

Desarrollo de una compota funcional a partir de una cepa probiótica, para lactante de 6
a 12 meses

Marbe Alexandra Cardona Arengas

Corporación Universitaria Lasallista

Facultad de Ingenierías

Medellín, Colombia

2019

Desarrollo de una compota funcional a partir de una cepa probiótica, para lactante de 6
a 12 meses

Marbe Alexandra Cardona Arengas

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Innovación alimentaria y nutrición

Tutora

Beatriz Estella López Marín

Nutricionista Dietista

Msc en Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias

Ph. D en Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias

Corporación Universitaria Lasallista

Maestría en Innovación alimentaria y nutrición

Facultad de Ingenierías

2019

Tabla de Contenido

Introducción	1
Justificación	7
1. Marco Teórico	9
2. Objetivo general	29
2.1 Objetivos específicos	29
3. Materiales y métodos	30
3.1 Selección y Características de la cepa probiótica.	30
3.2 Metodología de preparación de la compota.	32
3.3 Pruebas previas antes de procesamiento de higienización con tratamiento térmico mediante UHT.	37
3.4 Tratamiento de Higienización	38
3.5 Pruebas de calidad en el producto final	39
3.5.1 Análisis Sensorial para cada compota.	39
3.5.2 Análisis Microbiológico para determinar que sea apto para el consumo. 41	
3.5.3 Medición de pH.	42
3.5.4 Determinación de Grado Brix.	42
3.5.5 Análisis Bromatológico.	42
4. Determinación microbiológica de <i>Bacillus Coagulans</i>	47
4.1 Estudio para determinar la viabilidad del <i>Bacillus Coagulans</i> de la compota final después del tratamiento térmico.	47
5. Análisis estadístico	51

6. Resultados	52
6.1 Resultados de las pruebas fisicoquímicas de las compotas elaboradas antes de ser sometidas a proceso de higienización.	52
6.1.1 Datos de viscosidad	52
6.1.2 Resultado Análisis de Tamaño de Partícula	52
6.1.3 Resultado Análisis de pH en los tres sabores de compota	54
6.1.4 Resultados Análisis de grados Brix en los tres sabores de compota	55
6.1.5 Resultado del Análisis de Recuento de Bacillus Coagulans en los tres sabores de compota antes de proceso térmico de Higienización por UHT....	55
6.2 Resultados de las pruebas de calidad a las compotas elaboradas después de haber sido sometidas a proceso de Higienización	56
6.2.1 Resultados Microbiológicos	56
6.2.2 Resultados Análisis Bromatológico	57
6.2.3 Análisis Sensorial	59
6.2.4 Variación del pH y la viscosidad	62
6.2.5 Resultados Análisis grados Brix en el tiempo de estudio de vida útil	64
6.2.6 Resultado Análisis Recuento Bacillus Coagulans en el tiempo de estudio de vida útil	65
6.3 Resultados Ensayo N°2 aplicando procedimiento microbiológico para Bacillus Coagulans certificado por la empresa fabricante Corporación Sabinsa.	
69	
6.3.1 Recuento previo de Bacillus Coagulans realizado en otro laboratorio de microbiología	69
6.4 Resultados Ensayo N°3 aplicando procedimiento microbiológico para Bacillus Coagulans certificado por un laboratorio acreditado y certificado con el método enviado por la empresa Sabinsa.	70

6.4.1 Recuento de <i>Bacillus Coagulans</i> antes de proceso térmico de higienización	70
6.4.2 Recuento de <i>Bacillus Coagulans</i> en el laboratorio certificado y acreditado después de proceso térmico de higienización.....	71
6.4.3 Estudio de la viabilidad o permanencia de <i>Bacillus Coagulans</i> en cada compota durante 90 días bajo el método emitido por la empresa Corporación Sabinsa y en un laboratorio acreditado para esta prueba.	75
7. Discusión.....	77
8. Conclusiones.....	80
9. Referencias.....	81

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Requisitos que deben tener los microorganismos probióticos.....	10
Tabla 2 Beneficios de los probióticos en la salud de los bebés	13
Tabla 3 Características reportadas en la literatura de Lactobacillus y Beneficios probióticos en salud y alimentos.	15
Tabla 4 Características reportadas en la literatura sobre Bifidobacterias y Beneficios probióticos en salud y alimentos	17
Tabla 5 Principales características de Bacillus Coagulans	20
Tabla 6 Beneficios en salud observados en adultos y niños por el consumo de Bacillus Coagulans en su dieta.....	22
Tabla 7 Comparación entre los Requerimientos nutricionales en alimentos para lactantes según normativas de Colombia, Estados Unidos y Europa.....	23
Tabla 8 Normativas que aplican para la preparación de compotas.....	27
Tabla 9 Ficha Técnica Producto Bacillus Coagulans	30
Tabla 10 Composición porcentual de los tres sabores de compota elaborados	33
Tabla 11 Ficha técnica Producto Pectina Rápida.....	33
Tabla 12 Escalas de Intensidad y Calidad respecto a cada descriptor para cada sabor de compota.	41
Tabla 13 Método analítico Oficial para cada análisis microbiológico	41
Tabla 14 Análisis Bromatológicos de acuerdo con el método Oficial	42
Tabla 15 Diseño experimental para el estudio de vida útil del Bacillus Coagulans	48
Tabla 16 Resultado Viscosidad promedio (cp) de cada sabor de compota antes de proceso de Higienización mediante UHT	52
Tabla 17 Resultado Análisis de pH en los tres sabores de compota	54
Tabla 18 Resultados Análisis de grados Brix en los tres sabores de compota	55
Tabla 19 Resultado del Análisis de Recuento de Bacillus Coagulans en los tres sabores de compota antes de proceso térmico de Higienización por UHT.....	55
Tabla 20 Resultados microbiológicos de cada sabor de compota: Ahuyama, Breva y Zanahoria según ente reglamentario Invima	56
Tabla 21 Resultados del análisis bromatológico de las compotas	57

Tabla 22 Resultado test Anova entre el % porcentaje de fibra y el valor de las calorías y el % porcentaje de fibra y el % de carbohidratos de los tres sabores de compota: ahuyama, breva y zanahoria	58
Tabla 23 Resultados del Análisis Sensorial de la Compota sabor Ahuyama, Brevia y Zanahoria	59
Tabla 24 Comportamiento de las viscosidades en los tres sabores de compota durante los días de estudio de vida útil.	63
Tabla 25 Comportamiento del pH en los tres sabores de compota durante los días de estudio de vida útil.....	63
Tabla 26 Comportamiento en el tiempo de los grados Brix de los tres sabores de compota	64
Tabla 27 Resultados Recuento de Bacillus Coagulans durante el estudio de vida útil .	66
Tabla 28 Test anova para los pH de los tres sabores de compota	68
Tabla 29 Recuento previo de Bacillus Coagulans	70
Tabla 30 Concentraciones iniciales del Bacillus Coagulans en cada compota antes de aplicar proceso de higienización	70
Tabla 31 Resultados microbiológicos de los tres sabores de compota: ahuyama, breva y zanahoria en el segundo ensayo	71
Tabla 32 Comportamiento en el tiempo de los grados Brix de los tres sabores de compota	72
Tabla 33 Comportamiento del pH en los tres sabores de compota durante los días de estudio de vida útil correspondiente al segundo ensayo	73
Tabla 34 Test de anova entre los valores de pH de los tres sabores de compota: ahuyama, breva y zanahoria	74
Tabla 35 Comportamiento de la viscosidad en los tres sabores de compota durante los días de estudio de vida útil correspondiente al segundo ensayo	74
Tabla 36 Recuento de Bacillus Coagulans durante 90 días durante el estudio de vida útil	75

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Promedios de las intensidades de los descriptores sensoriales para la muestra de compota de ahuyama.....	60
Gráfica 2. Promedios de las intensidades de los descriptores sensoriales para la muestra de compota breva	60
Gráfica 3. Promedios de las intensidades de los descriptores sensoriales para la muestra de compota de zanahoria.....	61
Gráfica 4. Comparación recuento de Bacillus Coagulans (ufc/mL) vs el pH de la compota sabor ahuyama.	67
Gráfica 5. Comparación Recuento de Bacillus Coagulans (ufc/mL) vs el pH de la compota sabor breva.....	67
Gráfica 6. Comparación Recuento de Bacillus Coagulans (ufc/mL) vs el pH de la compota sabor zanahoria.....	68

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Enfermedades más comunes entre niños recién nacidos hasta los 5 años (OMS, 2015b).....	2
Figura 2. Tasas de mortalidad por desnutrición, IRA y EDA en menores de 5 años, según año. Departamento de Antioquia, 2002-2011.....	4
Figura 3. Tasa de mortalidad por desnutrición, infección respiratoria aguda y enfermedad diarreica aguda en menores de 5 años en cada subregión de Antioquia, entre 2002 y 2011	5
Figura 4. Micrografía electrónica de barrido SEM	21
Figura 5. Diagrama de flujo 1: Elaboración de la compota funcional con la adición de Bacillus Coagulans.....	36
Figura 6. Empaques utilizados en el envasado de los sabores de compota.	38
Figura 7. Compartimientos Pasteurizador marca Omve: sistema HTST-UHT System HT-220	39
Figura 8. Distribución de tamaño de partícula para la compota sabor Ahuyama	53
Figura 9. Distribución de tamaño de partícula para la compota sabor Zanahoria	53
Figura 10. Distribución de tamaño de partícula para la compota sabor Brevia	54

GLOSARIO

BAL: Bacterias Ácido Lácticas

CA: Compota Ahuyama

CB: Compota Breva

CV: Coeficiente de variación

CZ: Compota Zanahoria

EDA: Enfermedad Diarreica aguda

EFSA: European Food Safety Authority (Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria)

FAO: Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

FDA: Food and drug Administration

GRAS: Generally Recognized As Safe

IRA: Infección Respiratoria Aguda.

MRS: Agar desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe; apellidos de sus inventores.

OMS: Organización Mundial de la salud

SD: Desviación estándar

TGI: Tracto gastrointestinal

ufc: Unidades formadoras de colonias

UHT: Tratamiento ultra alta temperatura

WHO: World Health Organization

Introducción

La cifra mundial de muertes neonatales se ha reducido de 5,1 millones en 1990 a 2,6 millones en 2017. Sin embargo, la reducción de la mortalidad neonatal entre 1990 y 2016 ha sido más lenta que la de la mortalidad posneonatal en menores de cinco años: 49% y 62%, respectivamente ((OMS, 2015) y (OMS, 2017)). Esto se relaciona con la mayoría de los países de ingresos bajos y medios.

Si se mantienen las tendencias actuales, aproximadamente la mitad de los 69 millones de muertes en la niñez que se producirán entre 2017 y 2030 tendrán lugar en el periodo neonatal. Se prevé que la proporción de muertes neonatales entre las muertes de menores de cinco años aumente al 52% en 2030 ((OMS, 2015) y (OMS, 2017)).

Los niños malnutridos, especialmente aquellos con una malnutrición aguda grave, poseen más probabilidades de morir por enfermedades comunes en la infancia como la diarrea, la neumonía y el paludismo. Diversos factores relacionados con la nutrición contribuyen a aproximadamente el 45% de las muertes de niños menores de cinco años (M. J. Fox, Ahuja, & Eri, 2013).

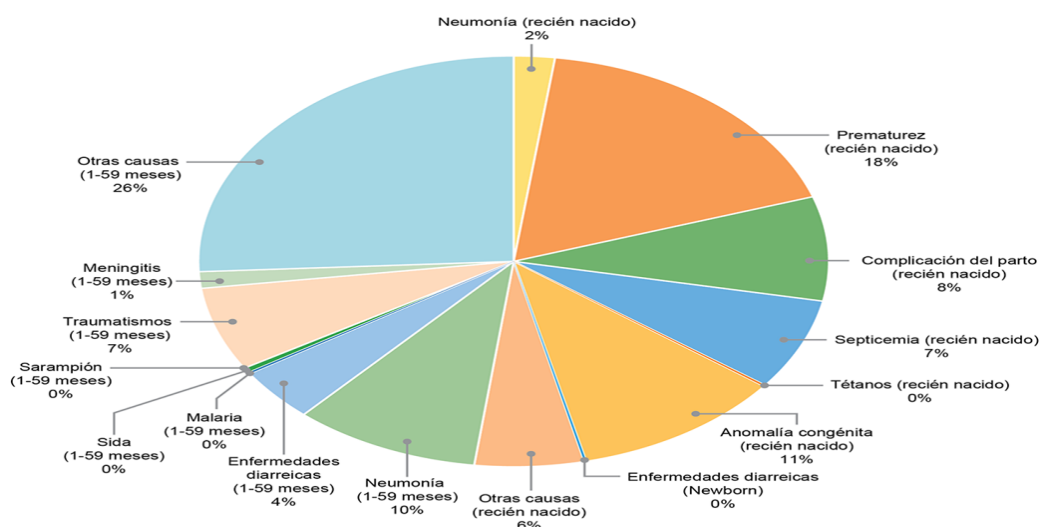
Según las estadísticas e informes de la Organización mundial de la Salud (OMS), las enfermedades gastrointestinales más comunes en población infantil son las relacionadas con la diarrea (Guzganu, 2012). En las enfermedades de transmisión alimentaria, las diarreicas causan más de la mitad de la carga mundial, con 550 millones de personas que enferman y 230.000 que mueren cada año. Los niños corren un riesgo especial de padecer enfermedades diarreicas transmitidas por los alimentos: 220 millones enferman y 96.000 mueren cada año. La diarrea suele deberse a la ingestión de carne y huevos

crudos o mal cocidos, verduras y frutas mal lavadas, y productos lácteos, contaminados por norovirus, *Campylobacter*, *Salmonella* no tifoídica y *Escherichia coli* patógena (OMS, 2015).

Otros factores importantes que contribuyen a la carga mundial de las enfermedades de transmisión alimentaria son la fiebre tifoidea, la hepatitis A, *Taenia solium* (tenia) y las aflatoxinas (producidas por el moho en granos almacenados de forma inapropiada) (OMS, 2015)

La mortalidad debida a las enfermedades diarreicas, la neumonía, la desnutrición y las enfermedades que pueden ser prevenidas mediante la vacunación ha disminuido significativamente en el continente americano. Aun así, como se muestra en la figura 2, las enfermedades diarreicas y la neumonía siguen siendo causas destacadas de muerte; en el 2015, causaron 14% de las defunciones totales en los niños de 1 a 59 meses de edad (OMS, 2015) Ver figura 1.

Figura 1. Enfermedades más comunes entre niños recién nacidos hasta los 5 años (OMS, 2015)

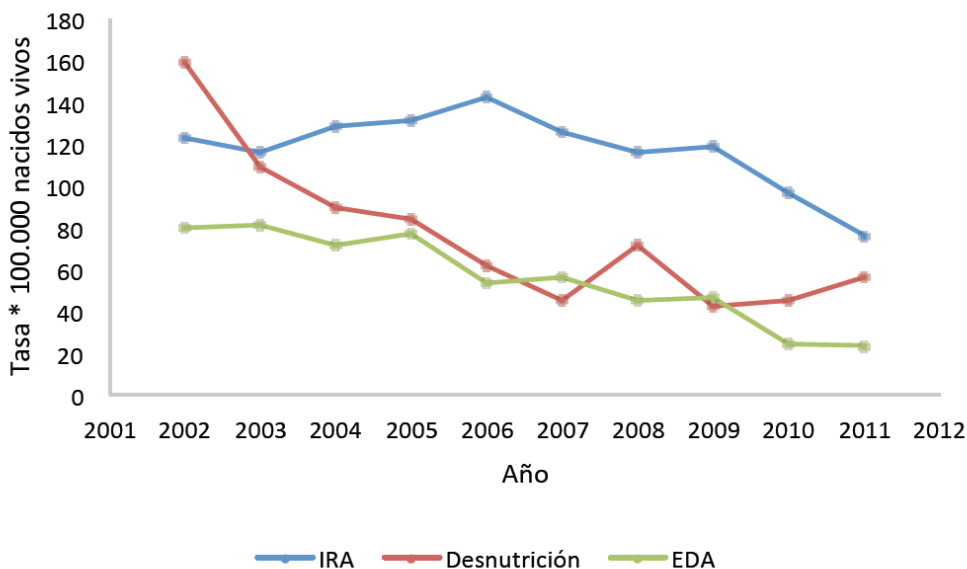


Dado que Latinoamérica ha logrado adelantos relacionados con las causas fundamentales de las enfermedades diarreicas y la neumonía (es decir, agua y saneamiento, condiciones de vivienda, extrema pobreza, etc.), está disminuyendo la cantidad de niños afectados por ellas. Sin embargo, los casos actuales representan las familias y comunidades que han sido las últimas en obtener los beneficios de los esfuerzos de su país y, por consiguiente, pueden tener que hacer frente a varias otras desventajas, como el acceso limitado a los servicios de salud y la información sanitaria (OMS, 2015).

En América Latina y el Caribe, los traumatismos causados por el tránsito y los no intencionales se encuentran entre las principales causas de muerte de los niños de 5 a 14 años de edad; las infecciones (enfermedades diarreicas, tuberculosis, meningitis e infecciones respiratorias, entre otras) son la segunda causa de muerte en ese grupo, y el cáncer y la infección por el VIH están ascendiendo, por comparación con los datos de 1990 y el 2013 (OMS, 2015).

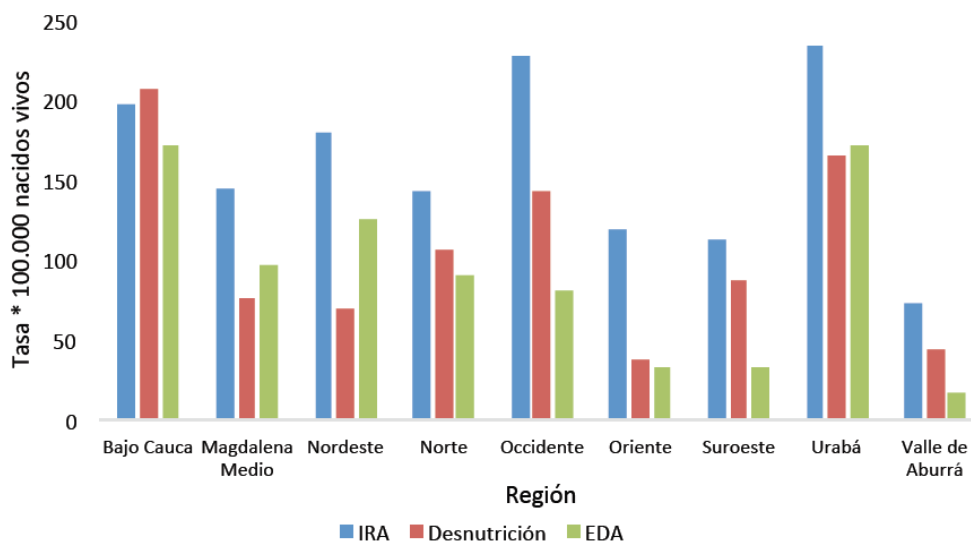
En la región de Antioquia, Colombia en el año de 2011, se realizó un estudio sobre las enfermedades que más aquejaban a la población infantil tales como: la Infección respiratoria aguda IRA, la desnutrición y la Enfermedad Diarreica aguda EDA (Quiroz-Jiménez, Pulgarín-Piedrahita, & Cardona-Arango, 2015). Ver figuras 2 y 3.

Figura 2 Tasas de mortalidad por desnutrición, IRA y EDA en menores de 5 años, según año. Departamento de Antioquia, 2002-2011.



Según la gráfica, la infección respiratoria aguda fue el evento que mostró mayor número de muertes, pero fue la desnutrición la que tuvo la tasa de mortalidad más alta, con 777,56 muertes por cada cien mil nacidos vivos. Mientras que la enfermedad diarreica aguda causó, durante los años en que se dio este estudio la tremenda cifra de 573,12 muertes por cada cien mil nacidos (OMS, 2015).

Figura 3 Tasa de mortalidad por desnutrición, infección respiratoria aguda y enfermedad diarreaica aguda en menores de 5 años en cada subregión de Antioquia, entre 2002 y 2011



Desglosando, el departamento de Antioquia por cada uno de sus subregiones, en el evento de enfermedad diarreaica aguda, se observaron en Bajo Cauca y Urabá con tasas de 172,17 y 172,14 respectivamente por cada cien mil nacidos vivos (Quiroz-Jiménez et al., 2015).

De acuerdo a lo anterior se evidencia tanto a nivel nacional como internacional, los diversos flagelos que generan eventos de mortalidad en la salud de los bebés lactantes que terminan comprometiendo su frágiles defensas. Todo lo anterior apunta, a que la población infantil al ser una de las más vulnerables en el aspecto salud y específicamente la población menor de 12 meses; es el objetivo de la industria de alimentos, que viene desarrollando constantemente productos para ellos (Lassen & Yazdankhah, 2015) y (Ackerberg, Labuschagne, & Lombard, 2012). Por consiguiente, las ya mencionadas principales enfermedades gastrointestinales en los lactantes: diarrea, diarrea por rotavirus o por antibióticos, enterocolitis necrotizante (Jain & Chaudhary, 2014; Hickey et

al., 2012 y Li et al., 2013), además de determinadas alergias tales como la rinitis (Fox et al., 2013; Clauson et al., 2015; Underwood et. al, 2015; Yang & Sheu, 2012 y Cox et al., 2010) que conllevan a que la población lactante presente mayor número de infecciones viendo desfavorecido su crecimiento y desarrollo cognoscitivo.

Por lo anterior, en revisión de las últimas investigaciones en el tema, se destaca el uso de los probióticos como el factor más favorecedor para el crecimiento de la flora intestinal, lo que repercute en un adecuado desempeño del tracto gastrointestinal protegiendo de enfermedades agudas infecciosas e incluso crónicas no transmisibles (Koleilat, 2017); (Aggarwal, Swami, & Kumar, 2013a) y (Clauson, Crawford, Medicine, Program, & Base, 2015). Para lograr los resultados benéficos de los probióticos, es necesario garantizar que la concentración de probióticos y su supervivencia en los productos sea el óptimo, ayudando a la conservación en el sistema gastrointestinal.

Bajo estas consideraciones, la implementación de alimentos para la población lactante (Mugambi, Musekiwa, Lombard, Young, & Blaauw, 2012) deben favorecer y estimular la flora intestinal en pro del correcto funcionamiento del tracto gastrointestinal y de su sistema inmunológico. (Athalye-jape, Deshpande, Rao, & Patole, 2014).

Teniedo en cuenta lo anterior, este proyecto planteó la elaboración de una compota con un tipo de probiótico con efecto funcional conocido y apto para el consumo humano, que pueda ser viable de incorporar en este alimento e indicada para población lactante entre 6 a 12 meses. Esta compota como alimento funcional además de tener un efecto nutritivo, proporcionara defensas al sistema inmunológico del lactante, lo que a su vez beneficiara su desarrollo y crecimiento.

Por consiguiente, se plantea la pregunta de investigación:

¿Es posible la elaboración de una compota para lactante de 6 a 12 meses con *Bacillus Coagulans*, que permita la viabilidad de este microorganismo con efecto funcional?

Justificación

La población infantil es una de las más vulnerables en el aspecto salud y específicamente la población menor de 12 meses, razón por la cual la industria de alimentos viene desarrollando constantemente productos para ellos. Actualmente las principales enfermedades gastrointestinales en los lactantes son: diarrea, diarrea por rotavirus o por antibióticos, enterocolitis necrotizante (Jain & Chaudhary, 2014)(Hickey, Jacobs, & Garland, 2012) y (Dan Li, Rosito, & Slagle, 2013), esto conlleva a que la población lactante presente mayor número de infecciones y determinadas alergias (M. J. Fox et al., 2013) (Clauson & Crawford, 2015) (Underwood, German, Lebrilla, & Mills, 2015) (Y. J. Yang & Sheu, 2012) (Cox et al., 2010) esto hace que su estado de salud y nutricional se vea desfavorecido y por ende su crecimiento y desarrollo cognoscitivo.

Sin embargo, en las últimas investigaciones se destaca el uso de los probióticos como uno de los factores que favorece el crecimiento de la flora intestinal lo que repercute en un adecuado desempeño de la parte gastrointestinal protegiendo de enfermedades agudas infecciosas e incluso crónicas no transmisibles. Por consiguiente, el desarrollo de alimentos funcionales con uso de probióticos en esta población que permita promover la concentración de estos y su supervivencia en el sistema digestivo del lactante es una de las grandes tendencias a nivel mundial (Mugambi, Musekiwa, Lombard, Young, & Blaauw, 2012) que favorezcan y estimulen la flora intestinal en pro del correcto funcionamiento del tracto gastrointestinal y del sistema inmunológico (Athalye-jape,

Deshpande, Rao, & Patole, 2014a). Por lo tanto el desarrollo de este producto beneficiará a la población lactante por su efecto benéfico a nivel gastrointestinal, igualmente el sector salud se verá favorecido al disminuir el índice de consultas por enfermedades gastrointestinales en esta población, así como los padres de familia al poder disfrutar de un bebe más saludable y se podría hablar de un beneficio a la economía del país si se logra el desarrollo del producto, pues será la industria colombiana quien lo produzca y comercialice

1. Marco Teórico

Los probióticos se denominan como un amplio grupo de bacterias no patógenas, que presentan diversos beneficios potenciales para la salud y que se vienen utilizando durante siglos en la forma de productos fermentados a base de leche tales como yogur (Sharma Shiwani et al., 2011; Mani-López et al., 2014 y Ye, Chen et al., 2013) , bebidas lácteas (Maja et al., 2012; y Walsh, Cheng et al., 2014), postres (Mpopfu et al., 2014), purés, quesos, entre otros (Das, Ray, Raychaudhuri, & Chakraborty, 2014). La Organización Mundial de la Salud, ha definido a los probióticos como "microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud" (Sharma Shiwani et. al., 2011; Bernardeau et al., 2013; Sousa et al., 2015 y Miyake et. al, 2013). La Academia Americana del Comité de Pediatría sobre Nutrición en Probióticos los definen como "los microbios que generan pequeños subproductos moleculares metabólicos que ejercen una influencia reguladora beneficiosa en las funciones biológicas y que pueden funcionar como inmunomoduladores " (Hickey et al., 2012). Finalmente, una reciente declaración define a los probióticos como "un microorganismo vivo que como suplemento alimenticio es beneficioso para la salud" (Xiaoli Liu, Champagne, Lee, Boye, & Casgrain, 2014).

En la revisión bibliográfica uno de los aspectos encontrados y al cual se le da una gran relevancia está relacionado con los requisitos que deben tener estos microorganismos benéficos, en preparados para seres humanos, uno de estos requisitos es que para que los probióticos proporcionen beneficios saludables, es esencial que haya un mínimo de un millón viable de organismos probióticos por gramo de un producto; o 10^7 Unidades Formadoras de Colonia g^{-1} (ufc) consumidos en cantidades suficientes que puedan

producir una ingesta diaria de 10^8 ufc, teniendo en cuenta que los números varían de cepa a cepa. Otros requisitos específicos se pueden observar en la tabla 1.

Tabla 1 Requisitos que deben tener los microorganismos probióticos

Requisitos que deben tener los Microorganismos probióticos	Referencias
Concentración del probiótico: 1×10^7 UFC	Wojciak & Dolatowski, 2012
Deben ser de origen humano. no patógeno	Lactohadllus et al., 2011
Resistentes a la destrucción por procesamiento térmico.	(Sharma & Sanjeev, 2015)
Resistentes a la destrucción por las secreciones del tracto gastrointestinal.	(Clauson et al., 2015)
Capaces de colonizar el tracto gastrointestinal	
Producir sustancias antimicrobianas	(Jain & Chaudhary, 2014).
Modular las respuestas inmunes	
Influir en las actividades metabólicas humanas	

Fuente: Elaboración propia

Dichas características son fundamentales y todas deben ser cumplidas a cabalidad por el microorganismo que sea empleado en el desarrollo del producto, pues un incumplimiento en alguna de estas puede generar efectos negativos en la persona o no producir ninguno de los efectos benéficos esperados, es así como la normatividad internacional, por ejemplo la de Japón, Europa, Estados Unidos y la Latinoamericana tienen estipulado en su reglamentación seguir el documento denominado Guidelines for

the Evaluation of Probiotics in Food de la FAO and WHO (Araya et al., 2002) antes de solicitar un Health Claim para un producto alimentario.

Este documento explica el paso a paso de todos los requisitos que debe cumplir un producto alimentario funcional con probióticos para inicialmente ser aceptado y ser evaluado como Health claim. Entre los entes más rigurosos se encuentra la EFSA (Curtui, 2016); la cual exige varios estudios clínicos para poder aceptar un dossier. Mientras que para la EFSA no hay términos medios, las regulaciones en Japón permiten clasificar un alimento probiótico funcional en varias niveles, por ejemplo tipo 1 clasificado, tipo 2 estandarizado con solo haber cumplido el requisito número 1 de la **FAO/WHO Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food** (Araya et al., 2002) y de esta manera ser comercializados. Casi lo mismo sucede en América con la FDA, lo cual aplica para todo el continente incluyendo a Colombia, en donde la regulación permite vender un producto probiótico funcional categorizándolo solamente como nutracéutico (Hoffman et al., 2012).

En los últimos años el interés por el papel benéfico de las bacterias probióticas en la salud humana, se ha intensificado de gran manera debido a que, mejoran el equilibrio microbiano intestinal (Dong et al., 2013); se atribuyen estos beneficios en salud a la ingesta de alimentos que contienen cultivos probióticos (Bernardeau & Vernoux, 2013). Otros efectos benéficos que se les atribuyen son: reducen o eliminan dolencias tales como la irritación del colon, el estreñimiento y la diarrea del viajero (M. J. Fox et al., 2013 y Clauson et al., 2015), inhiben bacterias patógenas (Nauta et. al, 2013), sintetizan vitaminas del grupo B, reducen los niveles de amoníaco en la sangre, la absorción del colesterol (Aggarwal, Swami, & Kumar, 2013b), evitan la formación de tumores (Bultman,

2014), mejoran la absorción de calcio (Al-Okbi, 2014) y la utilización de lactosa mediante la producción de β -galactosidasa (Rodes et al., 2011), contribuyen con efectos benéficos en infecciones gastrointestinales, disminuyen la inflamación en la enfermedad intestinal inflamatoria, y en las afecciones del hígado (Miyake & Yamamoto, 2013), mejoran la sintomatología en la diabetes (Nitert et al., 2013), contribuyen con una disminución de peso, en tratamiento contra la obesidad (Aggarwal et al., 2013b), se ha visto además que combaten la infección por *H. pylori* (Y.-J. Yang & Sheu, 2012). Algunos de estos efectos están científicamente comprobados y otros todavía requieren mayores estudios en seres humanos (Ozyurt Hazal, 2014).

Para comprobarse los efectos benéficos de estos microorganismos es necesario los estudios clínicos que validen su efecto, aspecto considerado en la normatividad, de la ***FAO/WHO Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food***, la cual es el punto de partida para cualquier otra reglamentación o regulación al respecto en el mundo (Araya et al., 2002)

Entre los requisitos que debe cumplir un probiótico está el de poblar el tracto gastrointestinal, sin embargo estudios solo han hipotetizado (Popescu & Neamtu, 2014) al respecto como el de Hickey et al., pero otros ya han empezado a incurrir en estos hallazgos y han demostrado que ciertas cepas como las de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, si tienen la capacidad de poblar el TGI. Por ejemplo, el estudio realizado por Rodes et al., donde mediante un análisis in vitro se diseña la simulación de la microbiota dentro de un colon (Rodes et al., 2011; Jain & Chaudhary, 2014; Rodrigues, Sarmiento, Andrade, & Oliveira, 2012 y Nauta et. al, 2013).

Algunos ensayos clínicos con probióticos se han realizado en población infantil donde se ha encontrado que una mayor densidad de bacterias beneficiosas en los bebés pueden conferir un mayor grado de protección contra las enfermedades (Oswari et al., 2013; Underwood et al., 2015; M. Fox, Ahuja, & Eri, 2013; Mugambi et al., 2012 y Hussey et al., 2011) ver tabla 2.

Tabla 2 Beneficios de los probióticos en la salud de los bebés

Beneficios de los probióticos en la salud	
de los bebés	Referencias
La colonización bifidobacteriana está asociada a un menor riesgo de padecer alergias	(de Azevedo et al., 2013) (de Silva et al., 2014) (Martín-Muñoz et al., 2012); (Ismail, Licciardi, & Tang, 2013)
La rinitis	(G. Yang, Liu, & Yang, 2013).
La enterocolitis necrotizante, una patología de alto riesgo de muerte por infecciones gastrointestinales	(Athalye-jape, Deshpande, Rao, & Patole, 2014b) Li et al., 2013 (Hickey et al., 2012)
Cólico Infantil	(Tintore M. , Colome G., Santas J., 2017)

Fuente: Elaboración propia

La literatura científica recolectada reporta a las bacterias ácido lácticas (BAL) como una de las especies más comúnmente utilizadas como probióticos en la industria de alimentos funcionales, entre ellas se destacan dos de gran importancia y empleo en la industria de alimentos, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Sharma Shiwani, Anshul dutt Sharma, 2011; de Azevedo et al., 2013; Closa-Monasterolo et al., 2013 y Muller et al.,

2013) en donde sus características más destacadas son las siguientes para cada especie:

Son bacterias cuyas cepas se encuentran principalmente en el tracto gastrointestinal humano del adulto (Saito et al., 2014), éstas se emplean en procesos de fermentación u obtención de otras sustancias que impliquen la producción de un ingrediente funcional especial, para conseguir el efecto nutricional y beneficioso en la salud (Ye et al., 2013 y Mugambi et al., 2012). Y desde el punto de vista normativo estos probióticos cuentan con el respaldo de la **FAO/WHO Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food** ya que cumplen los tres primeros numerales de requisitos exigidos por este, tales como:

1. Evaluación de la identidad y seguridad de los microorganismos probióticos,
2. Evaluación de la seguridad de los probióticos en los humanos y
3. Evaluación de la eficacia de los probióticos en la salud (Araya et al., 2002)

El *Lactobacillus* es un género muy heterogéneo, que abarca bacterias con una amplia gama de propiedades bioquímicas y fisiológicas (Nauta et. al, 2013). Es el más grande de los que pertenecen a la familia BAL, con 185 especies descritas de forma válida en la literatura y que aumentaron de forma sustancial en 145 en 2008 como consecuencia de la reclasificación de otras especies. Desde la clasificación inicial de la especie *Lactobacillus acidophilus* en 1920 (Holanda) hasta alrededor de 1970, muchos *Lactobacillus* aislados de las superficies mucosas humanas; se siguieron identificando colectivamente como *L. acidophilus* (Bull, Plummer, Marchesi, & Mahenthiralingam, 2013). Entre sus especies están: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei*; *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp*

lactis, *Lactobacillus cellobiosus* *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus coryniformis*, *Lactobacillus agilis*, *Lactobacillus aviarius*, *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus hamsteri* , *Lactobacillus intestinalis* y *Lactobacillus ruminis* (Bull et al., 2013).Ver tabla 3.

Tabla 3 Características reportadas en la literatura de *Lactobacillus* y Beneficios probióticos en salud y alimentos.

Especies	Características probiótico	Beneficios probióticos	Referencia
<i>L. acidophilus</i>	Es una bacteria Gram positiva, crece de manera óptima desde 37 hasta 42 ° C y máximo 45 °C. La especie alcanza su mayor tasa de crecimiento en medios ligeramente ácidos de pH 5,5 a 6,0, y cesa su crecimiento por debajo de pH 4,0, es un fermentador obligatorio en la producción de ácido láctico a partir de la fermentación de hidratos de carbono y es uno de los más sensibles al oxígeno	La caracterización de sus cepas probióticas ha permitido estudiar cuanto abarca su estabilidad en producto, la resistencia a la bilis, la tolerancia a bajo pH, la adhesión a los colonocitos humanos en cultivo celular, la producción antimicrobiana y la actividad lactasa.	(Hickey et al., 2012) (Papadimitriou et al., 2015); (de Azevedo et al., 2013); (Rodes et al., 2011); (Shoji, 2013)
<i>Enterococos</i>	Bacterias importantes en los alimentos y en la microbiología clínica. Son bacterias Gram positivas, sin esporulación, formadoras de catalasa- oxidasa con carga negativa, y bacterias facultativas	<i>Enterococcus faecalis</i> se utiliza con éxito en la preparación de quesos acelerando la maduración y mejorando las características organolépticas de éstos. Se utilizan como cultivo iniciador propicio para diferentes quesos europeos tales como Mozarella	(Hanchi, Hammami, Kourda, Hamida, & Fliss, 2014) (Oladipo, Sanni, & Swarnakar, 2013).

	anaerobias que se pueden producir solas, en parejas o en cadenas. La mayoría de las cepas de esta especie son comensales inofensivas y mayormente presentan carácter benéfico para la salud. Además, se pueden utilizar en cultivos iniciadores para alimentos fermentados.	Water Buffalo, Feta, Venaco; y el queso Cebreiro	
<i>Lactobacillus rhamnosus.</i>	Presenta una alta tolerancia en condiciones de acidez, las cuales prevalecen en el estómago, sobrevive al tránsito intestinal, es capaz de adherirse a la mucosa colónica humana para luego ser capaz de colonizar el tracto gastrointestinal después del respectivo tratamiento.	La evidencia existente reporta efectos benéficos de <i>L. rhamnosus</i> en la prevención y el tratamiento de la diarrea asociada a antibióticos, la diarrea por rotavirus, trastornos gastrointestinales e infecciones en las vías respiratorias en los niños e inhibir el crecimiento y la adhesión de enteropatógenos	(Mpofu et al., 2014) ;(M. J. Fox et al., 2013) (Vincenzetti et al., 2011).

Fuente: Elaboración propia

Bifidobacterium se destaca por ser una bacteria probiótica que también posee reconocimiento mundial a nivel científico y soporte documentado mediante **Guidelines for the evaluation of probiotics in food** (Araya et al., 2002). Siendo un importante grupo de cepas probióticas comúnmente más utilizadas en los productos lácteos fermentados (Merenstein et al., 2011). Son Grampositivas, anaerobias, no móviles y sin esporulación (ver tabla 4). Las especies incluidas en el género *Bifidobacterium* son 29 y se denominan: *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. animalis*, *B. asteroides*, *B. dum BIFI*, *B. boum*, *B. breve*, *B. catenulatum*, *B. choerinum*, *B. coryneforme*, *B. cuniculi*, *B. dentium*, *B. gallicum*, *B. gallinarum*, *B. indicum*, *B. longum*, *B. magnum*, *B. merycicum*, *B. mínimo*,

B. pseudocatenulatum, *B. pseudolongum*, *B. psychraerophilum*, *B. pullorum*, *B. ruminantium*, *B. saeculare*, *B. scardovii*, *B. subtil*, *B. thermacidophilum*, y *B. thermophilum*. A su vez, dos subespecies constituyen la especie *B. animalis* (*subsp. animalis* y *lactis*), *B. pseudolongum* (*subsp. globosum* y *pseudolongum*), y *B. hermacidophilum* (*subsp. thermoacidophilum* y *porcinum*), y la especie *B. longum* está subdividida en tres biotipos diferentes tales como *longum*, *infantis*, y *suis* (Ozyurt Hazal, 2014).

Tabla 4 Características reportadas en la literatura sobre Bifidobacterias y Beneficios probióticos en salud y alimentos

Especie	Características	Beneficios probióticos	Referencias
<i>Bifidobacteria</i>	El pH óptimo para el crecimiento está entre 6,0-7,0 y prácticamente ninguna puede crecer por debajo de pH 4,5 o por encima de 8,5. Temperatura óptima de crecimiento [37°C – 41°C]; Temperatura mínima [25°C-28°C] Temperatura máxima [43°C-45°C]	Algunos de los cultivos de <i>Bifidobacterium</i> más utilizadas como probióticos son <i>B. adolescentis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> y <i>B. breve</i> en yogur . La <i>Bifidobacterium animalis</i> se utiliza principalmente en los productos lácteos fermentados del mercado actual.	(Celik & O'Sullivan, 2013) (Underwood et al., 2015). (Ferreira et al., 2011).

Factores como el tipo de la cepa, la actividad del agua, la sensibilidad al oxígeno, la temperatura y el almacenamiento son también muy influyentes, debido a esto no todas las cepas pueden ser fácilmente fabricadas ni comercializadas industrialmente (Bazukyan, Babayan, & Trchounian, 2013; Gueimonde & Sánchez, 2012 ; Sanders et al., 2014 y Dobrucka, 2013). Para que el probiótico pueda ser producido a nivel industrial, éste debe presentar un valor alto de crecimiento microbiano viable (Aggarwal et al.,

2013b). Por tal razón, una medida de la concentración del probiótico expresada en unidades formadoras de colonia (ufc) es la que determina los efectos mínimos en salud. Un estudio en la literatura relativo a esto, indica por ejemplo que para la leche se exige un valor de concentración para *acidophilus* igual o mayor a 1.0×10^7 ufc de probiótico por mL para lograr el efecto esperado (Ye et al., 2013 y Hanchi et al., 2014)

Otro factor que afecta a los probióticos es la temperatura, por lo cual varios estudios reportan que trabajar por debajo de 45° C propicia la supervivencia de las bacterias (Xiaoli Liu et al., 2014; Celik & O'Sullivan, 2013 y Sharma Shiwani, Anshul dutt Sharma, 2011).

Otro aspecto muy importante es la formulación de la matriz (Arena et al., 2014) ya que desde el punto de vista tecnológico es el que más puede afectar la funcionalidad de un probiótico (Ye et al., 2013; Rodrigues et al., 2012 y Ozyurt Hazal, 2014). Puesto que el desempeño de los probióticos con efecto funcional es bien conocido en leche, quesos y helados lácteos (Costa et al., 2014 y Strahinid, Lukid, & Terzic-vidojevié, 2013), pero poco en matrices tales como en cereales, avena, confitería y frutas implicando un gran reto (M. Fox et al., 2013 y Okamoto & Filho, 2016). Por consiguiente para mejorar el desempeño de diversos probióticos en estas nuevas matrices se viene aplicando la encapsulación o microencapsulación como sustituto tecnológico (Pedroso, Dogenski, Thomazini, Heinemann, & Favaro-Trindade, 2013 y Thantsha, Labuschagne, & Mamvura, 2014).

También se reportan estudios donde se ha llegado a analizar el comportamiento de tales matrices y su actividad probiótica desde la producción de sustancias por parte de estos

entre las que se encuentran las α -galactosidasas y posibles enzimas (Xiaoli Liu et al., 2014). Cuando la matriz es una fruta se ha observado para el caso de tres especies diferentes de banano que cada una presenta sustancias nutrientes que pueden beneficiar más a un probiótico que a otro, favoreciendo también la actividad prebiótica y proporcionando los carbohidratos requeridos para su viabilidad (Srisuvor, Prakitchaiwattana, Chinprahast, & Subhimaros, 2013).

La Microencapsulación se ha empleado como una metodología que beneficia la viabilidad y la estabilidad del probiótico en el alimento; además de favorecer la biodisponibilidad en el organismo específicamente en el tracto gastrointestinal (Das et al., 2014; Chopde, Pawar, Kele, & Changade, 2014; Ortakci & Sert, 2012 y Shoji, 2013). La misión principal de la microencapsulación es proteger de la oxidación, humedad y los cambios bruscos de temperatura al probiótico durante largos periodos de almacenamiento (Pedroso et al., 2013; Jain & Chaudhary, 2014; Thantsha et al., 2014 y Sousa et al., 2015).

A pesar de todos los efectos funcionales de muchos probióticos, la forma como estos actúan para lograr efectos saludables no es actualmente clara (Jain & Chaudhary, 2014), pero algunos estudios reportan los mecanismos de acción por los cuales se pueden dar los efectos benéficos: a) la adherencia y la colonización en el intestino, mediante la reducción de la permeabilidad de la mucosa, aumentando la producción de moco, fortaleciendo las uniones intestinales e inhibiendo la translocación bacteriana (Rodes et al., 2011) , b) la supresión del crecimiento epitelial ligado a la bacteria patógena y a la producción de sustancias antimicrobianas, mediante la modulación del crecimiento de la microbiota y la respectiva adhesión de los microorganismos benéficos, la producción de

sustancias tóxicas, y la reducción del pH intraluminal y la exclusión competitiva de bacterias patógenas de sitios de enlace (Jain & Chaudhary, 2014 y Hickey et al., 2012); c) mejorando la funcionalidad de la barrera intestinal y la transferencia controlada de antígenos dietéticos mediante el aumento de la producción de Inmunoglobulina A fecal, el mejoramiento de la respuesta de la mucosa a la Inmunoglobulina A, la producción de ácidos grasos de cadena corta y el aumento de la fagocitosis de los leucocitos de la sangre; d) estimulando la mucosa y la inmunidad (Popescu & Neamtu, 2014) del huésped mediante el aumento de células T y de la producción de macrófagos y citoquinas, igualmente promoviendo el aumento de la producción de citoquinas anti-inflamatorias, la disminución en la producción de citoquinas pro-inflamatorias; y la liberación de citoquinas Th1 (Castellazzi et al., 2013; Rodrigues et al., 2012 y Nauta et al., 2013).

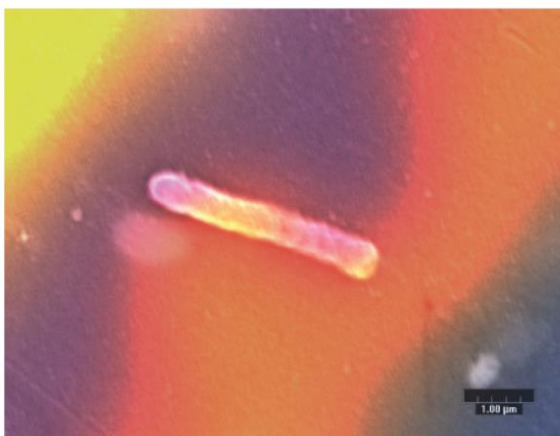
Un microorganismo probiótico que puede ser empleado en la industria de alimentos y que si ejerce los efectos funcionales antes descritos es *Bacillus Coagulans*. Ver tabla 5 y figura 4 de un microorganismo *Bacillus Coagulans*

Tabla 5 Principales características de Bacillus Coagulans

Principales características de <i>B. Coagulans</i>	Referencia
Bacteria Gram positiva y ácido láctica formadora de esporas; crece en un rango de temperatura entre 35 a 50°C y su rango de pH óptimo está entre 5.5 y 6.5.	(Xu, Wang, & Lin, 2014); (Honda, Hoyles, Gibson, & Farmer, 2011)
El mecanismo de formación de esporas le permite que se comporte como una cápsula que la protege de los ácidos gástricos y de la bilis para llegar intacto al intestino grueso.	(Julie S Jurenka, 2012) y (Pandey, Shinde, & Vakil, 2015).

Extrema diversidad fenotípica y heterogeneidad, permite que algunas cepas germinen, por ejemplo, mayormente en un medio ácido aproximado de pH 4.	(England, 2015); (Nakamura, Blumenstock, & Claus, 1988); Vercammen et al., 2012
Capaz de soportar condiciones prácticamente extremas de temperatura, pH, composición de nutrientes y condiciones de almacenamiento.	(Keller, Farmer, McCartney, & Gibson, 2010)
Alta resistencia y viabilidad comprobada en el estómago.	(Xiaoyan Liu, Cao, Wang, Yao, & Fang, 2015)

Figura 4. Micrografía electrónica de barrido SEM (Keller et al., 2010)



Este microorganismo probiótico fue aislado de la malta verde en 1932 por los científicos Horowitz-Wlassowa y Nowotelnow. Luego científicos japoneses lo denominaron *Lactobacillus sporogenes* para más tarde clasificarlo como *Bacillus Coagulans* (De Vecchi & Drago, 2006). La capacidad de formar esporas en el *Bacillus coagulans* es la que le permite sobrevivir a altas temperaturas y poder soportar las condiciones bioquímicas presentes en el ambiente gástrico humano sin destruir los beneficios probióticos. (Majeed et al., 2016). Muchos estudios médicos han demostrado y corroborado el efecto probiótico del *Bacillus Coagulans* en la salud por ejemplo en el

colon, en ensayos de inmunidad y en los músculos que han sido sometidos a ejercicio extremo (Keller, van Dinter, Cash, Farmer, & Venema, 2017). También ha llegado a utilizarse como antibiótico. (Chandran, Jauhara, & T.R, 2016). Los beneficios en salud de *Bacillus coagulans* abarcan desde mejoras en el tratamiento de la hiperlipidemia, adenovirus, influenza, estomatitis aftosa, caries dental y Artritis, en hipercolesterolemia (Bora et al., 2009, Riazi et al., 2012 y Sudha, Radkar, & Maurya, 2011). Y en salud infantil, estudios clínicos promueven su uso en el tratamiento de la diarrea (Dutta et al., 2011 y Fijan et al., 2014). También se han reportado estudios clínicos de este, donde se preparó una mezcla de *Bacillus coagulans* con FOS y se aplicó en niños que sufrían de dolor de estómago dando como resultado respuestas favorables en este tipo de pacientes. (Saneian, Pourmoghaddas, Roohafza, & Gholamrezaei, 2015). Ver tabla 6.

Tabla 6 Beneficios en salud observados en adultos y niños por el consumo de Bacillus Coagulans en su dieta.

Beneficios en salud de <i>Bacillus Coagulans</i>	Referencia
En el colon, en ensayos de inmunidad y en los músculos que han sido sometidos a ejercicio extremo.	(Keller, van Dinter, Cash, Farmer, & Venema, 2017)
También ha llegado a utilizarse como antibiótico.	(Chandran, Jauhara, & T.R, 2016)
Los beneficios en salud de <i>Bacillus Coagulans</i> abarcan desde mejoras en el tratamiento de la hiperlipidemia, adenovirus, influenza, estomatitis aftosa, caries dental y Artritis, en la hipercolesterolemia	Bora et al., 2009, Riazi et al., 2012 y Sudha, Radkar, & Maurya, 2011)
Y en salud infantil, estudios clínicos promueven su uso en el tratamiento de la diarrea.	(Dutta et al., 2011 y Fijan et al., 2014)

Además se han reportado estudios clínicos de este, donde se preparó una mezcla de <i>Bacillus Coagulans</i> con FOS y se aplicó en niños que sufrían de dolor de estómago, dando como resultado respuestas favorables en este tipo de dolencias.	(Saneian, Pourmoghaddas, Roohafza, & Gholamrezaei, 2015).
--	---

Fuente: Elaboración propia

Respecto a los requerimientos nutricionales en bebés lactantes, vale la pena hacer un comparativo tanto de la normativa nacional Colombiana respecto a sus homólogas en Estados Unidos con la FDA (FDA, 2009) y Europa con las regulaciones Europeas y la EFSA (EFSA, 2013). Según normativa nacional resolución 11488 en las disposiciones generales y definiciones parte II De los alimentos infantiles Capítulo 1 de los alimentos para niños lactantes y niños de corta edad; en el artículo 14 los Requisitos Nutricionales son los siguientes:

El alimento para niños lactantes, debe contener por cada 100 calorías o por cada 100 kilo-julio utilizable las siguientes cantidades de nutrientes:

Tabla 7 Comparación entre los Requerimientos nutricionales en alimentos para lactantes según normativas de Colombia, Estados Unidos y Europa

Requerimiento nutricional	Normativa de Colombia según resolución 11488		Normativa de Estados Unidos según la FDA		Normativa de Europa según EFSA
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	
Proteínas (g)	1.8	4.0	1.8	4.5	1,2 -2,04 (1,8-3g/100 kcal)
Grasa (g)	3.3	6.0	3.3	6.0	2,72 - 4,42

Ácido linoleico en forma de Glicéridos (mg)	300		300	0,2-0,82
Vitamina A (U.I)	250	500	250 750	
Vitamina D (U.I)	40	80	40 100	
Vitamina E (U.I/g) (compuestos de alfa- tocoferol)	0.7		0.7	
Ácido ascórbico (vitamina C) (mg)	8		8	
Tiamina (vitamina B1) (µg)	40		40	
Riboflavina (vitamina B2) (µg)	60		60	
Nicotinamida (µg)	250		250	
Vitamina B6 (µg)	35		35	
Ácido Fólico (µg)	4		4	
Ácido Pantoténico (µg)	300		300	
Vitamina B12 (µg)	0.15		0.15	
Vitamina K1 (µg)	4		4	
Biotina (vitamina H) (µg)	1.5		1.5	
Sodio (Na) (mg)	20	60	20 60	13,6 – 41
Potasio (k) (mg)	80	200	80 200	41- 98,6
Cloruro (Cl) (mg)	55	150	55 150	
Calcio (Ca) (mg)	50		60	> 34 (> 50)
Fósforo (P) (mg)	25		30	17-61,2
Magnesio (Mg)	6		6	
Hierro (Fe)(mg)	1		0.15 3.0	0,34- 1
Yodo (I) (µg)	5		5 75	
Cobre (Cu) (µg)	60		60	

Cinc (Zn) (mg)	0.5	0.5	
Manganeso (Mn)	5	5	
(µg)			
Colina (mg)	7		
Inositol (mg)	4		
Selenio (Se)		2	7
Colina		7	
Inositol		4	
Energía (kcal)			60-75
Hidratos de carbono			4,8-9,5
(g)			
Lactosa (g)			> 2,38 (> 3,5)
Seroproteína	/		60/40
Caseína			

Fuente: Elaboración propia

La normativa colombiana es similar a la propuesta por la FDA (norma de Estados Unidos), en primera instancia enlista los mismos nutrientes con un comportamiento en la variación de 0.5 a 1.0 o de 5 a 10 unidades en los límites mínimo y máximo entre los mismos nutrientes. Sólo hay una excepción en los minerales como el Selenio en la tabla de nutrientes de la FDA.

Lo anterior frente a las directrices de la Unión Europea, se observa el énfasis que se le hace al contenido de carbohidratos o hidratos de carbono, lo cual no se menciona en las normativas del continente americano. Situación similar ocurre con las vitaminas específicas las cuales tampoco se mencionan.

Todos los requerimientos dan vital importancia al contenido de proteínas, carbohidratos, grasas y minerales. Sin embargo, los probióticos no se tienen en cuenta ya que se asumen más como aditivos luego de que los entes reguladores aprueban y certifican un determinado producto tipo alimento como funcional grado alimento.

Estas formulaciones normativas están obviando un factor muy importante contenido en la leche materna que es el efecto inmunológico que le aporta al lactante y que proviene sólo de la madre. Hecho que puede ser mejorado con la adición de probióticos (Meyer & Shah, 2014).

Entre los productos alimenticios reglamentados para bebés se encuentran las compotas. Las compotas son según el ministerio de Salud de Colombia Resolución número 11488 de 1984 (Ministerio De Salud, 1984) colados envasados en cuyos ingredientes predomina la fruta. El colado envasado, es el producto pastoso o semipastoso preparado a base de frutas, legumbres, verduras, carnes solos, o mezclados adicionados o no de cereales, almidones, edulcorantes naturales, sal y especias sometidas a esterilización comercial. Las compotas se recomiendan más que todo para el consumo por bebés desde inclusive los 4 meses según reglamentaciones de la unión europea (Curtui, 2016). Pero se ha generalizado su uso desde los 6 meses en adelante. Las compotas también se caracterizan por ser productos no lácteos a base de frutas y verduras (en la etapa de 6- 12 meses) de mayor rotación comercial (Crawley & Westland, 2017). Esto propició la principal razón por la cual la compota se selecciona como producto a ser funcional. La segunda condición, por la que la compota es el producto que se elaboró en este proyecto, es el hecho de que el probiótico debía poseer las características propias para desempeñarse y ser viable en una matriz o muestra a base de frutas y verduras.

Respecto a la normativa que aplica a la preparación de compotas, la que es vigente, permite proponer una formulación que cumpla con los estándares propios de un alimento para lactante. Las normativas que se deben tener en cuenta son: Codex alimentarius, y la resolución 11488 de 1984; y la normativa nacional NTC 1474, donde se define qué es

este alimento y las características que debe tener (tanto de fruta, grados brix, cantidad de azúcar, entre otras. A nivel Colombia, la compota se le define de acuerdo a la Resolución 11488 de 1984: “como un colado envasado en cuyos ingredientes predomina la fruta. Entendiéndose colado envasado, el producto pastoso o semipastoso preparado a base de frutas, legumbres, verduras, carnes, solos o mezclados adicionados o no de cereales, almidones, edulcorantes naturales, sal y especias sometidas a esterilización comercial”. Ver tabla 8

Tabla 8 Normativas que aplican para la preparación de compotas

Codex alimentarius	Normatividad nacional	La Resolución 11488 de 1984
	NTC 1474	
Codex alimentarius norma para compotas, jaleas y mermeladas según 7) CX/PFV 04/22/	NTC 1474: alimentos complementarios para niños lactantes y niños de corta edad.	La Resolución 11488 de 1984: Por la cual se dictan normas en lo referente a procesamiento, composición, requisitos y comercialización de los alimentos infantiles, de los alimentos o bebidas y de los alimentos o bebidas de uso dietético. PARTE II de los alimentos infantiles y capítulo II de los alimentos Colados y Compotas Envasadas para niños lactantes y niños de corta edad. Donde se define a la compota como un colado envasado en cuyos ingredientes predomina la fruta. Entendiéndose colado envasado, el producto pastoso o semipastoso
Esta norma da las pautas referentes a la composición de la fruta, es decir que:” Las compotas, según se definen en la Sección 2.1,		

deberán elaborarse de tal manera que la cantidad de fruta utilizada como ingrediente en el producto terminado no deberá ser menor a los siguientes porcentajes: 35% en general	preparado a base de frutas, legumbres, verduras, carnes, solos o mezclados adicionados o no de cereales, almidones, edulcorantes naturales, sal y especias sometidas a esterilización comercial.
	Esta resolución también refuerza la parte de la inocuidad microbiana además de la composición requerida para cada aditivo, mientras este sea permitido por la misma resolución.

El *Bacillus Coagulans* es un probiótico potencial en alimentos funcionales en la industria alimentaria por su habilidad para soportar altas temperaturas y la formación de esporas lo que favorece la exploración y sustitución de matrices alimentarias basadas en frutas, vegetales, cereales o granos. (Sharma et al., 2015; Pandey et al., 2015 y Keller et al., 2010). Y a nivel de salud porque mejora la calidad de vida de pacientes con dolencias de tipo gastrointestinal, muscular, respiratorio, desórdenes nutricionales y sistemas inmunológicos en estado crítico. Y en bebés afianza el sistema inmunológico de ellos a través de fortalecer las defensas, a partir inclusive de los 6 meses de vida; etapa donde las estadísticas estudiadas por la OMS han indicado altos índices de mortalidad en esta población (Keller, van Dinter, Cash, Farmer, & Venema, 2017; Chandran, Jauhara, & T.R, 2016; Bora, Puri, & Bansal, 2009; Riazi, Dover, & Chikindas, 2012; R. M. Sudha, Sunita,

Sekhar, Limited, & Park, 2011; Dutta et al., 2011; Fijan, 2014; Saneian, Pourmoghaddas, Roohafza, & Gholamrezaei, 2015) Ver tabla 6.

Dado lo anterior, la pregunta de investigación es:

¿Es posible la elaboración de una compota para lactante de 6 a 12 meses con *Bacillus Coagulans*, que permita la viabilidad de este microorganismo con efecto funcional?

2. Objetivo general

Desarrollar una compota con efecto funcional a nivel gastrointestinal para población lactante entre 6 y 12 meses, a partir del uso de una cepa probiótica de consumo y efecto conocido.

2.1 Objetivos específicos

- Seleccionar la cepa probiótica apta para ser incorporada a la compota mediante búsqueda y revisión bibliográfica.
- Formular una compota para la lactante como alimento funcional con el probiótico seleccionado
- Analizar las características fisicoquímicas, bromatológicas, sensoriales y realizar análisis microbiológicos de las compotas de breva, ahuyama y zanahoria como alimentos funcionales sólo después de aplicar proceso de higienización por UHT.
- Determinar la Viabilidad del *Bacillus Coagulans* en la compota después de higienización por tratamiento térmico UHT a través de su vida útil.

3. Materiales y métodos

3.1 Selección y Características de la cepa probiótica.

Se seleccionó el *Bacillus Coagulans* mediante revisión bibliográfica de más de 50 referencias en la literatura, como el probiótico a incorporar debido a que es un microorganismo evidentemente muy estudiado y con gran potencial en alimentos. Lo anterior se debe a su capacidad de soportar condiciones adversas de estabilidad, tanto en la formulación que estuviese como en el tiempo de almacenamiento en el estante; Además de sus notables efectos en salud de adultos y niños (ver tabla 6) según lo reportado en la literatura y mencionado en este documento.

La procedencia del fabricante del probiótico es la Corporación Sabinsa, su producto ya está patentado como producto GRAS (Corporation, 2015b). Ver tabla 9.

Tabla 9 Ficha Técnica Producto *Bacillus Coagulans*

Parámetro	Valor	
Tipo de producto	Probiótico	
Cepa	<i>Bacillus Coagulans</i> MTCC 5856	
Cas#	68038-65-3	
Tipo de preparación	Fermentación	
Excipiente utilizado	Maltodextrina 85%-90% Cas #:9050-36-6	
Parámetro físicos	Limite	Referencia
Descripción	Polvo blanco a blanquecino con olor leve	Visual y organoléptica
Microscopía	Cumple	USP < 776 >

Solubilidad	Parcialmente soluble en agua, insoluble en etanol USP	
Pérdida por secado	No más de 8.0 % w/w (secado a 105 ° C)	USP < 731>
Capacidad de producir ácido láctico	No menos de 10 mL de 0.05N de NaOH se consume.	SLL/STP-L-015
Prueba de Tamiz		
Malla 20	No menos de 100% w/w	
Malla 40	No menos de 95% w/w	USP <786>
Malla 80	No menos de 90% w/w	
Ensayos Químicos		
Conteo de esporas de <i>B. Coagulans</i>	No menos de 15000 millones de esporas por gramo	SLL/STP-B-014
Otros	No más de 20 ppm	
Total metales pesados		USP <231> Method II
Plomo	No más de 3 ppm	ICP-OES, SLL/STP-H-006
Arsénico	No más de 1 ppm	ICP-OES, SLL/STP-H-006
Cadmio	No más de 1 ppm	ICP-OES, SLL/STP-H-006
Mercurio	No más de 0.1 ppm	ICP-OES, SLL/STP-H-006
Microbiológicos	No más de 0.1 millón de	
Otros microorganismos aerobios	cfu/g	SLL/STP-O-009
Total mohos y levaduras	No más de 100 ufc/g	USP <2021>
<i>Escherichia coli</i>	Negativa/10g	USP<2022>
<i>Salmonella</i>	Negativa/10g	USP<2022>

<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativa/10g	USP<2022>
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Negativa/10g	USP <62>
Bacterias gram negativas tolerante a la bilis	No más de 100 ufc/g	USP <2021>
<i>Bacillus cereus</i>	No más de 100 ufc/g	ISO7932:2004
Información adicional		
Tratamiento de Sanitización	No irradiado ni tratado con ETO	
Estado de Certificación (Kosher/ Halal)	Certificado Kosher Certificado Halal	
Estado de la modificación genética	Libre de GMO	
Estado BSE/TSE	Libre de BSE/TSE	
País de origen	India	
Condición de almacenamiento	Almacenarse a temperatura ambiente	
Vida útil	Tres años	
Fabricado por	Sami Labs Limited 19/1,19/2 I Main, II Phase, Peenya Industrial Area,Bangalore - 560058, Karnataka, India	

3.2 Metodología de preparación de la compota.

Se elaboraron 3 compotas de los siguientes sabores: ahuyama, zanahoria y breva. Estas verduras y frutas se eligieron por ser también nutritivas para los lactantes, por poseer vitaminas y antioxidantes. También porque son de fácil adquisición en el mercado y propias de nuestro territorio.

También, innovar con sabores como los de la breva y la ahuyama ya que no son los más comunes comercialmente en el mercado para lactantes. Y por supuesto la principal razón, que estas verduras y frutas pudieran proporcionar las condiciones de vida para el microorganismo; al proveerle los nutrientes que este requiere principalmente como: fibra y carbohidratos (Keller et al., 2010), fundamentalmente. Lo cual se corroboraría mediante análisis bromatológico.

Las formulaciones de las compotas se hicieron sobre una base de cálculo de 100%, así: las compotas de ahuyama y zanahoria contenían un 45% en verdura y 30% en azúcar. Mientras la compota de breva un 30% en fruta y 15% en azúcar (Fao/Oms & Codex, 2004) (Ver tabla 10). Además de 0,15 % en pectina rápida (Ver tabla 11), un 0,1% para el *Bacillus Coagulans* y resto agua.

Tabla 10 Composición porcentual de los tres sabores de compota elaborados

Tipo Verdura / Fruta	Ahuyama	Zanahoria	Breva
% Fruta	45	45	30
% Azúcar	30	30	15
% Pectina rápida	0,15	0,15	0,15
% <i>Bacillus Coagulans</i>	0,1	0,1	0,1
% Agua	25	25	55

Tabla 11 Ficha técnica Producto Pectina Rápida

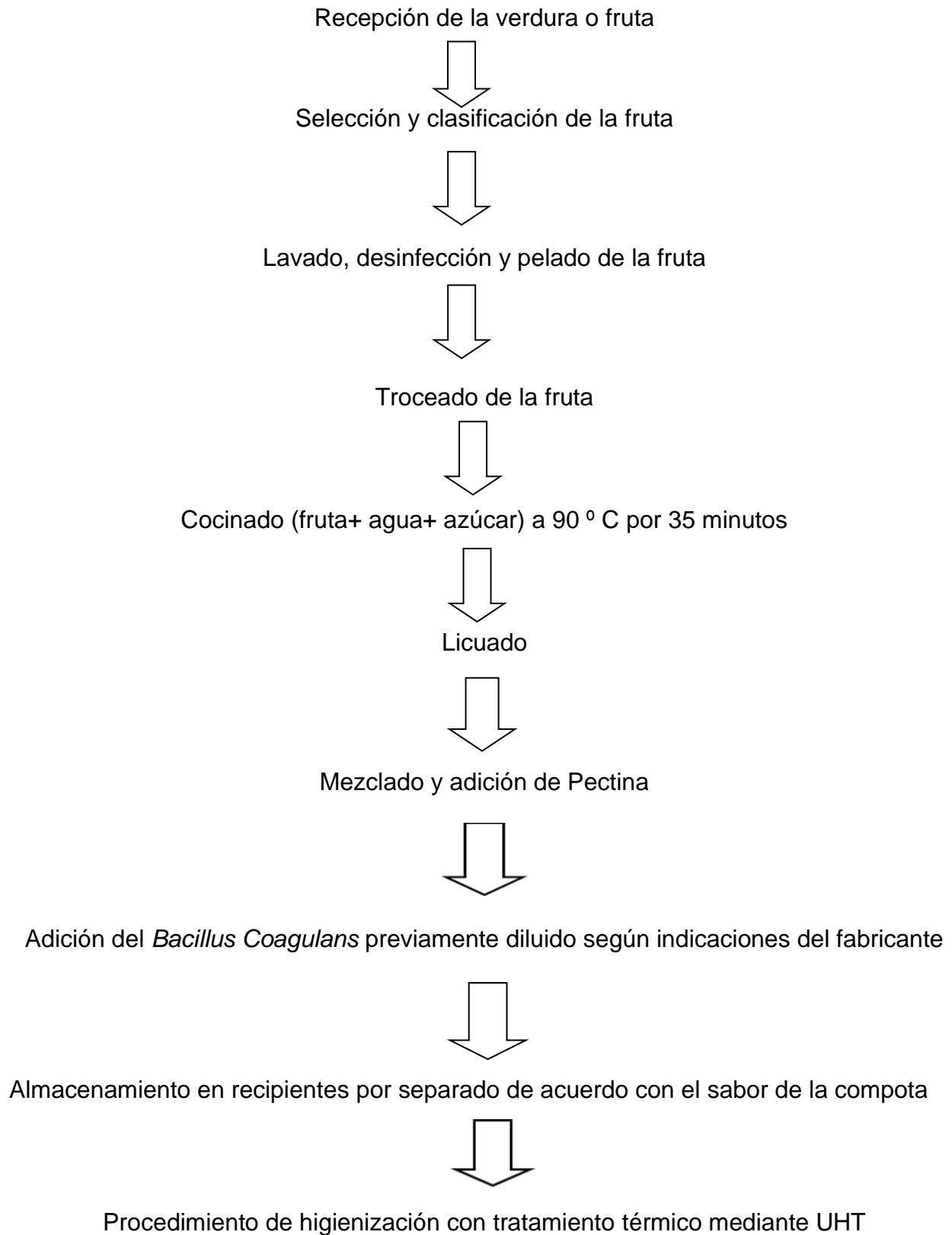
Descripción	La Pectina Tipo APC 102 es una pectina rápida de alto metoxil purificada, extraída de la cáscara de cítricos y azúcares (sucrosa) estandarizada.
Especificaciones	Valor

Grado (USA SAG)	150 ± 5
Ajuste de Temperatura	82-92 ° C
pH (2% solución)	2.8 -3.8
Grado de Esterificación	> 69%
Certificado	Kosher Halal
Aplicaciones	Mermeladas, gelatinas, jugos de frutas
Rango de pH	2.5-3.5
Sólidos solubles	> 55%
Niveles de uso	Mermeladas, gelatinas: 0.4-1.0%
Se recomienda disolver la Pectina en agua antes de adicionarla al sistema final	Jugos de Frutas: 0.1-0.2%
Características sensoriales	Apariencia: polvo fluido Color: polvo marrón pálido Olor: ligero libre de notas. Sabor: ligero, libre de notas
Características microbiológicas	Conteo total: <1000/g Mohos y levaduras: < 100/g Coliformes: ausencia/g E. Coli: ausencia/g <i>Estafilococcus aureus</i> : ausencia/g <i>Salmonela</i> : ausencia/25g
Características Químicas	Contenido de Pectina: > 50% Ácido galacturónico: > 65% Pérdida por secado: < 12% Cenizas ácidas insolubles: < 1% Contenido de Nitrógeno: <1% SO ₂ : < 10 mg/ Kg Metilo, etilo y alcohol isopropil libre: < 1%

Requerimientos Legales	<p>Plomo: < 5 mg/kg</p> <p>Arsénico : < 3mg/kg</p> <p>Cadmio: < 1mg/ kg</p> <p>Mercurio: < 1mg/kg</p> <p>Tamaño de partícula: 1% retenido en 300 µm.</p> <p>Este producto cumple con todos los criterios pedidos por EU, FAO/WHO (JECFA) y FDA/FCC y está libre de GMO y alérgenos de acuerdo a las directivas de la EC.</p>
Información Nutricional dependiendo de la estandarización.	<p>Energía (por 100g): Típicamente entre 550 y 650 kJ.</p> <p>Proteínas: Típicamente < 0.5%</p> <p>Carbohidratos: entre 25 y 35%</p> <p>Contenido de azúcares: 25-35%</p> <p>Grasa: < 0.5%</p> <p>Fibra: típicamente 65-75%</p>
Empaque y almacenamiento	<p>Empaque: papel con tapa de polietileno (25 kg)</p> <p>Almacenamiento: Fresco y seco.</p> <p>Vida útil: 24 meses.</p>

Las frutas y todos los materiales para la elaboración de las compotas fueron adquiridas en un supermercado de cadena. El proceso de elaboración fue el siguiente (Ver figura 5).

Figura 5. Diagrama de flujo: Elaboración de la compota funcional con la adición de *Bacillus Coagulans*



3.3 Pruebas previas antes de procesamiento de higienización con tratamiento térmico mediante UHT.

Para llevar a cabo este proceso, se realizaron chequeos previos de la mezcla de compota requeridos para el uso del equipo UHT. Los requerimientos exigidos por el equipo UHT marca Omve HTST-UHT System HT-220 eran los siguientes:

Viscosidad máxima: 2000 cP

Tamaño de partícula: 1,5 mm ($1,5 \times 10^7$ nm)

Presión: 60 bar

Análisis y verificación de Viscosidad y tamaño de partícula.

Se prepararon unas compotas previas de acuerdo a las formulaciones antes planteadas para verificar que las viscosidades resultantes cumplieran con los requisitos del equipo. Se realizaron tres mediciones, la primera se hizo con el Reómetro Haake, del grupo de Investigación de Coloides de la Universidad de Antioquia y las otras dos con un viscosímetro Brookfield perteneciente a la corporación Universitaria Lasallista.

Para verificar que el tamaño de partícula cumpliera con lo requerido por el equipo de UHT, se empleó un medidor de tamaño de partícula marca Mastersizer 2000, perteneciente al Grupo de Investigación de Coloides de la Universidad de Antioquia.

Selección y adquisición de empaques para el envasado

Los empaques seleccionados para envasar la compota luego de ser procesada por el UHT fueron tipo bolsa flexible laminada con válvula, las cuales se compraron en Soluciones Integrales para empaques Alico S.A. (Ver figura 6)

Figura 6. *Empaques utilizados en el envasado de los sabores de compota.*



3.4 Tratamiento de Higienización

Proceso Ultra Alta Temperatura UHT

La pasteurizadora marca Omve tiene tres compartimientos: uno es el sistema HTST-UHT System HT-220 donde se dan los cambios en las curvas de calentamiento, la unidad de envasado aséptico y también el compartimiento que corresponde al homogeneizador.

En el proceso de higienización, el primer paso fue ajustar el equipo de HTST-UHT System HT-220 marca Omve; con agua destilada para asegurar que estuviera funcionando adecuadamente. Luego se pasó la compota por el pasteurizador tubular referencia HT-220, a 145°C durante 5 segundos con una velocidad de flujo de 16 L/h y una presión entre 4,5 – 5 bares (Micali, Fiorino, & Parisi, 2016) y (Kusnandar, Tunaalii, & Hosken, 2002). El producto circuló a través del equipo en forma tubular. La temperatura de entrada fue de 25°C, el precalentamiento fue de 100°C y el calentamiento

principal fue de 145°C con un tiempo de retención de 5 segundos. El preenfriamiento se hizo desde 145°C hasta 60°C y luego de 60°C hasta 30°C.

El llenado aséptico se realizó en cabina y aplicando flujo laminar con filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air). La temperatura de empaque fue de 30°C. Este proceso se replicó en los otros dos lotes de sabores.

Figura 7. Compartimientos Pasteurizador marca Omve: sistema HTST-UHT System HT-220



3.5 Pruebas de calidad en el producto final

3.5.1 Análisis Sensorial para cada compota.

El Análisis sensorial se realizó por el método de consenso en el laboratorio Sensorial de la Fundación INTAL. Este método implicó seguir las siguientes Normas Técnicas colombianas: NTC 3932, 5328 y 3929

El principio de estas metodologías está basado en el concepto que, el sabor consiste en parte de atributos olfativos y gustativos identificables y por otra parte en un complejo fundamental de atributos no identificables separadamente.

Estos métodos consisten en procedimientos para describir y valorar el sabor de un producto de modos reproducibles. Los atributos separados contribuyen a la formación de la impresión total dada por el producto siendo identificado y su intensidad evaluada con el objeto de estructurar la descripción del sabor del producto, además hay un líder del panel quien guió las discusiones de los evaluadores hasta obtener un acuerdo en cada componente permitiendo de esta manera una descripción de los atributos del producto y es el líder quien finalmente interpreta los resultados consensados con el resto de los integrantes del panel.

Los evaluadores siguieron la normatividad NTC 3925. Para la prueba de ahuyama participaron 6 evaluadores y para las otras dos compotas se contó con un total de 8 panelistas.

Procedimiento:

Se hizo una lista de las características sensoriales (o descriptores) a evaluar en la muestra tales como: apariencia, color, olor característico, olor a ahuyama, nota dulce, olor objetable, sabor característico, sabor objetable, sabor dulce, sabor ahuyama, consistencia y calidad general.

Previamente fueron escogidos los descriptores sensoriales para la evaluación de cada producto, los cuales fueron calificados en una escala de 10 puntos.

Se utilizaron 2 escalas, la escala de intensidad y la escala de calidad:

Tabla 12 Escalas de Intensidad y Calidad respecto a cada descriptor para cada sabor de compota.

Descriptor de Intensidad	Rango	Descriptor de Calidad	Rango
Ausencia	0 – 0,5	Ausencia	0 - 0,5
muy leve	0,6 – 2,9	Muy baja	0,6 – 2,9
Leve	3,0 - 4,9	Baja	3,0 – 4,9
Moderada	5,0 – 6,9	Media	5,0 – 6,9
Marcada	7,0 – 8,9	Moderada	7,0 – 8,9
Muy marcada	9,0 – 10,0	Alta	9,0 – 10

Con estas escalas se elaboró un cuadro con los descriptores y un gráfico de radar para cada sabor. El Reporte del perfil de cada sabor se puede observar en los resultados.

3.5.2 Análisis Microbiológico para determinar que sea apto para el consumo.

Con la intención de determinar la asepsia de las compotas procesada por UHT, se evaluó la inocuidad mediante análisis microbiológicos de los microorganismos patógenos exigidos por la normatividad y resolución 11488 de 1984 expedida por el Ministerio de Salud y de acuerdo a la norma NTC 1474, la cual solicita ausencia de los siguientes microorganismos (ver tabla 13):

Tabla 13 Método analítico Oficial para cada análisis microbiológico

Recuento (ufc /ml)	Según método NTC
Mesófilos	4519
Mohos y Levaduras	4132 y norma ISO 7954
<i>Clostridium</i> sulfito reductor	4834
Coliformes totales y Fecales	4458
<i>Bacillus Cereus</i>	4679

<i>Salmonella sp</i>	4574
<i>Pseudomona sp</i>	5594
<i>Staphylococcus sp</i>	4779

Todas las pruebas se realizaron según método NTC.

3.5.3 Medición de pH.

Se trabajó con el método Oficial AOAC, 981.12, medición con pHmetro, para la toma del pH; esta se realizó con un pHmetro marca Ohaus. El pHmetro fue previamente calibrado con soluciones pH 7 y pH 4. Luego se procedió a tomar el valor de pH en cada una de las compotas para determinar que estuvieran bajo la exigencia de la normatividad y que además no afectaran el crecimiento del *Bacillus Coagulans* según literatura.

3.5.4 Determinación de Grado Brix.

Se trabajó con el método AOAC 932.14 para medir % de Sólidos con refractómetro. Para la toma del % de Sólidos; esta se realizó con un refractómetro marca Halter previamente calibrado. Luego se realizó la lectura de cada sabor de compota para determinar que estuvieran bajo la exigencia de la normatividad.

3.5.5 Análisis Bromatológico.

Mediante este análisis se determinó el contenido de fibra, humedad, cenizas totales, grasas, proteínas y calorías en cada sabor de compota elaborada. Cada determinación se hizo por triplicado y se llevó a cabo mediante los siguientes métodos (ver tabla 14):

Tabla 14 Análisis Bromatológicos de acuerdo con el método Oficial

Parámetro	Método
-----------	--------

Determinación de Fibra	AOAC 962.09 Ed. 19 Modificado
Determinación de Humedad.	AOAC 934.01 Ed. 19 Modificado Marzo 2016 CU Lasallista.
Determinación de Cenizas totales	AOAC 962.09 Ed. 19 Modificado CU Lasallista.
Determinación de Grasa	AOAC 920.39 Ed. 19 Modificado Marzo 2016 CU Lasallista.
Determinación de Proteínas	AOAC 988.05 Ed. 19 de 2013 Modificado Marzo 2016 CU Lasallista.
Determinación de las calorías	De acuerdo a norma ISO 9831:1998

Las pruebas bromatológicas fueron realizadas en el laboratorio de Química de la Corporación Universitaria Lasallista.

3.5.5.1 Determinación de Fibra

En la preparación de la muestra esta se homogenizó previamente y se secó a una temperatura de 103 ± 2 °C en estufa de aire. Se extrajo con éter de petróleo. Se pesó alrededor de 2 g de muestra preparada y se transfirió al balón de vidrio adaptado al equipo de calentamiento a reflujo. También se adicionó de 1.5 a 2.0 g de fibra cerámica preparada, 200 ml de H₂SO₄ 0.255 N, hirviente, gotas de antiespumante y perlas de vidrio dentro de este balón de vidrio. Se conectó el aparato de calentamiento a reflujo y se hirvió exactamente durante 30 minutos, rotando el matraz periódicamente.

Luego de esto, se desmontó el equipo y se filtró este extracto a través de un embudo Büchner. Se lavó con 50 a 75 ml de agua hirviente durante tres veces con 3 porciones de 50 ml de agua hasta detener la reacción ácida. Nuevamente después de estos lavados se retornó el residuo al aparato de calentamiento a reflujo y se continuó hirviendo exactamente durante 30 minutos, rotando el recipiente de vidrio conectado al reflujo de

forma periódica. Finalmente se volvió a lavar con 25 ml de H_2SO_4 0.255 N, hirviendo y 3 porciones de 50 ml de agua hirviendo con 25 ml de etanol al 95%. Seguidamente se removió el residuo y se transfirió al crisol. Se secó en estufa a 130 ± 2 °C por 2 horas, se dejó enfriar en desecador y se pesó. Se Incineró por 30 minutos a 600 ± 15 °C, se enfrió en desecador y se registró el peso. Se determinó un blanco en las mismas condiciones que la muestra.

3.5.5.2 Determinación de humedad.

Previamente se colocó la cápsula destapada y la tapa durante al menos 1 hora en la estufa a la temperatura de secado del producto. Empleando pinzas, se trasladó la cápsula tapada al desecador y se dejó enfriar durante 30 a 45 min. Se pesó la cápsula con tapa con una aproximación de 0.1 mg.

Luego se pesaron 5 g de muestra previamente homogeneizada. Se vertió la muestra dentro de la cápsula y se ubicó en la estufa a la temperatura y tiempo recomendado 105 °C durante 5 horas. Luego de este tiempo, se tapó la cápsula al sacarla de la estufa, se dejó enfriar en desecador durante 30 a 45 min.

3.5.5.3 Determinación de Cenizas totales

Se pesó una cantidad de muestra que contuviera de 3 a 5 g de sólidos y se mantuvo sobre un baño de vapor hasta sequedad aparente. Se pesó en una cápsula previamente calcinada entre 2 a 5 g de muestra. Se procedió a precalcinarse previamente la muestra en placa calefactora, evitando que se inflamara, luego se ubicó dentro de la mufla y se incineró a 550 °C hasta cenizas blancas o grisáceas.

Se preenfrió en la mufla apagada y luego se trasladó a un desecador y se pesó a temperatura ambiente.

3.5.5.4 Determinación de grasa.

La muestra se homogenizó y se secó a 103 ± 2 °C en estufa de aire considerando el tipo de muestra. Se pesó por triplicado de 2 a 5 gramos de muestra preparada en el papel filtro previamente pesado y tapado con algodón desgrasado. Se secó el balón de fondo redondo recomendado para la extracción durante 30 minutos a 103 ± 2 °C. Previamente se pesó el matraz de extracción. Se acomoda el matraz de extracción en el sistema soxhlet en el tubo de extracción y se adicionó el solvente al matraz. Se mantuvo la extracción de la muestra con el solvente durante 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3 a 6 gotas por segundo. Una vez terminada la extracción, se eliminó el solvente por evaporación en el rotavapor bajo campana. Hasta que no se detectó olor a éter. Se secó el recipiente con la grasa en estufa a 103 ± 2 °C durante 10 minutos, se dejó enfriar en desecadores y se pesó.

3.5.5.5 Determinación de Proteínas.

Se efectuó un ensayo en blanco usando una sustancia orgánica sin nitrógeno (sacarosa) que sea capaz de provocar la reducción de los derivados nítricos y nitrosos eventualmente presentes en los reactivos.

Se Pesó alrededor de 1 g de muestra homogeneizada en un matraz de digestión Kjeldahl.

Se agregaron perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio, 0.5 g de sulfato

Cúprico y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Se conectó el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 mL de hidróxido de sodio al 15 %. Se calentó en manta calefactora y una vez que la solución estuvo

transparente, se dejó en ebullición de 15 a 20 minutos más. Se dejó enfriar y se agregaron 200 mL de agua. Se conectó el recipiente al aparato de destilación, se agregó lentamente 100 mL de NaOH al 30 % por el embudo, y se cerró la llave.

No se dejó destilar no menos de 150 mL en el matraz que llevara sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en: 50 mL de una solución de ácido sulfúrico 0.1 N, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 mL de agua destilada. Se aseguró un exceso de H_2SO_4 para que se pudiera realizar la retrotitulación. Se tituló el exceso de ácido con NaOH 0.1 N hasta color amarillo. Cada cierto tiempo fue necesario verificar la hermeticidad del equipo de destilación usando 10 mL de una solución de sulfato de amonio 0.1 N, 100 mL de agua destilada y 1 a 2 gotas de hidróxido de sodio al 30 % para liberar el amoníaco, así como también verificar la recuperación destruyendo la materia orgánica con 0.25 g de L (-)-Tirosina.

3.5.5.6 Determinación de calorías.

Se pesaron entre 1,0 y 1,5 g del alimento. Se llevó la muestra al porta muestras de la bomba de acero inoxidable. Se tomaron 10 cm de alambre de ignición y sujetó firmemente a los extremos de los electrodos de la bomba calorimétrica teniendo cuidado en que el alambre toque la muestra, pero no las paredes del recipiente. Se adicionaron 2 ml de agua en la bomba de acero inoxidable. Se cerró la bomba herméticamente y se cerró la válvula de alivio.

Se aplicaron entre 15 y 20 atm de presión desde el tanque de oxígeno en la bomba de acero inoxidable, teniendo las debidas precauciones e introducirla dentro del recipiente con agua. Se instalaron los terminales eléctricos en los contactos de los electrodos.

Se introdujo el recipiente dentro de la camisa adiabática, se tapó y leyó la temperatura inicial. Se presionó el botón de ignición y continuó leyendo, cada minuto, el aumento de

temperatura hasta que se estabilizó. Se apagó el equipo y destapó la camisa adiabática. Se sacó la bomba y se abrió la válvula de alivio para que se escaparan los gases. Se destapó la bomba y se purgaron las paredes con agua destilada. Se midió el alambre restante y por diferencia se calculó la cantidad consumida. Se pasó el contenido de la bomba a un Erlenmeyer y se tituló con NaOH 0.0725 N en presencia de fenolftaleína hasta color rosado pálido.

4. Determinación microbiológica de *Bacillus Coagulans*

4.1 Estudio para determinar la viabilidad del *Bacillus Coagulans* de la compota final después del tratamiento térmico.

El estudio de la viabilidad del *Bacillus Coagulans* es el principal parámetro crítico en el tiempo para las compotas (Majeed et al., 2016). Este parámetro implicó el recuento en ufc de *Bacillus Coagulans* en el tiempo. Sin embargo, otros parámetros tales como: pH, Grados Brix, Viscosidad e inocuidad fueron verificados y medidos en los mismos tiempos para tener el mayor control posibles sobre los cambios en el producto a medida que pasaba el tiempo en la vida de Anaquel, y la forma como estos podían interferir en la viabilidad del probiótico.

Se trabajó el método directo de vida útil teniéndose también en cuenta, la Guía para el desarrollo y presentación de los estudios de estabilidad de medicamentos convencionales del Ministerio de la Protección Social actualización año 2009 (Ministerio de la Protección Social, 2009) y el método de vida de Anaquel acelerado (Islam, Ahmad, Ahmed, & Sarker, 2014). En este método se acondicionaron 35 muestras por cada lote de sabor de compota a condiciones de almacenamiento a $40^{\circ}\text{C} \pm 2$ y humedad relativa

75% \pm 5% durante los tiempos en días: 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90. Cada 15 días iniciando con el tiempo 0 se realizaron los análisis de laboratorio señalados en la planeación de actividades relativas al estudio de vida útil.

El diseño experimental para el estudio de vida útil del *Bacillus Coagulans* se observa en la tabla 15

Tabla 15 Diseño experimental para el estudio de vida útil del *Bacillus Coagulans*

Tiempo (Días)	Nº ensayos	Parámetros	Compota
0	3 réplicas por parámetro	<i>Bacillus coagulans</i> , Inocuidad microbiológica, pH, Grados Brix y viscosidad	Ahuyama Breva. Zanahoria
15	3 réplicas por parámetro	<i>Bacillus coagulans</i> , Inocuidad microbiológica, pH, Grados Brix y viscosidad	Ahuyama Breva. Zanahoria
30	3 réplicas por parámetro	<i>Bacillus coagulans</i> , Inocuidad microbiológica, pH, Grados Brix y viscosidad	Ahuyama Breva Zanahoria.
45	3 réplicas por parámetro	<i>Bacillus coagulans</i> , Inocuidad microbiológica, pH, Grados Brix y viscosidad	Ahuyama Breva Zanahoria.
60	3 réplicas por parámetro	<i>Bacillus coagulans</i> , Inocuidad microbiológica, pH, Grados Brix y viscosidad	Ahuyama Breva Zanahoria
75	3 réplicas por parámetro	<i>Bacillus coagulans</i> , Inocuidad microbiológica, pH, Grados Brix y viscosidad	Ahuyama Breva Zanahoria
90	3 réplicas por parámetro	<i>Bacillus coagulans</i> , Inocuidad microbiológica, pH, Grados Brix y viscosidad	Ahuyama Breva Zanahoria

El primer ensayo realizado para el estudio de viabilidad de *Bacillus Coagulans*, se hizo con la metodología del laboratorio de microbiología de la Corporación Universitaria Lasallista, la cual consistió en diluir 10 ml de la muestra en 90 ml de agua peptonada, De

esta primera solución, se tomó 1 ml que se dispensó en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua peptonada; y así sucesivamente hasta obtener 3 diluciones.

Se marcaron 3 cajas de Petri de la siguiente manera: nombre del agar desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe (MRS), código de la muestra y dilución correspondiente a subcultivar. Luego se dispensaron 20 ml aproximadamente del agar, se dejó gelificar bien, para más adelante dispensar en cada una de las cajas Petri, 100µL de la dilución correspondiente; y dispersar adecuadamente la muestra con asas Drigalski, llevándolas a incubación en ambiente de CO₂ a 37°C entre 42 y 72 horas. Pasado este tiempo se realizaron las respectivas lecturas de las muestras según diseño experimental.

Al no ser óptimo el recuento del *Bacillus Coagulans* con esta metodología, se decide evaluar viabilidad con la metodología del fabricante en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Antioquia. Sin embargo, esta metodología tuvo modificaciones debido a que no se agregó la solución de minerales.

Aunque el procedimiento reportó un valor de *Bacillus Coagulans* menor al esperado, no puede tomarse como valor referente del mismo por no haber seguido el uso específico de todos los reactivos como lo indica el método certificado del fabricante.

Dado lo anterior, se decide evaluar la prueba en el laboratorio Tecnimicro, por la disposición total de los reactivos sugeridos en la metodología del fabricante en el que se desarrolló el siguiente procedimiento:

Se pesaron con precisión los reactivos y se transfirieron todos los ingredientes a un balón volumétrico de 50 mL limpio y seco. Se adicionó una pequeña cantidad de agua destilada

y se disolvieron bien. Se completó el volumen con agua destilada. Esta solución puede ser guardada en refrigerador por dos meses.

Después se pesaron 10 gramos del alimento adicionado con LactoSpore, se transfirió a un recipiente para homogenización estéril. Se adicionó una pequeña cantidad de solución salina estéril, se ajustó el pH entre 6,0 - 6,3 y se llevó a un baño de ultrasonido durante 10 – 15 minutos).

Se transfirió la solución completa a un balón volumétrico estéril y seco de 250 mL, se completó el volumen con solución salina estéril. Esta se denominó Solución de Prueba con una dilución 1:250.

Se mezcló muy bien la Solución de prueba agitando y se procedió a hacer diluciones en una serie de tubos conteniendo 9 mL de solución salina estéril, mediante el método de dilución serial. Se continuó la dilución serial hasta que el número teórico de ufc de la dilución estuvo entre 30 – 300 colonias por placa luego de la incubación. Para LactoSpore puro usualmente se requieren seis diluciones, para alimento terminado tres diluciones.

Se colocaron las diluciones para la siembra en un baño de agua a 75°C durante 30 minutos y se enfriaron inmediatamente hasta 45°C.

Se transfirió de a 1 mL de la dilución a sembrar en cinco cajas de Petri.

Se adicionaron de 15-20 mL de Agar GYE estéril (a 45°C) en cada caja de Petri. Se mezcló muy bien el contenido rotando en ambas direcciones. Se tuvo precaución de no derramar el contenido.

Luego que el medio se observó solidificado completamente, se invirtió la caja e incubó a 37°C por 48-72 horas. Se monitoreó la incubación cuidadosamente.

Luego de la incubación, se contaron las unidades formadoras de colonias usando cuenta colonias. Solo las placas con recuento entre 30 y 300 colonias fueron consideradas.

Se promediaron los números de colonias para todas las placas y se multiplicaron por el factor de dilución. Esto representa el recuento de las esporas viables de *Bacillus Coagulans* por gramo de producto terminado.

Se aplicó la siguiente forma de Cálculo

$$\text{Recuento de esporas viables } \textit{Bacillus Coagulans}/\text{g} = \frac{C*250*10^n}{P}$$

C = # de colonias contadas en la placa de Petri.

10ⁿ = Es el factor de dilución donde se encontró un recuento entre 30 y 300 UFC.

P= Es el peso tomado de la muestra en gramos.

Para garantizar que el *Bacillus Coagulans* estaba en el producto antes de ser sometido al tratamiento térmico se realizó un análisis de recuento de *Bacillus Coagulans* en los tres sabores de compota antes de proceso térmico de Higienización por UHT.

5. Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva (promedios, desviaciones estándar y coeficientes de varianza) de los análisis que así lo permitían como los análisis fisicoquímicos y microbiológicos, posteriormente se realizó estadística diferencial por test de Anova para mirar diferencias estadísticamente significativas especialmente en la viabilidad del *Bacillus Coagulans* en la compota, también se realizaron gráficos tipo radar y de dispersión. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó Statgraphic y Excel.

6. Resultados

6.1 Resultados de las pruebas fisicoquímicas de las compotas elaboradas antes de ser sometidas a proceso de higienización.

6.1.1 Datos de viscosidad

Los resultados indicaron que las compotas cumplían con la especificidad de viscosidad para ser sometidas al ultrapasteurizador, la cual no podía ser mayor de 2000 cp. Ver tabla 16.

Tabla 16 Resultado Viscosidad promedio (cp) de cada sabor de compota antes de proceso de Higienización mediante UHT

Sabor Compota	Viscosidad promedio (cp)
Ahuyama	302,24
Zanahoria	494,70
Breva	631,25

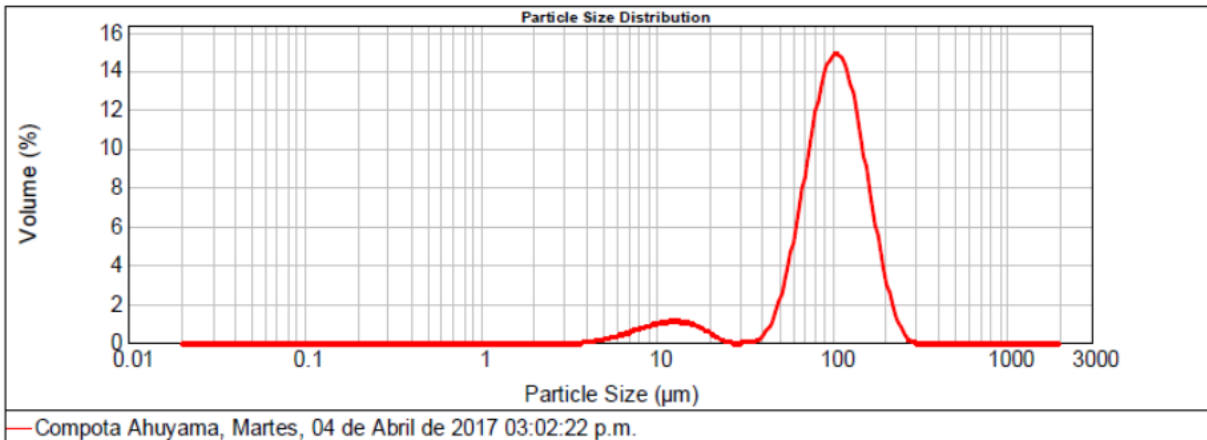
Se puede observar que las viscosidades encontradas están por debajo de 2000 cp.

La compota de breva fue la que mayor viscosidad reportó, sin embargo, esta se encontraba por debajo de lo exigido para el equipo.

6.1.2 Resultado Análisis de Tamaño de Partícula

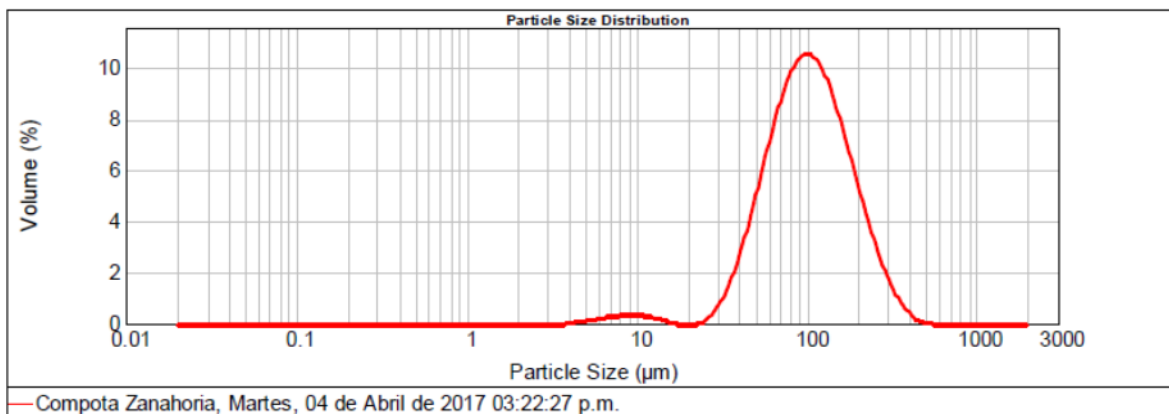
En las figuras 8, 9 y 10 se muestra la distribución de los tamaños de partícula de las diferentes compotas.

Figura 8. Distribución de tamaño de partícula para la compota sabor Ahuyama

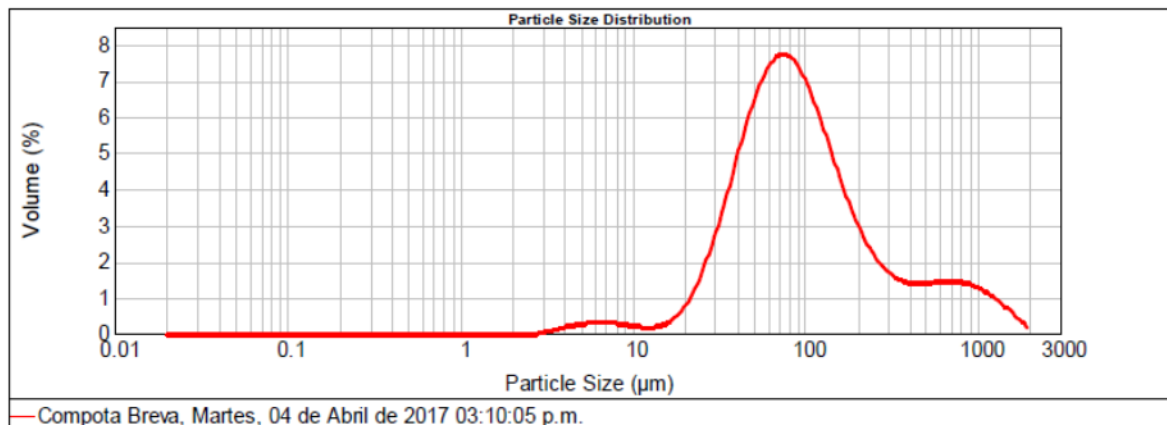


En el gráfico se observa que la mayor cantidad de partículas se encontró alrededor de 100 μm de tamaño de partícula equivalente a 0,1 mm, lo cual es indicativo de que podía ser sometida al ultrapasteurizador cuyo tamaño de partícula máximo debía ser 1,5 mm.

Figura 9. Distribución de tamaño de partícula para la compota sabor Zanahoria



En la compota de zanahoria y a través del gráfico también se observó que la mayor cantidad de partículas se encontró alrededor de 100 μm de tamaño de partícula equivalente a 0,1 mm, lo que indicó que también podría ser sometida al ultrapasteurizador.

Figura 10. Distribución de tamaño de partícula para la compota sabor Breva

Al observar la curva del gráfico en la compota de Breva, se evidenció que la mayor cantidad de partículas se encontró alrededor de 87,5 μm de tamaño de partícula equivalente a 0,875 mm. El tamaño de partícula de esta compota fue mucho mayor que el de las otras dos, sin embargo, siguió estando bajo los parámetros para poder ser sometido al ultrapasteurizador.

6.1.3 Resultado Análisis de pH en los tres sabores de compota

Tabla 17 Resultado Análisis de pH en los tres sabores de compota

Sabor compota	Promedio pH
Ahuyama	6,8
Breva	6,2
Zanahoria	7,4

Los valores reportados indican que los tres productos presentan un pH tipo neutro, la que más pH tiene es la compota de zanahoria, sin embargo según lo indicado por la literatura; el *Bacillus coagulans* resiste hasta pH de 1 (Bora et al., 2009) por lo anterior

en todos los productos se puede indicar que no habrá interferencia por el pH para su sobrevivencia.

6.1.4 Resultados Análisis de grados Brix en los tres sabores de compota

Tabla 18 Resultados Análisis de grados Brix en los tres sabores de compota

Sabor Compota	Promedio grados Brix
Ahuyama	31,8
Breva	18,0
Zanahoria	30,5

Con relación a los grados brix, la compota que mayor contenido reporta es la ahuyama, seguido de la zanahoria y luego la breva, aunque esta última muestra un valor de grados brix del casi un 42% por debajo en comparación con las otras dos; no obstante según la exigencia de la normatividad Codex Alimentarius que indica cuales deben ser los grados Brix mínimos para considerar un alimento como compota (< 60), los tres productos cumplen (Fao/Oms & Codex, 2004).

6.1.5 Resultado del Análisis de Recuento de Bacillus Coagulans en los tres sabores de compota antes de proceso térmico de Higienización por UHT

Tabla 19 Resultado del Análisis de Recuento de Bacillus Coagulans en los tres sabores de compota antes de proceso térmico de Higienización por UHT.

Sabor compota	Promedio (ufc)
Ahuyama	10600000
Breva	9500000
Zanahoria	9700000

6.2 Resultados de las pruebas de calidad a las compotas elaboradas después de haber sido sometidas a proceso de Higienización.

6.2.1 Resultados Microbiológicos

En las siguientes tablas se reportan los resultados microbiológicos pertinentes a cada compota, que nos permiten indicar que es un alimento apto para ser suministrado a la población infantil, sin repercusiones de salud por contaminación microbiana al ser sometidas a tratamiento térmico.

Tabla 20 Resultados microbiológicos de cada sabor de compota: Ahuyama, Brevia y Zanahoria según ente reglamentario Invima

Parámetro	Unidad	Compota Ahuyama	Compota Brevia	Compota Zanahoria
Mesófilos	ufc/ml	0	0	0
Coliformes totales	ufc/ml	0	0	0
Coliformes fecales	ufc/ml	0	0	0
Mohos y levaduras	ufc/ml	0	0	0
<i>Salmonella sp</i>	Presencia o ausencia/25 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus sp</i>	ufc/ml	0	0	0
<i>Bacillus cereus</i>	ufc/ml	0	0	0
<i>Clostridium sulfito reductor</i>	ufc/ml	0	0	0
<i>Pseudomonas sp</i>	ufc/ml	0	0	0

Con los anteriores resultados se da constancia del cumplimiento de la resolución 11488 que trata la inocuidad en alimentos para lactantes y de la NTC 1474 que da las pautas y referencia los métodos microbiológicos aplicados en las compotas elaboradas. Así mismo como a la especificación del Invima para un producto alimentario.

6.2.2 Resultados Análisis Bromatológico

Los resultados bromatológicos se muestran en la tabla 21

Tabla 21 Resultados del análisis bromatológico de las compotas

PRODUCTO	CENIZAS	HUMEDAD	GRASA	PROTEÍNA	FIBRA TOTAL	CALORÍAS	CARBOHIDRATOS
	TOTALES	(%)	TOTAL (%)	TOTAL (%)	(%)	Kcal/g	TOTALES
	(%)	(Promedio)	(Promedio)	(Promedio)	(Promedio)	(Promedio)	
	(Promedio)						
AHUYAMA	2,45	12,45	0,87	2,16	1,98	3,9	0,06
SD	0,07	0,05	0,07	0,1	0,09	0,61	0,01
CV	0,003	0,002	0,003	0,003	0,005	0,25	0,00
BREVA	1,42	10,97	0,49	1,42	1,5	3,7	0,09
SD	0,05	0,21	0,10	0,04	0,07	0,26	0,00
CV	0,002	0,03	0,01	0,001	0,003	0,05	0,00
ZANAHORIA	1,36	11,74	0,28	1,1	0,95	3,2	0,12
SD	0,09	0,06	0,02	0,12	0,08	0,17	0,02
CV	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00

Los resultados bromatológicos indican que el mayor contenido nutricional lo tiene la compota de ahuyama, le sigue la breva y finalmente la zanahoria, donde la compota de

ahuyama dobla el contenido de proteínas y grasa total de las otras dos compotas. Además, la compota de ahuyama presenta el mayor % de fibra y valor calórico; lo cual propiciaría mejores condiciones de vida para el probiótico según revisión de la literatura científica (Julie S Jurenka, 2012);(Sharma Shiwani, Anshul dutt Sharma, 2011); (Majeed & Kamarei, 2012) y (Majeed et al., 2016).

Tabla 22 Resultado test Anova entre el % porcentaje de fibra y el valor de las calorías y el % porcentaje de fibra y el % de carbohidratos de los tres sabores de compota: ahuyama, breva y zanahoria

Parámetro	F	Probabilidad p	Valor crítico para F	Parámetros	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Fibra y calorías	149567	6,01E-26	4,75	% Fibra y carbohidratos	2708,29	1,66E-15	4,74

Mediante el análisis de test de Anova para % de fibra y valor de calorías se obtiene un valor de P ($6,01E^{-26}$) menor al valor de referencia $P= (0,05)$, lo que indica que si se presenta diferencias entre los valores de fibra y calorías de las tres compotas como se observa en la tabla 21.

Para el caso del análisis del test de Anova entre el % de fibra y valor de carbohidratos se obtiene un valor de P ($1,66E^{-15}$) menor al valor de referencia $P= (0,05)$, presentando diferencias entre los valores de fibra y carbohidratos de las tres compotas lo cual influyó en la sobrevivencia del *B. Coagulans* (Julie S Jurenka, 2012); (Sharma Shiwani, Anshul dutt Sharma, 2011), (Majeed & Kamarei, 2012) y (Majeed et al., 2016)

Respecto a los requerimientos nutricionales esperados para un alimento para lactante, de acuerdo a la normativa colombiana, los contenidos de interés tales como % proteínas, grasas y calorías; los tres productos cumplen (ver tabla 21). Esto se puede afirmar, pues

los contenidos reportados de proteína y grasa se mantiene entre los valores equivalentes para 100 calorías según indica la normatividad, los cuales fueron de 3,9 Kcal/g para la ahuyama, 3,7 Kcal/g en breva y 3,2 Kcal/g en zanahoria (Tambakhe M.K, 2014).

6.2.3 Análisis Sensorial

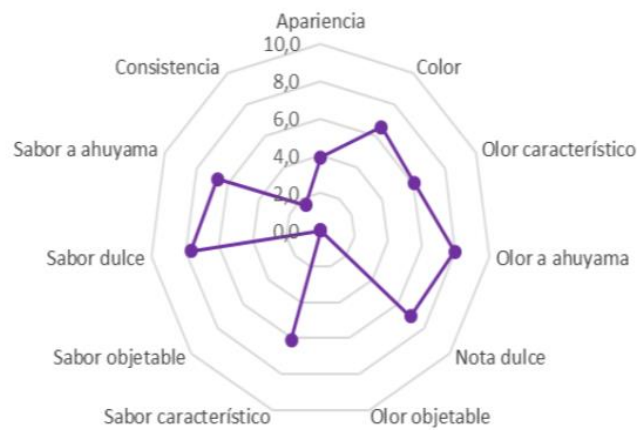
Los resultados son reportados en la tabla 23, emitidas por el laboratorio de análisis sensorial del INTAL en conjunto con los correspondientes gráficos de radar, reportados por el mismo laboratorio. Ver gráficos 1,2 y 3

Tabla 23 Resultados del Análisis Sensorial de la Compota sabor Ahuyama, Brevia y Zanahoria

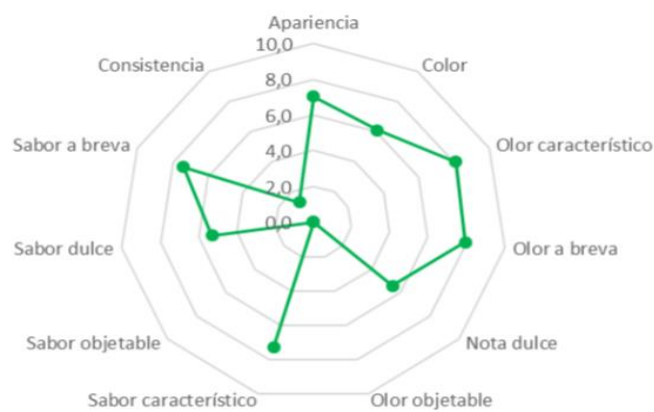
<i>Descriptor</i>	<i>compota</i>	<i>Ahuyama</i>	<i>compota</i>	<i>Brevia</i>	<i>compota</i>	<i>Zanahoria</i>
	Calificación	Intensidad	Calificación	Intensidad	Calificación	Intensidad
Apariencia	3,9	Leve	7,0	Marcada	5,5	Moderada
Color	6,6	Moderada	6,1	Moderada	8,2	Marcada
Olor	6,1	Moderada	8,1	Marcada	5,8	Moderada
característico						
Olor a ahuyama	8,0	Marcada	7,9	Marcada	4,8	Leve
Nota Dulce	7,0	Marcada	5,4	Moderada	7,3	Marcada
Olor objetable	0,0	Ausente	0,0	Ausente	0,0	Ausente
Sabor	6,1	Moderada	7,3	Marcada	6,0	Moderada
característico						
Sabor Objetable	0,0	Ausente	0,0	Ausente	0,0	Ausente
Sabor dulce	7,7	Marcada	5,3	Moderada	7,1	Marcada
Sabor a	6,7	Moderada	7,4	Marcada	4,9	Leve
ahuyama						

Consistencia	1,6	Muy Leve	1,3	Leve	2,5	Muy Leve
Calidad	5,1	Media	6,7	Media	5,8	Media
Sensorial						
Aceptación/ Rechazo	A= 50%	R= 50%	A= 100%		A= 100%	

Gráfica 1. Promedios de las intensidades de los descriptores sensoriales para la muestra de compota de ahuyama



Gráfica 2. Promedios de las intensidades de los descriptores sensoriales para la muestra de compota breva



Gráfica 3. Promedios de las intensidades de los descriptores sensoriales para la muestra de compota de zanahoria.



En la compota de ahuyama se llegó al consenso de que su consistencia era muy leve, es decir baja viscosidad y que su apariencia también, es decir fluida. Esto también se observó claramente en el gráfico de radar donde se puede ver que estas características por tener un valor menor cambian. Sin embargo, este grupo de expertos queda dividido en la decisión final ya que su veredicto es un 50% de aceptación y un 50% de rechazo. Los demás descriptores tales como sabor y calidad fueron aceptables (Ver gráfica 1).

En la compota de Breva, la aceptación por este grupo de expertos es del 100%, Indicando con ello que tanto las características como la consistencia fueron poco relevantes o más aceptables para ellos. Importantes descriptores como la apariencia, el sabor a breva superaron con buen puntaje la calificación y la intensidad en términos de sabor.

La compota de zanahoria también tuvo una aceptación de 100% en el consenso, sin embargo, la calificación de su consistencia fue evaluada como leve en términos de fluidez, así como el olor a zanahoria y el sabor al mismo.

La normatividad mencionada en este documento, respecto a los requerimientos nutricionales no especifica características especiales relativas a lo sensorial. Sin embargo, si se entiende por ejemplo a través del Codex Alimentarius que la compota debe saber a fruta de la que fue elaborada; debido a que los sabores dulces son los que conquistan el gusto de un bebé. Las compotas elaboradas presentan leve sabor dulce por provenir de verduras cuyo sabor puede tender a ser neutro como en el caso de la ahuyama y levemente dulce como en el caso de la zanahoria y de un fruto con un leve sabor a dulce como lo es la breva.

Por los resultados expuestos, los tres sabores de compota breva, ahuyama y zanahoria podrían catalogarse y ser aceptados por la población infantil en términos de normativa sensorial extrapolados hacia el gusto sensorial de un bebé lactante (Prchalová, Cizkova, Sevcik, Hanusova, & Rajchl, 2016)

6.2.4 Variación del pH y la viscosidad

Durante el tiempo de estudio la viscosidad de las compotas se mantuvo constante ver tabla 24.

La viscosidad de las compotas de ahuyama y breva muestran un aumento en el tiempo y para la compota de zanahoria los valores de viscosidad mostraron una disminución en el tiempo.

Tabla 24 Comportamiento de las viscosidades en los tres sabores de compota durante los días de estudio de vida útil.

Día	Viscosidad promedio (cp) Compota Ahuyama R=2 sp= 60 rpm			Viscosidad promedio (cp) Compota Brevia R=2 sp= 60 rpm			Viscosidad promedio (cp) Compota Zanahoria R=3 sp= 60 rpm		
	SD _{CA}	CV _{CA}		SD _{CB}	CV _{CB}		SD _{CZ}	CV _{CZ}	
0	98,3	1,53	2,33	113,6	1,15	1,33	634,7	1,53	2,33
15	117,8	1,25	1,58	122,8	0,29	0,08	508,7	1,15	1,33
30	121,5	0,5	0,25	124,8	1,61	2,58	482,7	1,15	1,33
45	122,8	0,76	0,58	129,2	0,29	0,08	458,7	1,15	1,33
60	126,7	1,04	1,08	129,2	0,76	0,58	461,7	1,53	2,33
75	130,7	0,29	0,08	128,7	0,6	0,3	461	1,53	3
90	130,3	0,6	0,3	127	0,5	1,75	466,3	1,54	1,33

SD=Desviación Estándar - CV=Coeficiente de Variación - CA= Compota Ahuyama
CB=Compota Brevia - CZ=Compota Zanahoria

Tabla 25 Comportamiento del pH en los tres sabores de compota durante los días de estudio de vida útil.

Día	pH Compota Ahuyama			pH Compota Brevia			pH Compota Zanahoria		
	SD _{CA}	CV _{CA}		SD _{CB}	CV _{CB}		SD _{CZ}	CV _{CZ}	
0	6,8	0,3	0,09	6,2	0,1	0,0	7,4	0,1	0,0
15	6,2	0,1	0,0	6,2	0,1	0,0	7,3	0,0	0,0
30	6,0	0,0	0,0	6,0	0,0	0,0	6,9	0,1	0,01

45	6,0	0,0	0,0	5,6	0,0	0,0	5,7	0,1	0,0
60	6,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	5,8	0,0	0,0
75	5,4	0,2	0,0	5,0	0,0	0,0	6,0	0,0	0,0
90	5,4	0,1	0,0	5,0	0,0	0,0	6,0	0,0	0,0

Sin embargo, en el comportamiento de pH de las tres compotas en el tiempo todas tendieron hacia el rango ácido de la escala de pH (ver tabla 25), dando indicio de una posible liberación de ácido láctico producido por el probiótico al degradar los azúcares de las frutas y verduras (J S Jurenka, 2012). En la literatura no se encontró información similar relacionada con el desarrollo de una compota con contenido de probióticos, pero sí que el medio ácido es el más propicio para la sobrevivencia del *Bacillus Coagulans* (Bora et al., 2009), lo cual favorecería la permanencia del probiótico en los tres sabores de compota.

6.2.5 Resultados Análisis grados Brix en el tiempo de estudio de vida útil

Tabla 26 Comportamiento en el tiempo de los grados Brix de los tres sabores de compota

Día	° Brix		° Brix		° Brix	
	<i>promedio</i>		<i>promedio</i>		<i>promedio</i>	
	<i>compota</i>	<i>SD_{CA}</i>	<i>compota</i>	<i>SD_{CB}</i>	<i>compota</i>	<i>SD_{CZ}</i>
	<i>Ahuyama</i>		<i>Breva</i>		<i>Zanahoria</i>	
	<i>(CA)</i>		<i>(CB)</i>		<i>(CZ)</i>	
0	31,8	0,25	18	0	30,5	0,5
15	31,8	0,25	18,2	0,25	31,3	0,25

30	31,9	0,1	18,2	0,25	30,3	0,25
45	31,8	0,16	18	0	30,5	0
60	31,6	0,15	18	0	30,5	0
75	31,8	0	18	0	30,5	0
90	31,8	0	18	0	31	0

El parámetro de grados Brix fue una condición fisicoquímica que permaneció constante para todas las compotas. Por consiguiente, este valor no influyó directamente sobre el comportamiento del probiótico en la compota, pero da constancia de cumplimiento a las normativas NTC 1474 según método AOAC 932.14 y al Codex Alimentarius en las que se indica que los grados Brix tienen una relación directa con la concentración de fruta y que este debe estar entre 14 y 60 ° Brix para garantizar el mínimo contenido de este componente

6.2.6 Resultado Análisis Recuento *Bacillus Coagulans* en el tiempo de estudio de vida útil

Los primeros resultados son los análisis del ensayo N°1, realizados en el laboratorio de microbiología de la Corporación Universitaria Lasallista, en estos se puede observar la cantidad de unidades formadoras de colonias por mL (ufc/mL) que fueron encontradas en las muestras analizadas en cada compota durante los días: 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90.

En la tabla 27 se consigna el contenido del *Bacillus Coagulans*, en el que las muestras de compota tuvieron un recuento positivo, como se puede observar en el día 0 de la ahuyama (1750350 ufc), en el día 45 para la breva (2173593 ufc) y en el día 75 de la

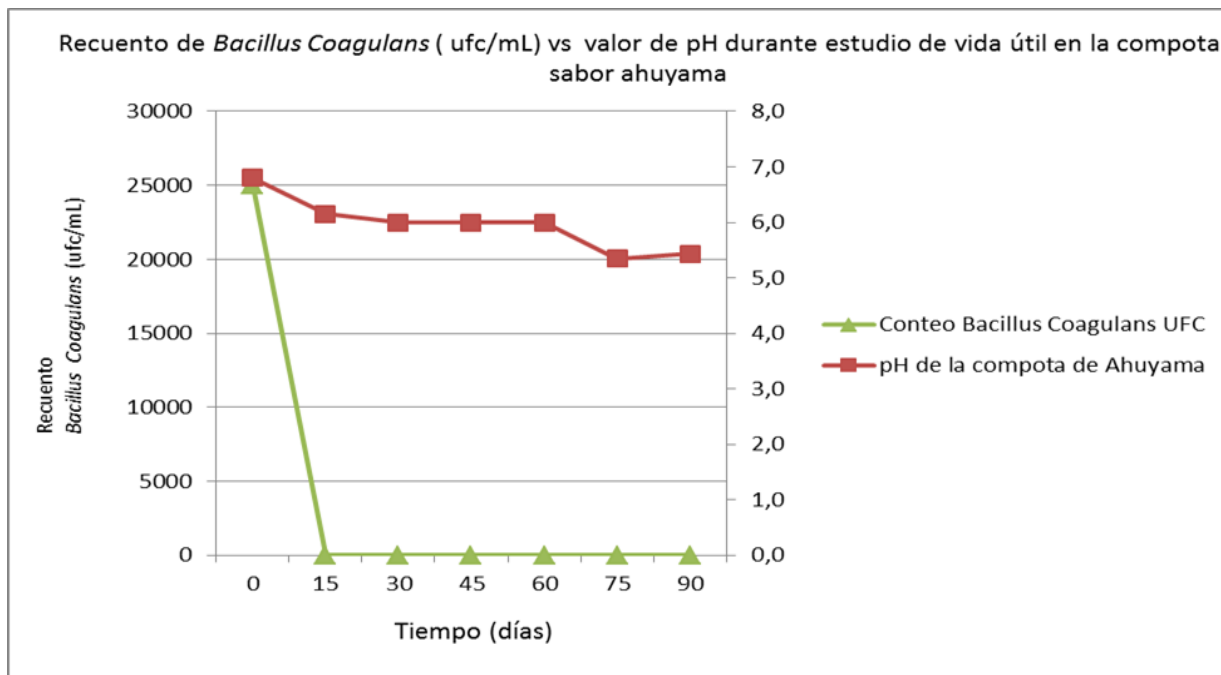
zanahoria (490350 ufc) siendo la compota de zanahoria la concentración en ufc/mL de mínima cantidad de probióticos exigido por la normatividad.

Tabla 27 Resultados Recuento de Bacillus Coagulans durante el estudio de vida útil

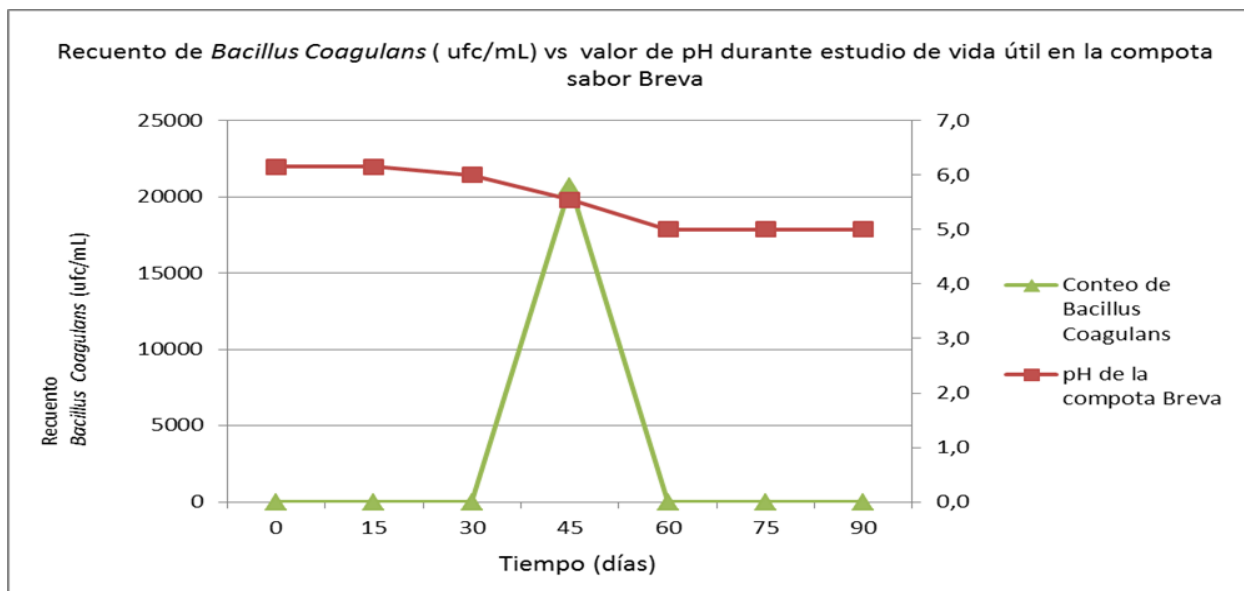
Día	Recuento	Recuento	Recuento
	Compota Ahuyama ufc promedio	Compota Breva ufc promedio	Compota Zanahoria ufc promedio
0	1750350		3500
15			
30			
45		2173593	
60			
75			490350
90			

El reporte de estos valores de vida útil del *Bacillus Coagulans*, en el cual se puede observar un comportamiento no coherente al crecimiento o muerte de un microorganismo, donde inicialmente no hay presencia de este, pero con el tiempo en algunos de los productos se vio crecimiento y luego nuevamente no hubo presencia de estos, llevo a suponer en una correlación entre el pH y el crecimiento o muerte del probiótico. A continuación, se muestran las gráficas de correlación.

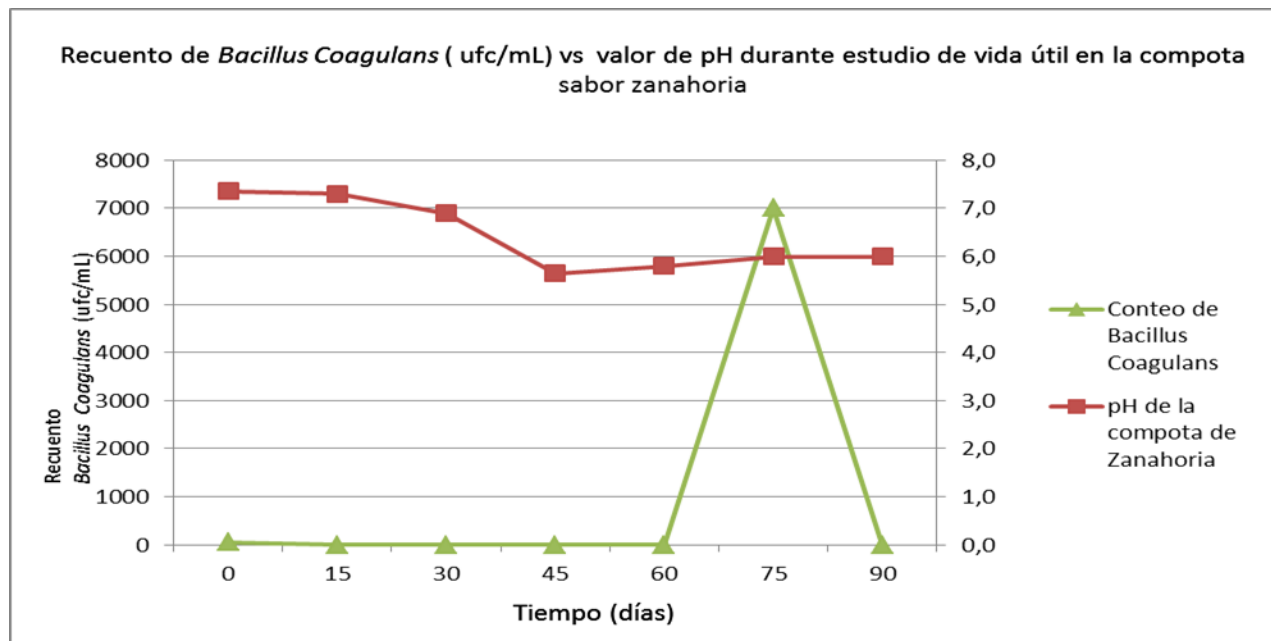
Gráfica 4. Comparación recuento de *Bacillus Coagulans* (ufc/mL) vs el pH de la compota sabor ahuyama.



Gráfica 5. Comparación Recuento de *Bacillus Coagulans* (ufc/mL) vs el pH de la compota sabor breva.



Gráfica 6. Comparación Recuento de *Bacillus Coagulans* (ufc/mL) vs el pH de la compota sabor zanahoria.



A partir de los gráficos 4, 5 y 6 se observa el contraste entre la curva de pH y el recuento de *Bacillus Coagulans*. Estos gráficos se realizaron con el objetivo de evaluar la relación entre el pH presente de las compotas en el tiempo vs concentración de probiótico *Bacillus Coagulans*, permitiendo evidenciar que las variaciones de pH fueron muy ligeras como se muestra en la tabla 28, lo cual permite concluir que los valores de pH de las tres compotas son muy similares, ya que el valor de P obtenido es (0,0544); indicando con ello que el pH no afectó la sobrevivencia del probiótico.

Tabla 28 Test anova para los pH de los tres sabores de compota

Parámetro	F	Probabilidad P	Valor crítico para F
pH de los tres sabores de compotas	3,55	0,0544	3,68

En este primer ensayo, los resultados obtenidos mediante el recuento de *Bacillus Coagulans* en el estudio de vida útil, se observó ausencia en la mayoría de los tiempos; por lo tanto, considerando que el procedimiento microbiológico utilizado por el laboratorio no fue el más apropiado (Majeed et al., 2018). Dado que, los resultados reportados por la empresa fabricante del probiótico (Corporación Sabinsa) son por la aplicación de otro método de recuento de esporas de *Bacillus Coagulans*, el cual es validado y certificado por la empresa fabricante (procedimiento mencionado en el numeral 5.)

Debido a las diferencias de los resultados emitidos por el Laboratorio de la Corporación U. Lasallista y al comparar el protocolo empleado por ellos y el que indica la empresa fabricante del *Bacillus Coagulans*, se tomó la decisión de verificar la presencia del microorganismo con el método enviado por la Corporación Sabinsa en otro laboratorio de microbiología.

Los resultados de este ensayo N°2 se caracterizaron principalmente porque el recuento de ufc de *Bacillus Coagulans* se realizó bajo los parámetros metodológicos de la empresa fabricante Corporación Sabinsa.

6.3 Resultados Ensayo N°2 aplicando procedimiento microbiológico para *Bacillus Coagulans* certificado por la empresa fabricante Corporación Sabinsa.

6.3.1 Recuento previo de *Bacillus Coagulans* realizado en otro laboratorio de microbiología

Este análisis microbiológico se hizo aplicando el procedimiento mencionado en el numeral 5. El recuento de esporas promedio encontrado es el siguiente:

Tabla 29 Recuento previo de Bacillus Coagulans

RECUESTO	UFC <i>Bacillus coagulans</i> / g
Recuento de <i>B. coagulans</i> en agar GYE	5625000

Debido a que en este procedimiento no se agregó la solución de minerales, los valores reportados son menores al que se esperaba obtener, además de que la prueba no estaba certificada y menos acreditada, por consiguiente, se consideró pertinente realizar la prueba en un laboratorio que si tuviera el procedimiento certificado y validado mediante acreditación.

6.4 Resultados Ensayo N°3 aplicando procedimiento microbiológico para *Bacillus Coagulans* certificado por un laboratorio acreditado y certificado con el método enviado por la empresa Sabinsa.

Se consideró pertinente realizar recuento del Bacillos *Coagulan* en el laboratorio certificado y acreditado, antes de ser sometido nuevamente al proceso de higienización, lo datos se ven en la tabla 30

6.4.1 Recuento de *Bacillus Coagulans* antes de proceso térmico de higienización

Tabla 30 Concentraciones iniciales del Bacillus Coagulans en cada compota antes de aplicar proceso de higienización

Sabor compota	Recuento promedio (ufc)
Ahuyama	275000000

Breva	98000000
Zanahoria	280000000

El recuento de las unidades formadoras de colonia de *Bacillus coagulans* en cada sabor de compota superó la concentración probiótica mínima exigida (1000000 ufc), antes de ser sometido al proceso de higienización.

6.4.2 Recuento de *Bacillus Coagulans* en el laboratorio certificado y acreditado después de proceso térmico de higienización

Después de aplicar el proceso térmico de higienización como se mencionó en el ítem 3.4, se realizó no solo la determinación del *Bacillus Coagulans* con presencia de ufc en el día 0 en Ahuyama de (120000000 ufc), Zanahoria de (110000000 ufc) y Breva de (1800000 Ufc), si no también recuento de microorganismos patógenos según la legislación ya mencionados, para garantizar que las compotas tuvieron el mismo tratamiento térmico y que son aptas de ser suministradas a la población, la tabla 31 muestra los datos microbiológicos que indican que los productos son aptos para el consumo humano.

Tabla 31 Resultados microbiológicos de los tres sabores de compota: ahuyama, breva y zanahoria en el segundo ensayo

Parámetro	Unidad	Compota	Compota	Compota
		Ahuyama	Breva	Zanahoria
Mesófilos	ufc/ml	0	0	0
Coliformes totales	ufc/ml	0	0	0

Coliformes fecales	ufc/ml	0	0	0
Mohos y levaduras	ufc/ml	0	0	0
<i>Salmonella sp</i>	Presencia o ausencia/25 ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus sp</i>	ufc/ml	0	0	0
<i>Bacillus cereus</i>	ufc/ml	0	0	0
<i>Clostridium sulfito reductor</i>	ufc/ml	0	0	0
<i>Pseudomonas sp</i>	ufc/ml	0	0	0

Igualmente se determinaron los valores de grados Brix para cada sabor de compota durante los 90 días nuevamente y se corroboró de nuevo que este parámetro fisicoquímico es una constante durante los 90 días en cada sabor de compota.

Es decir, no presentó ninguna variación que implicara que las compotas sufrieran algún tipo de desestabilización respecto a esta característica. Observar tabla 32.

Tabla 32 Comportamiento en el tiempo de los grados Brix de los tres sabores de compota

Día	° Brix	° Brix	° Brix
	<i>promedio</i>	<i>promedio</i>	<i>promedio</i>
	<i>compota</i>	<i>compota</i>	<i>compota</i>
	<i>Ahuyama</i>	<i>Breva</i>	<i>Zanahoria</i>
	<i>(CA)</i>	<i>(CB)</i>	<i>(CZ)</i>
	<i>SD_{CA}</i>	<i>SD_{CB}</i>	<i>SD_{CZ}</i>

0	32	0	18	0	31	0
15	31,8	0,1	18,3	0	31,4	0,1
30	31,8	0,1	18,2	0	30,8	0
45	31,7	0,1	18	0	30,8	0
60	31,8	0	18	0	30,8	0
75	31,8	0	18	0	30,8	0
90	31,8	0	18	0	30,8	0

Tabla 33 Comportamiento del pH en los tres sabores de compota durante los días de estudio de vida útil correspondiente al segundo ensayo

Día	pH Compota Ahuyama			pH Compota Breva			pH Compota Zanahoria		
	SD_{CA}	CV_{CA}		SD_{CB}	CV_{CB}		SD_{CZ}	CV_{CZ}	
0	6,9	0,1	0,01	6,3	0,0	0,0	7,5	0,0	0,0
15	6,1	0,1	0,0	6,3	0,1	0,0	7,4	0,0	0,0
30	6,0	0,1	0,0	6,0	0,0	0,0	7,0	0,0	0,0
45	6,0	0,0	0,0	5,5	0,0	0,0	5,7	0,1	0,0
60	6,0	0,1	0,0	5,0	0,1	0,0	5,7	0,0	0,0
75	5,2	0,1	0,0	5,0	0,1	0,0	5,8	0,1	0,0
90	5,2	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	5,9	0,1	0,0

Los resultados obtenidos durante la verificación del pH en estos 90 días muestran disminución de pH al paso del tiempo. Estas condiciones de pH durante los 90 días indicaron que la supervivencia del probiótico no estuvo afectada por el pH debido a que

este soporta hasta límites de pH 1 (Bora et al., 2009). El aumento del carácter ácido puede deberse al hecho de que este probiótico también es productor de ácido láctico en un menor grado que otras bacterias (Pandey & Vakil, 2016).

El test de anova de la tabla 34, permite volver a concluir que los valores de pH entre las tres compotas son similares, es decir que no hay diferencias significativas entre ellos ya que el valor de $P=0,1$ fue mayor a $P= 0,05$.

Tabla 34 Test de anova entre los valores de pH de los tres sabores de compota: ahuyama, breva y zanahoria

Parámetro	F	Probabilidad	Valor crítico para F
pH de los tres sabores de compota	2,64	0,1	3,68

La tabla 35 muestra los resultados de viscosidad de las compotas utilizadas como un indicativo de las condiciones fisicoquímicas de cada una de ellas, respecto a la estabilidad coloidal y la uniformidad del producto; la cual es una característica que se refleja netamente en su apariencia. Este comportamiento es similar al encontrado en el primer ensayo.

Tabla 35 Comportamiento de la viscosidad en los tres sabores de compota durante los días de estudio de vida útil correspondiente al segundo ensayo

Día	Viscosidad			Viscosidad			Viscosidad		
	promedio			promedio			promedio		
	(cP)			(cP)			(cP)		
	R=2 sp= 60			R=2 sp= 60			R=3 sp= 60		
	rpm	SD _{CA}	Cv _{CA}	rpm	SD _{CB}	Cv _{CB}	rpm	SD _{CZ}	Cv _{CZ}
	Compota			Compota			Compota		
	Ahuyama			Brevia			Zanahoria		

0	99	1,0	1,0	114	1,0	1,0	635,3	0,6	0,3
15	118,2	1,8	3,1	123	0,0	0,0	510	0,0	0,0
30	122	1,0	1,0	125,2	1,0	1,1	483	0,0	0,0
45	123	0,0	0,0	128	0,6	0,3	460	0,0	0,0
60	127	1,0	1,0	128	0,6	0,3	461	1	1
75	129	0,0	0,0	128,3	0,6	0,3	462	0,0	0,0
90	131	0,0	0,0	128	0,3	0,3	464	1	1

6.4.3 Estudio de la viabilidad o permanencia de *Bacillus Coagulans* en cada compota durante 90 días bajo el método emitido por la empresa Corporación Sabinsa y en un laboratorio acreditado para esta prueba.

El recuento de *Bacillus Coagulans* se hizo en los siguientes tiempos 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días, para determinar su viabilidad en los tres productos.

Tabla 36 Recuento de Bacillus Coagulans durante 90 días durante el estudio de vida útil

Tiempo (día)	0	15	30	45	60	75	90
Compota Ahuyama							
ufc (promedio)	120000000	54032000	24328700	10954400	4932400	2220800	1000000
Compota Zanahoria							
Ufc (promedio)	110000000	22473900	4591600	938100	191700	39100	8000
Compota Brevia							

ufc (promedio)	1800000	693700	267400	103000	39700	15300	5900
-------------------	---------	--------	--------	--------	-------	-------	------

Los recuentos microbiológicos de *Bacillus Coagulans* reportados por el laboratorio Tecnimicro (laboratorio en el cual se hicieron las pruebas del ensayo 3) indican presencia del probiótico durante todo el estudio de vida útil de las compotas.

Mediante los recuentos microbiológicos de *Bacillus Coagulans* reportados por el laboratorio Tecnimicro (laboratorio donde se hicieron los recuentos del ensayo 3) indican presencia del probiótico durante todo el estudio de vida útil de las compotas. Se observó que hubo recuentos de este probiótico en cada periodo de días, esto es un indicativo de la eficiencia y confiabilidad del procedimiento microbiológico.

Los resultados indican que la vida útil de las compotas referente al contenido del *Bacillus Coagulans* según lo estipulado por la normatividad como contenido mínimo (1000000 ufc.) para garantizar sus efectos fue: ahuyama 90 días, con un contenido de 1000000 ufc. En la compota de zanahoria hasta el día 45 con un contenido de 938100 ucf y la compota de breva hasta el día 15 con un contenido de 693700 ufc, sin embargo, este último valor no cumple con el mínimo exigido por la normatividad, lo que indica un período de viabilidad del microorganismo menor.

7. Discusión

El estudio y seguimiento de la calidad que se le hizo a las compotas permitió constatar que el atributo nutricional de éstas se ajusta a la normatividad de la resolución 11488 y la NTC 1474 en relación a su proceso de elaboración, en el que no se adicionaron conservantes, aromatizantes y viscosantes no permitidos por la norma y en las que predominó mayormente el porcentaje de fruta natural (Inarejos, Campos, Moya, & G., 2014).

Respecto a los análisis microbiológicos, a pesar de que la norma mediante resolución 11488 dicta que un alimento para lactante mayor de 6 meses debe ser esterilizado mediante esterilización comercial; se pudo evidenciar que con el proceso UHT aplicado en este preparado se consiguieron resultados que reportan buenos manejos de los ingredientes con inocuidad y asepsia durante el proceso para obtener como resultado un producto final elaborado apto para el consumo humano especialmente la población infantil, lo cual indica que no necesariamente un alimento para lactantes debe ser higienizado por esterilización, pues otros métodos más fáciles de ejecutar, pueden incluso conservar mejor las propiedades nutricionales y sensoriales del alimento. En estudios realizados en leche materna ya se ha visto que esta no es estéril (Schanler et al., 2011); (Gomez-Gallego, Garcia-Mantrana, Salminen, & Collado, 2016) y (Ma, Zhang, Guan, Ye, & Forney, 2011); lo cual lleva también a replantear las directrices actuales de la normatividad respecto a los métodos de higienización de los alimentos para lactantes. Además otros productos indicados para lactantes también son higienizados por otros procesos térmicos diferentes a la esterilización (Lin et al., 2018); (Trujillo-Cardenas et al., 2019); (Garcia-Villanova, Leon, Romera, Corzo, & Guerra-Hernandez, 2003); (Prchalová

et al., 2016) ; (Yasmeen, Nasreen, Usman, & Ali, 2014) y (Kusnandar et al., 2002); lo importante del método empleado para la higienización es que garantice inocuidad y sea apto para el consumo humano libre de patógenos. (Kusnandar et al., 2002) y (Micali et al., 2016).

Teniendo en cuenta nuevamente que el *Bacillus Coagulans* se caracteriza por ser capaz de soportar condiciones prácticamente extremas de temperatura, pH, composición de nutrientes y condiciones de almacenamiento (Keller et al., 2010) y (Xiaoyan Liu et al., 2015). Esto se debe a la formación de esporas de este probiótico lo cual le permite un comportamiento de cápsula que le permite protegerse de los ácidos gástricos y de la bilis para llegar intacto al intestino grueso y poder ejercer su acción (Jurenka, 2012 y Pandey et al., 2015). Esta capacidad del *Bacillus Coagulans* de formar esporas es la que le permite también sobrevivir a condiciones como a altas temperaturas, pH ácidos, condiciones extremas de almacenamiento entre otras (Majeed et al., 2018). Por lo anterior el tratamiento térmico mediante UHT al cual fue sometido la compota y el *Bacillus Coagulans*, no son temperaturas extremas para este microorganismo, pues las temperaturas máximas que soporta este es hasta 205°C (Majeed et al., 2016) y el tratamiento térmico de higienización tuvo temperaturas de 145 °C durante 5 segundos; igualmente las condiciones bajo las cuales se mantuvo el microorganismo en la compota estaban bajo las condiciones que permitieron su crecimiento y permanencia como lo son un pH ligeramente ácido.

Posiblemente lo que pudo afectar su viabilidad en el tiempo fue la baja concentración de nutrientes tales como azúcares que son los que realmente ayudan a su proliferación y mantenimiento, pues el estudio realizado por Majeed entre otros (Côté, Dion, Burguiere, Casavant, & Van Eijk, 2013); (R. Sudha & Jayanthi, 2009); (Jao, Huang, Wu, & Kuo-chiang, 2011) y (Majeed et al., 2016), en pan probiótico indicó que el contenido de carbohidratos en este producto estuvo entre 0,11% y 88,81%. Por ejemplo, un pan con probiótico marca Industria Perman comercializado en Colombia (Corporation, 2015a) (Kamarei, 2013) tiene entre 66 y 100% de carbohidratos, en comparación con los de las compotas que fueron 0,06% en la ahuyama, 0,09% en breva y 0,12% en zanahoria.

El punto de partido potencial para sentar la discusión de los resultados sobre la vida útil del bacillus Cuagulans, es el hecho de que se aplicaron dos procedimientos microbiológicos que conllevaron a la realización de dos ensayos cada uno a 90 días. Cada uno con una técnica totalmente diferente.

El primer procedimiento reporta datos no concluyentes respecto a la viabilidad del Bacillus por consiguiente se procedió a llevar el análisis de vida útil utilizando el procedimiento descrito por la empresa fabricante de la bacteria.

Este procedimiento permitió observar drásticas diferencias entre los métodos: Una diferencia de ellas es por ejemplo en el primer ensayo, que el laboratorio utilizó agar MRS mientras el método LactoSpore trabaja con medio de cultivo a base de agar extracto de glucosa levadura (GYE) complementado con una solución traza de minerales. Esto llevaría a pensar que este último caldo contiene muchos más nutrientes para el probiótico. Por consiguiente, esto pudo haber afectado la cuantificación del Bacillus

Coagulans, sobre todo porque los estudios de esta empresa fabricante; aplicando su método han reportado viabilidad del probiótico entre 90% y 99% en alimentos tales como: waffles, helados suaves y duros, aceite vegetal, mantequilla de maní, postres de fresa, jarabe de glucosa y jugo de manzana durante un periodo de 12 meses. (Majeed et al., 2016; Libreros & Jimenez, 2012 y Bora et al., 2009).

8. Conclusiones

- Desde la viabilidad del *Bacillus Coagulans* en el estudio de vida útil durante 90 días, se pudo concluir que las compotas pueden tener efecto funcional por el *Bacillus Coagulans* así: ahuyama hasta 90 días, zanahoria 30 días y breva sólo en el tiempo 0.
- Entre más alto fue el contenido de fibra y carbohidratos se vio más viabilidad de permanencia de *Bacillus Coagulans*.
- Desde el punto de vista nutricional y microbiológico (asepsia) el producto compota cumple con las características expuestas en el Codex Alimentarius y los solicitados por la normativa nacional.
- La pasteurización UHT para la elaboración de las compotas resultó ser un proceso apto para la preparación de un producto para lactantes.

9. Referencias

- Ackerberg, T. S., Labuschagne, I. L., & Lombard, M. J. (2012). The use of prebiotics and probiotics in infant formula. *South African Family Practice*, 54(4), 322–23. <http://doi.org/10.1080/20786204.2012.10874243>
- Aggarwal, J., Swami, G., & Kumar, M. (2013a). Probiotics and their effects on metabolic diseases: An update. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(1), 173–177. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2012/5004.2701>
- Al-Okbi, S. Y. (2014). Nutraceuticals of anti-inflammatory activity as complementary therapy for rheumatoid arthritis. *Toxicology and Industrial Health*, 30(8), 738–749. <http://doi.org/10.1177/0748233712462468>
- Araya, M., Morelli, L., Reid, G., Sanders, M. E., Stanton, C., Pineiro, M., & Ben Embarek, P. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. *Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*, 1–11. <http://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03873>
- Arena, M. P., Caggianiello, G., Fiocco, D., Russo, P., Torelli, M., Spano, G., & Capozzi, V. (2014). Barley B-glucans-containing food enhances probiotic performances of beneficial bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 3025–3039. <http://doi.org/10.3390/ijms15023025>
- Athalye-jape, G., Deshpande, G., Rao, S., & Patole, S. (2014b). Benefits of probiotics on enteral nutrition in preterm neonates : *American Journal of Clinical Nutrition*, 100(1), 1508–1519. <http://doi.org/10.3945/ajcn.114.092551.1>
- Bazukyan, I. L., Babayan, A. M., & Trchounian, A. (2013). Some properties of antibacterial component of lactic acid bacteria isolated from armenian dairy products. *Journal of Natural Sciences*, 2(21), 38–44.
- Bernardeau, M., & Vernoux, J. P. (2013). Overview of differences between microbial feed additives and probiotics for food regarding regulation, growth promotion effects and health properties and consequences for extrapolation of farm animal results to humans. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(4), 321–330. <http://doi.org/10.1111/1469-0691.12130>
- Bora, P. S., Puri, V., & Bansal, A. K. (2009). Physicochemical properties and excipient compatibility studies of probiotic *Bacillus coagulans* spores. *Scientia Pharmaceutica*, 77(3), 625–637. <http://doi.org/10.3797/scipharm.0904-01>
- Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., & Mahenthiralingam, E. (2013). The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS Microbiology Letters*, 349(2), 77–87. <http://doi.org/10.1111/1574-6968.12293>

- Bultman, S. J. (2014). Emerging roles of the microbiome in cancer. *Carcinogenesis*, 35(2), 249–255. <http://doi.org/10.1093/carcin/bgt392>
- Castellazzi, A. M., Valsecchi, C., Caimmi, S., Licari, A., Marseglia, A., Leoni, M. C., ... Marseglia, G. L. (2013). Probiotics and food allergy. *Italian Journal of Pediatrics*, 39, 47. <http://doi.org/10.1186/1824-7288-39-47>
- Celik, O. F., & O'Sullivan, D. J. (2013). Factors influencing the stability of freeze-dried stress-resilient and stress-sensitive strains of bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 96(6), 3506–16. <http://doi.org/10.3168/jds.2012-6327>
- Chandran, H., Jauhara, S., & T.R, D. K. (2016). Probiotic effect of Bacillus Coagulans, MBTU-P1F2 from infant faeces with a known probiotic. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 298–304.
- Chopde, S., Pawar, N., Kele, V., & Changade, S. (2014). Microencapsulation of probiotic bacteria of available techniques, focusing on biomaterials-a review. *Agricultural Reviews*, 35(4), 287. <http://doi.org/10.5958/0976-0741.2014.00916.7>
- Clauson, E. R., & Crawford, P. (2015). recommend a probiotic. *The Journal of Family Practice*, 64(3), 151–156.
- Closa-Monasterolo, R., Gispert-Llaurado, M., Luque, V., Ferre, N., Rubio-Torrents, C., Zaragoza-Jordana, M., & Escribano, J. (2013). Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: Results from a randomized clinical trial. *Clinical Nutrition*, 32(6), 918–927. <http://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.02.009>
- Corporation, S. (2015a). Discover Functional Food Formulas.
- Corporation, S. (2015b). GRAS Notification for Bacillus Coagulans spore preparation (Lactospore).
- Costa, M. P., Balthazar, C. F., Franco, R. M., Marsico, E. T., Cruz, a G., & Conte Junior, C. a. (2014). Changes on expected taste perception of probiotic and conventional yogurts made from goat milk after rapidly repeated exposure. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2610–2618. <http://doi.org/10.3168/jds.2013-7617>
- Côté, J., Dion, J., Burguiere, P., Casavant, L., & Van Eijk, J. (2013). Probiotics in Bread and Baked Products : *Cereal Foods World*, 58(6), 293 – 296.
- Cox, M. J., Huang, Y. J., Fujimura, K. E., Liu, J. T., McKean, M., Boushey, H. a., ... Lynch, S. V. (2010). Lactobacillus casei abundance is associated with profound shifts in the infant gut microbiome. *PLoS ONE*, 5(1). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0008745>

- Curtui, V. (2016). EFSA assessment of health claims on probiotics, (June). Retrieved from <https://www.probiotaamericas.com/wp-content/uploads/2016/06/IPAWCPBA-Dr-Valeriu-Curtui.pdf>
- Das, A., Ray, S., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2014). Microencapsulation of Probiotic Bacteria and its Potential Application in Food Technology. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 7(1), 47. <http://doi.org/10.5958/j.2230-732X.7.1.007>
- De Azevedo, M. S. P., Innocentin, S., Dorella, F. a., Rocha, C. S., Mariat, D., Pontes, D. S., ... Chatel, J. M. (2013). Immunotherapy of allergic diseases using probiotics or recombinant probiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 115(2), 319–333. <http://doi.org/10.1111/jam.12174>
- De Silva, D., Geromi, M., Panesar, S. S., Muraro, a, Werfel, T., Hoffmann-Sommergruber, K., ... Sheikh, a. (2014). Acute and long-term management of food allergy: systematic review. *Allergy*, 69(2), 159–67. <http://doi.org/10.1111/all.12314>
- De Vecchi, E., & Drago, L. (2006). Lactobacillus sporogenes or Bacillus coagulans: misidentification or mislabelling? *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 1(1), 3–10.
- Dobrucka, R. (2013). Application of active packaging systems in probiotic. *LogForum*, 9(3), 167–175.
- Dong, Q. Y., Chen, M. Y., Xin, Y., Qin, X. Y., Cheng, Z., Shi, L. E., & Tang, Z. X. (2013). Alginate-based and protein-based materials for probiotics encapsulation: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(7), 1339–1351. <http://doi.org/10.1111/ijfs.12078>
- Dutta, P., Mitra, U., Dutta, S., Rajendran, K., Saha, T. K., & Chatterjee, M. K. (2011). Randomised controlled clinical trial of Lactobacillus sporogenes (Bacillus coagulans), used as probiotic in clinical practice, on acute watery diarrhoea in children. *Tropical Medicine and International Health*, 16(5), 555–561. <http://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2011.02745.x>
- EFSA. (2013). Scientific Opinion on nutrient requirements and dietary intakes of infants and young children in the European Union. *EFSA Journal*, 11(10), 1–103. <http://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3408>
- England, P. H. (2015). Identification of Bacillus Species. *The Standards Unit*, (3), 1–27. <http://doi.org/ID 7>
- Fao/Oms, P. D. C., & Codex, C. Del. (2004). Norma codex para compotas, jaleas y mermeladas. *Vigésima Segunda Reunión, Washington, DC (área Metropolitana), Estados Unidos de América*, 4(d).

- FDA. (2009). Subpart D — Nutrient Requirements, 208–209.
- Ferreira, C. L., Salminen, S., Grzeskowiak, L., Brizuela, M. A., Sanchez, L., Carneiro, H., & Bonnet, M. (2011). Terminology concepts of probiotic and prebiotic and their role in human and animal health. *Revista de Salud Animal*, 33(3), 137–146.
- Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(5), 4745–4767. <http://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
- Fox, M. J., Ahuja, K. D. K., & Eri, R. D. (2013). Efficacy of Probiotics in the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhoea (Aad) in Children- a Review. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 8(2/3), 61–66. Retrieved from http://search.proquest.com.libraryproxy.griffith.edu.au/docview/1490935711?accountid=14543&ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF-8&rft_id=info:sid/ProQ:healthcompleteshell&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:ke
- Garcia-Villanova, B., Leon, C., Romera, J. M., Corzo, N., & Guerra-Hernandez, E. (2003). Chemical changes in powdered infant formulas during storage. *International Journal of Dairy Technology*, 55(4), 171–176. <http://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00049.x>
- Gomez-Gallego, C., Garcia-Mantrana, I., Salminen, S., & Collado, M. C. (2016). The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 21(6), 400–405. <http://doi.org/10.1016/j.siny.2016.05.003>
- Gueimonde, M., & Sánchez, B. (2012). Enhancing probiotic stability in industrial processes. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 23(0), 2–6. <http://doi.org/10.3402/mehd.v23i0.18562>
- Guzganu, I. L. (2012). Severe Diarrhea in a 4-Month-Old Baby Girl with Acute Gastroenteritis: A Case Report and Review of the Literature. *Case Reports in Gastrointestinal Medicine*, 2012, 1–4. <http://doi.org/10.1155/2012/920375>
- Hanchi, H., Hammami, R., Kourda, R., Hamida, J. B., & Fliss, I. (2014). Bacteriocinogenic properties and in vitro probiotic potential of enterococci from Tunisian dairy products. *Archives of Microbiology*, 196(5), 331–344. <http://doi.org/10.1007/s00203-014-0978-y>
- Hickey, L., Jacobs, S. E., & Garland, S. M. (2012). Probiotics in neonatology. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 48(9), 777–783. <http://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2012.02508.x>

- Hoffman, D. E., Fraser, C. M., Palumbo, F., Ravel, J., Rowthron, V., & Schwartz, J. (2012). Federal Regulation of Probiotics: An Analysis of the Existing Regulatory Framework and Recommendations for Alternative Frameworks, 115.
- Honda, H., Hoyles, L., Gibson, G., & Farmer, S. (2011). Impact of gannedenBC (Bacillus Coagulans GBI-30 , 6086) on population dynamics of the human gut microbiota in a continuous culture fermentation system. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 6(1), 65–72.
- Hussey, S., Wall, R., Gruffman, E., O'Sullivan, L., Ryan, C. A., Murphy, B., ... Ross, R. P. (2011). Parenteral antibiotics reduce bifidobacteria colonization and diversity in neonates. *International Journal of Microbiology*, 2011. <http://doi.org/10.1155/2011/130574>
- Inarejos, G., Campos, M., Moya, S., & G., F. (2014). *Desarrollo de Alimentos Infantiles en formato Pure (Cremogenados) de estilo artesanal y alta calidad nutricional y organoleptica. Igarss 2014.*
- Islam, M. a, Ahmad, I., Ahmed, S., & Sarker, a. (2014). Biochemical Composition and Shelf Life Study of Mixed Fruit Juice from Orange & Pineapple. *J. Environ. Sci. & Natural Resources*, 7(1), 227–232.
- Ismail, I. H., Licciardi, P. V., & Tang, M. L. K. (2013). Probiotic effects in allergic disease. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 49(9), 709–715. <http://doi.org/10.1111/jpc.12175>
- Jain, D., & Chaudhary, H. S. (2014). Clinical significance of probiotics in human. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 4(1), 11–22. <http://doi.org/10.4103/2231-0738.124610>
- Jao, C., Huang, S., Wu, S., & Kuo-chiang, H. (2011). The study on SFLAB GannedenBC 30 viability on baking products during storage. *Italian Oral Surgery*, 1, 1601–1609. <http://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.237>
- Jurenka, J. S. (2012). Bacillus coagulans. *Alternative Medicine Review*, 17(1), 76–81. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84861490506&partnerID=40&md5=2cc0e9655996814ae5ef1bf519942f82>
- Kamarei, R. (2013). Probiotic of Choice. In *Probiotic of Choice* (pp. 1–38).
- Keller, D., Farmer, S., McCartney, A., & Gibson, G. (2010). Bacillus coagulans as a probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 7, 103–109. <http://doi.org/10.1616/1476-2137.16015>.

- Keller, D., van Dinter, R., Cash, H., Farmer, S., & Venema, K. (2017). *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 increases plant protein digestion in a dynamic, computer-controlled in vitro model of the small intestine (TIM-1). *Beneficial Microbes*, 8(3), 491–496. <http://doi.org/10.3920/BM2016.0196>
- Koleilat, A. (2017). Probiotics What You Missed. *Anatomy Physiology & Biochemistry*, 3(2), 10–12. <http://doi.org/10.19080/APBIJ.2017.03.555606>
- Kusnandar, F., Tunaalii, F., & Hosken, R. W. (2002). UHT Processed chickpea liquid meal: A novel concept of a convenient liquid food. *Jurnal Teknol. Dan Industri Pangan*, XIII(1).
- Lactohadllus, F., Kulozik, U., Schmitt, M., Bauer, S., & Santivarangkna, C. (2011). IChemE Storage stability of vacuum-dried probiotic bacterium, (March), 295–300.
- Lassen, J., & Yazdankhah, S. (2015). Assessment of Probiotics in Infant Formula and Cereal Based Baby Foods Containing *Bifidobacterium lactis* Bb12– Update 2014. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 5(2), 101–103. <http://doi.org/10.9734/EJNFS/2015/14818>
- Li, D., Rosito, G., & Slagle, T. (2013). Probiotics for the prevention of necrotizing enterocolitis in neonates: An 8-year retrospective cohort study. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 38(6), 445–449. <http://doi.org/10.1111/jcpt.12084>
- Li, D., Rosito, G., & Slagle, T. (2013). Probiotics for the prevention of necrotizing enterocolitis in neonates: an 8-year retrospective cohort study. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 38(6), 445–9. <http://doi.org/10.1111/jcpt.12084>
- Libreros, L., & Jimenez, M. (2012). Adicion de *Bacillus Coagulans* (*Lactbacillus* *Esporogenes*) a una mezcla en polvo a Base de Cereales Instantaneos. *Revista Especializada En Ingenieria de Procesos En Alimentos Y Biomateriales*, 6, 123–129.
- Lin, Y., Liu, Y., Wang, L., Xie, Y., Gao, Z., & Wang, S. (2018). Optimization of drying conditions and components to reduce wall sticking during spray drying of infant formula milk. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 11(2), 214–218. <http://doi.org/10.25165/j.ijabe.20181102.2788>
- Liu, X., Cao, G., Wang, Q., Yao, X., & Fang, B. (2015). The effect of *Bacillus coagulans* -fermented and nonfermented *Ginkgo biloba* on the immunity status of broiler chickens 1 , 2, 3384–3394. <http://doi.org/10.2527/jas2015-8902>
- Liu, X., Champagne, C. P., Lee, B. H., Boye, J. I., & Casgrain, M. (2014). Thermostability of Probiotics and Their α -Galactosidases and the Potential for Bean Products. *Biotechnology Research International*, 2014, 472723. <http://doi.org/10.1155/2014/472723>

- Ma, Z. S., Zhang, C., Guan, Q., Ye, C., & Forney, L. (2011). Network analysis reveals a potentially “ evil ” alliance of opportunistic pathogens inhibited by a cooperative network in human milk bacterial communities. *Chinese Science Bulletin*, 1–12.
- Maja, B., Marica, R., Ljiljana, M., Svetlana, N., Maja, V.-S., & Aleksandra, D.-V. (2012). Improvement of production performance of functional fermented whey-based beverage. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 20(00), 96–96. <http://doi.org/10.2298/CICEQ120715096B>
- Majeed, M., & Kamarei, R. (2012). *Bacillus coagulans*: Probiotic choice.
- Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Natarajan, S., Sivakumar, A., & Ali, F. (2016). Evaluation of the stability of *Bacillus coagulans* MTCC 5856 during processing and storage of functional foods. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(4), 894–901. <http://doi.org/10.1111/ijfs.13044>
- Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Punnapuzha, A., Philip, S., & Mundkur, L. (2018). Rapid assessment of viable but non- culturable *Bacillus coagulans* MTCC 5856 in commercial formulations using Flow cytometry, 1–14. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0192836>
- Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, a. (2014). Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2578–90. <http://doi.org/10.3168/jds.2013-7551>
- Martín-Muñoz, M. F., Fortuni, M., Caminoa, M., Belver, T., Quirce, S., & Caballero, T. (2012). Anaphylactic reaction to probiotics: Cow's milk and hen's egg allergens in probiotic compounds. *Pediatric Allergy and Immunology*, 23(8), 778–784. <http://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2012.01338.x>
- Merenstein, D., Gonzalez, J., Young, a G., Roberts, R. F., Sanders, M. E., & Petterson, S. (2011). Study to investigate the potential of probiotics in children attending school. *European Journal of Clinical Nutrition*, 65(4), 447–453. <http://doi.org/10.1038/ejcn.2010.290>
- Meyer, R., & Shah, N. (2014). The role of pre- and probiotics in infant nutrition. *Journal of Family Health Care*, 23(7), 25–29. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Rosan_Meyer/publication/259565131_The_role_of_pre-_and_probiotics_in_infant_nutrition/links/54cf993d0cf29ca810ff2853.pdf
- Micali, M., Fiorino, M., & Parisi, S. (2016). *The Chemistry of Thermal Food Processing Procedures*. <http://doi.org/10.1007/978-3-319-42463-7>
- Ministerio de la Proteccìon Social. (2009). Documento tècnico guìa de estabilidad de medicamentos. *Ministerio de Proteccìon Social*, 1–121.

- Miyake, Y., & Yamamoto, K. (2013). Role of gut microbiota in liver diseases. *Hepatology Research*, 43(2), 139–146. <http://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2012.01088.x>
- Mpofu, A., Linnemann, A. R., Sybesma, W., Kort, R., Nout, M. J. R., & Smid, E. J. (2014). Development of a locally sustainable functional food based on mutandabota, a traditional food in southern Africa. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2591–9. <http://doi.org/10.3168/jds.2013-7593>
- Mugambi, M. N., Musekiwa, A., Lombard, M., Young, T., & Blaauw, R. (2012). Synbiotics, probiotics or prebiotics in infant formula for full term infants: a systematic review. *Nutrition Journal*, 11(1), 81. <http://doi.org/10.1186/1475-2891-11-81>
- Muller, C., Busignies, V., Mazel, V., Forestier, C., Nivoliez, A., & Tchoreloff, P. (2013). Mechanistic approach to stability studies as a tool for the optimization and development of new products based on *L. rhamnosus* Lcr35® in compliance with current regulations. *PLoS ONE*, 8(11), 1–7. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0079041>
- Nakamura, L. K., Blumenstock, I., & Claus, D. (1988). Taxonomic Study of *Bacillus coagulans* Hammer 1915 with a Proposal for *Bacillus smithii* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38(1), 63–73. <http://doi.org/10.1099/00207713-38-1-63>
- Nauta et. al. (2013). Relevance of pre- and postnatal nutrition to development and interplay between the microbiota and metabolic and immune systems. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 98, 586S–593S. <http://doi.org/10.3945/ajcn.l>
- Nitert, M. D., Barrett, H. L., Foxcroft, K., Tremellen, A., Wilkinson, S., Lingwood, B., ... Callaway, L. K. (2013). SPRING: an RCT study of probiotics in the prevention of gestational diabetes mellitus in overweight and obese women. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 13(1), 50. <http://doi.org/10.1186/1471-2393-13-50>
- Okamoto, A., & Filho, A. (2016). Probiotics: Reality of Benefits for Life, A Review. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 11(1), 7–14.
- Oladipo, I. C., Sanni, A., & Swarnakar, S. (2013). Phenotypic and Genomic Characterization of *Enterococcus* Species from Some Nigerian Fermented Foods. *Food Biotechnology*, 27(1), 39–53. <http://doi.org/10.1080/08905436.2012.755627>
- OMS. (2015). *Informe OMS*. OMS.
- OMS. (2017). Reducción de la mortalidad en la niñez.
- Ortakci, F., & Sert, S. (2012). Stability of free and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 in yogurt and in an artificial human gastric digestion system. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 6918–25. <http://doi.org/10.3168/jds.2012-5710>

- Oswari, H., Prayitno, L., Dwipoerwantoro, P. G., Firmansyah, A., Makrides, M., Lawley, B., ... Tannock, G. W. (2013). Comparison of stool microbiota compositions, stool alpha1-antitrypsin and calprotectin concentrations, and diarrhoeal morbidity of Indonesian infants fed breast milk or probiotic/prebiotic-supplemented formula. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 49(12), 1032–1039. <http://doi.org/10.1111/jpc.12307>
- Ozyurt Hazal, O. S. (2014). Properties of Probiotics and encapsulated probiotics in Food. *Acta Scientiarum Polonorum*, 13(4), 413–424.
- Pandey, K. R., Shinde, P. S., & Vakil, B. V. (2015). Evaluation of molecular variations in Probiotic *Bacillus coagulans* and its bacteriophage resistant mutants, 4(4), 343–355.
- Papadimitriou, K., Zoumpopoulou, G., Folign , B., Alexandraki, V., Kazou, M., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2015). Discovering probiotic microorganisms: in vitro, in vivo, genetic and omics approaches. *Frontiers in Microbiology*, 6(February), 1–29. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00058>
- Pedroso, D. L., Dogenski, M., Thomazini, M., Heinemann, R. J. B., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis and *Lactobacillus acidophilus* in cocoa butter using spray chilling technology. *Brazilian Journal of Microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 44(3), 777–83. <http://doi.org/10.1590/S1517-83822013000300017>
- Popescu, A., & Neamtu, M. L. (2014). Aspects in the Prevention and Treatment With Probiotics in Allergic Diseases. *Acta Medica Transilvanica*, 2(8), 295–296.
- Prchalová, J., Cizkova, H., Sevcik, R., Hanusova, K., & Rajchl, A. (2016). Evaluation of shelf-life of fruit baby food. *Agronomy Research*, 14(2), 556–568.
- Quiroz-Jiménez, K. S., Pulgar n-Piedrahita, L. M., & Cardona-Arango, D. (2015). Mortalidad de niños menores de 5 años después de la implementación de la estrategia atención integrada a las enfermedades prevalentes en la infancia (AIEPI)- Antioquia, Colombia 2002-2011. *Universidad Y Salud Sección Artículos Originales*, 17(2), 201–211. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-71072015000200006&lang=pt
- Riazi, S., Dover, S. E., & Chikindas, M. L. (2012). Mode of action and safety of lactosporin, a novel antimicrobial protein produced by *Bacillus coagulans* ATCC 7050. *Journal of Applied Microbiology*, 113(3), 714–722. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05376.x>
- Rodes, L., Paul, A., Coussa-Charley, M., Al-Salami, H., Tomaro-Duchesneau, C., Fakhoury, M., & Prakash, S. (2011). Transit Time Affects the Community Stability of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Species in an *In Vitro* Model of Human Colonic

Microbiotia. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology*, 39(6), 351–356. <http://doi.org/10.3109/10731199.2011.622280>

- Rodrigues, F., Sarmiento, B., Andrade, J., & Oliveira, B. (2012). Review: Can microencapsulation be a means to increase survival of probiotics in cheese? *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 7(2), 65–80. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84886895701&partnerID=40&md5=a35acec454b2bece754836ace9eccc81>
- Saito, V. S. T., dos Santos, T. F., Vinderola, C. G., Romano, C., Nicoli, J. R., Araújo, L. S., Uetanabaro, a. P. T. (2014). Viability and Resistance of Lactobacilli Isolated from Cocoa Fermentation to Simulated Gastrointestinal Digestive Steps in Soy Yogurt. *Journal of Food Science*, 79(2), M208–M213. <http://doi.org/10.1111/1750-3841.12326>
- Sanders, M. E., Klaenhammer, T. R., Ouwehand, A. C., Pot, B., Johansen, E., Heimbach, J. T., ... Lenoir-Wijnkoop, I. (2014). Effects of genetic, processing, or product formulation changes on efficacy and safety of probiotics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1309(1), 1–18. <http://doi.org/10.1111/nyas.12363>
- Saneian, H., Pourmoghaddas, Z., Roohafza, H., & Gholamrezaei, A. (2015). Synbiotic containing *Bacillus coagulans* and fructo-oligosaccharides for functional abdominal pain in children. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 8(1), 56–65.
- Schanler, R. J., Fraley, J. K., Lau, C., Hurst, N. M., Horvath, L., & Rossmann, S. N. (2011). Breastmilk cultures and infection in extremely premature infants. *Journal of Perinatology*, 31(5), 335–338. <http://doi.org/10.1038/jp.2011.13>
- Sharma Shiwani, Anshul dutt Sharma, B. C. (2011). Functional Food : A Review. *Journal of Pharmacy Research*, 4(10), 3618–3619.
- Sharma, A. V, & Sanjeev, S. (2015). The current statuS of probiotics - A report from India. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 10(2), 47–52.
- Shoji. (2013). Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. *Food and Bioproducts Processing*, 91, 83–88.
- Sousa, S., Gomes, A. M., Pintado, M. M., Silva, J. P., Costa, P., Amaral, M. H., ... Freitas, A. C. (2015). Characterization of freezing effect upon stability of, probiotic loaded, calcium-alginate microparticles. *Food and Bioproducts Processing*, 93, 90–97.
- Srisuvor, N., Prakitchaiwattana, C., Chinprahast, N., & Subhimaros, S. (2013). Use of banana pur? ee from three indigenous Thai cultivars as food matrices for probiotics and application in bio-set-type yoghurt production. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 1640–1648. <http://doi.org/10.1111/ijfs.12134>

- Strahinid, I., Lukid, J., & Terzic-vidojević, A. (2013). Use of *Lactobacillus helveticus* BGRA43 for Manufacturing Fermented Milk Products, *52*(2), 257–265.
- Sudha, R., & Jayanthi, N. (2009). The ideal probiotic for food applications. *Nutraceuticals Now*, 23–25. <http://doi.org/10.1358/mf.2009.31.10.1441078>.
- Sudha, R. M., Sunita, M., Sekhar, B. M., Limited, U. B., & Park, S. P. B. (2011). Safety Studies of *Bacillus Coagulans* Unique IS-2 in rats : morphological , biochemical and clinical evaluations. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, *6*(1), 43–48.
- Tambakhe M.K, P. P. . (2014). Supplementation of Infant Formula with Probiotics, Prebiotics, DHA & ARA: A Systematic Review. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, *2*(4), 185. <http://doi.org/10.11648/j.jfns.20140204.24>
- Thantsha, M. S., Labuschagne, P. W., & Mamvura, C. I. (2014). Supercritical CO₂ interpolymer complex encapsulation improves heat stability of probiotic bifidobacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *30*(2), 479–486. <http://doi.org/10.1007/s11274-013-1465-3>
- Tintore M. , Colome G., Santas J., E. J. (2017). Gut Microbiota Dysbiosis and Role of Probiotics in Infant Colic. *Archives of Clinical Microbiology*, *8*(4 (56)), 1–7. <http://doi.org/10.4172/1989-8436.100056>
- Trujillo-Cardenas, L., Camacho-Barron, M., Cano-Sarmiento, C., Duarte-Vazquez, M. ., Viveros-Contreras, R., & Rosado, J. . (2019). Development of an infant formula high in alpha-Lactalbumin with only A2 Beta-casein by spray drying, designed to resemble the protein composition of human milk. *Revista Mexicana de Ingenieria Quimica*, *18*(1), 151–165.
- Underwood, M. a, German, J. B., Lebrilla, C. B., & Mills, D. a. (2015). *Bifidobacterium longum* subspecies *infantis*: champion colonizer of the infant gut. *Pediatric Research*, *77*(0), 229–235. <http://doi.org/10.1038/pr.2014.156>.*Bifidobacterium*
- Vercammen, A., Vivijs, B., Lurquin, I., & Michiels, C. W. (2012). Germination and inactivation of *Bacillus coagulans* and *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores by high hydrostatic pressure treatment in buffer and tomato sauce. *International Journal of Food Microbiology*, *152*(3), 162–167. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.019>
- Vincenzetti, S., Savini, M., Cecchini, C., Micozzi, D., Carpi, F., Vita, A., & Polidori, P. (2011). Effects of Lyophilization and Use of Probiotics on Donkey's Milk Nutritional Characteristics. *International Journal of Food Engineering*, *7*(5). <http://doi.org/10.2202/1556-3758.2032>

- Walsh, H., Cheng, J., & Guo, M. (2014). Effects of Carbonation on Probiotic Survivability, Physicochemical, and Sensory Properties of Milk-Based Symbiotic Beverages. *Journal of Food Science*, 79(4). <http://doi.org/10.1111/1750-3841.12381>
- Wojciak, K. M., & Dolatowski, Z. J. (2012). Oxidative stability of fermented meat products. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 11(2), 99–109.
- Xu, Y., Wang, Y., & Lin, J. (2014). Use of *Bacillus coagulans* as a Dietary Probiotic for the Common Carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(4), 403–411. <http://doi.org/10.1111/jwas.12139>
- Yang, G., Liu, Z.-Q., & Yang, P.-C. (2013). Treatment of allergic rhinitis with probiotics: an alternative approach. *North American Journal of Medical Sciences*, 5(8), 465–8. <http://doi.org/10.4103/1947-2714.117299>
- Yang, Y. J., & Sheu, B. S. (2012). Probiotics-Containing Yogurts Suppress *Helicobacter pylori* Load and Modify Immune Response and Intestinal Microbiota in the *Helicobacter pylori*-Infected Children. *Helicobacter*, 17(4), 297–304. <http://doi.org/10.1111/j.1523-5378.2012.00941.x>
- Yasmeen, A., Nasreen, Z., Usman, S., & Ali, S. (2014). Development and formulation of ready to eat baby food from cereals. *Pakistan Journal of Food Science*, 24(3), 121–125.
- Ye, W., Chen, J., Wang, J., & Cai, Y. (2013). The stability of probiotics added to the food. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(12), 27–29.

