

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Nutrición



*Formulación de queso probiótico a base de yogurt para el control de bacterias que causan diarrea*

Trabajo de investigación presentado por Ellin Andrea Mazariegos  
Valenzuela para optar al grado de Licenciada en Nutrición

Guatemala

2009



*Formulación de queso probiótico a base de yogurt para el control de bacterias que causan diarrea*

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Nutrición

*Formulación de queso probiótico a base de yogurt para el control de  
bacterias que causan diarrea*

Trabajo de investigación presentado por Ellin Andrea Mazariegos  
Valenzuela para optar al grado de Licenciada en Nutrición

Guatemala

2009

Vo. Bo.

(f)\_\_\_\_\_

Licenciada Lucía Castellanos

Tribunal

(f)\_\_\_\_\_

Licenciada Lucia Castellanos

(f)\_\_\_\_\_

Licenciado Osbel Nuñez

(f)\_\_\_\_\_

Licenciada Ana Isabel Rosal

Fecha de aprobación: Guatemala, 16 de febrero del 2010

## PREFACIO

Dedicatoria:

A Jesús y María

Mi guía y fuente de sabiduría.

A MIS PADRES:

Dr. Estuardo Mazariegos

Dra. Ellin Valenzuela de Mazariegos

Con amor y agradecimiento por el apoyo y comprensión que me han brindado.

A MIS AMIGOS:

Esteban, Sheny y Sergio

A MI ASESOR:

Lic. Osbel Nuñez

## ÍNDICE

PREFACIO.....	IV
LISTA DE CUADROS.....	VIII
LISTA DE GRÁFICOS .....	X
RESUMEN .....	XI
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. ANTECEDENTES .....	2
A. EL PRODUCTO: QUESO PROBIÓTICO A BASE DE YOGURT.....	2
1. <i>Características del queso</i> .....	2
2. <i>Características del queso probiótico a base de yogurt</i> .....	3
3. <i>Alimentos funcionales</i> .....	3
4. <i>Probióticos</i> .....	4
5. <i>Ecología intestinal</i> .....	11
6. <i>Bacterias patógenas de estudio causantes de diarrea aguda</i> .....	12
7. <i>Epidemiología de diarreas en Guatemala</i> .....	17
B. PROCESO DE DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS .....	19
1. <i>Etapas en el desarrollo de nuevos productos</i> .....	19
III. JUSTIFICACIÓN.....	21
IV. OBJETIVOS .....	22
V. HIPÓTESIS .....	23
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
A. MATERIALES Y EQUIPO.....	24
B. MÉTODOS.....	24
1. <i>Tipo de investigación:</i> .....	24
2. <i>Formulación de queso probiótico a base de yogurt</i> .....	24

3.	<i>Análisis microbiológico sobre inocuidad</i> .....	24
4.	<i>Análisis nutricional</i> .....	25
5.	<i>Evaluación sensorial</i> .....	25
6.	<i>Pruebas microbiológicas sobre la efectividad del producto</i> .....	25
VII.	RESULTADOS.....	26
A.	FORMULACIÓN Y ACEPTABILIDAD.....	26
1.	<i>Análisis sensorial</i> .....	27
B.	PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS PARA EFECTIVIDAD DEL PRODUCTO.....	34
C.	ANÁLISIS COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.....	36
D.	COSTOS.....	37
VIII.	DISCUSIÓN.....	39
IX.	CONCLUSIONES.....	41
X.	RECOMENDACIONES.....	42
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	43
XII.	APENDICE.....	48
A.	METODOLOGÍA PARA LA ELABORACIÓN DE QPAY.....	48
B.	METODOLOGÍA PARA GRUPO FOCAL.....	50
C.	METODOLOGÍA PARA PRUEBA HEDÓNICA.....	52
1.	<i>Prueba hedónica con producto único</i> .....	52
2.	<i>Prueba hedónica utilizando escala de nueve puntos</i> .....	54
D.	METODOLOGÍA PARA PRUEBA TRIANGULAR.....	55
E.	METODOLOGÍA PARA PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS SOBRE LA EFECTIVIDAD DEL PRODUCTO.....	59
1.	<i>Objetivo</i> .....	59
2.	<i>Recursos</i> .....	59
3.	<i>Materiales y equipo</i> .....	59
4.	<i>Prueba de inhibición</i> .....	60

5.	<i>Análisis de datos</i> .....	60
F.	RESULTADOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS SOBRE INOCUIDAD .....	61
G.	RESULTADOS DE LAS BOLETAS DE PRUEBA HEDÓNICA. PRODUCTO ÚNICO .....	65
H.	ANÁLISIS SOBRE EFECTIVIDAD DEL PRODUCTO .....	67
I.	ANÁLISIS NUTRICIONAL .....	68

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1 - Composición nutricional esperada del queso probiótico a base de yogurt .....	3
Cuadro 2- Patogenia y síntomas clínicos que producen las bacterias patógenas a utilizar en el estudio	16
Cuadro 3 - Resumen de los datos de notificación obligatoria de ETA para diarreas. ....	17
Cuadro 4- Morbilidad informada: Sistema de Información del MSPAS.....	18
Cuadro 5 - Resultados del recuento de Coliformes y <i>E coli</i> .....	26
Cuadro 6 - Respuestas de los panelistas en la prueba triangular .....	27
Cuadro 7 - Respuestas de los panelistas para caracterización de la apariencia de QPAY .....	28
Cuadro 8 - Respuestas de los panelistas para caracterización del olor de QPAY .....	28
Cuadro 9 - Respuestas de los panelistas para caracterización del sabor de QPAY .....	28
Cuadro 10 - Aceptabilidad de QPAY por el grupo focal.....	29
Cuadro 11 - Número de panelistas que calificaron cada característica de QPAY .....	31
Cuadro 12 – Puntaje obtenido para las diferentes características sensoriales .....	31
Cuadro 13 - Frecuencia de comentarios realizados por los panelistas en la prueba hedónica .....	31
Cuadro 14 - Resultados tabulados por boleta para la prueba hedónica .....	33
Cuadro 15 - Estadística descriptiva .....	33
Cuadro 16 - Análisis de varianza .....	34
Cuadro 17 - Comentarios de prueba hedónica 2.....	34
Cuadro 18 - Diámetros de halos de inhibición a lo largo del tiempo .....	35
Cuadro 19 - Recuento de bacterias productoras de ácido láctico para QPAY.....	36
Cuadro 20 - Resultado del análisis de composición nutricional .....	36
Cuadro 21 - Distribución de macronutrientes en QPAY y leche entera .....	36
Cuadro 22 - Costo de materia prima para QPAY natural .....	37
Cuadro 23 - Costo de materia prima para QPAY salsa de Guayaba .....	37
Cuadro 24 - Costo de materia prima para QPAY ajonjolí.....	38
Cuadro 25 - Costo de materia prima par QPAY loroco.....	38
Cuadro 26 - Costos de producción .....	38
Cuadro 27 - Receta de QPAY .....	49
Cuadro 28 - Costo de QPAY .....	49
Cuadro 29 Orden de las muestras para la prueba triangular .....	57

Cuadro 30 - Definición de los sistemas .....	60
Cuadro 31 Resultados de las boletas en la prueba hedónica. Producto único. ....	62

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Resultados obtenidos para cada característica sensorial .....	32
Gráfico 2 - Diámetros de halos de inhibición a lo largo del tiempo .....	35

## RESUMEN

Este trabajo de tesis es la formulación de queso probiótico a base de yogurt para el control de bacterias que causan diarrea. Se inició el trabajo de investigación elaborando el queso, el cual se hizo de acuerdo a fórmulas prediseñadas, leche entera líquida y leche entera en polvo. Se adquirieron bacterias probióticas las cuales sirvieron para preparar el yogurt y proveer la función antibacteriana. El costo de QPAY fue de Q0.88 la porción (1 onza).

Una vez elaborado el queso se expuso a bacterias patógenas, y se demostró que QPAY (queso probiótico a base de yogurt), tiene la capacidad para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *E coli* enteropatógena, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri*, presentando en *Staphylococcus aureus* y *Shigella flexneri* la mayor capacidad inhibitoria.

Para conocer el grado de aceptación, se realizaron pruebas hedónicas, con panelistas voluntarios no entrenados, donde QPAY fue aceptable. También se llevó a cabo un grupo focal y una prueba triangular con un grupo de panelistas entrenados, donde se caracterizó QPAY y se formularon nuevas opciones que son tan aceptables como el queso a base de yogurt que hay en el mercado.

# I. INTRODUCCIÓN

En este trabajo de tesis se formuló un queso probiótico a base de yogurt (QPAY) con el fin de que este evite o controle el crecimiento de bacterias patógenas causantes de diarrea. El queso se probó con cuatro bacterias patógenas comunes en nuestro medio: *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *E coli* enteropatógeno. Se evaluó por medio de la técnica de halos de inhibición si el queso inhibe el crecimiento de estas bacterias y que tan eficaz es en cada una de estas.

Se evaluó la inocuidad del producto por medio de un recuento de coliformes y *E coli*. La composición nutricional de QPAY se analizó por medio de análisis proximal.

Al comprobar la inocuidad y el funcionamiento de QPAY como inhibidor de las bacterias patógenas antes mencionadas, se llevó a cabo un grupo focal y pruebas hedónicas, donde se supo si había aceptación por los comensales.

Tomando en cuenta que la segunda causa de muerte en Guatemala son las diarreas, QPAY podría ser una alternativa tanto para evitar como para tratar este tipo de patologías, en niños (desde los 7 meses), adolescentes, adultos y ancianos.

## II. ANTECEDENTES

### A. El producto: Queso probiótico a base de yogurt

1. Características del queso. Se entiende por queso el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche (Codex Standard 283-1978, 2008), obtenido mediante:

Coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada/descremada, leche parcialmente desnatada/descremada, nata (crema) de suero o leche de mantequilla/manteca, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el de la mezcla de los materiales lácteos ya mencionados con base en la cual se elaboró el queso; y/o técnicas de elaboración que comportan la coagulación de la proteína de la leche y/o de productos obtenidos de la leche que dan un producto final que posee las mismas características físicas, químicas y sensoriales que el producto definido en el apartado anterior. Se entiende por queso sin madurar el queso que está listo para el consumo poco después de su fabricación (*Idem*).

El rendimiento de la leche para fabricar queso depende de la composición y calidad de la leche, el tratamiento a la cuajada, los equipos, el procedimiento de manufactura y la precisión de los procedimientos de medida. Entre los factores primordiales involucrados en la reducción del rendimiento, se pueden mencionar el contenido inferior de caseína y un pH alcalino. La incorporación de una fuente ácida a la leche, puede servir como una técnica sencilla para aumentar el rendimiento manteniendo la buena calidad del queso e incluso mejorar sus características organolépticas. En la industria quesera, el acidificar la leche con el uso de bacterias, aparte de ampliar su período de vida útil, permite transformar las sales y proteínas de la leche en ácidos y vitaminas asimilables y proporciona al producto lácteo el sabor y las cualidades especiales que lo caracterizan (Sánchez, 1994).

2. Características del queso probiótico a base de yogurt. El queso a base de yogurt es un queso no madurado, elaborado con leche de vaca y es típico en el Medio Oriente. Tiene una consistencia y color similar al queso crema (queso untable de consistencia espesa y color blanco), pero con un sabor ácido debido al yogurt

- a. Composición nutricional. Se espera que el queso probiótico a base de yogurt tenga la siguiente composición nutricional basada en la información nutricional de la materia prima.

Cuadro 1 - Composición nutricional esperada del queso probiótico a base de yogurt

<b>Composición</b>	<b>Porción (2onz)</b>	<b>100 g</b>
<b>Calorías</b>	59 kcal	98 kcal
<b>Grasa</b>	5.18g	8.6g
<b>Carbohidratos</b>	4.24g	7g
<b>Proteína</b>	5g	8.3g
<b>Calcio</b>	181mg	301mg
<b>Hierro</b>	0.39mg	0.65mg
<b>Sodio</b>	44mg	73mg

Fuente: Tabla de composición de alimentos del INCAP 2006

3. Alimentos funcionales. En los últimos años la nutrición ha abierto nuevos campos, como fruto de ello se ha enfatizado el estilo de vida y la preocupación por elevar la calidad de vida de los individuos. La interrelación de disciplinas como la Biología Molecular, la Biotecnología, la Informática, entre otras, con la Nutrición, permite a las industrias alimentarias el desarrollo de nuevos productos con funciones adicionales a las del alimento original (de las Cagigas, 2002).

Del concepto de “alimento sano”, definido como aquel alimento libre de riesgo para la salud y que conserva su capacidad nutricional, su atractivo a los sentidos, su pureza y su frescura, se pasa a otro concepto más actual de “alimento funcional”, descrito como aquel producto, alimento modificado o ingrediente alimentario, que pueda proveer beneficios a la salud superiores a los ofrecidos por los alimentos tradicionales. El efecto positivo de un alimento funcional puede ser tanto en el mantenimiento del estado de salud como en la reducción del riesgo de padecer una enfermedad (*Idem*).

La demanda internacional por consumir alimentos saludables, ha impulsado una nueva línea de alimentos funcionales: los probióticos, productos alimenticios que, además de su valor nutritivo intrínseco, ayudan a mantener el estado de salud general del organismo y a la vez pueden tener un efecto benéfico adicional, terapéutico o preventivo en el huésped. El concepto de alimentos funcionales tiene su origen en una mayor comprensión de las bases moleculares de la relación existente entre alimentación y salud y la

posibilidad de contar con reguladores biológicos (donde las bacterias lácticas juegan un papel protagónico) que disminuyan el riesgo de contraer enfermedades (Taranto, 2005).

4. **Probióticos.** Se define como probiótico todo microorganismo vivo, cuya ingestión en cierto número confiere beneficios a la salud más allá de sus beneficios nutricionales inherentes (Klaenhammer, 2000).

Los probióticos estimulan las funciones protectoras del sistema digestivo. Son también conocidos como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprolácticos y se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales. Para que un microorganismo pueda realizar esta función de protección tiene que cumplir los postulados de Huchetson: ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda llegar vivo al intestino. Es importante que estos microorganismos puedan ser capaces de atravesar la barrera gástrica para poder multiplicarse y colonizar el intestino (las Cagigas, 2002).

De manera general, los probióticos protegen la salud de una manera natural, alterando el balance ecológico mediante la exclusión competitiva de bacterias patógenas. Estudios *in vivo* e *in vitro*, utilizando diferentes cepas de *Lactobacillus*, han demostrado dicha competencia, mecanismo conocido como "inhibición competitiva". Los probióticos ejercen su acción a través de múltiples mecanismos, entre los cuales se destacan: a) promoción de la fagocitosis; b) inhibición del crecimiento bacteriano; c) modulación local de la respuesta inmune; e d) inhibición competitiva (Manzanares, 2006).

Los microorganismos probióticos que se utilizan comúnmente para la elaboración de productos lácteos son los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, siendo utilizados fundamentalmente en la elaboración de leches fermentadas. Estos productos se consumen normalmente en un plazo breve de tiempo tras su elaboración (*Idem*). Una alternativa para mantener la viabilidad de las bifidobacterias sería su incorporación en productos como los quesos donde el pH, el contenido de grasa, el nivel de oxígeno y las condiciones de almacenamiento son más adecuadas para la supervivencia de este tipo de microorganismos durante el procesamiento y la digestión (Boylston, 2004).

En lo que respecta a productos, el queso ofrece una serie de ventajas con respecto a las leches fermentadas como vehículo de microorganismos probióticos: el pH más elevado, la mayor consistencia, el mayor contenido en grasa y la mayor capacidad tamponante son factores que contribuyen a la protección de los microorganismos probióticos durante el tránsito gastrointestinal, facilitando, la llegada al intestino de un mayor número de células viables. Prácticamente todos los trabajos de desarrollo de quesos funcionales probióticos se han hecho en variedades de queso de producción industrial (Cheddar, Cottage, Gouda). En la

elaboración de dichos quesos se han utilizado distintas cepas probióticas, que pertenecen a las especies *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *B. longum* y *B. lactis*. (Fernández, 2004).

Debido a que estos productos se están incorporando rápidamente al mercado, es importante establecer criterios de selección y controles de calidad para productos probióticos (Sanz, 2003). En concreto, la FAO/WHO, en mayo de 2002, hizo pública una guía para la evaluación sistemática de probióticos en alimentos; dicha guía incluye los siguientes aspectos:

- Pruebas «in vitro» para la evaluación de probióticos de uso en humanos

Éstas incluyen: a) resistencia a la acidez gástrica y a las sales biliares, ya que son condiciones de estrés que constituyen una barrera limitante para su supervivencia en este ecosistema; b) adherencia al *mucus* y las células epiteliales, ya que se consideran propiedades que los probióticos deben poseer para ejercer efectos inmunomoduladores y excluir la adhesión de patógenos; c) habilidad para reducir la adhesión de la flora competitiva y actividad antimicrobiana que favorezca el desplazamiento de patógenos, y d) capacidad para hidrolizar las sales biliares (*Idem*).

- Seguridad de los probióticos

Las cepas utilizadas pertenecen, en su mayoría, a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que son comensales humanos que han sido aplicados históricamente de forma segura en la fermentación de alimentos. Estos son aspectos que garantizan *a priori* su inocuidad, aunque teóricamente su uso en alimentación podría tener efectos colaterales, como implicación en infecciones sistémicas, actividades metabólicas nocivas, estimulación excesiva del sistema inmune y transferencia de genes. No obstante, los casos de asociación entre infecciones sistémicas y el consumo de probióticos son muy raros, y todos se han producido en pacientes inmunodeprimidos que estaban sometidos a tratamiento médico. En ningún caso, se han asociado a bifidobacterias. Por el contrario, algunas cepas del género *Enterococcus* podrían constituir un mayor riesgo, ya que son causa de infecciones nosocomiales y poseen alta resistencia a vancomicina (*Idem*).

a. Identificación del género, la especie y la cepa probiótica. Los *Lactobacillus* y las Bifidobacterias, suelen ser incorporados a estos productos y se consideran seguros según su clasificación taxonómica. Por ello, es esencial que éstos sean correctamente identificados a nivel de género y especie, para garantizar que se trata de microorganismos presumiblemente inocuos y de grado alimentario. Por otro lado, los efectos beneficiosos no se pueden atribuir de forma generalizada a un género o especie, sino que dependen de la cepa. Por eso, es necesario profundizar en su identificación a nivel intraespecífico, mediante métodos de caracterización fenotípica y genotípica, a fin de asociar un

determinado efecto con una cepa concreta, y poder realizar su seguimiento en estudios tecnológicos, clínicos y epidemiológicos. La nomenclatura aplicada debe regirse por criterios establecidos científicamente, y se recomienda depositar las cepas en una colección de cultivos reconocida internacionalmente (*idem*).

1) *Lactobacillus Casei*. El grupo de *Lactobacillus* lo constituyen tres grupos: *L. casei* (*L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* y *L. zae*), *L. acidophilus* (*L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. johnsonii*, y *L. gasseri*) y *L. fermentum* (*L. fermentum* y *L. reuteri*). Se ha fundamentado y admitido el uso de los probióticos para aliviar algunas de las enfermedades intestinales. En especial *L. gasseri* y *L. casei* poseen cierta capacidad inmunorreguladora, por su acción sobre los linfocitos B y los macrófagos (Barrenetxe, 2006).

En concreto, las bacterias del género *Lactobacillus* se distinguen por su capacidad de atravesar en gran número la barrera gástrica y sobrevivir durante el tránsito intestinal, lo que permite desarrollar sus efectos beneficiosos en el intestino. Entre dichos efectos beneficiosos de los *Lactobacillus* destaca el mantenimiento de la flora intestinal, la modulación de la renovación celular a nivel del epitelio intestinal, la contribución a la conservación del equilibrio del sistema inmunológico, y la mejoría de la diarrea infantil (Cobo, 2006).

Así mismo, la cepa CRL-431 de *Lactobacillus casei* ha mostrado su capacidad para eliminar microorganismos patógenos del intestino, como cepas enterotoxigénicas de *E. coli*, *Listeria monocitogenes*, *Shigella sunnei* y *Salmonella typhimurium*, tanto en estudios *in vitro* como con animales de experimentación (Perdigon, 1990).

La producción de sustancias antimicrobianas como las bacteriocinas por parte de los probióticos ha mostrado también tener un efecto positivo frente a las gastroenteritis producidas por cepas de *E. coli* y *Campylobacter* reduciendo las mismas considerablemente (Jakobsen, 1999).

El *yakult* es un producto láctico japonés que se estima se consume de forma diaria por un 10% de la población de este país. Este producto contiene cepas de *Lactobacillus casei* que han mostrado su eficacia frente a infecciones intestinales en niños producidas por rotavirus, y tienen efectos antitumorales en ratón. Estos efectos pueden ser debidos a las glicoproteínas secretadas por las propias bacterias (Matsuzaki, 1998)

Se sabe poco del efecto de los probióticos sobre el sistema inmune. Las primeras experiencias indican que en niños tratados con *L. casei* la cantidad de Ig A circulante es más elevada que en los no tratados y que su respuesta ante infecciones del tracto digestivo es mucho mejor. De igual forma, la ingestión de alimentos enriquecidos con *L. casei* y *Bifidobacterium bifidum* aumenta la actividad de los granulocitos

circulantes, así como la estimulación en la producción de citoquinas por parte de los monocitos, interferón- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , y TNF- $\alpha$  (Hoerr, 2000).

2) *Lactobacillus acidophilus*. El *Lactobacillus acidophilus* es uno de los probióticos más populares, entre sus beneficios al tracto intestinal, se encuentra la síntesis de vitaminas del complejo B (B6, B12), ácido fólico, riboflavina, niacina, biotina y ácido pantoténico, mejora la absorción del calcio, produce enzimas como la lactasa, que ayuda a la digestión de la proteína de la leche (lactosa) y a mejorar los síntomas del Síndrome de intestino irritable, produce antibióticos naturales que ayudan en el control de bacterias patógenas intestinales, ayuda en la digestión de los alimentos y al control de la candidiasis intestinal (Gómez, 2004).

Muchas personas toman *Lactobacillus acidophilus* cuando viajan a otros países, como prevención para las infecciones intestinales y como ayuda para la recuperación del tracto digestivo, después de un tratamiento con antibióticos, especialmente antibióticos de amplio espectro. Es también recomendado a mujeres con infecciones vaginales (*Idem*).

3) *Bifidus Longum*. Al género *Bifidobacterium* se le atribuye una importante función en el mantenimiento del equilibrio del ecosistema intestinal y el desplazamiento de microorganismos patógenos. Las cepas de este género constituyen el grupo predominante de la microbiota fecal de niños alimentados con leche materna y unos de los probióticos más importantes. Los mecanismos de acción de *Bifidobacterium* frente a los patógenos gastrointestinales mejor caracterizados incluyen la competición por los sitios de adhesión, la inmunomodulación y la síntesis de compuestos antimicrobianos (Sanz, 2006).

#### b. Mecanismos de acción de probióticos frente a patógenos gastrointestinales

1) Adhesión. Las bacterias patógenas buscan adherirse a los sitios de adhesión de la pared intestinal para colonizar y causar disturbios importantes dentro del intestino como diarrea y vómitos. Por esa razón, una función importante de las bacterias probióticas es prevenir o limitar el crecimiento y la colonización en el intestino de bacterias potencialmente patógenas como *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter* y *Clostridium* y ayudar a reducir el riesgo del desafío patógeno (Cerela, 2008).

La capacidad de adhesión de las bacterias probióticas está relacionada con su potencial para desplazar o inhibir patógenos mediante competición por los sitios de adhesión. Además, esta propiedad se relaciona con la capacidad para colonizar, al menos transitoriamente, el tracto intestinal e interactuar con el sistema inmune del huésped. Por ello, constituye uno de los criterios de selección de bacterias probióticas. En

general, las Bifidobacterias parecen presentar menor capacidad de adhesión al moco de personas de edad avanzada que al de los niños, lo que podría explicar su menor grado de colonización en el primer grupo de población. Estos modelos se han utilizado también para demostrar la capacidad de diversas Bifidobacterias para inhibir la adhesión y desplazar patógenos previamente adheridos, como *Salmonella enterica serovar typhimurium*, *Salmonella arizonae*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter sakazakii*, *Clostridium difficile* y *C. perfringens*. Estudios similares han permitido demostrar la capacidad de algunas bifidobacterias para inhibir también la invasión de enterocitos por patógenos como *E. coli O157:H7* y *S. entérica serovar typhimurium*. La capacidad de adhesión varía entre especies y entre cepas de la misma especie (Sanz, 2006).

2) Inmunomodulación. El sistema inmunitario intestinal constituye la parte más extensa y compleja del sistema inmunitario, ya que al estar en contacto con el exterior, recibe diariamente una enorme carga antigénica, debiendo distinguir entre potenciales patógenos y antígenos inoocuos como son las proteínas de la dieta y las bacterias comensales (Arribas, 2008).

El principal componente del sistema inmunitario intestinal está constituido por el tejido linfoide asociado al intestino (*GALT, Gut-Associated Lymphoid Tissue*), en el que se puede distinguir dos compartimentos (Mowat, 2003):

- GALT organizado, constituido por folículos linfoides aislados, folículos linfoides asociados o placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos.
- GALT difuso, integrado por poblaciones de linfocitos dispersos a lo largo del epitelio y de la lámina propia del intestino.

Dada su localización intestinal y la posibilidad de interactuar con el epitelio de la mucosa, es evidente que los probióticos actúan sobre la inmunidad intestinal tanto específica como inespecífica, y que este hecho está íntimamente relacionado con sus efectos beneficiosos sobre el hospedador. Diversos estudios han puesto de manifiesto que numerosos lactobacilos pueden alertar al sistema inmune intestinal, y secundariamente favorecer el rechazo de microorganismos infecciosos potencialmente lesivos, esto lo pueden realizar mediante la producción de inmunoglobulinas específicas de tipo A (Ogawa, 2006), o la activación de células NK (Rinne, 2005). Otros efectos inmunomoduladores de estos probióticos se derivan de su capacidad para incrementar la actividad fagocítica de leucocitos intestinales, promover una mayor proliferación de células B junto con aumento en la secreción de inmunoglobulinas (A y G), y estimular la producción de citocinas como IL-2, IL-6 o TNF- $\alpha$  (Arribas, 2008).

No se conoce con exactitud cómo se lleva a cabo la interacción de los probióticos con las células linfoides del intestino para conseguir la activación del sistema inmunitario intestinal. En este sentido, se ha

propuesto que los lactobacilos pueden modificar la producción de citocinas mediante la participación de algún componente de su pared celular que no ha sido totalmente caracterizado (Solis, 1997).

La mezcla de bacterias utilizadas para la elaboración Queso Fresco Probiótico son capaces de interactuar con los sitios de inducción más importantes del intestino delgado (placas de Peyer) e intestino grueso (nódulos linfoides mesentéricos) y mantener la relación de Linfocitos T CD4+/CD8+, sin producir efectos secundarios o colaterales tales como el incremento de la respuesta inflamatoria mediada por la actividad citotóxica de LT CD8+. De esta manera se logra aumentar la resistencia inespecífica del huésped y facilitar la exclusión de patógenos del intestino (Taranto, 2005).

3) Producción de compuestos antimicrobianos. Los metabolitos antimicrobianos producidos por bacterias lácticas se pueden dividir en dos grandes grupos: 1. Compuestos de baja masa molecular (<1.000 Da), entre los que se incluyen los ácidos orgánicos que poseen amplio espectro de acción, y 2. Las proteínas antimicrobianas, llamadas bacteriocinas (>1.000 Da), con espectro de acción restringido a bacterias grampositivas (*Idem*).

Los ácidos orgánicos mayoritarios generados como consecuencia del metabolismo fermentativo de las hexosas (láctico y acético) se han considerado los principales responsables del efecto inhibitorio de cepas del género *Bifidobacterium* frente a patógenos gastrointestinales, como *Helicobacter pylori*. Los ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico y butírico) generados a partir del metabolismo de polisacáridos no digeribles en la parte alta del tracto gastrointestinal (prebióticos) por este grupo bacteriano también contribuyen a la reducción del pH en el colon, inhibiendo así su colonización por bacterias patógenas (*Idem*).

Además, el ácido butírico contribuye al efecto barrera, ya que supone un importante aporte de energía para los enterocitos (60-70%), estimula el flujo sanguíneo y modula la proliferación y diferenciación celular (*Idem*).

#### c. Evidencias clínicas de la efectividad de probióticos en infecciones gastrointestinales.

Los últimos estudios de Collado y cols, indican, que ciertas cepas aisladas de heces de adultos y niños son capaces de sintetizar proteínas antimicrobianas de amplio espectro activas frente a bacterias grampositivas, gramnegativas y levaduras. Entre éstas se incluyen importantes patógenos gastrointestinales, como *C. difficile*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. entérica serovar typhimurium*, *H. pylori*, *Campylobacter coli* y *Arcobacter butzleri* (Collado, 2005).

Existen varios probióticos con eficacia demostrada en procesos diarreicos, entre estos se incluyen *Lactobacillus rhamnosus GG*, donde su consumo, disminuyó el tiempo de diarrea por rotavirus en niños

(Marteau, 2001), *Lactobacillus reuteri*, disminuyó el curso de la diarrea aguda causada por *Clostridium difficile* (Saavedra, 2000), *Saccharomyces boulardii* donde se evidenció que es útil para la prevención y tratamiento de diarrea nosocomial (Guandalini, 2006) y *Bifidobacterium* spp, donde al suplementarlo en alimento de infantes se puede producir un efecto profiláctico (Saavedra, 2000).

Un caso especial de diarrea aguda es la denominada como “diarrea del viajero”, que afecta principalmente a los viajeros procedentes de países desarrollados que visitan lugares con una deficiente higiene. En esta situación los probióticos también han demostrado un efecto beneficioso (Hilton, 1977), incluyendo cepas de *L. acidophilus* (Floch, 2001) o con leche fermentada con *L. casei* se ha descrito que son capaces de reducir a la mitad la incidencia de este tipo de diarrea (Arribas, 2008).

Se ha comprobado que algunos probióticos mejoran los síntomas de intolerancia a la lactosa. En un estudio en niños suplementados con *Lactobacillus casei* se observó un aumento de la IgA con una menor duración de la diarrea inducida por rotavirus (Kaila, 1992). Con el consumo de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* se obtiene un aumento de la actividad fagocítica de los granulocitos circulantes, por su parte la ingesta de yogur incrementa la producción de citoquinas. Otra función de los probióticos es la de disminuir la producción de enzimas como la b-glucu-ronidasa, la b-glucosidasa, la nitroreductasa y la ureasa (las Cagigas, 2002). Estas enzimas participan en la activación metabólica de los mutágenos y carcinógenos (Torres, 1999).

d. Riesgos de los probióticos en la práctica clínica. Dado el rápido incremento en el empleo de probióticos con fines específicos y en circunstancias clínicas muy diversas es interesante preguntarse acerca de su seguridad, especialmente si se emplean en situaciones en las que su eficacia no ha sido demostrada por la evidencia científica (Oliveira, 2007).

Las infecciones por estos microorganismos podrían ocurrir de forma natural incluso sin estar relacionadas con la ingesta de estos microorganismos. Aunque son pocos, la mayoría de los casos clínicos publicados de bacteriemia, sepsis o endocarditis por *Lactobacillus* han sido producidos por *L. rhamnosus GG* o por *L. Casei* (*Idem*).

Las infecciones por bifidobacterias son excepcionales en la literatura aunque se han descrito bacteriemias, sepsis y colangitis por *Bacillus subtilis*. También se han publicado sepsis fúngicas producidas por *Saccharomyces boulardii*. Todos los casos de infecciones sistémicas por probióticos se han producido en pacientes con enfermedades graves de base (Diabetes mellitus, valvulopatías, prematuros, problemas hematológicos, SIDA, pacientes de cuidados intensivos, con nutrición parenteral, con yeyunostomías, síndrome de intestino corto, trasplantados, pacientes con cáncer, etc.). La mayoría de estos casos se resolvieron con tratamiento antibiótico pero, en algunos derivaron a shock séptico e incluso provocaron la

muerte. Es posible que diferentes cepas de probióticos tengan diferentes perfiles de seguridad. No obstante, en estudios prospectivos y randomizados realizados en adultos inmunodeprimidos y niños infectados por VIH y en neonatos pretérmino no se ha comunicado ningún caso de sepsis por *Lactobacillus*. A nivel general la balanza de beneficios frente a los riesgos está claramente inclinada hacia los primeros ya que el riesgo de infección por el consumo de probióticos sería similar al de la infección por cepas comensales y, en general, muy bajo, incluso en pacientes inmunodeprimidos (*Idem*).

No obstante, existen grupos seleccionados de pacientes en los cuales todavía se recomienda emplear con precaución, en especial en prematuros y en determinados pacientes inmunodeprimidos. Boyle y cols, proponen una serie de factores predisponentes a la sepsis por probióticos (*Idem*).

El riesgo de sepsis por estas bacterias debería balancearse con el riesgo de sepsis por otras especies patógenas de bacterias y con el riesgo de sufrir la enfermedad que se pretende prevenir (por ejemplo, la enterocolitis necrotizante en neonatos) (*Idem*).

Los criterios que se deben tomar en cuenta para evaluar el riesgo de sepsis por probióticos en la práctica clínica son los siguientes:

#### Criterios mayores

- Inmunodeficiencia severa incluyendo estados de desnutrición grave o cáncer
- Neonatos prematuros (Oliveira, 2007; Boyle, 2006)

#### Criterios menores

- Catéteres venosos centrales
- Barrera epitelial intestinal incompetente (procesos diarreicos severos, inflamación intestinal)
- Administración de probióticos por yeyunostomía
- Administración concomitante de antibióticos de amplio espectro a los cuales los probióticos son resistentes (por ejemplo muchos *Lactobacillus* son naturalmente resistentes a la vancomicina)
- Probióticos con capacidad de alta adhesión a la mucosa intestinal o patogenicidad conocida
- Enfermedad valvular (únicamente para *Lactobacillus*) (*Idem*)

5. **Ecología intestinal.** La microbiota intestinal constituye un complejo ecosistema integrado por más de 400 especies bacterianas. El tracto gastrointestinal constituye una de las principales zonas de contacto con agentes ambientales potencialmente nocivos (bacterias, virus, toxinas y alérgenos) y desempeña una función primordial en la defensa del organismo frente a éstos. Su función protectora depende de los componentes estructurales y funcionales de la mucosa intestinal, del sistema inmune asociado y de sus interacciones con la microbiota intestinal residente y en tránsito (Sanz, 2006).

Se considera que es a la edad de dos años cuando la composición y el metabolismo de la microflora intestinal de un niño se asemejan a la de un adulto. Es interesante resaltar que si bien hay modificaciones transitorias derivadas del uso de antibióticos o de tipo dietético, éstas suelen ser reversibles, de modo que cada individuo mantiene una flora predominante estable durante toda su vida. Inicialmente, diversos géneros de bacterias aerobias colonizan el tubo digestivo, sobre todo Enterobacterias como *Escherichia coli* junto con diversas especies del género *Lactobacillus*. Éstas consumen el oxígeno del ambiente y progresivamente se establece un microsistema en el que hay un mayor predominio de especies anaerobias obligadas, como *Bacteroides*, *Clostridia*, *Eubacterias* y *Bifidobacterium* (Arribas, 2008).

Las células del epitelio intestinal, el moco que cubre la mucosa, el flujo sanguíneo que la irriga y las secreciones (fosfolípidos, bilis, péptidos antimicrobianos, etc.) constituyen de forma conjunta una barrera física y química que contribuye a la defensa del huésped (Bourlioux, 2003). El moco está integrado por mucinas (glucoproteínas), que son potenciales sitios de adhesión para las bacterias. La síntesis y la composición de las mucinas están reguladas genéticamente en cada individuo; además, las bacterias intestinales pueden contribuir a la regulación del repertorio de mucinas mediante la modificación de la expresión génica de glucosiltransferasas del huésped y por acción de sus propias enzimas glucolítica (Hooper, 2001). Los patógenos normalmente alteran la permeabilidad intestinal, mientras que las bacterias comensales beneficiosas y los probióticos pueden contribuir al restablecimiento de ésta y de las uniones intercelulares, y favorecer la proliferación celular (Hooper 2001). La síntesis de péptidos antimicrobianos (defensinas) y proteasas implicadas en su activación en las células Paneth constituye un mecanismo adicional de defensa del huésped frente a agentes patógenos. Tanto la producción de las defensinas como de las enzimas que las activan puede ser modulada por la microbiota comensal y por bacterias probióticas (Salzman 2003).

Es importante el hecho que la diversa microflora intestinal establece una relación simbiótica con el individuo. Así, en el lumen intestinal, las bacterias se benefician de un constante flujo de nutrientes, de una temperatura estable y de un buen nicho donde desarrollarse. De igual manera, el hospedador se beneficia de las bacterias por su capacidad de sintetizar vitamina K, obtener energía de los nutrientes no absorbidos en forma de ácidos grasos de cadena corta, inhibir el crecimiento de microorganismos potencialmente patógenos y mantener la integridad y funcionalidad de la mucosa (Arribas 2008).

## 6. Bacterias patógenas de estudio causantes de diarrea aguda

- a. *Salmonella typhi*. Bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, con flagelos, producen sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), fermentan glucosa y son móviles (Pommerville, 2004).

La fiebre tifoidea es causada por un germen gramnegativo productor de una respuesta inflamatoria en el tracto intestinal. La infección se transmite de forma indirecta al consumir agua, alimentos contaminados (Morona, 1994). El período de incubación es por lo general es de 12 a 36 horas, a veces hasta 6 y 48 horas. El único reservorio de la *Salmonella typhi* es el hombre, de modo que se transmite de una persona a otra (Pérez, 2002).

De acuerdo a los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), la salmonellosis causa un estimado de 1.4 millones de casos de intoxicaciones alimentarias y más de 500 muertes anualmente en los Estados Unidos. El reporte de investigación del Programa Activo de Investigación de Enfermedades Transmitidas a Través de los Alimentos (FoodNet, por sus siglas en inglés) del 2004, identifica *Salmonella* como la infección bacteriana más comúnmente reportada. (42 % *Salmonella*, 37 % *Campylobacter*, 15 % *Shigella*, 2.6 % *E. coli* O157:H7 y 3.4 % otros como *Yersinia*, *Listeria* y *Vibrio*) (USDA, 2009).

La mayoría de las personas experimentan diarrea, dolor abdominal y fiebre entre 8 a 72 horas después de comer el alimento contaminado. Síntomas adicionales pueden incluir escalofríos, dolor de cabeza, náusea y vómito. Los síntomas usualmente desaparecen dentro de un plazo de 4 a 7 días. Muchas personas con salmonelosis se recuperan sin tratamiento y quizás nunca visitaron al doctor. Sin embargo, las infecciones con *Salmonella* pueden ser riesgosas para la vida, especialmente para infantes y niños pequeños, mujeres embarazadas y sus bebés por nacer y las personas de edad avanzada están a mayor riesgo de intoxicaciones alimentarias, así como la gente con el sistema inmunológico débil (como aquellos que sufren de HIV/SIDA, cáncer, diabetes, enfermedades de los riñones o pacientes de transplantes) (*idem*).

Usualmente, las personas con diarrea se recuperan completamente, aunque puede tomar varios meses antes de que la rutina de los intestinos vuelva enteramente a la normalidad. Una pequeña cantidad de las personas infectadas con *Salmonella* podrían desarrollar dolor en las coyunturas, irritación en los ojos y dolor al orinar. Esto se llama el Síndrome de Reiter. Puede tardar meses o años y puede causar artritis crónica, que es difícil de tratar (*Idem*).

b. *Shigella flexneri*. La *Shigella flexneri* es uno de los agentes etiológicos más importantes de la diarrea aguda. Su presentación es más frecuente en los países en desarrollo. El género *Shigella* *sp.* forma parte de la familia *Enterobacteriaceae* y está fuertemente emparentado con el género *Escherichia*. Es un bacilo Gram negativo fermentador aeróbico, lactosa negativo, no motil y su TSI es K/A sin producción de gas o H<sub>2</sub>S. Es una de las bacterias más importantes en la patogenia de la disentería bacilar. El género *Shigella* está compuesto por 4 especies: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella*

*boydii* y *Shigella sonnei*. De todas estas especies, *flexneri* y *sonnei* son las más aisladas y las que mayores problemas producen (Ayala, 2006).

Estas especies se caracterizan por producir tres diferentes exotoxinas, una citotoxina, una neurotoxina y una enterotoxina. La producción de estas tres exotoxinas explica el cuadro clínico típico de disentería bacilar. Las deposiciones son mucosas, escasas, con leucocitos, eritrocitos y un fuerte dolor abdominal tipo calambre. Además, hay fiebre alta y pueden presentarse convulsiones. (Ayala, 2006).

*Shigella spp.* invade el epitelio colónico con destrucción de la superficie de la mucosa y pueden producirse úlceras en esa mucosa. Rara vez invaden la mucosa y su recuperación de sangre es poco frecuente. Es una de las bacterias más importantes en la patogenia de la disentería bacilar y en Centro América sigue siendo una de las más aisladas en esta patología (Herrera 1996).

c. *Staphylococcus aureus*. Son cocos gram positivos. Son inmóviles, facultativamente anaerobios, no formadores de esporas, generalmente no capsulados o con limitada formación de cápsula. Es capaz de fermentar glucosa con producción de ácido, y tolera condiciones ambientales muy variables. Así, puede crecer a cualquier temperatura entre 6 y 46°C, con el óptimo en 30-37°C (Fueyo 2005).

*S. aureus*, tiene una amplia gama de determinantes de virulencia, que abarca componentes de pared celular y una gran variedad de exoproteínas que contribuyen en su habilidad para colonizar y causar enfermedad.

*Staphylococcus aureus*, está reconocido como uno de los patógenos humanos más importantes, responsable de gran número de infecciones, y es una de las bacterias más frecuente en las Unidades de Cuidados Intensivos, responsable entre otras sepsis de la neumonía asociada a la Ventilación Mecánica (VM) y las bacteriemias; es importante sospecharlo fundamentalmente después de una epidemia de gripe, en pacientes con desórdenes neuroquirúrgicos, pacientes sometidos a un proceder invasivo o en casos con largo tiempo de VM. Son indispensables las medidas para su prevención en el medio hospitalario, desde un adecuado lavado de las manos hasta la profilaxis quirúrgica necesaria en cada situación. El aumento progresivo de las resistencias por este germen, especialmente de la meticilín-resistencia, constituye un problema sanitario de primer orden en el mundo actual y aunque siguen siendo los glucopéptidos los antibióticos de referencia frente a estos patógenos, los cambios descritos en los patrones de sensibilidad han obligado a la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de las infecciones causadas por este microorganismo (Hernández, 2005).

Los individuos proclives a las infecciones estafilocócicas son los recién nacidos, las mujeres en periodo de lactancia, las personas con enfermedades crónicas (especialmente afecciones pulmonares, diabetes y cáncer), las que presentan afecciones cutáneas e incisiones quirúrgicas y aquellas cuyos sistemas inmunológicos están inhibidos por el uso de corticosteroides, radioterapia, fármacos inmunodepresores o medicaciones anticancerosas. *S aureus* es un importante patógeno tanto nosocomial como comunitario, siendo capaz de infectar distintos tejidos y órganos, causando patologías que a veces son extremadamente graves y en algunos de los cuadros clínicos pueden estar implicados un amplio espectro de factores de virulencia (Fueyo, 2005).

Los síntomas de una infección más seria causada por estafilococos pueden abarcar:

- Dolor torácico
- Escalofrío
- Fatiga
- Fiebre
- Sensación general de indisposición (malestar)
- Dolor de cabeza
- Dolores musculares
- Erupción cutánea
- Dificultad para respirar
- Diarrea

d. *E coli* enteropatógena. *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) es una de las principales causas de diarrea en niños menores de dos años en países en vías de desarrollo. La principal característica histopatológica de la infección es una lesión que induce la EPEC en el intestino conocida como la lesión A/E (adherencia y eliminación). Las bacterias se adhieren a los enterocitos y permiten la acumulación de la actina del citoesqueleto en la región apical de la célula, hasta causar la eliminación de las microvellosidades intestinales. A pesar de que se conoce de modo detallado el proceso de formación de los pedestales de actina, aún no se ha esclarecido el mecanismo global de la diarrea que induce EPEC. La diarrea se ha vinculado con: a) la destrucción de las microvellosidades del enterocito, b) la salida masiva de iones hacia la luz intestinal y c) la secreción de alguna enterotoxina (Vidal, 2007).

Una de las principales características de la infección es la diarrea de tipo acuoso, que puede ocurrir en diversos grados de intensidad. Además, es común que los niños infectados presenten vómito y fiebre. El periodo de incubación varía de 3 a 24 horas después de que el individuo ingiere en condiciones experimentales un inóculo grande de bacterias ( $10^9$  a  $10^{10}$  UFC); se cree que el inóculo que infecta de manera natural a los niños es mucho menor. Una vez que la bacteria alcanza la mucosa intestinal, comienza a desencadenarse un mecanismo de patogenicidad complejo, que tiene como resultado la producción de diarrea. Los niños menores de dos años son la población infantil con mayor susceptibilidad a la infección, y

de ellos, la mayor prevalencia se ha observado en lactantes hasta de seis meses. De manera alarmante, las cifras de letalidad en países subdesarrollados son elevadas (20 a 50%), lo que convierte a la infección por EPEC en una anomalía clínica de inmediata respuesta (*Idem*).

En el Cuadro 2 se compara la patogenia y síntomas que se pueden presentar ante la infección de las bacterias patógenas a utilizar en el estudio (*Salmonella tiphy*, *Shigella flexneri*, *S aureus*, *E-coli* enteropatógena).

Cuadro 2- Patogenia y síntomas clínicos que producen las bacterias patógenas a utilizar en el estudio

Bacterias patógenas	Patogenia	Síntomas
<i>Salmonella tiphy</i>	Bacteria gramnegativa anaeróbica, con flagelos peritricos que no desarrollan capsula ni esporas fermentan glucosa, pero no lactosa no producen ureasa 1.	Diarrea, dolor abdominal fiebre, escalofríos dolor de cabeza, nauseas y vómitos y síndrome de Reier 2.
<i>Shigella flexneri</i>	Infección causada por bacilo gramnegativo fermentador aeróbico, lactosa negativo, no móvil, produce exotoxinas, citotoxinas neurotoxinas y endotoxinas 3.	Diarrea mucosa y fuerte dolor abdominal tipo calambre, fiebre alta, invade el epitelio y produce úlceras en la mucosa intestinal 3.
<i>S. aureus</i>	Infección causada por cocos grampositivos, formadores de esporas, no capsulados o con limitada formación de capsula, y exoproteínas que colonizan y causan la enfermedad 4.	Producen dolor torácico, fiebre, escalofríos, fatiga, dolor de cabeza, erupción cutánea, dificultad para respirar, diarrea, dolores musculares es capaz de infectar distintos tejidos y órganos causando patologías que a veces son extremadamente graves 4.
E-coli enteropatógena	La principal característica histopatológica de la infección es una lesión que induce la EPEC en el intestino conocida como la lesión A/E (adherencia y eliminación) 5.  La diarrea se ha vinculado con: a) la destrucción de las microvellosidades del enterocito, b) la salida masiva de iones hacia la luz intestinal y c) la secreción de alguna enterotoxina 5.	Diarrea de tipo acuoso, que puede ocurrir en diversos grados de intensidad. Además, es común que los niños infectados presenten vómito y fiebre 5.

Fuente: 1. Pommerville, 2004; 2. USDA, 2009; 3. Ayala, 2006; 4. Fueyo, 2005; 5. Vidal, 2007.

7. Epidemiología de diarreas en Guatemala. Los registros epidemiológicos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala (MSPAS) se limitan principalmente a la incidencia de las diarreas sin detallar el agente etiológico ni el alimento implicado en la transmisión de la enfermedad. Las diarreas son el segundo problema en importancia como causa de muerte entre lactantes y niños, después de la neumonía. Igualmente está en la segunda posición entre las enfermedades infecciosas, después de las infecciones respiratorias agudas. Varios estudios hechos en la población han identificado los agentes relacionados con los brotes de diarrea. La mayoría de los estudios han enfocado el problema de la contaminación del agua (Kooper, *et al* ,2009).

La distribución de los casos de diarrea se asocia con factores económicos y sociales así como con el saneamiento ambiental, íntimamente relacionados con la pobreza, el analfabetismo y la desnutrición crónica. La presencia de una población emigrante significativa, como el caso de las personas que utilizan a Guatemala como lugar de paso hacia México o los Estados Unidos de América contribuye a acentuar la demanda sobre servicios públicos precarios (Idem).

La clasificación de los datos epidemiológicos relacionados con las ETA (Enfermedades Transmitidas por Alimentos) siguen los códigos CIE X. En el Cuadro 4 se resumen los datos epidemiológicos del MSPAS para los años 2004 a 2006 relacionados con las enfermedades transmitidas por los alimentos. Se puede apreciar el papel predominante que tienen las diarreas, sin señalar el agente (*Idem*).

Según el Cuadro 4 se aprecia que predominan las enfermedades del Código A 09.X Diarreas, sin especificar agente causal. Esto es seguido por A 06.9 Amebiasis no especificada y en tercer lugar A 08.4 Infección intestinal viral, sin otra especificación. Lamentablemente, estos datos reflejan la práctica común de basar la diagnosis en el cuadro clínico sin confirmación por exámenes de laboratorio. Es de notar que existen laboratorios públicos y privados capaces de realizar dichos exámenes; sin embargo son de difícil acceso al estar concentrados en la ciudad de Guatemala y los enfermos se encuentran en su mayoría en el interior de la república. A ello se suman factores económicos y desconocimiento (*Idem*).

Cuadro 3 - Resumen de los datos de notificación obligatoria de ETA para diarreas.

<b>Año</b>	<b>Casos</b>
2004	1,784,980
2005	1,778,050
2006	1,333,700
2007	1,155,590
2008	1,250,510
2009	1,768,120

Fuente: Sistema de Información del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala

Cuadro 4- Morbilidad informada: Sistema de Información del MSPAS

Códigos CIE X	Diagnóstico	2004	2005	2006	2007	Total
A 00.0	Cólera confirmado	0	0	0	0	0
A 00.8	Muertes por cólera	2	0	0	0	0
A 00.9	Cólera sospechosos	102	14	12	ND	
Totales A 00	Cólera	104	14	12	0	¿??
A 05.0	Intoxicación alimentaria estafilocócica	42	27	103	72	244
A 05.1	Botulismo	1	0	2	0	3
A 05.2	Intoxicación alimentaria ( <i>Clostridium perfringens</i> )	1	2	0	0	3
A 05.3	Intoxicación alimentaria ( <i>Vibrio parahaemolyticus</i> )	0	1	0	0	1
A 05.4	Intoxicación alimentaria ( <i>Bacillus cereus</i> )	2	3	3	8	16
A 05.8	Otras Intoxicaciones alimentarias debidas a bacterias especificadas	131	220	252	464	1 067
A 05.9	Intoxicación alimentaria bacteriana sin especificar bacteria	607	1 079	537	0	2 223
Totales A 05	Intoxicaciones alimentarias bacterianas	784	1 332	897	544	3 557
A 06.0	Disentería amebiana	8 608	10 837	10 545	6 511	36 501
A 06.1	Amebiasis Intestinal crónica	431	1 042	663	434	2 570
A 06.2	Colitis amebiana no disentérica	80	106	40	44	270
A 06.3	Ameboma Intestinal	0	4	0	0	4
A 06.4	Absceso amebiano del hígado	4	152	49	12	217
A 06.5	Absceso amebiano del pulmón y del hígado	0	2	4	0	6
A 06.6	Absceso amebiano del cerebro	13	11	31	20	75
A 06.7	Amebiasis cutánea	86	55	68	52	262
A 06.8	Infección amebiana en otras localizaciones	76	90	187	142	495
A 06.9	Amebiasis no especificada	138 650	171 372	158 425	127 728	596 175
Totales A 06.	Amebiasis	147 948	183 671	170 013	134 943	636 575
A 07.0	Balantidiasis	0	4	1	4	9
A 07.1	Giardiasis, lambliasis	13 703	16 679	12 218	9 801	52 401
A 07.2	Criptosporidiosis	0	38	3	31	72
A 07.3	Isosporias	2	0	3	0	5
A 07.8	Otras enfermedades Intestinales especificadas debidas a protozoarios	17	109	1	0	127
A 07.9	Enfermedad Intestinal debida a protozoarios, no especificada	192	276	213	89	770
Totales A 07.	Enfermedades Intestinales protozoarios	13 914	17 106	12 439	9 925	53 384
A 08.0	Enteritis debida a rotavirus	10	808	997	0	1 815
A 08.1	Gastroenteropatía aguda debida a Norwalk	0	9	1	34	44
A 08.2	Enteritis debida a adenovirus	0	0	0	3	3
A 08.3	Otras enteritis virales	29	326	499	521	1 375
A 08.4	Infección Intestinal viral sin otra especificación	3 294	5 895	6 801	8 407	24 397
A 08.5	Otras Infecciones Intestinales especificadas	354	683	584	1 384	3 005
A 08.6	Rotavirus sospechoso	0	0	1 126	1	1 127
A 08.X	Muertes por rotavirus	0	0	6	0	6
Totales A 08	Enteritis virales	3 687	7 721	10 014	10 350	31 772
A 09.1	Disentería	10 536	15 503	19 546	0	45 585
A 09.3	Muertes por enfermedades diarreicas agudas	0	0	0	0	0
A 09.9	Disentería	0	0	0	606	606
A 09.X	Diarreas	458 344	399 765	357 317	18	1 215 444
Totales A 09.	Diarreas y disentería	468 880	415 268	376 863	624	1 261 635

ND – no disponible

Fuente: Sistema de Información del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala

## B. Proceso de desarrollo de nuevos productos

El desarrollo de nuevos productos no es el único término para describir el proceso por el que un nuevo producto se diseña. Tushman y Nadier establecen que innovación es la creación de cualquier producto, servicio, o proceso que es nuevo para una unidad de negocio. Clark y Fujimoto consideran el proceso de desarrollo, como un conjunto de actividades de procesamiento de información que trasladan el conocimiento de las necesidades del consumidor y oportunidades tecnológicas en información con valor para la producción (Minguela, 2000).

1. **Etapas en el desarrollo de nuevos productos.** Se consideran cuatro etapas: generación del concepto, planificación del producto, ingeniería del producto, e ingeniería del proceso. Cooper establece un modelo de proceso para el desarrollo de nuevos productos industriales formado por siete etapas: idea (en la que se llevan a cabo la generación de ideas y la selección), valoración preliminar (tanto del mercado como técnica), concepto (identificación, desarrollo y análisis del concepto), desarrollo (desarrollo del producto y plan de marketing), análisis (de prototipos y del consumidor), prueba (producción piloto, prueba de mercado, análisis del negocio previo a la comercialización), y lanzamiento (inicio de la producción e implantación del plan de marketing) (Clark, 1991).

Las ideas iniciales de creación de nuevos productos o servicios pueden provenir bien de fuentes externas a la organización, como pueden ser clientes, proveedores, competidores o bien de fuentes internas tales como los propios trabajadores de la empresa. Las ideas también pueden clasificarse según surjan de la identificación de necesidades o bien de los resultados de investigación (Minguela, 2000).

Una vez que se han generado ideas para posibles productos, las mismas han de someterse a una serie de pruebas, de manera que se descarten aquellas ideas que sean incapaces de satisfacer unos criterios de viabilidad, aceptabilidad y riesgo. Lo que se pretende es eliminar ideas que no sean capaces de generar una ventaja competitiva y no se ajusten a las estructuras, objetivos y planes futuros de la empresa. Tras este proceso de selección, nos quedaremos con una idea, que se irá depurando y con el tiempo será más detallada y con la información suficiente para convertirse en un producto, servicio o proceso (*Idem*).

La siguiente fase viene constituida por el diseño preliminar en la que se llega a un consenso sobre la vida del bien o servicio, la función a realizar, la rapidez en su desempeño, materiales a emplear, tamaño, forma, impacto ambiental. Posteriormente este diseño se transforma en un prototipo (reflejando las características más importantes que el bien o servicio debe presentar en su estado final) para proceder a su análisis (determinar si el prototipo del producto funciona adecuadamente, examinar la fiabilidad/funcionamiento del prototipo bajo condiciones de la vida real, determinar si el producto satisface

las especificaciones, estándares de diseño, etc.). Para ello suelen llevarse a cabo pruebas de mercado con muestras del producto o servicio, vendiendo el producto sólo a una muestra de consumidores determinados, o vendiendo el producto sólo en un área geográfica específica, de manera que, una vez obtenidos los resultados, el diseño preliminar se aceptará, modificará o rechazará, pasando a la última fase que sen a el diseño definitivo en el que se inicia la producción (*Idem*).

Podemos distinguir diferentes grados o tipos de desarrollos de productos, que abarcarían desde simples modificaciones de productos a innovaciones radicales. Cuanto mayor sea el grado de innovación, es decir, cuanto más radical sea la innovación, mayor será el riesgo y la incertidumbre. Kleinschmidt y Cooper distinguen «productos de innovación alta» (productos nuevos para el mundo y nuevas líneas de producto para la empresa), «productos de innovación moderada» (nuevas líneas para la empresa, pero no para el mercado, y nuevos artículos en líneas de producto existentes para la empresa) y «productos de baja innovación» (modificaciones a productos existentes, rediseños de productos para conseguir reducciones de costes y reposicionamientos).

### III. JUSTIFICACIÓN

Según el Ministerio de Salud de Guatemala las diarreas son el segundo problema como causa de muerte entre lactantes y niños, igualmente está en la segunda posición entre las enfermedades infecciosas, por lo que el queso probiótico a base de yogurt podría ser una alternativa para evitar y tratar estas enfermedades de alta mortalidad en el país.

La formulación de un queso probiótico a base de yogurt, tiene como fin proveer un alimento con los nutrientes que aportan los productos lácteos (proteínas de alta calidad biológica, vitaminas A, D, riboflavina, cianocobalamina, tiamina, piridoxina, ácido fólico, calcio, magnesio y zinc) y con los beneficios que proveen las bacterias lácticas (probióticos) dirigido a una población de 7 meses de edad en adelante que desean obtener los beneficios terapéuticos y profilácticos de QPAY.

Entre las buenas propiedades de los probióticos encontramos: inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos, tanto en el producto como a nivel fisiológico. También son utilizados para tratar diarreas y restablecer la flora intestinal tras el uso de antibióticos, por lo que puede ser utilizado en diferentes patologías causadas por bacterias y virus.

Según estudios de Flores Marina y Col, independientemente del tipo de queso y de la forma de consumo, este está presente en la dieta de los guatemaltecos tanto del área rural, como del área urbana. Basándose en este estudio, la introducción de queso probiótico a base de yogurt podría ser bien aceptado por toda la población guatemalteca.

Se aconseja que la población general tome entre dos y tres raciones de lácteos al día, y la población con mayor desgaste entre tres y cuatro, debido al aporte de nutrientes que proporcionan y a sus efectos sobre el mantenimiento del equilibrio intestinal (Por ración de lácteos se considera de 200 a 250 mL de leche, un yogur, una leche fermentada de 125 mL o un queso fresco de 60 g).

Por lo anterior, se considera que el queso probiótico a base de yogurt tiene acción profiláctica, terapéutica y nutritiva, lo que permitirá a la población guatemalteca gozar de un mejor estado de salud y un producto con buena aceptación y fácil acceso.

## IV. OBJETIVOS

### A. Objetivo general

Formular un queso probiótico a base de yogurt que inhiba el crecimiento de bacterias patógenas, tenga buena aceptabilidad y un costo accesible.

### B. Objetivos específicos

- Formular un queso probiótico a base de yogurt con buena aceptabilidad.
- Comprobar por medio de pruebas microbiológicas la efectividad del producto, para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas.
- Analizar la composición nutricional del queso probiótico a base de yogurt.
- Evaluar los costos de producción del queso.

## V. HIPÓTESIS

El queso probiótico a base de yogurt (QPAY) disminuye el crecimiento de bacterias patógenas (*Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *E coli* enteropatógeno) que producen la diarrea.

QPAY es aceptable para ser consumido.

QPAY posee un costo accesible para una persona con salario mínimo.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Materiales y equipo

En el apéndice se incluyen los materiales y el equipo necesarios para:

- Elaboración del producto (Apéndice A)
- Grupo Focal (Apéndice B)
- Prueba Hedónica (Apéndice C)
- Prueba triangular (Apéndice D)
- Pruebas microbiológicas para efectividad del producto (Apéndice E)

### B. Métodos

1. Tipo de investigación. Formulación de un queso probiótico a base de yogurt, con características sensoriales similares al queso crema y función antimicrobiana para enterobacterias y/u otras bacterias patógenas intestinales por lo que se clasifica como un producto funcional.

2. Formulación de queso probiótico a base de yogurt. El queso probiótico a base de yogurt se elaboró a partir del cultivo iniciador CDA (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidus longum* y *Lactobacillus acidophilus*, *S. thermophilus*). Se utilizó leche entera, pasteurizada por el método UHT (*Ultra High Temperature*) y leche entera en polvo. Los 392g de leche entera en polvo se mezclaron con un litro de leche entera fluida y se agregó el cultivo CDA.

Se introdujo una bolsa de algodón en agua hirviendo por 3 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se echó el yogurt obtenido tras la incubación. La bolsa es cerrada jalando de los cordones y puesta sobre un recipiente de plástico, dentro del refrigerador por 8 horas. Ver metodología en apéndice A.

3. Análisis microbiológico sobre inocuidad. Se evaluó la inocuidad de QPAY, por medio de recuento de coliformes y *E. coli*. El análisis fue realizado por el personal del laboratorio de microbiología de la Universidad San Carlos de Guatemala.

El límite máximo permitido en el conteo de coliformes será de  $< 3\text{NMP/g}$  (según el reglamento técnico Centro Americano criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos), además QPAY no debe presentar ninguna colonia de *E.coli*.

4. **Análisis nutricional.** Se llevó a cabo un análisis proximal de QPAY, por el personal del laboratorio de Bromatología de la Universidad San Carlos de Guatemala, para determinar su valor nutricional, siguiendo los Métodos Oficiales de Análisis de la AOAC. Los análisis se realizarán en duplicado para cada muestra:

- Método oficial de la AOAC para determinación del porcentaje de humedad
- Método oficial de la AOAC para determinación del porcentaje de cenizas
- Método oficial de la AOAC para determinación del porcentaje de grasa
- Método oficial de la AOAC para determinación del porcentaje de proteína

Con base a estos resultados se obtuvo el porcentaje de carbohidratos por diferencia y las calorías según los gramos de macronutrientes.

5. **Evaluación sensorial.** Para el análisis sensorial se utilizó un grupo focal, dos pruebas hedónicas y una prueba triangular. Las metodologías a utilizar se encuentran en el apéndice B, C y D respectivamente.

a. **Evaluación dirigida al producto.** Se llevó a cabo tres grupos focales cada uno con 12 personas. Se inició la evaluación con un saludo y una breve introducción sobre QPAY. Se designó un modulador para realizar la serie de preguntas y 2 secretarios para tomar nota sobre las respuestas del grupo. Al terminar se agradeció por la información y se entregó una refacción.

Para la prueba triangular, se inició con una breve explicación del producto y se pidió a los panelistas que separaran de las tres muestras, la muestra diferente, además que describieran el producto y dieran opinión al respecto.

b. **Evaluación dirigida al consumidor.** La prueba hedónica. Se inició la evaluación con un saludo y agradecimiento por participar en el estudio y se dio una breve introducción sobre QPAY. Se entregaron las guías y se dieron las instrucciones para responder. Al terminar se agradeció por la información y se entregó un dulce.

6. **Pruebas microbiológicas sobre la efectividad del producto.** Se llevó a cabo la medición del diámetro en el área de inhibición, para conocer la actividad antimicrobiana de QPAY a lo largo del tiempo. Ver metodología en apéndice E. Se realizó un conteo de lactobacilos por el personal del laboratorio Labtest para conocer la UFC por gramo de QPAY y así establecer la porción recomendada.

## VII. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos a partir de la formulación, análisis sensorial, análisis microbiológico sobre efectividad del producto, análisis sobre inocuidad y análisis nutricional de QPAY. Los diferentes análisis se llevaron a cabo en la Universidad del Valle de Guatemala (Prueba triangular, grupo focal y análisis microbiológico sobre efectividad), Universidad de San Carlos de Guatemala (Análisis nutricional y microbiológico sobre inocuidad), Laboratorio Lab Test (Análisis microbiológico sobre efectividad), Colegio de médicos de Guatemala y Parroquia San Antonio María Claret (Prueba hedónica).

### A. Formulación y aceptabilidad

Con base a la metodología descrita en el apéndice A se llevó a cabo la elaboración de QPAY. Para su formulación, fue importante establecer las temperaturas en las cuales se debían manejar las bacterias probióticas, ya que estas comparadas con las utilizadas para elaborar un queso a base de yogurt no probiótico, necesitan tres veces más tiempo de incubación a una menor temperatura.

Durante el procedimiento se encontró que la temperatura ambiente tiene mucha influencia sobre el proceso de cuajado. Se tuvo que tener mucho cuidado al incubar, ya que si QPAY es incubado por más tiempo del necesario puede formarse un sobrenadante de ácido láctico en la superficie. Incubar QPAY sobre o por debajo de la temperatura debida afecta su consistencia final (no cuaja, puede hacer grumos y/o obtener sobrenadante de ácido láctico).

Para comprobar la inocuidad de QPAY durante el proceso de preparación, se llevó a cabo un recuento de Coliformes y *E coli*. La muestra fue analizada por el personal del departamento de microbiología en la facultad de Medicina veterinaria y zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Se obtuvo resultado negativo para ambos casos, esto nos indica que no hubo crecimiento de Coliformes ni *E coli* a partir de la muestra (Ver Apéndice F) y que el producto no indica contaminación durante el procedimiento de elaboración.

Cuadro 5 - Resultados del recuento de Coliformes y *E coli*

<b>Microorganismo</b>	<b>Recuento</b>
Coliformes	Negativo
<i>Escherichia coli</i>	Negativo

Fuente: Análisis microbiológico de QPAY, Departamento de Microbiología USAC Septiembre 2009

1. **Análisis sensorial.** QPAY fue formulado para ser un queso de uso terapéutico y profiláctico, que fuera untable y sin sodio agregado. Al caracterizar el producto y evaluarlo, se obtuvieron los siguientes resultados.

a. **Prueba triangular.** La prueba triangular se llevó a cabo principalmente para caracterizar el producto y además determinar si había una diferencia significativa entre QPAY y un queso con características sensoriales similares (requesón marca Taxisco). Un panel con entrenamiento básico compuesto por 34 panelistas evaluó las muestras. El 100% de los panelistas identificó la muestra diferente (QPAY), con lo que se concluyó que las muestras eran significativamente diferentes (Ver Cuadro 6).

El requesón utilizado para la prueba tenía varias características que lo hacían diferente a QPAY estas eran: grumoso, color blanco opaco y sabor menos ácido. Se consideró utilizar el requesón marca Taxisco para la prueba porque posee una textura suave y un sabor más ácido comparado con otros quesos populares similares en apariencia a QPAY. Tomando en cuenta que la apariencia difería mucho entre el requesón y QPAY se procedió a tapan los ojos de los panelistas, para que eligieran la muestra diferente en base al sabor y textura. Los resultados se vieron afectados ya que las características sensoriales de QPAY fueron realizadas al utilizar como medio de comparación el requesón marca Taxisco.

Como el objetivo de hacer la prueba triangular fue determinar qué características diferencian a QPAY de un queso popular similar, no es que se pensara que los panelistas no diferenciarían las muestras, sino que, como en esta prueba se pidió que dijeran o enumeraran las características que encontrarán diferentes, estos resultados ayudaron a evaluar el producto (Ver Cuadro 7, Cuadro 8, Cuadro 9).

Cuadro 6 - Respuestas de los panelistas en la prueba triangular

<b>Número de panelistas</b>	<b>Numero de panelistas que identificaron la muestra diferente</b>	<b>Diferencia</b>
34	34	Significativa

Fuente: Boletas de la prueba triangular resueltas, septiembre 2009

Las características distinguidas en cuanto a apariencia, se observan en el Cuadro 7, donde homogénea y brillante fueron las más referidas.

Las características distinguidas en cuanto a olor, se observan en el Cuadro 8, donde el 73% de los panelistas no identificaron un olor en especial.

Las características distinguidas en cuanto a sabor, se observan en el Cuadro 9, donde el 87% lo encontró ácido.

Cuadro 7 - Respuestas de los panelistas para caracterización de la apariencia de QPAY

<b>Característica</b>	<b>Respuestas (n)</b>	<b>Porcentaje</b>
Homogénea	18	26%
Brillante	18	26%
Agradable	13	19%
Untable	10	14%
Cremoso	9	13%
Ligeramente amarillo	1	2%
<b>Total general</b>	<b>69</b>	<b>100%</b>

Fuente: Boletas de la prueba triangular resueltas, septiembre 2009

Cuadro 8 - Respuestas de los panelistas para caracterización del olor de QPAY

<b>Característica</b>	<b>Respuestas (n)</b>	<b>Porcentaje</b>
Sin olor	24	73%
Olor a crema	2	6%
Poco agradable	2	6%
A Suero	2	6%
Fuerte	2	6%
Poco olor	1	3%
<b>Total general</b>	<b>33</b>	<b>100%</b>

Fuente: Boletas de la prueba triangular resueltas, septiembre 2009

Cuadro 9 - Respuestas de los panelistas para caracterización del sabor de QPAY

<b>Característica</b>	<b>Respuestas (n)</b>	<b>Porcentaje</b>
Ácido	32	87%
Poco salado	3	7%
Yogurt natural	2	6%
<b>Total general</b>	<b>37</b>	<b>100%</b>

Fuente: Boletas de la prueba triangular resueltas, septiembre 2009

b. Grupo focal. Por medio de un grupo focal se evaluó la QPAY y sus características sensoriales con el fin de saber si eran agradables o desagradables al panel con entrenamiento básico conformado por 34 estudiantes (5 hombres y 29 mujeres) entre las edades de 20 a 23 años que asisten al curso de análisis sensorial en la Universidad del Valle de Guatemala.

En el grupo focal, el comentario acerca de la apariencia fue variado: homogéneo, similar al queso crema, mayonesa y la mantequilla, sin embargo de los 34 panelistas el 97% opinó que la apariencia era agradable.

En relación a la consistencia, los panelistas opinaron que QPAY tiene una consistencia suave, cremosa y untable lo cual es agradable. De cinco personas que opinaron que la consistencia era similar a la mantequilla a tres les agradó esta característica. En general al 94% (n=32) de los panelistas, les pareció agradable.

Los comentarios acerca del color fueron: brillante, blanco y un panelista opinó amarillento. La característica brillante les pareció agradable al 94% (n=32) de los panelistas.

En relación al olor, se comentó que se podía sentir la acidez, otros sintieron un olor característico de los lácteos y un panelista no sintió ningún olor. Al 47% (n=16) el olor les pareció desagradable, sin embargo al 45% (n=15) no les agrada ni les desagradaba y al 8% (n=3) les agrada.

Con respecto al sabor se comentó que QPAY posee un sabor ácido y que al ser acompañado con pan no se percibe tanto la acidez. De los panelistas dos dijeron que se lo comerían solo, seis comentaron que lo comerían con galletas y con poca cantidad de queso, ocho comentaron que se lo comerían con pan, y tres no se lo comerían.

En general opinaron sobre el sabor, que la acidez de QPAY es tolerable, al 62% (n=21) de los panelistas el sabor les pareció desagradable, al 35% (n=12) les pareció agradable y al 3% (n=1) le fue indiferente.

Los panelistas describieron a QPAY como un queso, untable, suave, cremoso, uniforme, brillante, con apariencia a mantequilla, sabor ácido y olor fermentado.

Entre las recomendaciones para mejorar el producto se mencionó: agregar sal, especias o condimentos, también se sugirió que el queso como tal puede ser combinado con vegetales, y frituras, jaleas o mezclado en sopas.

La apariencia en general, consistencia y color fueron aceptables.

Cuadro 10 - Aceptabilidad de QPAY por el grupo focal

<b>Características evaluadas</b>	<b>Agrada (n)</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Desagrada (n)</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>No agrada ni desagrada (n)</b>	<b>Porcentaje</b>
Apariencia en general	33	97%	1	3%	0	0%
Consistencia	32	94%	2	6%	0	0%
Color	32	94%	1	3%	1	3%
Olor	3	8%	16	47%	15	45%
Sabor	12	35%	21	62%	1	3%

Fuente: Apuntes por secretarías del grupo focal, septiembre 2009

c. Prueba Hedónica. Para analizar los resultados de la prueba hedónica (producto único), se hizo un recuento de los datos obtenidos en las boletas. Para determinar si las características sensoriales de QPAY eran aceptables, se esperaba que el promedio de cada característica fuera  $\geq 3.5$ .

Se observó que todas las características sensoriales de QPAY estuvieron sobre el promedio establecido para considerarse aceptable. Las características sensoriales mejor calificadas fueron el color y la textura, seguida del sabor y por último el olor (Ver Cuadro 11 y Cuadro 12).

La prueba hedónica de producto único se realizó en las instalaciones del Colegio de Médicos y Cirujanos de Guatemala, Colonia El Maestro zona 15 de la ciudad capital, en el salón Itzamná el día martes 13 de octubre del 2009 a las 3:30 pm. Participaron 55 panelistas (20 Hombres y 35 Mujeres) voluntarios que asistieron a una actividad de educación médica, el rango de edades fue de 25 a 62 años. Las ocupaciones de los panelistas variaban entre médicos, licenciados en mercadotecnia y secretarías.

Se inició la actividad con una explicación acerca del trabajo de investigación que se está llevando a cabo, es decir la formulación de QPAY y cómo este puede inhibir el crecimiento de bacterias que causan diarrea. Se explicó la importancia de la opinión de cada uno de los panelistas en relación a las características sensoriales que se indicaban en la boleta. Se resolvieron dudas en relación al trabajo de investigación y al llenado de la boleta. Los panelistas fueron muy colaboradores y anuentes a participar. La boleta fue llenada por cada panelista inmediatamente después de la degustación de QPAY. Los resultados obtenidos se muestran en el Apéndice F.

Se encontró que el color y la textura, obtuvieron los puntajes más altos, seguidos por el sabor y por último el olor. A pesar de haber sugerido que escribieran los comentarios pertinentes a QPAY en la boleta (por lo importancia de estos en el desarrollo de resultados) solo hubo 28 boletas con comentarios.

De los 28 comentarios, 8 boletas lo calificaron de buen producto en textura y en sabor, ocho lo calificaron de rico, 4 panelistas opinaron que se debería comercializar, 3 panelistas comentaron que les pareció que tenía un sabor ácido particular y agradable, 2 panelistas opinaron que es un producto excelente y 2 más que podría utilizarse para aderezar ensaladas, un panelista le pareció cremoso. Como se puede observar los comentarios fueron buenos. En algunas ocasiones expresaron opciones de uso, como que debería utilizarse para comer con ensaladas por su textura y acidez (Ver Cuadro 13). 27 panelista no hicieron comentarios.

Tanto en esta prueba, como en el grupo focal, las características calificadas más bajo fueron el olor y el sabor, con la diferencia que en la prueba de aceptabilidad el olor y el sabor son características agradables (4.24 y 4.49 sobre 5 fueron las calificaciones promedio por 55 panelistas para olor y sabor respectivamente) y en el grupo focal a 16 de 35 panelistas les pareció desagradable el olor y a 21 el sabor.

Cuadro 11 - Número de panelistas que calificaron cada característica de QPAY

Ponderación	Calificación	Características sensoriales			
		Color	Olor	Textura	Sabor
5	Gusta mucho	32	24	31	32
4	Gusta	20	20	22	18
3	No gusta ni disgusta	3	11	2	5
2	Disgusta	0	0	0	0
1	Disgusta mucho	0	0	0	0
Total		55	55	55	55

Fuente: Boletas resueltas de la prueba hedónica, septiembre 2009

Cuadro 12 – Puntaje obtenido para las diferentes características sensoriales

Calificación	Características sensoriales			
	Color	Olor	Textura	Sabor
Gusta mucho	160	120	155	160
Gusta	80	80	88	72
No gusta ni disgusta	9	33	6	15
Disgusta	0	0	0	0
Disgusta mucho	0	0	0	0
<b>Total</b>	249	233	249	247
<b>Promedio</b>	4.53	4.24	4.53	4.49

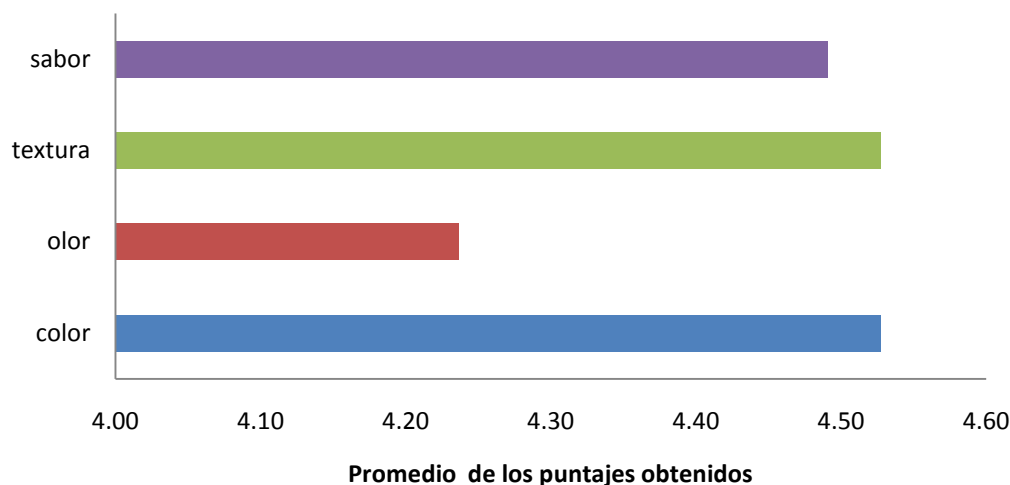
Fuente: Boletas resueltas de la prueba hedónica, octubre 2009

Cuadro 13 - Frecuencia de comentarios realizados por los panelistas en la prueba hedónica

Comentario	Panelistas que comentaron (n)	Porcentaje
Buen producto en textura y en sabor	8	29%
Rico	8	29%
Se debería comercializar	4	14%
Posee un sabor ácido particular y agradable	3	11%
Excelente	2	7%
Me gusta para comer con ensaladas	2	7%
Agrada cremoso	1	3%
<b>Total</b>	28	100%

Fuente: Boletas resueltas de la prueba hedónica, octubre 2009

Gráfico 1 - Resultados obtenidos para cada característica sensorial



Fuente: Resultados de boletas resueltas de la prueba hedónica, octubre 2009

Según a las sugerencias que se dieron en las pruebas anteriores se hicieron tres modificaciones a QPAY original, de modo que las características menos agradables fueran disimuladas con los siguientes ingredientes adicionales: salsa de guayaba, ajonjolí y loroco.

Se realizó nuevamente una prueba hedónica, pero esta vez utilizando las tres variaciones de QPAY, QPAY natural y un queso a base de yogurt natural comercial. La prueba se realizó en las instalaciones del de la parroquia San Antonio María Claret. Participaron 25 (13 Hombres y 12 Mujeres) panelistas voluntarios. El rango de edades fue de 23 a 73 años. La escolaridad de los panelistas variaban entre profesionales, universitarios y escolaridad media. Las personas calificaron los quesos a base de yogurt utilizando una escala de nueve puntos (Ver apéndice C).

Al tabular los resultados (Ver Cuadro 14), se encontró que no hay diferencias significativas entre los puntajes hedónicos promedio para las 5 muestras de queso a base de yogurt, como lo muestra el análisis de varianza de un factor ( $p \leq 0.05$ ).

Aunque no hubo diferencias significativas, si se pudo observar que QPAY con loroco fue el mejor calificado sobre 9 puntos, seguido del yogurt comercial, QPAY salsa de guayaba, QPAY natural y por último QPAY ajonjolí (Ver Cuadro 15 y Cuadro 16).

En cuanto a los comentarios que fueron escritos en las boletas (Ver Cuadro 17), la mayoría no escribió un comentario aunque se les enfatizó la importancia de ello para el estudio. El resto de los comentarios referían la preferencia por algún tipo de QPAY en especial, la percepción de lo ácido en QPAY natural y lo simple del comercial, además de que era una buena idea y un producto sano.

Cuadro 14 - Resultados tabulados por boleta para la prueba hedónica

Panelistas	QPAY Natural	QPAY Salsa de Guayaba	QPAY ajonjolí	APAY locoro	Queso de yogurt comercial
P1	7	7	6	8	8
P2	7	8	6	7	7
P3	8	8	7	9	7
P4	9	8	7	9	8
P5	8	9	7	8	8
P6	8	8	8	8	8
P7	7	8	8	7	6
P8	8	8	8	9	8
P9	9	9	7	9	7
P10	8	6	7	8	6
P11	7	8	8	7	7
P12	8	7	6	8	8
P13	9	8	7	7	8
P14	7	8	5	5	7
P15	5	7	6	4	8
P16	6	7	7	5	8
P17	3	6	7	7	8
P18	6	4	7	8	8
P19	4	3	7	6	8
P20	6	7	5	7	7
P21	5	6	6	7	6
P22	7	6	8	8	7
P23	6	6	6	5	2
P24	8	6	6	7	8
P25	7	8	7	8	7

Puntaje más elevado 9 (“Me gusta muchísimo”); puntaje más bajo= 1 (“Me disgusta muchísimo”)

Cuadro 15 - Estadística descriptiva

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
QPAY locoro	25	181	7.24	1.86
Queso de yogurt comercial	25	180	7.20	1.67
QPAY Salsa de Guayaba	25	176	7.04	2.04
QPAY Natural	25	173	6.92	2.33
QPAY ajonjolí	25	169	6.76	0.77

Cuadro 16 - Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3.95	4	0.99	0.57	0.68	2.45
Dentro de los grupos	207.92	120	1.73			
<b>Total</b>	211.87	124				

Cuadro 17 - Cometarios de prueba hedónica 2

Cometario	Número de comentarios
Sin cometario	12
Buena idea	2
El preferido es loroco	4
QPAY natural es ácido	2
Sano	2
Preferido QPAY salsa de guayaba	2
No agrada QPAY ajonjolí	1
Comercial es simple	2
Prefefido QPAY natural	1

## B. Pruebas microbiológicas para efectividad del producto

Se evaluó la efectividad del producto por medio de la técnica de halos de inhibición, los cuales fueron medidos cada 48 horas desde que QPAY fue terminado hasta que su efecto fuera equivalente al del grupo control (Queso a base de yogurt no probiótico). Entre más grande sea el halo de inhibición mayor es la capacidad de QPAY para inhibir el crecimiento de la bacteria patógena.

En el Cuadro 18 se presentan los halos de inhibición que se obtuvieron a través del tiempo. Se observó que todas las bacterias evaluadas son inhibidas por QPAY y a las 48 horas alcanzan la máxima capacidad de inhibición (Ver Gráfico 2) a partir de este punto, la actividad de las bacterias probióticas va disminuyendo. De las bacterias patógenas analizadas, el mayor halo de inhibición se presentó en *Staphylococcus aureus* a las 48 horas, pero la mejor capacidad de inhibición a lo largo del tiempo se presentó en *Shigella flexneri*. *E coli* enteropatógena fue la menos inhibida por QPAY durante todo el tiempo. A las 144 horas todas las bacterias alcanzaron un halo de inhibición igual al del grupo control. El efecto de QPAY permanece durante 48 horas mientras que el efecto del grupo control permanece durante 12 horas.

En el Cuadro 19 se presenta el recuento de lactobacilos presentes en las variedades de QPAY. Se necesita una cantidad de  $10^8$  UFC/gr de bacterias vivas probióticas en el intestino, para obtener beneficios terapéuticos (Vallejo, 2002). Esto quiere decir que si QPAY contiene  $10^7$  UFC/gr, se debe consumir como mínimo 10g de QPAY al día para poder obtener los beneficios terapéuticos y profilácticos (ver apéndice H).

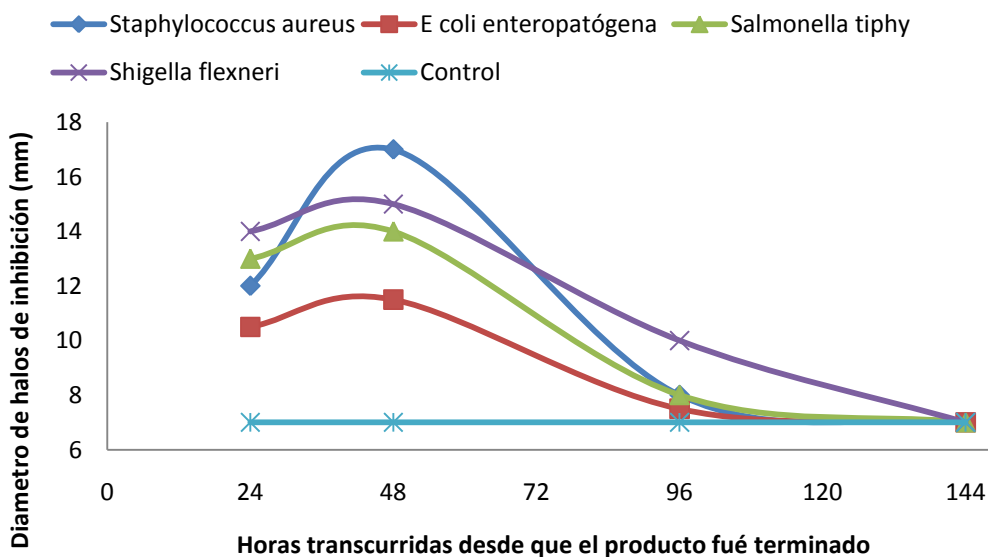
Según Vallejo y Toro, las propiedades terapéuticas de los probióticos dependen de la capacidad de las bacterias para sobrevivir a la acidez gástrica y a la acción de las enzimas y de las sales biliares.

Ya que la efectividad depende de varios factores, se establece que una porción de QPAY consiste en 1 onza la cual está acorde con el estándar de porción para quesos. Con una porción se consume tres veces más el mínimo requerido (10g). Con ello se estima que se obtienen los efectos terapéuticos, a pesar que mueran 2/3 de las bacterias probióticas ingeridas en la porción de QPAY a lo largo del tracto gastrointestinal.

Cuadro 18 - Diámetros de halos de inhibición a lo largo del tiempo

Muestra	24hrs	48hrs	96hrs	144hrs
Staphylococcus aureus	13 mm	17 mm	8 mm	7 mm
<i>E coli</i> enteropatógena	10.5 mm	11.5 mm	7.5 mm	7 mm
Salmonella tiphy	13 mm	14 mm	8 mm	7 mm
Shigella flexneri	14 mm	15 mm	10 mm	7 mm
Control	7 mm	7 mm	7 mm	7 mm

Gráfico 2 - Diámetros de halos de inhibición a lo largo del tiempo



Fuente: Resultados sobre pruebas microbiológicas para efectividad del producto

Cuadro 19 - Recuento de bacterias productoras de ácido láctico para QPAY

Variedades de QPAY	Recuento (UFC/g)
QPAY natural	8*10 <sup>7</sup>
QPAY ajonjolí	1.1*10 <sup>7</sup>
QPAY loroco	1.4*10 <sup>7</sup>
QPAY salsa de guayaba	9.4*10 <sup>7</sup>

## C. Análisis composición nutricional

Se evaluó la composición nutricional del QPAY (original) en el laboratorio de bromatología de la Universidad de San Carlos de Guatemala. El análisis tardó aproximadamente 22 días, ya que se hicieron varias repeticiones del análisis porque en el laboratorio tuvieron problemas internos al procesar la muestra.

En el Cuadro 20 se presentan los resultados obtenidos del análisis nutricional de QPAY (Ver Apéndice I). Si se compara con 100g de leche fluida QPAY posee una cantidad de macronutrientes mayor, esto se esperaba ya que para la preparación de QPAY se utilizó leche concentrada. En cuanto a la distribución de los macronutrientes, en el Cuadro 21 se puede observar que QPAY contiene un mayor porcentaje de proteína que la leche entera pero un menor porcentaje de carbohidratos. La grasa tanto en QPAY como en la leche entera es muy similar.

Cuadro 20 - Resultado del análisis de composición nutricional

Análisis	Resultados en 100g de QPAY	100g de leche de vaca íntegra fluida
Porcentaje de humedad	71.52%	88.32%
Cenizas	1.55g	0.69g
Kilocalorías	142.1 Kcal	60 Kcal
Grasa	7.58g	3.25g
Proteína	10.73g	3.22g
Carbohidratos	7.74g	4.52g

Fuente: Resultados de QPAY: Análisis bromatológico de QPAY, Laboratorio de bromatología USA Septiembre 2009. Leche de vaca íntegra: Tabla de composición de alimentos INCAP 2000

Cuadro 21 - Distribución de macronutrientes en QPAY y leche entera

Macronutrientes	QPAY	leche de vaca íntegra fluida
Proteína	30.2%	21.3%
Carbohidratos	21.8%	30.1%
Grasa	48%	48.6%

## D. Costos

Se puede observar en los cuadros siguientes (Ver Cuadro 22 al Cuadro 26), los costos de producción de los diferentes tipos de QPAY que se formularon tras obtener los resultados de la prueba triangular y el grupo focal. El QPAY más económico y rentable después de QPAY natural, es QPAY salsa de guayaba, seguido de QPAY loroco y por último QPAY ajonjolí. Se considera que los costos de producción pueden disminuir notablemente adquiriendo los ingredientes por mayoreo, ya que estos costos están basados en ingredientes comprados al por menor.

Cuadro 22 - Costo de materia prima para QPAY natural

Nombre de la receta			Queso probiótico a base de yogurt			
Tamaño de la porción servida			1 onzas			
Número total de porciones			66 porciones			
Ingrediente	Cantidad	Unidad	Costo por unidad de compra		Rendimiento	Costo Total
			Costo	Unidad		
Leche en polvo	392	gramos	Q63.48	Kg	39%	Q39.20
Leche fluida UHT	2	litros	Q9.00	Litro	100%	Q18.00
Cultivo CDA	15	gramos	Q0.10	gramo	100%	Q1.00
Costo total de la preparación		Q58.20	Costo por porción		Q0.88	

Cuadro 23 - Costo de materia prima para QPAY salsa de Guayaba

Nombre de la receta			Queso probiótico a base de yogurt			
Tamaño de la porción servida			1 onzas			
Número total de porciones			66 porciones			
Ingrediente	Cantidad	Unidad	Costo por unidad de compra		Rendimiento	Costo Total
			Costo	Unidad		
Leche en polvo	392	gramos	Q63.48	Kg	39%	Q39.20
Leche fluida UHT	2	litros	Q9.00	Litro	100%	Q18.00
Cultivo CDA	15	gramos	Q0.10	gramo	100%	Q1.00
Salsa de Guayaba	8	cucharadas	Q10.00	½ Litro	25%	Q2.50
Costo total de la preparación		Q60.70	Costo por porción		Q0.91	

Cuadro 24 - Costo de materia prima para QPAY ajonjolí

Nombre de la receta			Queso probiótico a base de yogurt			
Tamaño de la porción servida			1 onzas			
Número total de porciones			66 porciones			
Ingrediente	Cantidad	Unidad	Costo por unidad de compra		Rendimiento	Costo Total
			Costo	Unidad		
Leche en polvo	392	gramos	Q63.48	Kg	39%	Q39.20
Leche fluida UHT	2	litros	Q9.00	Litro	100%	Q18.00
Cultivo CDA	15	gramos	Q0.10	gramo	100%	Q1.00
Ajonjolí	144	gramos	Q0.20	gramo	100%	Q28.8
Costo total de la preparación			Q87.00		Costo por porción	Q1.32

Cuadro 25 - Costo de materia prima par QPAY loroco

Nombre de la receta			Queso probiótico a base de yogurt			
Tamaño de la porción servida			1 onzas			
Número total de porciones			66 porciones			
Ingrediente	Cantidad	Unidad	Costo por unidad de compra		Rendimiento	Costo Total
			Costo	Unidad		
Leche en polvo	392	gramos	Q63.48	Kg	39%	Q39.20
Leche fluida UHT	2	Litros	Q9.00	Litro	100%	Q18.00
Cultivo CDA	15	gramos	Q0.10	gramo	100%	Q1.00
Loroco	1	Libra	Q26.00	Libra	100%	Q26.00
Costo total de la preparación			Q 84.20		Costo por porción	Q1.28

Cuadro 26 - Costos de producción

	QPAY natural	QPAY ajonjolí	QPAY loroco	QPAY salsa de guayaba
<b>Electricidad</b>	Q0.18	Q0.18	Q0.18	Q0.18
<b>Mano de obra</b>	Q2.30	Q2.30	Q2.30	Q2.30
<b>Empaque</b>	Q0.20	Q0.20	Q0.20	Q0.20
<b>Costo de materia prima</b>	Q58.20	Q87.00	Q84.20	Q60.70
<b>Costo total (1896 g)</b>	Q60.88	Q89.68	Q86.88	Q63.38
<b>Costo por unidad (300g)</b>	Q9.63	Q14.19	Q13.75	Q10.03
<b>Costo por unidad con utilidad del 40%</b>	Q13.49	Q19.87	Q19.25	Q14.04
<b>Promedio de los costos por unidad</b>	Q11.90			
<b>Promedio de los costos por unidad con utilidad del 40%</b>	Q16.66			

## VIII. DISCUSIÓN

En este trabajo de tesis, se formuló un queso probiótico a base de yogurt para el control de bacterias que causan diarrea. Como bacterias probióticas se utilizó una combinación de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidus longum*, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus* con el fin de poder demostrar por medio de la técnica de halos de inhibición, la capacidad que tienen estas bacterias probióticas para inhibir bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*, *E coli* enteropatógena, *Salmonella tiphy* y *Shigella flexneri*, que suelen ser causantes de diarrea.

Se llevaron a cabo las diferentes pruebas sensoriales anteriormente mencionadas, con el fin de que QPAY no solo tenga propiedades terapéuticas y profilácticas sino que también sea aceptable por la población que quiere obtener sus beneficios. El grupo focal, prueba triangular y la prueba hedónica de producto único fueron fundamentales para poder hacer las modificaciones pertinentes en la formulación de QPAY y así aumentar su aceptabilidad. Al realizar la prueba hedónica de 9 puntos fue importante no solo comparar QPAY original (natural) con sus modificaciones (QPAY con loroco, con salsa de guayaba y ajonjolí), sino también con un producto similar (queso a base de yogurt no probiótico) que está en el mercado.

Sin duda los cambios realizados a QPAY al agregar ingredientes naturales que le dan un sabor diferente, fue esencial para aumentar la aceptabilidad, además de ofrecer otras opciones al consumidor. Incluso QPAY loroco superó la aceptabilidad sobre el queso a base de yogurt comercial, lo que implica que podrían competir en el mercado.

Se encontró que QPAY es aceptable, pero debido a la acidez que presenta, es recomendable combinarlo en lugar de comerlo solo. Preferiblemente puede ser combinado con ensaladas, vegetales, pan, aderezos o mezclado en sopas.

En cuanto a la efectividad, se comprobó que QPAY a diferencia de quesos similares posee mayor efectividad para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas causantes de diarrea. Este efecto no es debido únicamente a la acidez del producto, sino también a la acción de las bacterias probióticas y sus bacteriocinas. Por lo tanto los datos sugieren que QPAY podría ser utilizado para inhibir las bacterias patógenas anteriormente mencionadas cuando se quisiera tratar una diarrea, sobre todo cuando el uso de antibióticos está contraindicado.

Ya que el sistema inmunológico y gastrointestinal varía de persona en persona la frecuencia de consumo y el efecto terapéutico, tendrá un resultado diferente en cada individuo. La dosis recomendada en esta tesis se basó en análisis *in vitro*, por lo que se sugiere realizar futuros estudios para comprobar la dosis *in vivo*

El análisis nutricional mostró que QPAY es un alimento con mayor porcentaje de proteína (30.2%) que la leche de vaca fluida íntegra (21.3%), lo que lo convierte en tan buen alimento como la leche de vaca y propicio para el uso en la población guatemalteca donde la desnutrición proteico energética es un problema que se ha tratado de combatir por años. Debido a la fermentación de lactosa hacia ácido láctico en el proceso de elaboración del QPAY, muchas personas intolerantes a la lactosa pueden consumirlo sin verse afectadas.

En relación al precio de venta de QPAY y sus variedades, se determinó que el costo promedio de fabricación es de Q11.90, lo que permite fijar una utilidad de 40% y aun así mantener la ventaja competitiva (ya que los productos probióticos suelen ser de 25-50% más caros que los no probióticos) comparado con el producto comercial a base de yogurt no probiótico, es decir el precio de venta al público de QPAY puede ser de Q16.66 por 300g comparado con la marca comercial no probiótico de Q15.80 por 300g.

Es de notar que QPAY se elaboró para fines de este estudio de investigación con productos comprados al por menor en supermercados. Al adquirir la materia prima en grandes cantidades los costos de producción serían menores, por lo que el precio de venta sería más bajo con lo que se podría llegar a un sector más amplio de la población.

Tomando en cuenta que es un producto además profiláctico y terapéutico, los beneficios económicos son mayores ya que al disminuir la morbimortalidad en poblaciones en riesgo, contribuyen a bajar el ausentismo escolar y laboral. Además, se evitan los costos de antibioterapia (aproximadamente Q600.00 el tratamiento), y los costos por los supuestos efectos secundarios que tienen todos los medicamentos. A nivel nacional los probióticos pueden mejorar los niveles de atención primaria, por lo tanto los costos en salud.

Para calcular si QPAY es accesible para una persona con salario mínimo, el costo de QPAY no debe pasar el 33% del salario mínimo, (porcentaje que utilizan los bancos para conocer si una persona tiene la capacidad para pagar un préstamo). La compra de QPAY para un grupo familiar de 5 personas, por un mes completo, es el 22.3% del salario mínimo. Se debe tomar en cuenta que para disminuir los gastos del consumo de QPAY se puede utilizar solo en los miembros de la familia que sean más propensos o que sufran de diarreas.

## IX. CONCLUSIONES

- El queso probiótico a base de yogurt y sus modificaciones (ajonjolí, loroco y salsa de guayaba) son aceptables para el consumidor.
- La aceptación entre las variedades de QPAY y un queso a base de yogurt comercial no mostró diferencia significativa con un nivel de significancia de 0.05.
- QPAY tiene capacidad para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *E coli enteropatogena*, *Salmonella typhy* y *Shigella flexneri*, presentando en *Staphylococcus aureus* y *Shigella flexneri* la mayor capacidad inhibitoria.
- QPAY contiene 8.90% más proteína y 8.30% menos carbohidratos que la leche de vaca entera fluida.
- El precio promedio al público de QPAY y sus variedades es de Q16.66 lo que es accesible para una persona con salario mínimo.
- Todas las hipótesis planteadas son aceptadas.

## X. RECOMENDACIONES

- En relación a las características sensoriales del sabor ácido de QPAY, encontrar mecanismos que disminuyan la acidez sin modificar los beneficios de inhibición de bacterias patógenas.
- Difundir las bondades del consumo de productos probióticos en la población general.
- Debido a que los costos de producción son bajos, incentivar el consumo en poblaciones vulnerables.
- Presentarlo al ministerio de educación como una buena alternativa de refacción escolar.
- Realizar estudios *in vivo* para corroborar la efectividad.

## XI. BIBLIOGRAFÍA

- Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos*. 2008. Centro América. 34 págs.
- Arribas B, *et al.* 2008. «Aplicaciones terapéuticas de los probióticos». *Ars Pharm.* 49(1):5-30.
- Ayala, Santiago, *et al.* 2006. «Shock séptico por *Shigella flexneri*». *Arch. Argent. Pediatr.* 104(4): 351-353
- Barrenetxe, J, *et al.* 2006. « Modulación de la fisiología gastrointestinal mediante cepas probióticas de *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium bifidum* ». *An. Sist. Sanit. Navar.* 29(3): 337-347.
- Bourlioux, P, *et al.* 2003. «The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium “The Intelligent Intestine”». *Clin Nutr held in Paris*, 78(4): 675-683.
- Boyle RJ, RM, Robins y ML, Tang. 2006. «Probiotic use in clinical practice: what are the risks?» *Am J Clin Nutr* 83(6):1256-1264.
- Boylston, T.D, *et al.* 2004. «Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards». *Int. Dairy J.* (14):375-387.
- Clark, K.B y T. Fujimoto.1991. *Product Development Performance: Strategy, Organization and Management in the World Auto Industry* Harvard Business School Press.
- Cobo J. M., J. A. Mateos y A. Muñoz Conejo. 2006. «Efecto de *Lactobacillus casei* sobre la incidencia de procesos infecciosos en niños/as» *Nutr Hosp.* 21(4):547-551.

Collado, MC, *et al.* 2005. «Antimicrobial peptides are among the antagonistic metabolites produced by *Bifidobacterium* against *Helicobacter pylori*». *Int J Antimicrob Agents*. 25(5): 385-391

Collado, MC; M. Hernández y Y. Sanz. 2005. «Production of bacteriocinlike inhibitory compounds by potentially probiotic bifidobacteria». *J Food Prot*. 68(5): 1.034-1.040.

*Competencia por los sitios de adhesión al intestino*. Centro de referencia para *Lactobacillus* (Cerela). Argentina. Fecha de consulta: 15 agosto 2009. [http://www.cerela.org.ar/ciencia/p\\_competencia.htm](http://www.cerela.org.ar/ciencia/p_competencia.htm)

De las Cagigas, Ada y J. Blanco. 2002. «Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa». *Revista Cubana Aliment Nutr*. 16(1):63-68.

Fernández, Fernanda. 2004. «Queso artesanal probiótico: un ejemplo de queso funcional». *CTC Alimentación*. (22):31-36.

Floch, MH y J. Hong-Curtiss.2001 «Probiotics and functional foods in gastrointestinal disorders». *Curr Gastroenterol Reports*. (3):343-350.

Fueyo, Jose Maria. 2005. «Frecuencia y tipos de toxinas superantígenos en *Staphylococcus aureus* de diferentes orígenes: relaciones con tipos genéticos». Tesis Universidad de Oviedo. 127 págs.

Gómez, Gladys. 2004. «Los probióticos: una alternativa en el tratamiento de enfermedades». Fecha de consulta 27 de junio 2009. <http://www.amatusalud.es/articulo/prebioticos-y-probioticos-alimentos-funcionales>

Guandalini, S. 2006. «Probiotics for children: use in diarrhea». *J Clin Gastroenterol*. (40): 244-248.

Guatemala. 2008. Centro Nacional de epidemiología. *Memoria anual de vigilancia epidemiológica 2007*. Guatemala. Ministerio de salud y asistencia social. 546 págs.

Hernández, Mildrey. 2005. «*Staphylococcus aureus*, una causa frecuente de infección nosocomial». *Rev Med Electron*. 27(5). Fecha de consulta: 29 de junio 2009. <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202005/vol5%202005/tema08.htm>

Herrera, Marco, *et al.*1996. «Septicemia por *Shigella flexneri*». *Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica)*. 31(1-2):17-19.

Hilton, E, *et al.* 1977 «Efficacy of *Lactobacillus GG* as a diarrhea preventive in travelers». *J Travel Med*. (4):41-43.

Hoerr, R. A. y E.F. Bostwick. 2000. «Bioactive protein and probiotic bacteria: modulation of nutritional health». *Nutrition*. (16):711-713.

Hooper, LV y JI. Gordon. 2001. «Commensal host-bacterial relationships in the gut». *Science*. (292):1115-1118.

<http://www.contactopyme.gob.mx/guiasempresariales/guias.asp?s=14&guia=79&giro=6&ins=249>

Jakobsen, C.N, *et al.* 1999. «Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro technique and evaluation of the colonization ability of five selected strains in Humans». *Appl. Environ. Microbiol.* (65):4949-4956.

Kaila M, *et al.* 1992. «Enhancement of the circulating antibody secreting cell response on human diarrhea by a human lactobacillus strain». *Pediat Res* 32(2):141-144.

Klaenhammer T. 2000. «Probiotic bacteria: today and tomorrow». *J Nutr*. 130: 415S-416S.

Kooper, Gisella, *et al.* 2009. *Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua*. Roma, Informe técnico sobre ingeniería agrícola y alimentaria. 187 págs.

Manzanares W, Alonso y M, Biestro A. 2006. «Probióticos, Prebióticos y Simbióticos en pacientes críticos». *Rev Bras Nutr Clin*. 21(2):155-62.

Marteau, PR, *et al.* 2001. «Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics». *Am J Clin* (73): 430S-436S.

Matsuzaki, T. 1998. «Immunomodulation by treatment with *Lactobacillus casei* strain Shirota». *Int. J.Food Microbiol.* (41):133-140.

Minguela, Beatriz. A. Rodriguez y D. Arias. 2000. «Desarrollo de nuevos productos: Consideraciones sobre la integración funcional». *Cuadernos de estudios empresariales*. (10): 165-184.

Morona, *et al.* 1994. «Construction of K88 and expressing clones of *Salmonella typhimurium* g30: Immunogenicity following oral administration to pigs». *Vaccine*. 12(6):513-517.

Mowat, A. 2003. «Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens». *Nat Rev Immunol*. (3):31-41.

Norma general del CODEX para el queso. CODEX Alimentario, Codex Standard 283-1978. Fecha de consulta: 22 de junio 2009. [www.codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net)

Norma general del CODEX para regímenes especiales pobres en sodio. CODEX Alimentario, Codex Standard 53-1981. Fecha de consulta: 22 de junio 2009. [www.codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net)

Ogawa, T, *et al.* 2006. «Natural killer cell activities of symbiotic *Lactobacillus casei* ssp. *casei* in conjunction with dextran». *Clin Exp Immunol.* (143):103-109.

Olveira, G. y I. González. 2007. «Probióticos y prebióticos en la práctica clínica». *Nutr Hosp.* 22(2):26-34

Perdigon, G, *et al.* 1990. «The oral administration of lactic bacteria increases the mucosal intestinal immunity response to enteropathogens». *J.Food Prot.* (53):404-410.

Pérez Ravo, *et al.* 2002. «Presentación de un caso atípico de fiebre tifoidea». *Rev Cub Med Milene.* 31(1):54-57.

Pommerville, J. 2004. *Fundamentals of microbiology.* 7a ed. Estados Unidos, Jones & Bartlett Publishers. 1120 págs.

Rinne, M, *et al.* 2005. «Effect of probiotics and breastfeeding on the *bifidobacterium* and *lactobacillus* enterococcus microbiota and humoral immune responses». *J Pediatr.* (147):186-191.

Saavedra, J. 2000. «Probiotics and infectious diarrhea». *Am J Gastroenterol.* 95(1): S16-S18.

*Salmonella preguntas y respuestas.* Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Estados Unidos. Fecha de consulta: 29 de junio 2009.  
[http://www.fsis.usda.gov/en\\_espanol/Salmonella Preguntas y Respuestas/index.asp](http://www.fsis.usda.gov/en_espanol/Salmonella_Preguntas_y_Respuestas/index.asp)

Salzman, NH, *et al.* 2003. «Enteric *Salmonella* infection inhibits Paneth cell antimicrobial peptide expression». *Infect Immun.* (71): 1.109-1.115.

Sánchez, Cecilia, M. García y R. Prays.1994. «Mejoramiento del rendimiento y de las características organolépticas del queso blanco suave y crema elaborado con leche de cabra». *Zootécnia tropical.*12(1):115-131.

Sanz, Y, M.C. Collado y J. Dalmau. 2003. «Probióticos: Criterios de calidad y orientaciones para su consumo». *Acta Pediatr Esp.* (61):476-482.

Sanz, Y, M.C Collado y J Dalmau. 2006. «Contribución de la microbiota intestinal y del genero *Bifidobacterium* a los mecanismos de defensa del huésped frente a patógenos gastrointestinales». *Acta pediátrica Esp.* (64): 74-78.

Solis, Pereyra, N. Aattouri y D. Lemonnier. 1997. «Role of food in the stimulation of cytokine production». *Am J Clin Nutr.* (66):521S-525S.

Taranto, María, M. Marta y G. Font. 2005. «Alimentos funcionales probióticos». *Revista Química Viva.*(4):26-34.

Torres R. 1999. *Flora intestinal, probióticos y salud*. Fecha de consulta: 15 de agosto 2009. [www.respyn.uanl.mx/especiales/ee-4-2003/02.pdf](http://www.respyn.uanl.mx/especiales/ee-4-2003/02.pdf)

Vallejo, F. y Toro. 2002. «Análisis microbiológico en yogurt con probióticos». *Boletín micológico.* (17):15-19.

Vidal. J. *et al.* 2007. «Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena». *Salud pública de México.* 49(5): 376-386.

## XII. APÉNDICE

### A. Metodología para la elaboración de QPAY

#### 1. Objetivos

- Preparar adecuadamente el queso probiótico a base de yogurt

#### 2. Materiales y equipo

##### Materiales

- Leche entera fluida
- Leche entera en polvo
- Cultivo CDA (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidus longum*, *Lactobacillus acidophilus* y *S. thermophilus*)

##### Equipo

- Termómetro
- Recipiente plástico
- Incubadora
- Refrigeradora
- Bolsa de material algodón

#### 3. Metodología

En el cuadro 27 se encuentra la receta con la metodología para la preparación de QPAY

Cuadro 27 - Receta de QPAY

Nombre de la receta		Queso probiótico a base de yogurt	
Tamaño de porción		1 onzas	
Número total de porciones		66 porciones	
Ingrediente	cantidad		Procedimiento
	peso	unidad	
Leche en polvo	392	Gramos	Disolver la leche en polvo en la leche fluida
Leche fluida UHT	2 2060	Litros gramos	
Cultivo CDA	15	gramos	<p>Agregar el cultivo CDA en la leche y revolver por 2 minutos, luego echarla en el recipiente de plástico e incubar.</p> <p>Introducir la bolsa de algodón en agua hirviendo y echar el yogurt obtenido tras la incubación. Cerrar la bolsa jalando de los cordones y ponerla sobre el recipiente de plástico, dentro del refrigerador por 8 horas.</p>
Peso total de la preparación		4.18lb	Peso total de los ingredientes 2467g

Cuadro 28 - Costo de QPAY

Nombre de la receta		Queso probiótico a base de yogurt				
Tamaño de la porción servida		1 onzas				
Número total de porciones		66 porciones				
Ingrediente	Cantidad	Unidad	Costo por unidad de compra		Rendimiento	Costo Total
			Costo	Unidad		
Leche en polvo	392	gramos	Q63.48	Kg	39%	Q39.20
Leche fluida UHT	2	litros	Q9.00	Litro	100%	Q18.00
Cultivo CDA	15	gramos	Q0.10	gramo	100%	Q1.00
Costo total de la preparación		Q58.20	Costo por porción		Q0.88	

## B. Metodología para grupo focal

### 1. Objetivo

- Realizar una descripción general de atributos (apariencia, olor y sabor) del queso probiótico a base de yogurt (QPAY).
- Recopilar información sobre la opinión de los panelistas.
- Identificar las características sensoriales agradables y desagradables que son percibidos.

### 2. Recursos

- Lugar: Laboratorio de Análisis Sensorial de Alimentos, Salón E-106, Universidad del Valle de Guatemala.
- Panelistas: Tres grupos de 15 personas cada uno, de ambos sexos, mayores de 18 años.

### 3. Materiales y equipo

- 1lb de QPAY
- 80 panitos tostados
- 40 platos desechables pequeños
- 40 cucharitas desechables
- 40 vasos desechables pequeños
- 4 picheles
- Agua pura
- Servilletas
- 20 lápices
- 3 Computadoras portátiles

### 4. Método

- Los panelistas serán reunidos en el Salón E-106 en la Universidad del Valle de Guatemala, donde serán acomodados alrededor de una mesa rectangular.
- A cada panelista se le entregará un vaso de agua para que pueda limpiar su paladar antes de empezar con la degustación.
- Antes de iniciar la sesión se hará una pequeña introducción del estudio y las instrucciones que deben seguir.
- El grupo focal se llevará a cabo a través de las respuestas abiertas a las preguntas directas que realice el moderador.
- El moderador debe realizar las preguntas sin insinuar ningún tipo de respuesta, además debe facilitar la discusión y responder cualquier duda de los panelistas. Habrá dos secretarios que tomen nota a lo largo de toda la sesión.

A continuación se presenta la guía de discusión de grupo focal a utilizar

---

Fecha \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_

Sexo \_\_\_\_\_

Edad \_\_\_\_\_

### **Guía de discusión de grupo focal**

#### **Introducción:**

Buenas tardes, gracias por su presencia y colaboración. Estamos reunidos con el fin de conocer cuál es su opinión acerca del queso probiótico a base de yogurt (QPAY), con el objetivo de mejorar, las características sensoriales que resultaran desagradables.

Se tomará en cuenta cualquier sugerencia o comentario que pudiera mejorar la formulación de QPAY. Se entregará a cada panelista una muestra de QPAY. En cada pregunta los panelistas darán su opinión brevemente.

#### **Discusión**

##### Apariencia

Se le solicitará al panel observar detenidamente la mezcla

- 1) ¿Qué opinan sobre la apariencia general de QPAY?
  - a) ¿Le agrada o desagrada?
- 2) ¿Qué opinan sobre la consistencia de QPAY? (muy duro, muy suave, muy grumoso).
  - a) ¿Le agrada o desagrada?
- 3) ¿Qué opinan sobre el color de QPAY? (atractivo, opaco, blanco, amarillento)
  - a) ¿Le agrada o desagrada?
- 4) ¿Cómo describiría QPAY?

##### Olor

Se solicitará la panel oler detenidamente la muestra

- 1) ¿Qué opina sobre el olor general?
  - a) ¿Les agrada o desagrada?
  - b) ¿Qué les agrada y desagrada del olor?

##### Sabor

Se le solicitará al panel que prueben QPAY.

- 1) ¿Les parece agradable o desagradable?
- 2) ¿Qué les agrada y desagrada de QPAY?
- 3) ¿Cómo describiría el sabor?

## 5. Análisis de datos

- Las respuestas de los panelistas serán agrupadas, de modo que se reporten en tablas de frecuencia.
- Se modificaran las características sensoriales de QPAY que hayan tenido como resultado ser desagradables.
- Se tratará de no modificar cualquier característica que haya tenido como resultado ser agradable.

## C. Metodología para prueba hedónica.

### 1. Prueba hedónica con producto único

#### a. Objetivo

- Evaluar la aceptabilidad general (sabor, olor, color y apariencia) de QPAY.

#### b. Recursos

- Lugar: Colegio de médicos de Guatemala, salón Itzmna
- Panelistas: Se utilizará un grupo de 50 panelistas de sexo femenino y masculino de 18 años en adelante.

#### c. Materiales y equipo

- QPAY
- 60 Panitos
- 60 platos desechables pequeños
- 60 Servilletas
- 2 cuchillos

#### d. Método

- Los panelistas serán acomodados en escritorios.
- Se le entregará a cada panelista la boleta correspondiente en donde aparecen las instrucciones que deberá seguir durante la evaluación.
- Las instrucciones serán leídas en voz alta, y se resolverán dudas que haya.
- Se solicitará a los panelistas que prueben la muestra y contesten la boleta.
- Se incluirá en la boleta una sección de comentarios, los cuales serán evaluados y analizados en los resultados.

A continuación se presenta la boleta a utilizar para la prueba hedónica.

Fecha \_\_\_\_\_

Sexo \_\_\_\_\_

Edad \_\_\_\_\_

--

### Boleta para prueba hedónica

Acceptabilidad por parte de los estudiantes hacia el queso probiótico a base de yogurt (QPAY)

**Instrucciones:** A continuación se presenta una muestra de QPAY. Pruebe la muestra y según su opinión, marque con una X, la casilla que corresponda a su opinión acerca de las características del producto. Marque sólo una opción para cada característica y no deje respuestas en blanco.

¿Es de su agrado el producto?

Sí \_\_\_\_

No \_\_\_\_

Escala		Color	Olor	Textura o Consistencia	Sabor
Me disgusta mucho	1				
Me disgusta	2				
No me gusta ni me disgusta	3				
Me gusta	4				
Me gusta mucho	5				

**Comentarios:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### e. Análisis de datos

- Las categorías se convierten en puntajes numéricos del 1 al 5, donde 1 representa me disgusta mucho y 5 me gusta mucho.
- Se hace un recuento del número de panelistas que contestó en cada escala, según cada característica sensorial.
- Para cada característica sensorial se hace un promedio basado en los puntajes obtenidos y en el número de panelistas.
- El promedio debe ser  $\geq 3.5$  para considerarse aceptable.

## 2. Prueba hedónica utilizando escala de nueve puntos

### a. Objetivo

- Evaluar el agrado o desagrado por las tres variaciones de QPAY, QPAY natural y un queso a base de yogurt comercial.

### b. Recursos

- Lugar: Salón de reuniones Parroquia San Antonio María Claret.
- Panelistas: Se utilizará un grupo de 25 panelistas de sexo femenino y masculino de 18 años en adelante.

### c. Materiales y equipo

- QPAY natural
- QPAY ajonjolí
- QPAY loroco
- QPAY salsa de guayaba
- Queso a base de yogurt comercial
- 130 Panitos
- 130 platos desechables pequeños
- 30 Servilletas
- 30 vasos con agua

### d. Método

- Los panelistas serán acomodados en escritorios.
- Se le entregará a cada panelista la boleta correspondiente en donde aparecen las instrucciones que deberá seguir durante la evaluación.
- Las instrucciones serán leídas en voz alta, y se resolverán dudas que haya.
- Se solicitará a los panelistas que prueben las muestras y contesten la boleta.
- Se incluirá en la boleta una sección de comentarios, los cuales serán evaluados y analizados en los resultados.

A continuación se presenta la boleta a utilizar para la prueba hedónica.

Sexo \_\_\_\_\_  
 Edad \_\_\_\_\_

**Instrucciones:** A continuación se presentan unas muestras de Queso a base de yogurt. Pruebe la muestra y de acuerdo con su opinión, marque con una X, la casilla que corresponda a su opinión acerca del producto. Marque sólo una opción para cada característica y no deje respuestas en blanco. Se agradece que escriba sus comentarios ya que son de valiosa ayuda para el estudio.

Calificación	Códigos de las muestras				
Me gusta muchísimo					
Me gusta mucho					
Me gusta moderadamente					
Me gusta poco					
No me gusta ni me disgusta					
Me disgusta poco					
Me disgusta moderadamente					
Me disgusta mucho					
Me disgusta muchísimo					
Comentarios:					

#### e. Análisis de datos

- Las categorías se convierten en puntajes numéricos del 1 al 9, donde 1 representa me disgusta muchísimo y 9 me gusta muchísimo.
- Los puntajes se tabulan y analizan utilizando análisis de varianza, con Microsoft Excel.
- Si el valor F calculado es superior al valor F tabulado, para el mismo número de grados de libertad, habrá evidencia de que hay diferencias significativas. Nivel de significancia 0.05.
- De haber una diferencia significativa, debe realizarse una prueba de comparación múltiple para determinar cuáles son las medias que difieren entre sí.

## D. Metodología para prueba triangular

### 1. Objetivos

- Caracterizar el producto QPAY.
- Conocer las diferencias entre QPAY y un queso popular similar.

### 2. Recursos

- Lugar: Laboratorio de Análisis Sensorial de Alimentos, Salón E-106, Universidad del Valle de Guatemala.
- Panelistas: Se utilizará tres grupos de 15 personas cada uno, de ambos sexos, mayores de 18 años.

### 3. Materiales y equipo

- 1 libras de QPAY
- 2 libras de requesón marca taxisco
- 40 vasos pequeños para agua
- 55 paquetes de galletas de soda
- 110 platos plásticos pequeños
- Agua pura
- 35 bandejas plásticas
- 12 pichetes plásticos
- 20 lápices
- 1 rollo de masking tape
- 1 marcador permanente
- 1 Cuchillo

### 4. Método

- A cada panelista se le entregará una boleta numerada con las instrucciones que debe seguir durante la evaluación.
- Las tres muestras se presentarán en forma simultánea codificadas con números aleatorios de 3 dígitos, dos de ellas serán iguales y una diferente. Los códigos asignados serán diferentes, aun cuando dos de las muestras sean idénticas.
- Cada panelista deberá seleccionar la muestra que por sus características sensoriales, encuentre diferente de las otras dos, indicando las razones que lo llevaron a hacer su elección. Aun si no encuentran diferencia entre las muestras, deben decidirse por una.
- Para evitar errores por posición, el orden de presentación de las muestras será balanceado, de manera que las tres muestras se presenten en diferentes posiciones a cada 7 panelistas, siguiendo el orden que muestra el cuadro 29. La muestra sombreada indica la posición de la muestra diferente.

Cuadro 29 Orden de las muestras para la prueba triangular

#	M1	M2	M3
1	454	345	323
2	737	264	468
3	111	947	654
4	947	318	836
5	928	888	931
6	209	100	434
7	938	367	723
	<b>M3</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>
8	736	647	098
9	038	108	694
10	049	947	501
11	765	233	900
12	345	500	590
13	746	509	374
14	048	122	001
	<b>M2</b>	<b>M3</b>	<b>M1</b>
15	244	022	455
16	443	773	123
17	857	247	140
18	038	947	415
19	002	008	459
20	947	156	480
21	013	925	134
	<b>M1</b>	<b>M3</b>	<b>M2</b>
22	233	009	459
23	243	182	256
24	046	021	965
25	090	535	271
26	819	333	880
27	084	053	079
28	015	520	387
	<b>M2</b>	<b>M1</b>	<b>M3</b>
29	571	502	017
30	101	455	051
31	209	031	457
32	032	102	493
33	348	293	984
34	053	033	938
35	456	736	103

A continuación se presenta la boleta para la prueba triangular

Nombre: \_\_\_\_\_  
 Carnet: \_\_\_\_\_  
 Fecha: \_\_\_\_\_

### ***Prueba Triangular***

Se le presenta tres de muestras codificadas de queso. Dos de las muestras son iguales y una diferente. Primero olfatee las muestras y luego pruébelas iniciando de izquierda a derecha. Enjuáguese cuidadosamente la boca después de probar cada muestra. Indique cuál es la muestra diferente. En caso de duda, deberá decidirse por una.

En la casilla de comentarios describa en forma detallada las características de olor apariencia y sabor por las cuales tomó su decisión.

**Código de muestra**

\_\_\_\_ \_

**Muestra diferente**

\_\_\_\_\_

#### **Comentarios**

Olor:

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Sabor: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Apariencia:

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

5. **Análisis de datos.** Al finalizar la evaluación cada panelista entregará su boleta de manera que se puedan analizar los datos siguiendo el procedimiento que se detalla a continuación:

1. Se compararán los resultados con los del líder del panel, para verificar quienes dieron las respuestas correctas. Luego se sumarán el número de panelistas que identificaron correctamente la muestra diferente.
2. Para evaluar la significancia de los resultados, se utilizará la tabla binomial de un extremo. En la tabla la X representa el número de panelistas que eligió correctamente la muestra

diferente y  $n$  representa el número total de panelistas que participa en la prueba. La tabla contiene 3 probabilidades decimales para ciertas combinaciones de  $X$  y  $n$ . para tener significancia se exige una probabilidad menor de 0.05.

3. El número de panelistas que dieron la respuesta correcta se comparará con los datos que aparecen en la tabla, para determinar si existe una diferencia significativa entre las muestras. Además se describirán los resultados obtenidos en la parte de la boleta donde los panelistas enumeraron las razones por las cuales seleccionaron la muestra diferente.

## E. Metodología para pruebas microbiológicas sobre la efectividad del producto

### 1. Objetivo

- Comprobar la capacidad de QPAY para inhibir bacterias patógenas causantes de diarrea.

### 2. Recursos

- Lugar: Laboratorio de microbiología Universidad del Valle de Guatemala y el laboratorio privado LabTest

### 3. Materiales y equipo

#### a. Material

- Agar Nutritivo
- Agua de peptona
- 100 cajas petri
- Cinta testigo
- 50 hisopos
- 50 discos de papel filtro de 5mm
- Estándar de Mc Farland 0.5

#### b. Equipo

- 1 estufa
- 1 autoclave
- 5 erlenmeyer de 500ml
- 12 tubos de ensayo con tapadera con capacidad para 10cc
- 4 pinzas
- Incubadora
- Refrigeradora

## c. Material

## Definición de los sistemas




Cuadro 30 - Definición de los sistemas

Código	Bacteria patógena utilizadas
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
EC	<i>E coli</i> enteropatógena
ST	<i>Salmonella tiphy</i>
SF	<i>Shigella flexneri</i>

4. **Prueba de inhibición.** Se sembrará cada bacteria patógena (Ver Cuadro 9) en 2 placas de agar nutritivo utilizando un hiposo. Cada disco será impregnado con QPAY sumergiéndolo durante 30 segundos en este. Tras los 30 segundos el disco impregnado de QPAY se coloca sobre las placas sembradas con las bacterias patógenas a utilizar. El procedimiento se hará en duplicado. Las placas serán incubadas a 36°C por 12 horas. Tras las 12 horas de incubación se medirá el diámetro del aro de inhibición que aparece en las placas. Este procedimiento se llevará a cabo cada 48 horas hasta que el aro de inhibición presente un diámetro similar al del grupo control, en el cual se realizará una siembra en agar nutritivo con las bacterias patógenas y discos impregnados con queso no probiótico elaborado en base a un yogurt comercial, el cual contiene *Lactobacillus bulgaricus*. El control se incubó a 36°C por 12 horas, luego se mide el diámetro del aro de inhibición.

5. **Análisis de datos.** Se hará una comparación entre los diámetros de cada aro de inhibición, para saber qué tan eficiente es QPAY inhibiendo cada bacteria. También se evaluará la cantidad de días donde se obtienen los mejores resultados (para la inhibición de bacterias patógenas) al utilizar QPAY.

## F. Resultados análisis microbiológicos sobre inocuidad

<p>UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA</p>  <p>FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA Ciudad Universitaria, Zona 12 Guatemala, Centroamérica</p>		<p>DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA TEL. PBX 24188000, ext. 1666.</p>	
<b><u>INFORME RESULTADOS DE LABORATORIO</u></b>			
<p>Remitente: Srita. Andrea Mazariegos 1ª. calle "A" 12-10, Zona 8 Ciudad San Cristobal I, Guatemala</p>		<p>Protocolo No. 1057/09 Fecha de Recepción: Septiembre 2 de 2009</p>	
<p>Muestra: Queso Probiótico Propietario: Srita. Andrea Mazariegos</p>		<p>Análisis Solicitado: Bacteriológico</p>	
<p><b><u>Resultado:</u></b></p> <p>Recuento de Coliformes:           Negativo Recuento de <i>Escherichia coli</i>:   Negativo</p>			
<p>Fecha de Entrega: Septiembre 4 de 2009</p>	<p>Sección: Bacteriología</p>	<p>Firma y Sello Responsable: </p>	
<p>Dra. Virginia B. de Corzo Coordinadora Departamento de Microbiología</p> 			

## G. Resultados de las boletas de prueba hedónica. Producto único

Cuadro 31 Resultados de las boletas en la prueba hedónica. Producto único.

<b>Boleta</b>	<b>Color</b>	<b>Olor</b>	<b>Textura</b>	<b>Sabor</b>
1	5	3	4	4
2	4	4	4	5
3	5	5	5	5
4	5	5	5	5
5	3	3	4	5
6	5	4	5	5
7	5	5	5	5
8	5	5	5	5
9	4	3	5	5
10	4	5	4	5
11	5	5	5	5
12	5	5	4	5
13	5	5	5	5
14	5	5	5	5
15	5	5	5	5
16	4	4	4	4
17	4	3	4	3
18	5	5	5	5
19	5	5	5	5
20	4	4	4	4
21	5	4	5	5
22	5	5	5	5
23	5	5	5	5
24	4	4	4	4
25	4	4	5	5
26	5	5	5	5
27	5	4	5	3
28	4	3	4	3
29	4	3	4	4
30	5	4	5	5
31	3	3	3	4
32	3	4	4	3
33	5	4	4	5
34	4	4	4	4
35	4	4	4	4
36	5	4	5	5
37	5	5	5	5
38	5	5	5	5
39	5	5	5	5
40	4	5	4	5

Continuación Cuadro 30 Resultados de las boletas en la prueba hedónica. Producto único

41	4	4	4	4
42	5	5	5	4
43	4	3	5	4
44	5	4	5	3
45	5	4	5	5
46	4	5	4	5
47	5	5	5	5
48	5	5	5	5
49	4	3	4	4
50	4	4	3	4
51	4	3	5	4
52	5	3	4	4
53	4	4	4	4
54	5	5	5	4
55	5	4	4	4
Gusta mucho	0	0	0	0
Gusta	20	20	22	18
No me gusta / no me disgusta	3	11	2	5
Me disgusta	0	0	0	0
Me disgusta mucho	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>31</b>	<b>24</b>	<b>23</b>

## H. Análisis sobre efectividad del producto



# Informe

Atención: Andrea Mazariegos  
 UVG  
 1 Calle A 12-10 Ciudad San Cristóbal Mixco  
 Guatemala, Guatemala  
**Fecha** 2009-11-22

LABORATORIO CLÍNICO LABTEST  
 ANTIGUA GUATEMALA  
**D** Calle Principal Sta María de Jesús #8  
**T** +502-7830-8933  
**F** +502-7830-8933

**H** Lunes a viernes de 7:00 a 17:00  
 Sábado de 8:00 a 13:00

Licda. María Eugenia Batsche de Ortiz  
 Química Bióloga  
 Colegiado 954

NÚMERO DE INFORME: AVN-0019-1830  
 ANÁLISIS SOLICITADO: Recuento total de *Lactobacillus sp* y bacterias productoras de ácido láctico  
 MUESTRA: Queso con ajonjolí x 1  
 CANTIDAD: 600 mL  
 FECHA INGRESO: 2009-11-19 09:14 A.M. -6 GTM/Zulu  
 FECHA INICIO ANÁLISIS 2009-11-19 10:12 A.M. -6 GTM/Zulu

**RESULTADO:  $1.1 \times 10^7$  UFC/g**


### Método empleado:

Técnica de vaciado en placas de petri por triplicado según *Standard Methods for The Examination of Dairy Products (APHA)* con agar *ROGOSA (Lactobacillus Selective Agar)* y agua peptonada como diluyente.

La incubación se realizó a 35°C durante 5 días en condiciones anaerobias

Atentamente,

Licda. María Eugenia Batsche de Ortiz  
 Química Bióloga - Colegiado 945s

  
 LIC. MA. EUGENIA BATSCHE DE ORTIZ  
 QUÍMICO BIÓLOGO  
 Colegiado No. 954



# Informe

Atención: Andrea Mazariegos  
 UVG  
 1 Calle A 12-10 Ciudad San Cristóbal Mixco  
 Guatemala, Guatemala  
**Fecha** 2009-11-22

LABORATORIO CLÍNICO LABTEST  
 ANTIGUA GUATEMALA  
 D Calle Principal Sta María de Jesús #8  
 T +502-7830-8933  
 F +502-7830-8933

H Lunes a viernes de 7:00 a 17:00  
 Sábado de 8:00 a 13:00

Licda. María Eugenia Batsche de Ortiz  
 Química Bióloga  
 Colegiado 954

NÚMERO DE INFORME: AVN-0019-1830

ANÁLISIS SOLICITADO: Recuento total de *Lactobacillus sp* y bacterias productoras de ácido láctico

MUESTRA: Queso probiótico natural

CANTIDAD: 600 mL

FECHA INGRESO: 2009-11-19 09:14 A.M. -6 GTM/Zulu

FECHA INICIO ANÁLISIS 2009-11-19 10:12 A.M. -6 GTM/Zulu

**RESULTADO:  $8 \times 10^7$  UFC/g**

## Método empleado:

Técnica de vaciado en placas de petri por triplicado según *Standard Methods for The Examination of Dairy Products (APHA)* con agar *ROGOSA (Lactobacillus Selective Agar)* y agua peptonada como diluyente.

La incubación se realizó a 35°C durante 5 días en condiciones anaerobias

Atentamente,

Licda. María Eugenia Batsche de Ortiz  
 Química Bióloga - Colegiado 945s

  
 LIC. MA. EUGENIA BATSCHKE DE ORTIZ  
 QUIMICO BIÓLOGO  
 Colegiado No. 945s



# Informe

Atención: Andrea Mazariegos  
 UVG  
 1 Calle A 12-10 Ciudad San Cristóbal Mixco  
 Guatemala, Guatemala  
**Fecha** 2009-11-22

LABORATORIO CLÍNICO LABTEST  
 ANTIGUA GUATEMALA  
**D** Calle Principal Sta María de Jesús #8  
**T** +502-7830-8933  
**F** +502-7830-8933

**H** Lunes a viernes de 7:00 a 17:00  
 Sábado de 8:00 a 13:00

Licda. María Eugenia Batsche de Ortiz  
 Química Bióloga  
 Colegiado 954

NÚMERO DE INFORME: AVN-0019-1830

ANÁLISIS SOLICITADO: Recuento total de *Lactobacillus sp* y bacterias productoras de ácido láctico

MUESTRA: Queso probiótico con loroco

CANTIDAD: 600 mL

FECHA INGRESO: 2009-11-19 09:14 A.M. -6 GTM/Zulu

FECHA INICIO ANÁLISIS 2009-11-19 10:12 A.M. -6 GTM/Zulu

**RESULTADO:  $1.4 \times 10^7$  UFC/g**

**Método empleado:**


Técnica de vaciado en placas de petri por triplicado según *Standard Methods for The Examination of Dairy Products (APHA)* con agar *ROGOSA (Lactobacillus Selective Agar)* y agua peptonada como diluyente.

La incubación se realizó a 35°C durante 5 días en condiciones anaerobias

Atentamente,

Licda. María Eugenia Batsche de Ortiz

Química Bióloga - Colegiado 945

  
 Lic. MA. EUGENIA BATSCHÉ DE ORTIZ  
 QUÍMICA BIÓLOGA  
 Colegiado No. 945



# Informe

Atención: Andrea Mazariegos  
 UVG  
 1 Calle A 12-10 Ciudad San Cristóbal Mixco  
 Guatemala, Guatemala  
**Fecha** 2009-11-22

LABORATORIO CLÍNICO LABTEST  
 ANTIGUA GUATEMALA  
**D** Calle Principal Sta María de Jesús #8  
**T** +502-7830-8933  
**F** +502-7830-8933

**H** Lunes a viernes de 7:00 a 17:00  
 Sábado de 8:00 a 13:00

Licda. María Eugenia Batsche de Ortiz  
 Química Bióloga  
 Colegiado 954

NÚMERO DE INFORME: AVN-0019-1830

ANÁLISIS SOLICITADO: Recuento total de *Lactobacillus sp* y bacterias productoras de ácido láctico

MUESTRA: Queso con jalea de guayaba

CANTIDAD: 600 mL

FECHA INGRESO: 2009-11-19 09:14 A.M. -6 GTM/Zulu

FECHA INICIO ANÁLISIS 2009-11-19 10:12 A.M. -6 GTM/Zulu

**RESULTADO:  $9.4 \times 10^7$  UFC/g**

**Método empleado:**

Técnica de vaciado en placas de petri por triplicado según *Standard Methods for The Examination of Dairy Products (APHA)* con agar ROGOSA (*Lactobacillus Selective Agar*) y agua peptonada como diluyente.

La incubación se realizó a 35°C durante 5 días en condiciones anaerobias

Atentamente,

Licda. María Eugenia Batsche de Ortiz  
 Química Bióloga - Colegiado 945

  
 Lic. MA. EUGENIA BATSCHE DE ORTIZ  
 QUÍMICO BIÓLOGO  
 Colegiado No. 954

## I. Análisis nutricional

Universidad de San Carlos de Guatemala.		Elaborado por Lic. Jorge Sinay			
Facultad de Medicina Veterinaria		Modificado por Dr. Hugo R. Pérez N.			
Escuela de Zootecnia.					
<b>INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS</b>					
Descripción de la Muestra : Queso Probiotico			Formula		
Lugar de Origen : Ciudad			<b>Q</b>		
Solicitado por: Elli Andrea Masariegos					
Dirección : 32 Calle 14-62 Zona 11					
<b>Materia seca parcial</b>					
Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	Resultado		
1042	283	1136	33.22		
<b>Materia seca total</b>					
Tara	P.I. Muestra	P.F. Y tara	%	Resultado	
0.8367	7.0000	6.8405	85.7686		
0.8400	7.0000	6.8420	85.7429	85.76	
Materia seca			Humedad		
28.48			71.52		
<b>Genizas O minerales Totales</b>					
TARA	P.I muestra	P.F. Y tara	%	Resultado	
16.6874	6.5038	16.9904	4.66	5.43	
15.6820	6.5045	15.9850	4.66	B. SECA	
				4.66    B. FRESCA	
				1.55	
<b>Extracto Etéreo</b>					
Tara	P.I. Muestra	P.I BEAKER	P.F. Beacker	%	Resultado
	2.7673	76.4423	77.0745	22.85	26.62
	2.7700	70.4400	71.0720	22.82	B. SECA
				22.83	B. FRESCA
				7.58	
<b>FIBRA CRUDA</b>					
P. Bolsa	P. B.+Muestra	P. Digestión	Tara Crisol	P. Fin. Crisol	Resultado
0.4830	1.0310	0.5070	19.3020	19.3100	2.74
0.4820	1.0320	0.5040	15.3020	15.3100	2.64
Blanco	Dif. Bolsa	Dig. Bolsa	Dif. Crisoles		2.55
0.0036	0.548	0.0240	0.0090	0.0150	3.03
0.0036	0.5500	0.0220	0.0080	0.0140	B. SECA
				Promedio	B. FRESCA
				0.88	
<b>Proteína Cruda</b>		<b>Extracto libre de nitrógeno</b>		B. FRESCA	
	Resultado				0.00
32.33	37.68	32.32	27.18		0.00
32.30	B. SECA	10.73	B. FRESCA		B. Seca
ca.	0.00	0 p.	0.00	B. Seca	0.00
E.B.	5.22	0.00	Lignina	0.00	
F.A.N.	0.00	0 F.N.D.	0.00	0	
KOH	0.00	0 G. DE NINA	0.00		
Realizados Por: José Morales		Fecha de Realización : 08/09/2009 11/09/2009			