

DISEÑO DE UNA BEBIDA EN POLVO PRE Y PROBIÓTICA A BASE DE LULO (*Solanum quitoense*)

E. García Zaragoza¹, M^a Jesús Pagán Moreno¹, Purificación García Segovía¹

RESUMEN

En este trabajo se ha llevado a cabo el diseño de una bebida pre y probiótica a base de zumo de lulo (*Solanum quitoense*). La bebida se elaboró con suero lácteo, zumo de lulo, una fibra soluble que le confiere la cualidad de prebiótica y un microorganismo que le confiere la de probiótica. El microorganismo elegido para dicha bebida fue el *Lactobacillus acidophilus*, el cual a partir de una cantidad superior a 10^6 u.f.c./g posee beneficios terapéuticos para el organismo. La bebida se elaboró con suero lácteo puesto que era el medio en el que crecía con más facilidad el *Lactobacillus Acidophilus*, y zumo de lulo a los cuales se les aplicó un tratamiento de encapsulación mediante spray drying (secado por aspersión) con la finalidad de obtener un polvo capaz de ser rehidratado. A continuación se midió la cantidad de microorganismos que había después del tratamiento spray drying con la objeto de ver si podría ser considerado como probiótico, según la legislación vigente. Por último, se realizó un panel sensorial para evaluar la aceptación por los consumidores potenciales.

RESUM

En aquest treball s'ha dut a terme el disseny d'una beguda pre i probiòtica a base de suc de lulo. La beguda es va elaborar amb un sèrum lacti, suc de lulo, una fibra soluble que li confereix la qualitat de prebiòtica i un microorganisme que li confereix la de probiòtica. El microorganisme triat per a aquesta beguda va ser el *Lactobacillus acidophilus*, el qual a partir d'una quantitat superior a 10^6 ufc/g té beneficis terapèutics per a l'organisme. La beguda es va elaborar amb sèrum lacti ja que era el mitjà en què creixia amb més facilitat el *Lactobacillus Acidophilus*, i suc de lulo als quals se'ls va aplicar un tractament de encapsulació anomenat spray drier amb la finalitat d'obtenir una pols capaç de ser rehidratada. A continuació, es va mesurar la quantitat de microorganismes que havia després del tractament amb spray drying amb el objectiu de veure si hi havia la quantitat suficient per ser probiòtic. Per últim, es va realitzar un panell sensorial per avaluar l'acceptació pels possibles consumidors potencials.

¹ Grupo de Investigación e Innovación Alimentaria (CUINA), Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera S/N, 46022 Valencia, España.

ABSTRACT

In this work we have carried out the design of prebiotic and probiotic drink based in lulo juice. The drink was developed with a whey, lulo juice, a soluble fiber that gives the quality of prebiotic and a microorganism that gives the quality of probiotics. The organism chosen for this drink was the *Lactobacillus acidophilus*, which from a quantity greater than 10^6 cfu/g has therapeutic benefits for the body. The drink was made with whey, because it was the environment in which the *Lactobacillus Acidophilus* grew more easily, and lulo juice to which was applied a encapsulation treatment called spray drier in order to obtain a powder can be rehydrated. Then we measured the amount of microorganisms had after spray drying treatment in order to see if there was enough for probiótic. Finally we conducted a sensory panel to evaluate the potential acceptance by potential consumers.

PALABRAS CLAVE: *Lactobacillus acidophilus*, spray drying, probiótico, prebiótico, lulo.

1. INTRODUCCIÓN

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano (Alvídrez-Morales et al., 2002). En opinión de los expertos, muchas de las enfermedades crónicas que afligen a la sociedad de un modo particular (cáncer, obesidad, hipertensión, trastornos cardiovasculares) se relacionan de un modo muy estrecho con la alimentación (Jones, 2002). En este contexto, surgieron con fuerza los llamados alimentos funcionales, considerados como aquellos que, además de aportar los nutrientes recomendados, ejercen efectos beneficiosos sobre una o más funciones del organismo, fomentando la salud y reduciendo el riesgo de enfermedad (Med, 1999).

En los países occidentales la historia de este tipo de alimentos se remonta a las primeras prácticas de fortificación con vitaminas y minerales, así como también a la práctica de incluir ciertos componentes en los alimentos procesados con el objeto de complementar alguna deficiencia de la población. En la actualidad, se observa una clara preocupación en nuestra sociedad por la posible relación entre el estado de salud personal y la alimentación que se recibe (Alvídrez-Morales et al., 2002).

La Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos ha definido los alimentos funcionales como “cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado, que pueda proporcionar un beneficio a la salud superior al de los nutrientes tradicionales que contiene” (Thomas y Eart, 1994). Un alimento funcional se caracteriza por la adición o modificación de algún componente por medios químicos o biotecnológicos, como la encapsulación, con los cuales es posible conferir la biodisponibilidad de dicho componente para que manifieste su actividad y promueva beneficios fisiológicos. Entre los

componentes activos utilizados en la elaboración de alimentos funcionales destacan los componentes probióticos y prebióticos. Dentro de los probióticos están los microorganismos del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, los cuales al ser ingeridos en cantidades suficientes, ejercen un efecto positivo en la salud más allá de los efectos nutricionales básicos (Betoret et al., 2003; Charalampopoulos et al., 2002; Tuhoy et al., 2003) puesto que contribuyen al equilibrio de la flora intestinal y potencian el sistema inmunológico (Salmínen y Von Wright, 1998). Se ha observado que los probióticos tienen efectos más allá del valor nutritivo del alimento, incluyendo la exclusión, antagonismo e interferencia con microorganismos patógenos, la inmunoestimulación e inmunomodulación, actividades anticarcinogénicas y antimutagénicas, alivio de los síntomas de intolerancia a la lactosa, reducción de colesterol sérico, reducción de la presión arterial, disminución en la incidencia y duración de diarrea, prevención de vaginitis y mantenimiento de la integridad de las mucosas entre otras. Otros beneficios incluyen la estimulación de la síntesis de vitaminas y producción de enzimas, estabilización de la microflora, y reducción del riesgo de cáncer de colon (Barrante et al., 2004; Berrocal et al., 2002). No hay acuerdos generales en cuanto a la concentración mínima necesaria del probiótico para alcanzar ventajas terapéuticas. Algunos investigadores sugieren niveles de concentración mayores a 10^6 ufc/ml, otros estipulan concentraciones mayores a 10^7 ufc/ml y 10^8 ufc/ml como niveles satisfactorios (Kailasapathy y Rybka, 1997; Lourens-Hattingh y Viljeon, 2001, Kurmann y Rasic, 1991).

Por otro lado, los prebióticos son ingredientes no digeribles de la dieta, que producen efectos beneficiosos estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o más tipos de bacterias en el colon, las que tienen a su vez propiedad de elevar el potencial de salud del hospedador (Diplock et al., 1999). Entre los prebióticos hay diferentes tipos de fibra: soluble, lignina y oligosacáridos no digeribles, por ejemplo los fructooligosacáridos, que se añaden a productos como leche, yogures, flanes y margarinas. Estos compuestos son sustrato de las bacterias que colonizan el intestino grueso, originando ácido láctico y ácidos grasos de cadena corta, que estimulan el crecimiento de las bifidobacterias y equilibran la flora intestinal (Charalampopoulos et al., 2002; Tuhoy et al., 2003). Para que una sustancia (o grupo de sustancias) pueda ser definida como tal debe cumplir los requisitos siguientes: ser de origen vegetal, formar parte de un conjunto muy heterogéneo de moléculas complejas, no ser digerida por las enzimas digestivas, ser parcialmente fermentada por las bacterias colónicas y ser osmóticamente activa (Maté, 1996).

La combinación de prebióticos con probióticos se ha definido como simbiótico, la cual beneficia al huésped mediante el aumento de la supervivencia e implantación de los microorganismos vivos de los suplementos dietéticos en el sistema gastrointestinal. Se ha descrito un efecto sinérgico entre ambos, es decir, los prebióticos pueden estimular el crecimiento de cepas específicas y por tanto contribuir a la instalación de una microflora bacteriana específica con efectos beneficiosos para la salud (Roberfroid, 2000).

Un súper alimento se considera que tiene alta densidad de nutrientes con propiedades preventivas o curativas de muchas enfermedades crónicas. Un súper alimento se define como "un alimento natural considerado como especialmente beneficioso debido a su perfil de nutrientes o de sus cualidades para la protección de la salud" (Diccionario Oxford, 2009). De ahí se deduce el concepto de superfrutas. En el año 2005, el término "superfruta" fue acuñado para describir un grupo de frutas y bayas que contienen aparte de las cualidades propias de las frutas, cantidades muy altas de compuestos antioxidantes y otros nutrientes beneficiosos para la salud. Los principales parámetros que se valoran para otorgar a una fruta la categoría super, con un valor extra en sus propiedades nutricionales son, entre otros, que tenga una importante concentración de nutrientes, que destaque por su contenido en antioxidantes, que cuente con avales científicos contrastados e investigaciones clínicas de sus beneficios reales. Las defensas antioxidantes del organismo son claves para el control de enfermedades crónicas asociadas con el estrés oxidativo como cáncer, arterioesclerosis, artritis y el proceso biológico de envejecimiento, por lo tanto el suministro de antioxidantes exógenos podría tener efectos benéficos y ser una alternativa en la prevención y tratamiento de enfermedades asociadas con procesos oxidativos a nivel celular (Brad-Williams et al., 1995; Rivera, 2006; Tafrut et al., 2005). Un ejemplo de superfruta es el Lulo o naranjilla. La planta de lulo (*Solanum quitoense*) es una especie frutal semisilvestre nativa de América del Sur, que se consume en Colombia debido a su agradable y delicado aroma (Coralia et al., 2002). Las dos variedades botánicas de lulo más importantes en el país son la septentrional y la quitoense: la primera se caracteriza por la presencia de espinas en el tallo y en las hojas, mientras la segunda variedad no presenta espinas; además, el fruto es generalmente menos ácido que en la variedad septentrional (Estrada, 1992).

TABLA 1: Composición principal del lulo

Valor alimenticio por 100 g de porción comestible *	Cantidad
Calorias	23 cal
Humedad	85,8 - 92,5 g
Proteínas	0,107 - 0,6 g
Carbohidratos	5,7g
Grasa	0,1 - 0,24 g
Fibra	0,3 - 4,6 g
Ceniza	0,61 - 0,8 g
Calcio	5,9 - 12,4 mg
Fósforo	12,0 - 43,7 mg
Hierro	0,34 - 0,64 mg
Carotenos	0,071 - 0,232 mg
Tiamina	0,04 - 0,094 mg
Riboflavina	0,03 - 0,047 mg
Niacina	1,19 - 1,76 mg
Ácido ascórbico	31,2 - 83,7 mg

En la tabla 1 se puede observar la composición del lulo (Morton, 1987). Como puede comprobarse en la tabla 1, el lulo es rico en vitamina C, por lo que es importante en la formación del colágeno, proteína que ayuda a mantener las estructuras corporales, interviene en la absorción del hierro y refuerza mecanismos de autodefensa corporales. Además, tiene un alto contenido en hierro, calcio y fósforo propiciando un buen estado del sistema óseo, cabellos y uñas (Martínez y García, 2001).

El presente trabajo pretende llevar a cabo el diseño de una bebida en polvo con características prebióticas y probióticas y con los beneficios de una superfruta como el lulo. Tal como se comentó anteriormente, el lulo es una fruta con abundantes propiedades beneficiosas para el organismo, pero presenta varios problemas que dificultan su uso. Uno de ellos es el problema de estacionalidad y que debe ser cultivado en zonas semisilvestres, lo que dificulta su procesado y obtención. Así mismo, su carácter ácido dificulta el crecimiento de microorganismos probióticos. Por tanto, en este trabajo se intentará conseguir las condiciones óptimas para cumplir el objetivo deseado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Plan de trabajo

En la figura 1 se muestra el plan de trabajo seguido, este constó de tres fases las cuales se detallan a continuación.

➤ FASE I: OBTENCIÓN DE LOS COMPONENTES PROBIÓTICOS EN POLVO

Inicialmente se testaron diferentes medios de crecimiento de la cepa probiótica (*Lactobacillus acidophilus*): suero de leche, suero de leche con extracto de levadura, suero de leche con extracto de levadura y maltodextrina, zumo de uva y zumo de uva con extracto de levadura. Una vez obtenidas las curvas de crecimiento y con la finalidad de seleccionar el o los medios óptimos de crecimiento, estas se modelizaron y se obtuvieron los parámetros característicos de las mismas. Posteriormente, se procedió a optimizar las condiciones de operación del proceso de secado mediante spray dryer. Finalmente, cuando se obtuvo el polvo del componente probiótico, este se caracterizó y se procedió a estudiar la viabilidad del mismo, es decir, estudiar la cantidad de microorganismos que sobrevivían al tratamiento con el spray dryer.

➤ FASE II : OBTENCIÓN DEL POLVO DE LULO CON PREBIÓTICO

Para la obtención del polvo de lulo con el componente prebiótico se partió de zumo de lulo al que se le añadió Nutriose FM 06 ® para conferir la cualidad de prebiótica a la bebida. Seguidamente, se sometió la mezcla al

proceso de spray drying, obteniéndose el producto en polvo que posteriormente se caracterizó.

➤ FASE III : DISEÑO DE LA BEBIDA

Para finalizar, se procedió a la formulación de la bebida mezclando los productos obtenidos en la FASE I y en la FASE II, decidiendo la proporción adecuada de ambos para obtener un producto final con características pro y prebióticas. A la mezcla se le añadieron, en una primera fase, diferentes concentraciones de azúcar y en una segunda fase, se testaron diferentes edulcorantes. Los productos obtenidos fueron reconstituidos en agua y evaluados organolépticamente mediante análisis sensorial. Además, se llevó a cabo un análisis de la estabilidad del producto en polvo almacenado a temperatura ambiente y en congelación.

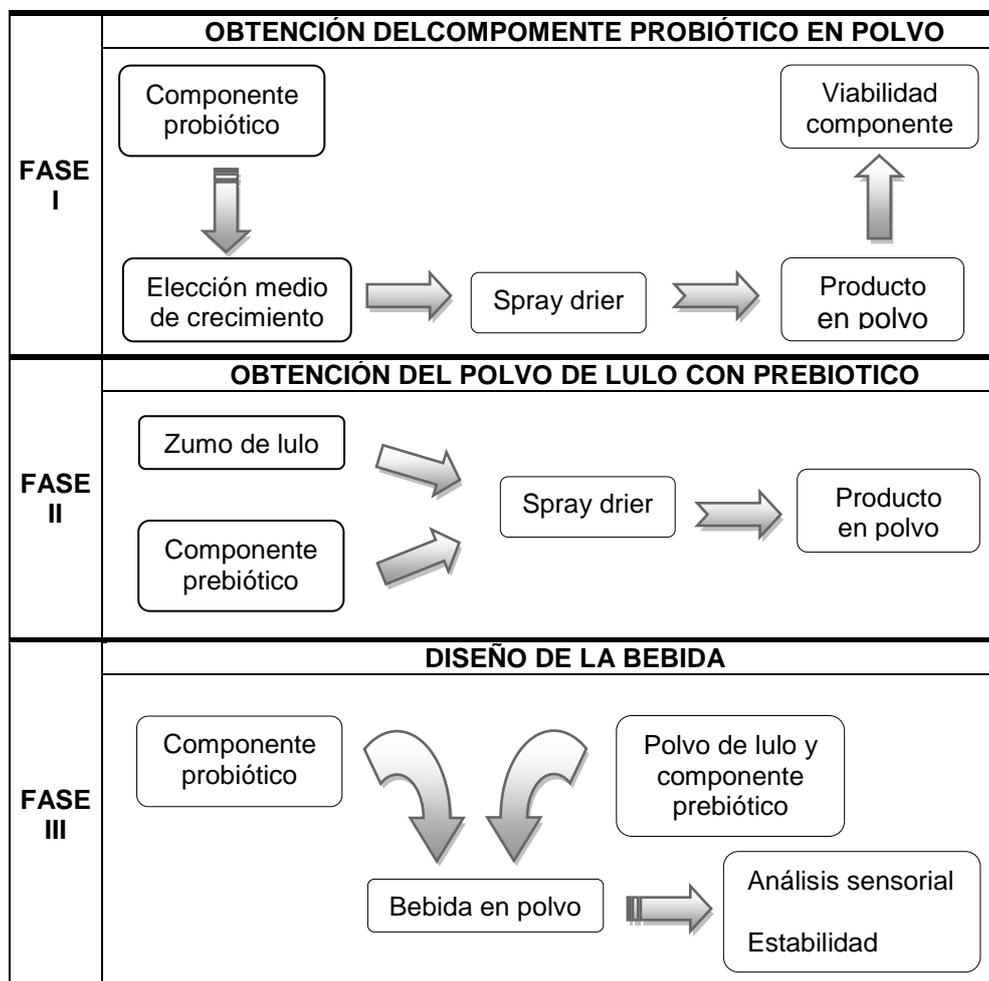


FIGURA 1: Plan de trabajo.

2.2. Materiales

Para la realización de este trabajo se utilizó pulpa de lulo (*Solanum quitoense*) procedente de Ecuador de la marca "Tutti Frutti". La cepa probiótica elegida, basando en estudios previos (Ruixiang et al., 2007), fue

Lactobacillus acidophilus (CECT 903) procedente de la Colección Española de Cultivos Tipo.

Los ingredientes utilizados para la formulación de los medios de crecimiento para el *L. acidophilus* fueron: suero lácteo en polvo (EcoGala, Nutriops S.L., Librilla, Murcia, España), zumo de uva moscatel (Don Simón, J. García Carrión S.A., Daimiel, Castilla-La Mancha, España), extracto de levadura (Scharlau, Chemie, S.A., Barcelona, España), maltodextrina (Sosa Ingredients S.L, Mojà, Barcelona, España), caldo MRS (Scharlau, Chemie, S.A., Barcelona, España).

Como componente prebiótico se empleó Nutriose FM 06 ® (Roquette Freres, Lestrem, Francia) (fibra soluble de la gama de las dextrinas con un alto contenido en fibra superior al 85% y muy baja viscosidad). La NUTRIOSE FM 06 ® no se ve afectado en el proceso de spray drying, por lo que no hay pérdida de la fibra, además, muestra una alta tolerancia a la digestión.

Finalmente, el medio de cultivo utilizado en las determinaciones microbiológicas fue agar MRS (Scharlau, Chemie, S.A., Barcelona, España).

Para el secado tanto del componente probiótico como del zumo de lulo enriquecido con prebiótico se utilizó un equipo BÜCHI Mini Spray Dryer B-290 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland).

El producto final fue endulzado con azúcar comercial (AB Azucarera Iberia SLU, Madrid, España), aspartame (Nutrasweet ®, Chicago, Illinois, USA) y jarabe comercial de fructosa (Fruit-up ®, Wild Valencia S.A., Carcaixent, Valencia, España).

2.3. Obtención del componente probiótico en polvo

2.3.1. ELECCIÓN DEL MEDIO DE CRECIMIENTO PARA EL COMPONENTE PROBIÓTICO

Se plantearon varias posibilidades como medio de crecimiento de la cepa probiótica, las opciones elegidas así como sus características de pH y ° Brix se muestran en la tabla 2.

Para la realización de las curvas de crecimiento se partió de una concentración inicial de *L. acidophilus* de 10^2 - 10^3 ufc/mL en los diferentes medios de cultivo testados (tabla 2). Estos se incubaron a 37°C y se procedió a tomar muestras cada 4 horas realizándose los recuentos de los microorganismos probióticos mediante siembra en doble capa en MRS agar. A partir de los datos obtenidos se obtuvieron las curvas de crecimiento.

Una vez obtenidas las curvas de crecimiento en los distintos medios en estudio se procedió a realizar una modelización de las mismas con el fin de obtener sus parámetros característicos del desarrollo microbiano: fase de latencia (λ), velocidad de crecimiento (μ_{max}) y máxima densidad poblacional (MDP) y decidir el ó los medios a utilizar en el presente trabajo para lograr un desarrollo de la cepa probiótica del orden de 10^6 - 10^8 ufc/mL. Para ello se utilizaron modelos cinéticos primarios de crecimiento, concretamente las funciones mecanísticas propuestas por Baranyi & Roberts (1995) y funciones lineales (Buchanan et al., 1997). Dentro del primer grupo se consideraron

ecuaciones de modelo completo (MC) en el que se consideran las tres fase características del crecimiento microbiano, modelo sin fase lag (NL) y modelo sin fase asintótica. En lo referente a las funciones lineales se testaron modelos trifásicos, bifásicos y lineales.

La comparación entre los parámetros cinéticos se efectuó en base al criterio 2 sigma, el cual define el intervalo de confianza en el que se encuentra el 95% de la población analizada (Carot, 2012).

TABLA 2: Medios de crecimiento y sus valores de pH y °Brix.

Nombre	Composición	pH	°Brix
Suero de leche	5 g polvo/200 mL liquido	6,67	2,6
Suero de leche + E.L.	5 g polvo+5 g EL/200 mL liquido	6,73	5,3
Suero de leche + E.L. + 10 % maltodextrina	5 g polvo + 5 g EL +10% maltodextrina(p/p)/200 mL liquido	6,27	14
Suero de leche + E.L. + 20 % maltodextrina	5 g polvo + 5 g EL +20% maltodextrina(p/p)/200 mL liquido	6,77	20,7
Zumo de uva	200 mL zumo + 0,2 g bicarbonato para ajustar el pH a 6.	pHi = 3,6 pHf = 6,01	14,5
Zumo de uva + E.L.	200 mL zumo + 5 g EL + 0,7 g bicarbonato para ajustar el pH a 6.	pHi= 3,5 pHf= 6,03	14,5

E.L.: extracto de levadura

2.3.2. OBTENCIÓN DE POLVOS MEDIANTE SPRAY DRYING

Los polvos del componente probiótico se obtuvieron mediante secado por aspersión con un spray dryer. En este equipo se controlan las condiciones de salida del producto (temperatura de salida) modificando los parámetros de entrada. Los parámetros de entrada que pueden modificarse son: temperatura de entrada, % aspiración, caudal de la bomba, caudal de aire y ciclos de limpieza de la boquilla. Para la obtención del componente probiótico en polvo, se testaron diferentes temperaturas de trabajo (temperatura de entrada) al ser este parámetro limitante del proceso de deshidratación al repercutir en la supervivencia de los microorganismos que confieren a la bebida el carácter probiótico. El rango de temperatura de trabajo del equipo se sitúa entre 100°C y 220°C y las temperaturas testadas en el presente trabajo fueron: 100, 105, 110 y 130°C. El resto de parámetros de operación del aparato se mantuvieron constantes en todos los experimentos, siendo estos: aspiración del 95%, potencia de la bomba del 30%, altura de la columna del rotámetro (hC) de 3 cm y el ciclo de limpieza de la tobera (nozzle) de 6.

Como soporte se utilizó maltodextrina, puesto que ofrece una protección a los microorganismos en el tratamiento de secado por aspersión. En el presente trabajo se utilizaron dos concentraciones de maltodextrina (10 y 20% w/w). Además, también se analizó el efecto de la esterilización o no de este soporte.

2.4. Obtención del polvo de lulo con prebiótico

El polvo de lulo con el componente prebiótico se obtuvo, al igual que en el caso del componente probiótico, mediante un tratamiento de secado por aspersión con el spray dryer.

La proporción de Nutriose FM 06 ® añadida al zumo de lulo se fijó de acuerdo con la ecuación 1 y en función de los grados Brix de la muestra de zumo (Mosquera et al., 2010).

$$m_{\text{Nutriose}} = \frac{m_{\text{muestra}} \cdot \text{°Brix} \cdot 1}{100} \left(\frac{\text{g soluto}}{100 \text{ g muestra}} \right) \quad (1)$$

La Nutriose FM 06 ®, además de conferir el carácter prebiótico al zumo de lulo, facilita el secado por aspersión.

2.5. Análisis fisicoquímicos realizado a los polvos

Los análisis fisicoquímicos realizados a los polvos obtenidos (componente probiótico y lulo enriquecido con prebiótico) fueron:

- a) Sólidos solubles totales (°Brix): se determinaron con un refractómetro digital con control de la temperatura Peltier, modelo RFM 330 (Bellingham & Stanley Limited, Kent, U.K.)
- b) Actividad de agua: se determinó con un medidor de actividad de agua modelo FA-st lab 1, (GBX, Bourg de Peage, Francia).
- c) pH: se determinó con un pHmetro modelo Consort c-830, (Turnhout, Belgium), previa dilución en 250 mL de agua.

2.6. Diseño de la bebida

2.6.1. FORMULACIÓN DE LA BEBIDA

El resultado del trabajo debe ser una bebida a base de zumo de lulo con propiedades probióticas y prebióticas. Por tanto, como ya se comentó anteriormente, deberá estar compuesta de una parte probiótica y otra prebiótica. Se ha supuesto que la proporción adecuada es la cantidad mínima de ambas partes que haría que al ser disueltas en un vaso de agua (250 mL), el organismo recibiera el aporte de dichos beneficios probióticos y prebióticos. Por ello, se llegó a la conclusión que los gramos mínimos de la parte prebiótica, es decir del lulo en polvo con Nutriose FM 06 ®, serían los que confirieran a la bebida los mismos grados brix que tenía el zumo de lulo antes del tratamiento con spray drying. Por otro lado, los gramos de la parte probiótica serían los necesarios para que en el vaso de agua (250 mL) hubiera una cantidad superior a 10^6 u.f.c./mL.

2.6.2. ANÁLISIS SENSORIAL

Para el análisis sensorial se diseñó un experimento basado en la metodología JAR (Just About Right). En el método JAR se utiliza una escala de medición de la adecuación del nivel de un atributo en un producto (Lawles y Heymann, 1998). Aunque hay muchas variaciones de escalas JAR, las más frecuentes suelen constar de cinco o siete puntos. En este trabajo se incluyó una escala de cinco puntos para evaluar los atributos: sabor ácido, dulce y a fruta. Para analizar los datos obtenidos con la escala JAR primero se calculó el porcentaje de respuesta de consumidores para cada uno de los puntos en la escala. En segundo lugar se estimaron las desviaciones por encima y debajo del punto medio de la escala, según la aproximación propuesta por Gacula et al (2007). Para ello la escala individual de cinco puntos (1,2,3,4,5) se transformó en una (-2, -1, 0, 1 y 2 respectivamente). De este análisis de la desviación se obtienen dos grupos de datos, uno que recoge a los consumidores que sienten que el producto no cubre sus expectativas (por debajo de JAR) y otro para aquellos para los cuales las excede (por encima de JAR). Un producto se considera aceptable para un determinado atributo cuando los valores de desviación de JAR se encuentren en ± 0.25 .

Para la evaluación de la aceptabilidad global del producto, así como la presencia de sabores a levadura o extraños, se introdujo en el cuestionario una escala hedónica de 9 puntos. En este caso para el análisis estadístico se empleó Análisis de la Varianza.

El análisis sensorial se llevó a cabo en una sala de catas estandarizada y el reclutamiento de los consumidores se realizó entre los miembros de la institución con edades comprendidas entre los 23 y los 50 años. Se diseñaron dos experiencias: una con el objetivo de definir el nivel óptimo de azúcar para el producto y una segunda con el objetivo de evaluar edulcorantes alternativos. Las muestras se sirvieron a temperatura de 10 ± 3 °C en vasitos de plástico transparente, codificados con números de tres dígitos.

2.6.3. ESTABILIDAD DEL COMPONENTE PROBIÓTICO

Para el análisis de la estabilidad del producto, se estudió la viabilidad del componente probiótico (ufc/mL) mediante recuento en placa en agar MRS. El estudio se realizó sobre muestras conservadas a temperatura ambiente y sobre muestras que habían sido conservadas a baja temperatura (-18°C) en un congelador.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3. 1. Obtención del componente probiotico en polvo

3.1.1. ELECCIÓN DEL MEDIO DE CRECIMIENTO

En la figura 2 se muestran las curvas de crecimiento de *L. acidophilus* en los distintos medios testados, además también se muestra la curva correspondiente al desarrollo de la cepa probiótica en el medio de cultivo específico para el crecimiento de los lactobacillus (caldo MRS).

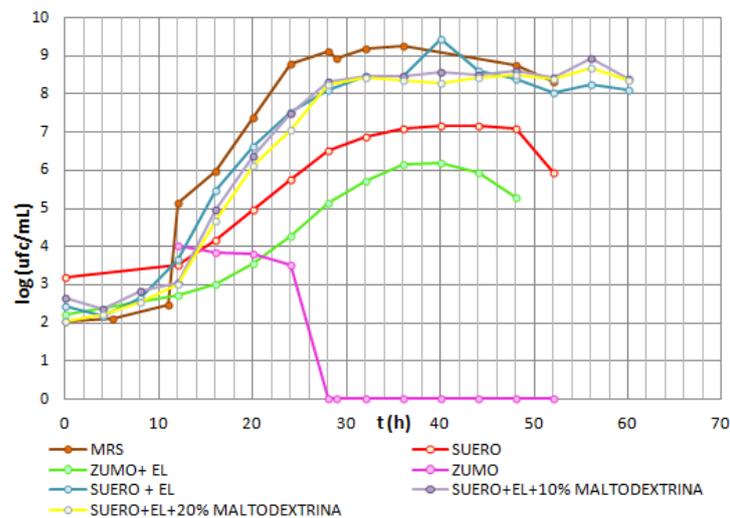


FIGURA 2: Curvas de crecimiento de *L. acidophilus* en distintos medios.

Los resultados obtenidos indican que en todos los medios testados, excepto para el zumo de uva, el desarrollo de *L. acidophilus* siguió una curva sigmoideal típica del crecimiento microbiano, compuesta por una fase de latencia, una de crecimiento exponencial, una fase estacionaria y en algunos casos una fase de declive. No obstante, el comportamiento de la cepa probiótica varió en función del medio considerado. Así, y como era de esperar el mayor desarrollo de *L. acidophilus* se produjo en MRS, medio específico para el crecimiento de este tipo de microorganismo. No obstante, los medios compuestos por suero de leche y extracto de levadura con o sin maltodextrina, presentan niveles de crecimiento cercanos a los detectados en MRS. Cuando el suero de leche no llevaba adicionado ningún componente los niveles de desarrollo fueron inferiores, observándose incluso una fase de decaimiento a las 48h. Los menores niveles de desarrollo del *L. acidophilus* se dieron en los medios compuestos por zumo de uva. Cuando al zumo de uva se le adicionó extracto de levadura, la curva de crecimiento siguió presentando una tendencia sigmoideal aunque el máximo nivel de desarrollo fue significativamente inferior al detectado en los otros medios testados. Además, al igual que ocurría con el suero de leche, se observó una fase de decaimiento a partir de las 40h. Cuando el zumo no llevaba adicionado ningún nutriente, el desarrollo de la cepa probiótica fue mínimo y

a partir de las 12 h el comportamiento de la curva se correspondió con el característico de una curva de inactivación y a las 28h ya no se detectó presencia de *L. acidophilus*.

Las curvas de crecimiento mostradas en la figura 2 se modelizaron en base a los seis modelos más utilizados en microbiología predictiva para el crecimiento microbiano. A partir de dichas modelizaciones se obtuvieron los parámetros característicos del desarrollo microbiano: tiempo de latencia (lag), velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}) y máxima densidad poblacional (MDP). La bondad de los ajustes se evaluó en base a los valores de R^2 y además de obtuvieron los errores estándar de dichos ajustes. En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos, cabe destacar que de los seis modelos testados el modelo completo de Baranyi y Roberts (1994) fue el que mejores ajustes presentó, por lo que los resultados mostrados en la tabla 3 se corresponden con dicho modelo. En el caso del zumo de uva no se pudo proceder a la modelización puesto que el comportamiento no se correspondió con el característico de las curvas de crecimiento.

Al analizar los resultados obtenidos en lo que respecta a la fase de latencia (LAG) o adaptación del microorganismo al medio, no se observaron diferencias entre los valores obtenidos para el medio de referencia (MRS) y los distintos medios testados. No obstante, al comparar estos últimos entre sí, el único medio en el que se observó cierta variación respecto a la fase lag fue el que contenía suero y extracto de levadura. En este caso, la fase de latencia fue inferior a la observada para el resto de los medios de crecimiento lo que indica una mejor adaptación del microorganismo y un inicio más rápido de la fase de crecimiento exponencial.

En cuanto a la velocidad de crecimiento de la cepa probiótica, esta fue similar a la observada en MRS para los medios compuestos por suero y extracto de levadura, independientemente de la presencia o no de matodextrina y de la concentración de esta. Por lo contrario, en el medio compuesto únicamente por suero de leche y el formulado con zumo de uva y extracto de levadura la velocidad de desarrollo de la cepa probiótica fue inferior.

En lo referente a la máxima densidad poblacional (MDP) alcanzada en los diferentes medios en estudio se observó que en los que contenían en su composición suero de leche y extracto de levadura el nivel de desarrollo de los microorganismos fue del mismo orden que el detectado en el medio de referencia (MRS), situándose entorno a 8.5 log ufc/mL, niveles superiores a los requeridos para conferir el carácter probiótico. Por el contrario, cuando la cepa probiótica se inoculó en el medio compuesto únicamente por suero de leche y el elaborado con zumo de uva y extracto de levadura los niveles de desarrollo del microorganismo fueron sensiblemente inferiores. En el caso del zumo de uva apenas alcanzaron la concentración requerida para poder acuñar el término de probiótico.

TABLA 3. Parámetros característicos del proceso de crecimiento en los diferentes medios testados en base a los modelos de Gompertz y Baranyi.

	LAG (h)	Velocidad (ufc·mL ⁻¹ ·h ⁻¹)	MDP (log ufc.mL ⁻¹)	SE	R ²
MRS	8.39±2.88	0,47±0.14	8.78±0.38	0,5791	0,9603
SUERO	10.38±0.38	0,21±0.10	6,92±0.28	0,4554	0,9369
SUERO + EL	7.86±1.52	0,35±0.04	8.47±0.12	0,3477	0,9778
SUERO + EL + 10% maltodextrina	10.38±0.90	0,39±0.02	8,53±0.06	0,1993	0,9924
SUERO + EL + 20% maltodextrina	9.93±1.02	0,37±0.02	8,43±0.08	0,1932	0,9934
ZUMO + EL	13.54±5.96	0,20±0.08	5,80±0.24	0,3864	0,9236

LAG (fase de latencia), MDP (maxima densidad poblacional), SE (error estándar del ajuste)

Por lo tanto, en los medios compuestos por suero de leche y extracto de levadura, independientemente de la presencia o no de maltodextrina y de la concentración de esta, el desarrollo de capa probiótica es similar al observado en el medio de referencia para este tipo de microorganismo. Aunque cabe destacar que en el medio compuesto únicamente por suero de leche y extracto de levadura el *L.acidophilus* parece adaptarse más rápidamente.

En base a estos resultados los medios seleccionados para la siguiente fase del trabajo fueron los compuestos por: suero de leche con extracto de levadura y este mismo medio adicionado con 10 o 20% de maltodextrina (p/p).

3.1.2. ELECCIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPONENTE PROBIÓTICO EN POLVO.

Una vez seleccionados los medios de crecimiento óptimos para el desarrollo de *L. acidophilus* fue necesario establecer las condiciones del proceso de secado por aspersión para lograr una máxima viabilidad del componente probiótico en el producto final. El proceso de secado se realizó partiendo de las siguiente matrices:

- Suero de leche y extracto de levadura
- Suero de leche, extracto de levadura y 10% de maltodextrina
- Suero de leche, extracto de levadura y 20% de maltodextrina

En el caso de la matriz compuesta por suero de leche y extracto de levadura, antes del proceso de secado se adicionó maltodextrina al 10 y al 20 % como auxiliar del proceso de secado. En la tabla 4 se indican las experiencias realizadas.

TABLA 4. Muestras sometidas al proceso de secado por aspersión.

Muestra	Matriz base		Proceso de secado	
	Composición	Carga (log ufc/mL)	Soporte adicional	Concentración (% p/p)
M ₁	Suero+EL	8.2±0.3	maltodextrina	10
M ₂	Suero+EL	8.0±0.2	maltodextrina	20
M ₃	Suero+EL+10% maltodextrina	8.1±0.4	-	-
M ₄	Suero+EL+20% maltodextrina	8.3±0.2	-	-

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos para las diferentes condiciones de secado estudiadas.

Inicialmente se realizó una prueba preliminar utilizando una temperatura de trabajo (T₀) de 130°C. En este caso sólo se testó el efecto del secado por aspersión sobre una matriz compuesta por suero de leche y extracto de levadura con una carga en probióticos del orden 8 log ufc/mL a la que se añadió un 10% de maltodextrina previamente al proceso de secado. Los resultados obtenidos indican un notable descenso del contenido probiótico situándose la carga del producto final entorno a 5 ufc/g. Por lo tanto, se desestimó esta temperatura de trabajo. Para el resto de las temperaturas de trabajo testadas, el tratamiento a 100 °C fue el que conllevó menores reducciones en los niveles de probióticos, seguido de los tratamientos a 105 y 110°C. En lo referente al rendimiento la tendencia fue inversa, así, los mayores rendimientos se obtuvieron, en general cuando la temperatura utilizada fue de 110°C y los menores a 100°C, por lo tanto se seleccionó la temperatura intermedia de 105°C.

TABLA 5. Resultados obtenidos en el proceso de secado por aspersión del componente probiótico.

Temperatura de trabajo (°C)	Muestra	Condiciones de salida del polvo		Δ log ufc/g	Rendimiento (%)
(°C)		T(°C)	log(ufc/g)		(%)
130	M1	85	4.92	3.06	8.26
110	M1	79	6.79	1.41	8.31
	M2	75	5.28	2.81	12.05
	M3	73	7.21	1.23	7.48
	M4	68	6.38	1.98	4.06
105	M1	67	7.12	0.97	7.25
	M2	62	5.54	2.37	8.92
	M3	68	6.45	0.98	6.99
	M4	69	6.9	1.31	5.71
100	M1	65	7.85	0.55	5.56
	M2	67	6.95	0.98	5.93
	M3	65	7.54	0.68	6.26
	M4	67	7.25	0.83	5.52

Δ log ufc/g: diferencia entre la carga microbiana inicial del componente probiótico y la carga obtenida en el producto en polvo

Al analizar el comportamiento de las distintas matrices a la temperatura seleccionada se observó que las muestras con un 20% de maltodextrina experimentaron una mayor reducción del contenido probiótico, independientemente de que la maltodextrina formase parte de la composición inicial del medio o fuese incorporada durante el proceso de secado.

En lo referente a las muestras adicionadas con un 10% de maltodextrinas, antes o durante el proceso de secado, no se observaron diferencias en la reducción de la microbiota probiótica ni en el rendimiento del proceso de secado. No obstante, los niveles de *L.acidophilus* en el producto en polvo fueron ligeramente superiores en el caso de las muestras a las que se les adicionó el 10% de maltodextrina durante el proceso de secado.

Una vez obtenido el componente probiótico en polvo se midieron diferentes parámetros fisicoquímicos, los resultados obtenidos fueron: pH (6.85 ± 0.21), °Brix (5.55 ± 0.35) y actividad de agua (0.609 ± 0.005).

3. 2. Obtención del polvo de lulo con prebiótico

Para la obtención del polvo de lulo con prebiótico se decidió operar en las mismas condiciones que para la obtención del componente probiótico. Esta elección se efectuó debido a la menor sensibilidad de los componentes activos del lulo y del prebiótico a las elevadas temperaturas y a la conveniencia, a nivel industrial, de un proceso conjunto de los dos componente de la bebida que se pretende diseñar.

Al ser un tratamiento térmico muy rápido, los componentes del lulo no se ven afectados por el mismo y además, el NUTRIOSE ® no se ve afectado por la mayoría de las condiciones de procesado, como pueden ser la esterilización y pasteurización, la extrusión, el spray drying o la cocción del horno. Esto significa que no hay pérdida de la fibra y la incorporación es efectiva en muchos productos tratados con calor. Además, es estable en ácido, de pH 2,5 a pH 7, por lo que es perfecto para ser mezclado con el zumo de lulo, que tiene un pH alrededor de 3; y resiste una humedad relativa de hasta 70% a 20 ° C durante 24 horas sin problemas. (www.nutriose.com)

Por lo tanto, la temperatura de trabajo elegida fue de 105°C. En estas condiciones se obtuvo un rendimiento medio del $3 \pm 0.9\%$, siendo la temperatura de salida del producto en polvo de $71.5 \pm 4.5^\circ\text{C}$.

Una vez obtenido el polvo de lulo con Nutriose se midieron diferentes parámetros fisicoquímicos, los resultados fueron: pH (3.27 ± 0.06), °Brix (6.60 ± 0.42) y actividad de agua (0.600 ± 0.010).

3. 3. Diseño de la bebida

3.3.1.FORMULACIÓN DE LA BEBIDA

Considerando la composición para una monodosis, en dicho caso el producto debería reconstituirse en 250 mL de agua, y deberá contener la dosis mínima de 25 gramos del polvo probiótico. Por otra parte, para que la parte prebiótica tenga las mismas propiedades que el zumo de lulo original, se debería conseguir los mismos °Brix que los que presenta dicho zumo. Para ello se redisolvió el polvo de lulo en 250 ml hasta obtener los grados Brix adecuados, siendo la cantidad necesaria de polvo de lulo con prebiótico de 8,08 gramos.

3.3.2. ANÁLISIS SENSORIAL

Como se ha comentado anteriormente, el análisis sensorial se llevó a cabo realizando 2 catas de la bebida reconstituida. Se decidió realizar un estudio previo del perfil del consumidor. En dicho estudio se detectó que la fruta y por tanto el sabor era completamente desconocido para la población española, sólo era conocida por gente procedente de Colombia y algún país sudamericano. De ese modo a la población española le resultó muy extraño el sabor, justificando este hecho la baja aceptación, mientras que entre la población Colombiana, conocedora del sabor del Lulo, la aceptación fue mucho mayor. Además, por sugerencias de consumidores habituales de la fruta se decidió servir la bebida fría.

En la primera experiencia los consumidores probaron tres concentraciones de azúcar seleccionadas a conveniencia, las concentraciones elegidas fueron 8g, 12g y 16g azúcar/100 mL de bebida. Respecto al análisis preferencia general por parte del consumidor de la bebida, el resultado del análisis ANOVA mostró que no había diferencias significativas entre las dos concentraciones superiores de azúcar.

El análisis JAR recomienda valores entorno al 60% en un atributo para que sea considerado como apto. Los resultados del análisis JAR (Figura 3) mostraban como el mayor porcentaje de consumidores que consideraban el producto óptimo (Just About Right) con respecto al dulzor y sabor a frutas y una acidez intermedia correspondía con el uso de 12g azúcar/100 mL bebida. Pasar de una concentración de 8 al 12 g/100 mL supone un aumento en el porcentaje de consumidores que aprecian la bebida como en el punto óptimo para los tres atributos evaluados, lo cual parece lógico si se tiene en cuenta que el zumo de Lulo es un producto con un pH entorno a 3. Cuando la concentración de azúcar aumenta a 16% hay más consumidores que consideran JAR el producto para el parámetro acidez, que cabe pensar que estará enmascarado por el aumento de dulzor, sin embargo para el sabor dulce y a frutas, se produce una pérdida en el porcentaje de consumidores que consideran JAR el producto.

En el análisis de la desviación direccional (Figura 4), se puede ver como la concentración del 12% de azúcar es para todos los parámetros la que menos desviaciones sobre el JAR presenta.

Por esta razón, 12 g de azúcar/100 mL fue el valor seleccionado para el desarrollo de la segunda experiencia.

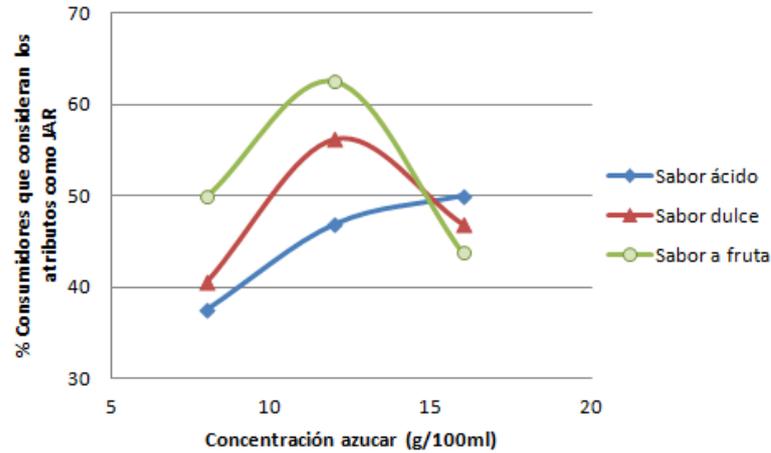


FIGURA 3.- Concentración de azúcar en la bebida pre-probiótica de Lulo frente al porcentaje de consumidores que consideran los atributos sabor ácido, dulce y a frutas como JAR.

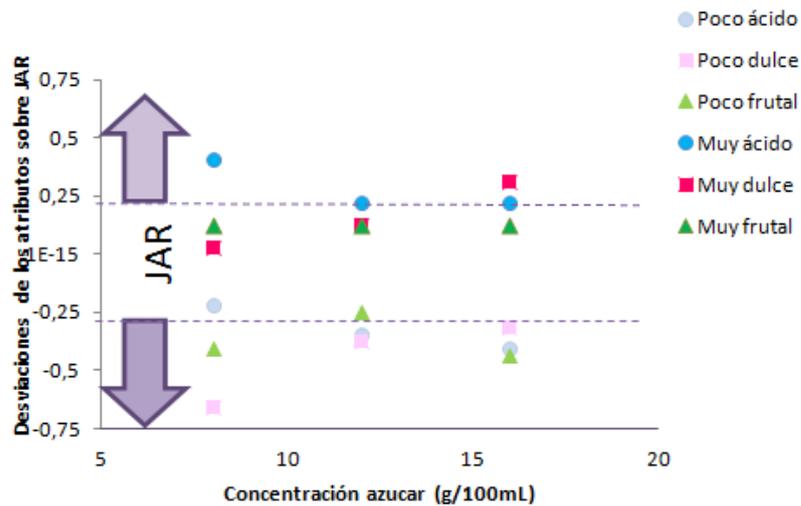


FIGURA 4.- Represtación de los valores de la desviación direccional vs. JAR para los atributos evaluados.

Para la segunda experiencia, se probaron dos tipos de edulcorantes frente al azúcar: aspartame y Fruit-up, con el fin de evaluar para cada uno de ellos los atributos de sabor ácido, dulce y a fruta igual que en la experiencia 1. Para la elección de la concentración de edulcorante se consideró el poder edulcorante de cada uno de ellos frente al del azúcar para ajustar a la misma

capacidad edulcorante. Así para el aspartame se empleó un 0.06% y el 12% en el caso del Fruit-up.

En análisis ANOVA de los valores de preferencia global del producto no mostró diferencias estadísticamente significativas entre el aspartame y el Fruit Up. Como resultado de esta primera evaluación parecía que el aspartame podría ser una buena alternativa al uso de azúcar, además puesto que es un producto pulverulento (el Fruit Up es un producto fluido y requerirá de estudios posteriores para evaluar el modo de introducción en la bebida) es mucho más fácil de incorporar en el producto.

En el análisis JAR para los atributos de sabor ácido, dulce y a frutas se puede observar en la Figura 5, que con el edulcorante Fruit-up se obtiene el mayor porcentaje de consumidores que identifican el sabor dulce y a frutas como JAR, aunque para el sabor ácido es el azúcar el edulcorante mejor valorado. El fruit-up es un jarabe derivado de los azúcares de frutas de modo que esto puede ser la justificación al hecho que el sabor frutal sea percibido con más fuerza.

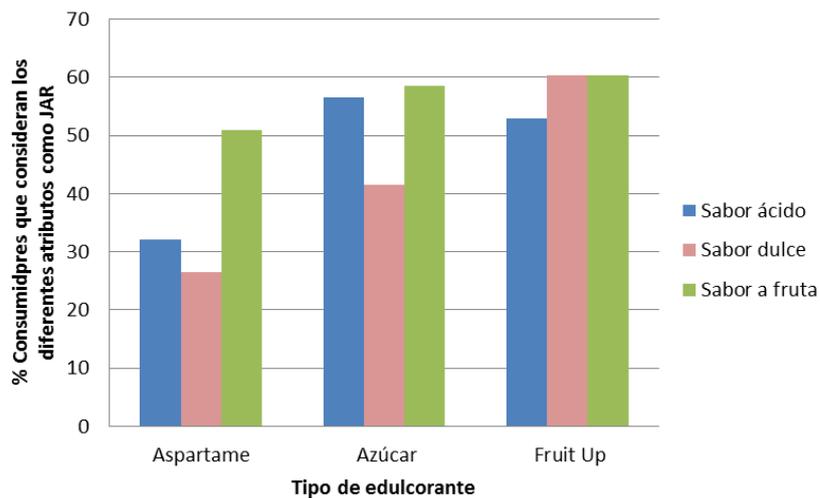


FIGURA 5.- Tipo de edulcorante usado en la bebida pre-probiótica de Lulo frente al porcentaje de consumidores que consideran los atributos sabor ácido, dulce y a frutas como JAR.

En el análisis de la desviación direccional (Figura 6), se puede ver como el uso de Fruit-up como sustituto del azúcar en el desarrollo de la bebida pre y probiótica de lulo es para todos los parámetros la que menos desviaciones sobre el JAR presenta y por tanto el que deberíamos considerar para el desarrollo de la misma. Teniendo en cuenta que será necesario evaluar las diferentes posibilidades de incorporación del mismo a la bebida.

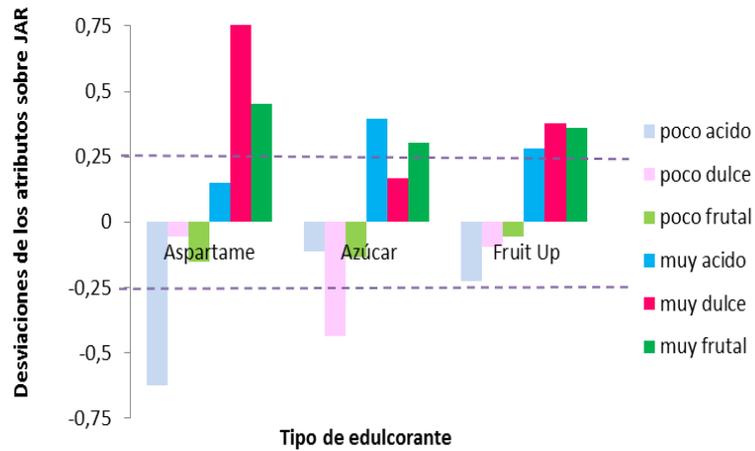


FIGURA 6.- Representación de los valores de la desviación direccional vs. JAR para los atributos evaluados usando diferentes tipos de edulcorantes.

3.3.3. ESTABILIDAD DEL COMPONENTE PROBIÓTICO

Con la finalidad de analizar la estabilidad con el tiempo del componente probiótico y por lo tanto el limitante de la vida útil del producto se analizó su evolución en conservación. A tal fin, se mantuvo el polvo probiótico a temperatura ambiente ($20\pm 5^{\circ}\text{C}$) y en congelación ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 5 días, determinándose posteriormente los niveles de *L. acidophilus* residuales. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 7.

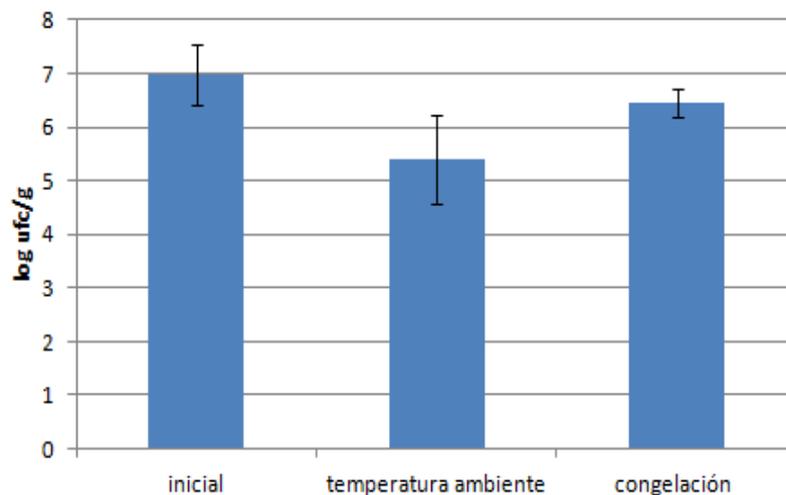


FIGURA 7. Recuentos ($\log \text{ufc} \pm \text{error estándar}$) de *L. acidophilus* en el polvo probiótico tras 5 días de conservación en refrigeración y congelación.

En la figura 7 se puede observar una reducción de la población microbiana tras 5 días de conservación a temperatura ambiente, siendo los

niveles de *L. acidophilus* inferiores a los requeridos para un producto probiótico. Cuando las muestras fueron mantenidas en congelación no se detectaron diferencias significativas en los niveles de probióticos respecto a las muestras recién encapsuladas. Por lo tanto, en el caso del polvo del componente probiótico sería recomendable su almacenamiento en congelación.

Otro aspecto a considerar en la bebida formulada fue su estabilidad, considerando el componente probiótico, cuando este se mezclaba con el componente prebiótico (lulo en polvo con prebiótico). A tal efecto, considerando que, en base a los resultados anteriormente mencionados, el mejor método de conservación fue la congelación, la mezcla se mantuvo en congelación durante 5 días y posteriormente se evaluó la viabilidad de *L. acidophilus*, considerando diversos tiempos de rehidratación.

TABLA 8. Recuento de u.f.c. en el polvo prebiótico y probiótico a los cinco días habiendo sido conservado en congelación.

Probiótico+prebiótico	u.f.c.(5 días)
1,5h de rehidratación	4,01
5h de rehidratación	3,55
5h rehidratación +ajuste pH	3,78

Como se puede observar en la tabla anterior, al mezclar el polvo de lulo con el polvo probiótico, la estabilidad del producto disminuyó notablemente si se comparan los resultados obtenidos en la figura 7 (unicamente polvo probiotico). Incluso cuando el pH se ajusto a 6-7 en el momento de la disolución del polvo pre-probiótico. Por lo tanto, los componentes de la bebida deberían conservarse por separado y mezclarse en el momento de su rehidratación para que la bebida mantenga su carácter probiótico en el momento del consumo.

4. CONCLUSIONES

El diseño de una bebida en polvo pre y probiótica a base de zumo de lulo requiere del procesado por separado de los componentes probióticos y prebióticos.

Para el componente probiótico (*L. acidophilus*) el mejor medio de crecimiento es el compuesto por suero de leche y extracto de levadura. Las condiciones de secado por aspersión para este componente sería de una temperatura de trabajo de 105°C, 95% de aspiración, 30% de potencia de la bomba, 3 cm de altura del rotámetro para un correcto caudal de aire y 6 ciclos de limpieza de la boquilla. En el momento del secado por aspersión se debe de adicionar un soporte del 10% (p/p) de maltodextrina. En estas condiciones el polvo obtenido presenta una carga probiótica superior a 10⁶ ufc/g.

El componente prebiótico se puede someter a las mismas condiciones de secado que el probiótico.

Para que la bebida conserve su carácter probiótico, el polvo probiótico debe ser conservado en congelación aparte del polvo prebiótico y mezclarse en el momento de la ingesta, disolviéndolo en un vaso de agua. Por la combinación del sabor de lulo y el extracto de levadura, la bebida reconstituida posee un sabor extraño poco aceptado por el consumidor no familiarizado con la fruta, pero bastante aceptado por consumidores habituales. La concentración de azúcar óptima es de 12% y como edulcorante sustituto podría utilizarse el aspartame o el fruit-up puesto que no hay ninguna prueba clara en favor de uno u otro.

5. REFERENCIAS

- Alvírez-Morales A., González-Martínez B., Jiménez-Salas Z. Facultad de Salud Pública y Nutrición. Universidad Autónoma de Nuevo León (México). Revista Salud publica y nutrición. Vol 3 No.3 Julio-Septiembre 2002.
- Baranyi, J., Roberts, T.A. Mathematics of predictive food microbiology. International Journal of Food Microbiology, 26:199-218, 1995
- Barrante, X., D. Railey, M. Arias y C.Chaves. 2004. Evaluación de defecto de cultivos probióticos adicionados a yogurt comercial, sobre poblaciones conocidas de *Listeria monocytogenes* Y *Escherichia coli* O157:H7. Arch.Latin. Nutr. 54(3):293-297
- Berrocal, D., M.L. Arias, M. Henderson y E. Wong. 2002. Evaluación de la actividad de cultivos probióticos sobre *Listeria monocytogenes* durante la producción y almacenamiento de yogurt. Arch. Latin. Nutr. 52(4):375-380.
- Betoret, N.; Puente, L.; Díaz, M.J.; Pagan, M.J.; García, M.J.; Gras, M.L.; Martínez-Monzó, J.; Fito, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. Journal of Food Engineering 56: 273-277.
- Buchanan, R. L., Whiting, R. C., Damert, W. C. When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. Food Microbiology 14:313-326, 1997.
- Charalampopoulos, D.; Wang, R.; Pandiella, S.S.; Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. International Journal of Food Microbiology, Volume 79. Issues 1-2, November:131-141.
- Carot, J.M. (2012) Comunicación personal.
- Diplock AT, Aggett PA, Ashwell M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid MB. Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus Document. Br J Nutr 1999; 81: supp 1, S1-S27.
- Estrada, E.I. 1992. Potencial genético del lulo *Solanum quitoense* Lam. y factores que limitan su expresión. Acta Horticulturae 310, 171-182.
- (European Commission in Concerted Action on Functional Foods Science in Europe. International Life Sciences Institute. Consensus Document. Br J Med 1999; 81: S1-S2.)
- Fuller, 1989 R. Fuller, A Review. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66 (1989), pp. 365-378.
- Gacula, M., Rutenbeck, S., Pollack, L., Resurreccion, A., Moskowitz, H. The just-about-right intensity scale: functional analyses and relation to hedonic. Journal of Sensory Studies, 22 (2007), pp. 194-211.
- Jones, P.J. 2002. Clinical nutrition: 7 Functional foods – more than just nutrition. Can. Med. Assoc. J. 166 (12): 1555.
- Kailasapathy, K. y S. Rybka. 1997. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Their therapeutic potential and survival in yoghurt. Aust. J. Dairy Technol. 52:28-35.
- Kearsley M.W., Dziedzic Z. Handbook of starch hydrolysis products and their derivatives

- Kurmann y Rasic, 1991) Kurmann, J.A. y J.L. Rasic. 1991. The health potential of products containing bifidobacteria. In R. K. Robinson (Ed.), Therapeutic properties of fermented milks. London, UK: Elsevier Applied Science. pp. 117-157.
- Lawless HT, Heymann H 1998. Sensory evaluation of food: principles and practices. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Lourens – Hattingh, A. y B. Viljoen. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.* 11:1-17.
- Martínez, J. y García, P. "Nutrición Humana". 2001. Servicio de Publicaciones de la UPV. Ref. 2006-4306.
- Maté J. Fibra dietética en medicina: Actualización temática en Gastroenterología. Barcelona. Jarpay Editores y Laboratorios Madaus, 1996.
- Morton, J. Fruits of warm climates. Naranja. *Solanum quitoense* Lam. p. 425-428. 197. Miami, FL
- Mosquera, L.H.; Moraga, G.; Martínez-Navarrete, N. Effect of maltodextrin on the stability of freeze-dried borjón (Borjón patinoi Cuatrec.) powder.
- Nutriose © <http://www.nutriose.com/ease-of-use/>
- Osorio C., Duquea C. y Batista-Vierab, F. Studies on aroma generation in lulo (*Solanum quitoense*): enzymatic hydrolysis of glycosides from leaves. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, AA 14490, Bogotá, Colombia. b Cátedra de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad de la República, Gral. Flores 2124, CC. 1157, Montevideo, Uruguay. Received 27 May 2002; revised 18 September 2002; accepted 18 September 2002. ; Available online 17 January 2003.
- Oxford Dictionary of Current English (2009). Available at <<http://oxforddictionaries.com/>>.
- Rivera, D. Actividad antioxidante de algunas especies de la familia melastomataceae. Pereira 2006. Tesis de grado. Universidad tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.
- Roberfroid MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr* 2000;71:1682S-7S.
- Salmínen, S.; Von Wright, A. (1998). Lactic Acid Bacteria. Microbiology and Functional aspects. 2 editions. Marcel Dekker, INC.
- Tafurt, G. Castillo, J. Vargas, Y. Kouznetsov, V. Martínez, J. Stashenko, E. Evaluación de la capacidad antioxidante In Vitro de bencilaminas y aceites esenciales utilizando los ensayos con ABTS y DPPH. C. Goancales et al /Phytochemistry. 2005. 66. páginas 89-98.
- Thomas, P.R.; Eart, R. (1994). Enhancing the food supply. En Opportunities in the Nutrition and Food Sciences: 98-142, Washington, D.C, National Academy Press.
- Tuhoy, M.K.; Probert, H.M.; Smejkal, C.W.; Gibson, G.R. (2003). Using probiotics and prebiotic to improve gut health. *Drug discovery today*, 8(15): 692-700.
- Williams B., M.E. Cuvelier M.E. y Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food science and technology*, 1995. 28 (1): p 25-30.