



UNIVERSIDAD  
**Panamericana**  
Aguascalientes

**DIRECCIÓN DE NEGOCIOS ALIMENTARIOS**

**DESARROLLO DE QUESO PETIT SUISSE DE GUAYABA CON INULINA COMO PREBIÓTICO Y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 COMO PROBIÓTICO, SIN AZÚCARES AÑADIDOS.**

TESIS

QUE PRESENTA

**VICTOR IVÁN MORALES CORTÉS**

PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN DESARROLLO E INNOVACIÓN ALIMENTARIA**

CON RECONOCIMIENTO DE VALIDEZ OFICIAL DE ESTUDIOS DE LA SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA DE ACUERDO CON EL NÚMERO RVOE 20170050 DE FECHA 18 DE ABRIL DEL 2017

**TUTORES**

DRA. JULIETA DOMÍNGUEZ SOBERANES

MTRA. LINDA CAROLINA HERNÁNDEZ LOZANO

AGUASCALIENTES, AGS., FEBRERO 2023



## DICTAMEN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

**En mi calidad de Tutor** y después de haber analizado el trabajo de titulación de Victor Iván Morales Cortés quien cursó la Maestría de Desarrollo e Innovación Alimentaria con reconocimiento de validez oficial de estudios de la Secretaría de Educación Pública, según acuerdo número RVOE 20170050 de fecha 18 de abril del 2017, quien presenta el trabajo titulado: Desarrollo de Queso Petit Suisse de Guayaba con Inulina como prebiótico y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 como probiótico, sin azúcares añadidos.

Manifiesto que reúne los requisitos a que obligan los reglamentos en vigor, para ser presentado ante el Honorable jurado del examen profesional.

Aguascalientes, Ags., febrero 2023

Julieta Domínguez Soberanes

Cédula profesional No.: 3298783



## **DICTAMEN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

**En mi calidad de Tutor** y después de haber analizado el trabajo de titulación de Víctor Iván Morales Cortés quien cursó la Maestría de Desarrollo e Innovación Alimentaria con reconocimiento de validez oficial de estudios de la Secretaría de Educación Pública, según acuerdo número RVOE 20170050 de fecha 18 de abril del 2017, quien presenta el trabajo titulado: Desarrollo de Queso Petit Suisse de Guayaba con Inulina como prebiótico y Bifidobacterium animalis subsp. Lactis BB-12 como probiótico, sin azúcares añadidos.

Manifiesto que reúne los requisitos a que obligan los reglamentos en vigor, para ser presentado ante el Honorable jurado del examen profesional.

Aguascalientes, Ags., febrero 2022

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "LC", with a horizontal line underneath.

M.C. Linda Carolina Hernández Lozano

Cédula profesional No.: 5700143 y 7166746



## DICTAMEN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

**En mi calidad de Revisora** y después de haber analizado el trabajo de titulación de Víctor Iván Morales Cortés quien cursó la Maestría de Desarrollo e Innovación Alimentaria con reconocimiento de validez oficial de estudios de la Secretaría de Educación Pública, según acuerdo número RVOE 20170050 de fecha 18 de abril del 2017, quien presenta el trabajo titulado: Desarrollo de Queso Petit Suisse de Guayaba con Inulina como prebiótico y Bifidobacterium animalis subsp. Lactis BB-12 como probiótico, sin azúcares añadidos.

Manifiesto que reúne los requisitos a que obligan los reglamentos en vigor, para ser presentado ante el Honorable jurado del examen profesional.

Aguascalientes, Ags., febrero 2022

*Carmen LiconCano*

Nombre y firma:

## **Agradecimientos**

Quiero agradecer en primer lugar a Dios por la sabiduría que me ha dado para poder realizar este trabajo y por la fortaleza para no rendirme.

A mis asesoras la Dra. Julieta Domínguez Soberanes y la Mtra. Linda Carolina Hernández por ser mis guías en este proyecto y por todo el aprendizaje y disposición que me dieron en todo momento. Quiero agradecer a Antonio Estévez Rioja por su apoyo en la coordinación de las pruebas sensoriales que fueron un pilar en este trabajo de investigación.

A la universidad Panamerica, California State University Fresno y a la Dra. Carmen Licon Cano, por los conocimientos adquiridos durante el programa de intercambio "From cows to neurons" que contribuyeron enormemente a esta investigación.

Finalmente agradezco a mi familia y a mis seres amados que fueron mi motor y mi inspiración para el cumplimiento de esta meta.

## Tabla de contenido

Tabla de contenido .....	2
Contenido de Tablas .....	5
Contenido de Figuras .....	6
<b>1. Resumen</b> .....	8
<b>2. Abstract</b> .....	9
<b>3. Introducción</b> .....	10
<b>4. Justificación</b> .....	11
<b>5. Marco Teórico</b> .....	12
<b>5.1. Alimentos Funcionales</b> .....	12
<b>5.1.1. Prebióticos</b> .....	14
5.1.1.1. Inulina .....	14
<b>5.1.2. Probióticos</b> .....	15
5.1.2.1. <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12.....	17
<b>5.1.2.1.1. Morfología</b> .....	19
<b>5.1.2.1.2. Características de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12</b> 19	
5.1.2.1.2.1. Tolerancia hacia los ácidos y la bilis .....	19
5.1.2.1.2.2. Hidrolasa de sales biliares .....	20
5.1.2.1.2.3. Fuertes propiedades de adherencia.....	20
<b>5.1.2.1.3. Mecanismos de acción de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12</b> .....	21
5.1.2.1.3.1. Inhibición de patógenos .....	21
5.1.2.1.3.2. Mejora de la función de barrera .....	21
5.1.2.1.3.3. Interacciones inmunitarias .....	21
<b>5.1.2.1.4. Efectos benéficos a la salud de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12</b> .....	22
<b>5.2. Edulcorantes naturales</b> .....	24
<b>5.2.1. Extracto de Luo Han Guo</b> .....	25
<b>5.2.2. Polioles</b> .....	26
5.2.2.1. Eritritol.....	27
5.2.2.2. Isomaltol .....	27
<b>5.3. Guayaba</b> .....	28
<b>5.4. Queso</b> .....	30
<b>5.4.1. Queso Petit Suisse</b> .....	31
<b>5.4.2. Ingredientes y aditivos para la elaboración de la cuajada</b> .....	31
5.4.2.1. Leche .....	31

5.4.2.2. Cloruro de calcio .....	32
5.4.2.3. Enzima Coagulante .....	32
<b>5.4.3. Proceso de la elaboración de la cuajada .....</b>	<b>33</b>
5.4.3.1. Recepción de la leche .....	34
5.4.3.2. Estandarización .....	34
5.4.3.3. Pasteurización .....	34
5.4.3.4. Incorporación de aditivos .....	35
5.4.3.5. Cuajado enzimático .....	35
5.4.3.6. Corte de la cuajada .....	36
5.4.3.7. Reposo del grano y desuere .....	36
<b>5.5. Vida de Anaquel .....</b>	<b>37</b>
5.5.1. Efecto de factores ambientales sobre la vida de anaquel .....	37
5.5.2. Efecto de los factores del alimento sobre la vida de anaquel .....	37
<b>6. Objetivo General .....</b>	<b>40</b>
6.1. Objetivos Específicos .....	40
<b>7. Metodología .....</b>	<b>41</b>
7.1.1. Desarrollo de dos formulaciones de queso petit suisse, una con higo y la otra con guayaba .....	43
7.1.2. Análisis sensorial para obtener la fórmula más gustada por el consumidor y con atributos naturales .....	47
7.1.3. Reformulación y análisis sensorial de la fórmula seleccionada .....	49
7.1.4. Selección del empaque óptimo para el producto .....	53
7.1.5. Determinación de Vida de Anaquel .....	54
7.1.5.1. Reacción principal de deterioro principal .....	54
7.1.5.2. Diseño de vida útil .....	55
7.1.5.3. Análisis Fisicoquímicos .....	55
7.1.5.3.1. Determinación de Humedad .....	55
7.1.5.3.2. Determinación de pH .....	56
7.1.5.3.3. Acidez Titulable .....	57
7.1.5.3.4. Determinación de Color .....	58
7.1.5.3.5. Determinación de Sinéresis .....	58
7.1.5.4. Análisis Microbiológicos .....	58
7.1.5.4.1. Esterilización del material .....	58
7.1.5.4.2. Preparación de la muestra .....	59
7.1.5.4.3. Inoculación e incubación de las placas Petrifilm 3M .....	59
7.1.5.4.3.1. Bacterias aerobias totales .....	59
7.1.5.4.3.2. E.coli y Coliformes .....	60

7.1.5.4.4. <b>Conteo e interpretación</b> .....	60
7.1.5.5. <b>Análisis sensoriales</b> .....	61
7.1.6. <b>Evaluación del efecto funcional de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12</b> .....	63
7.1.7. <b>Cálculo de la información Nutrimental</b> .....	64
7.1.8. <b>Análisis de normatividad alimentaria</b> .....	64
7.1.9. <b>Análisis de costos de formulación</b> .....	65
<b>8. Resultados y discusión</b> .....	66
8.1.1. <b>Análisis fisicoquímicos del desarrollo de las fórmulas de queso petit suisse de higo y guayaba</b> .....	66
8.1.2. <b>Balance de Materia</b> .....	67
8.1.3. <b>Selección de fórmula a través del análisis sensorial</b> .....	68
8.1.4. <b>Reformulación y análisis sensorial a la fórmula seleccionada</b> .....	73
8.1.5. <b>Empaque del queso petit suisse de guayaba</b> .....	78
8.1.6. <b>Vida de anaquel en tiempo real</b> .....	81
8.1.6.1. <b>Análisis fisicoquímicos para determinar vida de anaquel</b> .....	81
8.1.6.2. <b>Análisis microbiológicos para determinar vida de anaquel</b> .....	87
8.1.6.3. <b>Análisis sensorial para determinar vida de anaquel</b> .....	90
8.1.7. <b>Recuento viable de bacterias <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12</b> .....	97
8.1.8. <b>Información nutrimental</b> .....	99
8.1.9. <b>Normatividad alimentaria y etiquetado</b> .....	100
8.1.10. <b>Costos de formulación</b> .....	108
<b>9. Conclusiones</b> .....	110
<b>10. Referencias</b> .....	112

## Contenido de Tablas

Tabla 1. Efectos benéficos a la salud de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12 ....	22
Tabla 2. Calidades que la leche debe cumplir para su uso.....	32
Tabla 3. Formulación para obtención de cuajada.....	43
Tabla 4. Formulación de queso petit suisse de higo .....	43
Tabla 5. Formulación de queso petit suisse de guayaba .....	44
Tabla 6. Reformulación de queso petit suisse de guayaba y formula final.....	49
Tabla 7. Descriptores críticos y método de prueba .....	54
Tabla 8. Prueba Q Cochran con un nivel de significancia del 5%.....	70
Tabla 9. Prueba McNemar y la corrección de Yates, comparación de parejas.....	71
Tabla 10. Distribución de frecuencias de la escala hedónica de 9 puntos .....	75
Tabla 11. Funcionalidad y normatividad de empaques .....	78
Tabla 12. Matriz de diseño bolsa doypack.....	79
Tabla 13. Formación de sinéresis a través del tiempo. ....	83
Tabla 14. Valores de las coordenadas $L^*$ , $a^*$ y $b^*$ y atributos de color $h^*$ y $C^*$ .....	85
Tabla 15. Análisis microbiológicos durante la vida útil .....	87
Tabla 16. Promedios de los resultados sensoriales prueba RATA por semana .....	90
Tabla 17. Correlación de Pearson .....	95
Tabla 18. Correlaciones de Pearson significativas con una significancia del 5% .....	95
Tabla 19. Información nutrimental del queso petit suisse de guayaba .....	99
Tabla 20. Revisión normativa del uso permitido de materia prima, ingredientes y aditivos .....	101
Tabla 21. Especificaciones que debe cumplir el queso petit suisse de guayaba .....	102
Tabla 22. Determinación de la información nutrimental complementaria .....	105
Tabla 23. Costeo de la cuajada .....	108
Tabla 24. Costeo de queso petit suisse de Guayaba.....	109

## Contenido de Figuras

Figura 1. Morfología del genero Bifidobacterium tomada de Collado (2008). .....	19
Figura 2. Diagrama de proceso cuajada .....	33
Figura 3. Reacciones de deterioro en función de la actividad de agua y humedad, tomada de Taoukis et al. (1997).....	38
Figura 4. Diagrama de Flujo para la elaboración de queso petit Suisse .....	41
Figura 5. Metodología para la obtención de queso petit suisse de higo.....	45
Figura 6. Metodología para la obtención de queso petit suisse de guayaba.....	46
Figura 7. Cuestionario aplicado a las formulaciones de higo y guayaba.....	48
Figura 8. Metodología de la reformulación de queso petit suisse de guayaba y proceso final .....	50
Figura 9. Cuestionario de fórmula final queso petit suisse guayaba.....	52
Figura 10. Cuestionario para las pruebas sensoriales de vida de anaquel .....	62
Figura 11. Balance de materia para la obtención de la cuajada .....	67
Figura 12. Atributos identificados por los consumidores en el queso petit suisse de higo.	68
Figura 13. Atributos identificados por los consumidores en el queso petit suisse de guayaba .....	69
Figura 14. Fórmula que más les gusto a los consumidores.....	72
Figura 15. Escala hedónica de 9 puntos.....	72
Figura 16. Frecuencias (%) de los atributos seleccionados por los consumidores .....	73
Figura 17. Bolsa doypack tomada de Fenbo Packing 2021 ( <a href="https://www.fenbopackaging.com">https://www.fenbopackaging.com</a> ) .....	80
Figura 18. Disminución del pH a través del tiempo .....	81
Figura 19. Aumento de la acidez a través del tiempo .....	82
Figura 20. Humedad a través del tiempo.....	83
Figura 21. Formación de sinéresis a través del tiempo.....	84

Figura 22. Ángulo que mide la tonalidad ( $h^*$ ), indicador de la orientación del color respecto al origen tomada de Scalisi et al. (2022).....	86
Figura 23. Comportamiento de bacterias aerobias totales a través del tiempo.....	88
Figura 24. Comportamiento de coliformes totales a través del tiempo.....	89
Figura 25. Cambio de los atributos sensoriales a través del tiempo.....	91
Figura 26. Análisis de componentes principales ACP.....	94
Figura 27. Disminución de la concentración de bacterias ácido lácticas a través del tiempo.....	97
Figura 28. Declaración nutrimental.....	104
Figura 29. Diseño de leyenda precautoria en el etiquetado.....	106
Figura 30. Prototipo final del queso petit suisse de guayaba y etiquetado.....	107

Biblioteca Aguascalientes

## 1. Resumen

La importancia del presente trabajo de investigación es desarrollar un alimento funcional que además de aportar nutrientes, presente efectos benéficos para la salud y reduzca el riesgo de contraer ciertas enfermedades.

El queso petit suisse desarrollado presento el 8.5% de proteínas, 6% de grasas, 4% de grasa saturada, 7% de azúcares y 0% de azúcares añadidos que de acuerdo a la OMS y FAO (2003) recomiendan “reducir la cantidad de azúcares libres con el objetivo de alcanzar el máximo recomendado del 10% del aporte calórico” (p.123). Por lo que, para dar el dulzor a este producto se formuló con polioles (isomaltol y eritritol) y extracto de Luo Han Guo (*Siraitia grosvenorii*) edulcorantes naturales con bajo aporte calórico. Adicionalmente, contiene de fibra soluble el 9.4% del valor nutrimental de referencia ponderados para la población mexicana que estipula la norma oficial mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010.

Para poder ser un alimento funcional se le agregó al queso petit suisse como prebiótico la inulina que tiene la capacidad selectiva de estimular el crecimiento de un grupo de bacterias en el colon que son *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* (Roberfroid, 2004). Adicionalmente, se utilizó como probiótico la cepa *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 que ha demostrado su efecto beneficioso para la salud en numerosos estudios clínicos dentro de la salud gastrointestinal y función inmunitaria, además han demostrado la supervivencia de BB-12 a través del tracto gastrointestinal (Jungersen *et al.*, 2014).

El 82% de los consumidores que evaluaron sensorialmente el producto lo comprarían. A los 28 días de su vida de anaquel los probióticos estuvieron en la concentración necesaria y viables para ejercer su función benéfica, cumpliéndose el objetivo deseado. La vida de anaquel del producto fue de 21 días por la presencia de sinéresis en el producto terminado.

## 2. Abstract

The importance of this research work is to develop a functional food that not only provides nutrients, but also has beneficial effects on health and reduces the risk of contracting certain diseases.

The petit suisse cheese developed presented 8.5% protein, 6% fat, 4% saturated fat, 7% sugars and 0% added sugars, which according to WHO and FAO (2003) recommend "*reducing the amount of free sugars with the objective of reaching the recommended maximum of 10% of caloric intake*" (p.123). Therefore, to give sweetness to this product, it was formulated with polyols (isomaltol and erythritol) and Luo Han Guo extract (*Siraitia grosvenorii*), natural sweeteners with low caloric intake. In addition, it contains soluble fiber 9.4% of the weighted reference nutritional value for the Mexican population as stipulated in the official Mexican standard NOM-051-SCFI/SSA1-2010.

In order to be a functional food, inulin was added to petit suisse cheese as a prebiotic, which has the selective capacity to stimulate the growth of a group of bacteria in the colon, namely *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* (Roberfroid, 2004). Additionally, the strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 was used as a probiotic which has demonstrated its beneficial health effect in numerous clinical studies within gastrointestinal health and immune function, furthermore they have demonstrated the survival of BB-12 throughout the gastrointestinal tract (Jungersen *et al.*, 2014).

82% of consumers who sensorially evaluated the product would purchase it. At 28 days of its shelf life the probiotics were at the necessary concentration and viable to exert their beneficial function, meeting the desired objective. The shelf life of the product was 21 days due to the presence of syneresis in the finished product.

### 3. Introducción

El consumo de alimentos funcionales además de proveer nutrientes, ayudan a mejorar la salud y a reducir el riesgo de contraer ciertas enfermedades a quienes los consumen. Es por eso, que en el presente trabajo se desarrolló un queso petit suisse de guayaba como alimento funcional adicionado con prebióticos (inulina) y probióticos (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12) sin azúcares añadidos, con características sensoriales aceptables y dirigido para el consumo por adultos.

Se realizaron dos formulaciones de queso petit suisse una de higo y otro de guayaba a nivel laboratorio. Ambas formulaciones se sometieron a análisis sensorial y con los resultados obtenidos se seleccionó la fórmula de guayaba. A esta fórmula se le sustituyó el azúcar por edulcorantes naturales y fue evaluada sensorialmente para conocer el nivel de agrado por 100 consumidores a través de una prueba sensorial en el que los consumidores calificaron el gusto general en una escala hedónica de 9 puntos y también realizaron la prueba CATA (*Check all that apply*) con 20 atributos, e identificaron los atributos percibidos.

Se determinó su vida de anaquel por medio de un estudio en tiempo real, realizando análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales. La vida de anaquel obtenida fue de 21 días por la presencia de sinéresis. Para garantizar el efecto funcional del producto se realizó un recuento viable de bacterias *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* BB-12 a través del análisis microbiológico de bacterias ácido lácticas durante su vida útil.

Se calculó la información nutrimental en función de la fórmula y valores nutrimentales ya establecidos. Se diseñó la etiqueta conforme a las normas mexicanas oficiales correspondientes. El producto se empaco en bolsas transparentes al vacío y se almacenó en refrigeración por 28 días.

## 4. Justificación

En la actualidad existe la necesidad de desarrollar alimentos que no solo satisfagan las necesidades nutricionales que el cuerpo necesita, si no que aporten beneficios a la salud. La pandemia por COVID-19 nos ha dejado muchas enseñanzas y una de ellas es el cuidado de nuestra salud a través de una buena alimentación. Gracias a esto, la presente investigación se centra en el desarrollo de un producto funcional adicionado con probióticos a una concentración mayor a  $1 \times 10^6$  UFC/g que tienen efectos benéficos sobre la salud gastrointestinal y función inmunitaria, y adicionado con prebióticos al 0.7% que estimulan el crecimiento selectivo de los probióticos adicionados. La elección de los probióticos y prebióticos se realizó con base a la literatura y a lo reportado por autores que puede establecer beneficios a la salud en este tipo de productos. Además, se formuló con edulcorantes naturales para reducir las calorías y no adicionar azúcares añadidos, evitando los sellos de advertencia en el etiquetado.

Para dar el sabor al producto se utilizó guayaba por ser la fruta con mayor producción en Aguascalientes y una de las más consumidas en México por su disponibilidad durante todo el año y sus características nutricionales y sensoriales. También fue seleccionada por que presenta compuestos bioactivos que previenen la aparición de enfermedades cerebrovasculares, cardiovasculares y cáncer; potencializando el efecto funcional del producto.

## 5. Marco Teórico

A continuación, se presenta el marco teórico de esta investigación donde se recopiló de diferentes fuentes bibliográficas los fundamentos necesarios para el desarrollo del presente trabajo.

### 5.1. Alimentos Funcionales

El presente trabajo de investigación se centra en el desarrollo de un alimento funcional que aporte beneficios a la salud. Los alimentos funcionales se definen como:

*“Aquel alimento semejante en apariencia física al alimento convencional, consumido como parte de la dieta diaria, pero capaz de producir demostrados efectos metabólicos o fisiológicos, útiles en el mantenimiento de una buena salud física y mental, en la reducción del riesgo de enfermedades crónico-degenerativas, además de sus funciones nutricionales básicas” (Luengo & Ferreira, 2007).*

En el año 2012, el centro de Alimentos Funcionales (FFC, Dallas, TX, EUA) declaró que un alimento funcional es cualquier alimento natural o procesado que contenga compuestos biológicamente activos esenciales o no esenciales que, en cantidades específicas, proporcionen beneficios a la salud (Gonzales *et al.*, 2018).

Un alimento funcional debe poseer un efecto distinto al alimento *per se* y se debe demostrar este efecto bajo la ingesta de determinadas dosis del mismo sobre alguna enfermedad y/o reducir un proceso patológico (Gil-Chávez *et al.*, 2013).

Los alimentos funcionales consisten en poseer compuestos que son biológica y fisiológicamente activos, conocidos como compuestos bioactivos; estos tienen la capacidad

de interaccionar con uno o más componentes de los tejidos vivos para proveer un gran efecto potencial en la salud y pueden provenir de plantas, animales y otros recursos como microorganismos reconocidos como generrally recognized as safe (GRAS) que en español significa reconocidos como seguros. Pueden funcionar como: antioxidantes, antiinflamatorios, anticancer, antiviral, antitumoral, protegiendo al cuerpo humano de niveles altos de radicales libres y de especies reactivas al oxígeno (ROS) que pueden fácilmente reaccionar con otras moléculas, resultando en daños de las células (Gil-Chávez *et al.*, 2013; Banwo *et al.* 2021).

Los alimentos funcionales diseñados son aquellos que contienen ciertos compuestos que, en combinaciones o concentraciones específicas, previamente establecidas, con la finalidad de ejercer un efecto en particular (Gonzales *et al.*, 2018). En este trabajo de investigación se diseñó un queso petit suisse de guayaba con prebióticos, probióticos y guayaba (compuestos bioactivos) con la finalidad de mejorar la salud gastrointestinal y la respuesta inmune de los consumidores.

De acuerdo con Gur *et al.* (2018) no existe un marco regulatorio específico para alimentos funcionales como una categoría independiente, y se necesita con urgencia para guiar y controlar la innovación en este campo mediante el establecimiento de reglas y normas (Moors, 2012). Esto con el objetivo de reducir el miedo a trabajar en una zona gris y aumentar las inversiones en I+D de alimentos funcionales (Kaur & Das, 2011). El futuro de los alimentos funcionales depende del continuo desarrollo de la ciencia y el desarrollo de tecnologías innovadoras por parte de la industria de alimentos y con ello, el reto que dichos alimentos sean regulados con el fin de que puedan reducir el riesgo de parecer enfermedades, e incluso asegurar que existan pruebas científicas que avalen dichas afirmaciones (Béjar, 2015).

### 5.1.1. Prebióticos

Se define como prebiótico a “*un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al hospedador al estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o un limitado número de especies bacterianas en el colon, y que por lo tanto mejora la salud*” (Gibson & Roberfroid, 1995). Los prebióticos ofrecen la posibilidad de modificar el equilibrio microbiano intestinal para obtener beneficios directos para la salud de forma barata y segura (Macfarlane & Cummings, 2006).

Los prebióticos también aportan muchos otros beneficios para la salud en el intestino grueso, como la reducción del riesgo de cáncer y aumentan la absorción de calcio y magnesio (Al-Sheraji, 2013).

Es por esto que en la presente investigación se utilizó la inulina como prebiótico para estimular el crecimiento de *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* BB-12 como probiótico, de acuerdo con Roberfroid (2004) “*los prebióticos estimulan el crecimiento de bacterias fermentativas (bifidobacterias y lactobacilos) con efectos beneficiosos*”. Además de la inulina como prebiótico se agregó al queso petit suisse la cepa *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 como probiótico que de acuerdo con Cardarelli (2007) los prebióticos y los probióticos se utilizan cada vez más para producir alimentos potencialmente simbióticos, sobre todo a través de los productos lácteos como vehículos.

#### 5.1.1.1. Inulina

De acuerdo con Franck (2006) la inulina es un carbohidrato que se obtiene de la raíz de la achicoria y se utiliza como un ingrediente en la formulación de alimentos funcionales por el aporte de beneficios a la salud. Debido a sus reconocidas propiedades prebióticas reconocidas, principalmente la estimulación selectiva de las bifidobacterias colónicas, tanto

la inulina como la oligofruktosa se utilizan cada vez más en el desarrollo de nuevos productos alimentarios (Kolida, 2002).

La inulina se incorporó a la formulación a una concentración de 0.7%, ya que Roberfroid (2004) menciona que *“la presencia de ciertas cantidades de inulina o sus derivados en la formulación de un producto alimenticio es condición suficiente para que dicho producto pueda ser considerado como alimento funcional”*. La inulina aporta una gran cantidad de fibra soluble a una porción de 120 g de queso petit suisse de guayaba.

### 5.1.2. Probióticos

La FAO / OMS (2001) definen a los probióticos como *“microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al huésped un beneficio para la salud”* (p.2). Para que los probióticos realicen su función adecuadamente deben cumplir las siguientes características:

1. Deben ser microorganismos y tienen que estar vivos al momento de la ingestión.
2. Deben ingerirse en una dosis adecuada para causar el efecto deseado, esto debe basarse en la documentación clínica probable.
3. Deben ejercer un efecto beneficioso al huésped. Cada cepa probiótica específica tiene su propio efecto benéfico.
4. Deben ser seguros y no presentar toxicidad.

Para que los probióticos ejerzan su función benéfica deben sobrevivir al paso por el tracto gastrointestinal, adherirse y colonizar en el epitelio intestinal. Los alimentos son vehículos que protegen a estas cepas durante este paso, en particular el queso, que

presenta ventajas como la disponibilidad de nutrientes, pH elevado, mayor capacidad amortiguadora y bajo contenido en oxígeno. Los quesos actúan como matrices protectoras de las cepas probióticas porque poseen algunos factores que pueden contribuir a la viabilidad de estos microorganismos en cantidades adecuadas, como la disponibilidad de nutrientes, grasa y proteínas que forman una matriz sólida con alta capacidad amortiguadora, bajo contenido de oxígeno y altos valores de pH, en comparación con otros productos lácteos (Rolim, 2020). Los probióticos también se han adicionado a otros productos lácteos como el yogur que de acuerdo con (Rezazadeh *et al.*, 2021) el consumo de yogur probiótico mejora de la sensibilidad a la insulina y puede ejercer efectos positivos sobre el estrés oxidativo y los niveles de ácido úrico.

El uso de probióticos, prebióticos y simbióticos podría ser una solución potencial para aliviar los efectos secundarios de los tratamientos farmacológicos o disminuir el riesgo de ciertas enfermedades, como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Además, la incorporación de estos en matrices lácteas puede mejorar su estabilidad y dar un valor nutricional adicional a partir de los componentes de la propia matriz láctea, como la vitamina D y el calcio, que puede ser potencialmente beneficiosos para los pacientes con DM2. En concreto, los productos lácteos fermentados se han sido asociados con un alto efecto potencial en el control de la DM2, modulando la microbiota intestinal y potenciando el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos, aumentando el colesterol HDL y reduciendo la glucemia en ayunas (Zepeda *et al.*, 2021). Esto coincide con lo mencionado por Castellone *et al.* (2021) la ingesta regular de alimentos fermentados por bacterias ácido lácticas en la dieta puede ser de gran ayuda, debido a la introducción de compuestos bioactivos que se liberan durante la fermentación y quedan disponibles durante la digestión.

El uso de probióticos refuerza el intestino, lo que puede conducir a un aumento de la respuesta inmunitaria, necesaria para combatir enfermedades como COVID-19 (Wang *et al.*, 2021).

Actualmente existen los probióticos llamados de próxima generación que son especies que forman parte de la microbiota autóctona de un lugar determinado. Se usan en afecciones específicas relacionadas con severas alteraciones de disbiosis en la microbiota intestinal. Las bacterias que se han estudiado y perfilan como probióticos de próxima generación son: *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii* y *Faecalibacterium prausnitzii* (García, 2022).

#### **5.1.2.1. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12**

Para este trabajo de investigación se utilizó como probiótico el microorganismo *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 del proveedor Chr. Hansen. Es la Bifidobacteria probiótica más documentada del mundo. Se describe en más de 300 publicaciones científicas, de las cuales más de 130 son publicaciones de estudios clínicos en humanos. BB-12 ha demostrado su efecto beneficioso para la salud en numerosos estudios clínicos dentro de la salud gastrointestinal y la función inmunológica (Jungersen *et al.*, 2014).

Se utilizó la cepa del género *Bifidobacterium* porque de acuerdo con Guarner & Malagelada (2003) y Collins & Gibson (1999) la flora intestinal beneficiosa son los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que ayudan significativamente a la salud de quien los consume gracias a sus funciones metabólicas interviniendo en la asimilación de los nutrientes. También protegen al huésped con un efecto barrera en contra los

microorganismos patógenos, e intervienen en la modulación del sistema inmune y en el desarrollo y la proliferación celular.

Para obtener el efecto funcional el queso petit suisse de guayaba se formuló para obtener una concentración mayor a  $1 \times 10^6$  ufc/g de *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* BB-12 ya que Prosello *et al.* (2003) y Roy (2005) dicen que los microorganismos deben estar en una concentración igual o mayor a  $1 \times 10^6$  ufc/g y viables al momento de su consumo para que pueden ejercer su efecto funcional.

La cepa BB-12 es segura para el consumo humano, se le ha otorgado la condición de Presunción Cualificada de Seguridad (QPS) en Europa (EFSA, 2015) y ha sido reconocida como generally recognized as safe (GRAS) por la agencia de alimentos y medicamentos de Estados Unidos (FDA, 2002). Esto se refiere a que la cepa BB-12 es generalmente reconocida como segura a una dosificación adecuada, y que bajo condiciones normales de uso, no representa un peligro para la salud. El proveedor Chr. Hansen recomienda que el cultivo sea inoculado de acuerdo con el recuento deseado de células probióticas en el producto final.

#### 5.1.2.1.1. Morfología

De acuerdo con De Vries & Stouthamer (1969) es variada la morfología de *Bifidobacterium*, generalmente son bacilos cortos, regulares o con ramificaciones. Son anaerobios estrictos pero presentan cierta tolerancia al oxígeno dependiendo de la especie y de su medio de cultivo. Son esporulados, inmóviles, gram positivos y se tiñen con azul de metileno como se observa en la figura 1.



Figura 1. Morfología del genero *Bifidobacterium* tomada de Collado (2008)

#### 5.1.2.1.2. Características de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12

Jungersen *et al.* (2014) señala que a través de estudios in vitro y en animales encontraron que las características de BB-12 son: una excelente tolerancia a los ácidos y a la bilis, hidrolasa de sales biliares y fuertes propiedades de adherencia se describen a continuación.

##### 5.1.2.1.2.1. Tolerancia hacia los ácidos y la bilis

Estudios muestran que BB-12 tiene una alta tolerancia al ácido gástrico y la bilis en comparación con otras bifidobacterias. La mayoría de las bacterias BB-12 pueden sobrevivir al ácido gástrico y la bilis después del consumo humano (Jungersen *et al.*, 2014).

Para garantizar la supervivencia de los probióticos durante su paso, existen estrategias recientes de encapsulación de cepas probióticas de *Bifidobacterium*. Entre los distintos materiales de encapsulación, el alginato de sodio, un polisacárido derivado de algas pardas o bacterias, se considera un material biocompatible, seguro, no tóxico y económico (Ji *et al.*, 2019). Sin embargo, en un estudio realizado por Sharma *et al.* (2021) encapsularon la cepa probiótica de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 en la proteína de la leche, la cual proporciono una mayor viabilidad en comparación con la matriz de alginato adicionada con inulina y ácido ascórbico.

#### **5.1.2.1.2.2. Hidrolasa de sales biliares**

El paso por el tracto gastrointestinal incluye diferentes desafíos para los probióticos vivos. Después del ambiente gástrico duro y ácido, las sales biliares del intestino delgado presentan el siguiente desafío. La cepa BB-12 contiene el gen que codifica la hidrolasa de sales biliares, una enzima que es importante para hacer frente a las altas concentraciones de sales biliares en el intestino delgado (Jungersen *et al.*, 2014).

#### **5.1.2.1.2.3. Fuertes propiedades de adherencia**

BB-12 ha demostrado propiedades de alta adherencia en varios entornos in vitro. Esta evidencia respalda que BB-12 posee la capacidad de colonizar transitoriamente las superficies mucosas del intestino, persistir en estos sitios y, por lo tanto, aumentar la posibilidad de producir efectos beneficiosos para la salud (Jungersen *et al.*, 2014).

### **5.1.2.1.3. Mecanismos de acción de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12**

La inhibición de patógenos, la mejora de la función de barrera y las interacciones inmunitarias son los mecanismos de acción que ha demostrado BB-12 (Jungersen et al., 2014) y se describen a continuación.

#### **5.1.2.1.3.1. Inhibición de patógenos**

Estudios muestran que BB-12 es capaz de inhibir importantes patógenos gastrointestinales a través de la producción de sustancias antimicrobianas, así como a través de la competencia por la adhesión a la mucosa (Jungersen *et al.*, 2014).

#### **5.1.2.1.3.2. Mejora de la función de barrera**

BB-12 mejora la función de barrera que es uno de los mecanismos centrales y generalmente aceptados de los probióticos. El mantenimiento de una capa de moco intacta y funcional y el revestimiento de células epiteliales en el tracto gastrointestinal es fundamental para mantenerse en forma y saludable (Jungersen *et al.*, 2014).

#### **5.1.2.1.3.3. Interacciones inmunitarias**

Los probióticos son capaces de comunicarse con el sistema inmunitario y afectarlo a través de las células inmunitarias ubicadas en el intestino. La cepa BB-12 es capaz de interactuar con las células inmunitarias y se ha demostrado que puede tener un impacto beneficioso sobre la función inmunitaria (Jungersen *et al.*, 2014).

#### 5.1.2.1.4. Efectos benéficos a la salud de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12

Los efectos benéficos dentro de la salud gastrointestinal y la función inmunológica de BB-12 se han demostrado a través de investigaciones clínicas (Jungersen *et al.*, 2014) y se muestran en la tabla 3.

Tabla 1. Efectos benéficos a la salud de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12

Efecto benéfico	Descripción
Supervivencia de BB-12 a través del tracto gastrointestinal	BB- 12 no solo sobrevive muy bien durante el paso por el tracto gastrointestinal, sino que también coloniza transitoriamente el colon.
Respalda una microbiota gastrointestinal saludable	El intestino grueso humano alberga una amplia variedad de bacterias, siendo las bifidobacterias miembros destacados de este complejo ecosistema. En general, se cree que las bifidobacterias y los lactobacilos contribuyen a la salud gastrointestinal. Durante la vejez, las bifidobacterias y los lactobacilos comienzan a disminuir en número, coincidiendo con la proliferación de otros grupos bacterianos. El consumo de BB-12 facilita un aumento del número total de bifidobacterias y puede inhibir algunas bacterias indeseables en la microbiota gastrointestinal.
Mejora la función intestinal	Los estudios en adultos sanos han demostrado que BB-12 aumenta la frecuencia de las deposiciones y suaviza la consistencia de las heces. BB-12 mejora la función intestinal, particularmente en subgrupos con estreñimiento leve.
Efecto protector contra la diarrea	Se ha demostrado que las bifidobacterias, así como otras bacterias productoras de ácido láctico, tienen un efecto protector contra la diarrea aguda y persistente. BB-12 puede tener un efecto beneficioso tanto en la incidencia como en la duración de la diarrea en lactantes y niños.
Reduce los efectos secundarios del tratamiento con antibióticos	El tratamiento con antibióticos puede causar efectos secundarios graves. Normalmente, la alteración de la microbiota gastrointestinal causada por los antibióticos provoca vómitos y diarrea. Los probióticos han demostrado ser capaces de reducir los efectos secundarios y además aumentar la tasa de finalización del tratamiento antibiótico. Además, los probióticos pueden acelerar la recuperación después del tratamiento con antibióticos.

---

Función inmune	BB-12 aumenta la resistencia del cuerpo a las infecciones respiratorias comunes y reduce la incidencia y duración de infecciones agudas del tracto respiratorio.
----------------	--

---

Caglar *et al.* (2008) realizaron un estudio a 24 personas con una edad media de 20 años dándoles helado adicionado con *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 y encontraron que este probiótico reduce los niveles salivales de *Streptococcus mutans* que contribuye a una mala salud bucodental.

Ejtahed *et al.* (2011) realizaron un ensayo a 60 personas de las cuales 23 eran varones y 37 mujeres, les dieron yogurt adicionado con *Lactobacillus acidophilus* LA5 y *Bifidobacterium lactis* BB12 durante 3 semanas. El consumo de yogurt probiótico provocó una disminución del 4.54% del colesterol total y del 7.45% del colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad) en comparación con el grupo de control. El consumo de estos probióticos se asocia con el apoyo a niveles saludables de colesterol.

Un estudio realizado por Laitinen *et al.* (2008) probó en mujeres embarazadas con una determinada dieta junto con BB-12 afecta positivamente el control del azúcar en la sangre por parte del cuerpo. Al paso del tiempo la dieta y los probióticos produjeron una mejora constante del metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina en 256 mujeres embarazadas sanas. Gracias a estos resultados existe evidencia clínica de la importancia de la microbiota intestinal en el control saludable del azúcar en la sangre durante y después del embarazo.

Vlieger *et al.* (2009) realizaron un experimento con un grupo de 126 recién nacidos, donde recibieron un fórmula adicionada con *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* y *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* durante los primeros 3 meses de vida y otros fueron el control. Estadísticamente no se encontraron diferencias en cuanto al aumento de peso, longitud y perímetro cefálico de los bebés con probióticos y los control. Sin embargo, los lactantes del grupo de los probióticos produjeron heces más blandas y frecuentes durante los 3 primeros meses de vida.

Un estudio realizado por Nocerino *et al.* (2019) encontraron que la suplementación a lactantes con *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 es eficaz en el tratamiento de los cólicos, asociado con menos llanto excesivo e irritabilidad en los bebés. El efecto podría derivarse de la modulación de la estructura y la función de la microbiota intestinal.

Isolauri *et al.* (2000) hicieron un estudio suplementando *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 y *Lactobacillus* cepa GG (ATCC 53103) a lactantes con dermatitis atópica. Los resultados demostraron clínicamente que las cepas probióticas reducen los casos de piel irritada, seca y escamosa en bebés.

## 5.2. Edulcorantes naturales

El acuerdo de aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios (2016) define a los edulcorantes como “*las sustancias diferentes de los mono y disacáridos, que imparten un sabor dulce a los productos*”.

El crecimiento del mercado de los alimentos bajos en calorías y para diabéticos ha provocado el uso de edulcorantes no calóricos en especial los naturales (Alonso, 2010).

En la presente tesis se utilizó para endulzar el queso petit suisse de guayaba el edulcorante natural de Luo han guo que es un extracto del fruto de la planta *Siraitia* o *Momordica grosvenori* y los polioles isomaltol y eritritol, como dice Alonso (2010) “*Luo Han Guo tiene un sabor limpio que combina bien con muchos otros edulcorantes, tales como xilitol y otros polialcoholes*”. El uso de edulcorantes naturales fue para obtener un producto bajo en calorías y que no tenga exceso de azúcares evitando los sellos de advertencia en el etiquetado.

### 5.2.1. Extracto de Luo Han Guo

De acuerdo con Fu Li *et al.* (2017) el extracto de Luo Han Guo es 300 veces más dulce que la sacarosa y se obtiene del fruto de la planta *Siraitia* o *Momordica grosvenori*. Los mogrósidos de tipo III, IV y el V son las moléculas que proporcionan el sabor dulce, específicamente el mogrósido V se ha relacionado con propiedades antidiabéticas, antitumorales, antiinflamatorias y antioxidativas (Luo *et al.*, 2016). El extracto de Luo Han Guo ayuda al descenso de los niveles de azúcar en sangre, favorece la respuesta a la insulina y protege los riñones y páncreas alterados en pacientes diabéticos (Alonso, 2010).

No presenta toxicidad y está reconocido como generally recognized as safe (GRAS) por la Food and Drug Administration desde marzo del 2017. En México la Comisión Federal para la Protección de Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) clasificó al extracto de Luo Han como edulcorante que puede ser utilizado con buenas prácticas de fabricación en el 2018.

### 5.2.2. Polioles

La Food and Drug Administration (FDA) (2021) menciona que químicamente los polioles presentan tanto características del azúcar como del alcohol. Proporcionan menos calorías que los carbohidratos porque se absorben del intestino hacia la sangre de manera lenta e incompleta. Cuando se utilizan los polioles en la formulación de los alimentos, el Acuerdo de Aditivos (2016) obliga a colocar en el etiquetado “*el consumo en exceso puede tener un efecto laxante*”, debido a que algunas personas no observan los polioles completamente y las bacterias del intestino los fermentan produciendo gas, distensión abdominal y diarrea.

Se utilizan en la elaboración de alimentos de humedad intermedia por su capacidad de hidratación, reducen la  $a_w$  y con ello controlan el crecimiento de microorganismos. No son capaces de cristalizar y evitan que otros azúcares lo hagan, no intervienen en las reacciones de Maillard por no tener grupos reductores, aldehídos o cetonas (Badui, 2013).

Para endulzar el queso petit suisse se utilizaron los polioles isomaltol y eritritol. En un estudio realizado por Ribeiro *et al.* (2021) desarrollaron un queso petit suisse con avena, eritritol y xilitol. De acuerdo con las pruebas sensoriales el eritritol mostró una gran aceptación, y su sabor a menta no se percibió en el producto. En la prueba de aceptación general, los panelistas no percibieron ninguna diferencia entre las muestras que contenían eritritol y las que contenían sacarosa, por lo tanto, los polioles nos sirven para dar un dulzor semejante a la sacarosa.

#### 5.2.2.1. Eritritol

De acuerdo con Lopes *et al.* (2010) El eritritol de manera natural se encuentra en frutas y alimentos fermentados, como también en fluidos humanos y de animales. Se utiliza productos light y reducidos en calorías ya que por cada gramo solo aporta 0.2 kcal (Haji, 2008). En 1996, un panel independiente de expertos en seguridad alimentaria concluyó que el eritritol es generally recognized as safe (GRAS) por Estados Unidos (De Cock, 1999). En México este edulcorante no tiene una dosis máxima permitida conforme el Acuerdo de Aditivos (2016), utilizándose con buenas prácticas de fabricación.

#### 5.2.2.2. Isomaltol

El Isomaltol es un edulcorante disacárido compuesto por sorbitol y manitol. Tiene la característica de resistir a altas temperaturas de cocción 180°C (Sánchez, 2014). En relación a su toxicidad, solo cuando se consume en exceso presenta efectos laxantes y diuréticos (Badui, 2013).

The joint expert committee on food additives (JEFCA) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) no establece un límite de ingesta diaria admisible para este edulcorante. Estados Unidos lo reconoce como generally recognized as safe (GRAS) y está aprobado en la Unión Europea (E 953) y en muchos otros países del mundo (Tiefenbacher, 2017). En México el isomaltol no tiene un límite de dosis conforme lo establece el Acuerdo de Aditivos (2016), se puede utilizar con buenas prácticas de fabricación.

### 5.3. Guayaba

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es uno de los frutos más consumidos y que gusta mucho en todo el mundo. Yam *et al.* (2010) mencionan que México produce el 25% mientras que la India Pakistán y el 50% de la producción a nivel mundial. De acuerdo con Rodríguez (2022),

*“La Secretaría de Desarrollo Rural y Agroempresarial (SEDRAE) en el 2020 mencionó que la producción total de guayabas en Aguascalientes fue de 62 mil 897 toneladas para comercializar, lo cual ubica al estado como el segundo con mayor producción de todo el país, lugar que conservó en el 2021 en el ranking nacional con una producción de 67 mil 127 toneladas. De acuerdo a datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), los estados de Michoacán, Aguascalientes y Zacatecas, en ese orden, son los principales productores de guayaba en el país”.*

Se han encontrado en las frutas compuestos llamados fitoquímicos o sustancias bioactivas que ayudan a prevenir el desarrollo de diferentes tipos de cáncer y enfermedades cerebrovasculares, enfermedades cardiovasculares e incluso el Alzheimer. Aunque no están totalmente claros los mecanismos de acción de estos compuestos, su efecto benéfico se debe a las interacciones entre los componentes del alimento y el organismo (Martínez *et al.*, 2008). Recientemente, se han empezado a explorar los subproductos de la fruta (cáscara y semillas) debido a su potencial prebiótico asociado a cantidades considerables de fibras alimentarias y polifenoles, además, podemos reducir el desperdicio de alimentos que es una tendencia creciente que repercute en todas las fases de la cadena agroalimentaria (Massari, 2022). Estos compuestos poseen actividad antiinflamatoria y pueden reducir la disbiosis, que se caracteriza por alteraciones en la composición y función de la microbiota intestinal y, por tanto, pueden reducir la aparición o progresión de varias

enfermedades (De Oliveira *et al.*, 2022). Diferentes estudios han identificado en la guayaba los siguientes compuestos bioactivos: ácidos fenólicos (ácido cafeico), flavonoides (Quercetina y kaempferol) y Carotenoides (betacaroteno y licopeno) (Da Silva *et al.*, 2014; Batista *et al.*, 2018; de Oliveira, 2020).

En este trabajo de investigación se utilizó la guayaba como fruta para saborizar e incorporar los compuestos bioactivos presentes en ella de manera natural para hacerlo más funcional, como dice Banwo *et al.* (2021) los compuestos bioactivos naturales como los flavonoides, carotenoides, ácidos fenólicos, etc. son especialmente importantes para la producción de alimentos funcionales y medicinales. Además, la guayaba tiene una alta producción en Aguascalientes y el consumo de productos regionales se han intensificado con la pandemia de COVID-19 (Steinbach, 2021); también se ubica dentro de las primeras 10 frutas consumidas en México por sus características nutricionales y disponibilidad durante todo el año (Ramos *et al.*, 2017). El producto se formuló con fruta de guayaba sin sabores ni colorantes artificiales para que sea natural, esto debido a que los hábitos de consumo de los productos lácteos en México y en todo el mundo están cambiando hacia el uso de ingredientes naturales y sostenibles (Escudero, 2022).

## 5.4. Queso

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) a través de la NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018, define al queso como:

*“Producto blando, semiduro, duro y extraduro, 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, obtenido mediante: a) Coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche descremada, leche parcialmente descremada, crema, mantequilla, o de cualquier combinación de estos productos, 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 debe ser más alto que el de la mezcla de los productos lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso, y/o b) Técnicas de elaboración que conducen a la coagulación de la proteína de la leche y/o productos obtenidos de la leche que dan un producto final que posee las mismas características físicas, químicas y organolépticas que el producto definido en el apartado (a)”.*

En este trabajo de investigación se elaboró queso petit suisse el cual se clasifica como queso fresco. La NOM-243-SSA1-2010 define a los quesos frescos como *“aquellos que además de cumplir con la definición general de queso se caracterizan por su alto contenido de humedad, y por no tener corteza o tener corteza muy fina, pudiendo o no adicionarles aditivos e ingredientes opcionales”.*

#### **5.4.1. Queso Petit Suisse**

El queso petit suisse, se define como un queso fresco elaborado a partir de cuajada de leche de vaca, con o sin adición de crema, se caracteriza por su alto contenido de humedad y por no tener corteza (Bautista, 2014).

Su origen es francés y la receta original cuanta más del 40% de grasa. En México se elaboran versiones menos grasosas adicionadas con azúcar y con diferentes tipos de fruta para darle sabor (Profeco, 2014).

El queso petit suisse aporta una cantidad considerable de hidratos de carbono, proteínas, grasa y calcio que lo hace nutritivo. Además, en este trabajo se le adicionó inulina como prebiótico y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 como probiótico para hacerlo un alimento funcional.

#### **5.4.2. Ingredientes y aditivos para la elaboración de la cuajada**

El queso petit se elaboró principalmente de cuajada, crema de vaca al 30% y pulpa de guayaba, a continuación, se describen los ingredientes y aditivos que se utilizaron para la elaboración de la cuajada.

##### **5.4.2.1. Leche**

La leche se define como *“la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie animal, excluido el calostro”* según la NOM-243-SSA1-2010. La evaluación de la calidad de la leche es fundamental para elaborar productos inocuos y para la elaboración de lácteos específicos, según las exigencias del producto y proceso (Villegas de Gante, 2015). Las Calidades y los parámetros de medición se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Calidades que la leche debe cumplir para su uso

Calidad	Medición de Parámetros
Composicional	% de sólidos totales, % de grasa y % de proteína.
Fisicoquímica	pH de la leche, acidez titulable total, densidad, punto crioscópico, viscosidad y estabilidad al alcohol.
Sanitaria	Carga de bacterias mesófilas aerobias, cuenta de coliformes, células somáticas y presencia de inhibidores como los antibióticos.
Sensorial	Color, sabor y olor.
Tecnológica	Fermentabilidad, cuajabilidad y estabilidad al calor.

#### 5.4.2.2. Cloruro de calcio

El cloruro de calcio es una fuente de iones calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ), los cuales participan en la formación de la red caseínica constituida por micelas proteicas más o menos modificadas, unidas por puentes cálcicos y fosfocálcicos (puentes salinos) entre otros tipos de enlaces. Este compuesto se incorpora en una dosis que va de unos 10 a 20 g por 100 litros de leche. Dado un determinado pH o acidez en la leche de proceso, si la concentración de calcio soluble se incrementa, el tiempo de cuajado disminuye y la tensión o consistencia de la cuajada aumenta (Villegas de Gante, 2012).

#### 5.4.2.3. Enzima Coagulante

Al complejo de enzimas que se encuentran en el jugo gástrico de los mamíferos rumiantes y cuya función es cuajar la leche, de forma que se ralentice su paso por el estómago permitiendo así su absorción se le llama “cuajo”. Por esta propiedad el cuajo se utiliza para la fabricación de quesos que básicamente es la cuajada procesada (Itziar & Gemma, 2008).

### 5.4.3. Proceso de la elaboración de la cuajada

Para este trabajo de investigación se utilizó leche de vaca pasteurizada y descremada. En la figura 2 se observa el diagrama de flujo para la obtención de la cuajada y más adelante la descripción detallada de cada etapa.

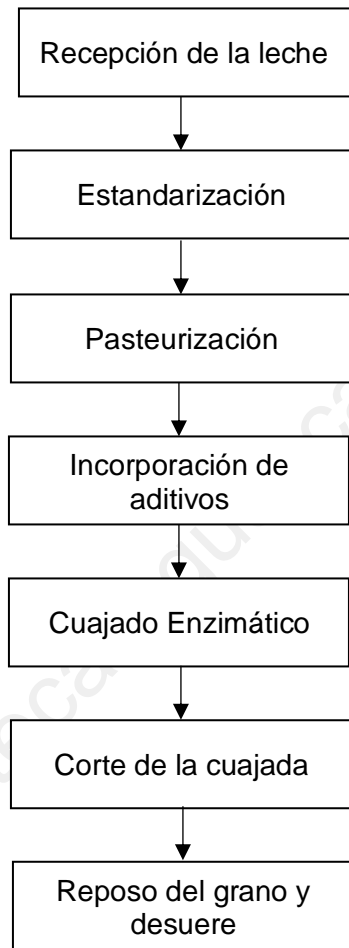


Figura 2. Diagrama de proceso cuajada

#### 5.4.3.1. Recepción de la leche

La leche con más de 85% de agua, es quizá uno de los alimentos de menor vida útil es por ello que deben controlarse los agentes de deterioro como los microorganismos y las enzimas (Villegas de Gante, 2015). En esta etapa es necesario evaluar todas las calidades a través de las pruebas que se describen en la tabla 2. Para conservar la leche en buen estado es necesario almacenarla a temperatura de refrigeración antes de su procesamiento.

#### 5.4.3.2. Estandarización

Estandarizar la leche de quesería significa ajustar la proporción de caseína respecto a la de la grasa, o también el coeficiente de caseína/grasa para lograr un queso de características sensoriales uniformes. Uno de los objetivos clave de tener el control en el cociente caseína/grasa es lograr una composición regular, más o menos constante, del queso elaborado considerando dos de sus tres componentes básicos: grasa y proteína; el otro es el agua. Estos componentes, por su contenido, caracterizan a los distintos tipos de queso, la proporción de cada uno de ellos y su variación influyen en las características sensoriales del producto, principalmente en la textura (Villegas de Gante, 2012).

#### 5.4.3.3. Pasteurización

El proceso de pasteurización original se desarrolló para destruir a *Mycobacterium tuberculosis* a 61.5°C por 30 min; sin embargo, a esta temperatura sobrevive la *Coxiella burnetti*, que es el patógeno más termorresistente que se cree en la leche, por esto la temperatura se incrementó a 63°C por 30 min. Actualmente, se realiza en intercambiadores de calor a 71.8°C durante 15 s de tratamiento efectivo. La pasteurización está diseñada para la reducción de 12 ciclos logarítmicos de la cuenta microbiana de *Coxiella burnetti*. La

eficacia de la pasteurización se valida de forma indirecta al medir la actividad residual de la fosfatasa alcalina, ya que su desactivación indica que el tratamiento térmico fue efectivo (Badui, 2013).

#### **5.4.3.4. Incorporación de aditivos**

En esta etapa se agregan los aditivos en función al queso que se desee elaborar. Los aditivos más empleados en la quesería mexicana, sin duda, son el cloruro de calcio, nitrato de sodio o potasio, y colorantes (Villegas de Gante, 2012).

#### **5.4.3.5. Cuajado enzimático**

El fenómeno de la coagulación enzimática de la leche puede dividirse en dos etapas básicas: a) La hidrólisis enzimática de la k-caseína, fase enzimática o fase primaria y b) La fase de agregación micelar, o fase no enzimática, secundaria.

Antes de cuajar es necesario ajustar la temperatura de la leche, ya que esta constituye uno de los factores clave en el cuajado enzimático; en principio tiene que ver con que se dé la formación del gel, o no. La mayoría de los quesos genuinos no se emplean temperaturas mayores a de 38°C para cuajar la leche (no obstante que la temperatura óptima de la renina es de 42°C) (Villegas de Gante, 2012).

La coagulación de la leche es por vía enzimática, la enzima se adiciona a la leche una vez que está a la temperatura óptima de reacción. Este proceso es iniciado por una proteólisis enzimática selectiva de las proteínas de la leche, dando como resultado la desestabilización de las micelas de la caseína con formación del coágulo.

#### **5.4.3.6. Corte de la cuajada**

El corte del coágulo constituye un paso esencial en el proceso de deshidratación de la leche durante su transformación en queso, o visto de otra manera, en la concentración de la materia seca útil (proteína y grasa butírica), en un material que al evolucionar durante y después del proceso en tina dará origen a un queso más o menos madurado (Villegas de Gante, 2012).

Una vez que el gel está maduro se corta con liras afiladas de acero inoxidable con una distancia entre ellas de 0.8 y 2 cm, dependiendo del tamaño que se requiera del grano. El corte se realiza primero de forma horizontal y después vertical.

#### **5.4.3.7. Reposo del grano y desuere**

Tras el corte, la cuajada fraccionada en granos más o menos regulares en forma y casi del mismo tamaño, tiende a contraerse rápidamente el suero. Las partículas de cuajada cortadas se sedimentan con el objetivo que estas, por sí mismas, empiecen a sintetizar para que comience a darse el almacenamiento de cada grano y de la cuajada como un todo; esto por la tendencia natural (la sinéresis) de la malla de fosfocaseinato de calcio que constituye el gel quesero. El tiempo de asentamiento del coágulo cortado es del orden de 10 a 20 min. Al final de este lapso se cuenta con un solo bloque de cuajada en el fondo de la tina (Villegas de Gante, 2012).

## **5.5. Vida de Anaquel**

Fu & Labuza (1997) definen a la vida de anaquel de un alimento como “*el periodo de tiempo en el que el alimento es seguro para el consumo y/o tiene una calidad aceptable para los consumidores*”. La Comunidad Económica Europea (CEE) sobre etiquetado de los alimentos (89/395) define a la vida de anaquel como el tiempo durante el cual el producto alimenticio conserva sus propiedades específicas cuando se almacena correctamente.

### **5.5.1. Efecto de factores ambientales sobre la vida de anaquel**

La temperatura, humedad relativa, presión parcial y total de los gases, luz y fuerza mecánica se consideran los factores ambientales que inciden en el alimento disminuyendo su vida de anaquel a través del tiempo. La temperatura afecta en gran medida la velocidad de reacción, ya que tiene un efecto directo sobre el alimento desde el exterior. El resto de los factores se controlan en cierta medida a través del empaque (Taoukis *et al.*, 1997).

### **5.5.2. Efecto de los factores del alimento sobre la vida de anaquel**

El contenido de humedad y la actividad del agua ( $a_w$ ) son los factores más importantes, además de la temperatura que afectan a la velocidad de las reacciones de deterioro de los alimentos (Taoukis *et al.*, 1997). La  $a_w$  nos indica la cantidad de agua en un alimento que está disponible para las distintas reacciones que se producen, por esto, es muy importante para el análisis de las condiciones de procesamiento y predicción de la vida útil de los alimentos (Barbosa *et al.*, 2000).

Como se observa en la figura 3 mientras aumenta la actividad de agua y la humedad de los alimentos las reacciones de deterioro como el crecimiento microbiano, la oxidación lipídica y el oscurecimiento enzimático y no enzimático aumentan exponencialmente su velocidad.

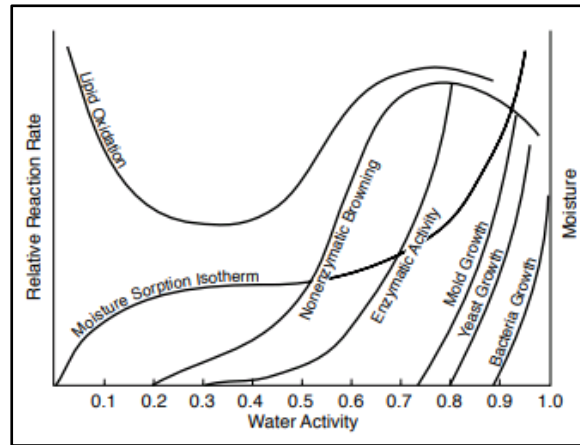


Figura 3. Reacciones de deterioro en función de la actividad de agua y humedad, tomada de Taoukis et al. (1997)

El pH afecta las reacciones microbianas, enzimáticas y proteicas del sistema alimentario. Límites por arriba y por abajo del pH óptimo cesa la actividad microbiana y enzimática al igual que la temperatura. La funcionalidad y solubilidad de las proteínas dependen del pH, lo que provoca un efecto directo en las reacciones de deterioro (Taoukis et al., 1997).

Otro factor importante es el oxígeno, la función de las cantidades limitantes o en exceso de  $O_2$  en el alimento afecta la velocidad y el orden de aparición de las reacciones oxidativas. La exclusión o limitación del oxígeno mediante el envasado al vacío reduce el potencial redox y ralentiza las reacciones indeseables (Taoukis et al., 1997).

Para este trabajo se realizó la vida de anaquel en tiempo real basándose en la norma internacional ISO 16779:2015 que la define como “metodología que es capaz de evaluar la estabilidad de un producto, basado en datos que son obtenidos en un periodo significativamente corto de tiempo”. Se considera para productos con una vida útil de igual o menor a 6 meses. La degradación del alimento puede ser fisicoquímica o microbiológica, aunque generalmente para vida de anaquel en tiempo real es microbiológica.

Para determinar la vida de anaquel del queso petit suisse de guayaba se determinó en tiempo real y se realizó mediante análisis microbiológicos, sensoriales y fisicoquímicos.

Biblioteca Aguascalientes

## 6. Objetivo General

Desarrollo de queso petit suisse funcional adicionado con prebióticos (inulina) y probióticos (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12) sin azúcares añadidos con edulcorantes naturales y con características sensoriales aceptables para adultos.

### 6.1. Objetivos Específicos

6. 1.1. Desarrollar dos formulaciones de queso petit suisse una de higo y otra de guayaba adicionadas con prebióticos y probióticos.

6.1.2. Seleccionar a través del análisis sensorial la fórmula que más les guste al consumidor y presente los atributos de un producto natural.

6.1.3. Realizar ajustes en caso de ser necesario a la fórmula seleccionada y evaluar nuevamente el grado de aceptación y determinar los atributos finales que los consumidores perciben del producto a través de pruebas sensoriales.

6.1.4. Determinar el empaque óptimo para la conservación adecuada del producto.

6.1.5. Realizar un estudio de vida de anaquel en tiempo real para determinar los días de vida del producto a través de análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales.

6.1. 6. Evaluar su efecto funcional a través del recuento viable de bacterias *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 al finalizar su vida de anaquel.

6.1.7. Analizar la normatividad que aplica para este tipo de productos.

6.1.8. Establecer el cálculo de la información nutrimental y etiquetado conforme a las normas mexicanas aplicables.

6.1.9. Calcular el costo de la formulación.

## 7. Metodología

En la figura 4 se presenta la metodología utilizada para esta investigación de manera general, en los siguientes apartados se describe a detalle cada etapa.

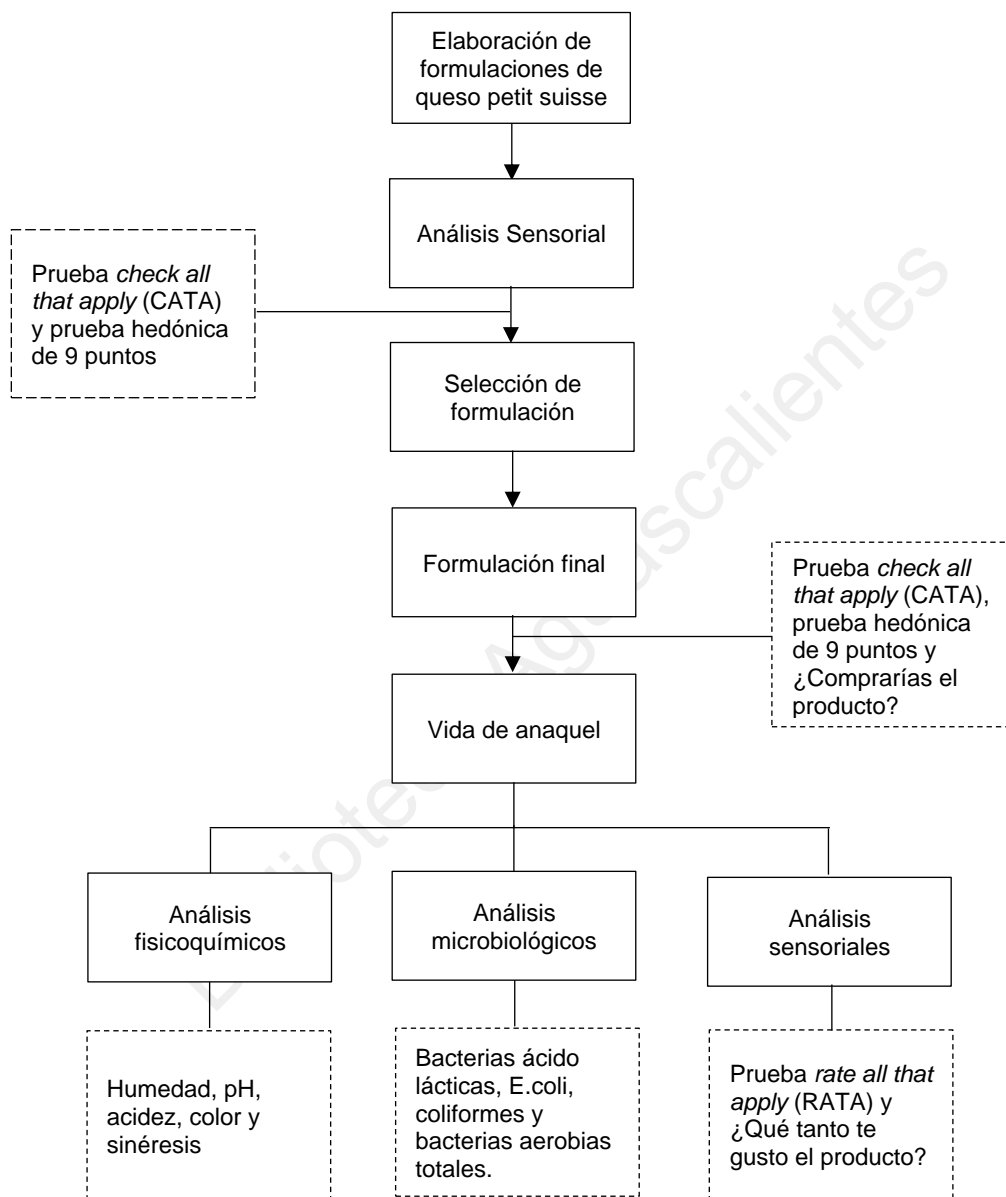


Figura 4. Diagrama de Flujo para la elaboración de queso petit Suisse

Inicialmente se realizaron dos formulaciones de queso petit suisse una con higo y la otra con guayaba, ambas formulaciones se analizaron sensorialmente a través de la prueba CATA (*Check all the apply*) y una escala hedónica de 9 puntos. De acuerdo a los resultados del análisis sensorial se seleccionó la fórmula de queso petit suisse con guayaba y se sometió nuevamente a la prueba CATA ya que el producto se reformuló sustituyendo el azúcar por edulcorantes naturales y se quitó la goma guar. Se aumentó el número de atributos y jueces consumidores en la prueba CATA, se realizó una escala hedónica de nueve puntos y se les preguntó si comprarían el producto.

Después del análisis sensorial, la fórmula final se sometió a un estudio de vida de anaquel en tiempo real durante 28 días haciendo muestreos a los días 0, 7, 14, 21 y 28. En cada muestreo se realizaron los siguientes análisis fisicoquímicos: humedad, pH, acidez titulable, color y sinéresis. También se realizaron los análisis microbiológicos de bacterias ácido lácticas, bacterias totales aerobias, E.coli y coliformes totales. Para evaluar las características sensoriales a través del tiempo se realizó la prueba sensorial RATA (*Rate all that apply*) y se les preguntó qué tanto les gustaba el producto, esto se realizó por 21 días con muestreos a los 0, 7 y 21 días por jueces semientrenados.

### 7.1.1. Desarrollo de dos formulaciones de queso petit suisse, una con higo y la otra con guayaba

Para realizar las formulaciones de queso petit suisse inicialmente se formuló para obtener la cuajada como se muestra en la tabla 3, después se hizo la fórmula con el higo y la fórmula con la guayaba como se ve en la tabla 4 y tabla 5 respectivamente.

*Tabla 3. Formulación para obtención de cuajada*

Componente	Cantidad (kg)	Porcentaje (%)
Leche	6.00000	98.563
Cloruro de Calcio	0.01200	0.197
Agua (Dilución CaCl <sub>2</sub> )	0.05000	0.821
Cuajo	0.00049	0.008
Agua (Dilución Cuajo)	0.02500	0.411
Total	6.08749	100

*Tabla 4. Formulación de queso petit suisse de higo*

Componente	Cantidad (kg)	Porcentaje (%)
Cuajada	0.476	45.18
Higo	0.264	25.06
Crema 30%	0.133	12.62
Azúcar	0.109	10.35
Agua	0.053	5.03
Inulina	0.007	0.66
Cultivo BB12	0.006	0.57
Ácido cítrico	0.002	0.19
Goma guar	0.0014	0.13
Grenetina	0.0014	0.13
Sal	0.00068	0.06
Total	1.05348	100%

Tabla 5. Formulación de queso petit suisse de guayaba

Componente	Cantidad (kg)	Porcentaje (%)
Cuajada	0.476	39.22%
Pulpa de Guayaba	0.462	38.06%
Crema 30%	0.133	10.96%
Azúcar	0.122	10.05%
Inulina	0.007	0.58%
Cultivo BB12	0.006	0.49%
Sal	0.003	0.25%
Ácido cítrico	0.002	0.16%
Goma Guar	0.0014	0.12%
Grenetina	0.0014	0.12%
Total	1.2138	100.00%

El procedimiento para la elaboración del queso petit suisse de higo se muestra en la figura 5 y el del queso petit suisse de guayaba en la figura 6. En ambos procedimientos se realizó por separado la obtención de la pulpa a partir de la fruta y después se elaboró la cuajada, mezclando ambos ingredientes para obtener el producto final.

Para tener un producto funcional se le adiciono inulina como prebiótico y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 como prebiótico adicionando la cantidad necesaria recomendada por el proveedor (Chr. Hansen, Dinamarca) para obtener más de  $1 \times 10^6$  ufc/g de producto terminado. El cultivo era liofilizado y con el objetivo de tener una dispersión homogénea se diluyó en leche pasteurizada descremada y se mantuvo a 37°C por 1 h antes de adicionarlo a la mezcla de cuajada, pulpa de guayaba, crema de vaca y aditivos.

Para garantizar la inocuidad del queso petit suisse se sometió tanto la pulpa de higo como de guayaba a un proceso térmico a 85°C por 15 s, cuidando así la inhibición del cultivo por contaminación microbiológica.

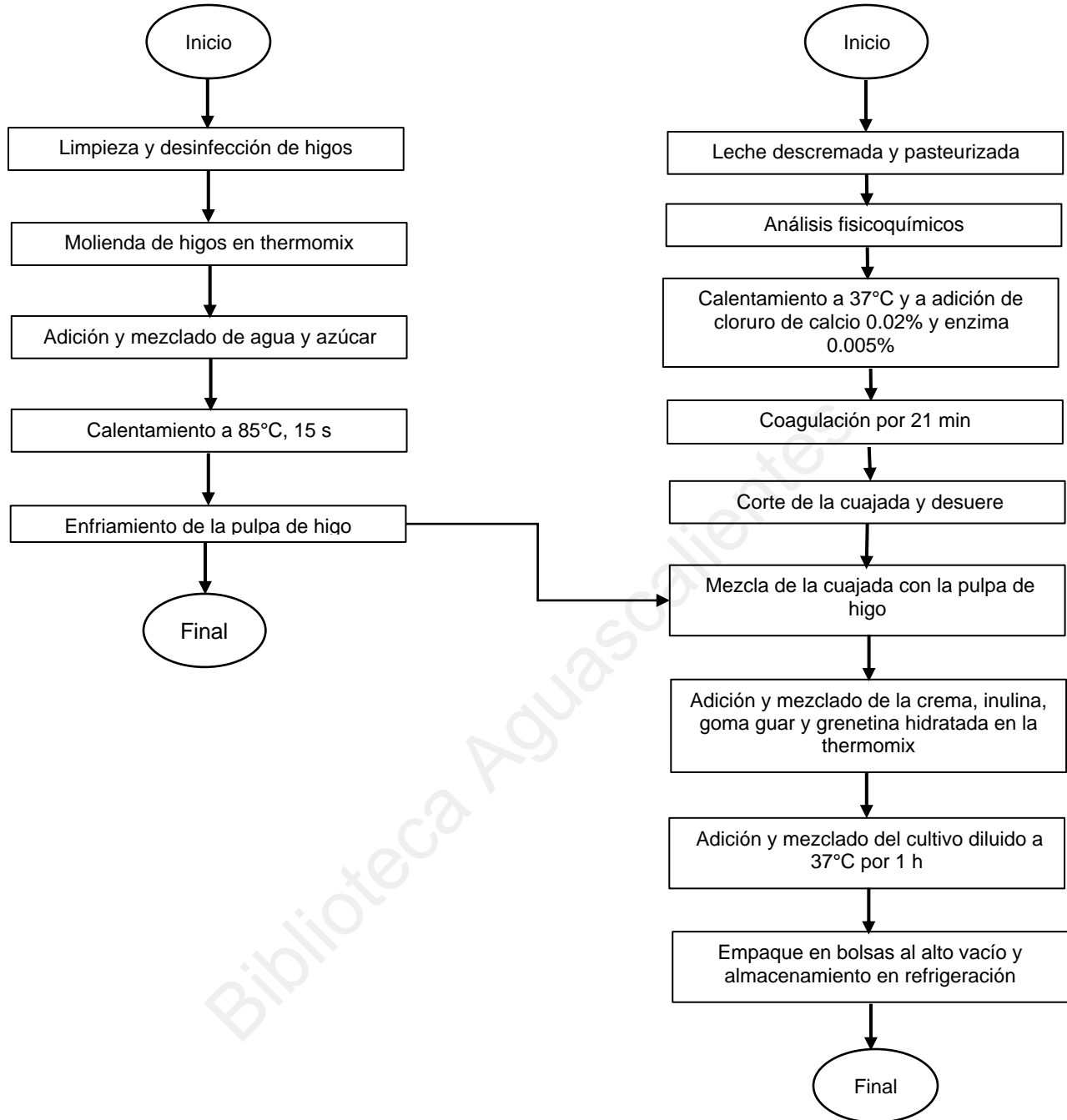


Figura 5. Metodología para la obtención de queso petit suisse de higo

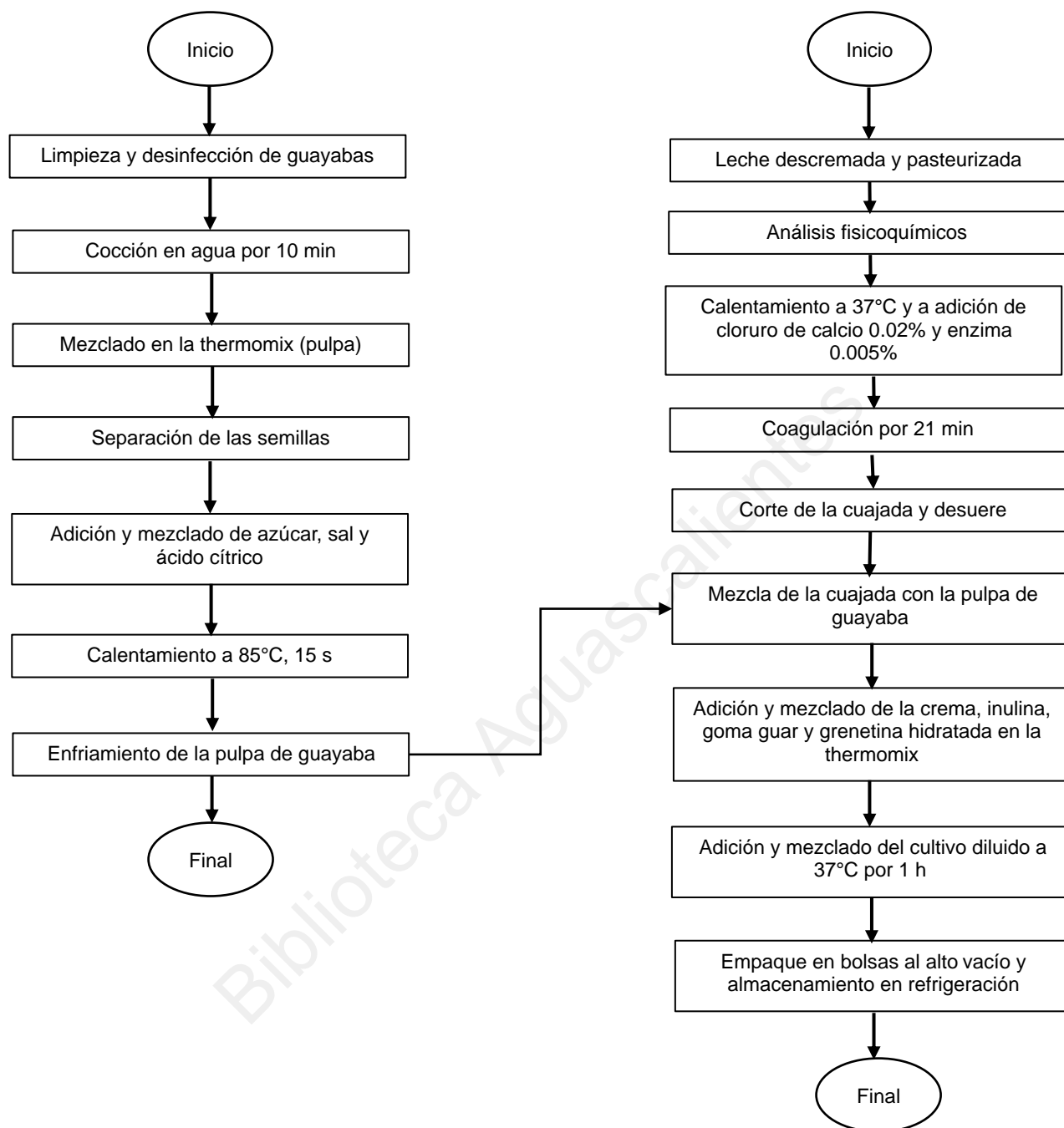


Figura 6. Metodología para la obtención de queso petit suisse de guayaba

### **7.1.2. Análisis sensorial para obtener la fórmula más gustada por el consumidor y con atributos naturales**

Las formulaciones de queso petit suisse de higo y guayaba fueron sometidas a la prueba sensorial CATA (*check all that apply*) evaluando los siguientes atributos: color natural, sabor artificial, sabor natural, falta de sabor, cremoso, olor agradable, dulce, ácido, sabor frutal, buen retrogusto, textura firme y olor frutal. También realizaron una prueba hedónica en una escala de 9 puntos con el objetivo de seleccionar el sabor que más agrade al consumidor y que fuera percibido como el más natural y saludable. La metodología utilizada se describe a continuación:

1. Se seleccionaron 30 consumidores de la Universidad Panamericana campus Aguascalientes y se les invitó a realizar la prueba a través de su correo electrónico.
2. Se citó al consumidor el día, lugar y hora de la prueba.
3. Se le proporcionó a cada consumidor un usuario y contraseña para poder hacer la prueba a través del sistema (FIZZ Software Biosystèmes, Francia).
4. Firmaron el contrato de uso de la información y confidencialidad.
5. Se presentaron las muestras en vasos con codificación aleatoria.
6. Degustaron las muestras y contestaron el cuestionario proporcionado.
7. Terminaron la prueba.

El cuestionario que se aplicó a las fórmulas de higo y guayaba se presenta en la figura 7.

**1. Seleccione los atributos que definen el producto. Elija al menos 5 y no tiene un máximo de opciones.**

Color natural	Dulce
Sabor artificial	Ácido
Sabor natural	Sabor afrutado
Falta de sabor	Buen regusto
Cremoso	Textura firme
Olor agradable	Olor afrutado

**2. ¿Qué tanto te gustó el producto?**

9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta bastante
6	Me gusta ligeramente
5	Ni me gusta, ni me disgusta
4	Me disgusta ligeramente
3	Me disgusta bastante
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

Figura 7. Cuestionario aplicado a las formulaciones de higo y guayaba

### 7.1.3. Reformulación y análisis sensorial de la fórmula seleccionada

Con los resultados obtenidos de la prueba sensorial, se eligió la fórmula de queso petit suisse de guayaba, sin embargo, se reformuló como se muestra en la tabla 6 siendo la fórmula final, sustituyendo el azúcar por isomaltol, eritritol y se eliminó la goma guar. El proceso final que se utilizó para esta reformulación se muestra en la figura 8. Previamente a la leche se le determinó la temperatura, pH y acidez. Una vez que se obtuvo la pulpa de guayaba se determinó el pH y sólidos totales. A la cuajada se le midió la humedad y pH.

Tabla 6. Reformulación de queso petit suisse de guayaba y fórmula final

Componente	Cantidad (kg)	Porcentaje (%)
Cuajada	1.040	48.22%
Pulpa de guayaba	0.521	24.15%
Crema de vaca 30%	0.287	13.31%
Isomaltol	0.150	6.95%
Eritritol	0.092	4.27%
Cultivo BB12	0.045	2.09%
Inulina	0.007	0.32%
Grenetina	0.006	0.28%
Sal	0.005	0.23%
Frutos del Monje	0.002	0.09%
Ácido cítrico	0.002	0.09%
<b>Total</b>	<b>2.157</b>	<b>100.00%</b>

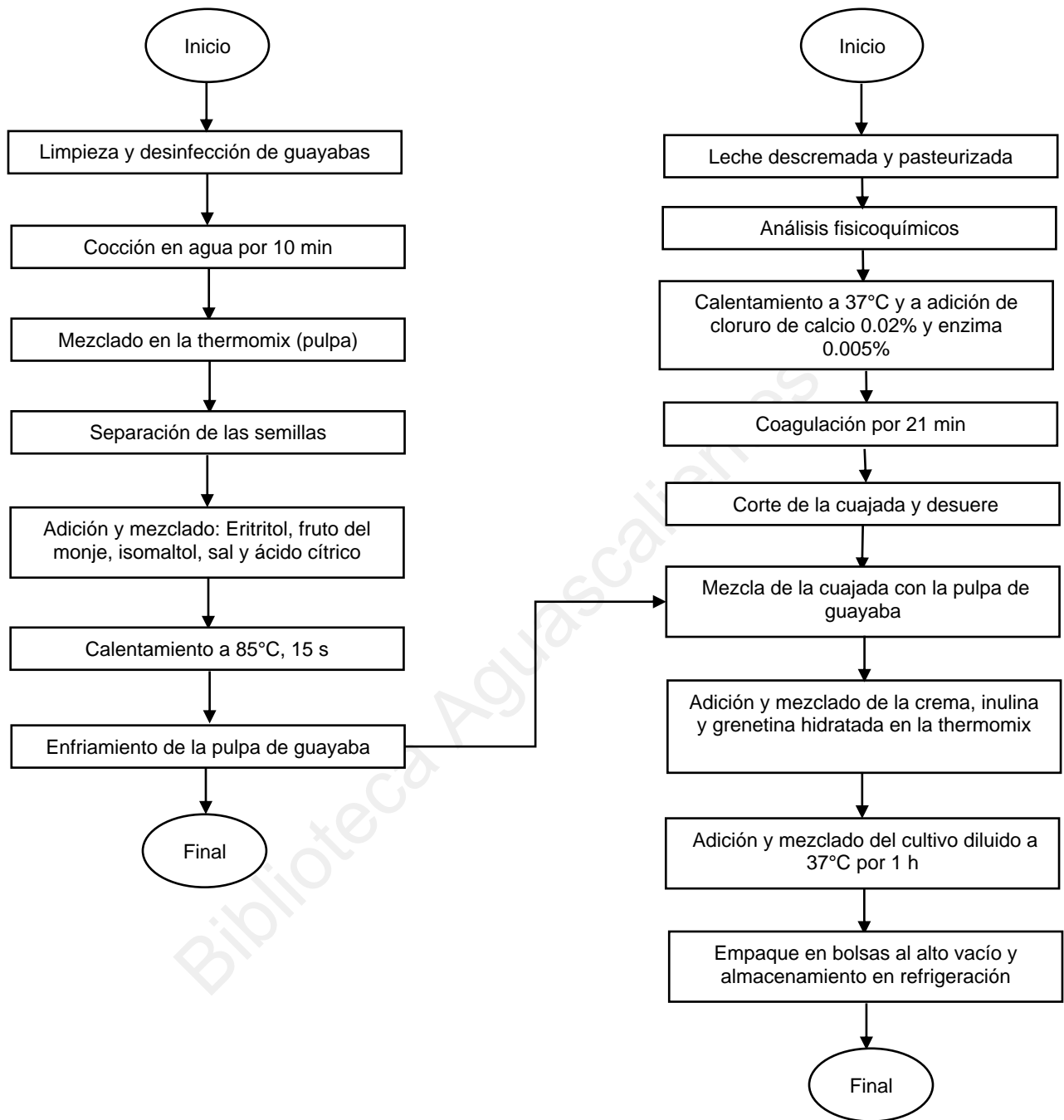


Figura 8. Metodología de la reformulación de queso petit suisse de guayaba y proceso final

La fórmula final se sometió nuevamente a la prueba CATA (*check all that apply*) aumentando el número de jueces consumidores de 30 a 100. También se incrementaron los atributos de 12 a 20 y fueron: vista agradable, color natural, color artificial, olor agradable, olor afrutado, sin olor, sabor insípido, sabor artificial, sabor natural, sabor afrutado, sabor lácteo, sabor metálico, falta de sabor, cremoso, dulce, ácido, textura firme, textura fluida, buen retrogusto y grumoso. También realizaron una prueba hedónica en una escala de 9 puntos y se les preguntó si comprarían el producto en el supermercado. La metodología utilizada se describe a continuación:

1. Se seleccionaron 100 consumidores de la Universidad Panamericana campus Aguascalientes y se les invitó a realizar la prueba a través de su correo electrónico.
2. Se citó al consumidor el día, lugar y hora de la prueba.
3. Se le proporcionó a cada consumidor un usuario y contraseña para poder hacer la prueba a través del sistema (FIZZ Software Biosystèmes, Francia).
4. Firmaron el contrato de uso de la información y confidencialidad.
5. Se presentó la muestra en vaso codificado.
6. Degustaron la muestra y contestaron el cuestionario proporcionado.
7. Terminaron la prueba.

El cuestionario que se aplicó al queso petit suisse de guayaba se muestra en la figura 9.

**1. Seleccione los atributos que mejor definen el producto (mínimo 10).**

Vista agradable	Sabor lácteo
Color natural	Sabor metálico
Color artificial	Falta de sabor
Olor agradable	Cremoso,
Olor afrutado	Dulce
Sin olor	Ácido
Sabor insípido	Textura firme
Sabor artificial	Textura fluida

**2. ¿Compraría este producto en el supermercado?**

Si    No

**3. ¿Qué tanto te gustó el producto?**

9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta bastante
6	Me gusta ligeramente
5	Ni me gusta, ni me disgusta
4	Me disgusta ligeramente
3	Me disgusta bastante
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

Figura 9. Cuestionario de fórmula final queso petit suisse guayaba

#### 7.1.4. Selección del empaque óptimo para el producto

Para este trabajo de investigación se revisaron 3 diferentes empaques primarios con la finalidad de elegir el óptimo de acuerdo a las características del queso petit suisse y a los 28 días esperados de vida útil.

Los empaques revisados fueron:

1. Bolsa laminada compuesta de polipropileno, etileno-alcohol-vinílico y polietileno (PP/EVOH/PE) para alto vacío.
2. Envase rígido termoformado con láminas multicapa de poliestireno, etileno-alcohol-vinílico y poliestireno (PS/EVOH/PS). Tapa pelable termosellada laminada de aluminio y polietileno (AL/PE).
3. Bolsa doypack con boquilla y tapa. Bolsa compuesta por polietileno-tereftalato-poliéster, aluminio, nylon y polietileno (PET/AL/Nylon/PE). Boquilla y tapa de polietileno (PE).

Se analizó con base a las fichas técnicas de los proveedores de estos empaques la funcionalidad de cada uno y se eligió el que más se adecuó a las características del producto para su conservación, y al que pueda conducir al consumidor a su compra.

Al empaque elegido se le realizó su matriz de diseño para evaluar cómo sus funciones (protección, utilidad y comunicación) interactúan con el ambiente humano, el biosférico y el físico (canal de distribución) que lo rodean.

## 7.1.5. Determinación de Vida de Anaquel

Para determinar la vida de anaquel del queso petit suisse de guayaba se sometió a un estudio en tiempo real, la metodología se describe a continuación.

### 7.1.5.1. Reacción principal de deterioro principal

Con base a la literatura se determinaron las reacciones principales de deterioro del queso petit suisse que pudieran surgir al paso del tiempo y se midieron a través de parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales, estableciendo así, los descriptores críticos y sus métodos de prueba como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Descriptores críticos y método de prueba

Parámetros	Descriptores críticos, método de prueba y referencia
Fisicoquímicos	<p><b>Humedad:</b> Pérdida de peso por evaporación (NOM-243-SSA1-2010).</p> <p><b>pH:</b> Medición con potenciómetro (NOM-F-317-S-1978).</p> <p><b>% de acidez titulable:</b> Determinación del % de ácido láctico (NOM-243-SSA1-2010).</p> <p><b>Color:</b> Determinación del color a través del sistema CIELAB. (Colorímetro de la marca Nix Pro).</p> <p><b>Sinéresis:</b> Inspección visual de la separación del agua.</p>
Microbiológicos	<p>Métodos para la determinación de <b>bacterias ácido lácticas (carácter probiótico), E.coli, coliformes totales y bacterias totales aerobias</b> (Placas de indicadores microbiológicos Petrifilm 3M).</p>
Sensoriales	<p><b>Prueba sensorial RATA (Rate all that apply):</b> Determinación de la generación de sabor rancio y amargo. Conservación del olor frutal, sabor lácteo y textura firme a través de una escala no estructurada.</p> <p><b>Prueba de nivel de agrado y aceptación:</b> Que tanto te gusto el producto.</p>

### 7.1.5.2. Diseño de vida útil

Una vez establecidos los descriptores críticos, se procedió a diseñar el estudio de vida útil en tiempo real. La temperatura de almacenamiento fue de 0 a 4 °C (refrigeración) con el 80% de humedad relativa y el tiempo de almacenamiento fue a los 7, 14, 21 y 28 días. El muestreo se realizó de manera escalada en cada tiempo de almacenamiento y se analizaron cada uno de los descriptores críticos que se muestran en la tabla 7.

A continuación, se presenta la metodología que se utilizó para realizar los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales para este estudio de vida útil.

### 7.1.5.3. Análisis Fisicoquímicos

#### 7.1.5.3.1. Determinación de Humedad

##### *Preparación de las Cápsulas.*

1. Se secaron 3 crisoles (Kavalier, República Checa) en una estufa (Novatech, México) controlada a 100 °C por 1 h.
2. Se introdujeron a un desecador y se enfriaron a temperatura ambiente.
3. Se pesaron en la balanza analítica (Optika, Italia) con una precisión de 0.1 mg.

##### *Secado de las muestras.*

1. En los crisoles (Kavalier, República Checa) previamente secados y pesados, se pesaron con exactitud y distribuidos homogéneamente 10 g de queso petit suisse de guayaba. Se dejaron secar en la estufa (Novatech, México) a 100 °C durante 24 h consecutivas.
2. Se enfriaron a temperatura ambiente y se pesaron.
3. Se realizaron los cálculos de acuerdo a la ecuación 1.

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

*Ecuación 1. Porcentaje de humedad*

En donde:

$m_0$  = masa en gramos del crisol

$m_1$  = masa en gramos del crisol con la muestra antes de secar.

$m_2$  = masa en gramos del crisol con la muestra después de secar.

#### **7.1.5.3.2. Determinación de pH**

##### *Preparación de muestra semisólida*

Se pesaron 50 g de queso petit suisse y se mezclaron perfectamente hasta obtener una pasta uniforme.

##### *Procedimiento*

1. Se calibró el potenciómetro (Ohaus, EUA) con las soluciones reguladoras de pH 4 y pH 7 (Golden Bell, México).
2. Se sumergió el electrodo en la muestra de manera que lo cubriera perfectamente y se hizo la medición del pH.
3. Se sacó el electrodo y se lavó con agua destilada.

##### *Expresión de Resultados*

El valor del pH de la muestra se tomó directamente en la escala del potenciómetro y las mediciones se hicieron por duplicado teniendo una diferencia de 0.1 entre ellas

### 7.1.5.3.3. Acidez Titulable

1. Se pesaron 9 g de queso petit suisse de guayaba en un matraz Erlenmeyer y se añadieron 18 g de agua destilada (2 veces el peso de la muestra) y se mezclaron perfectamente para homogenizar.
2. Se adicionaron 3 gotas de indicador de fenolftaleína al 1% (Golden Bell, México) y se tituló con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N (J.T. Baker, México) hasta que apareció un color rosa permanente por lo menos 30 s y con ayuda del potenciómetro validamos que llegara a un pH de 8.3.
3. El porcentaje de acidez se determinó a partir de la ecuación 2.

$$\% \text{ Acidez (expresada como ácido láctico)} = (V \times N \times 9) / M$$

*Ecuación 2. Porcentaje de Acidez*

Donde:

V = mL de NaOH 0.1 N gastados en la titulación.

N = Normalidad de la solución de NaOH

M = Volumen o peso de la muestra.

9 = equivalentes del ácido láctico

*Expresión de resultados.*

% Acidez titulable expresada como ácido láctico

#### **7.1.5.3.4. Determinación de Color**

El color se midió utilizando el colorímetro (Nix Pro, Canadá), la medición fue directamente sobre el empaque (bolsa transparente) colocando el colorímetro sobre la superficie, los resultados obtenidos fueron las coordenadas L\*a\*b\* del sistema CIELAB y llegaron a través de un smartphone. La medición del color se realizó cada semana en las fechas establecidas durante su estudio de vida de anaquel.

#### **7.1.5.3.5. Determinación de Sinéresis**

1. En una probeta de vidrio de 500 mL se llenó a la marca de 50 mL queso petit suisse de guayaba.
2. Se tapó con parafilm para evitar que se secase manteniendo la humedad inicial y se almacenó en el refrigerador (Criotec, México) a una temperatura de 0 a 7°C.
3. Se evaluó visualmente cada semana durante su estudio de vida de anaquel la presencia y el grado de sinéresis que presentaba.

#### **7.1.5.4. Análisis Microbiológicos**

##### **7.1.5.4.1. Esterilización del material**

1. Se esterilizó en una autoclave vertical (Novatech, México) manual 100 mL de agua destilada en un frasco de vidrio, 5 tubos de vidrio con 9 mL de agua destilada cada uno y puntas plásticas para la pipeta automática a una temperatura de 121°C y presión de 1.5 kg/cm<sup>2</sup> por 40 min.
2. Para su uso se dejó enfriar en la campana de flujo laminar (Novatech, México).

#### **7.1.5.4.2. Preparación de la muestra**

1. En la campana de flujo laminar (Novatech, México) se pesó 10 g de queso petit suisse de guayaba y se disolvieron en 90 mL de agua destilada esterilizada, corresponde a dilución  $10^{-1}$ .
2. La solución se mezcló en el homogeneizador (Germfree Scientz-09, China) por 2 min a una velocidad constante.
3. De la muestra preparada que corresponde a la dilución  $10^{-1}$  se tomó 1 mL y se diluyó en un tubo con 9 mL de agua destilada esterilizada (dilución  $10^{-2}$ ) y se mezcló con el agitador vortex (IKA, China). Se diluyó así hasta obtener la preparación  $10^{-6}$ .

#### **7.1.5.4.3. Inoculación e incubación de las placas Petrifilm 3M**

##### **7.1.5.4.3.1. Bacterias aerobias totales**

1. Se colocó la Placa 3M™ Petrifilm™ AC (recuento de aerobios) sobre la mesa de la campana de flujo laminar (Novatech, México).
2. Se levantó la película superior y con la pipeta perpendicular a la zona de inoculación se distribuyó 1 mL de la dilución  $10^{-1}$  en el centro de la película inferior.
3. Se liberó la película superior dejando que cayera sobre la dilución. Se deslizó la película inferior hacia abajo suavemente para evitar sacar la muestra de la placa y evitar atrapar burbujas de aire.
4. Con el lado rugoso hacia abajo se colocó el esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente el inóculo. Se presionó suavemente el esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular.
5. Se levantó el esparcidor y se dejó reposar por 1 min para que se solidificara el gel.
6. Se realizó la inoculación por duplicado y también se inoculó un testigo utilizando 1 mL de agua destilada esterilizada para validar el método.

7. Se incubaron las 3M™ Petrifilm™ Petrifilm AC en posición horizontal con la superficie transparente hacia arriba en pila de 3 placas durante 48 h a 35°C +/-2.

#### **7.1.5.4.3.2. E.coli y Coliformes**

1. Se colocó la 3M™ Petrifilm™ Petrifilm ACP sobre la mesa de la campana de flujo laminar (Novatech, México).

2. Se levantó la película superior y con la pipeta perpendicular a la zona de inoculación se distribuyó 1 mL de la dilución 10<sup>-1</sup> en el centro de la película inferior.

3. Se desenrolló la película superior sobre el inóculo para evitar que queden burbujas de aire atrapadas.

4. Se colocó el difusor en el centro de la placa presionando ligeramente el centro del difusor para distribuir el inóculo de manera uniforme.

5. Se retiró el difusor y se dejó reposar la placa por un min para permitir que se forme el gel.

6. Se realizó la inoculación por duplicado y también se inoculó un testigo utilizando 1 mL de agua destilada esterilizada para validar el método.

7. Se incubaron las 3M™ Petrifilm™ Placas E. coli / Coliformes en posición horizontal con la superficie transparente hacia arriba en pila de 3 placas, para coliformes se incubaron por 24 h a 37°C y para E.coli se incubaron por 48 h a 37°C.

#### **7.1.5.4.4. Conteo e interpretación**

Las Placas Petrifilm LAB 3M se cuantificaron usando un contador de colonias electrónico (Novatech, México). Para la interpretación de cada microorganismo se consideraron las características que están en las guías de interpretación del proveedor 3M (Food Safety 3M México, 2015; Food Safety 3M México, 2017).

#### 7.1.5.5. Análisis sensoriales

Para determinar la aparición de sabores rancios y amargos y la conservación del sabor lácteo y olor frutal a través del tiempo se realizó a 12 jueces semientrenados en cada tiempo de almacenamiento la prueba sensorial *Rate all that apply* (RATA) utilizando una escala de intensidad no estructurada y se les preguntó qué tanto les gustaba el producto.


La metodología utilizada se describe a continuación:

1. A 12 jueces semientrenados de la Universidad Panamericana campus Aguascalientes se les invitó a realizar la prueba a través de su correo electrónico.
2. Se citó al consumidor el día, lugar y hora de la prueba.
3. Se le proporcionó a cada juez un usuario y contraseña para poder hacer la prueba a través del sistema (FIZZ Software Biosystèmes, Francia).
4. Firmaron el contrato de uso de la información y confidencialidad.
5. Se presentó la muestra en vaso codificado.
6. Degustaron la muestra y contestaron el cuestionario proporcionado.
7. Terminaron la prueba.


El cuestionario que se aplicó al queso petit suisse de guayaba se presenta en la figura 10.

**1. Califique a partir de la muestra de petit suisse la intensidad de los atributos que se presentan a continuación:**

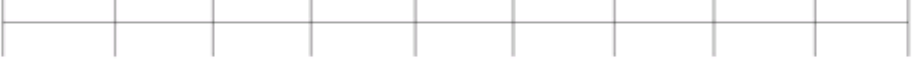
**Olor Frutal**  
Nada Mucho




**Sabor Lácteo**  
Nada Mucho




**Textura Firme**  
Nada Mucho



**Sabor Rancio**  
Nada Mucho



**Sabor Amargo**  
Nada Mucho



**3. ¿Qué tanto te gustó el producto?**

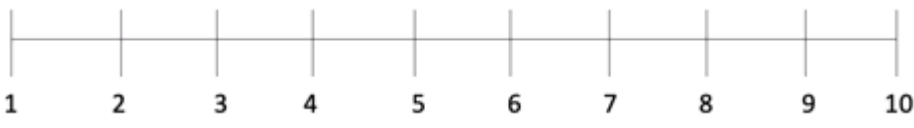


Figura 10. Cuestionario para las pruebas sensoriales de vida de anaquel

### **7.1.6. Evaluación del efecto funcional de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12**

Para evaluar el efecto funcional del queso petit suisse se realizaron los análisis microbiológicos de bacterias ácido lácticas. Al igual que los demás análisis microbiológicos realizados se esterilizó el material, se preparó la muestra y se realizó la inoculación e incubación como se describe a continuación:

1. Se colocó la Placa 3M™ Petrifilm™ BAL (Bacterias Ácido Lácticas) sobre la mesa de la campana de flujo laminar (Novatech, México).
2. Se levantó la película superior y con la pipeta perpendicular a la zona de inoculación se distribuyó 1 mL de la dilución  $10^{-6}$  en el centro de la película inferior.
3. Se desenrolló la película superior sobre el inóculo para evitar que queden burbujas de aire atrapadas.
4. Se colocó el difusor en el centro de la placa presionando ligeramente el centro del difusor para distribuir el inóculo de manera uniforme.
5. Se retiró el difusor y se dejó reposar la placa por un min para permitir que se forme el gel.
6. Se realizó la inoculación por duplicado y también se inoculó un testigo utilizando 1 mL de agua destilada esterilizada para validar el método.
7. Se incubaron las Placas 3M™ Petrifilm™ BAL en posición horizontal con la superficie transparente hacia arriba en pila de 3 placas durante  $48 \pm 3$  h a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Finalmente se realizó el conteo e interpretación considerando las características que están en las guías de interpretación del proveedor 3M (Food Safety 3M México, 2017).

### **7.1.7. Cálculo de la información Nutricional**

La información nutricional se calculó a partir de la formulación final (tabla 6) y de valores obtenidos de bases de datos de la U.S. Department of Agriculture (USDA) EUA; como lo establece la modificación a la norma NOM-051-SCFI/SSA1-2010 (2020) “*Los valores de composición bromatológica que figuren en la declaración nutricional del producto preenvasado, deben ser valores medios ponderados derivados por análisis, bases de datos o tablas reconocidas internacionalmente*” (p.20).

### **7.1.8. Análisis de normatividad alimentaria**

Para revisar los requerimientos normativos que México solicita para productos lácteos y específicamente para el queso petit suisse se consultaron los siguientes documentos y en el siguiente orden:

1. Reglamento de Control sanitario de productos y servicios.
2. Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
3. Norma Oficial Mexicana NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018, Queso, denominación, especificaciones, información comercial y métodos de prueba.
4. Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias (2016).

5. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados, información comercial y sanitaria, publicada el 5 de abril de 2010.
6. Norma Oficial Mexicana NOM-002-SCFI-2011, Productos preenvasados, contenido neto, tolerancias y métodos de verificación.
7. Norma Oficial Mexicana NOM-030-SCFI-2006, Información comercial, declaración de cantidad en la etiqueta, especificaciones.
8. Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida.
9. Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.

#### **7.1.9. Análisis de costos de formulación**

El costo de formulación se calculó a partir de la fórmula para obtener la cuajada (tabla 3) y la fórmula final del queso petit suisse de guayaba que se encuentra en la tabla 6. Los precios de las materias primas, ingredientes y aditivos se tomaron de la zona de Aguascalientes.

Se analizó cuál de todos los componentes de la fórmula tenía el mayor impacto en el costo con la finalidad de poder reformular en caso de que el costo fuera muy elevado. Para este trabajo de investigación solo se determinó el costo de formulación, no se calculó el precio de venta.

## 8. Resultados y discusión

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la metodología de esta investigación y la discusión de los mismos con sus fundamentos teóricos.

### 8.1.1. Análisis fisicoquímicos del desarrollo de las fórmulas de queso petit suisse de higo y guayaba

La leche pasteurizada y descremada tuvo un pH de 6.7 y una acidez de 17°D, cumpliendo con las características de una leche fresca y dulce como dice Villegas de Gante (2015) que debe presentar un pH entre 6.6 – 6.7 y una acidez titulable de 15 – 17°D. Estos valores son importantes ya que nos indican la calidad microbiológica por la acidificación de leche por la microflora acidificante y refleja indirectamente la riqueza de los sólidos no grasos especialmente en proteínas (Villegas de Gante, 2012).

La pulpa de guayaba obtuvo un pH de 3.1 menor a lo reportado por (Medina & Pagano, 2003) que fue de 4.1, esto debido a que se le agregó ácido cítrico con la finalidad de aportar un sabor ácido y ayudar a la conservación. Los sólidos solubles fueron de 10.05 °Brix que entran dentro del intervalo que obtuvo (Laguado *et al.*, 1995) de 9.53 a 11. 83 °Brix.

La humedad que se obtuvo en la cuajada fue de 78.37%, se logró con 15 min de escurrido y fue la ideal para lograr la textura final del queso petit suisse de guayaba. El pH de la cuajada fue de 6.5.

### 8.1.2. Balance de Materia

Para conocer el rendimiento final de la cuajada y el porcentaje de grasa y proteína, se realizó el balance de materia que se muestra en la figura 11.

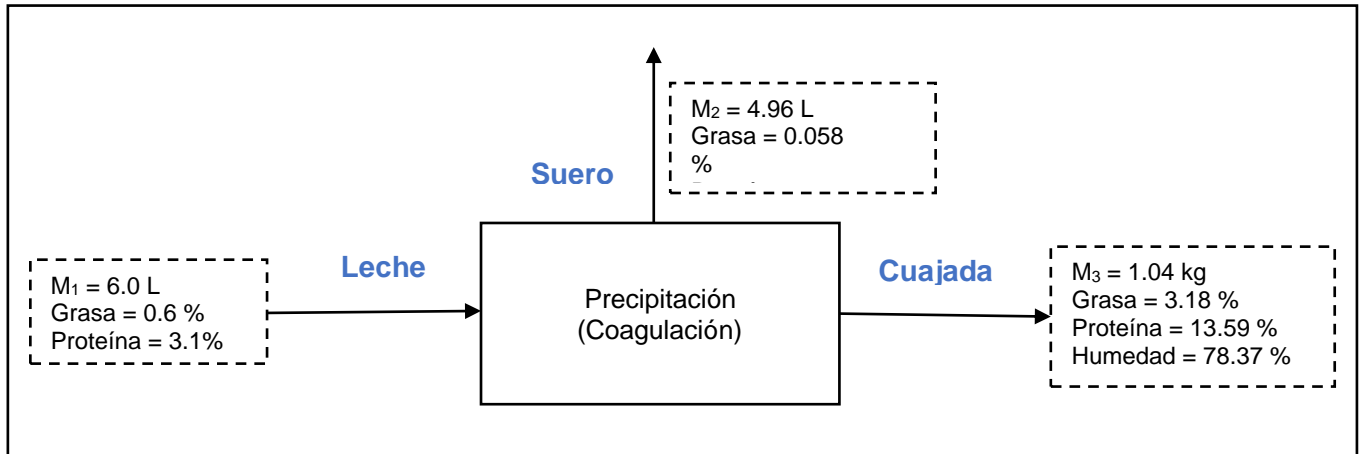


Figura 11. Balance de materia para la obtención de la cuajada

Se obtuvo un rendimiento del 17.33%, este está por arriba de lo reportado por Villegas de Gante (2015) que dice que el intervalo de rendimiento del queso en México está entre 9 y el 11% por la calidad de la materia prima (contenido de proteínas totales y caseína) y proceso de fabricación. Se obtuvo un rendimiento alto porque la cuajada presentó una humedad del 78.37%, además que en grano no se coció y tampoco se prensó como se hacen en etapas posteriores la mayoría de los quesos. Al utilizarse leche descremada se obtuvo al final el 3.18% de grasa en la cuajada. Se logró el 13.59% de proteína; para calcularlo en el balance de materia se consideró el 76% del contenido de caseína en la leche que es la materia realmente coagulable por la enzima, Villegas de Gante (2015) menciona que corresponde del 75 al 80% de la proteína total de la leche cruda.

### 8.1.3. Selección de fórmula a través del análisis sensorial

En la figura 12 se puede observar que el 100% de los consumidores (30 personas) que realizaron la prueba sensorial CATA dijeron que la fórmula de queso petit suisse de higo era cremosa, el 86% dulce y 83.33% tenía color natural. El 20% identificaron un sabor artificial y 6% un sabor ácido.

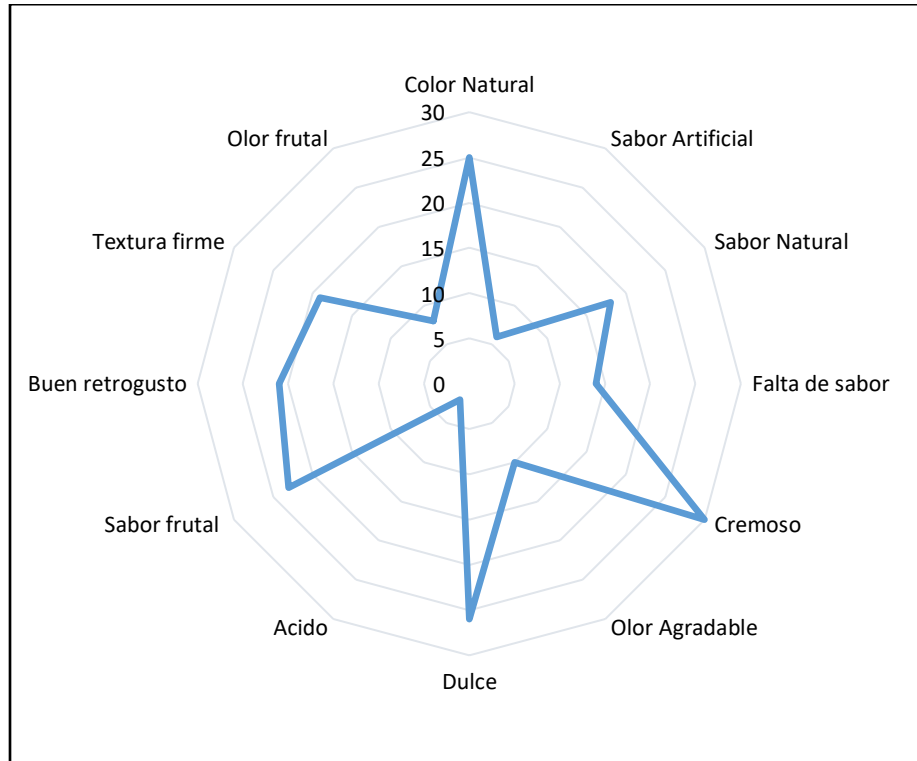


Figura 12. Atributos identificados por los consumidores en el queso petit suisse de higo

El 100% de los consumidores (30 personas) dijeron que la fórmula de queso petit suisse de guayaba era cremosa y de sabor natural. El 96.67% identificaron un sabor dulce y un sabor frutal. Solo el 3.33% dijeron que le faltaba sabor y ninguno de ellos encontraron un sabor artificial como se ve en la figura 13.

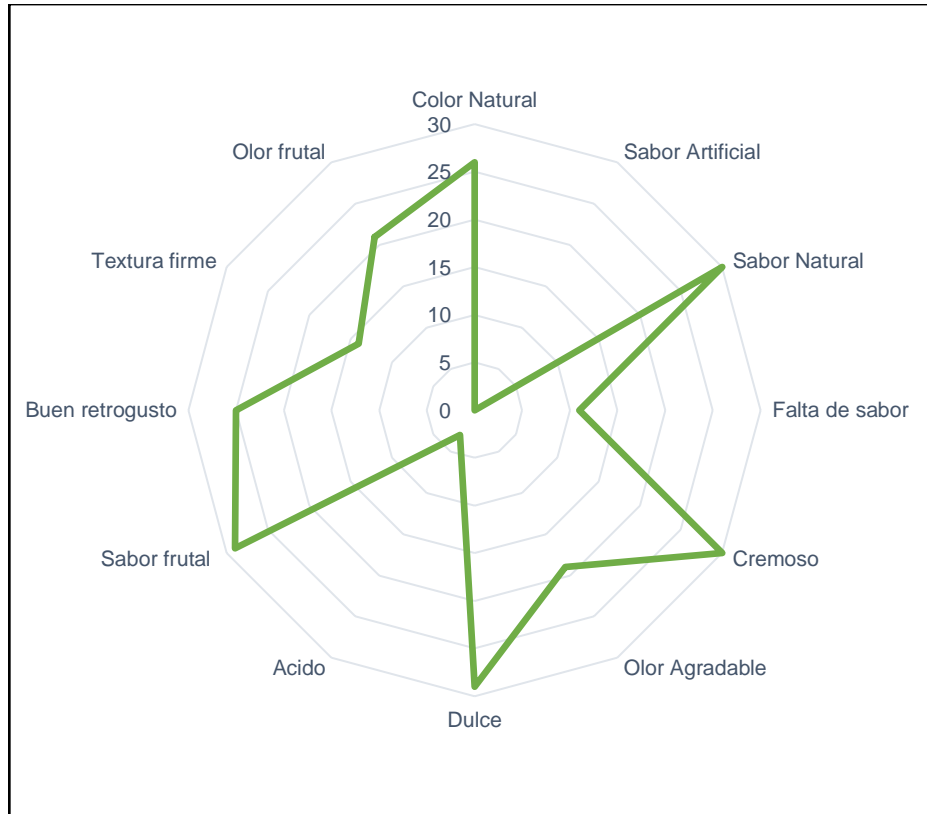


Figura 13. Atributos identificados por los consumidores en el queso petit suisse de guayaba

Para encontrar estadísticamente las diferencias significativas que existen entre los 12 atributos y las dos formulaciones se utilizó la prueba estadística de Q de Cochran que de acuerdo a Siegel & Castellan (2005) “La prueba Q de Cochran para  $k$  muestras relacionadas, provee un método para evaluar si tres o más conjuntos igualados de frecuencias o proporciones difieren significativamente entre ellos mismos” (p.202). Los resultados de esta prueba se observan en la tabla 8 y se determinó la existencia de diferencia significativa entre la fórmula de queso petit suisse de higo y la de guayaba por cada atributo si la probabilidad obtenida en cada uno es igual o menor a 0.05 que corresponde al 5 % de significancia.

Tabla 8. Prueba Q Cochran con un nivel de significancia del 5%

Atributo	Valor Q Cochran calculado	Probabilidad	Diferencia significativa
Color Natural	0.1429	0.7055	No
Sabor artificial	6.0	0.0143	Si
Sabor Natural	12.0	0.0005	Si
Falta de sabor	11.2667	0.0008	Si
Cremoso	-	-	-
Olor agradable	6.2308	0.0126	Si
Dulce	3.0	0.0833	No
Acido	1.0	0.3173	No
Sabor Frutal	4.5	0.0339	Si
Buen retrogusto	1.6	0.2059	No
Textura firme	3.5714	0.0588	No
Olor frutal	13.0	0.0003	Si

Los atributos que presentaron diferencia significativa entre las fórmulas de queso petit suisse de higo y guayaba fueron: sabor artificial, sabor natural, falta de sabor, olor agradable, sabor frutal y olor frutal.

A estos atributos con diferencia significativa se les realizó la prueba estadística de McNemar y la corrección de Yates a través de la comparación de parejas, es decir se comparó cada atributo de la fórmula de queso petit suisse de higo y la de guayaba y se determinó de cada par cual tenía mayor afinidad como se ve en la tabla 9. “La prueba de McNemar sirve para evaluar las variaciones en una variable dicotómica” (Cayuela & Rodríguez, 1997) un ejemplo de esta variable puede ser menor afinidad y mayor afinidad.

Tabla 9. Prueba McNemar y la corrección de Yates, comparación de parejas

Atributo	Queso P.S Higo	Queso P.S Guayaba
	<i>A</i>	<i>B</i>
Sabor artificial	0.2	0
	<i>A</i>	<i>B</i>
Sabor Natural	0.6	1.0
	<i>A</i>	<i>B</i>
Falta de sabor	0.4667	0.0333
	<i>A</i>	<i>B</i>
Olor agradable	0.3333	0.6333
	<i>A</i>	<i>B</i>
Sabor Frutal	0.7667	0.9667
	<i>A</i>	<i>B</i>
Olor frutal	0.2667	0.7

Nota: Nivel de significancia del 5%

A partir de la tabla 9 podemos concluir que los consumidores encontraron en el queso petit suisse de higo un sabor artificial y falta de sabor; para el caso del queso petit suisse de guayaba percibieron con sabor natural, sabor frutal, olor frutal y olor agradable. Es por esto que se decidió por la formulación con guayaba, ya que estas características sensoriales van acorde al concepto de un alimento funcional. El color natural, sabor ácido, sabor dulce, buen retrogusto y la textura firme fueron encontrados en ambas formulaciones.

En la prueba sensorial hedónica en promedio los consumidores calificaron a la fórmula de higo con 6.8 y a la fórmula de guayaba 8.0 como se observa en la figura 14. Conforme a la escala hedónica de 9 puntos (figura 15) los consumidores les gusta ligeramente la fórmula de queso petit suisse con higo y la fórmula con guayaba les gusta mucho.

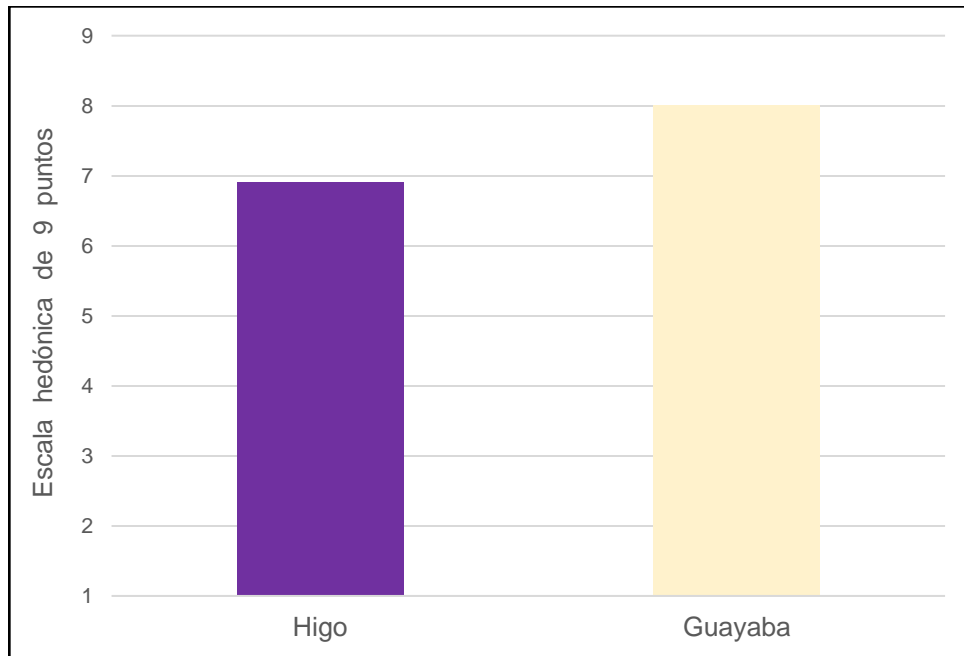


Figura 14. Fórmula que más les gusta a los consumidores

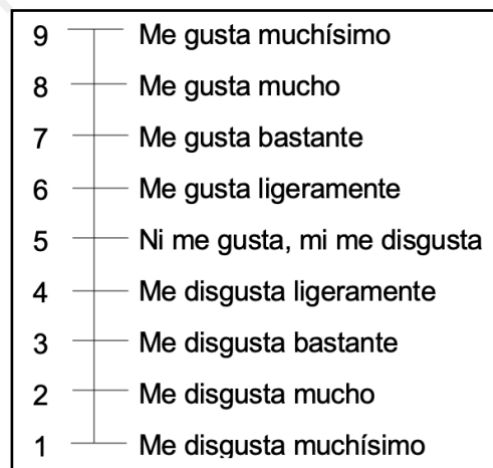


Figura 15. Escala hedónica de 9 puntos

#### 8.1.4. Reformulación y análisis sensorial a la fórmula seleccionada

Una vez elegida la fórmula de queso petit suisse de guayaba, se reformuló sustituyendo el azúcar por los edulcorantes naturales isomaltol, eritritol y extracto de Luo Han Guo con la finalidad de no añadir azúcares reduciendo las calorías y no presentar sellos en el etiquetado. También se quitó la goma guar que formaba grumos modificando la textura del producto.

La reformulación se sometió nuevamente a análisis sensorial y los consumidores (100 personas) identificaron los atributos que se ven en la figura 16 a través de la prueba CATA (*check all that apply*). Las barras de color azul rey corresponden al porcentaje de los atributos seleccionados por los consumidores, las barras de color azul marino son los atributos no seleccionados.

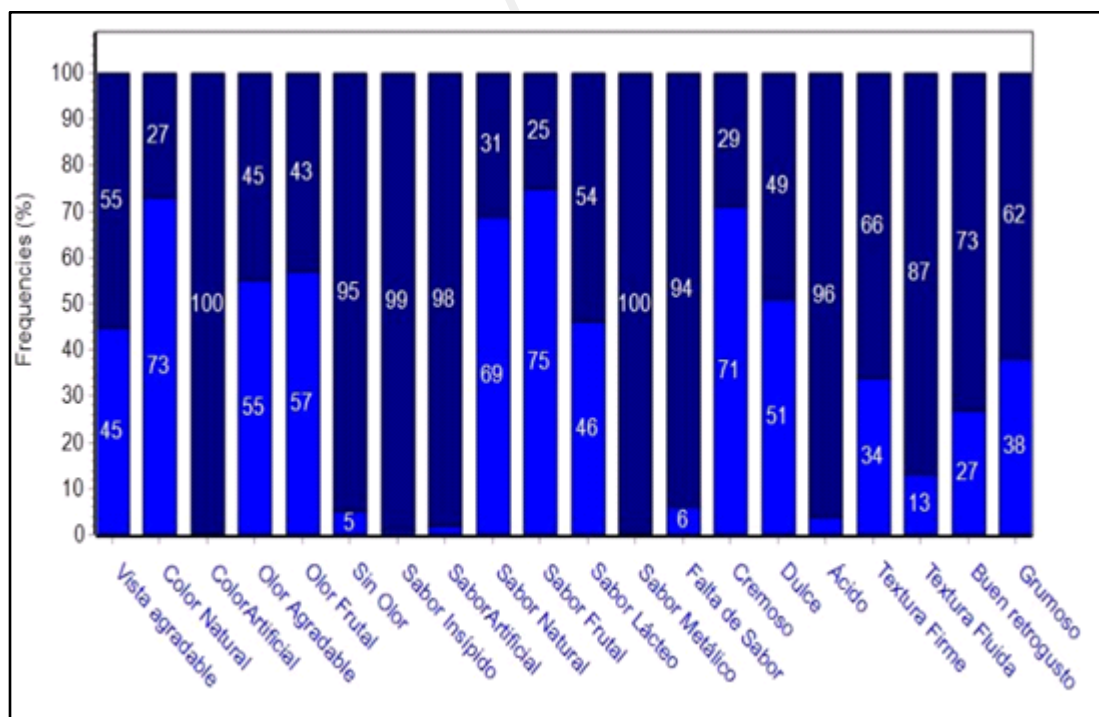


Figura 16. Frecuencias (%) de los atributos seleccionados por los consumidores

- Del 69 al 75% de los consumidores encontraron que el queso petit suisse de guayaba tenía sabor natural y frutal que era cremoso y su color era natural.
- Del 45 al 57% de los consumidores dijeron que el producto tenía un olor frutal y agradable, tenía sabor dulce y lácteo con vista agradable.
- Del 27 al 38% de los consumidores encontraron una textura grumosa y firme con un buen retrogusto en el queso petit suisse de guayaba.
- Del 1 al 4% de los consumidores encontraron el producto ácido con falta de sabor y sabor artificial.

Ninguno de los 100 consumidores encontró un sabor metálico y color artificial, algo muy importante ya que se usaron edulcorantes naturales y no sintéticos como la sacarina que en concentraciones altas deja un resabio amargo metálico (Badui, 2013).

Biblioteca Agua Calientes

En la escala hedónica de 9 puntos se obtuvo en promedio 7.16 que corresponde a me gusta bastante con una desviación estándar de 1.62, esto significa que hay poca dispersión en el gusto de los consumidores como se observa en la tabla 10.

Tabla 10. Distribución de frecuencias de la escala hedónica de 9 puntos

Clase	Frecuencia	Distribución
<= 1	1.0	*
]1.0 – 2.0]	0.0	
]2.0 – 3.0]	2.0	**
]3.0 – 4.0]	2.0	**
]4.0 – 5.0]	2.0	**
]5.0 – 6.0]	11.0	*****
]6.0 – 7.0]	24.0	*****
]7.0 – 8.0]	23.0	*****
]8.0 – 9.0]	35.0	*****
> 9	0.0	
Total	100	

Nota: En la segunda columna se encuentran las frecuencias que los 100 consumidores calificaron de acuerdo a la escala hedónica de 9 puntos (figura 15) que corresponden a la clase.

El 82% de los consumidores dijeron que comprarían el queso petit suisse de guayaba en el supermercado.

Se utilizó la prueba estadística de kolmogorov Smirnov para saber si los datos obtenidos del nivel de agrado del consumidor tienen una distribución normal cumpliendo con las siguientes propiedades: Área bajo la curva igual a 1, la distribución en forma de montículo, simétrica con una media de 0 y una desviación estándar 1, la media divide el área a la mitad 0.5 de cada lado (Kurby, 2005).

Para esta prueba se establecieron las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula ( $H_0$ ): los datos obtenidos del nivel de agrado del consumidor se distribuyen de manera normal
- Hipótesis alternativa ( $H_1$ ): los datos obtenidos del nivel de agrado del consumidor no se distribuyen de manera normal.

El valor calculado de la prueba fue de 0.1283 con un nivel de significancia del 1% y el valor crítico obtenido de tablas fue de 0.1031 con el mismo nivel de significancia, al ser mayor el valor calculado que el valor crítico se rechaza  $H_0$  con base a lo que dice Siegel & Castellan (2005) *“Cuando la probabilidad asociada con un valor observado de una prueba estadística es igual o menor que el valor de significancia (alfa) previamente determinado, concluimos que  $H_0$  es falsa”* (p.36) y decimos que los datos obtenidos del nivel de agrado del consumidor no se distribuyen de manera normal con una significancia del 1%.

Al realizar la prueba estadística de Kolmogorov Smirnov y percatarnos que el gusto de los consumidores no se distribuye de manera normal se utilizó la prueba estadística ji cuadrada ya que los valores estadísticos que arroja esta prueba se conocen como no paramétricos y libres de distribución (Downie & Heath, 1986). Para utilizar esta prueba también es necesario que los datos se expresen en frecuencias como se observa en la tabla 10, tal como lo dice Downie & Heath (1986) *“La ji cuadrada se utiliza como una prueba de significancia cuando se tienen datos que se expresen en frecuencias o que están en términos de porcentaje o proporciones, y que pueden reducirse a frecuencias”* (p.229).

Se estableció como hipótesis nula ( $H_0$ ) los consumidores les gusta de igual manera el queso petit suisse de guayaba y como hipótesis alternativa ( $H_1$ ) los consumidores no les gusta de igual manera el queso petit suisse de guayaba.

El valor de ji cuadrada calculado con una significancia del 1% fue de 37.54 y el valor crítico obtenido de tablas con la misma significancia fue de 24.054, al compararlos podemos ver que el valor de ji calculado es mayor al valor crítico por lo tanto rechazamos  $H_0$  y decimos que existe suficiente evidencia para decir que los consumidores no les gusta de igual manera el queso petit suisse de guayaba, el 82% de ellos les gusta el producto.

Biblioteca Aguascalientes

### 8.1.5. Empaque del queso petit suisse de guayaba

En la tabla 11 se presenta la revisión de la funcionalidad y normatividad que tienen los materiales de los tres empaques.

Tabla 11. Funcionalidad y normatividad de empaques

Tipo de empaque	Material	Funcionalidad	Normatividad
Bolsa al vacío	PP/EVOH/PE	Alta barrera al vapor de agua y a los gases O <sub>2</sub> y CO <sub>2</sub>	Reglamento (CE) n° 1935/2004. Reglamento (UE) 10/2011. 21 CFR Partes 170-199.
Envase rígido termoformado y tapa pelable	Envase: PS/EVOH/PS Tapa: AL/PE	Excelente barrera a los gases y aromas. Buenas propiedades mecánicas.	Reglamento (CE) n° 1935/2004. Reglamento (UE) 10/2011. 21 CFR Partes 170-199.
Bolsa doypack	Bolsa: PET/AL/Nylon/PE Boquilla y tapa: PE	Alta barrera contra la luz, humedad y oxígeno.	Reglamento (CE) n° 1935/2004. Reglamento (UE) 10/2011. 21 CFR Partes 170-199.

Con base a la revisión de la funcionalidad y a las características del queso petit suisse su empaque óptimo es la bolsa doypack compuesta de PET/AL/Nylon/PE ya que al tener dentro de su laminado una capa de aluminio le proporciona una alta barrera a la luz humedad y oxígeno, además que presenta otros beneficios con los ambientes con los que se rodea (Tabla 12).

Tabla 12. Matriz de diseño bolsa doypack

Ambientes	Funciones		
	<i>Protección</i>	<i>Utilidad</i>	<i>Comunicación</i>
<i>Humano</i>	La bolsa tiene una boquilla con una tapa sellada herméticamente que permite asegurar que el producto no ha sido alterado. No necesita tijeras o cuchillos para abrirse.	Es cómodo y ligero, por su boquilla no requiere cuchara para su consumo. Al tener tapa es fácil de abrir, y de volver a cerrar. Su fondo curvado le permite exhibir lo de forma vertical sobre sí mismo una vez que está lleno.	Este empaque permite una comunicación de 360° de imagen y texto. Puede imprimirse por flexografía o huecograbado en mate o brillante que le dan una gran vistosidad. Aquí se le comunica al consumidor la marca, la forma de uso, lote, caducidad, como almacenarse etc.
<i>Biosférico</i>	Por su composición y laminación protege al producto de la luz, evita la pérdida o ganancia de humedad y su barrera al oxígeno lo protege de la oxidación y del crecimiento bacteriano.	Su llenado sin la adición de aire y en condiciones estériles permite que el producto no se contamine, alargando su vida de anaquel.	Mantener en refrigeración de 0 a 4°C. Una vez abierto consumir todo el producto. Lote y fecha de caducidad.
<i>Físico</i>	El corrugado que contiene al empaque primario lo protege de daños físicos durante el almacenamiento y distribución. Por su composición permite conservar el producto frío en todo momento.	Ocupan menor espacio que los envases rígidos con el mismo contenido, ahorrando costos de manipulación y transporte. Por la reducción de volumen también reduce la huella de carbono.	El producto debe almacenarse y transportarse en temperaturas de refrigeración.

El empaque doypack es una bolsa impresa termosellable con fuelles laterales planos y fuelle de fondo curvado que permite exhibir o sujetar el producto de forma vertical sobre sí mismo una vez que está lleno, contiene una boquilla y tapa (figura 17).

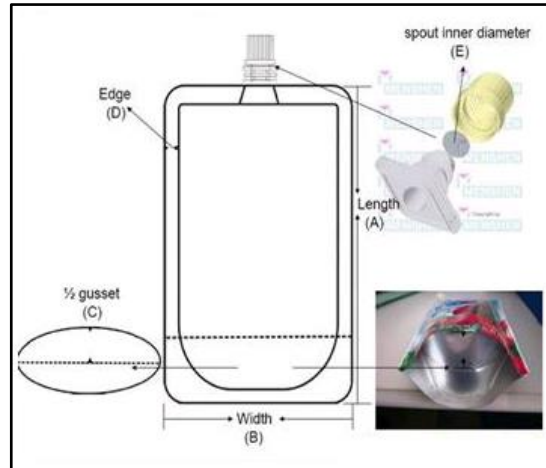


Figura 17. Bolsa doypack tomada de Fenbo Packing 2021 (<https://www.fenbopackaging.com>)

El llenado de la bolsa doypack se realiza en frío y en condiciones de esterilidad para evitar la contaminación cruzada en el producto. Para este producto no lleva el proceso de retorta donde los alimentos reciben tratamiento del calor dentro del envase (Tetra pack, s.f.), ya que eliminaría a las cepas probióticas como dice Collado (2008) no existe crecimiento de bacterias del genero *Bifidobacterium* a temperaturas mayores de 46°C.

Para este trabajo de investigación el queso petit suisse de guayaba se empacó en bolsas al vacío transparentes en la máquina de vacío (Mistral, Italia) ya que en la Universidad Panamericana campus Aguascalientes no cuenta con el envasado para la bolsa doypack. Sin embargo, las bolsas al vacío cuentan con una alta barrera al vapor de agua y a los gases O, N y CO<sub>2</sub> al igual que las bolsas doypack, sin tener la barrera a la luz por el laminado de aluminio.

### 8.1.6. Vida de anaquel en tiempo real

A continuación, se presentan los resultados obtenidos del estudio de vida de anaquel en tiempo real durante 28 días donde se hicieron muestreos a los días 0, 7, 14, 21 y 28. En cada muestreo se obtuvieron resultados de análisis fisicoquímicos y microbiológicos. Los muestreos para las pruebas sensoriales se realizaron a los 0, 7 y 21 días por jueces semientrenados durante 21 días.

#### 8.1.6.1. Análisis fisicoquímicos para determinar vida de anaquel

En la figura 18 podemos ver como el pH fue disminuyendo y en la figura 19 la acidez fue incrementando por la producción de ácido láctico y acético generado por las bifidobacterias como dice Collado (2008) *“Las bifidobacterias difieren del resto de bacterias ácido lácticas en que no solamente producen ácido láctico sino también ácido acético, como uno de sus principales productos de fermentación”* (p.25).

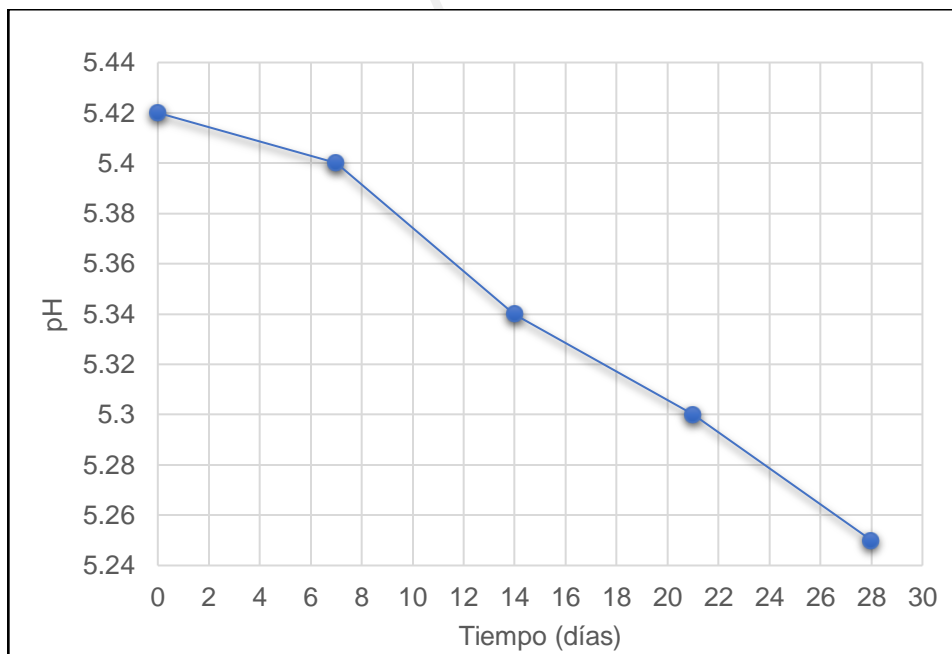


Figura 18. Disminución del pH a través del tiempo

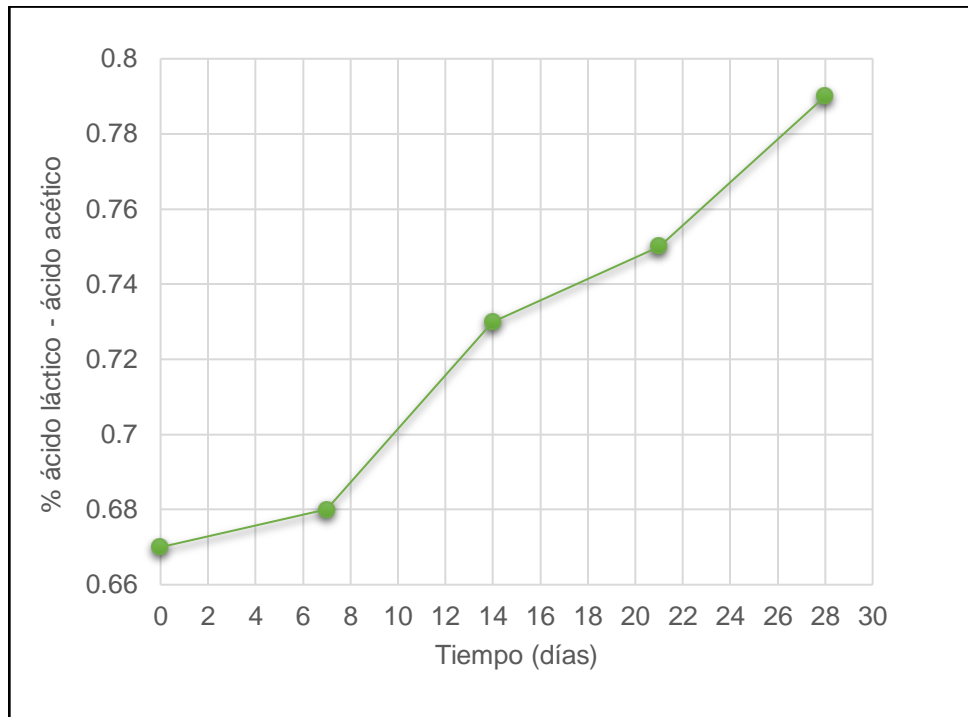


Figura 19. Aumento de la acidez a través del tiempo

El pH del producto se mantuvo en un intervalo de 5.42 a 5.23 el cual no afectó el crecimiento de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, esto de acuerdo con Jungersen (2014) que en un estudio *in vitro* se probó la tolerancia de esta cepa a pH 2, pH 3 y pH 4.

El queso petit suisse de guayaba se empacó en bolsas transparentes al alto vacío y se almacenó en refrigeración de 0 a 4°C. Mantuvo a través del tiempo una humedad del 68.05 al 71.47% (figura 20) esta ligera variación se debe al desprendimiento de la humedad dentro del envase que se condensa por una bajada de temperatura (Casp & Abril, 2003).

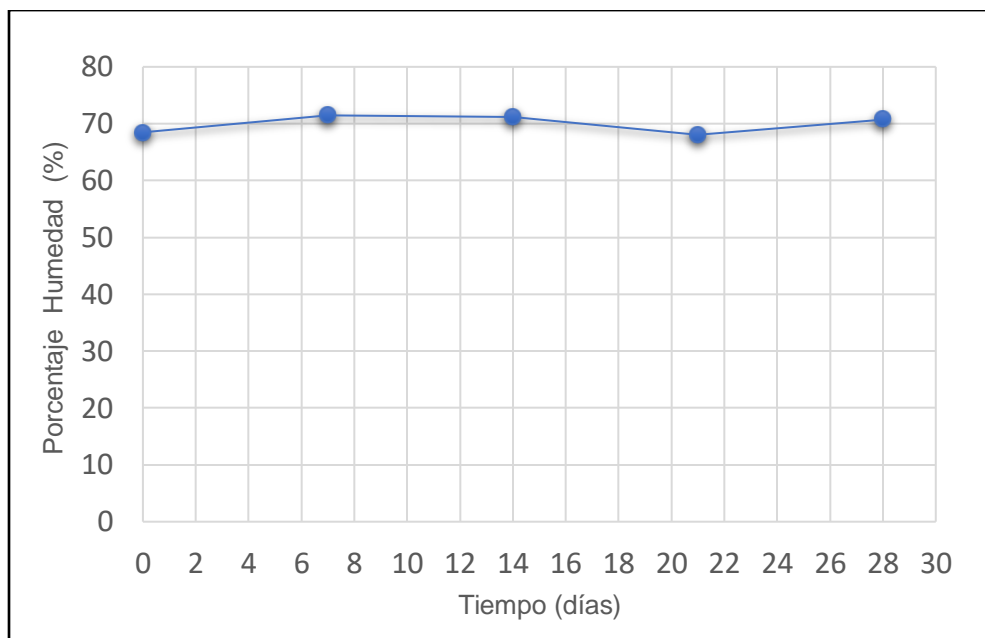


Figura 20. Humedad a través del tiempo

Como podemos ver en la tabla 13 la sinéresis comenzó aparecer ligeramente el día 14, hubo una presencia considerable el día 21 y finalmente un exceso de ella para el día 28, existiendo un incremento a través de los días (figura 21).

Tabla 13. Formación de sinéresis a través del tiempo

Día	Sinéresis	Nivel
0	No presente	0
7	No presente	0
14	Ligera sinéresis	1
21	Presencia de sinéresis	5
28	Excesiva Sinéresis	10

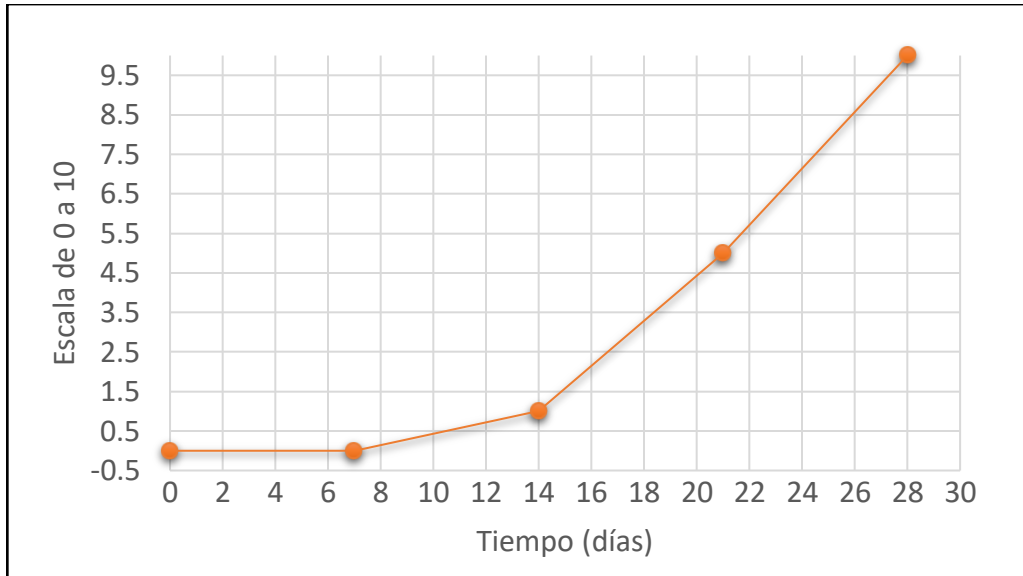


Figura 21. Formación de sinéresis a través del tiempo

La acidez además de impartir sabor, es la responsable de la sinéresis del queso petit suisse de guayaba ya que afecta directamente la cuajada (red de proteína). La relación es directamente proporcional, al aumentar la acidez aumenta la sinéresis (Pinho *et al.*, 2004). Otro factor importante fue el proceso ya que la cuajada, la pulpa de guayaba y aditivos se sometieron una alta fuerza mecánica en la thermomix (Vorwerk, Alemania) para obtener su textura característica, como dice Walstra (1990) *“además de la acidez, la sinéresis está afectada también por circunstancias propias del proceso de elaboración y por la presencia de calcio libre, el cual provoca la unión de la caseína en la red proteica de la cuajada”*.

Para determinar el cambio de color a través del tiempo en el queso petit suisse de guayaba se utilizó el espacio de color CIELAB que de acuerdo con Chiralt (2007) *“el espacio CIEL \*a\*b\* es actualmente uno de los espacios de color más populares y uniformes usado para evaluar el color en el área de alimentos”*. Es un sistema cartesiano formado por 3 ejes: un vertical ( $L^*$ ) y dos ejes horizontales ( $a^*$  y  $b^*$ ), el eje vertical  $L^*$  es la luminosidad que va

de 0 = negro a 100 = blanco, mientras que el eje  $a^*$  (positivo) = rojo y  $a^*$  (negativo) = verde. El eje  $b^*$  (positivo) = amarillo y  $b^*$  (negativo) = azul. En la tabla 14 se presentan los resultados de estas coordenadas obtenidos de la medición con el colorímetro (Nix Pro, Canadá).

Tabla 14. Valores de las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  y atributos de color  $h^*$  y  $C^*$

Día	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$h^*$	$C^*$	$\Delta E^*$
0	78.5	- 0.2	10.4	91.1	10.4	0.00
7	77.5	0.8	11.0	85.9	11.0	1.54
14	77	1	11.3	84.9	11.3	2.12
21	77	0.7	11.4	86.5	11.4	2.01
28	76.2	0.5	11.6	87.6	11.6	2.69

Nota:  $L^*$ : Luminosidad,  $a^*$ :(+) Rojo (-) Verde,  $b^*$ :(+) Amarillo (-) Azul,  $h^*$ : Tonalidad,  $C^*$ : Pureza de color,  $\Delta E^*$ : Diferencia global de color.

De acuerdo con Gilabert (2007) el color del alimento debe describirse en base a los tres atributos de color: Luminosidad ( $L^*$ ), Tono ( $h^*$ ) y Pureza de color ( $C^*$ ). Como se aprecia en la tabla 14 la luminosidad ( $L^*$ ) va disminuyendo haciéndose ligeramente más oscuro, como dice Wijesekara (2022), el cambio en la luminosidad nos indica una posible degradación u oxidación de los pigmentos colorantes. El tono del producto en el día cero está en el amarillo, sin embargo, al paso de los días este se mueve ligeramente hacia el tono rojo (figura 22). La pureza del color aumentó muy poco su saturación al paso del tiempo.

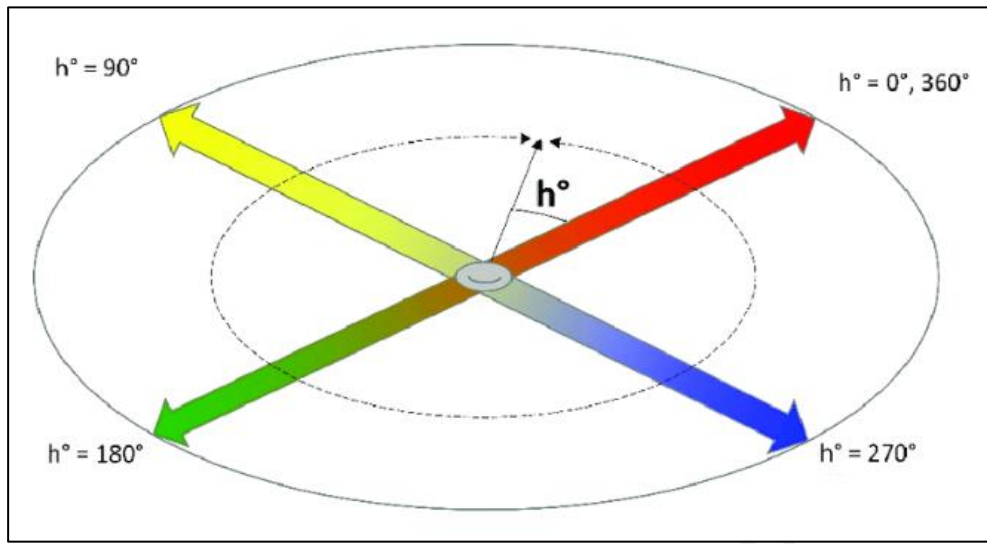


Figura 22. Ángulo que mide la tonalidad ( $h^*$ ), indicador de la orientación del color respecto al origen tomada de Scalisi et al. (2022)

Para obtener la estimación de la diferencia de color global en el espacio CIELAB se calculó el  $\Delta E^*$  considerando el producto del día 0 el estándar y las muestras los valores que se tomaron al paso de los días. Como se observa en la tabla 14, la diferencia de color global fue aumentando, con esto se comprueba que hubo cambio de color durante la vida de anaquel. Para determinar el valor de tolerancia de  $\Delta E^*$  se debe evaluar la percepción visual que tiene el consumidor del color característico del producto fresco.

### 8.1.6.2. Análisis microbiológicos para determinar vida de anaquel

En la tabla 15 se pueden ver los resultados de los análisis microbiológicos realizados a través del tiempo al queso petit suisse de guayaba.

Tabla 15. Análisis microbiológicos durante la vida útil

Día	Bacterias totales aerobias UFC/g	Coliformes UFC/g	E. coli
0	<1	<1	0
7	<1	<1	0
14	<1	<1	0
21	<1	<1	0
28	10	10	0

Nota. UFC: unidades formadoras de colonia

En la figura 23 se puede ver como no hubo crecimiento de bacterias aerobias mesófilas durante los 21 días de su vida de anaquel. En este recuento se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos, refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima (Fonseca & Avina, 2008). El crecimiento apareció a los 28 días y fue de 10 ufc/g, la NOM-243-SSA1-2010 no establece límites para estos microorganismos en queso fresco, sin embargo, esta cantidad es muy pequeña comparada a 200,000 UFC/g o ml que específica para helados y sorbetes. En conclusión, estas bacterias no provocan daño a la salud de los consumidores solo nos indican la calidad del procesamiento.

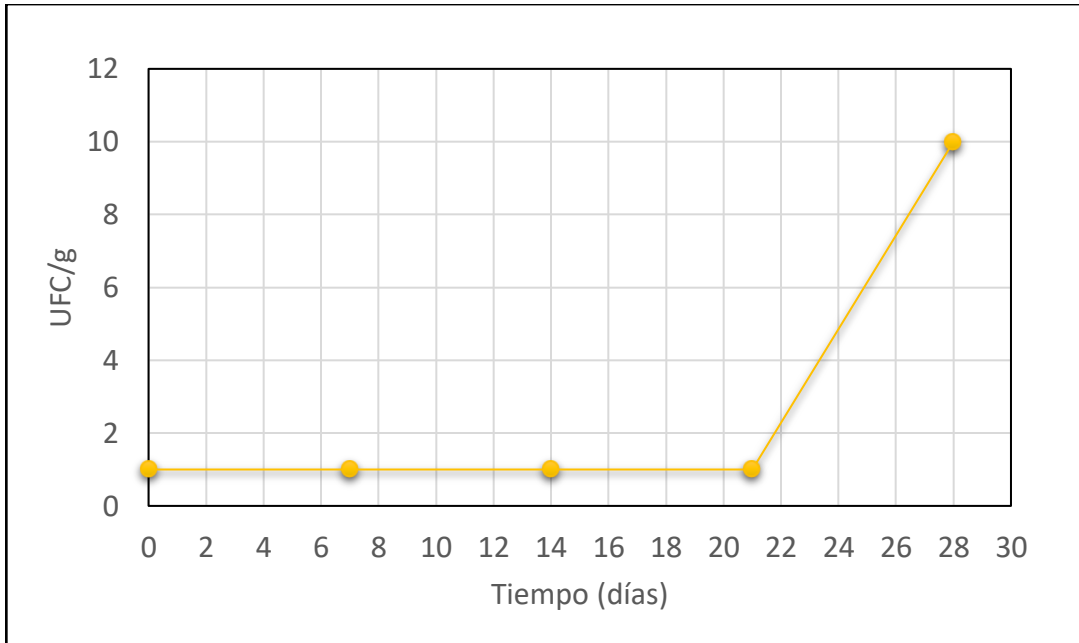


Figura 23. Comportamiento de bacterias aerobias totales a través del tiempo

Los coliformes totales se comportaron igual que las bacterias mesófilas aerobias, no hubo crecimiento durante los 21 días, presentó 10 ufc/g hasta el día 28 (figura 24). Estas bacterias se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y animales pero también están en suelos, semillas y vegetales. La presencia de coliformes es un indicador de contaminación de agua y alimentos (Fonseca & Avina, 2008). No representan un riesgo a la salud y no necesariamente indican contaminación fecal (Yoder *et al.*, 2008). En conclusión, los coliformes totales son un indicador de la limpieza y desinfección de los procesos, así como de la calidad microbiológica del agua, vegetales y productos procesados.

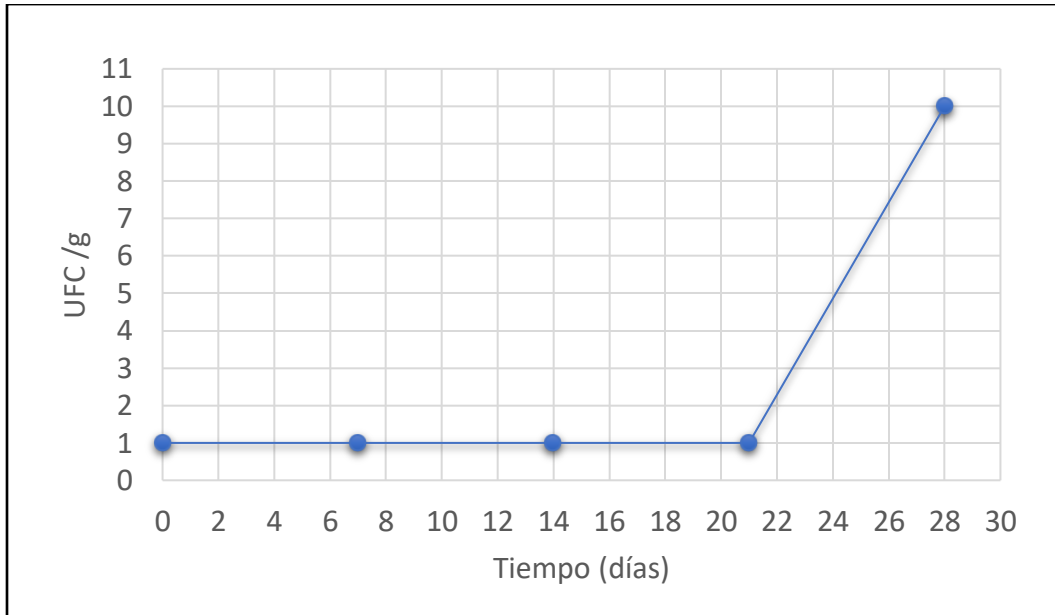


Figura 24. Comportamiento de coliformes totales a través del tiempo

No hubo presencia de E.coli durante el estudio de vida de anaquel, cumpliendo con el límite máximo permisible de 100 ufc/g que establece la NOM-243-SSA1-2010. Es una bacteria estrictamente intestinal, indicadora específica de contaminación fecal (Pullés, 2014).

### 8.1.6.3. Análisis sensorial para determinar vida de anaquel

El método CATA se utilizó para obtener el perfil sensorial (caracterización) que tenía el queso petit suisse de guayaba donde los jueces consumidores seleccionaron los atributos que identificaban en él. Sin embargo, para determinar la vida de anaquel se utilizó el método *Rate all that apply* (RATA) que es una variante del método CATA basada en la intensidad en la que se pide a los evaluadores que seleccionen todos los atributos que consideren apropiados para describir la muestra y calificar la intensidad (Ares *et al.*, 2014), con el propósito de evaluar los cambios sensoriales que se generaron durante el tiempo. Los métodos CATA y RATA nos dan resultados iguales en cuanto la caracterización del producto, pero el método CATA mejora la descripción y discriminación de las muestras (Meyners *et al.*, 2016; Franco *et al.*, 2016). Para la prueba RATA se utilizó una escala no estructurada de 10 puntos donde los jueces semientrenados una vez por semana durante 21 días evaluaron el queso petit suisse de guayaba, los promedios obtenidos se presentan en la tabla 16.

Tabla 16. Promedios de los resultados sensoriales prueba RATA por semana

Atributo	Semana 1	Semana 2	Semana 3
Color Natural	8.37	8.42	7.26
Olor frutal	8.77	7.87	7.08
Sabor lácteo	5.67	6.25	5.43
Sabor rancio	2.23	2.59	4.48
Sabor amargo	1.42	2.80	3.78
Textura firme	6.86	7.29	7.51

Nota. Participaron 12 jueces semientrenados cada semana durante 21 días

Con los resultados obtenidos de la prueba RATA se elaboró la gráfica radial que se muestra en la figura 25, donde se aprecia el cambio de los atributos sensoriales a través del tiempo.

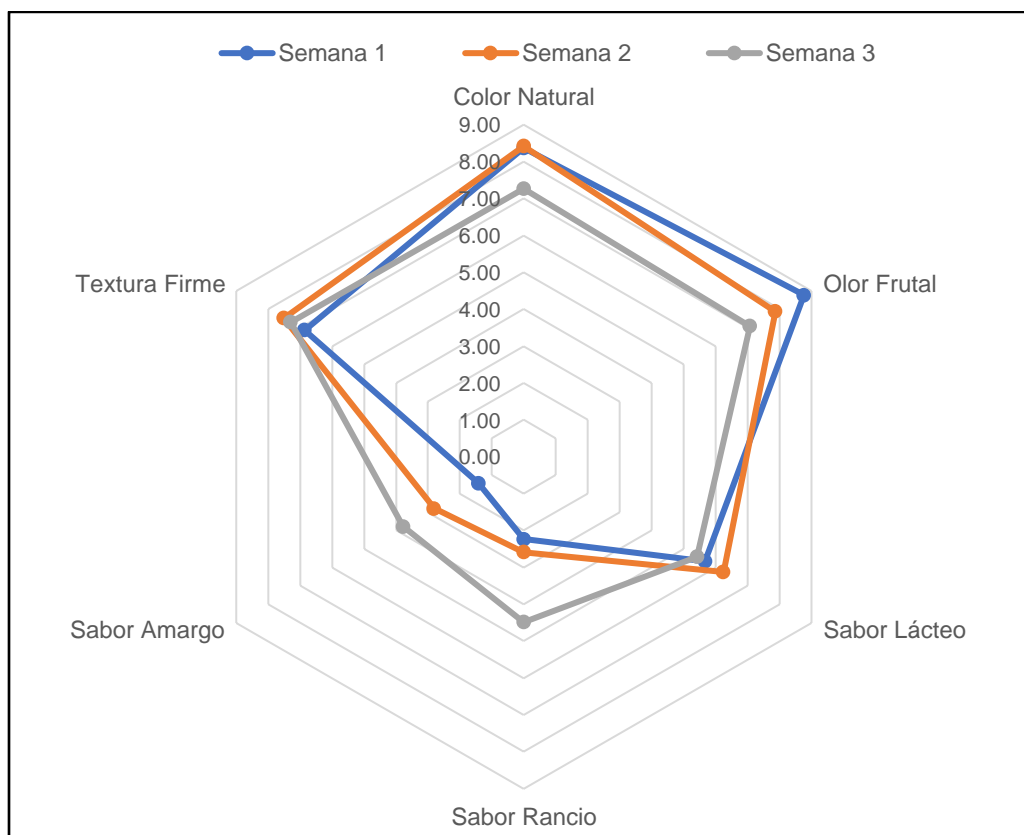


Figura 25. Cambio de los atributos sensoriales a través del tiempo

El color natural disminuyó hasta la semana 3, esto debido a la degradación de los pigmentos naturales presentes en la guayaba. Un estudio realizado por Ventosa *et al.* (2008) identificaron y cuantificaron como carotenoides mayoritarios el fitoflueno,  $\beta$ -caroteno y licopeno en la guayaba (*Psidium guajava* L.).

El queso petit suisse se empacó en bolsas al vacío transparentes, estas condiciones afectaron la estabilidad de los carotenoides. Como dice Meléndez *et al.* (2004)

*“La acción intensa de la luz sobre los carotenos induce su ruptura con la consiguiente formación de compuestos incoloros de bajo peso molecular. Estas reacciones tienen mucha importancia en la industria alimentaria ya que los carotenos pierden, además de su función biológica de provitamina A, su color característico”.*

El color también se vio afectado por el pH, a través del tiempo este fue disminuyendo de 5.42 a 5.25 y aumentó su acidez de 0.67 a 0.79%; los ácidos y álcalis pueden provocar en los carotenoides isomerizaciones *cis/trans* de ciertos dobles enlaces, reagrupamientos y desesterificación (Meléndez *et al.*, 2004), la isomerización además de provocar cambios de color, reduce el valor nutritivo (Badui, 2013).

El olor afrutado disminuyó a lo largo de las 3 semanas, esto se debe a la pérdida de los compuestos del aroma que son *“volátiles de bajo peso molecular generados por la oxidación de lípidos”* (Badui, 2013). En un estudio se aislaron 33 compuestos, 32 de los cuales se identificaron; mediante técnicas olfatométricas se determinó que el (Z)-3-hexenal, hexanal, butanoato de etilo, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexen-1-ol, hexanoato de etilo, acetato de hexilo y  $\beta$ -cariofileno fueron los compuestos más activos en el aroma de la guayaba (Pino & Bent, 2012).

El sabor rancio aumentó considerablemente en la semana 3, esto se debe al proceso bioquímico llamado lipólisis que consiste en *“la transformación de triglicéridos en glicéridos parciales y ácidos grasos libres”* (Ruiz, 1997). De acuerdo con Taverna *et al.* (2013) los ácidos grasos liberados mediante el proceso lipolítico contienen entre 4 y 12 átomos de carbono, poseen aromas específicos (rancio y picante) y su intensidad depende de la concentración y distribución entre las fases acuosas y grasa, pH del medio, presencia de cationes y productos de la degradación de proteínas. Los ácidos grasos de cadena corta son de considerable impacto en el sabor, sin embargo, una excesiva lipólisis en el queso dan un sabor rancio (Chacón, 2012).

El sabor amargo fue aumentando durante las 3 semanas. Sin embargo, este se disparó considerablemente en la tercera semana, esto puede deberse a la proteólisis como dice Fox & McSweeney (2017) *“en los quesos frescos, la elevada humedad y el bajo pH, son condiciones que afectan notoriamente la textura y sabor durante la conservación, de forma que una excesiva proteólisis podría ocasionar defectos como una textura excesivamente blanda y un sabor amargo”*.

En la semana 3 el sabor lácteo disminuyó, esto se debe a las reacciones de lipólisis y proteólisis antes descritas que generan otros sabores y aromas cambiando el sabor lácteo original, sin embargo, otras fuentes que pueden modificar el sabor lácteo es el ambiente, los microorganismos o la oxidación de compuestos (Wilkes *et al.*, 2000).

La textura fue cambiando durante las 3 semanas, por la acción de las enzimas que atacan la matriz proteica cambiando las propiedades sensoriales de color, elasticidad y textura del queso (Lawrence *et al.*, 1987; Lucey *et al.*, 2003).

Con los resultados del análisis sensorial se realizó el estadístico del análisis en componentes principales (ACP). “El análisis en componentes principales es una técnica descriptiva que permite estudiar las relaciones que existen entre las variables cuantitativas, sin considerar a priori, ninguna estructura, ni de variables, ni de individuos” (Palm, 1998). En la figura 26 se puede apreciar como las variables sensoriales se relacionan a través de cada semana durante la vida de anaquel.

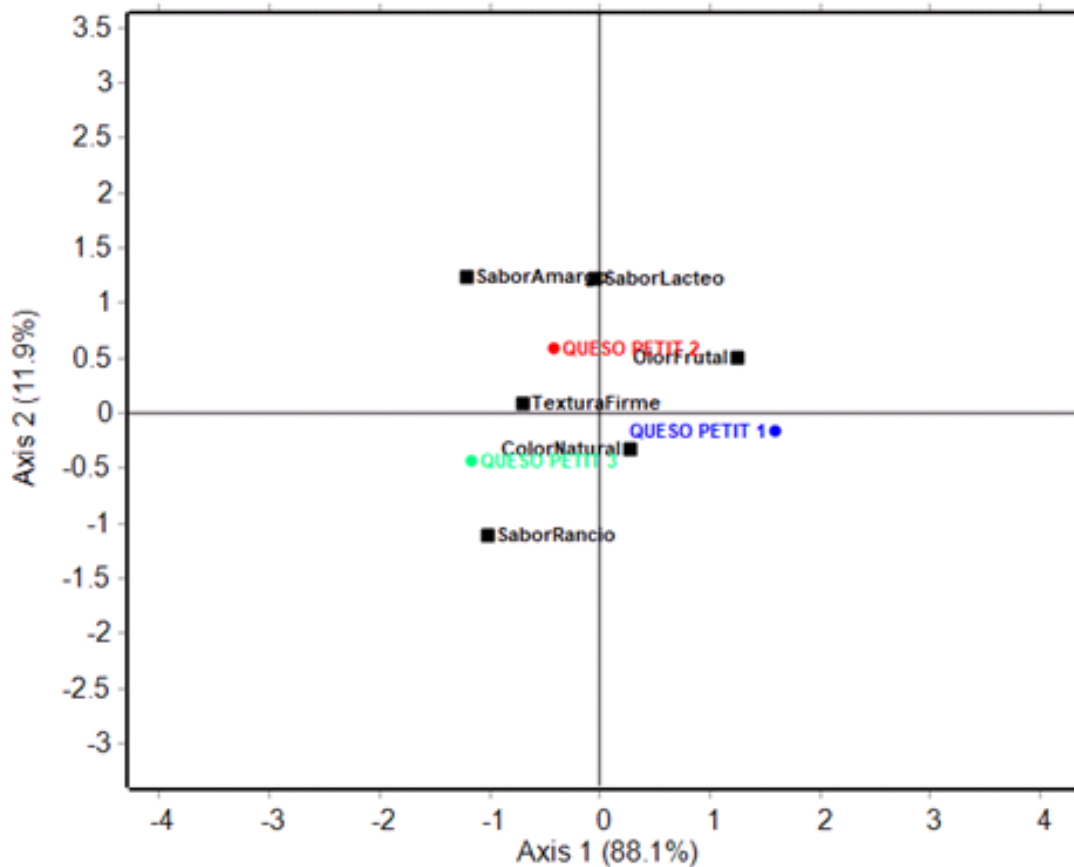


Figura 26. Análisis de componentes principales ACP

En la semana 1 (queso petit 1) predomina el color natural y el olor frutal, mientras que en la semana 2 (queso petit 2) está presente el sabor lácteo y aparece el sabor amargo, finalmente la semana 3 existe un cambio en la textura y se percibe el sabor rancio.

Con el objetivo de evaluar el grado de asociación entre las variables sensoriales a través del tiempo se ha realizado la correlación de Pearson que de acuerdo a Lalinde (2018) es la covariación entre al menos dos variables, siguiendo una correlación lineal. Los valores obtenidos de esta prueba se presentan en la tabla 17.

Tabla 17. Correlación de Pearson

Atributo	Color Natural	Olor frutal	Sabor lácteo	Sabor rancio	Sabor amargo	Textura firme
Color Natural	1	0.4392	0.3734	-0.1140	-0.1761	0.3176
Olor frutal	0.4392	1	0.5955	-0.1353	-0.2179	-0.1605
Sabor lácteo	0.3734	0.5955	1	0.2832	0.4006	0.0204
Sabor rancio	-0.1140	-0.1353	0.2832	1	0.5845	-0.0353
Sabor amargo	-0.1761	-0.2179	0.4006	0.5845	1	0.0878
Textura firme	0.3176	-0.1605	0.0204	-0.0353	0.0878	1

Se evaluó estadísticamente y las correlaciones que presentaron una probabilidad  $\leq$  a 0.05 tuvieron una relación significativa (tabla 18).

Tabla 18. Correlaciones de Pearson significativas con una significancia del 5%

Atributo 1	Atributo 2	Coefficiente de correlación	Probabilidad
Olor frutal	Sabor lácteo	0.5955	0.0007
Sabor Rancio	Sabor Amargo	0.5845	0.0009
Color natural	Olor frutal	0.4392	0.0171
Sabor lácteo	Sabor amargo	0.4006	0.0313
Color natural	Sabor lácteo	0.3734	0.0460

Las variables *olor frutal - sabor lácteo* y *sabor rancio - sabor amargo* presentaron una moderada relación con un coeficiente de correlación de 0.5955 y 0.5845 respectivamente, de acuerdo con Downie & Heath (1986) “*un coeficiente de correlación de aproximadamente 0.5 se considera moderada*”. Sin embargo, de todas las correlaciones significativas de la tabla 18, la relación *color natural - sabor lácteo* presentaron el coeficiente de relación más bajo de 0.3734.

Al ser todos los coeficientes de correlación positivos las variables aumentan directamente como dice Downie & Heath (1986) “*cuando dos variables están directa o positivamente relacionadas, a medida que aumenta una, la otra también lo hace*” (p.96). Esto nos dice que el sabor rancio y el sabor amargo aumentaron conforme el paso del tiempo.

Biblioteca Aguascalientes

### 8.1.7. Recuento viable de bacterias *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-

12

El recuento de bacterias ácido lácticas viables fue de 8.6 log<sub>10</sub> UFC/g que equivale a 4.15x10<sup>8</sup> en el día cero y fue disminuyendo a través de los días llegando a 1.98x10<sup>8</sup> ufc/g o su equivalente a 8.29 log<sub>10</sub> UFC/g al día 28 (figura 27), esto garantiza la funcionalidad probiótica del queso petit suisse de guayaba, como dice Prosello *et al.* (2003) y Roy (2005) la concentración de los microorganismos debe ser igual o mayor a 1x10<sup>6</sup> ufc/g y deben ser viables al momento de su consumo para ejercer sus efectos clínicos y terapéuticos. En un estudio realizado por Meira *et al.* (2015) adicionaron los probióticos *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 y *Lactobacillus acidophilus* LA-05 a requesón de cabra y los recuentos viables de cada una de las cepas fueron aproximadamente de 6 log UFC/g teniendo una concentración menor a la obtenida en esta investigación.

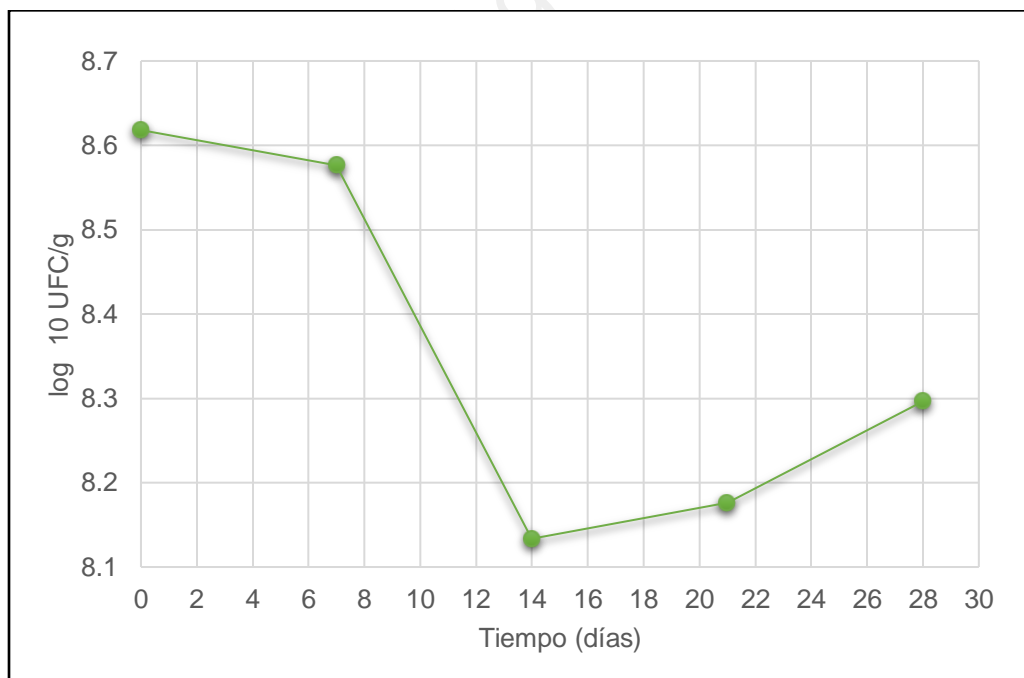


Figura 27. Disminución de la concentración de bacterias ácido lácticas a través del tiempo

La cuenta obtenida de  $4.15 \times 10^8$  UFC/g de bacterias ácido lácticas se asocia al crecimiento del probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 al no existir crecimiento de bacterias aerobias mesófilas y coliformes que nos indican la contaminación del producto.

El cultivo BB-12 se adicionó al queso petit suisse para que presentara en el producto terminado una concentración mayor a  $1 \times 10^6$  UFC/g con base a la información técnica proporcionada por el proveedor Chr. Hansen que recomienda sea inoculado de acuerdo con el recuento deseado de células probióticas en el producto final.

El cultivo BB-12 tiene certificación Kosher y Halal. Con base a la legislación de la Unión Europea (Directiva 2001/18/EC) el cultivo no contiene organismos genéticamente modificados (OGM). El cultivo al contener leche se considera alergénico de acuerdo con el Acto de 2004 sobre Protección a los Consumidores de la Autoridad sobre Alimentos y Etiquetado de Estados Unidos (FALCPA) y con el Reglamento (1169/2011/EC) de la Unión Europea. Por lo tanto, el queso petit suisse de guayaba además de ser un alimento funcional, es candidato para poder certificarse como Kosher por la comunidad Judía y Halal por los musulmanes. Debe declararse en el etiquetado que contiene leche como alérgeno.

### 8.1.8. Información nutrimental

En la tabla 19 se presenta la información nutrimental obtenida a partir de la fórmula y de tablas internacionalmente reconocidas (USDA, EUA), calculada para una porción de 100 g de queso petit suisse de guayaba.

*Tabla 19. Información nutrimental del queso petit suisse de guayaba*

Ingredientes	Hidratos de carbono g	Azúcares g	Azúcares Añadidos g	Fibra g	Proteína g	Grasa g	Saturada g	Sodio g	Calorías kcal
Pulpa de guayaba	18.32	4.21	0.00	2.55	1.20	0.45	0.13	95.37	82.14
Cuajada	2.46	2.46	0.00	0.00	6.67	1.56	1.09	15.81	50.57
Crema 30 %	0.74	0.54	0.00	0.00	0.41	4.25	2.95	4.36	42.81
Cultivos Probióticos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inulina	0.31	0.02	0.00	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00	1.23
Grenetina	0.00	0.00	0.00	0.00	0.24	0.00	0.00	0.08	0.97
<b>Total</b>	<b>21.83</b>	<b>7.23</b>	<b>0.00</b>	<b>2.82</b>	<b>8.53</b>	<b>6.26</b>	<b>4.17</b>	<b>115.62</b>	<b>177.73</b>

Una porción de 120 g (gramaje final de la presentación del producto) de queso petit suisse tiene el 9.4% de la fibra recomendada por día para la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 y el 10% para la Food and Drug Administration (FDA), 21CFR101.9.

### **8.1.9. Normatividad alimentaria y etiquetado**

Se realizó la verificación de las normas oficiales mexicanas obligatorias que debe cumplir el queso petit suisse de guayaba y como se puede ver en la tabla 20 la materia prima y los ingredientes que se utilizaron no tienen restricción para su uso de acuerdo a la norma NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018. Para el caso de los aditivos no tienen una dosis máxima establecida por lo que se utilizaron con buenas prácticas de fabricación (BPF) como establece el acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias, 2016. También, en la tabla 20 se justifica el uso de materias primas, ingredientes y aditivos a través de su función tecnológica.

Biblioteca Aguascalientes

Tabla 20. Revisión normativa del uso permitido de materia prima, ingredientes y aditivos

		Cantidad para 1 Kg	Dosis usada	Dosis permitida	Norma de referencia	Cumple	Función tecnológica
<b>Materia Prima</b>	Leche descremada de vaca	0.47938	N/A	N/A	NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018	Si	Fuente de proteína (caseína)
	Crema de vaca 30%	0.13229	N/A	N/A	NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018	Si	Fuente de grasa butírica (Sabor y textura)
<b>Ingredientes</b>	Cloruro de sodio (Sal)	0.0023	N/A	N/A	NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018	Si	Potencializador de sabor, sabor salado
	Pulpa de guayaba	0.24015	N/A	N/A	NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018	Si	Aporte sabor, color y aroma frutal
	Fruto del monje (Luo han guo/Siraitia grosvenorii)	0.00092	N/A	N/A	NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018	Si	Endulzante natural
	Cultivo Láctico (Probióticos)	0.02074	N/A	N/A	NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018	Si	Bacterias benéficas para el sistema digestivo. Acidificante, generador de sabor y aroma.
	Inulina (Prebióticos)	0.00323	N/A	N/A	No hay	Si	Sustrato para las bacterias probióticas (Fibra insoluble)
<b>Aditivos</b>	Cloruro de calcio	0.00553	5531.25 mg/kg	BPF	ACUERDO DE ADITIVOS	Si	Formación de red de caseínica (cuajado)
	Enzimas	0.00023	225.85 mg/kg	BPF	ACUERDO DE ADITIVOS	Si	Catalizador biológico
	Isomaltol	0.06914	69.14 g/kg	BPF	ACUERDO DE ADITIVOS	Si	Edulcorante natural y retenedor de agua
	Eritritol	0.04241	42.40 g/kg	BPF	ACUERDO DE ADITIVOS	Si	Edulcorante natural y retenedor de agua
	Ácido cítrico	0.00092	921.87 mg/kg	BPF	ACUERDO DE ADITIVOS	Si	Acidulante
	Grenetina	0.00277	2765.62 mg/kg	BPF	ACUERDO DE ADITIVOS	Si	Espesante y Estabilizante

Las especificaciones obligatorias que el producto terminado debe cumplir se muestran en la tabla 21, establecidas por las normas oficiales mexicanas aplicables.

Tabla 21. Especificaciones que debe cumplir el queso petit suisse de guayaba

Parámetro	Especificación	Norma de referencia	Resultados
Fisicoquímicas	Proteína: 4% mínimo Grasa: lo declarado en la etiqueta Humedad: 80% máximo	NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018	Proteína: 8.53% Grasa: 6.26% Humedad: 68.48%
Microbiológicas	E.coli: ≤100 ufc/g <i>Salmonella spp</i> : Ausente en 25g <i>Staphylococcus aureus</i> : 1000 UFC/g Hongos y levaduras: 500 UFC/g	NOM-243-SSA1-2010	E.coli: ≤10 ufc/g <i>Salmonella spp</i> : No <i>Staphylococcus aureus</i> : No Hongos y levaduras: No
Contaminantes	Plomo: 0.5 mg/kg Arsénico: 0.2 mg/kg Fosfatasa residual: 12 uf/g	NOM-243-SSA1-2010	Plomo: No Arsénico: No Fosfatasa residual: No
Etiquetado	Cumplimiento con las especificaciones e información comercial que establecen la NOM 051 y NOM 223.	NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018 NOM-051-SCFI/SSA1-2010	Cumple

El queso petit suisse presentó el 8.53% de proteína, 6.26% de grasa y el 68.48% de humedad cumpliendo con lo estipulado por la NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018. Se obtuvo ≤10 ufc/g de E. coli estando dentro de la especificación de la norma NOM-243-SSA1-2010, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* no fueron analizados, se consideró a E.coli como patógeno principal. Los hongos y las levaduras no se analizaron. Aunque la norma no lo indique se analizaron coliformes totales obteniendo ≤10 ufc/g, y de bacterias totales aerobias ≤10 ufc/g indicando buenas prácticas higiénicas en el proceso de elaboración. El plomo y arsénico no se analizaron en este trabajo de investigación ya que la Universidad

Panamericana campus Aguascalientes no cuenta con esta técnica y la norma NOM-243-SSA1-2010 dice que las verificaciones se deben hacer por los fabricantes por lo menos una vez al año. El análisis de fosfatasa residual tampoco se midió ya que la leche utilizada ya estaba pasteurizada al momento de su compra.

Para realizar el etiquetado se revisaron las especificaciones de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018, NOM-030-SCFI-2006 y NOM-008-SCFI-2002 obteniendo la siguiente información:

a) *Empaque*: Bolsa doypack laminada de PET/AL/Nylon/PE con boquilla y tapa de PE.

b) *Ancho (cm)*: 8.5

c) *Alto (cm)*: 14

d) *Superficie principal de exhibición (cm<sup>2</sup>)*: 119

e) *Marca*: Lactoprob

f) *Denominación*: **Queso petit suisse de guayaba** (En negrillas en línea paralela a la base como se encuentra diseñado el producto, tamaño igual o mayor al contenido neto y con la misma proporcionalidad tipográfica).

g) *Contenido neto*: 120 g (3 mm de altura mínima).

h) *Ingredientes*: Leche, pulpa de guayaba (pulpa de guayaba, isomaltol (6.91 g/100 g), eritritol (4.24 g/100 g), frutos del monje (0.092 g/100 g), sal y ácido cítrico) crema de vaca, agua, cloruro de calcio, inulina, grenetina, cultivos lácticos y enzimas.

i) *Alérgenos*: **Contiene leche** (Se declaran al final de la lista de ingredientes en negrillas de igual o mayor a los ingredientes, anteponiendo la palabra "Contiene").

j) *Composición típica*: 75% máximo de humedad, 8% mínimo de proteína y 6 % mínimo de grasa.

k) *Leyendas:* Contiene: Isomaltol y Eritritol, **"el consumo excesivo de este edulcorante puede causar efectos laxantes"**. Lote y fecha de caducidad ver en envase.

l) *Claims:* 8 g de proteína, 2 g de fibra, prebióticos + probióticos, contiene millones de probióticos, sin azúcares añadidos, con fruta natural, sin colorantes y conservadores artificiales.

<b>Declaración Nutrimental</b>	
Por cada 100g de producto	
<b>Contenido Energético</b>	<b>177.73 kcal (755.33 kJ)</b>
Proteínas	8.53 g
Grasas Totales	6.26 g
<b>Grasas Saturadas</b>	<b>4.17 g</b>
<b>Grasas Trans</b>	<b>0.0 g</b>
Hidratos de Carbono disponibles	21.83 g
Azúcares	7.23 g
<b>Azúcares añadidos</b>	<b>0.0 g</b>
Fibra Dietética	2.82 g
<b>Sodio</b>	<b>115.62 mg</b>
<b>Contenido energético por envase</b>	<b>213.27 kcal (906. kJ)</b>
* Información basada en una dieta de 2000 calorías. De acuerdo con la NOM-051-SCFI/SSA1-2010	

Figura 28. Declaración nutrimental

m) *Razón Social:* Hecho en México por Lactoprob S.A de C.V.

n) *Dirección:* González Saracho, 149, Col. Centro, C.P.20000, Aguascalientes, Aguascalientes.

o) *Página web:* [www.lactoprob.com.mx](http://www.lactoprob.com.mx)

p) *Teléfono:* 4495466276

q) *Código de barras*

Para determinar el sistema de etiquetado frontal (información nutrimental complementaria) conforme lo establece la modificación de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 se calculó el porcentaje calórico que aporta la grasa, proteína, carbohidratos, la cantidad de sodio y las calorías que aportan 100 g de queso petit suisse de guayaba como se observa en la tabla 22.

Tabla 22. Determinación de la información nutrimental complementaria

Nutrimento	En 100 g	Unidad	kcal por g	Calorías 100 g	Calorías %	Especificación sellos NOM 051	Aplica sello
Proteínas	8.53	g	4	34.12	19.19%	-	-
Grasas Totales	6.26	g	9	56.34	31.69%	-	-
Grasas Saturadas	4.17	g	9	37.53	21.11%	> 10 % de calorías de grasas saturadas	Si aplica
Grasas Trans	0	g	9	0	0.00%	> 1 % de calorías de grasas trans	No aplica
Hidratos de Carbono Disponibles	21.83	g	4	87.32	49.12%	-	-
Azúcares	7.23	g	4	28.92	16.27%	-	-
Azúcares Añadidos	0	g	4	0	0.00%	> 10 % de calorías de azúcares libres	No aplica
Fibra dietética	2.82	g	0	0	0.00%	-	-
Sodio	115.62	mg	0	0	0.00%	> 350 mg	No aplica
Energía Total (Calorías)	177.78	kcal	0	177.78	100.00%	≥ 275 kcal	No aplica

De acuerdo a la tabla 22 al queso petit suisse de guayaba le corresponde el sello de advertencia por exceso de grasas saturadas, sin embargo, en base al segundo artículo transitorio de la modificación de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 la grasa butírica que se agrega al queso no está considerada como un nutrimento crítico añadido, ya que es propia de leche de vaca que le quita al momento de descremar la leche y se incorpora en procesos posteriores, no excediendo la grasa que naturalmente se tiene en un queso elaborado con leche entera de vaca.

Dentro del sistema de etiquetado nutrimental están las leyendas precautorias, para el queso petit suisse de guayaba le aplica la leyenda de la figura 29.

**CONTIENE EDULCORANTES, NO RECOMENDABLE EN NIÑOS**

*Figura 29. Diseño de leyenda precautoria en el etiquetado*

Esto debido a que contiene isomaltol, eritritol y extracto de Luo Han Guo considerados edulcorantes naturales. Al utilizar polioles (isomaltol y eritritol) dentro de la formulación el anexo IX del acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias (2016), dice que es obligatorio poner en el etiquetado la siguiente leyenda: *"Contiene: isomaltol y eritritol, el consumo excesivo de este edulcorante puede causar efectos laxantes"*. El mismo acuerdo de aditivos nos dice que cualquier producto que utilice edulcorantes, debe expresar en su etiquetado el contenido del edulcorante expresado en mg o g por 100 g del producto, por lo tanto, en los ingredientes los edulcorantes se enunciaron de esta manera: isomaltol (6.91 g/100 g), eritritol (4.24 g/100 g) y frutos del monje (0.092 g/100 g).

En la figura 29 se muestra el prototipo del queso petit suisse con diseño y empaque, cumpliendo con el etiquetado establecido por las normas mexicanas aplicables anteriormente revisadas.



Figura 30. Prototipo final del queso petit suisse de guayaba y etiquetado

### 8.1.10. Costos de formulación

El costo de la cuajada fue de \$44.79 pesos por kilogramo y se determinó a partir de la tabla 23 donde se muestra la fórmula y el costo de cada ingrediente tomando como base de cálculo 100 litros de leche.

Tabla 23. Costeo de la cuajada

Ingrediente/Aditivo	Cantidad (kg)	Porcentaje (%)	Costo por kg Materia Prima (\$)	Costo por cada 100 litros leche (\$)
Leche	100	99.8452	7.710	771.000
Cloruro de Calcio	0.020	0.0200	17.800	0.356
Agua (Dilución CaCl <sub>2</sub> )	0.080	0.0799	0.100	0.008
Cuajo	0.005	0.0050	1057.000	5.285
Agua (Dilución Cuajo)	0.050	0.0499	0.100	0.005
<b>Total</b>	<b>100.155</b>	<b>100.000</b>		<b>776.654</b>

Se determinaron teóricamente a partir de la fórmula los sólidos solubles que fueron del 31.71%. Se obtuvo un rendimiento del 98.7%, la merma del 1.3% se debe al producto que se quedó solo las superficies de la thermomix (Vorwerk, Alemania) y el que se perdió durante el empaque. El costo de formulación por cada kilogramo de queso petit suisse de guayaba fue de \$123.43 pesos como se observa en la tabla 24, y el costo de formulación por envase con un contenido neto de 120 g es de \$14.81 pesos. El costo del empaque fue de \$3.0 pesos, por lo tanto, el costo final de formulación más empaque del producto fue de \$17.81. Analizando el impacto de los costos, la pulpa de guayaba es lo más caro ya que es fruta natural que le proporciona al queso el color, olor frutal y sabor a guayaba, le siguen los edulcorantes naturales que se adicionaron a la pulpa, finalmente la cuajada y la crema de vaca al 30% que son los responsables de la cremosidad, textura y sabor lácteo del producto.

Tabla 24. Costeo de queso petit suisse de Guayaba

Ingredientes y Aditivos	Cantidad (Kg)	Sólidos (Kg)	Porcentaje (%)	Costo por kg ingrediente	Costo por Kg	Impacto Costo (%)
Pulpa de Guayaba	0.773	0.435	36.497	142.67	52.07	42.19
Cuajada	1.040	0.192	49.103	44.79	44.79	36.29
Crema 30 %	0.287	0.027	13.551	80.00	10.84	8.78
Cultivos Probióticos	0.005	0.005	0.236	6000.00	14.16	11.48
Inulina	0.007	0.007	0.331	250.00	0.83	0.67
Grenetina	0.006	0.006	0.283	260.00	0.74	0.60
<b>Total</b>	<b>2.118</b>	<b>0.672</b>	<b>100.00</b>	<b>123.43</b>	<b>123.43</b>	<b>100.00</b>

Biblioteca Aguascalientes

## 9. Conclusiones

A los consumidores les gustó más la fórmula de queso petit suisse de guayaba que la de higo. Al queso petit suisse de guayaba lo percibieron con sabor natural, sabor afrutado, olor afrutado y olor agradable. El sabor de la guayaba predominó sobre el del higo por lo tanto fue la fórmula seleccionada.

La fórmula de queso petit suisse de guayaba se reformuló sustituyendo el azúcar por el extracto de Luo Han Guo y los polioles isomaltol y eritritol como edulcorantes naturales, con el objetivo de reducir calorías y no presentar exceso de azúcares en el etiquetado. También se quitó la goma guar que formaba grumos modificando la textura del producto.

Los atributos sensoriales que caracterizaron a la reformulación de queso petit suisse de guayaba fueron: sabor afrutado, sabor natural, color natural, cremoso, olor afrutado, olor agradable, sabor dulce, sabor lácteo y agradable a la vista. Ningún consumidor encontró un color artificial y sabor metálico. El producto les gusto bastante y el 82% de ellos lo comprarían.

El estudio de vida de anaquel en tiempo real arrojó que el pH disminuyó y la acidez aumentó al paso del tiempo provocado por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12. Este incremento de acidez provocó la aparición considerable de la sinéresis en el producto al día 21, siendo este el parámetro limitante de la vida útil. La humedad se mantuvo sin variaciones significativas. La colorimetría nos dice que la luminosidad va disminuyendo haciéndose el color ligeramente más oscuro. El tono del producto pasó de amarillo a ligeramente rojo, la saturación del color aumentó muy poco. El análisis sensorial de la vida

útil nos indica que el sabor láctico y la textura se mantuvieron sin cambios considerables. El color natural fue disminuyendo por la degradación de los carotenoides por la luz y la disminución de pH. El olor frutal disminuyó por la pérdida de compuestos volátiles de la guayaba. El sabor amargo y rancio aumentaron con el tiempo por las reacciones de lipólisis y proteólisis. En la tercera semana, los jueces semientrenados calificaron en promedio el agrado general del producto con un 6 en una escala del 1 a 10. Los análisis microbiológicos mostraron que el producto presentó crecimiento de coliformes y bacterias aerobias totales hasta el día 28 sin estar fuera de los límites establecidos. No hubo presencia de E.coli garantizando un producto inocuo.

El análisis de bacterias ácido lácticas nos indica que *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 se encuentran viable en el producto presentando una concentración de  $1.98 \times 10^8$  UFC/g a los 28 días. Por lo tanto, podemos confirmar el efecto funcional del producto ya que la concentración mínima debe ser de  $1 \times 10^6$  ufc/g. La vida de anaquel del producto fue de 21 días por la presencia de sinéresis.

El producto se empacó en bolsas transparentes al alto vacío, lo que provocó cambios en el color del producto. El objetivo es empacarlo en una bolsa doypack con material laminado de PET/AL/Nylon/PE con boquilla y tapa de PE para tener una mejor barrera contra luz, barrera contra la humedad y barrera contra el oxígeno.

El etiquetado del producto cumple con las disposiciones establecidas en las normas oficiales mexicanas obligatorias.

## 10. Referencias

1. Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of functional foods*, 5(4), 1542-1553.
2. Alonso, J. R. (2010). Edulcorantes naturales. *La Granja*, 12(2), 3-12.
3. Antonio Yam Tzec, J., Villaseñor Perea, C. A., Romantchik Kriuchkova, E., Soto Escobar, M., & Peña Peralta, M. Á. (2010). Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la postcosecha. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 19(4), 74-82.
4. Ares, G., Bruzzone, F., Vidal, L., Cadena, R. S., Giménez, A., Pineau, B., & Jaeger, S. R. (2014). Evaluation of a rating-based variant of check-all-that-apply questions: Rate-all-that-apply (RATA). *Food Quality and Preference*, 36, 87-95.
5. Ávila Pineda, G. T., & Fonseca Moreno, M. M. (2008). Calidad microbiológica de jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona norte de Cundinamarca.
6. Badui Dergal, S. (2013). *Química de los alimentos*. México, Pearson Educación.
7. Banwo, K., Olojede, A. O., Adesulu-Dahunsi, A. T., Verma, D. K., Thakur, M., Tripathy, S., & Utama, G. L. (2021). Functional importance of bioactive compounds of foods with Potential Health Benefits: A review on recent trends. *Food Bioscience*, 43, 101320.

8. Barbosa-Cánovas, G. V., Fontana Jr, A. J., Schmidt, S. J., & Labuza, T. P. (Eds.). (2020). Water activity in foods: fundamentals and applications. John Wiley & Sons.
9. Batista, K. S., Alves, A. F., dos Santos Lima, M., da Silva, L. A., Lins, P. P., de Sousa Gomes, J. A., & de Souza Aquino, J. (2018). Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. *British Journal of Nutrition*, 119(1), 30-41.
10. Bautista Antonio, M. I. (2014). Elaboración de un queso tipo petit-suisse de leche de cabra, adicionado con *Lactobacillus casei* con probiótico.
11. Béjar, A. G. (2015). Los alimentos funcionales. Un nuevo reto para la industria de alimentos (2014). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(2), 223.
12. Caglar, E., Onder Kuscu, O., Selvi Kuvvetli, S., Kavaloglu Cildir, S., Sandalli, N., & Twetman, S. (2008). Short-term effect of ice-cream containing Bifidobacterium lactis Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Acta Odontológica Scandinavica*, 66(3), 154-158.
13. Cardarelli, H. R., Saad, S. M., Gibson, G. R., & Vulevic, J. (2007). Functional petit-suisse cheese: measure of the prebiotic effect. *Anaerobe*, 13(5-6), 200-207.
14. Casp, A., & Abril, J. (2003). Procesos de conservación de alimentos, 2da. Edición, Editorial Artes Gráficas Cuesta SA, Madrid, España.

15. Castellone, V., Bancalari, E., Rubert, J., Gatti, M., Neviani, E., & Bottari, B. (2021). Eating fermented: Health benefits of LAB-fermented foods. *Foods*, 10(11), 2639.
16. Chacón, J. M. (2012). *Moléculas que originan los sabores y aromas en la leche, los quesos y los vinos*. Revista ReCiTeIA.
17. Chiralt, A., Martínez, N., González, C., Talens, P., & Moraga, G. (2007). *Propiedades físicas de los alimentos*. Valencia: Editorial Universidad Politécnica de Valencia.
18. Collado Amores, M. C. (2008). *Caracterización de cepas del género Bifidobacterium con carácter probiótico* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
19. Collins, M. D., & Gibson, G. R. (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *The American journal of clinical nutrition*, 69(5), 1052s-1057s.
20. Consulta de Expertos, F. A. O., & OMS, G. (2001). *Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*.
21. Da Silva, L. M. R., De Figueiredo, E. A. T., Ricardo, N. M. P. S., Vieira, I. G. P., De Figueiredo, R. W., Brasil, I. M., & Gomes, C. L. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food chemistry*, 143, 398-404.
22. De Cock, P. (1999). Eritritol: un nuevo ingrediente edulcorante no calórico. *Rev. Mundial Nutr. Dieta*, 85, 110-116.

23. De la Federación, D. O. (2006). Norma Oficial Mexicana NOM-030-SCFI-2006, Información comercial-Declaración de cantidad en la etiqueta-Especificaciones.
24. De la Federación, D. O. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
25. De la Federación, D. O. (2011). Norma Oficial Mexicana NOM-002-SCFI-2011, Productos preenvasados, contenido neto, tolerancias y métodos de verificación.
26. De La Federación, D. O. (2014). Modificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria, publicada el 5 de abril de 2010.
27. De la Federación, D. O. (2016). Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias.
28. De la Federación, D. O. (2016). Reglamento de control sanitario de productos y servicios. México: Diario Oficial de la Federación.
29. De la Federación, D. O. (2018). Norma Oficial Mexicana NOM-223-SCFI/SAGARPA-2018, Queso-Denominación, especificaciones, información comercial y métodos de prueba.

30. De la Federación, D. O. (2022). Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema General de Unidades de Medida.
31. De la Unión Europea, D. O. (2011). Reglamento de la Unión Europea n. 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de octubre de 2011. Diario Oficial de la Unión Europea, 22, 18-63.
32. De Oliveira, S. D., Araújo, C. M., Borges, G. D. S. C., dos Santos Lima, M., Viera, V. B., Garcia, E. F., & de Oliveira, M. E. G. (2020). Improvement in physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* DC) and guava (*Psidium guajava* L.) fruit by-products fermented with potentially probiotic *lactobacilli*. *LWT*, 134, 110200.
33. De Vries, W., & Stouthamer, A. H. (1969). Factors determining the degree of anaerobiosis of *Bifidobacterium* strains. *Archiv für Mikrobiologie*, 65(3), 275-287.
34. Directiva 2001/18/EC del Parlamento Europeo y del Consejo (12 de marzo de 2001) sobre la liberación intencional en el medio de organismos modificados genéticamente, con modificaciones posteriores, y por la que se deroga la Directiva del Consejo 90/220/CEE.
35. Downie, N. M., Heath, R. W., Vilaplana, J. P., & Vázquez, Á. G. (1971). *Métodos estadísticos aplicados*. Ediciones del Castillo. Editorial: Universidad Politécnica de Valencia.

36. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) (2015). EFSA Journal.13:4331.
37. Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., Mofid, V., & Akbarian-Moghari, A. (2011). Effect of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus. Journal of dairy science, 94(7), 3288-3294.
38. Esculero, E. (23 de diciembre 2022). Normativas para el sector lácteo en México ¿qué esperar en 2023?. The Food Teach. <https://thefoodtech.com/normatividad-y-certificaciones/normativas-para-el-sector-lacteo-en-mexico-que-esperar-en-2023/>
39. Fenbo Packaging. (2021). How to measure the dimension of stand up pouches with spout? (fotografía). <https://www.fenbopackaging.com/how-to-measure-the-dimension-of-stand-up-pouches-with-spout-a-88.html>
40. Food and drug administration (Octubre del 2021). Polialcoholes. [https://www.accessdata.fda.gov/scripts/InteractiveNutritionFactsLabel/assets/InteractiveNFL\\_SugarAlcohols\\_Spanish\\_October2021.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/InteractiveNutritionFactsLabel/assets/InteractiveNFL_SugarAlcohols_Spanish_October2021.pdf)
41. Food Safety 3M México (2015). Guía de interpretación, placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/coliformes. México.
42. Food Safety 3M México (2017). Guía de interpretación, placa para recuento de bacterias ácido lácticas 3M® Petrifilm. México.

43. Food Safety 3M México (2017). Guía de interpretación, placas Petrifilm™ para el recuento de aerobios AC. México.
44. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). Fundamentals of cheese science (pp. 121-183). New York: Springer US.
45. Franck, A. (2006). Inulin Food Polysaccharides and Their Applications. Stephen A. (Editor), 2.
46. Franco-Luesma, E., Sáenz-Navajas, M. P., Valentin, D., Ballester, J., Rodrigues, H., & Ferreira, V. (2016). Study of the effect of H<sub>2</sub>S, MeSH and DMS on the sensory profile of wine model solutions by Rate-All-That-Apply (RATA). Food Research International, 87, 152-160.
47. Fu, B., & Labuza, T. P. (1997). Shelf-life testing: procedures and prediction methods. In Quality in frozen food (pp. 377-415). Springer, Boston, MA.
48. García, G. (28 de diciembre 2022). Impulso de los probióticos de próxima generación. The Food Teach. [https://thefoodtech.com/nutricion-y-salud/impulso-de-los-probioticos-de-proxima-generacion/?utm\\_campaign=TFT\\_Nota\\_Own\\_Content&utm\\_term=Seguidores&utm\\_content=30122022&utm\\_medium=social&utm\\_source=linkedin&hss\\_channel=lcp-3831495](https://thefoodtech.com/nutricion-y-salud/impulso-de-los-probioticos-de-proxima-generacion/?utm_campaign=TFT_Nota_Own_Content&utm_term=Seguidores&utm_content=30122022&utm_medium=social&utm_source=linkedin&hss_channel=lcp-3831495)

49. Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412.
50. Gil-Chávez, G.J., Villa, J.A., Ayala-Zavala, J.F., Heredia, B., Sepulveda, D., Yahia, E.M. y González-Aguilar, G.A. (2013). Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview, *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 12, 5-23.
51. Gilabert, E. J., & Verdú, F. M. M. (2007). Medida de la luz y el color. Editorial de la UPV.
52. Gonzales, G. A., Hernandez A., Milán J., Vallejo B., Gonzáles A. F. (2018) Aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria para la obtención de compuestos bioactivos. México, AGT.
53. GT, M. S. M., & Cummings, J. (2006). Review Article: Prebiotics in the gastrointestinal tract. *Aliment. Pharm*, 24, 701-714.
54. Guarner, F., & Malagelada, J. R. (2003). Gut flora in health and disease. *The lancet*, 361(9356), 512-519.
55. Gur, J., Mawuntu, M., & Martirosyan, D. (2018). FFC's advancement of functional food definition. *Functional Foods in Health and Disease*, 8(7), 385-397.
56. Haji, F. (2008). Erythritol: sweet, natural, healthy. *Wellness Foods Europe*, 1, 20-23.

57. ISO 16779:2015 (2015), Sensory analysis – Assessment (determination and verification) of the shelf life of foodstuffs.
58. Isolauri, E. T. Y. E. S., Arvola, T., Sütas, Y., Moilanen, E., & Salminen, S. (2008). Probiotics in the management of atopic eczema. *Clinical & Experimental Allergy*, 30(11), 1605-1610.
59. Itziar I. y Gemma L. (2008) “Enzimas del cuajo para la producción de quesos”.
60. Ji, R., Wu, J., Zhang, J., Wang, T., Zhang, X., Shao, L. & Wang, J. (2019). Extending viability of *Bifidobacterium longum* in chitosan-coated alginate microcapsules using emulsification and internal gelation encapsulation technology. *Frontiers in microbiology*, 10, 1389.
61. Jungersen, M., Wind, A., Johansen, E., Christensen, J. E., Stuer-Lauridsen, B., & Eskesen, D. (2014). The Science behind the Probiotic Strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12®. *Microorganisms*, 2(2), 92-110.
62. Kaur, S., & Das, M. (2011). Functional foods: An overview. *Food Science and Biotechnology*, 20(4), 861-875.
63. Kolida, S., Tuohy, K., & Gibson, G. R. (2002). Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S193-S197.
64. Kuby, J. (2005). Estadística elemental.

65. Laguado, N., Briceño, O., Rojo, R., Marín, M., Esparza, D., de Moreno, L., & Ferrer, H. (1995). Efecto de la fertilización y del estado de madurez sobre la calidad de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 12(4).
66. Laitinen, K., Poussa, T., & Isolauri, E. (2000). Probiotics and dietary counselling contribute to glucose regulation during and after pregnancy: a randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition*, 101(11), 1679-1687.
67. Lalinde, J. D. H., Castro, F. E., Rodríguez, J. E., Rangel, J. G. C., Sierra, C. A. T., Torrado, M. K. A. & Pirela, V. J. B. (2018). Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson: definición, propiedades y suposiciones. *Archivos venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 37(5), 587-595.
68. Lawrence, R. C., Creamer, L. K., & Gilles, J. (1987). Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 70(8), 1748-1760.
69. Li, F., Yang, F., Liu, X., Wang, L., Chen, B., Li, L., & Wang, M. (2017). Cucurbitane glycosides from the fruit of *Siraitia grosvenori* and their effects on glucose uptake in human HepG2 cells in vitro. *Food chemistry*, 228, 567-573.
70. Lopes, A.J.; Sandra, C.C.; Ramos Silva, M.; Matos Beja, A.; Redinha, J.S. (2010). Facts about low-calorie sweeteners. *International Journal of Pharmaceutics*, 388: 129–135.
71. Lucey, J. A., Johnson, M. E., & Horne, D. S. (2003). Invited review: perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2725-2743.

72. Luengo Fernandez, E., & Ferreira Montero, I. J. (2007). Alimentos Funcionales y Neutraceuticos. Sociedad Española de Cardiología.
73. Luo, Z., Qiu, F., Zhang, K., Qin, X., Guo, Y., Shi, H. & Ma, X. (2016). In vitro AMPK activating effect and in vivo pharmacokinetics of mogroside V, a cucurbitane-type triterpenoid from *Siraitia grosvenorii* fruits. *RSC advances*, 6(9), 7034-7041.
74. Martínez-Navarrete, N., Vidal, M. D. M. C., & Lahuerta, J. J. M. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad dietética*, 12(2), 64-68.
75. Massari, S., Principato, L., Antonelli, M., & Pratesi, C. A. (2022). Learning from and designing after pandemics. CEASE: A design thinking approach to maintaining food consumer behaviour and achieving zero waste. *Socio-Economic Planning Sciences*, 82, 101143.
76. Medina, M. L., & Pagano, F. (2003). Caracterización de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) tipo "Criolla Roja". *Revista de la Facultad de Agronomía*, 20(1), 72-86.
77. Meira, Q. G. S., Magnani, M., de Medeiros Júnior, F. C., do Egito, R. D. C. R., Madruga, M. S., Gullón, B., & de Souza, E. L. (2015). Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 76, 828-838.

78. Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54(2), 209-215.
79. Meyners, M., Jaeger, S. R., & Ares, G. (2016). On the analysis of rate-all-that-apply (RATA) data. *Food quality and preference*, 49, 1-10.
80. Moors, E. H. (2012). Functional foods: regulation and innovations in the EU. *Innovation: The European Journal of Social Science Research*, 25(4), 424-440.
81. Nocerino, R., De Filippis, F., Cecere, G., Marino, A., Micillo, M., Di Scala, C., & Berni Canani, R. (2020). The therapeutic efficacy of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12® in infant colic: A randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 51(1), 110-120.
82. OMS/FAO. (2003). *Dieta, Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas*. Ginebra.
83. Organización Mundial de la salud. (4 de octubre de 20219). Envejecimiento y salud. Obtenido de <https://www.who.int>
84. Palm, R. (1998). L'analyse en composantes principales: principes et applications. *Notes de Statistique et d'Informatique*, (2).
85. Pinho, O., Mendes, E., Alves, M. M., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2004). Chemical, physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: changes during ripening and intravarietal comparison. *Journal of Dairy science*, 87(2), 249-257.

86. Pino, J., Celis, C. E. Q., & Bent, L. (2012). Determinación de la contribución al aroma de la guayaba cv. Suprema Roja de los componentes volátiles determinados por microextracción en fase sólida. *Alimentos hoy*, 21(25), 17-25.
87. Profeco (2014). Queso tipo petit suisse. *Revista del consumidor agosto 2014*, p.65.
88. Prosello, W., Reinheimer, J., Medici, M., Perdigón, G., Vinderola, G., & Ghiberto, D. (2003). Bioqueso Iloay Vita: un nuevo queso probiótico con alta respuesta sobre el sistema inmune. *ILE: Industrias lácteas españolas*, (298), 34-48.
89. Pullés, M. R. (2014). Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 45(1), 25-36.
90. Ramos-Sandoval, I. N., García-Salazar, J. A., Borja-Bravo, M., Guajardo-Hernández, L. G., Almeraya-Quintero, S. X., & Arana-Coronado, Ó. A. (2017). El mercado de la guayaba en Aguascalientes: un análisis para reducir la volatilidad de los precios. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(SPE18), 3755-3767.
91. Rezazadeh, L., Alipour, B., Jafarabadi, M. A., Behrooz, M., & Gargari, B. P. (2021). Daily consumption effects of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* La5 and *Bifidobacterium lactis* Bb12 on oxidative stress in metabolic syndrome patients. *Clinical nutrition ESPEN*, 41, 136-142.

92. Ribeiro, A. P. L., Guimaraes, J. S., Lago, A. M. T., de Angelis Pereira, M. C., de Abreu, L. R., & Pinto, S. M. (2021). Oat bran and sweeteners in petit-suisse cheese: Technological and nutritional properties and consumer acceptance. *LWT*, 146, 111318.
93. Roberfroid, M. (2004). *Inulin-type fructans: functional food ingredients*. CRC Press.
94. Rodríguez L. C., (2022). SEDRAE mantendrá el apoyo agrícola de la guayaba en Aguascalientes. LJA.MX. <https://www.lja.mx/2022/11/sedrae-mantendra-el-apoyo-agricola-de-la-guayaba/>
95. Rolim, F. R., Neto, O. C. F., Oliveira, M. E. G., Oliveira, C. J., & Queiroga, R. C. (2020). Cheeses as food matrixes for probiotics: In vitro and in vivo tests. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 138-154.
96. Roy, D. (2005). Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products. *Le lait*, 85(1-2), 39-56.
97. Ruiz, A. G. (1997). Estudio estadístico para precedir el tiempo de maduración del queso manchego, e identificación de la microbiota (No. 74). Univ de Castilla La Mancha.
98. Sánchez Gómez, M., & Orozco Villafuerte, J. (2014). Edulcorantes: Utilización y aprovechamiento en diferentes procesos de la Industria Alimentaria.
99. Scalisi, A., O'Connell, M. G., Islam, M. S., & Goodwin, I. (2022). A Fruit Colour Development Index (CDI) to Support Harvest Time Decisions in Peach and Nectarine Orchards. *Horticulturae*, 8(5), 459.

100. Sharma, M., Wasan, A., & Sharma, R. K. (2021). Recent developments in probiotics: An emphasis on *Bifidobacterium*. *Food Bioscience*, 41, 100993.
101. Siegel, S., & Castellan, N. J. (1972). *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta* (Vol. 4). México: Trillas.
102. Steinbach, J., da Fonseca Burgardt, V. D. C., de Castro-Cislaghi, F. P., Machado-Lunkes, A., Marchi, J. F., do Prado, N. V. & Mitterer-Daltoé, M. L. (2021). Understanding consumer, consumption, and regional products: A case study on traditional colonial-type cheese from Brazil. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 26, 100418.
103. Taoukis, P. S., Labuza, T. P., & Saguy, I. S. (1997). Kinetics of food deterioration and shelf-life prediction. *The Editors*, 30.
104. Taverna, M., Páez, R., Chávez, M., Gaggiotti, M. (2013). *La lipólisis en la leche: causas, formas de prevención e incidencia sobre la calidad de los productos lácteos*. Asociación Pro Calidad de La Leche y Sus Derivados.
105. Tetra Pack (s.f.). *Envases de cartón y proceso de retorta: Datos*. <https://www.tetrapak.com/es-ar/solutions/packaging/packages/tetra-recart/everything-you-need-to-know-about-carton-packages-and-retorting>
106. Tiefenbacher, K. F. (2017). Technology of main ingredients—sweeteners and lipids. *Wafer and Waffle*, 123-225.

107. U.S. Department of Agriculture USDA (S.F.). *FoodData Central*.  
<https://fdc.nal.usda.gov/>
108. US Food and Drug Administration. (2004). Food allergen labeling and consumer protection act of 2004 (FALCPA). Public law, 108.
109. US Food and Drug Administration. (2011). Code of Federal Regulations, Title 21, Part 101. Food Labeling 101.9, 04-01.
110. Ventosa, M., Rodríguez, J. L., & Zerqueira, O. L. (2008). Determinación de los principales carotenoides de la guayaba (*Psidium guajava L.*).
111. Villegas de Gante Abraham, V. (2012). Tecnología quesera. *Editorial Trillas. México*.
112. Villegas de Gante, A. (2015). Tecnología de alimentos de origen animal: manual de prácticas (No. Sirsi) i9786071700421.
113. Vlieger, A. M., Robroch, A., van Buuren, S., Kiers, J., Rijkers, G., Benninga, M. A., & te Biesebeke, R. (2009). Tolerance and safety of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in combination with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in a prebiotic-containing infant formula: a randomised controlled trial. *British journal of nutrition*, 102(6), 869-875.
114. Walstra, P. (1990). On the stability of casein micelles. *Journal of dairy science*, 73(8), 1965-1979.

115. Wang, X., Zhang, P., & Zhang, X. (2021). Probiotics Regulate Gut Microbiota: An Effective Method to Improve Immunity. *Molecules*, 26(19), 6076.
116. Wijesekara, A., Weerasingha, V., Jayarathna, S., & Priyashantha, H. (2022). Quality parameters of natural phenolics and its impact on physicochemical, microbiological, and sensory quality attributes of probiotic stirred yogurt during the storage. *Food Chemistry*: X, 100332.
117. Wilkes, J. G., Conte, E. D., Kim, Y., Holcomb, M., Sutherland, J. B., & Miller, D. W. (2000). Sample preparation for the analysis of flavors and off-flavors in foods. *Journal of Chromatography A*, 880(1-2), 3-33.
118. Yoder, J., Roberts, V., Craun, G. F., Hill, V., Hicks, L. A., Alexander, N. T., & Roy, S. L. (2008). Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking--United States, 2005-2006. *Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries (Washington, DC: 2002)*, 57(9), 39-62.
119. Zepeda-Hernández, A., Garcia-Amezquita, L. E., Requena, T., & García-Cayuela, T. (2021). Probiotics, prebiotics, and synbiotics added to dairy products: Uses and applications to manage type 2 diabetes. *Food Research International*, 142, 110208.