



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

DESARROLLO DE UN POSTRE SIMBIÓTICO TIPO NATILLA SABOR ROMPOPE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

IVONNE ESPEJEL GARCÍA

ADRIANA SEGURA ROJAS

ASESORA: DRA. SARA ESTHER VALDÉS MARTÍNEZ

CO ASESORA: DRA. CAROLINA MORENO RAMOS

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Desarrollo de un postre simbiótico tipo natilla sabor rompope

Que presenta la pasante: Ivonne Espejel García

Con número de cuenta: 409016602 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de octubre de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Sara Esther Valdés Martínez	
VOCAL	IBQ. Leticia Figueroa Villarreal	
SECRETARIO	M. en C. Ma. Guadalupe Amaya León	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Edith Fuentes Romero	
2do. SUPLENTE	I.A. Evangelina Hernández Granada	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Desarrollo de un postre simbiótico tipo natilla sabor rompope

Que presenta la pasante: Adriana Segura Rojas

Con número de cuenta: 409063417 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de octubre de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Sara Esther Valdés Martínez	
VOCAL	IBQ. Leticia Figueroa Villarreal	
SECRETARIO	M. en C. Ma. Guadalupe Amaya León	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Edith Fuentes Romero	
2do. SUPLENTE	I.A. Evangelina Hernández Granada	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

AGRADECIMIENTOS

Primeramente quiero agradecer a la vida, a Dios, por permitirme concluir una meta más que parecía no llegar, pero por fin se concluye este ciclo.

No existen las palabras suficientes para agradecer a mi familia todo el esfuerzo, sacrificio, amor y lucha que han dado desde el primer momento que llegue a este mundo. Mi mami, Ofelia, un ejemplo de mujer perseverante, luchona, que antepone el bienestar de su familia antes que el de ella, quien me ha enseñado que la frase “no puedo” no debe estar presente en nuestras vidas. Quien nos ha inculcado a no conformarnos con lo que nos llega, que siempre habrá algo mejor para nosotros. Mi papi, Manuel, quien hasta su último día laboral nos mostró esa responsabilidad y gran fortaleza que tiene y seguirá teniendo, quien es un ejemplo de resistencia, un hombre que me ha enseñado a enfrentar la vida con todo lo bueno y malo que conlleva. A mi hermana, Ivette, que es enorme como ser humano y como mujer, a quien admiro por esa sensibilidad y esa fortaleza que a la vez tiene, quien ha sido un ejemplo de responsabilidad, inteligencia y tenacidad, a quien la vida le ha puesto grandes retos y como la gran persona que es, ha salido adelante y lo seguirá haciendo. Simplemente LOS AMO, gracias por formar parte de lo que soy, por el ejemplo de responsabilidad que cada uno de ustedes ha fomentado y gracias por ser parte de este ciclo que se cierra y de los que faltan por vivir.

A mi orgullosa UNAM, quien me abrió las puertas para formar parte de esta máxima casa de estudios, formar parte de ella es y será siempre un orgullo. A todos y cada uno de los profesores que en ella radica, que me mostraron lo bueno y lo malo, a quienes les he de agradecer tantas horas de desvelo ya que sin ellos no tendría tanto aprendizaje y enseñanza, agradezco la formación y conocimiento que nos brindan en cada una de las clases. Y como no recordar cada uno de los Goyas que te hacían enchinar la piel al entonarlos.

Y todo este camino por la Universidad no habría sido lo mismo sin esas amistades con quienes compartimos alegrías, tristezas, risas, llantos y hasta enojos, amistades que perduraran aun con los diferentes caminos que tomemos cada uno de nosotros. Amistades con las que compartimos horas de desvelo, tareas, proyectos y también los momentos de diversión, fiesta, en fin, simplemente... Gracias Adriana, Arely, Nelly, Julia, Andrea y Dany por cada una de las experiencias que vivimos y seguiremos viviendo a lo largo de nuestras vidas. Yola, Trini somos el ejemplo que aun con la distancia, las amistades perduran a pesar del tiempo, gracias por seguir siendo parte de mi vida, por las palabras de aliento, consejos y las horas de risas (que han sido muchas), las quiero mucho.

Gracias por cruzarte en mi camino, por fomentar fortaleza y perseverancia, por escucharme, por compartir a que siga luchando por lo que creo y no por lo que los demás impongan. Simplemente no existen las palabras suficientes para agradecer y hacer mención a cada una de las personas que se han cruzado en mi camino, para bien o para mal cada una de ellas ha dejado un aprendizaje.

“Llegara un momento en que creas que todo ha terminado, y ese será solo el comienzo”.

Ivonne Espejel García

AGRADECIMIENTOS

Pensar una forma de escribir lo que este momento significa y la alegría que me invade, es complicado en unos cuantos renglones; pero lo intentare.

Dios está en cada paso que doy, guía mi camino y a Él es a quien agradezco por dejarme vivir este momento. Le agradezco por cada persona que ha entrado en mi vida, estoy convencida que cada persona que conocemos nos deja una enseñanza y nos pueden hacer sacar lo mejor y lo peor de nosotros. Mi vida no sería la misma sin esos amigos con lo que reí a carcajadas, me enoje, me estrese por los exámenes, lloré, me fui de fiesta y grite mil veces UNIVERSIDAD!!

Pamela, Julia, Ivonne, Arely, Nelly, Andrea, Chema, Marcos; la vida nos está llevando por caminos diferentes, sin embargo; gracias por estar a mi lado en todos esos momentos.

Dios sabe cuándo es el momento adecuado para vivir ciertas situaciones, cuando es el momento para dejar ir a gente amada, y solo Él sabe el momento para que entren en tu vida gente nueva. Dios colocó en mi camino una persona que ríe de mis chiste bobos, me consiente con comida (sabe que es mi punto débil), seca mis lágrimas, me motiva a superarme, soporta mis berrinches, me hace ver mis errores, me apoya en los momentos más difíciles; si ¡!!!Daniel Ramos Trejo ; tu entraste en vida y te convertiste en ese hombre que AMO, que me llena totalmente..... Mi amigo, mi novio, un espectador y al mismo tiempo un cómplice de vida; gracias a Dios por ponerte en mi vida.

Todos esos profesores que me hicieron desvelarme, sacrificar mi fin de semana y hacerme enojar por no cancelar una clase, gracias; sin ustedes el carácter no se forma, sin ustedes la Universidad sería aburrida.

Y LO MÁS IMPORTANTE, GRACIAS A DIOS POR MI FAMILIA, hemos pasado por situaciones muy difíciles, pero poco a poco salimos adelante; cada enojo, regaño, risas, tropiezos y triunfos han estado conmigo. Diana, nena te amo demasiado, eres mi amiga y mi cómplice de travesuras, eres mi hermana, eres mi risa, eres tanto para mí; no lo olvides. Dios gracias por dejarme entrar en la vida de Luisa Segura, una mujer valiente, fuerte, sensible y noble, luchona por naturaleza, una mujer que me enseña cada día lo bello que es vivir, que me consiente pero no me solapa todo, una mujer extraordinaria, mi amiga; mi MAMÁ, TE AMO; sin ti nada de esto sería posible.

Hoy es el fin de un ciclo y el comienzo de uno, gracias Dios por dejarme compartir esto con las personas que amo.

Adriana Segura Rojas



Contenido

INTRODUCCIÓN	1
Capítulo 1. ANTECEDENTES.....	4
1.1 Leche	4
1.1.1 Composición de la leche y sus propiedades físico-químicas	5
1.1.2 Calidad de la leche.....	7
1.1.3 Sustancias potencialmente peligrosas en la leche	8
1.1.4 Producción y consumo de leche a nivel global	9
1.1.5 Tratamientos y procesos en la industria lechera	10
1.1.6. Derivados lácteos	15
1.1.6.1 Productos lácteos fermentados.....	17
1.1.6.2 Productos Lácteos funcionales	17
1.1.6.2.1 Probióticos.....	18
1.1.6.2.2 Prebiótico	21
1.1.6.2.3. Simbióticos.....	25
1.2. Bacterias en tracto digestivo causantes de enfermedades	27
1.2.1. Enterobacterias	27
1.2.1.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	28
1.2.1.2. <i>Salmonella enteritidis</i>	29
1.3 Curva de McFarland.....	30
1.4 Panorama actual de enfermedades gastrointestinales	31
Panorama actual de enfermedades gastrointestinales en México.....	32
1.4.1. Frecuencia de enfermedades Gastrointestinales.....	33
1.5. Innovación de productos	34
1.5.1. Desarrollo de nuevos productos.....	34
1.5.1.1. Simbióticos: Natilla Simbiótica y otros ejemplos de alimentos funcionales.....	36
Capítulo 2. OBJETIVOS	39
2.1 OBJETIVO GENERAL	39
2.1.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	39



Capítulo 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	42
3.1 Cuadro Metodológico	42
3.2 Desarrollo experimental	42
3.2.1 Actividad preliminar O.P.1. Estandarización de las etapas de elaboración del postre simbiótico tipo natilla.....	42
3.2.2 O.P.1 Estandarización del contenido de inulina	47
3.2.3 O.P. 2 Selección del sabor de la natilla	49
3.2.4 O.P. 3 Conteo de bacterias lácticas en el postre simbiótico tipo natilla	50
3.2.5 O.P. 4 Evaluación de la calidad sanitaria del postre simbiótico tipo natilla	52
3.2.6 Actividad Preliminar O.P. 5 Preparación de la Escala de Mc Farland para retos microbianos ..	53
3.2.7 O.P. 5 Retos Microbianos. <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Salmonella enteritidis</i>	55
3.2.8 O.P. 6 Análisis Químico Proximal del postre simbiótico tipo natilla.....	57
3.2.9 O.P.7 Evaluación Sensorial Hedónica del postre simbiótico tipo natilla	57
Capítulo 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
4.1 O.P. 1: Estandarización del contenido de Inulina.	59
4.2 O. P. 2: Selección del sabor de la Natilla	61
4.3 O. P. 3: Conteo de bacterias lácticas en el postre simbiótico tipo natilla.....	63
4.4. O. P. 4: Evaluación de la Calidad Sanitaria del Postre simbiótico tipo natilla.	69
4.5 Actividad Preliminar O. P. 5: Preparación de la Escala de Mc Farland para retos microbianos.....	70
4.6 O. P. 5: Retos Microbianos. <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Salmonella enteritidis</i>.	71
4.7 O. P.6: Análisis Químico Proximal del postre simbiótico tipo natilla.	77
4.8 O.P. 7: Evaluación Sensorial Hedónica del postre simbiótico tipo natilla.....	79
Conclusiones	84
Recomendaciones.....	86
Referencias	87



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición general de la leche.....5

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de la leche.....6

Tabla 3. Bacterias ácido lácticas empleadas en la elaboración de productos lácteos fermentados.....20

Tabla 4. Clasificación de fibra dietética.....23

Tabla 5. Localizaciones de infecciones por las enterobacterias más frecuentes.....28

Tabla 6. Diluciones Estándares para la curva de Mc Farland.....31

Tabla 7. Etapas de desarrollo de nuevos productos pro diferentes autores.....36

Tabla 8. Ejemplo de alimentos funcionales en el mercado mexicano.....37

Tabla 9. Formulación sin considerar el contenido de crema y leche.....45

Tabla 10. Formulación final de natilla patrón.....46

Tabla 11. Formulaciones del postre simbiótico tipo natilla con 1%, 2% y 3% de inulina respectivamente.....48

Tabla 12. Condiciones para la prueba de conteo de bacterias ácidos lácticos viables.....51

Tabla 13. Condiciones de las pruebas microbiológicas realizadas al postre simbiótico tipo natilla sabor rompopo.....53

Tabla 14. Escala de Mc Farland.....54

Tabla 15. Condiciones de retos microbianos.....56

Tabla 16. Técnicas utilizadas en el análisis químico proximal.....57

Tabla 17. Resultados de evaluación sensorial para determinar el porcentaje de inulina...59

Tabla 18. Resultados de la primera evaluación sensorial para determinar el sabor del postre simbiótico tipo natilla.....61

Tabla 19. Resultados de la segunda evaluación sensorial para definir el sabor final del postre simbiótico tipo natilla.....62

Tabla 20. Resultados del análisis microbiológico para determinar la calidad sanitaria.....69

Tabla 21. Inhibición de *Salmonella*.....74

Tabla 22. Resultados de Análisis químico proximal del postre simbiótico tipo natilla sabor rompopo.....77



Tabla 23. Niveles de evaluación Hedónica.....79

Tabla 24. Coeficiente de Variación de las características evaluadas del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope.....83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pasteurización y ultra pasteurización de la leche y su relación con la destrucción de microorganismos sensibles.....12

Figura 2. Estructura química de la Inulina: con una molécula terminal.....24

Figura 3. Principales efectos de los simbióticos sobre el sistema inmunitario en distintas etapas de la vida en humanos.....26

Figura 4. Estructura del genero enterobacteriacea.....28

Figura 5. Caso de salmonella por entidades durante el 2009.....30

Figura 6. Cuadro Metodológico.....42

Figura 7. Diagrama del proceso elaboración de pase de activación del cultivo.....43

Figura 8. Diagrama del proceso inicial para elaborar la natilla patrón.....47

Figura 9. Encuesta de evaluación sensorial del contenido de inulina.....49

Figura 10. Encuesta de evaluación sensorial para la selección del sabor de la natilla.....50

Figura 11. a) Líneas de referencia para la comparación de turbidez estándar de McFarland; b) Ejemplo de uso de líneas de referencia.....55

Figura 12. Encuesta de evaluación sensorial Hedónica.....58

Figura 13. Gráfico de cajas para la selección del porcentaje de inulina.....60

Figura 14. Diagrama de proceso final para la elaboración de postre simbiótico tipo natilla.....61

Figura 15. Gráfica de cajas para la selección del sabor del postre simbiótico tipo natilla..63

Figura 16. Gráfica de Conteo de BAL.....64

Figura 17. Gráficas de la cinética de comportamiento de Streptococcus y de Lactobacillus correspondientes a una regresión Polinomial.....65

Figura 18. Crecimiento de BAL en dilución 10^5 UFC.....67

Figura 19. Medición del pH por 28 días del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope..68



Figura 20. Gráfica de la Inhibición de <i>K. pneumoniae</i>	72
Figura 21. Caja correspondiente a la muestra del día 1, dilución 10 ¹ UFC.....	73
Figura 22. Gráfica de Inhibición de Salmonella enteritidis.....	75
Figura 23. Gráfica de Comportamiento de bacterias gram positivas en yogurt.....	76
Figura 24. Disminución de BAL.....	77
Figura 25. Gráfico de resultados obtenidos sobre el olor del postre simbiótico tipo natilla sabor rompopo.....	79
Figura 26. Gráfico de resultados obtenidos sobre el color del postre simbiótico tipo natilla sabor rompopo.....	80
Figura 27. Gráfico de resultados obtenidos sobre la textura del postre simbiótico tipo natilla sabor rompopo.....	81
Figura 28. Gráfico de resultados obtenidos sobre el sabor del postre simbiótico tipo natilla sabor rompopo.....	82



INTRODUCCIÓN

La composición de la dieta influye en el control y en la modulación de diversas funciones en el organismo, así como en el tracto gastrointestinal y en el equilibrio de su microbiota. Sin embargo, diferentes factores como el estrés, la aplicación de medicamentos y el tipo de alimentación, entre otros, pueden crear un estado de desequilibrio que provocaría diferentes enfermedades que influyen en el estado fisiológico en el hombre.

Un desequilibrio en la microflora intestinal puede originar o favorecer el desarrollo de algunas enfermedades, como por ejemplo el cáncer. Se ha observado que los agentes potencialmente carcinógenos presentes en algunos alimentos (pigmentos, aflatoxinas, pesticidas, nitritos) y otros agentes carcinógenos pueden ser bioactivados por sistemas enzimáticos de las bacterias intestinales. Esta bioactivación se ve favorecida cuando hay un desequilibrio en la microflora intestinal (Creus, 2004).

En años recientes se ha incrementado el interés en la importancia que tiene la microflora intestinal en relación a la salud y vitalidad. La importancia del crecimiento de los microorganismos en el colon, donde predomina la flora benéfica, no patogénica y saludable, reside en desarrollar resistencia contra las bacterias patógenas.

El mercado de los productos lácteos industriales a gran escala se caracteriza por una innovación y diversificación continua para responder a diversas necesidades de los clientes, donde las empresas buscan el desarrollo constante de nuevos productos mediante una innovación a lo largo de toda la cadena productiva: nuevas materias primas, utilización de nuevos aditivos, empleo de presentaciones más atractivas y adaptadas al consumidor, nuevas formas de envasado, búsqueda e identificación de cultivos más eficientes o con características nuevas que generen mayor valor añadido, entre otros.

La oferta de nuevos alimentos que reportan algún beneficio para la salud aparece por primera vez en la década de los años 60's. Desde entonces surge en el mercado un nuevo tipo de alimentos diseñados para ser incluidos en dietas muy estrictas exentas de gluten, bajas en sodio, pobres en calorías, entre otros. Además, estos alimentos



comienzan a recibir nombres tan variados que surge la necesidad de uniformar la terminología empleada. El término más empleado es: *Alimento Funcional*(Alvidrez, 2002).

Actualmente la tendencia del mercado es hacia productos que incorporan todo tipo de compuestos funcionales, así como microorganismos que aporten beneficios para la salud más allá de los puramente nutricionales(Mayo, 2010).

Los productos lácteos fermentados forman parte de la gama de Alimentos Funcionales, siendo de los más recomendados para una alimentación saludable, no solo porque aportan macro y micronutrientes y una mayor biodisponibilidad de éstos, sino que contienen bacterias que favorecen una microbiota adecuada para la salud a nivel intestinal. A las bacterias clásicas empleadas en la elaboración de productos lácteos fermentados funcionales se ha incorporado bacterias probióticas, que actúan en la flora intestinal, reduciendo la presencia de patógenos en el intestino, produciendo sustancias como bacteriocinas (moléculas proteicas) e interviniendo posiblemente sobre los mecanismos de la inmunomodulación (Sierra, 2006).

Dado que la adición de bacterias vivas presentan algunos problemas tecnológicos y podrían aparecer efectos secundarios, como una sobre acidificación ó la forma en que estas se mantengan vivas; se ha recurrido a sustancias que están de manera natural en los alimentos o que pueden añadirse a éstos y que favorecen la presencia y las acciones de bacterias probióticas; estas sustancias son los prebióticos, componentes de un alimento no digeribles por el tracto digestivo del humano, que al ingerirse promueven el crecimiento y establecimiento de gérmenes beneficiosos de la flora intestinal (Lorente, 2001).

Uno de los prebióticos más representativos y estudiados es la inulina, considerada dentro de las fibras dietéticas, que son hidratos de carbonos resistentes a la digestión y absorbidos en el intestino delgado. Se ha demostrado que este polisacárido es mejor estimulante de crecimiento del probiótico que el almidón de maíz, pues bajas concentraciones de la misma son suficientes para estimular el crecimiento y conservar la viabilidad de los organismos probióticos en diversos productos lácteos fermentados (Creus, 2004; Ruiz y Ramírez, 2013).



En 2011 el mercado mexicano de alimentos y bebidas nutritivos fue de 337 mil 94 millones de pesos, lo cual reflejó un crecimiento superior al 6 por ciento, similar al repunte esperado para este año. Dicho crecimiento es mayor al que tienen los mercados de botanas y refrescos en 2011, que rondaron el 3.7 y 3 por ciento, respectivamente (López, 2002)

Podría decirse que los cambios en el mercado iniciaron en septiembre de 2010, cuando la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) informó que México superaba en obesidad a Estados Unidos, convirtiéndose en el país socio con el mayor problema en esta área (Financiero, 2012).

Actualmente en el mercado mexicano se cuenta con una gran diversidad de marcas de yogurts con probióticos y algunos adicionados con fibra, pero la variedad de postres adicionados con probióticos y prebióticos en el mercado no es muy amplia.

Actualmente los consumidores buscan nuevos productos que le aporten un plus, un beneficio a la salud así como productos con menor cantidad de aditivos y conservadores.

Dada la información anteriormente mencionada, el presente proyecto está enfocado al empleo de bacterias probióticas y prebióticos en la elaboración de un postre tipo natilla, al demostrar que existe un sinergismo entre ellas obteniendo una nueva opción, tanto para los consumidores en general y para aquellos que buscan el cuidado de su flora intestinal



Capítulo 1. ANTECEDENTES

1.1 Leche

La leche es la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie animal, excluido el calostro (NOM-243-SSA1-2010).

El estudio completo de la leche ha sido elevado a la categoría de ciencia por algunos autores (“lactología” o “galactología”). Abarca un campo cuya extensión es impresionante, ya que se relaciona con numerosas y variadas disciplinas, como por ejemplo:

1. Secreción de la leche (fisiología, patología)
2. Constitución de la leche (física, química, bioquímica)
3. Microbiología de la leche
4. Higiene
5. Tecnología de la leche, por mencionar algunas (Belitz, 2009).

La leche es un fluido biológicamente complejo, cuya composición y propiedades físicas varían de una especie a otra en función de las necesidades dietéticas de las crías” (Badui, 2006).

La leche es un fluido biológicamente complejo, cuya composición y propiedades físicas varían de una especie a otra en función de las necesidades dietéticas de las crías” (Badui, 2006).

La leche tiene normalmente un sabor suave, agradable y ligeramente dulce. Los métodos modernos de obtención y refrigeración de la leche en la granja, han contribuido de forma muy importante a la conservación del gusto característico de la leche. Sin embargo el uso del frío no impide el desarrollo de gérmenes psicrótrofos que pueda producir la hidrólisis de algunos componentes de la leche, alterando su sabor (Fennema, 2000).

La leche para consumo humano debe ser sometida a tratamientos térmicos u otros procesos que garanticen la inocuidad del producto; además de ser sometida a operaciones tales como clarificación, homogenización, estandarización u otras siempre y cuando no contaminen el producto y cumpla con las especificaciones de su denominación(NOM-155-SCFI-2003).



En la cultura alimentaria de diversas partes del mundo, entre ellas Europa, América del Norte y Central, así como Australia y Nueva Zelanda; los niños, jóvenes y adultos consumen normalmente leche líquida. La importancia de la leche en la dieta es indiscutible, como lo es la de muchos otros alimentos, sin embargo la propiedades multifuncionales de la leche la convierten en un ingrediente indispensable en la cocina artesanal así como en la elaboración de productos a escala industrial (Secretaría de Economía, 2011).

1.1.1 Composición de la leche y sus propiedades físico-químicas

La leche es un sistema coloidal constituido por una solución acuosa de lactosa, sales y muchos otros elementos en estado de disolución, en donde se encuentran las proteínas en estado de suspensión y la materia grasa en estado de emulsión. El extracto seco total de leche es por término medio del 13.1% y el extracto seco desengrasado es del 9.2%. La composición general de la leche se muestra en la Tabla1, en la que los datos cuantitativos son solo aproximados, ya que varían en función de múltiples factores (Belitz, 2009).

Tabla 1. Composición general de la leche

COMPONENTES MAYORITARIOS	PORCENTAJE
Agua	87%
Materias grasas	4%
Proteínas	
Caseína 2.8%	3.3%
Albumina 0.5%	
Carbohidratos (Lactosa)	5%
Cenizas (Minerales)	0.7%

FUENTE: Belitz, H. (2009).

Dentro de la propiedades físico-químicas de la leche se encuentran la acidez, el pH, densidad, punto de congelación, entre otros; cada una de estas propiedades está directamente relacionadas con su composición química general, de sus constituyentes en suspensión o emulsión de la leche. Estas propiedades se muestran en la Tabla 2.



Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de la leche

Propiedad	Características	Limites o resultados
Color	Indicativo de su riqueza grasa. La reflexión de la luz sobre las partículas opacas en suspensión (micelas de caseína, glóbulos grasos, fosfatos y citratos de calcio) da a la leche su color blanco. El grado de blancura varía con el número y tamaño de partículas en suspensión. La materia grasa contiene pigmentos que le dan un ligero color amarillo a la leche.	Blanco a ligeramente amarillo
Acidez	Un aumento de acidez indica una anomalía. El pH de la leche está comprendido entre 6.4 y 6.6. Todos los componentes capaces de combinarse con iones básicos contribuyen a la acidez de la leche. El equilibrio entre los constituyentes básicos (sodio, potasio, magnesio, calcio e hidrógeno) y los ácidos (fosfatos, citratos, cloruros y proteínas) presentes en la leche determinan su acidez.	Acidez expresada en Ácido láctico (g/L) 1.3-1.7 g/L (NOM-155-SCFI-2003)
Punto de congelación o Punto crioscópico	El descenso del punto de congelación esta en relación directa con la concentración de solutos en una solución. Medida del número de moléculas o iones que se encuentran en solución en la fase acuosa de la leche. Las variaciones superiores a -0.52°C, acercándose al punto de congelación del agua (0°C) indican una adulteración.	-0.51 a -0.56°C (NOM-155-SCFI-2003)
Punto de ebullición	El punto de ebullición es función del número de partículas en solución y consecuentemente, aumenta con la concentración de sólidos de la leche y disminuye con la presión.	100.5°C a presión atmosférica normal.
Densidad	En leche entera es conveniente medir la densidad a 30°C para que la materia grasa se encuentre en estado líquido, en estado sólido la grasa tiene una densidad superior y bastante variable. La presencia de aire en la leche hace disminuir su densidad. La adulteración de la leche por desnatado o por dilución de leche desnatada aumenta su densidad, mientras que la dilución con agua la disminuye.	1.019 g/ml (NOM-155-SCFI-2003)



Viscosidad	En la leche, la resistencia a fluir (viscosidad) está en función del número y tamaño de sus partículas, así como de la temperatura. Sobre este parámetro influyen las proteínas y la materia grasa. El tamaño y el número de glóbulos grasos también influyen en este parámetro.	20°C Leche entera: 2.1 cp. Leche desnatada: 1.8 cp.
-------------------	--	---

Elaborada a partir de Belitz, 2009 y NOM-155-SCFI-2003 con los límites mínimos y máximos permitidos para leche entera.

1.1.2 Calidad de la leche

La calidad de la leche cruda destinada a la obtención de leches y cremas para consumo humano, además de otros productos lácteos, depende de números factores relacionados con la producción de la granja donde se encuentra el ganado lechero. La calidad higiénica de la leche cruda depende del estado sanitario y de la limpieza de las vacas, del sistema de ordeño y de las condiciones higiénicas del equipo; todo esto reflejado en buenas prácticas tanto ganaderas como de manufactura.

La carga microbiana de la leche procedente de vacas sanas es despreciable, mientras que una leche de una vaca con ¹mastitis puede contener inicialmente millones de microorganismos por cm³. La posible presencia de leche mamítica debe controlarse durante el ordeño mediante la inspección de la leche para detectar coágulos; en caso de detectarse, esta leche no debe mezclarse con el resto de la leche proveniente de animales sanos. La leche también puede contener distintos patógenos (*Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, entre otros) que pueden eliminarse con distintos tratamientos, entre ellos la pasteurización, que es un tratamiento térmico suficiente para destruir la bacterias patógenas no esporulados más resistentes que puedan encontrarse en la leche (Miranda, 2007).

La leche es la principal materia prima utilizada en la industria láctea, por lo que es fundamental que la leche brinca que llega a las centrales tenga la calidad adecuada para los tratamientos que va a recibir. Los ganaderos deben producir leche que se ajuste a las normas de composición y calidad higiénica establecida por la legislación (mexicana y/o extranjera) y que reúna las características que exige la industria.

¹Mastitis: inflamación de la glándula mamaria que se produce como respuesta a una lesión o infección del tejido. La infección se debe a la acción de microorganismos que han invadido la glándula.



Cuando la leche llega a la planta, se somete a una serie de pruebas para confirmar que su calidad permite los tratamientos térmicos; entre estas pruebas se encuentran las pruebas denominadas de andén. Generalmente los análisis que se realizan sobre la leche cruda cuando llega a la industria son (González y col., 2010):

- ❖ Caracteres organolépticos
- ❖ Presencia de antibióticos
- ❖ Adulteración con agua
- ❖ Contenido graso
- ❖ Contenido en sólidos lácteos no grasos (lactosa, proteínas, cenizas)
- ❖ Extracto seco total
- ❖ Recuento microbiológico
- ❖ Entre otras.

1.1.3 Sustancias potencialmente peligrosas en la leche

Las sustancias potencialmente peligrosas pueden pasar a la leche proveniente de la alimentación de las vacas, del ambiente y en el caso de algunos antibióticos y sustancias antimicrobianas, a través de la terapia intramamaria. Por razones obvias, la atención se ha centrado en las sustancias cuyos efectos son más conocidos, sin embargo se cree que las pequeñas cantidades de contaminantes ambientales que siempre están presentes pueden representar un peligro a largo plazo. Las siguientes son las sustancias de las que se tiene más información (Villegas, 2010).

- ❖ Antibióticos y otras sustancias antimicrobianas
Se utilizan ampliamente en el tratamiento de la mastitis. Se administran por vía intramamaria, llegando al cuarterón afectando a través del canal de pezón. Entre los más usados en el tratamiento de la mastitis se encuentran penicilina G, ampicilina, tetraciclinas y sulfamidas. Los residuos de estas sustancias persisten en la leche hasta cuatro días después de la administración del tratamiento, resultando de vital importancia ya que los efectos conocidos a corto plazo son la posibilidad de fuertes reacciones alérgicas en personas sensibles, posible carcinogenicidad si la exposición es prolongada y el desarrollo por parte de los microorganismos de resistencia a antibióticos.



❖ Micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos producidos por numerosos mohos. Las micotoxinas pueden llegar a la leche indirectamente a través del consumo de alimentos infectados por hongos. Las que aparecen en la leche con mayor frecuencia son las aflatoxinas producidas por algunas cepas de *Aspergillus flavus* o, con menos frecuencia por *A. parasiticus*. Las vacas son más resistentes a las aflatoxinas que la mayoría de los animales y pueden ingerir alimentos contaminados con niveles relativamente altos de aflatoxinas sin que desarrollen síntomas de toxicidad aguda (Griffiths, 2010).

❖ Compuestos químicos en el medio ambiente

Se ha comprobado que muchos compuestos químicos se degradan lentamente y se acumulan niveles importantes en el medio ambiente. Inevitablemente estos pasan a los alimentos destinados al hombre, incluyendo la leche. Existe una preocupación especial respecto a dos tipos de contaminantes, los productos agroquímicos y los bifenoles policlorados. Se debe controlar estrictamente el uso de productos agroquímicos, como herbicidas y pesticidas, para evitar la contaminación del entorno de los rebaños lecheros. El descuido o el uso irresponsable representan un riesgo y es una de las causas de contaminación de la leche (Griffiths, 2010).

❖ Plantas venenosas

Las sustancias tóxicas pueden llegar a la leche como resultado de la ingestión de las plantas venenosas por las vacas. En muchos casos, como en la ingestión de tejo, las propias vacas se envenenan y se considera que el buen manejo de la explotación de a de incluir la eliminación de plantas perjudiciales del pasto (Villegas, 2010).

1.1.4 Producción y consumo de leche a nivel global

El consumo y el comercio mundial de alimentos en general y de lácteos en particular está influenciado por un conjunto de factores referidos al contexto macroeconómico esperado y a la evolución de la población mundial y su localización, así como de las políticas de



apoyo a la producción y comercialización en los distintos países y de las negociaciones internacionales. Todos ellos afectan la demanda, la oferta y el comercio mundial.

En la última década el crecimiento del consumo mundial de lácteos dependió en gran medida del aumento de población mundial. Aproximadamente el 70% de los aumentos en la demanda se atribuyen a este factor, en tanto que el crecimiento del consumo por habitante explicó el restante 30%.

Actualmente la mayor parte del consumo de lácteos está concentrado en los países industrializados, como consecuencia de su mayor poder adquisitivo y de su mayor consumo per cápita, el mayor ritmo de crecimiento de la población en los países en desarrollo ha contribuido.

En los países de América Latina existe una marcada tendencia al aumento de las importaciones de productos lácteos. En América Latina México, Brasil y Venezuela contabilizan más del 90 por ciento del déficit comercial de lácteos, mientras Argentina y Uruguay tienen el mayor superávit. Por su parte, los Estados Unidos resulta un importador neto de productos lácteos, sus exportaciones (altamente subsidiadas) son especialmente insumos lácteos como la leche en polvo, y sus importaciones son quesos de alto valor agregado (Secretaría de Economía, 2011).

México ocupa el octavo lugar en el mundo en el consumo de leche y otros productos lácteos, después de India, China, Estados Unidos, Pakistán, Brasil y Rusia, de acuerdo con la empresa Tetra pack.

En 2011, el volumen de productos lácteos (incluyendo leche pasteurizada, evaporada, leche con sabor y condensada, así como yogurt líquido) era alrededor de 12 mil millones de litros. El consumo de leche per cápita asciende a 66 litros/ año, siendo los niños los principales consumidores (Alimentaria, 2013).

1.1.5 Tratamientos y procesos en la industria lechera

Es un hecho admitido que la leche es un alimento muy nutritivo y una fuente valiosa de vitaminas y minerales. Sin embargo, se deteriora con gran rapidez, la leche bronca tiene un tiempo de conservación relativamente corto. Hay numerosos métodos para prolongar la vida útil de la leche y sus productos lácteos, siendo cada vez mayor el número de tecnologías que se pueden aplicar para mejorar la inocuidad y calidad de la leche.(FAO/OMS, 2005)



En la leche las alteraciones de origen microbiano son más frecuentes y, sobre todo, las primeras en aparecer; por lo tanto los métodos de conservación tienden, en primer lugar, a detener la proliferación microbiana (Saravacos Y Maroulis, 2011).

Los principales métodos de conservación de la leche son procedimientos físicos normalmente, este involucra un aumento en la temperatura, ya que los procedimientos químicos son peligrosos y casi todos han sido prohibidos. Los métodos biológicos se usan muy poco por modificar notablemente el sabor de la leche (Saravacos Y Maroulis, 2011).

La acción del calor se distingue netamente de la acción del frío por el hecho de que el calor es capaz de destruir los microorganismos y no solo de dificultar su desarrollo. El tratamiento de la leche por el calor no es, pues, solo un método de conservación; es también, y sobre todo, un método de higienización.

Los métodos más usados son (Badui, 2006):

✓ **Pasteurización**

En 1933, Charles Porcher definió exactamente el objetivo de la pasteurización, *“Pasteurizar la leche es destruir en ella, por el empleo apropiado del calor, casi toda su flora banal y la totalidad de su flora patógena, procurando alterar lo menos posible la estructura física de la leche, su equilibrio químico, sus diastasas y vitaminas”*.

Antes de calentar la leche cruda se somete a centrifugación para eliminar partículas extrañas como células de las glándulas mamarias, leucocitos y otros posibles contaminantes; además se somete a una homogenización del tamaño de los glóbulos grasos de la leche tiene la finalidad de garantizar que no se forme nata en la superficie de la leche, así como, que todas las moléculas de la leche lleguen a la temperatura de pasteurización (Badui, 2006).

En primer lugar se tiene que determinar la intensidad del tratamiento, es decir, fijar la temperatura y el tiempo durante el que debe aplicarse. La temperatura aislada no significa nada; tiene que ir acompañada de duración. Las condiciones del calentamiento tienen que permitir la destrucción del bacilo tuberculoso y, por lo tanto, la de todos los microorganismos patógenos (Saravacos Y Maroulis, 2011).

En la Figura 1 se observa la relación tiempo temperatura para la destrucción de microorganismos patógenos en la leche.

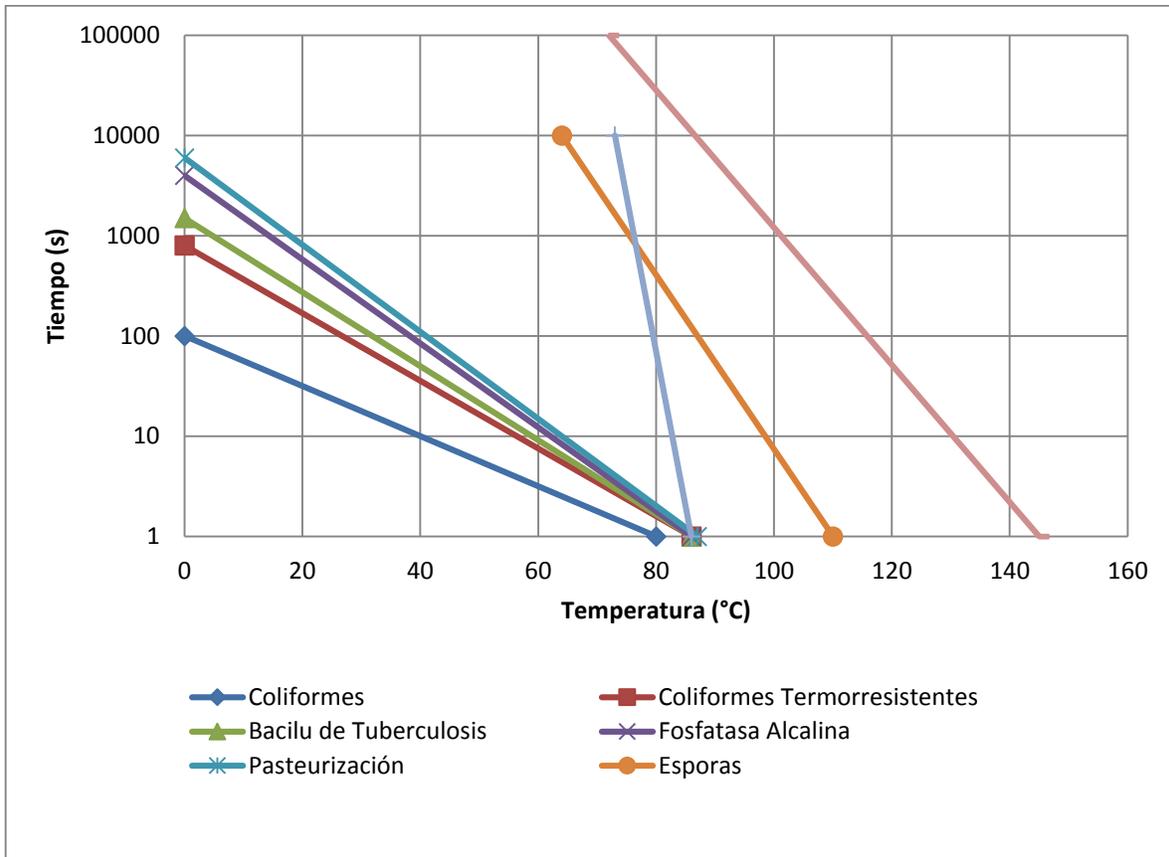


Figura 1. Pasteurización y Ultrapasteurización de la leche y su relación con la destrucción de microorganismos y enzimas

Fuente: Badui, Salvador D. (2006).

Se pueden distinguir dos métodos de pasteurización de la leche

Pasteurización baja. Se define por un calentamiento a 63°C durante 30 minutos. Es un método lento y discontinuo, pero presenta la ventaja de no modificar las propiedades de la leche.

Pasteurización alta. Se define como el calentamiento a 72°C durante 15 segundos. El método es rápido y continuo, pero modifica ligeramente las propiedades de la leche, si bien los aparatos modernos reducen este inconveniente; las albuminas y las globulinas sufren siempre una coagulación parcial.

Proceso de Pasteurización

La leche para pasteurizar recibe un tratamiento térmico directamente a través de un intercambiador de calor, que normalmente es de placas. Un pasteurizador de placas



está constituido por cuatro secciones distintas, cada una formada por un conjunto de placas de acero inoxidable rectangulares encajadas entre sí. Así, la leche entra al pasteurizador a una temperatura de 4°C, se precalienta en la sección de recuperación o regeneración, en donde el intercambiador de calor se produce entre la leche fría que llega y la leche ya pasteurizada que sale del sistema. La leche precalentada pasa a la sección de pasteurización, en donde se calienta hasta una temperatura de 72°C y 75°C con agua calentada por vapor. La leche se mantiene a esa temperatura durante 15 segundos en el tubo de retención y pasa a través de una válvula de desviación de flujo antes de volver de nuevo a la sección de recuperación para ceder su calor a la leche que está entrando en el intercambiador (Coimbra, 2010).

Después de la pasteurización es necesario bajar la temperatura de la leche por debajo de la temperatura ambiente, siendo que si la leche es almacenada a temperatura entre 30 y 60°C una porción importante de bacterias ácido lácticas termófilas capaces de desarrollarse a esas temperaturas acidificando la leche. Esto ocurre en la sección de refrigeración donde se enfría a una temperatura de menos de 4°C y sale del intercambiador para pasar inmediatamente a la máquina llenadora-ensambladora (Saravacos Y Maroulis, 2011).

✓ **Ultrapasteurización (UHT)**

Este método se basa en la eficiencia bacteriológica de un tratamiento térmico a alta temperatura durante un tiempo muy corto. Este procedimiento, llamado de “esterilización UHT” (Ultra High Temperature, Temperatura Ultra Alta), constituye un proceso decisivo en la preparación de las leches líquidas de larga conservación.

La temperatura de calentamiento es de 138°C a 150°C durante un tiempo de 4 a 15 segundos, seguido de un envasado aséptico. Este procedimiento térmico destruye prácticamente todos los microorganismos y las enzimas más termoresistentes. El proceso UHT puede extender la vida de anaquel hasta por 6 meses manteniendo en refrigeración (Coimbra, 2010).



Los métodos UHT son de dos tipos:

Calentamiento indirecto. En intercambiadores de calor tubulares o de placas. El flujo de la leche debe ser de régimen turbulento para asegurar una transferencia rápida de calor. Para una misma velocidad de flujo de leche los cambiadores de placas permiten alcanzar más rápidamente el régimen turbulento que los intercambiadores tubulares.

Una instalación de esterilización UHT que utilice intercambiadores de placas funciona precalentando la leche hasta 65°C a 75°C en un recuperador, después pasa a un homogeneizador que la impulse a presión a la sección de esterilización (138°C a 150°C) y, finalmente a la sección de enfriamiento, donde una primera sección circula aún a presión y, tras pasar por una válvula que frena la salida de la leche y asegurar una contrapresión de tres bares, necesaria para evitar la ebullición de la leche en la sección de esterilización, pasa a la segunda sección de enfriamiento.

Calentamiento directo. Contacto de la leche con vapor de agua grado alimenticio. En estos métodos. La mezcla íntima de la leche y el vapor origina una elevación muy rápida de la temperatura. Sin embargo, se observa cierta condensación de vapor durante el calentamiento que provoca una dilución de la leche del orden del 10% de su peso aproximadamente. Es necesario que el calentamiento vaya seguido de una evaporación parcial que permita restablecer el contenido de materia seca inicial de la leche (Jeantet y col., 2005).

✓ **Esterilización**

Actualmente se han generalizado en todo el mundo los tratamientos UHT para la producción de la leche esterilizada, pero estos sistemas fueron precedidos en su desarrollo y aplicación comercial por los de esterilización de la leche en botellas, con los que también se obtiene un producto de larga conservación. La leche esterilizada en botellas se consume en muchos países del mundo y es una técnica de fabricación que se aplica con frecuencia para la elaboración de productos lácteos como las bebidas aromatizadas de larga conservación (batidos, entre otros).



Proceso de esterilización

En los sistemas de esterilización por lotes o discontinuos, las condiciones de tratamiento térmico que suelen utilizarse son de 115-120°C durante 15.30 minutos. La leche se precalienta hasta 80-90°C en un intercambiador de calor de placas con el fin de desnaturalizar y estabilizar las proteínas séricas. A continuación, la leche se homogeniza para evitar la separación de la materia grasa durante el largo periodo de conservación y se procede a llenar los envases que actualmente son envases Tetra Pack, que una vez sellados se introducen al esterilizador. Una vez finalizado el ciclo de esterilización, la leche se refrigera por circulación de agua fría (Saravacos y Maroulis, 2011).

1.1.6. Derivados lácteos

Desde tiempos remotos los humanos han intentado conservar y adaptar la leche a sus variadas necesidades y gustos. Los derivados lácteos son productos que se obtienen al someter a la leche a determinados procesos tecnológicos, pudiendo contener aditivos alimentarios u otros ingredientes funcionalmente necesarios para su elaboración (Rivera y Simón, 2008). A continuación se resumen los aspectos más importantes de algunos derivados lácteos (Chandan, 2006):

- ❖ Mantequilla: producto graso para untar, derivado exclusivo de la leche o crema pasteurizada, principalmente de la forma de emulsión “agua en aceite”. Tras el descremado, el proceso principal para la obtención de este producto es el batido de la crema que se conduce a la formación de una fracción de grasa (mantequilla) y otra de fracción no grasa (el suero de mantequilla). Su contenido mínimo de materia grasa debe ser del 80% con un máximo del 16% de agua, y un contenido máximo de extracto seco magro del 2%.

- ❖ Cuajada y queso: la *cuajada* es el producto obtenido a través de la leche entera, semidesnata o desnatada, sometida a un tratamiento térmico adecuado, coagulada por la acción del cuajo u otras enzimas coagulantes autorizadas, sin la adición de fermentos lácticos y sin proceso de desuerado.
El queso se elabora a partir de leche de vaca, de otras especies y/o combinadas, se puede definir como el producto obtenido al separar los componentes sólidos de la leche, la cuajada; de los líquido, el suero; por la acción del cuajo y/o un ácido. Todos los tipos de quesos comienzan por la formación de la cuajada (coagulación)



en el que la caseína de la leche, coagulada por el descenso del pH forma una red donde retiene principalmente la grasa de la leche, algo de lactosa, agua y minerales. El líquido no retenido en la red se denomina suero. Una vez formada la cuajada, esta suele someterse a un corte, agitación mecánica y calentamiento gradual, con el fin de facilitar una mayor o menor expulsión de suero. A continuación la cuajada suele prensarse en moldes adecuados que le confieren su apariencia final. La incorporación de sal a la masa de la cuajada contribuye no solo al sabor final del queso, si no que representa un papel en la conservación del queso durante su maduración.

- ❖ Helado: es un alimento producido por batido y congelación por una mezcla pasteurizada y homogenizada de productos lácteos como leche entera o desnata, entre otras; y edemas puede contener azúcar, frutas, frutos secos, estabilizantes, agua, entre otros. La congelación y el batido con aire deben tener lugar simultáneamente, después de la congelación no debe incorporarse aire con el batido, y este sin congelación no favorece la formación de espuma estable (Rivera Y Simón, 2008).

De los derivados lácteos los enlistados a continuación tienen una mayor relevancia para el presente proyecto.

- ❖ Crema: es el producto lácteo fluido comparativamente rico en grasas, en forma de una emulsión de grasa en leche descremada, que es obtenida por la separación física de la leche (Codex, 2011).
- ❖ Productos lácteos fermentados: los productos lácteos fermentados, derivados de la leche fermentada es la que ha sido transformada por el desarrollo de bacterias lácticas u otros microorganismos que transforman la lactosa en ácido láctico y otros metabolitos (Shelly, 2004).
- ❖ Otros derivados lácteos: hay una gran variedad de otros productos lácteos con una gran aceptación en el mercado, como lo son los postres: las natillas, los flanes, mousses, petit suisse, arroz con leche, batidos, entre otros. Desde un punto de vista nutritivo estos productos son importantes en la dieta y la industria tiende a diversificar la oferta del mercado creando productos nuevos (Rivera Y Simón, 2008).



- ✦ **Natilla:**son un postre lácteo muy extendido en la gastronomía española. Se trata de una crema elaborada con leche, yemas de huevo, azúcar y aromas como la vainilla o el limón(Uribe, 2007).

1.1.6.1 Productos lácteos fermentados

El uso de microorganismos como agentes de transformación es una práctica muy antigua y ha tenido una gran contribución en la expansión de la leche y sus derivados porque permite obtener características organolépticas y nutritivas (Chandan, 2006).

Como cambio principal que se da en la leche es el descenso del pH (4.6-4), como consecuencia de este descenso se produce la coagulación de la caseína, y la inhibición de un gran número de microorganismos, entre ellos los patógenos(Shelly, 2004).

La inoculación de la leche con cultivos iniciadores de Bacterias Ácido Lácticas (BAL) seleccionados permite la obtención de yogur y de otros productos lácteos fermentados con unas características organolépticas óptimas. Asimismo, la inoculación de cepas seleccionadas de un modo controlado y dirigido permite la reproducibilidad del proceso de producción. De este modo, la selección de las distintas especies y cepas microbianas es decisiva a la hora de obtener productos con las mejores propiedades organolépticas y nutricionales(Sierra, 2006).

1.1.6.2 Productos Lácteos funcionales

Aunque no existe una definición completamente aceptada ni legal, alimento funcional es *“aquél que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo y con un efecto positivo añadido por encima de su valor nutricional”*(Mayo, 2010).Puede ser un alimento natural, aquel al que se ha añadido, eliminado o modificado un componente por medios biotecnológicos o un alimento al que se le ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes o una combinación de cualquiera de estas posibilidades(Lorente, 2001).

Según algunas fuentes, en estos momentos existen en el mercado español más de 200 alimentos con declaraciones nutrimentales. Un buen número de éstos son productos, entre los que destaca la leche enriquecida en hierro, yodo, ácido fólico, ácidos grasos (omega-3 y omega-6), calcio, vitaminas A, B, D, E, fitoestrógenos, entre otros. Las tendencias más actuales en el campo de la alimentación funcional tratan de encontrar



compuestos beneficiosos para un gran número de disfunciones y enfermedades dentro y fuera del tracto gastrointestinal. Sin embargo, para el uso racional de estos alimentos es necesario demostrar el mecanismo de acción de cada uno de los compuestos y las vías a través de las cuales inciden en nuestra salud(Mayo, 2010).

Dentro de los denominados productos lácteos funcionales se encuentran prioritariamente los probióticos, prebióticos y simbióticos, que a continuación se detallan.

1.1.6.2.1 Probióticos

A pesar de que no hay una norma definida, los probióticos se describen generalmente como microorganismos vivos, por ejemplo especies específicas y cepas de *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*; que cuando se consume en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud al huésped(Digest, 2009).

Gran parte de los productos probióticos corresponden a leches fermentadas tipo yogur. El queso parece ser también un excelente vehículo de probióticos. El número de productos probióticos presentes en las estanterías de los comercios es cada día mayor y representan un volumen de negocio creciente. Entre los beneficios que los probióticos aportan se pueden citar una reducción en la intolerancia a la lactosa, la mejora del estreñimiento, una reducción y mejor recuperación en las infecciones por rotavirus y otros patógenos intestinales, la estimulación del sistema inmune, el alivio sintomático de patologías intestinales como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, la reducción de la incidencia de cáncer de colon, entre otros(Mayo, 2010). Para que se produzcan estos efectos beneficiosos nutricionales, preventivos y terapéuticos de los probióticos en las enfermedades, es necesario que las bacterias lácticas que se encuentran vivas y viables en el yogur y los derivados lácteos fermentados que se denominen alimentos funcionales sean capaces de superar las barreras fisiológicas del estómago (acidez gástrica) e intestino delgado (acción bactericida de sales biliares), y así colonizar el colon, dando lugar a una microbiota bacteriana adecuada para la salud(Sierra, 2006).



A. Bacterias Lácticas

Las bacterias lácticas (BAL) son un grupo de microorganismos representados por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general las BAL son cocos o bacilos Gram Positivos, no esporulados, no móviles, anaerobios; y que producen ácido láctico él como único o principal producto de la fermentación de carbohidratos(Ramirez, 2011).

La clasificación de las BAL en géneros diferentes está basada en principio en la morfología, modo de fermentación de la glucosa (homofermentativas y heterofermentativas), el crecimiento a diferentes temperaturas, la configuración del ácido láctico producido, en la habilidad para crecer a altas concentraciones de sal y tolerancia ácida o alcalina.

Los géneros más representativos son: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*.

Características fermentativas de las Bacterias Lácticas

Existen diversos géneros de BAL, sin embargo; estas son agrupadas como homofermentadoras o heterofermentadoras basado en el producto final de su fermentación. Las homofermentadoras como *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pedicoccus* y algunos *Lactobacillus* poseen la enzima aldolasa y producen ácido láctico como el producto principal de la fermentación de la glucosa utilizando la vía de la glucólisis. Por su parte las del género *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Carnobacterium* y algunos *Lactobacillus* son heterofermentadoras y convierten hexosas a pentosas por la vía 6-fosfogluconato-fosfocetolasa, produciendo en el proceso además de ácido láctico, cantidades significantes de otros productos como acetato, etanol y CO₂(Ramirez, 2011).

Las principales especies BAL utilizadas en la producción de yogurt y otros productos lácteos fermentados son: *L. delbrueckii spp. Bulgaricus* y *S. thermophilus*. Las características principales de fermentación son para *L. delbrueckii spp. bulgaricus* una bacteria mesófila (requiere temperaturas en torno a 30°C para su crecimiento), produce compuestos aromatizantes, mientras que *S. thermophilus* produce



ácido láctico y ayuda al crecimiento del *L.bulgaricus*; es una bacteria termofílica, y crecen bien a temperaturas de 45°C, ambas especies son homofermentativas (Sierra, 2006).

Las bacterias ácido lácticas más empleadas en la elaboración de diferentes productos lácteos fermentados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3 Bacterias ácido lácticas empleadas en la elaboración de productos lácteos fermentados

Productos	Bacterias principales	Usos
Yogurt	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> .	Promueve sabor, gusto suave y delicado. Promueve la cuajada, mejora la digestión, absorción, contribuye a promover la salud.
Bebidas fermentadas a base de leche	<i>Streptococcus lactis</i> , <i>Streptococcus cremoris</i> , <i>Streptococcus herveticus</i>	Adiciona sabor, contribuye a promover la salud.
Quesos	<i>Streptococcus lactis</i> , <i>Streptococcus diacetylactis</i> .	Promueve el cuajo, provee aroma y sabor
Mantequilla madurada	<i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Streptococcus diacetylactis</i>	Promueve moderado sabor agrio y aroma
Crema ácida	<i>Streptococcus lactis</i> , <i>Streptococcus cremoris</i> , <i>Leuconostoc cremoris</i> , <i>Streptococcus lactis ssp. diacetylactis</i>	Promover sabor característico (pequeñas cantidades de acetaldehído y grandes cantidades de Diacetilo)
Yakult	<i>Lactobacillus casei</i>	Promueve moderado sabor agrio y aroma. Contribuye a promover la salud.

Fuente: Ramírez, José C. (2011).

Bacteriocinas producidas por BAL

Las bacteriocinas son sustancias peptídicas con actividad antimicrobiana, producidas por diferentes cepas bacterianas. La interacción entre la cepa probiótica y la microflora intestinal puede basarse en la competencia con bacterias patógenas por sitios de adhesión a los receptores epiteliales, por nutrientes y a la producción de sustancias específicas como son las bacteriocinas. Las bacteriocinas producidas por diferentes bacterias probióticas pueden servir como barreras antimicrobianas y ayudar a reducir los niveles de microorganismos patógenos (Dosta, 2009).



En la actualidad las bacteriocinas producidas por las bacterias lácticas son las que encierran un mayor interés ya que tienen el estatus de QPS (Qualified Presumption of Safety), es decir son consideradas como microorganismos seguros para la salud, ya que tanto ellas como sus metabolitos han sido consumidos en alimentos fermentados por innumerables generaciones sin que haya habido efectos adversos en la población (Joerger, 2003).

Los estudios efectuados con BAL han reportado efectos positivos en el crecimiento, sobrevivencia y eliminación de patógenos de los organismos acuáticos; sin embargo, la gran diversidad de compuestos inhibidores producidos por las bacterias ácido-lácticas, como las bacteriocinas, requieren de rigurosos estudios sobre el modo de acción de estos compuestos sobre otros microorganismos en condiciones ambientales diferentes a las de su origen. (Dosta, 2009)

1.1.6.2.2 Prebiótico

Algunos componentes presentes de la fibra son denominados **prebióticos**, definidos como ingredientes alimenticios no digeribles de los alimentos que afectan de manera positiva al huésped, estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o la actividad metabólica de un número limitado de cepas de bacterias colónicas. Estos compuestos se caracterizan por ser moléculas de gran tamaño que no pueden ser digeridas por las enzimas digestivas del tracto gastrointestinal alto del humano, alcanzando el intestino grueso donde son degradados por la microflora bacteriana, principalmente por las *Bifidobacterias* y *Lactobacilos*, generando de esta forma una biomasa bacteriana saludable (Lorente, 2001; Olagnero Y Abad, 2007).

A diferencia de las bacterias vivas de los probióticos, los prebióticos son solamente sustancias que ayudan al desarrollo de las bacterias beneficiosas propias del organismo. Para que un ingrediente alimenticio sea considerado prebiótico debe cumplir con los siguientes criterios: (Olagnero Y Abad, 2007)

- ❖ No debe ser hidrolizado o absorbido en la parte alta del tracto digestivo.
- ❖ Debe ser fermentado selectivamente por una o un número limitado de bacterias potencialmente benéficas del colon, por ejemplo bifidobacterias y *Lactobacillus*.



- ❖ Debe ser capaz de alterar la microflora colónica tornándola saludable, por ejemplo reduciendo el número de organismos de putrefacción e incrementado las especies sacarolíticas

Ejemplos de estos alimentos es la fibra dietética, en concreto los fructooligosacáridos (FOS), que están actualmente muy de moda. Éstos están formados por azúcares simples de cadena corta (de 3 a 10 unidades de azúcar), de las que por lo menos 2 son fructosa(Gimeno, 2004).

A- Fibra

La fibra es un término usado para denotar una variedad de diferentes componentes naturales de la dieta que son partes comestibles de plantas o hidratos de carbono. Se dividen en tres categorías, según el número de unidades de fructosa que contienen. Los enlaces de estos azúcares son resistentes a la digestión al no poder ser hidrolizados por las enzimas del intestino delgado, de manera que no pueden ser absorbidas por éste y pasan al intestino grueso, donde pueden ser parcial o completamente fermentadas y en el que pueden estimular selectivamente el crecimiento de bacterias beneficiosas, como las bifidobacterias y *Lactobacillus*, lo que da lugar a una reducción de bacterias patógenas como *Salmonella* y *Clostridium*(Gimeno, 2004; Salinas, 2013).

La fibra dietética se puede clasificar en soluble e insoluble.

- ❖ Las fibras insolubles (FAI) son generalmente poco fermentadas en el intestino grueso. Forman con el agua mezclas de baja solubilidad y sirven de nutrientes a las bacterias entéricas está integrada por celulosa, hemicelulosa, lignina y almidón resistente. Retiene poco agua
- ❖ Las fibras dietéticas solubles (FAS) captan mucha agua y forman geles viscosos en contacto con agua. Reducen la absorción de grasa o azúcares por el tracto digestivo, son fermentadas por la flora bacteriana del colon favoreciendo el desarrollo de la microbiota. Comprenden a las gomas, mucílagos, pectinas, almidón resistente 2 y 3, algunas hemicelulosas, galactooligosacáridos (GOS), **inulina** y fructooligosacáridos (FOS) (Olagnero Y Abad, 2007; Salinas, 2013).



Otro tipo de clasificación de la fibra dietética se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Clasificación de fibra dietética

1. Polisacáridos estructurales
Celulosa
Hemicelulosa
Sustancias pécticas
2. Polisacáridos no estructurales
Gomas
Mucílagos
3. No hidratos de carbono
Lignina
Cutina
Taninos
Suberina
Ácido fítico

Fuente: Sastre, Gallego A. (2003).

De acuerdo a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 de especificaciones Generales de etiquetado la Ingesta Diaria Recomendada de Fibra dietética para el mexicano es de 30g. En general, se acepta que se debe consumir más de 2 g diarios de estos FAS para percibir sus efectos prebióticos.(Gimeno, 2004)

Inulina

La inulina es un carbohidrato de almacenamiento presente en muchas plantas, vegetales, frutas y cereales y por tanto forma parte de nuestra dieta diaria. A nivel industrial, la inulina se obtiene de la raíz de la achicoria, cebolla, ajo, cardo, alcachofa, yacón, entre otros; y se usa como ingrediente en los alimentos, ofreciendo ventajas tecnológicas e importantes beneficios a la salud. La inulina está constituida por moléculas de fructosa unidas por enlaces β -(2 \rightarrow 1) fructosil-fructosa, siendo el término “fructanos” usado para denominar este tipo de compuestos. Las cadenas de fructosa tienen la particularidad de terminar en una unidad de glucosa unida por un enlace α -(1,2) (residuo -Dglucopiranosil), como en la sacarosa (Figura 2. A), pero también el monómero terminal de la cadena puede corresponder a un residuo de β -D-fructopiranosil (Figura 2. B) (Madrigal Y Sangronis, 2007).

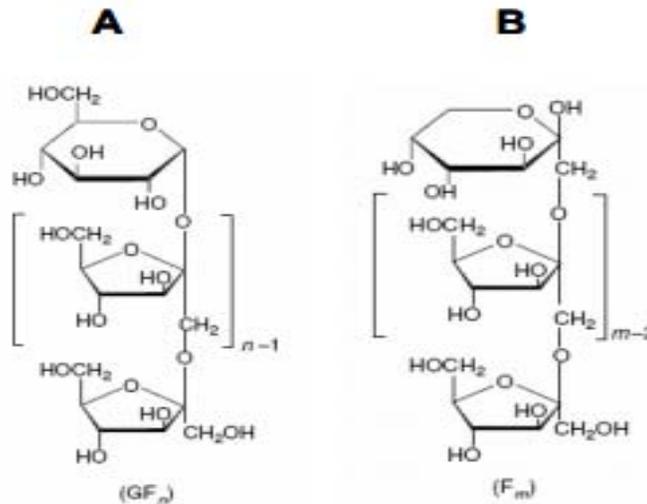


Figura 2. Estructura química de la inulina: con una molécula terminal

Fuente: Madrigal, L.; Sangronis, E. (2007).

Forma parte de la fibra dietética, es soluble en agua, es no digerible por las enzimas digestivas del tracto digestivo del humano, es digerida por los organismos pobladores del intestino. Una vez digerida, la inulina libera fructosa en pequeña proporción. El organismo humano carece de enzimas específicas para hidrolizarla y no es degradada por la ptialina y la amilasa salivar o pancreática, dado que sus enlaces α -(1,2) resisten a su acción (Calvo y Col, 2011).

Aplicaciones y beneficios

La inulina posee un sabor neutral suave, es moderadamente soluble en agua y otorga cuerpo y palatibilidad. Tiene diversas aplicaciones en la industria de alimentos, puede ser utilizada como sustituto del azúcar, reemplazante de las grasas, agente texturizante y/o estabilizador de espuma y emulsiones. Por este motivo se incorpora a los productos lácteos, fermentados, jaleas, postres aireados, mousses, helados y productos de panadería. La dosis máxima permitida para adicionar un alimento formulado con inulina es para *dosis simple* hasta 10 g/día y en *dosis múltiples* hasta 20 g/día. En dosis mayores a las permitidas puede provocar intolerancias luego de su consumo, como efectos osmóticos (diarrea), ruidos intestinales y flatulencia como consecuencia del proceso de fermentación (Olagnero y Abad, 2007).



Los subproductos de su metabolización aumentan el peristaltismo intestinal y facilitan la absorción de minerales como el calcio, magnesio y fósforo. Al estar disponible para su metabolización por la microbiota, favorece el desarrollo de Bifidobacterias y Lactobacillus actuando como probiótico, cuyo efecto bifidogénico que le supone utilidad terapéutica (Calvo y Col, 2011).

Otras de las propiedades beneficiosas a la salud gracias a la inulina, se mencionan: el refuerzo de las funciones inmunológicas (ante cáncer o tumores), el aumento de la biodisponibilidad de minerales, la mejora del metabolismo de las grasas y disminución en la respuesta glicémica (Madrigal y Sangronis, 2007).

1.1.6.2.3. Simbióticos

El término “simbiótico” se refiere a un producto alimenticio que contiene, en forma combinada, probióticos y prebióticos, los cuales pueden actuar en forma sinérgica para modular la microbiota (flora) intestinal del consumidor e impactar positivamente sobre su salud (Gotteland, 2010). Tanto los alimentos probióticos como los prebióticos y los simbióticos son considerados como alimentos funcionales debido a sus impactos positivos sobre la salud.

A largo plazo el consumo regular de simbióticos diversos ha demostrado mejorar la salud en adultos mediante la reducción de la incidencia y severidad de las enfermedades respiratorias durante la temporada de frío, lo que sugiere un efecto sinérgico entre probióticos y prebióticos. Por otra parte, los simbióticos son capaces de alterar la composición de la microflora del colon, reduciendo los procesos inflamatorios en la mucosa del intestino. Tienen el potencial para inducir la remisión en las enfermedades inflamatorias del intestino. En pacientes sometidos a cirugía, se ha demostrado que algunos simbióticos son capaces de prevenir las infecciones bacterianas. En lo referente al envejecimiento, prebióticos, probióticos y simbióticos podrían mejorar la flora intestinal y la enfermedad inflamatoria en las personas mayores (Rosas, 2011). En la Figura 3 se muestran los principales efectos simbióticos.

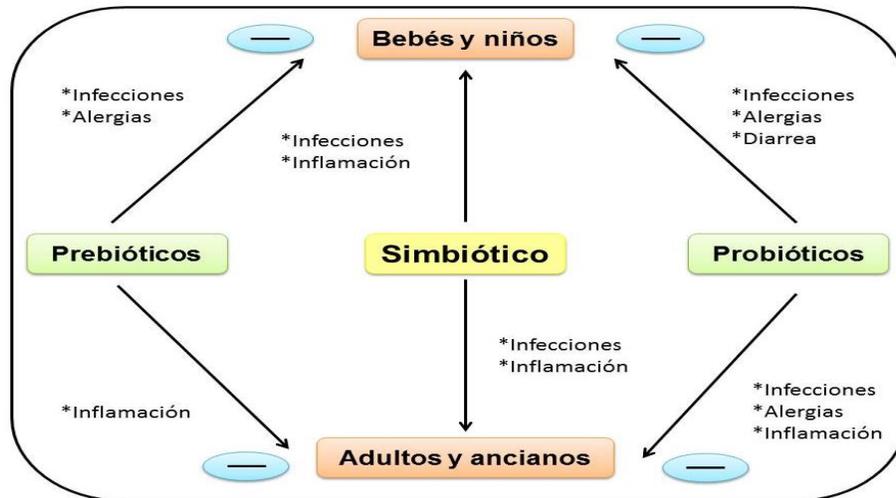


Figura 3. Principales efectos de los simbióticos sobre el sistema inmunitario en distintas etapas de la vida en humanos.

Fuente: Rosas, M. R (2011)

Un factor importante en el momento de desarrollar un simbiótico es determinar la compatibilidad entre la cepa probiótica y el tipo de prebiótico utilizado. Hay que tener en cuenta que el prebiótico puede favorecer selectivamente el crecimiento del probiótico en el tubo digestivo a condición que dicho probiótico pueda utilizarlo como sustrato, es decir, que tenga las enzimas necesarias para metabolizarlo. Si no es el caso, será metabolizado por las poblaciones autóctonas de bifidobacteria y lactobacilos del colon (Gotteland, 2010).

Para la elaboración de un simbiótico, es importante tomar en cuenta que el componente prebiótico puede ser incorporado con más facilidad a un gran número de matrices alimenticias mientras que el componente probiótico, por ser un microorganismo vivo, es un factor limitante al uso del simbiótico en dichas matrices. En la actualidad, los principales alimentos con simbióticos son productos lácteos, debido al hecho que la leche es la matriz alimenticia más adecuada y fácil de usar para los probióticos que, en su mayoría, son bacterias lácticas. Con el fin de ampliar el uso de los probióticos a otras matrices se han desarrollado procesos de microencapsulación, particularmente mediante secado spray, que podrían permitir el uso de probióticos (y por ende de simbióticos) en matrices alimentarias con baja actividad de agua, como es el pan o productos similares(Caicedo, 2010).

Existe un gran número de simbióticos potenciales si se toma en cuenta el gran número de cepas probióticas disponibles o en desarrollo y el gran número de carbohidratos no



digeribles, tanto naturales como sintéticos, que pueden ser utilizados en combinación. En este sentido, cabe destacar el particular interés que representa para los países en desarrollo, en especial los latinoamericanos, la posibilidad de tener acceso a nuevas fuentes de carbohidratos no digeribles provenientes de recursos autóctonos (flora endémica, recursos marinos, entre otros.) que no existen en los países desarrollados y que pueden diferenciarse en cuanto a sus efectos saludables (Rosas, 2011).

1.2. Bacterias en tracto digestivo causantes de enfermedades

Aunque pudiera parecer extraño, la presencia de organismos indeseados (bacterias, virus o parásitos) en el tracto digestivo es sorprendentemente común, el problema se desarrolla cuando se desarrollan en mayor cantidad que microorganismos benéficos.

Cuando el equilibrio de las bacterias saludables en el tracto digestivo se ve alterado y las patógenas ganan terreno, se denomina dismicrobialismo, término acuñado por el Dr. Eli Metchnikoff. Metchnikoff (1906), quien ganara un premio nobel por su trabajo sobre el papel benéfico de *Lactobacilli*, propuso que muchas enfermedades digestivas eran el resultado de un desequilibrio de microorganismos que se encuentran en el tracto digestivo, él desarrolló un trabajo sobre el papel beneficioso de *Lactobacilli* al fomentar la inmunidad pero la medicina moderna básicamente ignoró su trabajo y se fue a favor de la producción de antibióticos y otros fármacos contra microorganismos patógenos en tracto digestivo, se ha mencionado que como resultado de esto muchos microorganismos causantes de enfermedades han desarrollado una resistencia ante los fármacos (Holford, 2011).

Las enfermedades gastrointestinales infecciosas son causadas por bacterias (principalmente *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*), parásitos (*Giardia lamblia* y amibas), y virus (Rotavirus y virus Norwalk) al consumir alimentos y agua contaminados con materia fecal (Hernández y Col., 2011).

1.2.1. Enterobacterias

Las enterobacterias comprenden un grupo relativamente heterogéneo de microorganismos caracterizado por: bacilos gram negativos, no esporulados, no móviles o móviles por flagelo peritrico como se observa en la Figura 4, aerobios facultativos, oxidasa negativos con requerimientos nutricionales simples, fermentan azúcares a una variedad de productos finales. Entre las bacterias entéricas hay muchas cepas patógenas para



humanos y animales o plantas, así como otras cepas de importancia industrial (Case y Col., 2007).

En la Tabla 5 se muestran las enterobacterias más frecuentes que se presentan en el hombre y la localización del punto de infección que atacan principalmente. Su enumeración en la tabla corresponde en orden de prevalencia.

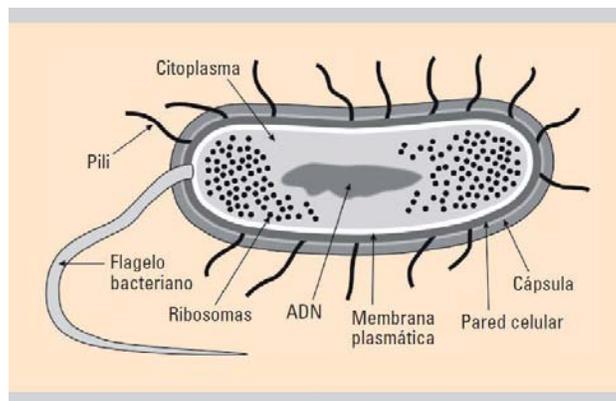


Figura 4. Estructura del género Enterobacteriaceae

Fuente: Puerta, G. P., & Mateos, R. F. (2010).

Tabla 5. Localizaciones de infecciones por las enterobacterias más frecuentes.

Localización	Enterobacterias más frecuentes
Sistema nervioso central	<i>Escherichia</i>
Tracto respiratorio inferior	<i>Klebsiella, Enterobacter, Escherichia</i>
Torrente sanguíneo	<i>Escherichia, Klebsiella, Enterobacter</i>
Tracto digestivo	<i>Salmonella, Shigella, Escherichia, Yersinia</i>
Tracto urinario	<i>Escherichia, Proteus, Klebsiella, Morganella</i>

Fuente:Puerta, G. P., & Mateos, R. F. (2010)

1.2.1.1. *Klebsiella pneumoniae*

El género *Klebsiella* está constituido por *K. pneumoniae* (el patógeno principal); *K. oxytoca* y *K. granulomatis*. *K. ozaenae* y *K.rhinoscleromatis* son subespecies de *K. pneumoniae*, no fermentadoras. Fermentan la lactosa, la mayoría produce colonias sumamente mucoides en placas debido a la producción de una cápsula de polisacárido abundante y todas son inmóviles.



K.pneumoniae forma parte de la flora habitual intestinal y de la cavidad oral del ser humano. Es el agente causante de infecciones del tracto urinario, neumonía, sepsis, infecciones de tejido blando e infecciones de heridas quirúrgicas. Es capaz de causar neumonía en personas por lo demás sanas, aunque casi todas las infecciones por este microorganismo se adquieren en el hospital u ocurren en pacientes debilitados por enfermedades subyacentes. El género *Klebsiella* es característicamente resistente a múltiples antibióticos. Además de la resistencia natural de este microorganismo a la ampicilina y a la carbenicilina(Puerta y Mateos, 2010).

1.2.1.2. *Salmonella enteritidis*

El género *Salmonella* suele ser patógena ya sea en el hombre o en otros animales de sangre caliente. Las infecciones por *Salmonella* son una causa importante de diarrea y morbilidad en la población humana. La enfermedad comúnmente se manifiesta por enterocolitis aguda, con aparición repentina de cefalea, dolor abdominal, diarrea, náuseas y a veces vómitos; y puede evolucionar a septicemia o infección focal. Rara vez es mortal, excepto en niños de corta edad, personas de avanzada edad e inmunodeprimidos (Vaquero y Fernández, 2011).

Salmonella enteritidis produce enterotoxinas cuyo sitio de acción es el intestino delgado, produciendo una secreción masiva de líquidos hacia la luz intestinal, dando lugar a los síntomas de diarrea. Este género se asocia más a enfermedades en animales que en seres humanos, sin embargo es transmisible, lo cual la relaciona con enfermedades gastrointestinales en seres humanos(Chapman, 2005).

Los cuadros clínicos de *Salmonella* serovariedad *enteritidis* están asociadas principalmente al consumo de mariscos, frutas o verduras contaminadas, leche o productos lácteos, huevos crudos o mal cocidos y productos derivados contaminados, tales como mayonesas y merengues entre otros. Otras vías de transmisión es a través de agua o alimentos contaminados con orina o heces de un enfermo o portador. El periodo de incubación depende de la magnitud de la dosis infectante y oscila entre 1 a 10 días.

Esta bacteria causa infecciones en el ser humano en forma endémica o en brotes epidémicos de intoxicación alimentaria que abarcan, en ocasiones, amplias zonas geográficas debido a la centralización de la industria avícola y a extensas cadenas de distribución (Vaquero y Fernández, 2011).



La tendencia de la presente enfermedad en México del año 2000 al 2009, ha sido a la alta, de tal forma que durante el año 2000 se notificaron 99 722 casos y para el 2009 se notificaron 139 149 con una tasa de incidencia de 129.4 casos por cada 100 000 habitantes. En el Figura 5 se muestran los casos por entidad durante el 2009 (Córdoba, 2009). En genero por sexo, son las mujeres las más afectadas, siguiendo una razón de 2 mujeres por cada hombre enfermo por *Salmonella*.

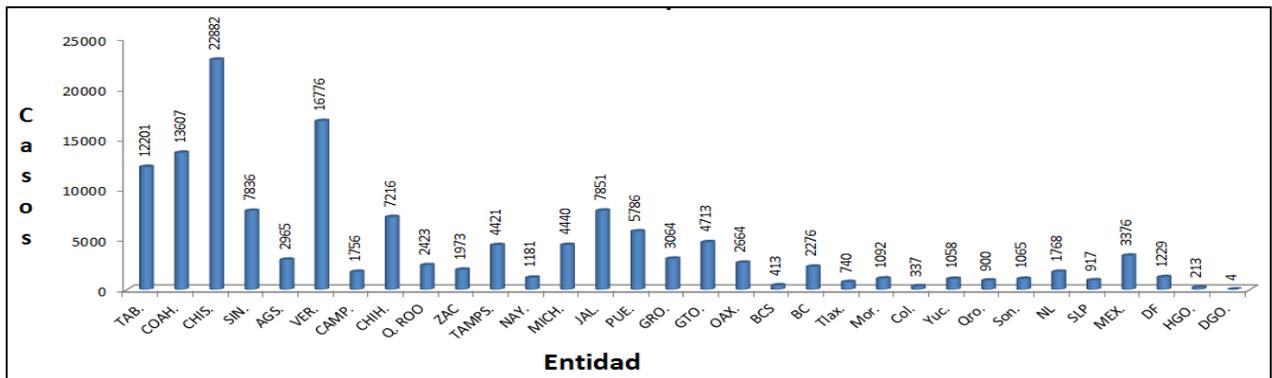


Figura 5. Casos de Salmonella por entidades durante el 2009.

FUENTE: Córdoba, V. J. (2009).

1.3 Curva de McFarland

La utilidad de la escala es poder realizar suspensiones bacterianas ajustadas a un patrón, generalmente se suele usar el 0,5 Mc Farland, para esto se toma una muestra de la bacteria y se inocula en un tubo con solución salina, en el momento en que se produzca un poco de turbidez ya estamos en el 0,5 (de forma visual) (Perilla y Col, 2004).

Se trata de una serie de patrones de turbidez previamente calibrados. Consiste en varios tubos de vidrio herméticamente cerrados que contienen (1% de Cl_2Ba + cantidades crecientes de SO_4H_2 al 1%); por lo tanto, en cada tubo se origina un precipitado de SO_4Ba , origen de la turbidez. Para cada cepa bacteriana hay que establecer la equivalencia entre la turbidez de cada tubo y la masa o la concentración de bacterias que genera una turbidez similar (Iáñez, 2009)

La finalidad, es establecer una relación entre una precipitación química y una suspensión bacteriana. Creamos 10 estándares, como se muestra en la Tabla 6, por espectrofotometría, creamos una recta patrón, de forma que vamos a poder detectar la concentración de nuestras diluciones bacterianas (de manera aproximada, ya que



depende de factores como el tamaño de la bacteria, la formación de agregados, entre otros.). La escala se basa en la capacidad de precipitación del cloruro de bario en presencia de ácido sulfúrico (<http://perso.wanadoo.es/microdominguez/c.htm>).

Tabla 6. Diluciones estándares para la curva de Mc Farland.

TUBO	Cl ₂ Ba 1%	SO ₄ H ₂ 1%	UFC/ml
1	0.1	9.9	3.0x10 ⁸
2	0.2	9.8	6.0x10 ⁸
3	0.3	9.7	9.0x10 ⁸
4	0.4	9.6	1.2x10 ⁹
5	0.5	9.5	1.5x10 ⁹
6	0.6	9.4	1.8x10 ⁹
7	0.7	9.3	2.1x10 ⁹
8	0.8	9.2	2.4x10 ⁹
9	0.9	9.1	2.7x10 ⁹
10	1.0	9.0	3.0x10 ⁹

FUENTE: <http://perso.wanadoo.es/microdominguez/c.htm>

1.4 Panorama actual de enfermedades gastrointestinales

Teniendo en cuenta que el intestino es el órgano más directamente expuesto a la acción de los múltiples microorganismos que componen la flora bacteriana, no es extraño que buena parte de la investigación sobre la etiología de estas enfermedades se haya centrado en la influencia de las bacterias en la iniciación y perpetuación del proceso inflamatorio. La estrategia básica del tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal estaba dirigida a modular o suprimir las respuestas inflamatorias, se prestaba poca atención a modificar el microambiente intestinal en lo que se refiere a la flora. La modificación de la flora intestinal mediante probióticos ofrece la oportunidad de actuar no sólo desde el punto de vista microbiológico, sino probablemente desde el punto de vista inmunológico. Los estudios realizados sugieren que, además del efecto puramente competitivo con otras bacterias y la producción de sustancias antimicrobianas, los probióticos pueden modificar el diálogo epitelio-sistema inmunitario intestinal ejerciendo un efecto inmunomodulador, ya que algunos de ellos podrían tener propiedades antiinflamatorias al interactuar con la mucosa intestinal (Borrue y Col., 2002).



El elevado número y la diversidad de la microflora intestinal humana se reflejan en su amplia y variada capacidad metabólica, en especial en relación con la biotransformación de xenobióticos, y la síntesis y activación de carcinógenos.

La modificación de la microflora intestinal interferiría con el proceso de carcinogénesis, y esto abre la posibilidad de plantear modificaciones dietéticas para reducir el riesgo de cáncer de colon. En este sentido, se ha prestado una especial atención a los probióticos y prebióticos, que modifican la microflora aumentando el número de lactobacilos y bifidobacterias en el colon (Burns & Rowland, 2003).

Las cifras que se tienen actualmente de enfermedades gastrointestinales son preocupantes, Remes-Troche y Col. (2009) han reportado datos como los que a continuación se mencionan:

- El estreñimiento se presenta entre 2 y 20% de la población.
- Se considera que el 50% de la población mundial está infectada con la bacteria *Helicobacter pylori*, causante de **gastritis crónica y úlcera péptica**.
- La Organización Mundial de la Salud [OMS] estimó que la principal causa de muerte en el mundo durante 2008 fue el cáncer, con 7.6 millones de casos, lo cual equivale al 13% de todas las muertes a nivel mundial. Provocando 608 000 muertes el **cáncer de colon**.

Panorama actual de enfermedades gastrointestinales en México

Las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas de salud pública en México. Se transmiten, ya sea por vía fecal-oral, o bien por el consumo de agua y alimentos contaminados. Afectan principalmente a la población infantil, y tanto su incidencia como su prevalencia dependen del nivel socioeconómico de los pacientes.

Entre las enfermedades del tracto gastrointestinal más frecuentes se encuentran las diarreas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año tienen lugar 1,500 millones episodios en países en vías de desarrollo, resultando de éstos en 1,5 millones de muertes. En México, un estudio gubernamental realizado en 2003, reportó 4 556 decesos causados por infecciones intestinales. En 2001, la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la decimocuarta causa de fallecimientos en el nivel nacional, y que



los estados con mayor incidencia eran: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla, y el Distrito Federal. Tan solo en 2008, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) brindó 2 millones 188 consultas por enfermedades gastrointestinales, y los estados con mayor incidencia de estas infecciones fueron: Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero, y Oaxaca. De acuerdo con estadísticas del IMSS, las infecciones, como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea, cólera y rotavirus representan un severo problema de salud pública para nuestro país (Hernández y Col., 2011).

1.4.1. Frecuencia de enfermedades Gastrointestinales.

Cifras en México reportan que (Remes-Troche y Col., 2009):

- Entre 16 y 35% de la población presenta colon irritable.
- La **úlcer a péptica** tiene una prevalencia en México de 15%-20%. Prevalencia en niños de 10 años: 50% (17% úlcera gástrica, el 4% complicaciones de la úlcera y 1% cáncer gástrico) y en países occidentales desarrollados, la prevalencia es del 5-15% es decir las personas la van a padecer en algún momento de su vida. La incidencia anual oscila entre un 0.04% y el 2.4% para la úlcera duodenal y entre un 0.02% y un 0.34% para la úlcera gástrica. La mortalidad es muy baja, entre un 2-3/100.000. En México la **úlcer a péptica** es una de las 3 causas más comunes de hemorragia del tubo digestivo.
- La prevalencia de enfermedad por **reflujo gastroesofágico** en México es del 20%, en América del Norte es de 19.8-20% y en Europa 9.8-18%. En los países asiáticos la prevalencia es menor (2.5-4.8%). Se estima que 25% de los adultos presentan cada mes síntomas característicos de enfermedad por reflujo gastroesofágico como son pirosis (acidez) y reflujo el 12% los presenta cada semana y el 5% diariamente. Además esta enfermedad representa el 5% de las consultas de atención primaria en países occidentales.
- En México entre la población adulta (30 a 59 años), las tasas de mortalidad más alta se concentra en los tumores malignos en órganos digestivos (15.01 por cada 100 mil personas de ese grupo de edad). Finalmente en la población adulta mayor, nuevamente son los tumores malignos en órganos digestivos los que presentan las tasas más altas (173.26 por cada 100 mil adultos mayores).
- El cáncer de colon provoca en México nueve muertes diarias y 58 diagnósticos nuevos, lo que lo ubica en una de las enfermedades más agresivas.



1.5. Innovación de productos

Durante los últimos años, debido a la globalización de los mercados y al incremento de los factores de escala en la producción de bienes y servicios hasta límites insospechados, hay un nuevo entorno competitivo, las empresas han tenido que analizar meticulosamente su manera de hacer las cosas con la intención de conocer las capacidades distintivas que las mantienen en el negocio y las fortalezas que deben cultivar u obtener para mantener su posición competitiva o mejorarla (Monforte, 2004).

Diversos autores e investigadores sobre management se refieren a la estrategia de innovación y su extensión sobre el éxito de las empresas como “La búsqueda de la ventaja competitiva es igual a la innovación”, donde “La única ventaja competitiva permanente surge de ganarle en innovación a la competencia”. Adicionalmente mencionan la innovación como generador de riqueza y para lograr una interacción entre estos dos conceptos afirman que “...la riqueza no se genera perfeccionando lo conocido sino captando imperfectamente lo desconocido”.

Remarcando en la claridad sobre la diferenciación entre la innovación y la optimización, diciendo que “en el nuevo régimen, la riqueza proviene directamente de la innovación y no de la optimización” (Giraldo, 2004).

Giraldo (2004) comenta en su artículo lo mencionado por Freeman (1974) sobre la innovación que es descrita como “Un proceso que incluye las actividades de técnica, diseño y manufactura, administración y comercialización envueltas en el mercadeo de un nuevo producto o el primer uso de un nuevo proceso de producción o equipo” mostrando completamente una interacción entre los componentes de la empresa.

Como se menciona en la revista Harvard Business Review. “Una empresa no puede crecer más que sus competidores a menos que pueda innovar más que ellos” (Gary y Gary, 2004).

1.5.1. Desarrollo de nuevos productos

Los nuevos productos son indispensables para el crecimiento. Hoy, más que nunca se escucha la frase: “innovar o morir”, por lo tanto, dependiendo de los objetivos del desarrollador se decide la estrategia de orientarse a la innovación en el desarrollo de nuevos productos.



Un nuevo producto puede ser creado o hecho “nuevo” de muchas maneras. Un concepto enteramente nuevo se puede traducir en un nuevo artículo, simples cambios secundarios en un producto ya existente pueden convertirlo en otro “nuevo” (García, 2010).

Algunos de los cambios en el entorno de mercado, con el impacto potencial de las formas en que el desarrollo de nuevos productos que se practica y logró en la última década son:

- Aumento del nivel de las competiciones en el mismo mercado
- La rápida evolución de las necesidades y expectativas del cliente
- Mayores tasas de obsolescencia técnica
- Más cortos los ciclos de vida de productos (Kumar, 2005).

Los nuevos productos o servicios se pueden clasificar en:

- Productos totalmente innovadores que crean nuevos mercados.
- Nuevas líneas de productos y servicios que van a nuevos mercados. Por ejemplo, para responder a estrategias de diversificación, tanto para crecer o bien para no decrecer y atomizar riesgos.
 - Extensión de líneas de productos y servicios. Generalmente para captar clientes de la competencia, nuevos segmentos o bien para impulsar la demanda.
 - Mejora de productos y servicios sustitutivos de los existentes. Basados en estrategias de fidelización, se ofrecen nuevos beneficios y soluciones más avanzadas.
 - Reposicionamientos. Cuando se instalan en la mente de los clientes nuevas prestaciones que satisfacen nuevas necesidades (García, 2010).

El generar nuevos productos conlleva una serie de etapas o pasos a seguir, de acuerdo a diferentes autores, quienes propusieron una propia metodología como se observa en la Tabla 7, se observa que aun con etapas de más o de menos, la idea es similar.



Tabla 7. Etapas del desarrollo de nuevos productos por diferentes autores.

AUTOR	ETAPAS							
Philip Kotler	Generación de ideas	Tamizado preliminar	Desarrollo y pruebas de concepto	Análisis financiero	Desarrollo del producto	Comercialización		
Robert Cooper	Ideas	Evaluación preliminar	Concepto	Desarrollo	Prueba	Experimento	Lanzamiento	
J. Gultinan y G. Paul	Generación de ideas	Selección	Prueba de concepto	Factibilidad técnica	Prueba de producto	Análisis de rentabilidad	Marketing de prueba	Introducción al mercado
Stephen Rosenthal	Validación de la idea	Diseño conceptual	Especificaciones y diseño	Producción y pruebas de prototipo	Aceleración gradual de la manufactura	Lanzamiento del proyecto	Aprobación e implementación del proyecto	Aprobación del diseño e inicio de producción masiva

FUENTE: <http://marketingcosmeticaperfumeria.wordpress.com/2010/08/05/proceso-del-desarrollo-de-nuevos-productos/>

1.5.1.1. Simbióticos: Natilla Simbiótica y otros ejemplos de alimentos funcionales.

Una natilla simbiótica es el producto que se obtiene por la concentración de la grasa contenida en la leche seguida de un proceso de fermentación controlada mediante la inoculación de cultivos lácticos y adición de inulina como prebiótico. El contenido graso puede variar de 12 a 30%, pero la mayoría de las plantas produce crema con 18 a 25% de grasa y así obtienen una buena consistencia y sabor.

En el mercado centroamericano existen dos tipos de natilla fermentada, una producida a nivel de finca, conocida como natilla casera y la otra elaborada en las plantas lecheras. La natilla casera es obtenida por fermentación natural, a temperatura ambiente, de la crema que el productor separa en forma manual. Esta crema varía en su contenido graso y por no ser pasteurizada existe la posibilidad de que haya presencia de microorganismos patógenos, lo que representa una amenaza para la salud del consumidor. Sin embargo, a pesar de los riesgos, muchos consumidores la prefieren por su riqueza en grasa, es mayor que la crema producida en las plantas, así como por su sabor y aromas característicos (FAO).



❖ Otros ejemplos de Alimentos Funcionales

En la Tabla 8 se muestra una recopilación de alimentos lácteos funcionales presentes en el mercado mexicano:

Tabla 8. Ejemplos de Alimentos Funcionales en el mercado mexicano.

Marca	Ingredientes Funcionales	Imagen
Activia	<i>Bifidobacterium animalis</i> y Fibra.	
Yakult	<i>Lactobacillus casei</i> Shirota.	
SanCor Bio Regular Natural	<i>L.casei</i> + Fructanos Naturales.	
Benecol	Esteroles de origen vegetal.	
Svelty Total Digest	ACTIFIBRAS® : Fibras prebióticas.	
Gastro Protect	Lactobacilos exclusivos de NESTLÉ® La1®.	

Los alimentos funcionales se presentan como una gama intermedia entre los medicamentos y los alimentos, pero no dejan de ser productos de gran consumo que se compran libremente. Sus envases pequeños y manejables, la estética de su empaque o



las declaraciones nutrimentales publicitarias que se utilizan en su promoción nos remiten muchas veces significados implícitos que los acercan a los medicamentos.

Siendo estos una manifestación más de las dinámicas de la sociedad de la información, en la que los valores procedentes de la investigación no se utilizan sólo para la innovación en nuevos productos de mayor valor añadido, sino que se usan también como argumento comercial (Peña, 2005).

Los alimentos funcionales ya están siendo comercializados y promovidos activamente a los consumidores conscientes de la salud en todo el mundo. Las empresas de alimentos más importantes del mundo han adoptado el concepto de alimentos funcionales y lo ven como una tendencia que llegó para quedarse (Heasman y Melletín, 2001).



Capítulo 2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un producto lácteo simbiótico tipo natilla que cumpla con la norma mexicana NOM-185-SSA1-2002, empleando como prebiótico inulina y como probiótico *L. bulgaricus*, *L. lactis* y *S. thermophilus* para crear un postre que posea las características de simbiótico.

2.1.1 OBJETIVOS PARTICULARES

OBJETIVO PARTICULAR 1

Estandarizar el proceso de elaboración de un producto lácteo simbiótico tipo natilla para posteriormente, mediante un análisis sensorial, determinar la concentración de inulina a emplear para su elaboración.

OBJETIVO PARTICULAR 2

Realizar una evaluación sensorial del postre simbiótico tipo natilla estandarizado y así determinar el sabor a emplear en su elaboración final.

OBJETIVO PARTICULAR 3

Realizar el análisis microbiológico del postre simbiótico tipo natilla mediante la técnica establecida en la NMX-F-703- COFOCALEC-2004, para verificar el cumplimiento del producto como un probiótico.

OBJETIVO PARTICULAR 4

Realizar el análisis microbiológico del postre simbiótico tipo natilla mediante las pruebas establecidas en la normatividad mexicana NOM 243-SSA1-2010 para determinar su calidad sanitaria.

OBJETIVO PARTICULAR 5

Realizar dos retos microbianos al producto terminado con *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enteritidis* inoculadas en dos muestras diferentes de la natilla, mediante pruebas establecidas en la normatividad mexicana NOM 113-SSA1-1994 y NOM-114-SSA1-1994 respectivamente, para probar su efectividad en la destrucción de las cepas patógenas empleadas para los retos.



OBJETIVO PARTICULAR 6

Realizar el análisis químico proximal al postre simbiótico tipo natilla mediante técnicas oficiales para conocer su aporte nutrimental final.

OBJETIVO PARTICULAR 7

Realizar una evaluación sensorial del postre simbiótico tipo natilla mediante una prueba Hedónica para conocer el agrado del producto por parte de los consumidores.



Capítulo 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1 Cuadro Metodológico

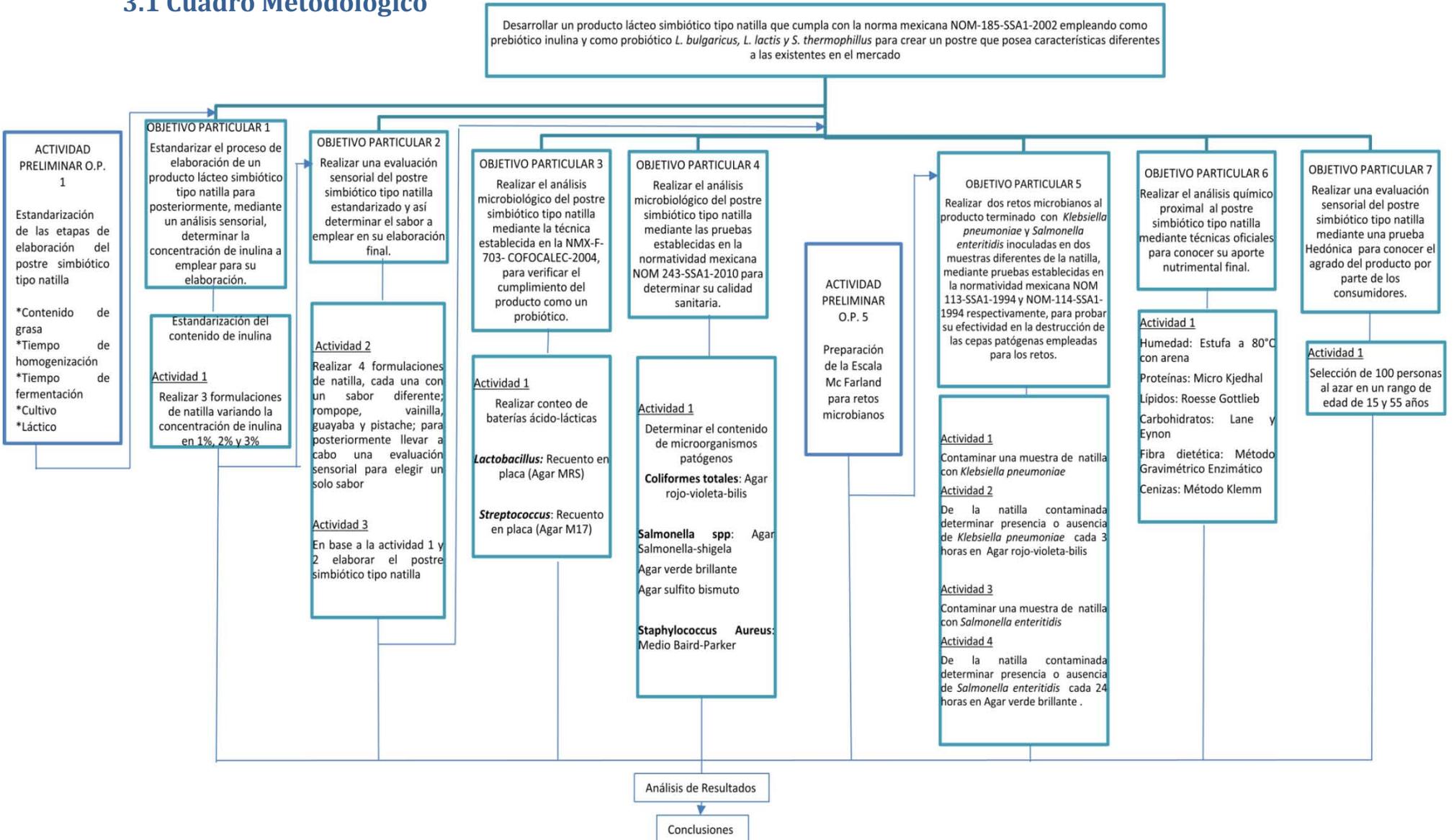


Figura 6. Cuadro Metodológico.



3.2 Desarrollo experimental

3.2.1 Actividad preliminar O.P.1. Estandarización de las etapas de elaboración del postre simbiótico tipo natilla

Durante esta actividad se estandarizaron las condiciones de las etapas para el proceso de elaboración del postre simbiótico tipo natilla. Estas fueron empleo de cultivo láctico, tiempo de homogenización, contenido de grasa; así como tiempo de fermentación.

- El cultivo láctico que contiene la cepa probiótica es una mezcla comercial (DANISCO, Código CHOOZIT MY 800 LYO) liofilizada con 10^6 UFC de *L. bulgaricus*, *L. lactis* y *S. thermophilus*. Previo a la elaboración del postre simbiótico tipo natilla este cultivo láctico necesito someterse a inoculación² en leche entera adquirida del centro Comercial Centro Urbano Cuautitlán Izcalli Marca Santa Clara, para llevar un proceso de fermentación; con la finalidad de facilitar la adaptación y la reproducción de las bacterias ácido lácticas en un medio que presente las condiciones óptimas para este fin; para posteriormente adicionarlo en la etapa correspondiente en la elaboración del postre simbiótico tipo natilla

De Fabela, 2013 se tomó la referencia de adicionar un 3% de sólidos de leche (Leche en polvo Marca Nido, Centro comercial Urbano Cuautitlán Izcalli) para estandarizar la leche entera que se utilizó en la inoculación del cultivo láctico, y así se creó un medio que proporcionó los nutrientes suficientes para iniciar la adaptación y desarrollo de las bacterias ácido lácticas. El porcentaje de cultivo láctico empleado para esta primera inoculación se determinó en base a lo establecido por el proveedor DANISCO. Se calculó tomando como base para 50lt de leche entera se emplean 0.8150gr de cultivo, se hizo la relación y se utilizó 0.0016g para 100ml de leche entera. A esta etapa de inoculación del cultivo láctico y fermentación se le llamó Pase de Activación, el cual se muestra en el Figura 7.

²Inoculación. es ubicar algo que crecerá y se reproducirá,

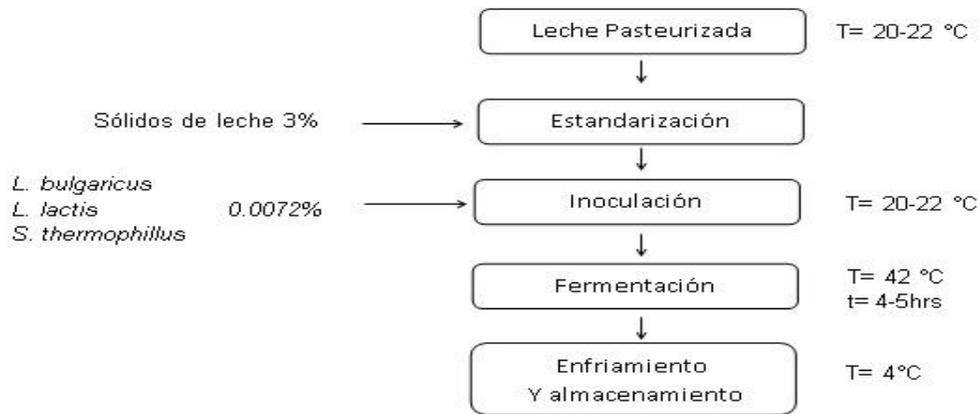


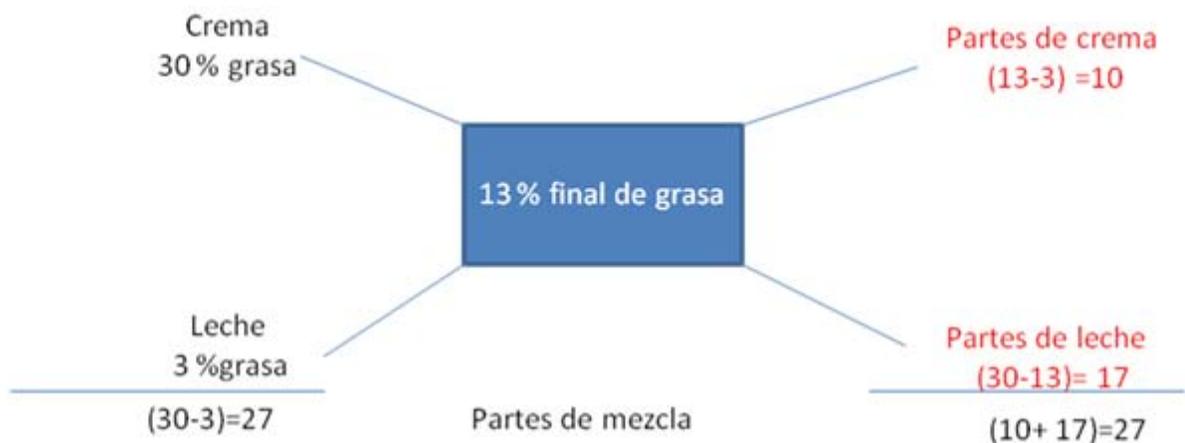
Figura 7. Diagrama de Proceso de elaboración del pase de activación del cultivo.

- Una vez teniendo el pase de activación, se adicionó un 5% de este pase de activación en la etapa de Fermentación del proceso de elaboración del postre simbiótico tipo natilla patrón, para disminuir el tiempo de fermentación.
- Las condiciones de estandarización del proceso de elaboración del postre simbiótico tipo natilla se establecieron de la siguiente manera:
 - Para lograr una consistencia característica de una natilla se utilizó el espesante Natinal 465 del proveedor Ingredion. De acuerdo con el proveedor la recomendación era utilizar de un 3% a un 5% del espesante con base en la formulación final. Se decide usar la recomendación del proveedor de un 3% en la formulación final que al mismo tiempo es lo establecido en la normatividad mexicana NOM 243-SSA1-2010, donde menciona que no está permitido adicionar más de un 3% de espesantes en la formulación final.
 - El tiempo de homogenización se estableció en 5 minutos, tiempo durante el cual quedaba una mezcla visualmente homogénea. Para la homogenización se utilizó la batidora de brazo Silvercrest.
 - El tiempo de fermentación se estableció considerando que se debe de llegar a un pH =4.5. El monitoreo del pH se realizó con tiras de papel pH.
 - Para conseguir el contenido de grasa propia de una natilla se empleó crema dulce comercial de buena calidad (basado en un estudio realizado



por PROFECO³) en el cual se menciona que cumple con esta denominación. Para establecer el contenido de grasa a adicionar se llevó a cabo un balance de materia empleando el cuadro de Pearson, que se utiliza cuando uno desea saber qué cantidad se necesita adicionar de leche y/o crema para obtener un producto con la composición deseada; en este caso la grasa :

- Se estableció obtener un 13% de grasa en el contenido final de la natilla.



27 partes de mezcla= 100 %
 10 partes de crema= **37.03 %** _____ Ec. 1

27 partes de mezcla= 100 %
 17 partes de leche = **62.9%** _____ Ec. 2

- Ahora considerando todos los ingredientes menos la crema y la leche se llegó a la formulación marcada en la Tabla 9. Sustituyendo la ecuación 1 y 2 en la ecuación 3 y 4 respectivamente se obtuvo el porcentaje de crema y leche empleadas.

³ Revista del consumidor, Diciembre 2011. “Estudio de Calidad de Cremas”



Tabla 9. Formulación sin considerar el contenido de crema y leche

INGREDIENTE	%
Inóculo	5.0
Sólidos de leche	3.0
National 465 (espesante)	3.0
Saborizante	3.5
Edulcorante	0.35
Benzoato de Sodio (conservador)	0.03
Colorante	0.02

} $\Sigma = 14.9$

$100\text{gr} - 14.9\text{gr} = 85.1\text{gr}$

Sí:

Crema
 $85.1\text{gr} = 100\%$ _____ Ec. 3
 $31.62\text{gr} = 37.03\%$

Leche
 $85.1\text{gr} = 100\%$ _____ Ec. 4
 $53.57\text{gr} = 62.96\%$

- El resultado del cálculo es utilizar 31.62 gr de crema y 53.57 gr de leche, sin embargo por facilidad de manejo se decidió redondear los resultados disminuyendo el porcentaje de crema y aumentándolo a la leche; de manera que formulación final de la natilla patrón se muestra en la Tabla 10 :



Tabla 10. Formulación final de natilla patrón

Ingrediente	%
Leche	55.0
Crema	30.0
Inóculo	5.0
Sólidos de leche	3.0
National 465 (espesante)	3.0
Saborizante	3.5
Edulcorante	0.35
Benzoato de Sodio (conservador)	0.03
Colorante	0.02

Concluyendo las actividades anteriores, que fueron las actividades preliminares del objetivo uno se obtuvo el diagrama de proceso para elaborar la natilla patrón, como se muestra en la Figura 8. Partiendo de este punto se prosiguió a realizar la variación del contenido de inulina y sabor en la elaboración de la natilla.

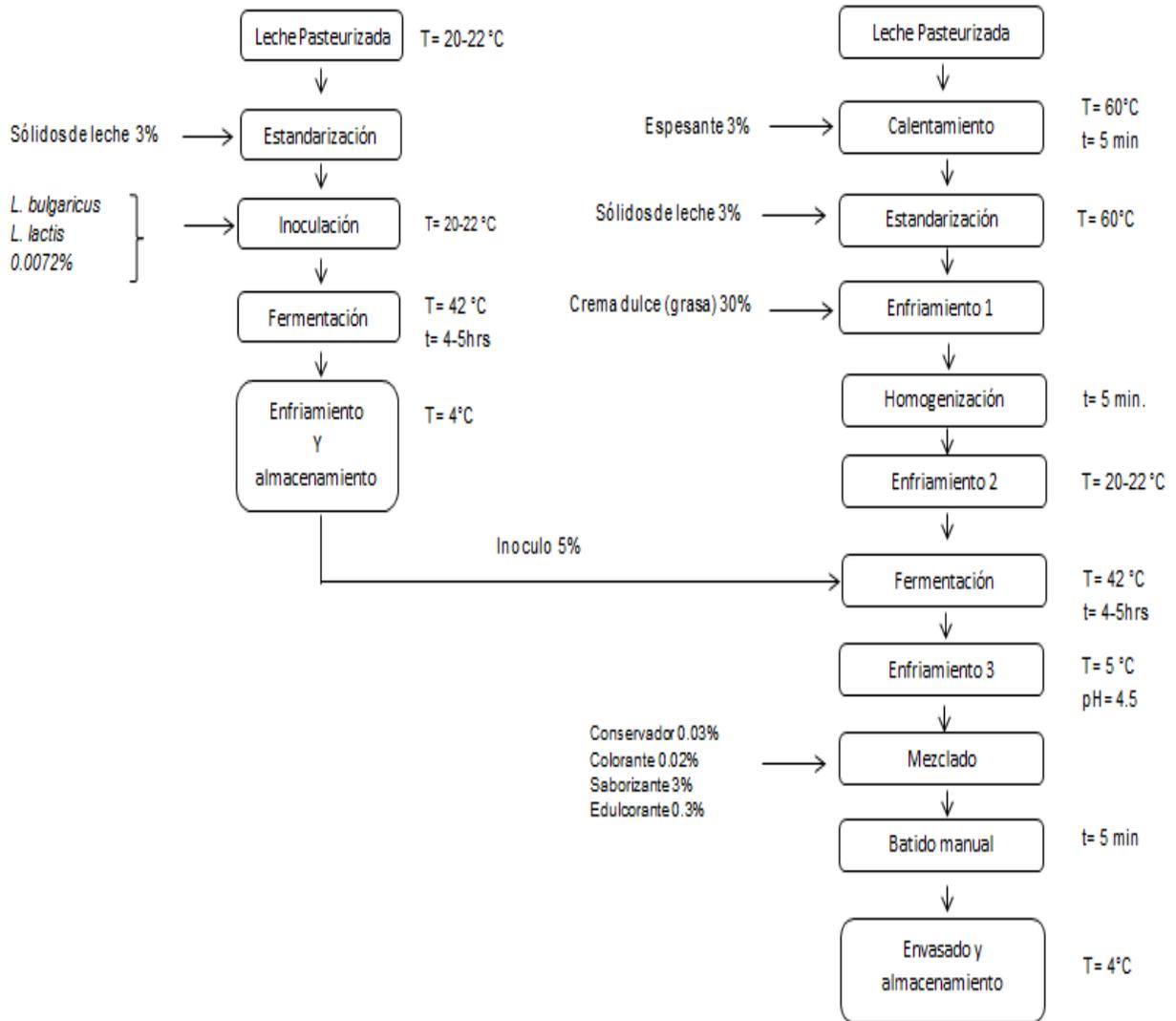


Figura 8. Diagrama de Proceso inicial para elaborar la natilla patrón.

3.2.2 O.P.1 Estandarización del contenido de inulina

Inicialmente se realizaron 3 formulaciones de natillas variando su contenido de inulina en 1%, 2% y 3%; estos porcentajes se eligieron en base al Índice Diario Recomendado (IDR) de 30 gr/día, recomendado en la Normatividad Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Para llevar a cabo esta actividad se siguió como base el Diagrama de Proceso que se muestra en el Figura 8.

Contemplando lo anterior las formulaciones quedaron como se muestra en la Tabla 11.



Tabla 11. Formulaciones del postre simbiótico tipo natilla con 1%, 2% y 3% de inulina respectivamente.

COMPONENTE	FORMULACIÓN 1	FORMULACIÓN 2	FORMULACIÓN 3
Leche pasteurizada	55.0%	55.0%	55.0%
Crema dulce (grasa)	29.0%	28%	27%
Inoculo	5.0%	5.0%	5.0%
Sólidos de leche	3.0%	3.0%	3.0%
National 465 (Espesante)	3.0%	3.0%	3.0%
Saborizante	3.5%	3.5%	3.5%
Inulina	1.0%	2.0%	3.0%
Edulcorante	0.35%	0.35%	0.35%
Benzoato de Sodio (Conservador)	0.03%	0.03%	0.03%
Colorante	0.02%	0.02%	0.02%

Una vez elaborado el postre simbiótico tipo natilla, se procedió a llevar a cabo la evaluación sensorial, por medio de una prueba de comparación apareada simple unilateral, para elegir la concentración de inulina final.

- Condiciones de prueba

La evaluación sensorial se llevó a cabo con un total de 100 personas seleccionadas al azar tanto, en instalaciones de FES-Cuautitlán como en plazas públicas comerciales, con rangos de edad entre 15 y 65 años. Las muestras se identificaron con tres números de tres cifras cada uno sin ninguna secuencia lógica o relación para impedir que los panelistas se dejaran guiar por esta situación. Los resultados fueron evaluados mediante un ANOVA de un camino (Unstacked), y se utilizó una prueba Tukey's con el 95% de confianza para obtener si había diferencia significativa entre los resultados obtenidos de la selección del contenido de inulina.

A cada panelista se le entregó una muestra de cada formulación de natilla, una hoja de evaluación como la que se muestra en la Figura 9, un vaso de agua y una porción de papas saladas estos dos últimos con el fin de aclarar el sabor entre la degustación de cada muestra.



Nombre _____ Fecha _____

Edad _____ Sexo F M

Natilla

Frente a usted se encuentran 3 muestras de postre tipo Natilla, ordene del 1 al 3, siendo el numero 1 el que más le agrade y 3 el que menos le agrade, respecto a las cualidades perceptibles del postre como son: sabor, olor, consistencia.

1) _____

2) _____

3) _____

¿Por qué?

Gracias!!

Figura 9. Encuesta de evaluación sensorial del contenido de inulina

3.2.3 O.P. 2 Selección del sabor de la natilla

Una vez que se eligió la concentración de inulina empleada para la elaboración del postre simbiótico tipo natilla se procedió a determinar el sabor por medio de una nueva evaluación sensorial.

Se elaboraron 4 formulaciones de natilla siguiendo el proceso de la Figura 8 incluyendo la adición del contenido de inulina seleccionado en la evaluación sensorial anterior. Cada formulación con un sabor diferente: rompope, pistache, guayaba y vainilla.

- Condiciones de prueba

La evaluación sensorial se llevó a cabo con un total de 100 personas seleccionadas al azar tanto, en instalaciones de FES-Cuautitlán como en plazas públicas comerciales, con rangos de edad entre 15 y 65 años. Las muestras se identificaron con números de cuatro cifras cada uno sin ninguna secuencia lógica o relación para impedir que los panelistas se dejaran guiar por esta situación. Al igual que en los resultados obtenidos en la determinación del porcentaje de inulina, los resultados fueron evaluados mediante un ANOVA de un camino (Unstacked), y se utilizó una prueba Tukey’s con el 95% de



confianza para obtener si había diferencia significativa entre los resultados obtenidos de la selección del contenido de inulina.

A cada panelista se le entregó una muestra de cada formulación de natilla, una hoja de evaluación como la que se muestra en la Figura 10, un vaso de agua y una porción de papas saladas estos dos últimos con el fin de aclarar el sabor entre la degustación de cada muestra.

Nombre _____ Fecha _____

Edad _____ Sexo F M

Natilla

Frente a usted se muestran 4 natillas de postre simbiótico tipo Natilla, por favor seleccione cuál de las dos le agrada más exclusivamente de acuerdo a su sabor y de un porque.

Me agrada más la número _____

¿Por qué?

Gracias!!

Figura 10. Encuesta de evaluación sensorial para la selección del sabor de la natilla.

3.2.4 O.P. 3 Conteo de bacterias lácticas en el postre simbiótico tipo natilla

Una vez que se estableció el contenido de inulina y el sabor de la natilla se obtuvo la formulación final de la natilla simbiótica. Por ser la natilla un producto fermentado en la cual se utilizaron las mismas cepas que se emplean en la elaboración de un yogurt, se tomó lo especificado en base al CODEX ALIMENTARIUS para Leches Fermentadas 243-2003, que indica que un yogurt debe contener un mínimo de 10^6 UFC/g de la suma de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* viables, reportados como producto terminado, para considerarlo probiótico, conforme al método de prueba de bacterias que fermentan los productos de la NMX-703-COFOCALEC-2012.

Bajo esta indicación se consideró lo mismo para la natilla simbiótica. Se preparó una muestra de 300 gramos de natilla simbiótica final al cual se le realizó el conteo de bacterias lácticas vivas para corroborar que sea un producto probiótico. El método



recomendado para realizar esta determinación es el establecido en la Norma Mexicana NMX-F-703-COFOCALEC-2012 Sistema Producto Leche - Alimentos – Lácteos – Leche y producto lácteo (o alimento lácteo) – Fermentado o acidificado – Denominaciones, especificaciones y métodos de prueba, el cual se realizó por duplicado. Los 300 gramos de natilla se dividieron en frascos estériles con capacidad de 20 gramos. Después de una hora se tomó la primera muestra de uno de los frascos para su siembra, considerándose el día uno. Los demás frascos llenos y sellados se guardaron a una temperatura de 5°C durante el tiempo que duró el conteo de bacterias lácticas. El conteo se llevó a cabo durante un mes, tiempo estimado de su vida de anaquel, realizando conteos cada 4 días. El recuento corresponde a la suma del número de cada uno de los microorganismos vivos en un gramo de muestra. Para su recuento se contaron las colonias formadas en la caja petri de cada dilución y se registraron. Se tomaron en cuenta para el conteo solo aquellas cajas de cada dilución que presento entre 50 y 200 colonias formadas.

Se siguieron las condiciones de las pruebas que se describen en la Tabla 12

Tabla 12. Condiciones para la prueba de conteo de BAL viables.

BACTERIA ÁCIDO LÁCTICA	MEDIO DE CULTIVO	TÉCNICA DE SIEMBRA	CONDICIONES
<i>Lactobacillus</i>	Medio MRS	Vaciado en placa	Incubación en atmósfera anaerobia con 5% de CO2 de 48 a 72hrs a 37°C ± 1°C.
<i>Streptococcus</i>	Medio M17	Vaciado en placa	Incubación en atmosfera anaerobia de 40 a 48hrs a 37°C ± 1°C.

Fuente: NMX-F-703-COFOCALEC-2012

Los medios que se utilizan para estas pruebas tienen la característica especial de permitir el crecimiento de las bacterias ácido lácticas, de la siguiente forma:

1. M17 Agar se basa en la formulación descrita por Terzaghi y Sandine y se recomienda como un medio mejorado para el crecimiento y la enumeración *Streptococcus* (http://www.britanialab.com/productos/404_hoja_tecnica_es.pdf).

El *Streptococcus thermophilus* son nutricionalmente exigentes y requieren medios complejos para un crecimiento óptimo. Su naturaleza productora de ácido



homofermentativas requiere que el pH de medio se mantenga por encima de 5,7 durante el crecimiento activo. Este mantenimiento del pH es importante ya que un pH más bajo puede causar lesiones y la reducción de la recuperación de los *Streptococcus*. M17 Agar contiene di-sodio-glicerofosfato que tiene la capacidad de mantener el pH por encima de 5,7 durante el crecimiento activo incluso después de 24 horas a 30 ° C.

2. El Agar M.R.S. fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, y por su formulación permite el adecuado desarrollo de *Lactobacillus*. La proteasa peptona, el extracto de carne, el extracto de levadura y la glucosa constituyen la fuente nutritiva ya que aportan nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales. El monoleato de sorbitán, las sales de sodio, magnesio y manganeso proveen cofactores para el crecimiento bacteriano y pueden inhibir el desarrollo de algunos microorganismos. El citrato de amonio actúa como agente inhibitorio del crecimiento de bacterias Gram negativas y el agar es el agente solidificante (http://www.britanialab.com/productos/404_hoja_tecnica_es.pdf).

3.2. 5 O.P. 4 Evaluación de la calidad sanitaria del postre simbiótico tipo natilla

Para este objetivo de realizaron pruebas para Coliformes totales, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* del postre simbiótico tipo natilla. Las siembras de estas pruebas se realizaron por duplicado. En la Tabla 13 se muestran las condiciones de prueba para cada microorganismo.



Tabla 13. Condiciones de las pruebas microbiológicas realizadas al postre simbiótico tipo natilla sabor rompope.

MICROORGANISMO	MEDIO DE CULTIVO	T° / TIEMPO DE INCUBACIÓN	TÉCNICA DE SIEMBRA	EXPRESIÓN DE RESULTADOS
<i>Coliformes totales</i>	Agar rojo violeta bilis	35°C/ 24hrs	Vaciado en placa	UFC/g o ml
<i>Salmonella spp</i>	Agar Salmonella-shigela			Presencia o ausencia en 25gr o ml de muestra
	Agar verde brillante	35°C/ 24-48hrs	Estriado	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Agar sulfito de bismuto.			
	Medio Baird-Parker	35°C/45-48hrs	Extensión en superficie	UFC/g ó ml

Fuente: NOM-113-SSA1-1994; NOM-114-SSA1-1994; NOM-115-SSA1-1994

3.2.6 Actividad Preliminar O.P. 5 Preparación de la Escala de Mc Farland para retos microbianos

Para la realización de los retos microbianos con *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enteritidis* necesario conocer y controlar la concentración de dichos microorganismos con la que se inocularon las muestras de natillas. Para esto se realizó la Escala de Mc Farland que se basa en la capacidad de precipitación del cloruro de bario en presencia de ácido sulfúrico, la turbidez que se logra en cada tubo tiene una relación con una posible concentración de muestra bacteriana.

❖ Preparación de la Escala de Mc Farland (Perilla Y Col., 2004).

Se preparó la escala de Mc Farland en viales de 12ml de acuerdo a la siguiente relación Tabla 14:

1. Identificar los tubos con las claves indicadas en la tabla
2. Preparar 10 ml de la solución agregando a cada uno de los tubos el volumen de cloruro de bario y ácido sulfúrico correspondientes indicado en la tabla 14.



3. Cada tubo corresponde a una turbidez que establece una relación entre una precipitación química y una suspensión bacteriana. (UFC/ml).

Tabla 14 Escala Mc Farland

TUBO	BaCl ₂ 1%	H ₂ SO ₄ 1%	UFC/ml
1	0.1	9.9	3.0x10 ⁸
2	0.2	9.8	6.0x10 ⁸
3	0.3	9.7	9.0x10 ⁸
4	0.4	9.6	1.2x10 ⁹
5	0.5	9.5	1.5x10 ⁹
6	0.6	9.4	1.8x10 ⁹
7	0.7	9.3	2.1x10 ⁹
8	0.8	9.2	2.4x10 ⁹
9	0.9	9.1	2.7x10 ⁹
10	1.0	9.0	3.0x10 ⁹

❖ Preparación de la suspensión bacteriana

Una vez realizada la escala se procedió a preparar la suspensión bacteriana a utilizar en cada reto microbiano. Se propuso inocular las muestras de natilla con una concentración de 1.0x10⁶ UFC/ml de cada microorganismo, para lo cual se utilizó el tubo 2 de la escala como referencia.

1. Se tomó una muestra de bacteria (*Klebsiella pneumoniae* o *Salmonella*, dependiendo el reto) previamente sembrada en Agar Soya Trypticasa con el asa estéril y se disolvió en un vial con solución salina estéril. A este vial se le denominó vial "A".
2. Se tomó cuanto muestra fuera necesaria a fin de llegar a la turbidez similar del tubo 2. Se comparan los tubos utilizando la Figura 11 de fondo a contra luz.
3. Una vez que se tuvo la turbidez deseada en el vial de solución salina, se tomó una muestra de esta disolución y se mezcló en otro tubo con solución salina estéril (relación 1:1), a fin de diluir la concentración del primer vial; a este vial se le denominó vial "B". A partir de este vial se realizaron 10 diluciones decimales.



4. Cada dilución decimal se sembró en cajas Petri en Agar Soya Tripticasa por la técnica de estriado, para corroborar después de 24 horas que existiera el desarrollo del microorganismo mínimo hasta la dilución 1.0×10^6 UFC/ml.
5. En caso contrario de no haber tenido el crecimiento del microorganismo hasta la dilución deseada se repetían los pasos 1 al 4 pero con la diferencia de que no se diluía el primer vial.
6. Después de corroborar el crecimiento del microorganismo se procedió a preparar un nuevo vial “B” para poder inocularlo en la muestra de natilla correspondiente para cada reto.

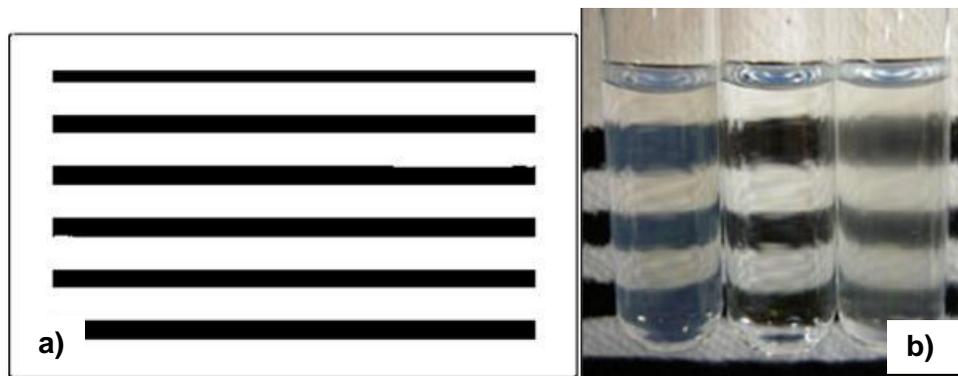


Figura 11.a) Líneas de referencia para la comparación de turbidez estándar de McFarland; b) Ejemplo de uso de líneas de referencia.

3.2.7 O.P. 5 Retos Microbianos. *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enteritidis*

Los retos microbianos consisten en corroborar que la natilla sea simbiótica, mediante pruebas in vitro al exponer una muestra de natilla a una contaminación de concentración conocida de *Klebsiella pneumoniae* (10×10^6 UFC) y otra natilla contra *Salmonella enteritidis* (10×10^6 UFC).

Ambas muestras de natilla se inocularon con su respectivo vial “A” ó “B” según fuera el caso de cada microorganismo una hora después de haber elaborado la natilla y se buscó la presencia de dichos microorganismos:



- ✓ ***Klebsiella pneumoniae***. Una hora después de la elaboración de la natilla simbiótica se inocularon 300 gramos de natilla utilizando el contenido completo del vial que contiene un mínimo de 1.0×10^6 UFC de *Klebsiella pneumoniae*/ml. Después de pasar un aproximado de 3 horas en que fue inoculada la muestra, se dividieron los 300 gramos de la natilla en frascos estériles con capacidad de 13 gramos. Inmediatamente después se tomó la primera muestra de uno de los frascos para su siembra. Los frascos llenos y sellados se guardaron a temperatura ambiente (25°C) durante el tiempo que duro el reto.

- ✓ ***Salmonellaenteritidis***. Una hora después de la elaboración de la natilla simbiótica se inocularon 500 gramos de natilla utilizando el contenido completo del vial que contiene un mínimo de 1.0×10^6 UFC de *Salmonellaenteritidis*/ml. Después de pasar un aproximado de 3 horas en que fue inoculada la muestra, se dividieron los 500 gramos de la natilla en frascos estériles con capacidad de 28 gramos. Inmediatamente después de esto se tomó la primera muestra de uno de los frascos para su siembra. Los frascos llenos y sellados se guardaron a una temperatura de 5°C durante el tiempo que duro el reto.

Las condiciones de cada reto son las siguientes:

Tabla 15. Condiciones de retos microbianos.

Condiciones	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonellaenteritidis</i>
Norma Oficial	NOM-113-SSA1-1994	NOM-114-SSA1-1994
Tiempo entre cada muestreo y siembra	3 horas	24 horas
Medio	Agar rojo-violeta-bilis	Agar Verde Brillante
Gramos por muestra	10 gramos	25 gramos
Diluciones decimales por muestra	10, (10^{-1} a 10^{-10})	10, (10^{-1} a 10^{-10})

Nota. El tiempo entre cada muestra y siembra de cada reto depende de técnica empleada en la norma correspondiente para cada microorganismo.



3.2.8 O.P. 6 Análisis Químico Proximal del postre simbiótico tipo natilla

Como parte del Objetivo Particular 5 se realizó la determinación del Análisis Químico Proximal (AQP) de la natilla simbiótica sabor rompope para conocer su aporte nutricional final, las determinaciones se realizaron mediante técnicas oficiales establecidas en la NOM-243-SSA1-2010. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado, los resultados fueron analizados empleando un Anova con un nivel de significancia del 95%, 0.05 margen de error y desviación estándar a cada conjunto de datos, para lo que se utilizó el programa de Excel. En la Tabla 16 se muestran las técnicas utilizadas para la determinación del AQP.

Tabla 16. Técnicas utilizadas en el Análisis Químico Proximal.

Parámetro	Método	Referencia
Humedad	Estufa a 80°C con arena	NOM-116-SSA1-1994
Proteínas	Microkjeldhal	NOM-243-SSA1-2010
Lípidos	Roesse Gottlieb	NOM-086-SSA1-1994
Carbohidratos	Lane y Eynon	NOM-155-SCFI-2003
Fibra dietética	Método Gravimétrico- Enzimático	NOM-086-SSA1-1994
Cenizas	Método Klemm	NMX-F-607-NORMEX-2002

3.2.9 O.P.7 Evaluación Sensorial Hedónica del postre simbiótico tipo natilla

Como última actividad fue realizar una evaluación de las propiedades sensoriales de la natilla simbiótica final tipo rompope como lo son olor, color, textura y sabor. Esta evaluación se realizó mediante la aplicación de una encuesta hedónica de 7 niveles con 100 personas al azar.

La encuesta se realizó mediante trabajo de campo en las inmediaciones de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1 así como lugares públicos.

❖ Condiciones de la prueba

Se prepararon 100 muestras de natilla simbiótica sabor rompope (5 gramos por muestra aproximadamente). La muestra estaba entre 5-8°C aproximadamente en el momento de



Capítulo 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 O.P. 1: Estandarización del contenido de Inulina.

Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial aplicada a 100 personas con rango de edad entre 15 y 65 años en instalaciones de FES-Cuautitlán como en plazas públicas comerciales, para establecer el contenido de inulina, fueron los que se presentan en la Tabla 17.

Tabla 17. Resultados de evaluación sensorial para determinar el porcentaje de inulina.

MUESTRA	111 (1% Inulina)	983 (2% Inulina)	437 (3% Inulina)
PREFERENCIA (%)	36	16	48

Como puede observarse en la Tabla 17, la preferencia fue 36% para el postre con 1% de Inulina, 16% para el de 2% y un 48% para el postre con 3% de inulina.

Empleando el programa Minitav se realizó un ANOVA simple donde se obtuvo que la probabilidad de que los resultados en la selección del porcentaje de inulina a emplear tuvieran una relación entre si fue de 0.0%, lo que indica que si existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos.

Con la prueba de Tukey's se observó que existe una diferencia marcada entre los porcentajes de inulina a emplear (1%, 2% y 3%), esto se sustenta con lo representado en la Figura13 que es la Gráfica de cajas, que nos muestra que el grado de aceptación mayor fue el 3% de inulina.

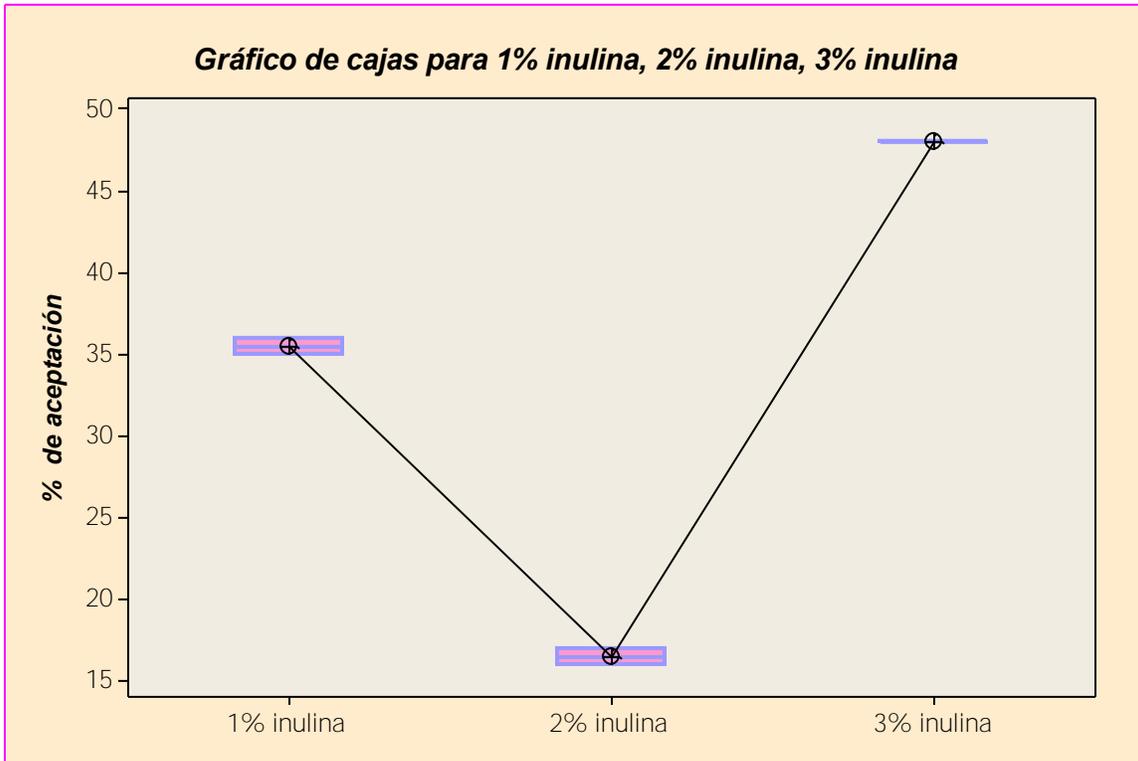


Figura 13. Gráfico de cajas para la selección del porcentaje de inulina.

Con base en la preferencia y aceptación del público, la concentración de inulina se fijó en 3%. Comentarios proporcionados por los encuestados mencionan que fue la muestra que presentó mejor sabor y principalmente una consistencia semejante a una natilla.

Una vez fijado el porcentaje de inulina a emplear para realizar el Postre simbiótico tipo natilla, el diagrama de proceso quedó como el que se muestra en el Figura 14.

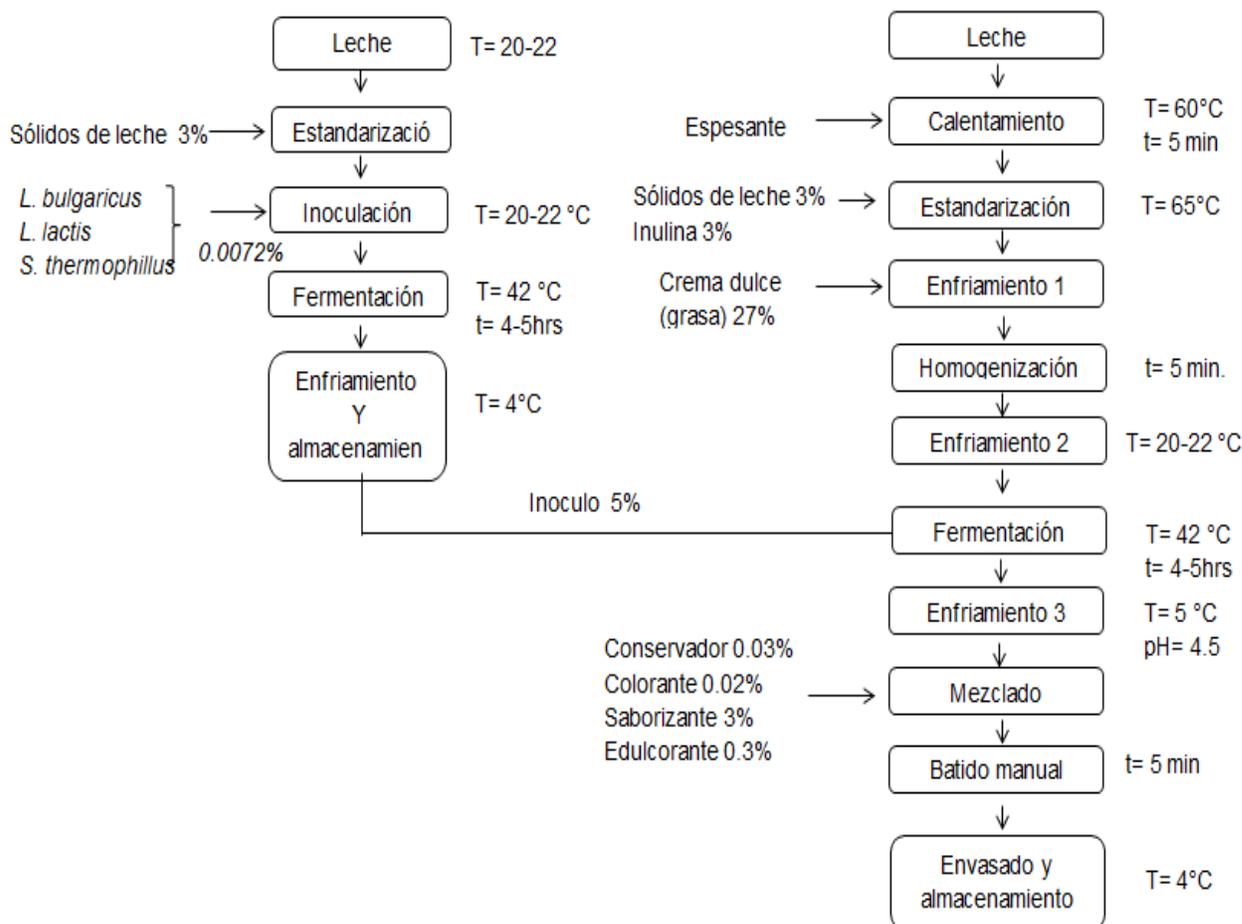


Figura 14. Diagrama de proceso final para la elaboración del postre simbiótico tipo natilla.

4.2 O. P. 2: Selección del sabor de la Natilla

En cuanto a la selección del sabor del postre simbiótico tipo natilla los resultados correspondientes se muestran en la Tabla 18, estos fueron los obtenidos de la primera evaluación sensorial, aplicada a 50 personas con un rango de edad de 15 a 65 años en instalaciones de FES-Cuautitlán como en plazas públicas comerciales, donde se dieron a evaluar 4 natillas con los sabores de rompope, pistache, vainilla y guayaba cada una.

Tabla 18. Resultados de la primera evaluación sensorial para determinar el sabor del postre simbiótico tipo natilla.

SABOR	1389 (Rompope)	2170 (Pistache)	3107 (Vainilla)	2213 (Guayaba)
PREFERENCIA (%)	28	28	29	15



Como se observa, a excepción del sabor Guayaba, los resultados de preferencia están muy cercanos entre sí, razón por la cual se optó por realizar una nueva evaluación sensorial. Los resultados obtenidos fueron lo que se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19. Resultados de la segunda evaluación sensorial para definir el sabor final del postre simbiótico tipo natilla

SABOR	7821 (Rompope)	2394 (Pistache)	3437 (Vainilla)
PREFERENCIA (%)	40	27	33

Como se puede observar, en esta ocasión ninguno de los panelistas selecciono el sabor guayaba. Cabe mencionar que los panelistas participantes entre cada evaluación sensorial fueron en un 50% los mismos, sin embargo los panelistas que en la primera evaluación seleccionaron guayaba, mencionaron al final de esta segunda evaluación que este sabor les pareció indiferente.

El sabor con mayor selección en esta evaluación fue rompope. Utilizando el programa Minitab se realizó un ANOVA simple donde se obtuvo que la probabilidad de que los resultados en la selección del sabor se acercaran entre si fue de 0.059%, valor que indica que si existe diferencia entre ellos e importa que sabor se ocupe como definitivo en la formulación de la natilla simbiótica.

Con la prueba de Tukey’s se observó que la diferencia entre los tres primeros sabores (rompope, pistache y vainilla) es pequeña, aun con ello se consideró aceptable para selección del sabor. Esto se sustenta con lo observado en la Figura 15 que representa la Gráfica de cajas, que nos muestra que el grado de aceptación mayor fue rompope.

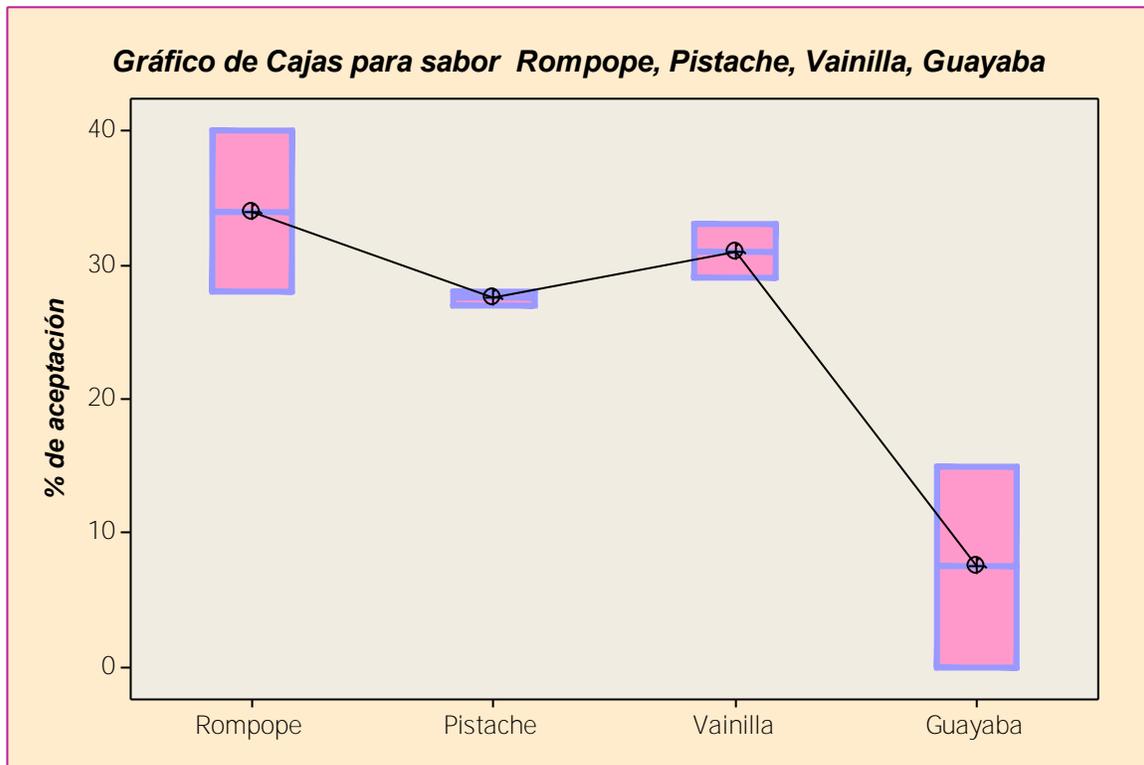


Figura 15. Gráfica de cajas para la selección del sabor del postre simbiótico tipo natilla.

Una vez finalizada la evaluación sensorial se les mencionó a los encuestados el sabor correspondiente a su elección. Los encuestados que eligieron la opción ganadora mencionaron que fue un sabor diferente y novedoso para ellos. Comentaron que si un producto de este tipo llegara a los anaqueles de tiendas comerciales sería novedoso con un sabor diferente dentro de la variedad de postres lácteos.

4.3 O. P. 3: Conteo de bacterias lácticas en el postre simbiótico tipo natilla.

Como se observa en la Gráfica de la Figura 16, el conteo de *Lactobacillus* y *Streptococcusa* lo largo de 28 días presentó una disminución no significativa como para dejar de considerar al producto como un probiótico ya que se mantuvo una concentración de 10^6 UFC aún a los 28 días de su estudio. Se observa una variación en la constante de disminución de las BAL en el día 22 con un ligero incremento hacia el día 25; este



incremento se puede considerar como una especie de resistencia por parte de las BAL al medio que poco a poco contiene menos nutrientes disponibles para su crecimiento y permanencia en el alimento.

Existió una disminución aproximada entre el 6 y 7% de BAL considerando que se partió de una concentración de 10^7 UFC, tomando este valor como referencia al 100%.

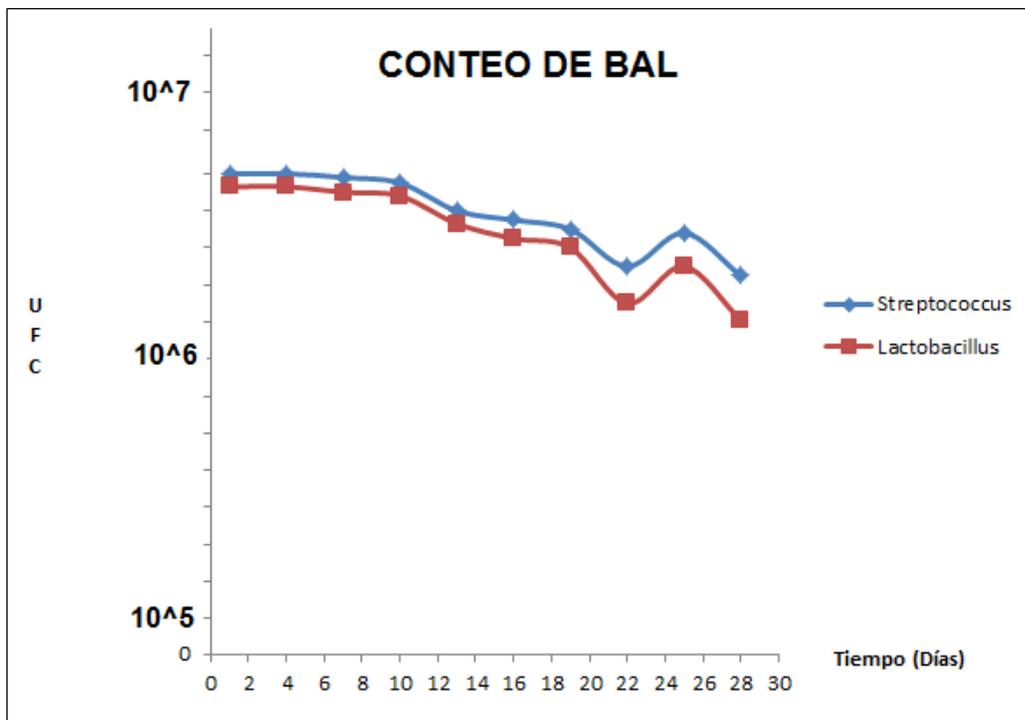


Figura 16. Gráfica del conteo de BAL.

Con los datos obtenidos durante los 28 días que duro el conteo de las Bacteria Acido Lácticas se obtuvo la cinética de comportamiento de cada una de ellas, con la finalidad de obtener la ecuación que nos permita calcular el dato exacto de las UFC/ml en un tiempo específico del conteo, e incluso calcular el tiempo en que las Bacteria Acido Lácticas disminuyeran por debajo de 10^6 UFC/ml. Es importante hacer mención que los datos utilizados para graficar y obtener la cinética de comportamiento son los observados solo en la dilución 10^6 UFC/ml.

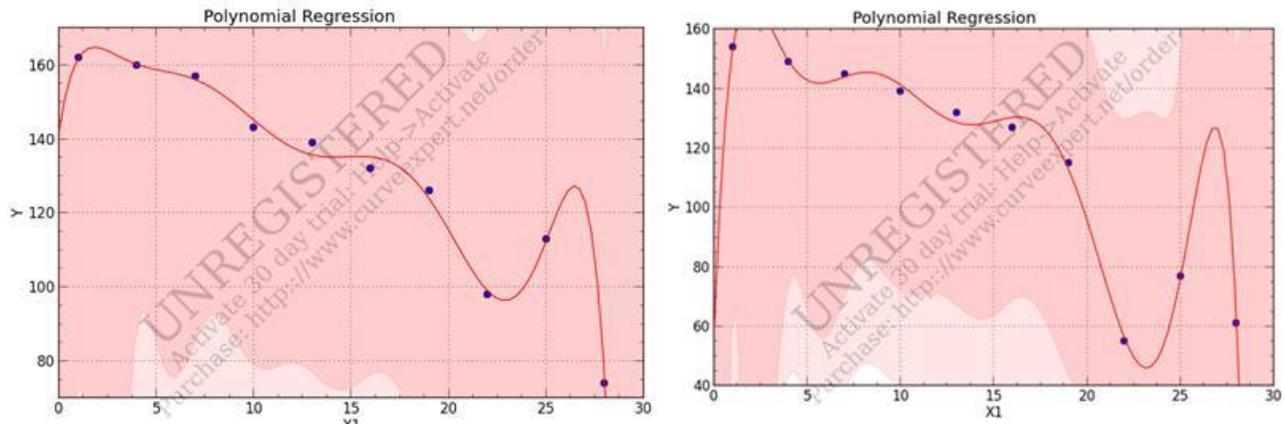


Figura 17. De lado izquierdo se muestra la Gráfica de la cinética de comportamiento de *Streptococcus* y del lado derecho la Gráfica del comportamiento de *Lactobacillus*, ambas correspondientes a una regresión Polinomial.

Utilizando el programa de Curve Expert Professional se obtuvieron las Gráficas que se muestran en la Figura 17 donde se observa la cinética del comportamiento en la disminución del *Streptococcus* y *Lactobacillus* respectivamente dentro del rango de 10^6 UFC/ml, en las cuales se obtuvieron las siguientes ecuaciones:

- Para *Streptococcus*:

$$y = ax^2 + bx + c \quad \text{Ec. 5}$$

$$y = (-0.082 * x^2) + (-0.6309 * x) + 162.87 \quad \text{Ec. 6}$$

Coefficiente de correlación (r): 0.9058

- Para *Lactobacillus*:

$$y = ax^2 + bx + c \quad \text{Ec. 7}$$

$$y = (-0.122 * x^2) + (0.0564 * x) + 152.62 \quad \text{Ec. 8}$$

Coefficiente de correlación (r): 0.9532

Dónde:

X1= Tiempo (días)

Y=Concentración $\times 10^6$ (UFC/ml)

La determinación de la cinética de comportamiento del *Streptococcus* y *Lactobacillus* fue elaborada con la finalidad de poder estimar el número de días tentativos en el que el



producto podría dejar de considerarse probiótico (conteos menores a 10^6 UFC/ml viables), aun posterior al tiempo de experimentación.

Sustituyendo el valor de “x” en las ecuaciones 6 y 8 de *Streptococcus* y *Lactobacillus*, respectivamente, se obtuvieron las siguientes ecuaciones:

- Para *Streptococcus*:

$$y = (-0.082 \cdot 40^2) + (-0.6309 \cdot 40) + 162.87 = 6.4 \times 10^6 \text{ UFC/ml} \quad \text{Ec. 9}$$

$$= (-0.082 \cdot 41^2) + (-0.6309 \cdot 41) + 162.87 = -0.8 \times 10^6 \text{ UFC/ml} \quad \text{Ec. 10}$$

- Para *Lactobacillus*:

$$y = (-0.122 \cdot 35^2) + (0.0564 \cdot 36) + 152.62 = 4.8 \times 10^6 \text{ UFC/ml} \quad \text{Ec. 11}$$

$$y = (-0.122 \cdot 36^2) + (0.0564 \cdot 36) + 152.62 = -3 \times 10^6 \text{ UFC/ml} \quad \text{Ec. 12}$$

En las ecuaciones 9 y 11 se observan los días estimados en los cual la natilla podría presentar un valor mínimo pero dentro de 10^6 UFC/ml viables para seguir considerándola como probiótico. Para el día 36, como se muestra en la ecuación 12, el producto presentara una disminución a 10^5 UFC/ml en el conteo de *Lactobacillus*, a comparación del *Streptococcus* que es a los 41 días posteriores a la elaboración de la natilla, como se muestra en la ecuación 10.

Estos datos indican que aun con la presencia del *Streptococcus* viable al día 40, la natilla dejara de considerarse probiótico a partir del día 36, día en el cual se estima que el *Lactobacillus* presentara una concentración por debajo de 10^6 UFC/ml.

En la Figura 18 se puede observar un ejemplo del crecimiento que se obtuvo de BAL en la dilución de 10^5 UFC en los primeros días del conteo de BAL en sus respectivo medio ya sea para *Lactobacillus* como para *Streptococcus*. En la Imagen A se observa crecimiento en medio MRS (para *Lactobacillus*) y en la imagen B en medio M17 (para *Streptococcus*).

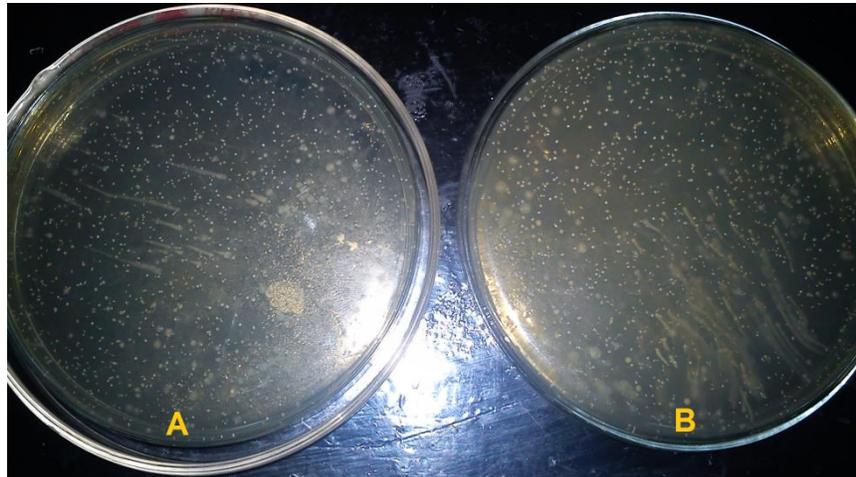


Figura 18. Crecimiento de BAL en dilución 10^5 UFC.

El declive que se observa durante el periodo de estudio de BAL en la Figura 14 se debe entre algunas razones a:

- La disminución del pH debido a la formación de ácidos orgánicos (ácido láctico) como producto metabólico de BAL (Hernández, M. & Satre, A; 2008). Como se observa en la Figura 19, se monitoreó de manera indirecta la formación de ácidos orgánicos mediante la medición del pH de la natilla. Al existir un exceso de ácido láctico, el medio de crecimiento de BAL ya no será apropiado para su reproducción, razón por la cual el conteo de BAL disminuyo paulatinamente. Se observa una disminución gradual de pH de 4.5 a 4.33.

Se llevó a cabo un estudio de la cinética del pH obteniéndose un comportamiento lineal, en la Figura 19 se muestra la ecuación obtenida. El resultado obtenido de la R^2 que fue de 0.9876 indica que existe una estrecha relación entre los datos.

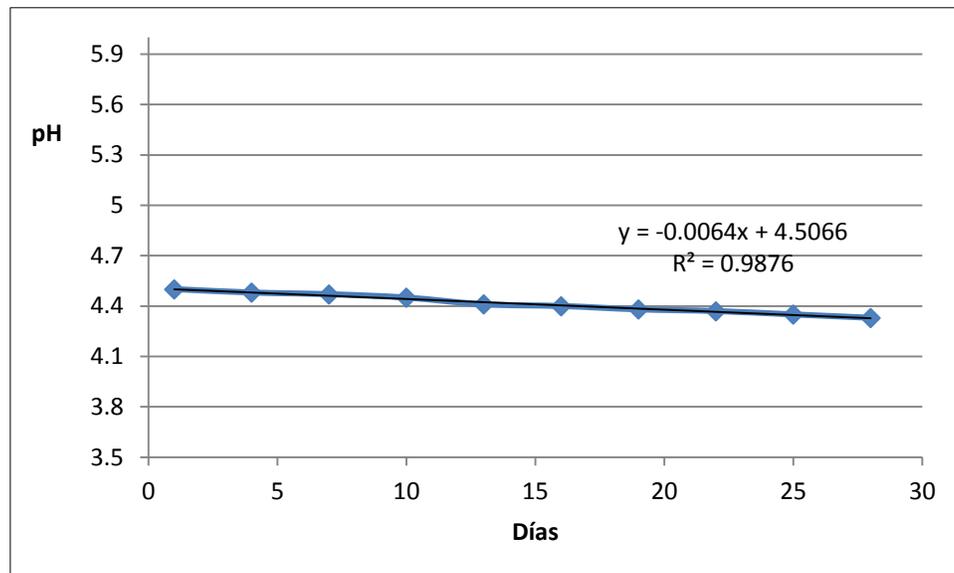


Figura 19. Medición del pH por 28 días del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope.

- Al aumentar el contenido de grasa (con crema dulce) para estandarizar el proceso de elaboración del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope, las cadenas lipídicas pudieron haber formado una especie de barrera alrededor de los nutrientes necesarios para el crecimiento adecuado de BAL, principalmente a los CHOS; impidiendo que las BAL accedieran a ellos para aprovecharlos en su totalidad para su crecimiento y reproducción esperados. Al mencionar esta barrera formada por la grasa, no quiere decir que pudieron haber cubierto por completo todos los nutrientes aportados por la leche y la crema dulce, ya que se llevó a cabo la fermentación, lo que significa que una parte de ellos estuvo disponible para ser aprovechados por las BAL.

Este punto se abala debido a que la proteólisis y glucólisis son actividades metabólicas esenciales de las BAL, mientras que la lipólisis es menos frecuente. Existen dos razones que justifican esta idea:

- La proteólisis y glucólisis se llevan a cabo mucho más rápidamente porque los sustratos de proteínas y carbohidratos son casi siempre solubles y, más fácilmente accesibles a las células de los microorganismos.
- Las grasas son relativamente insolubles, por lo que las porciones directamente accesibles a las células de los microorganismos son



generalmente muy pequeñas, estando inicialmente limitadas a la superficie de la monocapa de las partículas grasas (García, Quintero Y López; 2004).

- A lo largo del proceso de conteo de BAL estas se mantuvieron en una concentración de 10^6 UFC, lo que demuestra que se aprovechó la inulina para mantenerse viables durante el tiempo del estudio.

Un alimento que contiene probióticos es capaz de mantener su concentración de estos a un nivel constante siempre y cuando no se modifique el medio donde habitan. Un ejemplo de esto es que ha llegado a agotarse todos sus elementos nutritivos por lo cual no pueden seguir reproduciéndose y se mantiene en una concentración de microorganismos constante hasta su fase de decrecimiento a causa de la acumulación de productos metabólicos finales.

4.4. O. P. 4: Evaluación de la Calidad Sanitaria del Postre simbiótico tipo natilla.

La calidad sanitaria del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope se llevó a cabo mediante un análisis microbiológico de rutina, basado en el recuento de *Coliformes totales*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados obtenidos de este análisis microbiológico se muestran en la Tabla 20.

Tabla 20. Resultados del análisis microbiológico para determinar la calidad sanitaria.

MICROORGANISMO	RESULTADOS	Límite máximo permitido*
Coliformes totales	Negativo	<10 UFC/g o MI
Salmonella spp	Negativo	Ausente en 25g o mL
Staphylococcus aureus	Negativo	<100 UFC/g o mL

*Se tomó como referencia los límites de leches fermentadas, indicados en la NOM-243-SSA1-2010.

De acuerdo con la normatividad mexicana vigente *NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba* que establece los límites máximos permitidos de UFC de estos microorganismos para leches fermentadas, dando resultados del análisis microbiológico de rutina para determinar la calidad sanitaria del producto como negativos.



Es importante señalar que los resultados negativos del análisis microbiológico, representa que el postre simbiótico tipo natilla sabor rompope fue elaborado bajo las Buenas Prácticas de Manufactura y que se partió, para su elaboración, de materia prima de buena calidad.

4.5 Actividad Preliminar O. P. 5: Preparación de la Escala de Mc Farland para retos microbianos

En esta actividad se determinó la concentración a utilizar de *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enteritidis* para los retos microbianos. Para estos microorganismos se utilizó el tubo 2 de la Curva de Mc Farland (**Cl₂Ba 1% 0.2ml, SO₄H₂ 1% 9.8ml**; 6.0x10⁸ UFC/ml) con la metodología anteriormente descrita en el Capítulo 3 sección 3.3.6. Se procedió a realizar la corroboración de que en el vial “B” existían un mínimo de 1.0x10⁶ UFC/ml

✓ *Klebsiella pneumoniae*(vial B1)

Para este microorganismo una vez que se sembraron en Agar Soya Trypticase sus diluciones decimales del vial “B”, se observó que después de 24 horas solo creció el microorganismo hasta la dilución 10⁴. Por esta razón se repitió la fabricación del vial “A” (1:1) de *Klebsiella pneumoniae* el cual no se diluyó y del que se hicieron sus 10 diluciones decimales para sembrarlas en Agar Soya Trypticase. Se comprobó después de 24 horas que de estas diluciones decimales del vial “A” crecieron hasta la dilución 10⁷. Con esta comprobación se fabricó un nuevo vial “A” de *Klebsiella pneumoniae* y sus diluciones decimales, se utilizó el vial con la dilución decimal 10⁶ para inocular la muestra correspondiente de natilla simbiótica para el reto.

✓ *Salmonella enteritidis*(vial B)

Para este microorganismo después de que se sembraron en Agar Soya Trypticase las diluciones decimales elaboradas a partir del vial “B” de *Salmonella enteritidis*, se observó que después de 24 horas creció el microorganismo de *Salmonella enteritidis* hasta la dilución 10⁷. Con esta comprobación se procedió a elaborar un nuevo vial “B” y de éste sus diluciones decimales, y del cual se ocupó el vial con la dilución 10⁶ para poder inocular la muestra de natilla simbiótica para este reto.



4.6 O. P. 5: Retos Microbianos. *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enteritidis*.

Los retos microbianos consistieron en la corroboración de la efectividad de las cepas probióticas empleadas en la elaboración del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope en la destrucción de cepas patógenas empleadas para estos retos, mediante pruebas in vitro.

✓ *Klebsiella pneumoniae*

Inicialmente se planteó hacer la toma de muestras y siembras cada 24 horas, sin embargo de la primera muestra sembrada pasando 24 horas de crecimiento en el medio no se detectó la presencia del microorganismo. Al no saber el tiempo exacto dentro de esas 24 horas en que las bacterias ácido lácticas con sus respectivos ácidos orgánicos y bacteriocinas contribuyeron a la inhibición del microorganismo, se plantea repetir el reto con muestreos y siembras a tiempos más cortos de 3 horas.

En este reto con *K. pneumoniae* se registró su presencia o ausencia de colonias de *K. pneumoniae* en cada caja, hasta observar una adaptación o total inhibición del microorganismo. El reto no consistió en el conteo de UFC para cada dilución por muestra, por lo que los resultados expresados en la Figura 20 son representativos de lo registrado y observado en cuanto a presencia o ausencia. Se muestra el tiempo que duró el reto y la disminución de la concentración de *K. pneumoniae* hasta su total inhibición.

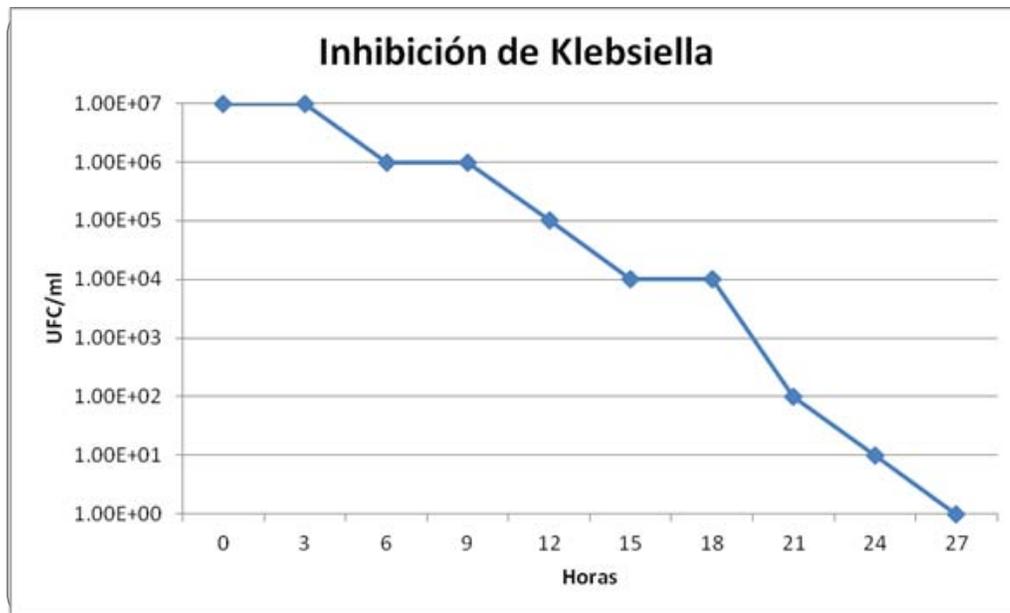


Figura 20. Gráfica de la Inhibición de *K. pneumoniae*.

Como se observa en la Figura 20 la inhibición total del microorganismo *K. pneumoniae* fue en un tiempo de 27 horas (1 día con 3 horas) después de haber inoculado el postre simbiótico tipo natilla sabor rompope. Se observó en las cajas de las muestras sembradas de la hora 3 a la 6 del reto, una disminución de la concentración de *Klebsiella* de escala logarítmica. La Gráfica 7 muestra claramente el proceso de inhibición de la *Klebsiella*, de la hora 6 a la 9 la concentración se mantuvo constante, de la 9 a la 15 la disminución fue de 2 escalas logarítmicas, seguidas de otra fase sin cambio entre las horas 15 a las 18 donde se observó la presencia de algunas colonias en las cajas de las diluciones de la concentración 10^4 UFC; y una tercera etapa de disminución constante de la carga de *Klebsiella* de 10^4 a 0 entre las horas 18 a 27.

Una de las razones de esta disminución se debe a la formación de ácidos orgánicos secretados en el metabolismo fermentativo de hidratos de carbono por los probióticos, siendo estos los principales compuestos antimicrobianos responsables de su actividad inhibidora contra patógenos. La disminución del pH de la natilla (Ver Figura 19) se debe a la formación de estos ácidos orgánicos, en este caso es la formación de ácido láctico por parte de las BAL. Esta caída de pH no favorece el crecimiento y adaptación adecuado de *K. pneumoniae* debido a que su pH óptimo de crecimiento oscila entre 7 y 8 (Tortora, F; 2007).



Sin embargo se observa que conforme avanza el reto microbiano la *Klebsiella* se inhibió casi en su totalidad a las 24 horas (1 día), presentando solo un par de colonias en las cajas de las concentraciones 10^1 UFC. Su inhibición total ocurrió a las 27 (1 día 3 horas) horas después de su inoculación al no observarse la formación de colonias de *Klebsiella*.

✓ *Salmonella enteritidis*

Al igual que en el reto microbiano con *Klebsiellapneumoniae*, este reto implicó observar la inhibición o adaptación del microorganismo en la natilla, al registrar presencia o ausencia de colonias de *Salmonella enteritidis* formadas en el medio Agar Verde Brillante por duplicado en cada diluciones decimales de las muestras de cada tiempo.

En la Tabla 21 se presentan las fotografías tomadas de las cajas sembradas en Agar Verde Brillante y su formación de colonias de *Salmonella*. Cabe mencionar que el medio Verde Brillante es color Anaranjado al inicio, una vez que crecen las colonias de *Salmonella* el indicador presente en el medio vira a un color Rojo, donde las colonias de *Salmonella* se distinguen por colonias rojas o rosas que pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido (NOM-114-SSA1-1994) como se muestra en la Figura 21. Este medio tiene la facultad de virar a una coloración Amarilla con la presencia de Bacterias ácido-lácticas.



Figura 21. Caja correspondiente a la muestra del día 1, dilución 10^1 UFC.



Tabla 21. Inhibición de *Salmonella enteritidis*.

Dilución (concentración)	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
10 ¹						
10 ²						
10 ³						
10 ⁴						
10 ⁵						
10 ⁶						



Los resultados obtenidos de la inhibición del microorganismo *Salmonella enteritidis* esquematizan en Figura 22 donde se muestra el tiempo que duro el reto y la disminución de la concentración de *Salmonella* hasta su total inhibición.

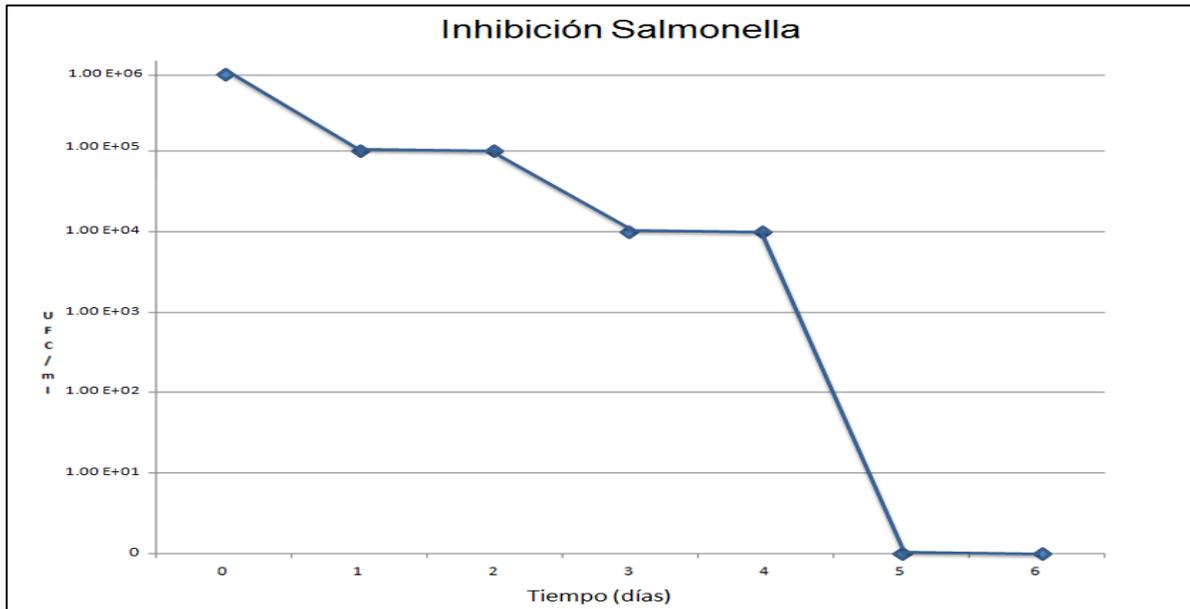


Figura 22. Gráfica de Inhibición de *Salmonella enteritidis*

Al principio del reto se sabía que por ser un microorganismo patógeno la *Salmonella enteritidis* sería resistente a su inhibición total por parte de las BAL. Sin embargo como se observa en la Figura 22 la inhibición total de la *Salmonella* se logró en un lapso de 6 días, tiempo aproximado que dura un tratamiento médico convencional con antibióticos (Zollo, A; 2005).

Se observa que existió una disminución inicial de la concentración de *Salmonella* de 10^6 a 10^5 UFC dentro de las primeras 24 horas de incubación de la muestra. Los primeros dos días del reto microbiano, el microorganismo ejerció una resistencia a las BAL y sus bacteriocinas debido a que no disminuyó la presencia de colonias observadas en las cajas sembradas de la concentración 10^5 .

La disminución más representativa de colonias presentes ocurrió en las cajas que se sembraron del día 4 al día 5 como se puede observar en la Tabla 21 y la Figura 22, ya que se observó presencia de colonias formadas en las diluciones de concentración 10^4 para el día 4 y una disminución drástica de colonias formadas para el día 5 en las diluciones de concentración 10^1 . Para el día 6 las diferentes diluciones sembradas no



mostraron crecimiento de colonias de *Salmonella*, por lo que se consideró el fin del reto con inhibición total del microorganismo en este tiempo.

La viabilidad en cuanto a pH de la *Salmonella ssp.* a condiciones extremas, una vez que se adapta a ellas oscilan de 3.8 a 9.5 aunque el pH de crecimiento y la adaptación óptima es de 7-7.5. Considerando que la bacteria fue inicialmente inoculada a un pH por debajo de su óptimo, por la cual no tuvo las condiciones propicias en la natilla para adaptarse a ella (Hernández, M. & Satre, A; 2008).

Se considera el resultado obtenido de 6 días para la inhibición total de *Salmonella enteritidis* aceptado de acuerdo a lo presentado por Calderón. O, Padilla. P Y Col. 2007 donde presentan una inhibición total de la misma cepa a los 4 días de su inoculación utilizando las mismas BAL probióticas y condiciones de almacenamiento similares. Esto se puede apreciar en la Figura 23 presentada en el artículo de los autores antes mencionados.

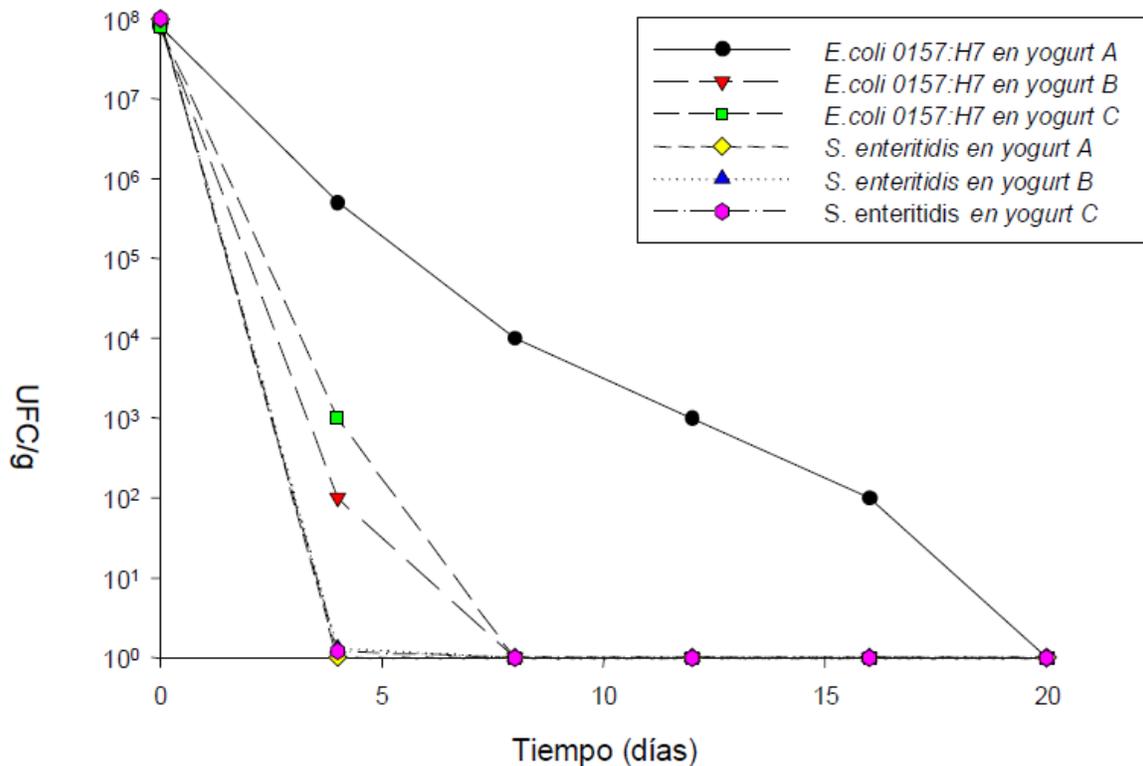


Figura 23. Gráfica de Comportamiento de bacterias gram positivas en yogurt.

Fuente: Calderón. O, Padilla.P Y Col.(2007).

Igualmente a lo largo del reto microbiano conforme iba disminuyendo la presencia de *Salmonella enteritidis*, la presencia de BAL también sufrió una disminución importante.



Considerando que el reto se llevó a cabo en un sistema cerrado (debido a que en el recipiente donde se encontraba la natilla no actúa igual que el intestino humano, en donde existe una transferencia de nutrientes y desechos a través de la membrana de este) la escases de nutrientes y la nula salida de metabolitos como bacteriocinas y ácidos orgánicos contribuyeron a crear un medio no propicio para el crecimiento y reproducción de BAL; en la Figura 24 se puede observar la disminución de las BAL (colonias transparentes en medio amarillo) a lo largo de los días representativos del reto. Las cajas presentes corresponden a la dilución de la concentración 10^1 UFC; A día 1, B día 4, C día 5 y D día 6.

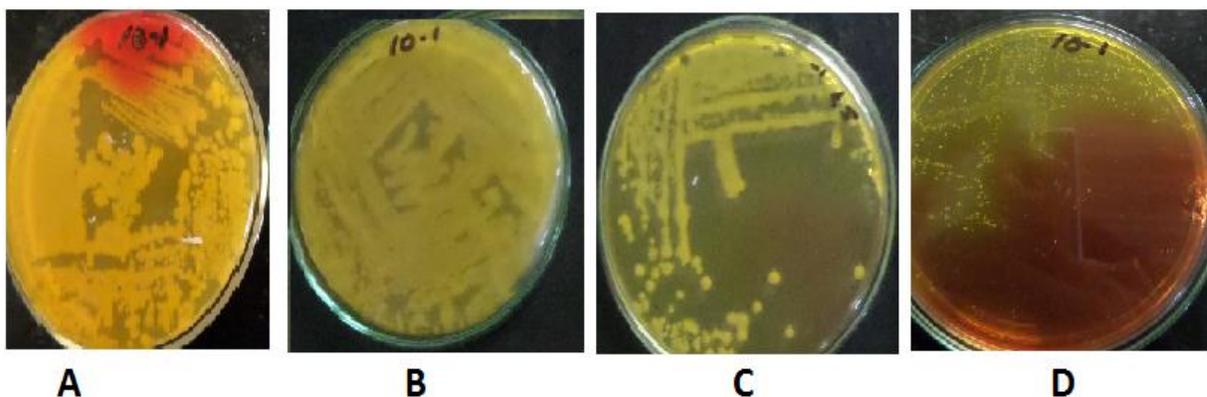


Figura 24. Disminución de BAL.

4.7 O. P.6: Análisis Químico Proximal del postre simbiótico tipo natilla.

El análisis químico proximal del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope se llevó a cabo en base a técnicas oficiales indicadas en la normatividad mexicana para este tipo de productos. Todas las pruebas se realizaron por triplicado y se obtuvo el promedio y la desviación estándar como se muestra en la Tabla 22.

Tabla 22. Resultados del Análisis químico proximal del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope.

COMPONENTE	PROMEDIO %
Humedad	74.6 ± 0.35
Grasa	12.5 ± 0.39
CHOS	5.12 ± 0.09
Proteína	5.37 ± 0.12
Cenizas	0.76 ± 0.08
Fibra	1.49 ± 0.02



Los resultados obtenidos no se compararon con normatividad o algún producto comercial debido a que al momento de la experimentación no se encontró en el mercado algún producto como éste o semejante.

El porcentaje de lípidos obtenido es el adecuado ya que de acuerdo al balance de materia realizado con anterioridad se esperaba un 13%, debido al manejo y trasvasado de la crema dulce (que es la que aumento el porcentaje de lípidos) se perdió una mínima cantidad de ella que se ve reflejado en el resultado obtenido.

El método empleado para la determinación de proteína consiste en la cuantificación de nitrógeno libre presente en la muestra, considerado como el nitrógeno que constituye a las proteínas. Esta cuantificación de nitrógeno proteico incluye tanto proteínas presentes en la leche empleada para la elaboración del postre como aquel nitrógeno que se libera de otros compuestos que forman parte de la formulación del alimento como lo son las proteínas del huevo y la leche, principalmente, que forman parte del rompopo, que se liberan durante el proceso de la técnica. Sin embargo considerando que el Método de Kjeldahl mide el nitrógeno orgánico total y no solo cuantifica nitrógeno proteico, en base a esto y lo mencionado anteriormente se respalda que el porcentaje de proteína se obtuviera de 5.37%.

El porcentaje de carbohidratos fue aportado por la leche pasteurizada, la leche en polvo, la crema dulce y el rompopo, los cuales fueron aprovechados por las BAL para llevar a cabo la fermentación; el resultado obtenido se considera adecuado para este producto tomando en cuenta que su base es leche y esta cuenta con un contenido aproximado de 5% de carbohidratos.

El hecho de que la determinación de fibra dietética (Inulina) muestre una concentración más baja que lo adicionado al principio de la elaboración de la natilla, de 3% a 1.49%, se debe al hecho de que el prebiótico fue aprovechado por los probióticos (Bacterias Lácticas) como alimento para su crecimiento y reproducción durante el proceso de fermentación de la natilla, junto con los carbohidratos disponibles de la leche y la crema.

Este hecho deberá ser contemplado en la elaboración de un producto comercial ya que la disminución fue del 50% y con el objeto de no reportar datos erróneos en etiqueta se deberá evaluar la concentración inicial requerida para obtener al final un 3% de fibra dietética.



4.8 O.P. 7: Evaluación Sensorial Hedónica del postre simbiótico tipo natilla.

Como última actividad del presente estudio se realizó una evaluación de las propiedades sensoriales (olor, color, textura y sabor) del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope. Esta evaluación se realizó mediante la aplicación de una encuesta hedónica de 7 niveles, los cuales se muestran en la Tabla 23 con 100 jueces no entrenados con un rango de edad entre 15 a 55 años. Los niveles fueron:

Tabla 23. Niveles de la evaluación hedónica.

7. Me gusta mucho	3. me disgusta levemente
6. Me gusta moderadamente	2. Me disgusta moderadamente
5. Me gusta levemente	1. Me disgusta mucho
4. Indiferente	

La propiedad sensorial de olor como se puede observar en la Figura 25 recibió el mayor porcentaje con una calificación de “Me gusta mucho”. La mayoría de los comentarios recibidos por los jueces de esta propiedad aseguran que el olor característico a rompope es lo primero que percibieron al realizar la evaluación y que fue punto de partida para especular el sabor del mismo.

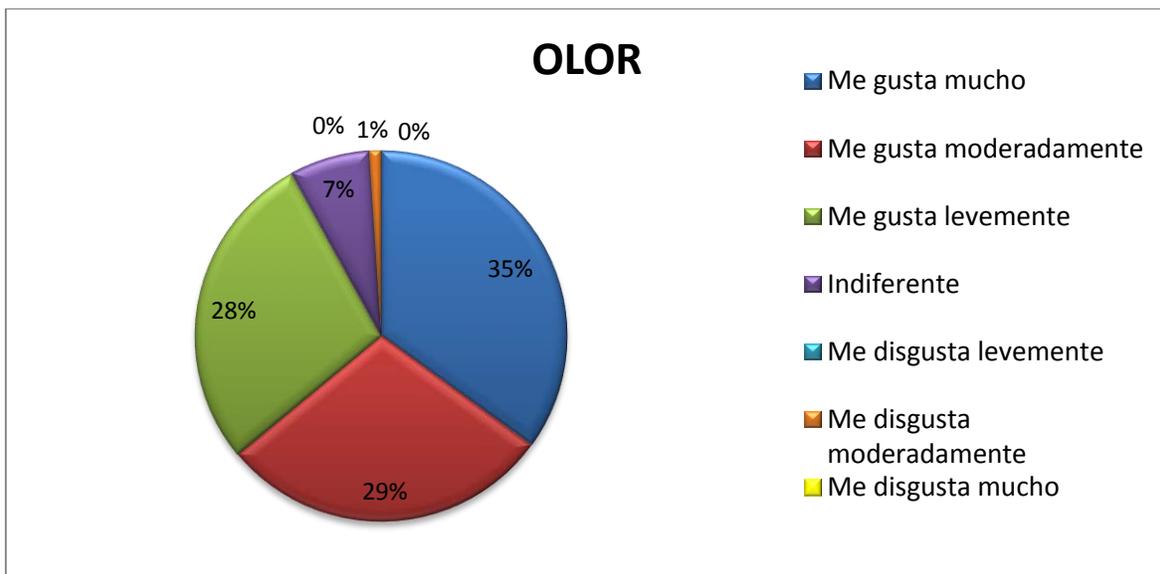


Figura 25. Gráfico de resultados obtenidos sobre el olor del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope.



Al 7% que respondió que el olor les fue “Indiferente” mencionaron que ni les agradaba por completo pero tampoco les desagradaba el olor proporcionado.

El atributo del color, como se muestra en la Figura 26, nuevamente recibió una calificación alta con un 48% en “Me gusta mucho”, los jueces comentaron que el color amarillo tenue que presentó la natilla simbiótica les resultó agradable a la vista ya que lo asociaban con un producto sin tantos colorantes ni aditivos, la palabra más usada por ellos fue “Natural”. El 3% de encuestados que mencionó que el color les era “Indiferente” dijeron que incluso un producto incoloro les podría resultar agradable siempre y cuando el sabor y el olor fueran característicos del ingrediente principal que aporta sabor a la natilla.

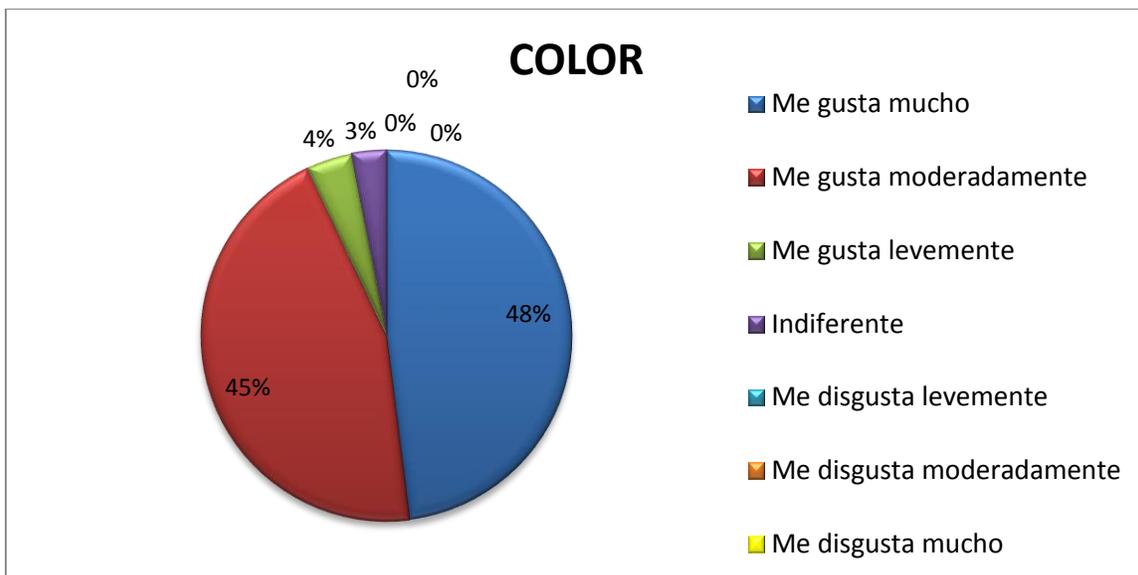


Figura 26. Gráfico de resultados obtenidos sobre el color del postre simbiótico tipo natilla sabor rompopo.

El atributo de la textura se muestra en la Figura 27. En cuanto a la textura el producto recibió una calificación bastante aceptable con un 32% con “Me gusta moderadamente”. Esta propiedad sensorial se logró gracias al empleo de inulina, la crema y el espesante, que en palabras de los jueces fue agradable al paladar por una textura suave y cremosa.

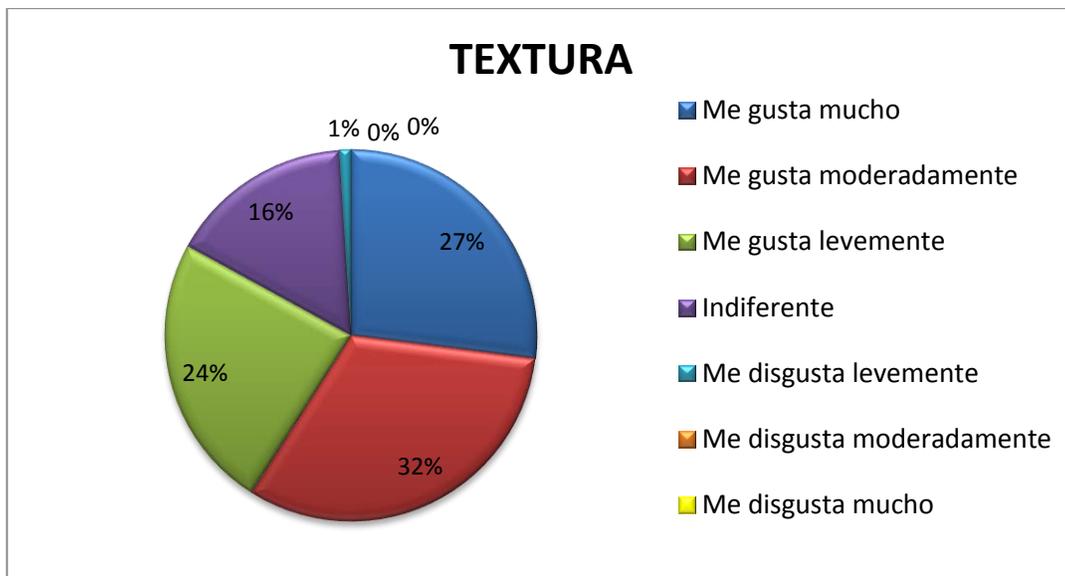


Figura 27. Gráfico de resultados obtenidos sobre la textura del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope.

El porcentaje de encuestados que mencionaron que la textura les era “Indiferente” fue mayor en comparación con el color y olor. Mencionaron que relacionaban la natilla a un producto más espeso que la muestra que se les proporcionó, pero eso no significó que les desagradara la textura del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope.

Por último y no menos importante la propiedad sensorial del sabor, Figura 28, recibió una calificación del 48% con un “Me gusta moderadamente”, donde los jueces mencionaron que a pesar que les gustó esperaban un sabor que resaltará más en el paladar, mismo que asociaban y esperaban fuera similar al Olor a rompope que tanto les agradó de la natilla.

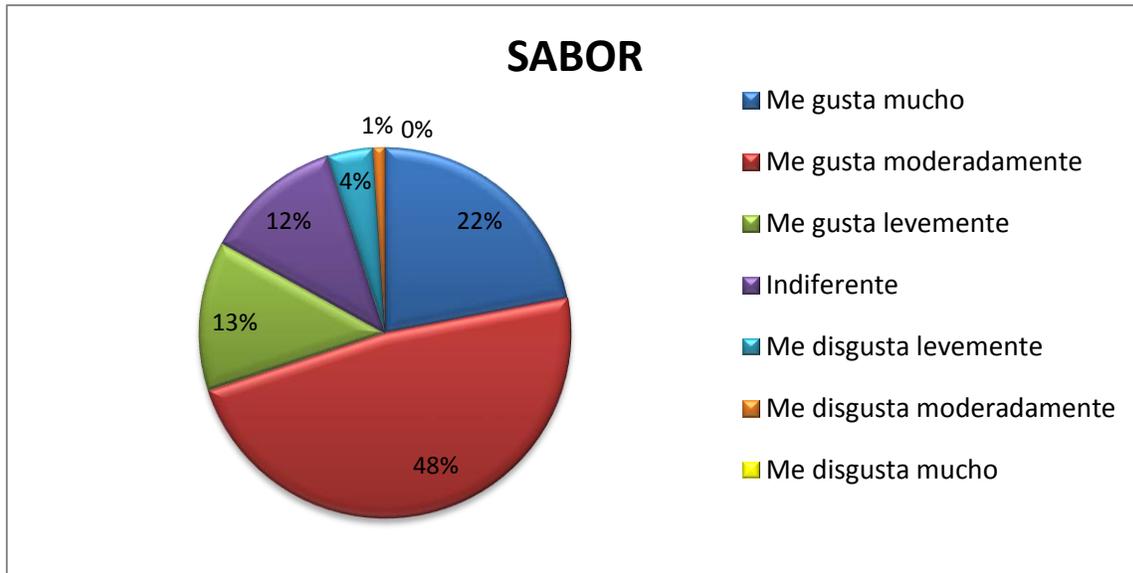


Figura 28. Gráfico de resultados obtenidos sobre el sabor del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope.

Al porcentaje de encuestados a los que les fue “Indiferente” el sabor rompope de la natilla mencionaron que ellos aceptaban cualquier postre lácteo siempre y cuando fuera dulce sin importar el sabor base de este producto.

En resumen, el postre simbiótico tipo natilla sabor rompope recibió una buena aceptación por parte de los jueces esto debido a que independientemente de la opción seleccionada entre “Me gusta mucho” y “Me gusta moderadamente” demuestran una aceptación y agrado final del producto.

De los resultados anteriormente presentados respecto a la evaluación sensorial del producto final se obtuvo el coeficiente de variación de cada característica mostrados en la Tabla 24. De dichos resultados se concluye que no existe una variación significativa entre que al consumidor le gustara mucho o moderadamente el producto, fue un resultado que no se esperaba como resultado en el desarrollo del producto; sin embargo por ser un producto de innovación en etapa experimental a nivel laboratorio, y considerando la limitante del tiempo para una continuidad en la mejora del producto una vez obteniendo



los resultados finales, se considera aceptable para el cumplimiento del objetivo del proyecto de tesis que fue el desarrollar un producto lácteo simbiótico tipo natilla.

Tabla 24. Coeficiente de Variación de las características evaluadas del postre simbiótico tipo natilla sabor rompope

	OLOR	COLOR	TEXTURA	SABOR
Coef. Var.	0.175	0.1103	0.1877	0.205



Conclusiones

- De acuerdo a lo recomendado en la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 que sugiere una ingesta de 30g/día de fibra dietética, el postre simbiótico tipo natilla sabor rompopo aporta parte de esta recomendación, junto con una dieta balanceada y rica en fibra se lograría el consumo recomendado.
- El sabor rompopo de la natilla que seleccionaron los encuestados representa una variación novedosa en los postres lácteos ya que actualmente en centros comerciales más frecuentes del mercado mexicano no se encuentra gran variedad en sabores de estos.
- La disminución de nutrientes disponibles durante los 30 días de conteo de BAL contribuyó a una disminución de estos, sin embargo se siguen considerando postre probiótico ya que su concentración se mantuvo en 10^6 UFC; la disminución se observó en el número de colonias a esa dilución.
- En el reto microbiológico de la natilla simbiótica contra *K. pneumoniae* y *Salmonella* se logró la inhibición de ambos, con ello se corroboró el efecto benéfico para combatir microorganismos dañinos para el intestino del ser humano.
- Se considera el resultado obtenido de 6 días para la inhibición total de *Salmonella enteritidis* aceptado de acuerdo a lo presentado por Calderón, O, Padilla, P Y Col. 2007 donde presentan una inhibición total de la misma cepa a los 4 días de su inoculación utilizando las mismas BAL probióticas y condiciones de almacenamiento similares.
- Los resultados obtenidos del Análisis Químico Proximal de la natilla simbiótica sabor rompopo corresponden a lo esperado. El contenido de grasa 12.56% obtenido fue muy similar a lo calculado en el balance de materia (13%), se perdió una mínima cantidad en el trasvasado y homogenizado.
- El contenido de Carbohidratos resultó en 5.12%, a pesar de que se esperaba un resultado mayor por los componentes de la formulación que aportan carbohidratos, se concluye que es un resultado adecuado; ya que al no tenerse patrón de comparación con otra natilla simbiótica se comparó con el aporte de carbohidratos de la leche que es la base de elaboración de la natilla.
- Se utilizó 3% de fibra dietética (inulina) en la formulación, por lo que teóricamente debía de obtenerse en su determinación ese mismo 3%, sin embargo considerando que la inulina es el Prebiótico de la natilla, este fue aprovechado por



los probióticos para su reproducción y viabilidad; por lo que el resultado obtenido de la determinación de fibra dietética (inulina) fue de 1.49%.

- La evaluación sensorial de las propiedades color, olor, textura y sabor de la natilla simbiótica sabor rompopo reciba una buena aceptación por parte de los jueces no entrenados al recibir calificaciones de “Me gusta totalmente” y “Me gusta moderadamente”. Esto indica una buena aceptación por parte de los posibles consumidores ante un producto nuevo.
- Dentro de sus propiedades sensoriales evaluadas las que recibieron mejor calificación fueron olor y color. A pesar de que todas las propiedades son importantes están tienen un grado de mayor interés porque son las primeras que percibe el consumidor antes de probarlas, lo cual indica que la natilla simbiótica sabor rompopo es bastante agradable.



Recomendaciones

- Considerar adicionar una mayor cantidad de inulina debido a que una parte de ella será aprovechada por las BAL y una cantidad menor es la que llega al intestino.
- Realizar el postre con una mezcla de prebióticos y ver el crecimiento de los probióticos ante estos, y así observar el comportamiento que presentan ante la cantidad de grasa contenida en el postre.
- Determinar el contenido de fibra dietética una vez transcurrido la vida de anaquel propuesta, de esta forma se podrá observar como es el aprovechamiento de la inulina por parte de las BAL.
- Llevar a cabo un conteo de BAL a la par con el reto microbiano ya que de esta forma se podrá conocer como es el comportamiento de la viabilidad de las BAL cuando es expuesta con microorganismos patógenos.
- Estudiar el comportamiento de la natilla in vivo (en animales) y observar la respuesta de esta ante las bacterias patógenas presentes en el intestino.
- Emplear sabores novedosos en la elaboración de postres lácteos, ya que en el mercado existen los tradicionales basados en frutas y cereales. Las encuestas realizadas mostraron que los consumidores tienen una apertura hacia nuevos sabores que rompan lo tradicional.



Referencias

3. Alimentaria México, Food and Beverage Expo. 4-6 Junio 2013. <http://www.alimentaria-mexico.com/en/home>
4. Alvidrez, M. A. (2002). “*Tendencias en la producción de alimentos, alimentos funcionales*”. Revista Salud Pública y Nutrición, Julio-Septiembre, 3(03).
5. Badui, S. D. (2006). “*Química de los Alimentos*”. Editorial Pearson Educación 4ª Ed, México.
6. Belitz H. D. (2009). “*Química de Alimentos*”. 3era. Edición. Zaragoza España. Editorial: Acribia
7. Borrueal, N., Casellas, F., y Guarner, F. (2002). “*Probióticos y enfermedad inflamatoria intestinal*”. Revista Gastroenterología y Hepatología, 25(09).
8. Burns, A. J., y Rowland, I. (2003). “*Prebióticos y probióticos en la prevención del cáncer de colon*”. Revista Gastroenterología y Hepatología, 26, Febrero, p 73-88
9. Caicedo, C. Y. (2010). “*Estudio de la viabilidad de la incorporación de bacterias probióticas micro encapsuladas en helado*”. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
10. Calvo, B. S.; Gómez, C. C.; Royo, B. M. y López, N.C. “*Nutrición, salud y alimentos funcionales*”. Madrid, España: Ed. Uned.
11. Case, C. L.; Funke, B. R.; y Tortora, G. J. (2007). “*Introducción a la Microbiología*”. Editorial Médica Panamericana 9ª Ed, Buenos Aires.
12. Chandan R.C. (2006). “*Manufacturing Yogurt and fermented milk*”. Editorial Blackwell Publishing
13. Chapman, R. (2005). California Department of Public Health. Recuperado en 2013 de <http://www.cdph.ca.gov/healthinfo/discond/Documents/Salmonella.pdf>.
14. Codex Alimentarius (2011). “*Leche y Productos Lácteos*”. OMS, FAO. 2ª.
15. Coimbra, J.S; Teixeira, J.A (2010). “*Engineering Aspects of Milk and Dairy Products*”. Ed. CRC Press Taylor & Francis Group.
16. Córdoba, V. J. (2009). “*Descripción y comportamiento de las enfermedades de Notificación semanal*”. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Secretaria de Salud, México.
17. Creus, G. (2004). “*Alimentos prebióticos y probióticos: La polémica científica sobre sus beneficios*”. OFFARM, 23(05), p. 90-98.



18. Digest, D. C. (2009). "*Lácteos Funcionales: Haciendo mas Fácil una sana Alimentación*". Revista Mundo Lácteo y Carnico, p. 5-11.
19. Dosta, M. D. (2009). "*Bacteriocinas producidas por bacterias Probióticas*". Academia.edu. Obtenido de: <http://byu.academia.edu/>
20. Early, R. (1998). "*Leche: Tecnología de los productos lácteos*". Zaragoza España: Ed. Acribia, S.A, p. 1-6.
21. FAO. "*Productos frescos y procesados: Fichas técnicas*". Recuperado el Septiembre de 2012, de http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pprocesados/lact2.htm
22. FAO/OMS. (2005). "*Beneficios y riesgos potenciales del sistema de lactoperoxidasa en la conservacion de la leche cruda*". Informe de la reunión técnica de la FAO/OMS. Roma, Italia.
23. Fennema, O. R. (2000). "*Química de los Alimentos*". Editorial Acribia, 2ª Ed . Zaragoza España.
24. Financiero, E. (2012). "*Alimentaria Online*". <http://alimentariaonline.com/2012/09/18/valoran-el-mercado-de-alimentos-y-bebidas-funcionales-en-357-mil-460-mdp/>
25. Gallindo, A. Luz; Valbuena, Emiro y Rojas, V. Evelin. (2006). "Estandarización de la Detección del Licomacropéptidos por Page-SDC como índice de adulteración de leche". Revista científica SCIELO, 16 (3), p.308-314.
26. García Garibay, M; Quintero Ramírez, R.; López Munguía, C. A. (2004). "Biotecnología alimentaria". México. Limusa Noriega Editores.
27. García, M. (2010). "*Marketing y comunicación*". Recuperado el 02 de Octubre de 2013, de <http://marketingcosmeticaperfumeria.wordpress.com/2010/08/05/proceso-del-desarrollo-de-nuevos-productos/>
28. García, Y., Boucourt, R., Albelo, N., y Núñez, O. (2007). "*Fermentación de inulina por bacterias ácido lácticas con características probióticas*". Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 41(03), p. 263-266.



29. Gary, H., y Gary, G. (2004). "Como innovar en una era de austeridad". *Harvard Business Review América Latina*, p. 10.
30. Gimeno, C. E. (2004). "Alimentos prebióticos y probióticos. Polémica científica sobre sus beneficios". *Revista OFFARM*, 23(05), p. 90-98.
31. Giraldo, J. P. (2004). "Metodología para el desarrollo de nuevos productos". Primer Encuentro Nacional de Investigación en Diseño, p. 38.
32. González, G; Sánchez, B Y Vázquez, R. (2010). "Calidad de la leche cruda". Primer foro sobre ganadería lechera de la zona lata de Veracruz. Universidad Veracruzana.
33. Gotteland, M. (2010). "Alimentos simbióticos". *Revista Indualimentos*(64), p. 14-15.
34. Griffiths, M. W (2010). "Improving the safety and quality of milk. Milk production and processing". Ed. CRC Press, Cambridge. Vol. 1.
35. Heasman, M., y Melletín, J. (2001). "The Functional Food Revolution". Halthy People, Healthy Profits. Editorial Earthscan.
36. Hernández, C., Aguilera, M., y Castro, G. (2011). "Situación de las enfermedades gastrointestinales en México". *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31(04), p. 137-151.
37. Hernández, M. & Satre, A. (2008) "Tratado de Nutrición". Ed Díaz de Santos, Madrid España, 3 ed, pag 516
38. Holford, P. (2011). "Mejore su Digestión". Editorial Amat. Barcelona.
39. <http://perso.wanadoo.es/microdominguez/c.htm>.
40. http://www.britanialab.com/productos/404_hoja_tecnica_es.pdf
41. Iáñez, E. (2009). "Hipertextos del área de Biología". Obtenido de http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/14_micro.htm#deter
42. Informe: Secretaria de Economía, Dirección General de industrias Básicas. Análisis del Sector Lácteo en México (Marzo 2011)



43. Jeantet, R; Roignant, M Y Brulé, G. (2005). "Ingeniería de los procesos aplicada a la industria láctea". Ed. Acribia, S.A, Zaragoza España.
44. Joerger, R. D. (2003). "*Alternatives to Antibiotics: Bacteriocins, Antimicrobial Peptides and Bacteriophages*". Revista Poultry Science, 82, p. 640-647.
45. Kumar, S. (2005). "*New Product Development*". Minnsesota, EU: Editorial Springer.
46. López, M. A. (2002). "*Alimentos Funcionales: Salud a la Carta*". Revista ¿Como ves?, 42, p. 10-17.
47. Lorente, B. F. (2001). "*Alimentos Funcionales Próbóticos*". Revista Acta Pediatrica, 59(03), p. 49-54.
48. Madrigal, L., & Sangronis, E. (2007). "*La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales*". Revista Scielo, 57(04).
49. Mayo, B. (2010). "*Productos lácteos del siglo XXI: conjugando tradición e innovación*". Jornada Anual de ACTA/CL. Valladolid: Editorial Acta/CL, p. 11-17.
50. Miranda, F. G. (2007). "*Introducción ala Gestión de la Calidad*". Madrid España: Ed. Delta Publicaciones.
51. Monforte, M. M. (2004). "*Gestio de Proyectos*". Editorial Slovento 1ª, Madrid, España.
52. NOM-155-SCFI-2003. *Leche, formula lactea, producto lacteo combinado. Denominaciones, esepficaciones fisicoquimicas, información comercial y métodos de prueba.*
53. NOM-243-SSA-1-2010. Productos y Servicios. Leche, formula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
54. Olagnero, G., & Abad, A. (2007). "*Alimentos funcionales: fibra, prebióticos,probióticos y simbióticos*". Revista Diaeta, 25(121), p. 20-33.
55. Peña, E. F. (2005). *Deposito Digital de Documentos de la UAB*. Recuperado el 2013, de <http://ddd.uab.cat/?ln=es>



56. Perilla, Mindy. J; Ajello, G; Bopp, C.H; Elliott, J Y Colaboradores. (2004). "Manual de Laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo". Organización Mundial de la Salud. Georgia, EUA.
57. Puerta, G. P., y Mateos, R. F. (2010). "Enterobacterias. *Medicine: Enfermedades Infecciosas*". 10(51), p. 3426-3431.
58. Ramirez, J. C. (2011). "Bacterias Lácticas: Importancia en los alimentos y sus efectos en la salud". *Revista Fuente*, 02(07), p. 11-16.
59. Remes-Troche, J.; Carmona, S. R. y González, G. M. (2009). "¿Qué se entiende por estreñimiento? Un estudio en población abierta". *Revista de Gastroenterología en México*, 74(04), p. 321-328.
60. Rivera, R. V., y Simón, M. E. (2008). "Derivados Lácteos: Bases de la alimentación Humana". España: Editorial Netbiblo, p. 55.
61. Rodríguez, V. M., y Simón, E. (2008). "Bases de la Alimentación Humana". España: Ed. Netbiblo.
62. Rosas, M. R. (2011). "Inmunonutrición. Probióticos, prebióticos y simbióticos". *Revista de Gastroenterología de México*, 30(04), p. 54-59.
63. Ruiz, R. J., y Ramirez, M. A. (2013). "Elaboración de Yogurt con Probiótico (*Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus acidophilus*) e Inulina". *Revista Mundo Lácteo y Carnico*, p. 4-8.
64. Salinas, J. (2013). "Los nutrientes, aliados contra la obesidad". *Revista Énfasis, Alimentación*(04), p. 6-10.
65. Saravacos G. Y Maroulis Z. (2011). "Food Process Engineering Operations". Editorial CRC press Toyler y Francis Group.
66. Sastre, G. A. (2003). "Fibra y prebióticos: conceptos y perspectivas". *Revista de Gastroenterología y Hepatología*, 26(1), p. 6-12.
67. Shelly, R. R. (2004). "Leches Fermentadas". *Productos Lácteos Tecnología*. Barcelona, España: Editorial UPC, p. 115-116.



68. Sierra, R. T. (2006). "*Productos Lácteos Fermentados*". *Revista Anales de Pediatría*, 04(01), p. 54-66.
69. Tortora, F. (2007) "Introducción a la Microbiología". Madrid, España. Ed. Medica Panamericana, 9° ed.
70. Uribe, R. U. (2007). "*Diccionario Abreviado de Galicismos, Provincialismos y correcciones de lenguaje*". Medellín : Fondo Editorial Universidad EAFIT .
71. Vaquero, O. A., y Fernández, R. A. (2011). "*Informe: Salmonella Enteritidis*". Ministerio de Salud, Departamento de Epidemiología, Chile.
72. Villegas A. (2010). "*Calidad de leche cruda*". México D.F, Editorial: Trillas.
73. Zollo. A. (2005). "Medicina Interna". Madrid España. Editorial Elsevier. 4ta. Ed.