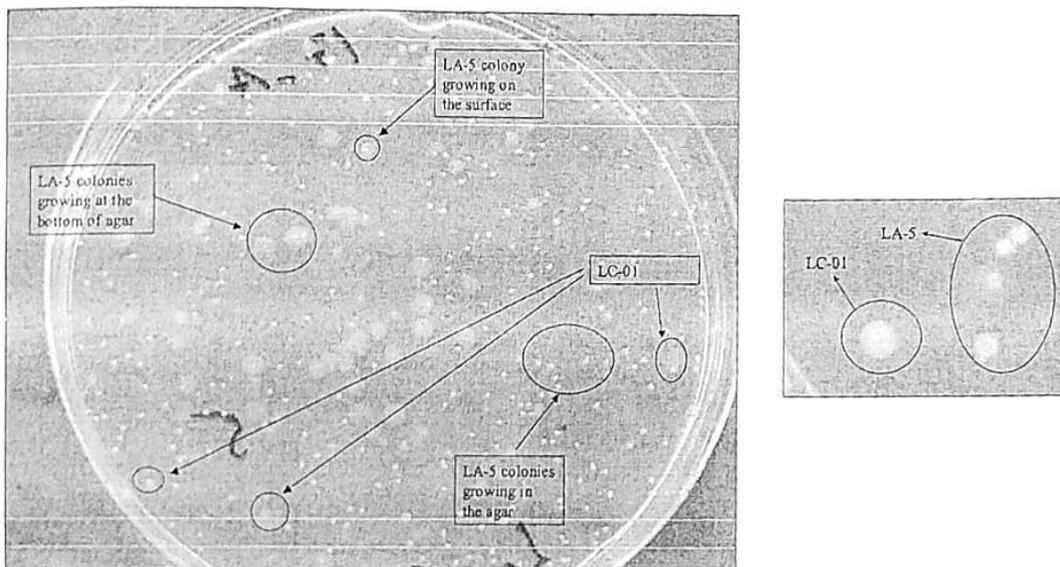


Figure 1. *L. casei* (LC-01) appear on MRS-im + maltose as larger and more regular colonies than LA-5, as seen enlarged in the small picture.

In microscope LA-5 appears like a long rod of varying length as seen in figure 2. LC-01 is short and thick (figure 3).

L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria in fermented milk products - Guidelines

Technical Bulletin F-6
Method for counting probiotic bacteria

CHR. HANSEN

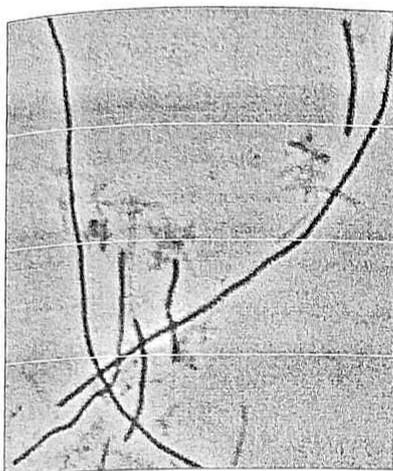


Figure 2. LA-5 (1000x enlargement)

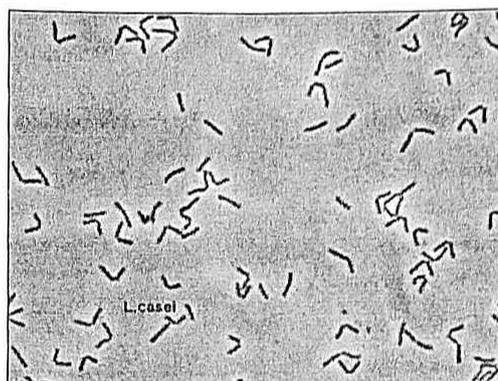


Figure 3. *L. casei* (1000x enlargement)

LA-5 in an AY or ABY blend

In some cases *L. bulgaricus* may also grow on MRS-im + maltose, but colonies will in most cases be smaller and possible to distinguish from LA-5. The shape of *L. bulgaricus* in the microscope looks very similar to LA-5 (figure 4).

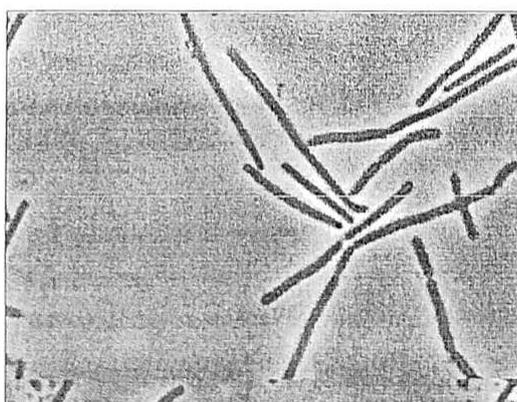


Figure 4. *L. bulgaricus* (1000x enlargement)

L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria in fermented milk products - Guidelines

Technical Bulletin F-6
Method for counting probiotic bacteria

CHR. HANSEN

BB-12 in an ABT blend

In most cases only BB-12 will grow on MRS-im + glucose + solutions A, B and C. But there are a few exceptions. Some strains of *S. thermophilus* may grow on this medium and can be mistaken for BB-12. Therefore it is

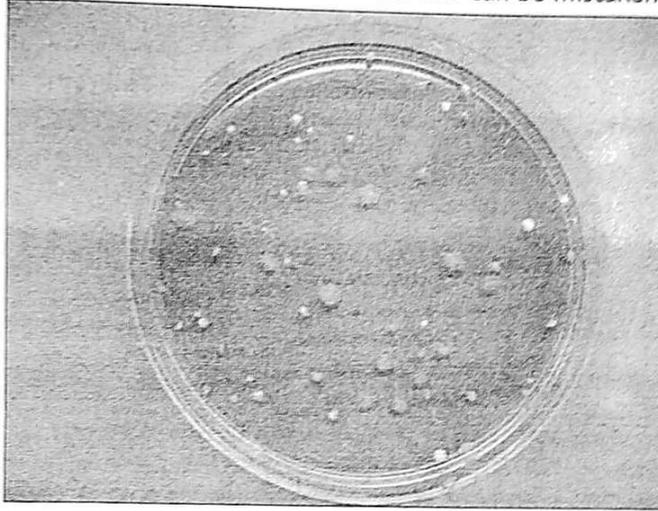


Figure 5. BB-12 colonies on MRS-im + glucose + sol. A, B and C.

extremely important to verify the identity by microscopy. In figure 5 an agar plate with only BB-12 is seen, whereas in figure 6 both BB-12 and *S. thermophilus* are growing.

BB-12 in an ABY blend

The same situation as described above may occur. In most cases only BB-12 will grow on MRS-im + glucose + solutions A, B and C. But there are a few exceptions. Some strains of *S. thermophilus* may grow on this medium and can be mistaken for BB-12. Therefore it is extremely important to verify the identity by microscopy. In figure 6 an agar plate with both BB-12 and *S. thermophilus* is seen.

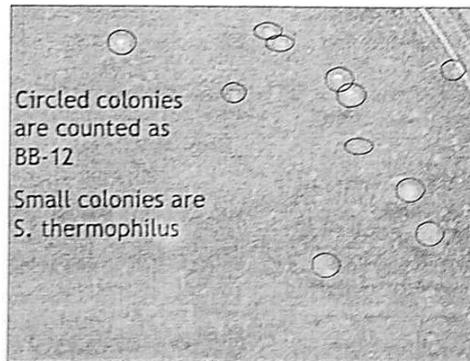
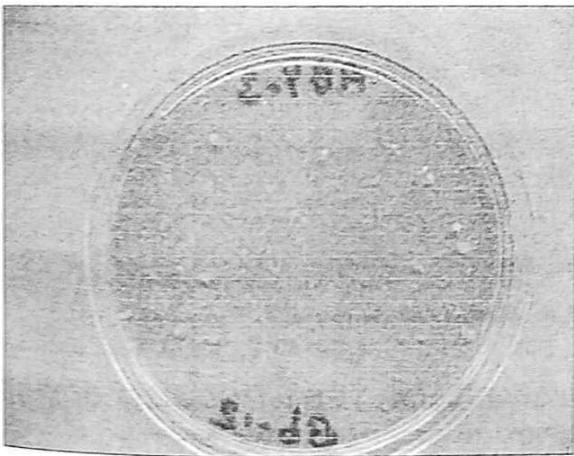


Figure 6. BB-12 and *S. thermophilus* on MRS-im + glucose + sol. A, B and C. Big, white colonies are BB-12, small colonies are *S. thermophilus* (enlarged in the small picture).

L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria in fermented milk products - Guidelines

Technical Bulletin F-6
Method for counting probiotic bacteria

CHR. HANSEN

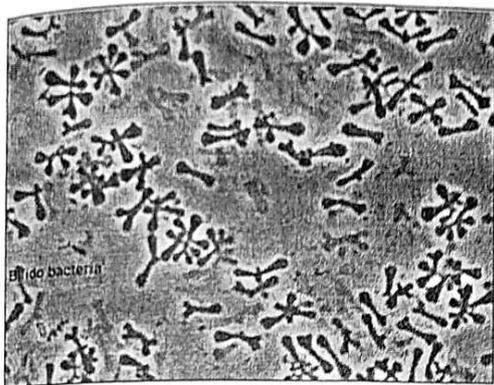


Figure 7. BB-12 (1000x enlargement)

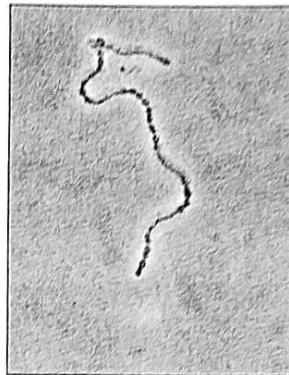


Figure 8. *S. thermophilus* (1000x enlargement)

The shape of BB-12 and *S. thermophilus* in microscope is seen in figures 7 and 8, respectively. BB-12 and *S. thermophilus* both look very characteristic in microscope. BB-12 appears as club or bone shaped, *S. thermophilus* appears as pearls on a string. However, when growing on MRS-im + glucose + solutions A, B and C, cocci of *S. thermophilus* may be more oblong than the cocci in figure 8.

L. casei in an AC, BC, ABC or BCT blend

The recommended low temperature of incubation suppresses all thermophilic bacteria. The colonies of *L. casei* look very similar to BB-12. *L. casei* on MRS-im + glucose is seen in figure 9.

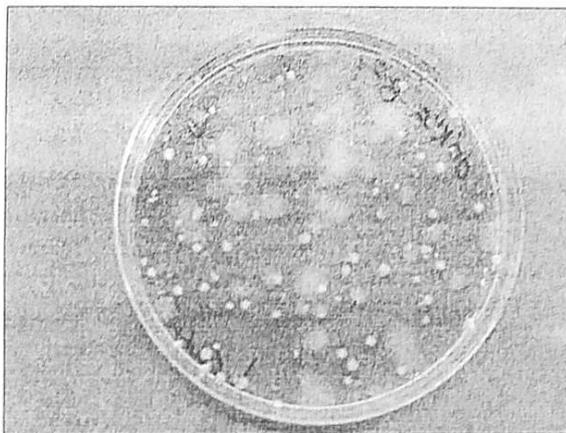


Figure 9. *L. casei* colonies on MRS-im + glucose.

The information contained herein is to our knowledge true and correct and presented in good faith. However, no warranty, guarantee or freedom from patent infringement is implied or inferred. This information is offered solely for your consideration and verification.

APENDICE 9

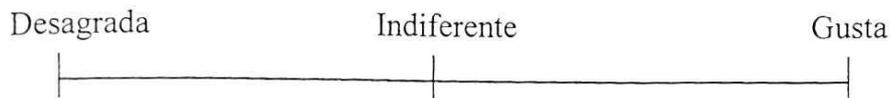
Nombre y Apellido:

Fecha:

Edad:

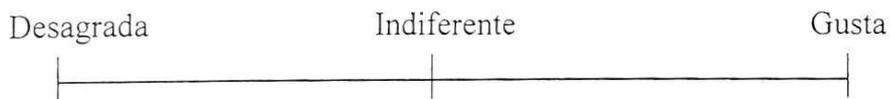
Pruebe la muestra presentada y marque con una "x" su nivel de agrado, de acuerdo con la escala que se presenta a continuación

MUESTRA:



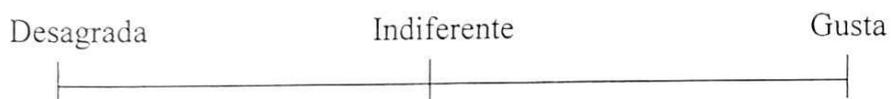
Observaciones:

MUESTRA:



Observaciones:

MUESTRA:



Observaciones:

¡Gracias por su colaboración!

APENDICE 10

TABULACIONES PRUEBA SENSORIAL DULCE DE LECHE

No. De muestras	4,00
No de jueces	30,00

Juez	1bc		2ac		1ac		2bc		Total	
	Muestra	x2	Muestra	x2	Muestra	x2	Muestra	x2		
1	5,5	30,26	8,4	70,86	4,4	19,36	9,6	93,07	27,97	782,11
2	5,0	25,50	5,8	33,27	5,0	25,50	7,4	55,39	23,31	543,29
3	5,7	32,15	4,3	18,58	5,7	32,15	6,8	46,24	22,45	504,06
4	4,8	23,21	4,2	18,01	4,8	23,21	6,6	43,33	20,46	418,74
5	3,9	15,01	7,1	50,03	3,9	15,01	8,1	65,71	22,93	525,67
6	6,1	36,75	8,8	76,89	4,2	17,64	8,8	76,79	27,79	772,50
7	5,6	31,30	4,3	18,22	5,6	31,30	9,5	90,52	24,97	623,55
8	5,1	26,01	6,2	38,34	5,1	26,01	10,0	99,72	26,38	695,77
9	3,8	14,30	7,1	50,85	3,8	14,30	6,8	46,24	21,49	461,97
10	6,6	43,53	6,1	37,59	6,6	43,53	7,2	51,84	26,53	703,68
11	6,0	35,98	4,9	24,22	6,0	35,98	7,3	53,18	24,21	586,16
12	3,4	11,76	5,8	33,10	3,4	11,76	9,2	84,12	21,78	474,54
13	5,4	28,97	6,8	46,05	5,4	28,97	6,5	42,25	24,05	578,48
14	4,1	16,92	4,4	19,32	4,1	16,92	8,2	67,36	20,83	433,87
15	4,4	19,14	4,2	17,78	4,4	19,14	9,4	88,91	22,40	501,56
16	6,8	45,02	8,4	70,42	6,8	46,02	9,0	80,11	30,91	955,36
17	6,9	47,22	4,5	20,11	4,0	16,00	7,2	51,82	22,55	508,72
18	6,5	42,25	5,6	31,74	3,0	9,00	7,8	60,84	22,93	525,95
19	5,3	28,29	7,8	60,84	4,1	16,81	5,2	26,98	22,41	502,34
20	6,0	36,50	8,6	73,88	4,0	16,00	6,7	44,45	25,30	640,29
21	4,2	17,61	5,4	29,31	4,2	17,61	7,2	51,58	20,99	440,53
22	5,4	29,58	6,8	46,81	5,4	29,58	7,6	57,76	25,32	641,06
23	3,0	9,06	6,5	42,23	3,0	9,06	5,2	27,17	17,73	314,34
24	6,3	40,09	4,0	16,05	6,3	40,09	9,1	82,31	25,74	662,69
25	5,2	27,49	8,4	70,99	5,2	27,49	6,3	39,69	25,21	635,67
26	5,6	31,36	5,1	25,98	5,6	31,36	7,8	60,84	24,10	580,67
27	3,5	12,36	5,6	31,37	3,5	12,36	9,1	82,47	21,71	471,51
28	6,9	47,34	7,3	53,58	4,5	20,25	5,0	25,03	23,70	561,82
29	4,9	24,02	5,1	26,19	4,9	24,02	9,4	88,92	24,35	592,89
30	3,3	11,00	4,6	21,20	3,3	11,00	8,7	75,99	19,95	398,15
		840,97		1173,81		667,43		1860,63	710,48	17037,97
Total	155,30		182,21		140,32		232,65			
	24116,70		33199,95		19689,97		54126,38			
Media total	5,18		6,07		4,68		7,76			

APENDICE 11

TABULACIONES PRUEBA SENSORIAL YOGURT PROBIOTICO

No. De muestras	3,00
No de jueces	30,00

Juez	a T2		b T2		c T2		Total	
	Muestra	x2	Muestra	x2	Muestra	x2		
1	5,6	31,36	6,9	47,61	8,0	64,00	20,50	420,25
2	7,0	49,00	5,2	27,04	6,1	37,21	18,30	334,89
3	5,7	32,15	5,1	26,01	7,0	49,00	17,77	315,79
4	6,8	46,24	7,2	51,84	8,5	72,25	22,50	506,25
5	6,2	38,44	6,5	42,25	7,2	51,84	19,90	396,01
6	3,5	12,25	4,5	20,25	8,6	73,96	16,60	275,56
7	5,6	31,30	4,3	18,22	7,8	60,84	17,66	311,97
8	5,1	26,01	5,1	26,01	6,3	39,69	16,50	272,25
9	3,8	14,30	4,1	16,81	7,2	51,84	15,08	227,44
10	6,6	43,53	6,1	37,59	6,6	43,53	19,33	373,53
11	6,0	35,98	4,8	23,04	6,2	38,44	17,00	288,95
12	3,4	11,76	4,1	16,81	7,3	53,29	14,83	219,91
13	5,4	28,97	6,8	46,05	8,2	67,24	20,37	414,89
14	4,1	16,92	4,4	19,32	6,5	42,25	15,01	225,27
15	3,0	9,00	4,2	17,78	8,7	75,69	15,92	253,34
16	6,0	36,00	7,0	49,00	7,5	56,25	20,50	420,25
17	5,0	25,00	4,5	20,11	8,3	68,89	17,78	316,29
18	6,5	42,25	5,6	31,74	7,1	50,41	19,23	369,93
19	5,3	28,29	7,8	60,84	8,3	68,89	21,42	458,75
20	4,5	20,25	8,6	73,88	7,4	54,76	20,50	420,07
21	4,2	17,61	5,4	29,31	9,0	81,00	18,61	346,36
22	5,4	29,58	5,4	29,16	6,8	46,24	17,64	311,12
23	3,0	9,06	3,2	10,24	8,2	67,24	14,41	207,64
24	6,3	40,09	4,0	16,05	6,3	40,09	16,67	277,89
25	5,2	27,49	5,4	29,16	8,1	65,61	18,74	351,31
26	5,6	31,36	5,1	25,98	7,0	49,00	17,70	313,19
27	3,5	12,36	3,7	13,69	7,7	59,29	14,92	222,48
28	6,9	47,34	4,8	23,04	7,6	57,76	19,28	371,73
29	4,9	24,02	5,0	25,00	6,5	42,25	16,40	268,99
30	3,3	11,00	4,6	21,20	6,0	36,00	13,92	193,78
		828,92		895,04		1664,76	534,98	9686,10
Total	153,52		159,43		222,03			
	23568,40		25419,03		49297,28			
Media total	5,12		5,31		7,40			

APENDICE 12

TABULACIONES PRUEBA SENSORIAL YOGURT PROBIOTICO

No. De muestras	3,00
No de jueces	30,00

Juez	Prueba 1		Prueba 2		Prueba 3		Total	
	Muestra		Muestra		Muestra			
	109	x2	820	x2	471	x2		
1	4,9	24,01	7,0	49,00	8,0	64,00	19,90	396,01
2	5,0	25,50	5,8	33,27	6,7	44,89	17,52	306,85
3	5,7	32,15	4,3	18,58	8,9	79,21	18,88	356,49
4	3,2	10,24	4,2	18,01	7,1	50,41	14,54	211,53
5	3,9	15,01	6,0	36,00	6,8	46,24	16,67	278,02
6	3,6	12,96	7,0	49,00	5,9	34,81	16,50	272,25
7	5,6	31,30	4,3	18,22	7,0	49,00	16,86	284,35
8	5,1	26,01	6,2	38,34	9,0	81,00	20,29	411,75
9	3,8	14,30	7,1	50,85	7,2	51,84	18,11	328,06
10	5,9	34,81	6,1	37,59	6,6	43,53	18,63	347,04
11	5,2	27,04	4,9	24,22	6,8	46,24	16,92	286,32
12	3,4	11,76	5,8	33,10	7,1	50,41	16,28	265,12
13	5,4	28,97	6,8	46,05	7,5	56,25	19,67	386,87
14	4,1	16,92	4,4	19,32	5,9	34,81	14,41	207,62
15	3,0	9,00	4,2	17,78	6,8	46,24	14,02	196,46
16	4,8	23,04	8,4	70,42	8,2	67,24	21,39	457,60
17	5,0	25,00	4,5	20,11	7,9	62,41	17,38	302,22
18	3,1	9,61	5,6	31,74	8,0	64,00	16,73	280,01
19	5,3	28,29	7,8	60,84	6,9	47,61	20,02	400,74
20	6,0	36,50	6,5	42,25	7,5	56,25	20,04	401,65
21	4,2	17,61	5,4	29,31	7,1	50,41	16,71	279,25
22	5,4	29,58	6,8	46,81	6,2	38,44	18,48	341,53
23	3,0	9,06	6,5	42,23	8,6	73,96	18,11	327,89
24	6,0	36,00	4,0	16,05	8,1	65,61	18,11	327,84
25	4,0	16,00	5,9	34,81	7,9	62,41	17,80	316,84
26	5,6	31,36	5,1	25,98	6,9	47,61	17,60	309,66
27	3,5	12,36	5,6	31,37	9,0	81,00	18,12	328,22
28	4,9	24,01	7,3	53,58	5,9	34,81	18,12	328,32
29	5,7	32,49	5,1	26,19	7,2	51,84	18,02	324,64
30	3,3	11,00	4,6	21,20	7,0	49,00	14,92	222,62
		661,87		1042,21		1631,48	530,76	9483,77
Total	137,73		173,33		219,70			
	18969,87		30042,27		48267,24			
Media total	4,59		5,78		7,32			

BIBLIOGRAFIA

Textos

1. KOZEL, Carlos, *Guía de Medicina Natural*, Décima Novena Edición, Editorial de la Misión La Verdad Presente, Apartado Aéreo 9663, Santafe de Bogota, D.C., Colombia, 1994.
2. MAZZA, Gabriel, *Alimentos Funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado*, Editorial Acribia, Zaragoza España, 2000.
3. ANZALDUA-MORALES, Antonio, *La Evaluación Sensorial de los alimentos en la teoría y en la practica*, Editorial Acribia, Zaragoza España, 1994.
4. ASSOCIATION OF OFFICAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC), *Methods of analysis*, Décima Tercera Edición, Editor William Horwitz, 1980.
5. SCHEAFER, Richard; MENDENHALL, Willia; OTT, Lyman, *Elementos de muestreo*, Tercera Edicion, Editorial Iberoamerica, Mexico, 1987.
6. MONTERO, Roberto, *Manjar Blanco*, Proyecto San Martín, Lima Perú 2000.

7. PEDRERO, Daniel L.; PANGBORN, Rose Marie, *Evaluación Sensorial de los Alimentos, Métodos Analíticos*, Primera Edición, Editorial Alhambra Mexicana 1989.

8. Microbiology Manual Merck 2000. Copyright 1996: Merck KGaA, Darmstadt.

Publicaciones

1. INDUSTRIA ALIMENTICIA Revista. *Soya, Un alimento milagroso*, Enero 2005.

2. SOYERA Revista. *Soya y sus propiedades*, Abril 2005.

3. Énfasis Revista. *El poder de una proteína funcional*, Febrero 2007.

Web Sides

1. <http://food-info.net/es/ff/intro.htm>

2. www.sica.gov.ec

3. [http://es.wikipedia.org/wiki/Leche de soja](http://es.wikipedia.org/wiki/Leche_de_soja).

4. <http://lavidaencasa.com/alimentos/leche de soja>.

5. <http://INTSOY/Cienciasdelosalimentos/Yogurt de soja>.