

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



DESARROLLO DE FÓRMULA DE YOGUR COMO PROBIÓTICO EN
DIETAS DE LECHONES EN DESTETE

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR:

JESÚS ALFREDO HERNÁNDEZ TORRES

ELIDA ALEJANDRA MURILLO DURÁN

PARA OPTAR EL GRADO DE:

LICENCIADO(A) EN QUÍMICA Y FARMACIA

SEPTIEMBRE 2023

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REINA MARIBEL GALDÁMEZ

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN DE PROCESOS DE GRADO

M.Sc. Ena Edith Herrera Salazar

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA DE ÁREA EN CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS Y VETERINARIOS

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

ASESORA DE ÁREA EN MICROBIOLOGÍA

PhD. Tania Ethel Cuadra Zelaya

DOCENTE ASESORA

Licda. Diana Verónica Tovar Martínez

AGRADECIMIENTOS

A Dios, mi más grande amor e inspiración, contigo todo, sin ti nada. Con tu gracia me basta.

Papá, tú mi superhéroe, mi mayor orgullo y pilar de mi caminar, gracias por ser parte de mi proyecto de vida.

Mamá, tú mi heroína, mi compañera y sustento, las palabras no alcanzan para darte las gracias por tanto amor.

Mamita Estebana, gracias por estar siempre y pagar mis primeros pasajes cuando inicie a estudiar bachillerato.

Hermanos y hermanas, a cada uno gracias por su apoyo incondicional, sus palabras de ánimo, sus consejos y su compañía.

Guillermo Ponce, primo, infinitas gracias por apoyarme siempre y creer desde el inicio que llegaría a cumplir mis metas.

Tía María Durán y mi prima Guadalupe, maravillosas, gracias por brindarme su hogar cuando más lo necesite, no hay manera de pagar, por tanto.

Juan Giovanni Argueta Menjívar, mi mentor, gracias por estar siempre y mostrarme lo valiosa que es la vida. Hoy dejo marcado en esta tesis lo eternamente agradecida que estoy con usted.

Elías Alberto Zeceña Landaverde, único, extraordinario, excelente y admirable; lo mejor de la universidad fue conocerlo y conservar a la fecha su amistad verdadera, "quien encuentra un amigo encuentra un tesoro", esto lo comprobé con usted.

Alfredo Torres, mi compañero de aventuras, como hago para agradecer su paciencia, comprensión y cariño. Ha sido un viaje largo, pero hoy estamos cumpliendo nuestra primera meta.

A mis Docentes Directores, MSc. Edith Herrera Salazar Licda, Diana Verónica Tovar, MSc María Elsa Romero de Zelaya, a mis Asesores de Área MSc. Thania Ethel Cuadra, MSc. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez, por la dedicación y tiempo invertido, dados a lo largo del desarrollo de mi proyecto de graduación. Gracias a todo el personal docente de la Facultad de Química y Farmacia por los conocimientos brindados durante el proceso de formación profesional y sobre todo humana.

Alejandra Murillo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso, por darme las fuerzas necesarias que me permitieron llegar hasta aquí, por darme la fortaleza y esperanza en cada momento; por ser el centro de mi vida y por su eterna misericordia.

Alabad a Jehová, porque él es bueno; Porque para siempre es su misericordia. (Salmos 118:29).

A mi madre, María Elena Torres, que con amor profundo desde que comencé esta carrera me apoyó con todas sus fuerzas para que saliera adelante, ella es mi fortaleza e inspiración, le doy gracias por motivarme cada día, gracias por los esfuerzos constantes, la confianza, el apoyo moral y sobre todo por enseñarme que los sueños se pueden hacer realidad si uno así lo desea, las palabras no alcanzan para darte las gracias por tanto amor.

A mis hermanas, Marlene Torres, Silvia Torres, Ana Ruth Torres y Flor del Carmen Torres, por darme tanto apoyo moral y económico, por ser parte de mi triunfo y siempre estar pendiente de mi trayectoria en el desarrollo profesional. A mis demás hermanos y sobrinos, que siempre han deseado lo mejor para mí, forman gran parte de mi felicidad, los aprecio a todos y doy gracias a Dios por darme la hermosa familia que tengo.

A Alejandra Murillo, que siempre me ha apoyado en esta etapa de mi vida, en nuestras aventuras, en nuestro trabajo de graduación, agradezco su empatía, cariño y comprensión. Gracias por ser parte de mi vida, Ha sido un viaje largo, pero hoy estamos cumpliendo nuestra primera meta de muchos que vendrán en un futuro.

A Elías Alberto Zeceña Landaverde, un excelente y admirable amigo, que nos ha apoyado en esta etapa, gracias por su disponibilidad, gracias por ayudarme a ser posible este gran logro y ser parte de él.

A mis Docentes Directores, MSc. Edith Herrera Salazar, Licda, Diana Verónica Tovar, MSc María Elsa Romero de Zelaya, a mis Asesores de Área MSc. Thania Ethel Cuadra, MSc. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez, por la dedicación y tiempo invertido, dados a lo largo del desarrollo de mi proyecto de graduación. Gracias a todo el personal docente de la Facultad de Química y Farmacia por los conocimientos brindados durante el proceso de formación profesional y sobre todo humana.

Jesús Torres.

DEDICATORIA

A Dios por darme su amor y misericordia, que me concedió el don de la vida, por darme las fuerzas para continuar y ayudarme a jamás perder la fe.

Con profundo amor a mis padres: Francisco Murillo Gutiérrez y Juana Cruz Durán Gonzáles, quienes con gran esfuerzo y sacrificio me han ayudado a cumplir mis metas y seguir esforzándome en la vida. Son mi motivo de lucha constante.

Con inmenso cariño a mis hermanos y hermanas, quienes inspiran en mí, lucha y ansias de superación en todo aspecto de mi vida.

Con amor eterno a Osma Lilian de Jesús Montano García (Q.D.D.G), mi madrina, mujer emprendedora, dedicada a sus padres, me acercó más a Dios y a cumplir sus mandamientos, persona de ejemplo, quien dirige mi vida al lado de Dios.

A mi mejor amigo, Elías Alberto Zeceña Landaverde, gracias por siempre estar para mí, Diosito le dé muchas bendiciones.

Con mucho aprecio a Juan Giovanni Argueta Menjívar, por su apoyo, consejos y compañía, cuando más lo necesite, ha sumado para que ahora haya logrado este triunfo.

A Guillermo Ponce, por creer en mí siempre y demostrar su apoyo incondicional. Mil gracias, por tanto.

A mi compañero Alfredo Torres, si algo he de admirar de él, es su paciencia y perseverancia. Infinitas gracias por todo su apoyo, es muy especial en mi vida.

A mi jefa y amiga Licda. Diana Tovar, mujer admirable, gracias por su apoyo, consejos y enseñanzas. Dio paso a mi formación profesional en la industria.

A cada uno de quienes han estado conmigo, sin importar el tiempo y el espacio del trayecto, que han compartido y sumado para que hoy en día logre una de mis metas; decirles gracias y que mi Diosito los Bendiga grandemente.

Alejandra Murillo.

DEDICATORIA

A Dios Todo poderoso, que me dio la vida, gracias por su inmenso amor, gracias te doy mi señor Jesús, gracias por iluminar cada etapa de mi vida, permitiéndome superarse hasta llegar muy lejos realizando su santa voluntad.

Encomienda a Jehová tu camino, Y confía en él; y él hará. (Salmos 37:5).

Con profundo amor a mi madre, María Elena Torres, que con gran esfuerzo e invaluable sacrificio y sus oraciones y consejos, me alentó a cumplir con mis objetivos, perseverancia hasta llegar a la meta, le doy gracias en todo momento de mi vida.

Con inmenso cariño y admiración, a mis hermanas, Marlene Torres, Silvia Torres, Ana Ruth Torres y Flor del Carmen Torres, y de más hermanos y sobrinos, quienes inspiran en mí, lucha y ansias de superación en todo aspecto de mi vida.

A mi compañera, Alejandra Murillo, que desde un principio creyó en mí, de poder terminar esta etapa de mi vida, y por su apoyo incondicional con su inmenso cariño, sobre todo por enseñarme el verdadero sentido de la vida.

A mis amigos, Elías Zeceña Landaverde, Miguel Tomas Murillo, Marvin Murillo, Salvador Cañas, y demás amigos por su apoyo incondicional, por darme ánimos y sobre todo por creer en mí.

Con un enorme agradecimiento a la Universidad de El Salvador, del departamento de San Miguel, El Salvador, por haberme forjado los primeros años de esta carrera de Química y Farmacia. Gracias a todo el personal docente, por los conocimientos brindados durante el proceso de formación profesional y sobre todo humana.

Con un enorme agradecimiento a la Iglesia Bautista Manantial de Vida del caserío Chaparrastique, San Miguel, El Salvador, por haberme apoyado incondicionalmente con sus oraciones y por haber confiado en mí de que terminaría esta etapa de mi vida.

Jesús Torres.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	
CAPÍTULO I	
1. INTRODUCCIÓN	xvi
CAPÍTULO II	
2. OBJETIVOS	
CAPÍTULO III	
3. MARCO TEÓRICO	21
3.1. Bacillus	21
3.1.1. <i>Bacillus licheniformis</i>	21
3.2. Probióticos	22
3.2.1. Historia de los probióticos	22
3.2.2. Definición de Probióticos.	24
3.2.3. Probióticos como alimentos funcionales en animales	25
3.2.4. Probióticos, eficacia y uso en alimentos	26
3.2.5. Factores Biológicos y Tecnológicos en el uso de probióticos.	27
3.2.6. Efectos de los probióticos sobre la salud animal.	28
3.3. El yogur	29
3.3.1. Definición	29
3.3.2. Historia.	30
3.3.3. Generalidades sobre la industria del yogur	32
3.3.4. Clasificación	32
3.3.5. Yogur en polvo como suplemento nutricional animal.	32
3.3.6. Especificaciones y Características	33
3.3.7. Materias Primas y Materiales.	34
3.3.8. Proceso de Elaboración del yogur	35
3.3.9. ICH Q8	37
CAPÍTULO IV	
4. DISEÑO METODOLÓGICO	43
4.1. Tipo de Estudio	43

4.2.	Investigación Bibliográfica.	43
4.3.	Investigación de Campo	44
4.4.	Parte experimental	44
4.4.1.	Propuesta, Formulación y Proceso de elaboración de yogur en polvo	44
4.4.2.	Proceso para la elaboración del yogur en polvo	46
4.4.3.	Método de análisis determinación del color, olor, sabor, partículas extrañas, textura, pH y la densidad	48
CAPÍTULO V		
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	62
5.1.	Perfil del producto.	62
5.2.	Preformulación del yogur para lechón con un (sustituto de leche) como probiótico.	63
5.2.1.	Resultados no experimentales de la Preformulación.	63
5.3.1	Resultados de análisis del producto terminado, la caracterización del flujo del polvo.	69
5.3.2	Resultados de análisis químicos y microbiológicos del producto terminado, análisis de viscosidad, bromatológicos y microbiológicos.	72
5.5.	Describir proceso de fabricación y control en el proceso.	78
5.6.	Comparación de parámetros físicas, químicas y microbiológicos del prototipo con el producto terminado.	80
CAPÍTULO VI		
6.	CONCLUSIONES	83
CAPITULO VII		
7.	RECOMENDACIONES	85
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.		
ANEXOS		

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Pág. N°
1. Microorganismos permitidos en alimentos para uso animal por la Asociación Americana de Oficiales de Control de Alimentos para Animales.	27
2. Clasificación y designación de los diferentes tipos de yogur según la norma NSO 67.01.10:06.	32
3. Requisitos microbiológicos, según la norma NSO 67.01.10:06.	34
4. Metodología para el análisis de la medición de los atributos asignados en el Perfil del producto para cada ensayo.	49
5. Metodología Utilizada para análisis de viscosidad.	57
6. Metodología utilizada para análisis bromatológicos.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pág. N°
1. Mezcla de Probióticos	66
2. Resultados en los ensayos realizados	67
3. Resultados obtenidos en el producto final	70
4. Esquema del procedimiento de preparación de un lote de yogur	90
5. Ficha Técnica de la Mezcla de Probióticos	100
6. Certificado de análisis de la viscosidad del producto terminado	104
7. Certificado de análisis bromatológico del producto terminado	105
8. Resultado de Análisis de Humedad por Termobalanza	106
9. Certificado - viabilidad del microorganismo <i>B. licheniformis</i> .	107
10. Certificado de análisis microbiológico del producto terminado	108
11. Diagrama del proceso de elaboración del yogur paso a paso	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág. N°
1. Formulación para la elaboración de yogur.	45
2. Propiedades de Flujo	52
3. Escala de Fluidez	53
4. Tinción de Gram	60
5. Perfil del producto para un yogur para lechón	62
6. Resumen de la Preformulación de Activos y Excipientes	64
7. Resultados de densidad y fluidez de polvos	70
8. Resumen de Fórmulas ensayadas	74
9. Resumen resultados del perfil del producto de fórmulas ensayadas	76
10. Formula cuali-cuantitativa que cumple con el "perfil del producto"	77
11. Comparación de escalamiento de método de fabricación a Escala de Ensayo a Escala Piloto y sus controles en el proceso.	78
12. Comparación del prototipo con el producto terminado	80

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Materiales y equipo
2. Procedimientos de controles en proceso
3. Cálculos y formulación de 1 kg de yogur
4. Procedimiento para la preparación de un lote de yogur
5. Procedimiento de lavado de cristalería
6. Ficha técnica de principios activos
7. Cálculos de los resultados de densidad y fluidez del polvo
8. Certificado de análisis de viscosidad del producto terminado
9. Análisis bromatológicos
10. Certificado de análisis de materia prima - viabilidad del microorganismo *bacillus licheniformis*.
11. Certificado de análisis microbiológico del producto terminado
12. Cálculos para determinar la densidad del yogur
13. Procedimiento para la elaboración a nivel industrial

ABREVIATURAS

<i>B. licheniformis</i>	= <i>Bacillus licheniformis</i>
°C	= Grados Celsius
FAO	= Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
g	= Gramos
h	= Horas
H₂O	= Agua
ICH	= Conferencia Internacional de Armonización, Desarrollo Farmacéutico
L	= Litro
OMS	= Organización Mundial de la Salud
pH	= Potencial de hidrógeno
sp.	= Especie
UFC	= Unidades formadoras de colonias
UFC/g	= Unidades formadoras de colonias por gramo
UFC/mL	= Unidades formadoras de colonias por mililitros

RESUMEN

La investigación se planteó con el objetivo de desarrollar y formular un yogur para lechones en la etapa del destete, se desarrollaron cuatro ensayos incorporándoles una mezcla de probióticos (sustituto de leche), que contenía los liofilizados de *Bacillus licheniformis* con el propósito de reforzar el sistema digestivo de los lechones.

La ejecución de la parte experimental se acopló a la ICH, Q8, con base a esta se establecieron como atributos críticos para la calidad del suplemento alimenticio (que al reconstituirlo en agua se convertirá en yogur), teniendo en cuenta el uso previsto y vía de administración tomando como referencia un producto prototipo, dando como resultado el "Perfil del producto".

Entre los atributos de calidad se encuentran las propiedades organolépticas (color, olor, sabor, aspectos, partículas extrañas y textura) ya que son determinantes en la aceptación del animal; propiedades fisicoquímicas (pH, fluidez de polvos, viscosidad y densidad); ya que proporcionará la estabilidad del producto. Además, se realizaron estudios tercerizados de propiedades bromatológicas (carbohidratos totales, grasa total, humedad, cenizas, fibra cruda y calcio) se consideraron importantes en los ensayos, ya que permitió conocer el aporte nutricional que otorgará el producto, así como la identificación del microorganismo probiótico, que dió confiabilidad que estos se encontraban presente en el producto terminado, y la calidad microbiológica que determinó presencia o ausencia de patógenos

En la etapa de preformulación (4 ensayos) hasta obtener el producto esperado, el ensayo F-04 cumplió con los parámetros deseados según lo establecido en el perfil del producto por lo que se seleccionó como el producto terminado, ya que cumplió con todos los parámetros de calidad establecidos como críticos y los resultados de tercería esperados.

**CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN**

1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales producen efectos beneficiosos a la producción y a la sanidad de los animales, superior a los alimentos tradicionales, dentro de la gama de alimentos funcionales están los probióticos, sin embargo, estos deben contener microorganismos vivos en cantidades necesarias para que produzcan sus efectos benéficos, por lo que las concentraciones mínimas que debe poseer un alimento para ser considerados funcional o alimento probiótico son de 10^6 UFC/g o mL, según la FAO/OMS. Para la elaboración de este tipo de alimento, los microorganismos (probióticos) pueden ser incorporados en cualquier alimento que puedan servir como vehículo, que en ciertas condiciones de temperatura y pH en el proceso de elaboración y almacenamiento se mantengan vivos hasta ser ingeridos y puedan desencadenar sus efectos benéficos en el animal.

En el área pecuaria se detectó la necesidad de una propuesta de un producto que pueda cumplir las funciones como sustituto lácteo en crías de cerdos en etapas de destete, ya que, las camadas más grandes provocan crecimientos dispares entre sus crías y las madres son incapaces de alimentar adecuadamente a estas camadas debido a que es necesario mucha energía para mantener un alto nivel de producción de leche, es por ello que no todos los lechones alcanzan su potencial genético de crecimiento.

El desarrollo del estudio presentó la propuesta de formulaciones del yogur para lechón (4 ensayos) se incorporó en la fórmula un sustituto lácteo que contenía los microorganismos *Bacillus licheniformis*, en cantidades adecuadas para considerarse probiótico, el producto terminado fue un suplemento alimenticio que posteriormente al reconstituirlo en agua se convertirá en yogur, de manera general se basó el proceso para desarrollar un producto farmacéutico, las etapas que lo componen como la preformulación farmacéutica y el diseño farmacéutico acoplados a la normativa ICH Q8 (Conferencia Internacional de Armonización, Desarrollo Farmacéutico), y con base y adopción de esta guía se definieron los parámetros (aspectos) críticos para la calidad del producto terminado en el diseño del Perfil del producto específicos para la forma farmacéutica, que posteriormente fueron comparados con un producto prototipo, que permitió llevar a cabo selección de la fórmula idónea que cumpla con los requisitos de calidad establecidos.

La parte experimental se llevó a cabo en el laboratorio de las instalaciones de Innovaciones Nutricionales S.A de C.V, que brindó asesoría técnica, así como

también el espacio de laboratorio y uso de equipos para evaluar los atributos de calidad, físicos, químicos y microbiológicos de los ingredientes de la fórmula, así como también del producto terminado.

Posteriormente a la parte experimental se presentan los resultados obtenidos en la investigación, así como la discusión de estos resultados por parte del equipo investigador según los objetivos planteados inicialmente, finalmente se plantean las conclusiones y recomendaciones obtenidas de los cuatro ensayos de yogur desarrollados determinando así la fórmula ideal como probiótico en dietas de lechones en destete.

CAPÍTULO II
OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una fórmula de yogur con probiótico para dietas de lechones en destete.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1. Incorporar en la propuesta de fórmula un sustituto lácteo que contenga *Bacillus licheniformis* como probiótico.
- 2.2.2. Evaluar los atributos de calidad, físicos, químicos y microbiológicos de los componentes de la fórmula.
- 2.2.3. Determinar un proceso específico de fabricación y establecer controles en el proceso.
- 2.2.4. Comparar las características físicas, químicas y microbiológicas del producto terminado con las del producto prototipo.

CAPÍTULO III
MARCO TEÓRICO

3. MARCO TEÓRICO

3.1. *Bacillus*

Los microorganismos del género *Bacillus* presentan un tamaño entre 4-10 µm, (BGP), aerobios estrictos, forman endosporas capaces de resistir condiciones extremas. Las especies de este género se clasifican en los subgrupos *B. polymyxa*, *B. subtilis* que incluye a *B. brevis*, *B. licheniformis*, *B. cereus* y *B. anthracis*. Tienen la capacidad de ser metabólicamente muy diversos lo que les permite tener una colonización exitosa en el ambiente rizosférico. Entre algunos mecanismos se encuentran la solubilización de fosfato, la síntesis de fitohormonas como el ácido indol acético y la capacidad de controlar algunos hongos patógenos en la rizósfera. ⁽¹⁾

Este género pertenece a la familia Bacillaceae, “Los miembros de este género se caracterizan por ser Gram positivos, de forma bacilar, catalasa positiva, aerobios estrictos o anaerobios facultativos y formadores de endosporas” Están ampliamente distribuidos en la naturaleza, algunos forman parte de la flora normal y otros son considerados contaminantes; otra variedad de especies se encuentra asociada a plantas, donde el crecimiento es favorable y permite el control biológico de patógenos. También, tienen implicaciones médicas por la producción de antibióticos como: polimixina y bacitracina, así como su aplicación industrial en la producción de solventes, enzimas, vitaminas, entre otros. ⁽¹⁾

3.1.1. *Bacillus licheniformis*

B. licheniformis es una bacteria ubicua en la naturaleza, existe predominantemente en el suelo en forma de spora, es un bastón, Gram positivo, móvil anaerobio facultativo y formador de esporas. pertenece al grupo *B. subtilis* del género *Bacillus*, es considerado un microorganismo mesófilo con una temperatura mínima de crecimiento de 15 °C pero es capaz de crecer a 50-55 °C. ⁽⁵⁾

B. licheniformis es la especie esporulada más comúnmente aislada de leche cruda y ha sido descrita como una de las tres especies predominantes en polvos lácteos, este microorganismo es de gran interés, no solo por su predominancia en la línea de producción de polvos lácteos sino también, por el amplio potencial tecnológico de la bacteria en sí y de sus productos extracelulares, ya que se ha usado por décadas en la producción industrial de distintas enzimas. ⁽⁵⁾

3.1.1.1. Características morfológicas de *B. licheniformis*:

- Morfología microscópica: forma irregular, con una superficie brillante de elevación plana y con un margen rizado. Se considera un bacilo grampositivo con un color beige.
- Es un microorganismo del suelo con carácter apatógeno, asociado sobre todo con materiales de plantas y vegetales en la naturaleza. *B. licheniformis* se puede aislar prácticamente en cualquier lugar, ya que la resistencia de sus endosporas le confieren la capacidad de supervivencia.
- Morfología macroscópica: Varía en función del medio que se emplee.
- pH óptimo de crecimiento 5-8.
- Requiere medio nutricional complejo con aminoácidos, péptidos, vitamina, sales, ácidos grasos y carbohidratos fermentables.
- Temperatura óptima de crecimiento: con una mínima de crecimiento de 15 °C pero es capaz de crecer a 50-55 °C. ⁽⁵⁾
- Este género se caracteriza por su forma bacilar, por ser Gram positivos, de catalasa positiva, aerobios estrictos y formadores de endosporas, dentro de la práctica microbiológica se aplican técnicas fenotípicas que permiten una identificación. Sin embargo, muestran algunas limitaciones que se pueden observar de manera más evidente para algunos microorganismos y los métodos moleculares contribuyen a eludir algunas de estas, permitiendo lograr el objetivo de una identificación con mayor sensibilidad y precisión. ⁽¹⁾

3.2. Probióticos

3.2.1. Historia de los probióticos

Como lo retoma Zeceña, L.; E., A. (2018) de la FAO/OMS, el término “probiótico” derivado de bios, palabra griega que significa “vida”, nació a mediados del siglo pasado a partir de la observación de la influencia positiva de determinados microorganismos en la flora intestinal. El significado completo de la palabra “probiótico” es “a favor de la vida” y actualmente se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos benéficos para los seres humanos y los animales. ⁽¹⁹⁾

Los beneficios a la salud asociados a las bacterias “amigables” llamó la atención del público en general por primera vez en 1908, cuando el biólogo Ruso Dr. Elie Metchnikoff escribió “The Prolongation of Life” (La prolongación de la vida). Afirmó que “la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles”.⁽¹⁹⁾

Para ese tiempo el pediatra francés Henry Tissier observó que niños con diarrea tenían escasez de bacterias caracterizadas por una morfología peculiar en forma 31 de “Y” en sus heces, las cuales estas bacterias “bífidas” por el contrario eran muy abundantes en niños sanos, por lo que sugirió la posibilidad de ser administradas estas bacterias a pacientes con diarrea para facilitar la recuperación de una flora intestinal sana.⁽¹⁹⁾

Las obras de Metchnikoff y Tissier fueron las primeras en las que se hicieron propuestas científicas con respecto a la utilización probiótica de bacterias, pero fue hasta 1960 que se utilizó la palabra “probiótico” para describir aquellas sustancias secretadas por un microorganismo que estimula el crecimiento de otros microorganismos.⁽¹⁹⁾

En la actualidad los microorganismos probióticos tienen gran importancia a nivel industrial, debido a que numerosas investigaciones han demostrado resultados diversos principalmente de carácter benéfico para la sociedad tanto para personas como para la industria de la agricultura.⁽¹⁹⁾

Los probióticos han sido señalados como una alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. Aunque existen muchas definiciones, todas coinciden en señalarlos como microorganismos vivos que ejercen un efecto benéfico para el tracto intestinal del hospedero, sin perturbar las funciones fisiológicas normales.⁽¹⁹⁾

Dentro de los microorganismos que han sido autorizados para su empleo en la alimentación animal podemos distinguir diferentes grupos de bacterias probióticas (*Bacillus cereus*, *Bacillus cereus toyoi*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus farciminis*, *Pediococcus acidilactici*) y entre las levaduras probióticas el género más común es el *Saccharomyces*, especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces cerevisiae* var *Boulardii*., estas cepas han demostrado efectos positivos en especies tales como rumiantes, aves, porcinos, peces y conejos.⁽¹⁷⁾

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), los cuales definieron a

los probióticos como microorganismos vivos que, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio saludable al hospedero. ⁽¹⁷⁾

También se menciona que los probióticos son organismos vivos que adicionados a las raciones que actúan en el tracto digestivo de los animales de diversas maneras: con efectos nutricionales, suprimen la producción de amonio y neutralizan entero-toxinas, estimulan el sistema inmune y exclusión competitiva. ⁽¹⁷⁾

El uso de los probióticos en la cría de lechones es una herramienta esencial para el porcicultor, ya que al nacer los lechones quedan expuestos a los microorganismos patógenos del ambiente que los rodea, los que colonizan su sistema digestivo el cual contiene una población relativamente estable y compleja que representa la microflora intestinal normal del lechón, no obstante esta estabilidad puede ser alterada por cambios en la dieta, ambientales o estrés causando un incremento de la cantidad de microorganismo patógenos causando problemas entéricos que conllevan a la incidencia de la morbilidad y mortalidad de los lechones causadas por desórdenes gastrointestinales, los cuales son una de las principales causas de pérdida económica en la industria porcina. ⁽¹⁷⁾

Para que una cepa probiótica produzca un efecto benéfico debe encontrarse en altas cantidades en el alimento y estar activos a la hora de ser ingeridos, para que pueda adherirse en la mucosa intestinal y producir sustancias inhibitorias y así combatir a patógenos potenciales. ⁽¹⁹⁾

3.2.2. Definición de Probióticos.

Como lo retoma Zeceña L.; E., A. (2018), de acuerdo con la Organización Mundial para la Salud (OMS) la definición de probiótico es: "microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, producen beneficios a la salud. ⁽¹⁹⁾

Estos microorganismos vivos se incorporan a un alimento, permaneciendo activos en el intestino ejerciendo importantes efectos fisiológicos. ⁽¹⁹⁾

Los probióticos al ser ingeridos en cantidades adecuadas y manteniéndose viables en el organismo dan respuesta a contribuir en el equilibrio de la microflora intestinal y favorecer al sistema inmune del huésped. ⁽¹⁹⁾

B. licheniformis es la especie esporulada más comúnmente aislada de la leche cruda, este microorganismo es de gran interés, no solo por su predominancia en la línea de producción de polvos lácteos, sino también, por el amplio potencial tecnológico de la bacteria. ⁽⁵⁾

Criterios para que un microorganismo pueda ser considerado probiótico. ⁽¹⁹⁾

- Ser de naturaleza no patógena.
- Ser resistente a la destrucción por ácido gástrico o biliar.
- Ser resistente a la destrucción por procesamiento.
- Capacidad de adhesión a las superficies epiteliales.
- Ser capaz de colonizar el tracto gastrointestinal en corto tiempo.
- Sobrevivir en el ecosistema intestinal.
- Producir sustancias antimicrobianas.
- Permanecer vivas y estables durante su empleo.
- Modular Respuestas inmunes
- Influenciar actividades metabólicas humanas.

3.2.3. Probióticos como alimentos funcionales en animales

La denominación “probiótico” o “alimento funcional probiótico” se aplica tanto a los microorganismos como a los productos alimenticios, que contienen determinados microorganismos viables en número suficiente para alterar o modificar la flora intestinal original (por implantación o colonización) en cualquier compartimento digestivo del huésped y así ejercer efectos beneficiosos para la producción de los animales. ⁽²⁾

Son productos alimenticios que, además de su valor nutritivo intrínseco, ayudan a mantener el estado de salud general del organismo y a la vez pueden tener un efecto benéfico adicional, terapéutico o preventivo en el huésped. ⁽²⁾

Actualmente se describen como suplemento alimenticio microbiano vivo que afecta benéficamente al animal hospedero fomentando su balance microbiano intestinal, no obstante, el concepto se ha redefinido y hoy día se habla también de cultivos de uno o varios microorganismos vivos que, al ser suministrados al hombre o a los animales contribuyen al hospedero desarrollando las propiedades del microbiota original. ⁽²⁾

La utilización de probióticos se ha dirigido a dos áreas principalmente: la salud y alimentación humana, y la sanidad y producción animal. En la producción animal, la importancia de los probióticos en cuanto a su uso en la alimentación

de los animales de granja se basa en las propiedades que se les atribuyen para mejorar la eficiencia de conversión alimenticia y como promotores de crecimiento. Ya que el uso continuo e indiscriminado de antibióticos en animales de granja como promotores de crecimiento produjo la aparición de cepas bacterianas resistentes, capaces de transferir la resistencia a otras bacterias incluso de diferente género y especie. ⁽²⁾

Por tanto, los probióticos se perfilan como una de las opciones más destacadas con respecto a la utilización de antibióticos en animales y como una solución promotora de la calidad y de la seguridad dietaria. Los probióticos no sustituyen a los antibióticos como agentes terapéuticos, pero pueden ser vistos como el medio de reparar deficiencias en la flora intestinal inducidas por efectos dietarios, haciendo al hospedero más resistente a la enfermedad y reduciendo la frecuencia del uso de antibióticos. ⁽²⁾

Los microorganismos probióticos deben permanecer viables y activos en el alimento y durante el tránsito gastrointestinal, para garantizar su potencial efecto benéfico en el huésped. En este aspecto, son importantes el pH derivado del proceso de fermentación, el oxígeno disuelto (especialmente para las bifidobacterias), el antagonismo entre especies, la composición química del medio de cultivo, la concentración de azúcares, las prácticas de inoculación del cultivo probiótico, la temperatura y duración de la fermentación, y las condiciones de almacenamiento del producto. ⁽²⁾

3.2.4. Probióticos, eficacia y uso en alimentos

Los probióticos utilizados en alimentos para uso animal pertenecen, aunque no exclusivamente, al género *Bacillus*. En el cuadro N° 1 se presentan las principales especies usadas hasta el momento. Sin embargo, cada día se investiga el posible uso de nuevas especies, siempre y cuando se demuestre que cumplan los criterios de selección para un probiótico. ⁽⁸⁶²⁾

Criterios a cumplir para la selección de un microorganismo como probiótico:

- 1) Presentar tolerancia a los ácidos y a las sales biliares;
- 2) Ser identificados y clasificados por técnicas genotípicas;
- 3) Presentar efecto antagónico contra bacterias patógenas;
- 4) No actuar como patógenos oportunistas, aun cuando el hospedero se encuentra inmunodeprimido;

5) Estimular al sistema inmunológico mejorando la resistencia contra patógenos

6) Poder adherirse al intestino.

Cuadro N° 1: Microorganismos permitidos en alimentos para uso animal por la Asociación Americana de Oficiales de Control de Alimentos para Animales. (2, 9)

Género	Especie
<i>Bacillus</i>	<i>B. thuringiensis</i> Ber., <i>B. licheniformis</i> Ches., <i>B. megaterium</i> De Bary., <i>B. subtilis</i> y <i>B. mycoides</i> Flug. <i>B. megaterium</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. brevis</i> , <i>B. cereus</i> y <i>B. anthracis</i> .
Otras especies.	<i>Saccharomyces boulardii</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bacillus toyoi</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Streptococcus faecium</i> .

Fuente: elaboración propia con base a la referencia de Castillo B., 2016. (2)

Muchas compañías internacionales comercializan alimentos con probióticos, a los que atribuyen determinados efectos benéficos en la salud, sin embargo, la cantidad de probióticos vivos que debemos ingerir para observar un efecto positivo sobre el organismo, depende de la especie usada y del tipo de efecto buscado. De manera general, se considera que consumiendo diariamente 100 g de alimentos que contengan entre 10^6 y 10^7 UFC/g viables, se producirá un efecto benéfico para la salud. (19)

3.2.5. Factores Biológicos y Tecnológicos en el uso de probióticos.

Los factores que se deben considerar en el desarrollo de alimentos que contienen probióticos son (19):

1. Selección de la cepa
2. Cantidad de inóculo
3. Toxicidad nula
4. Adaptación al proceso. (principalmente tipo de sustrato, competencia con otros cultivos lácticos, calentamiento, etc).
5. Identificación y enumeración de la población viable.
6. Estabilidad durante el almacenamiento (temperatura, pH, Oxígeno)

7. Posibles cambios en las propiedades sensoriales.

3.2.6. Efectos de los probióticos sobre la salud animal.

En la producción pecuaria con fines comerciales, es frecuente el uso de aditivos para aumentar la efectividad de los nutrientes presentes en el alimento, su disponibilidad y absorción en el tubo digestivo, además de modular la flora intestinal de los animales y promover su crecimiento. El nivel de aditivos que normalmente deben ser adicionados a los alimentos para animales, en función de aumentar el crecimiento y una mayor productividad, es bajo. ⁽⁹⁾

Uno de los mecanismos de los probióticos consiste en cambiar la dinámica de la población microbiana, disminuir el crecimiento de microorganismos patógenos y promover el crecimiento de microflora beneficiosa. Poblaciones microbianas benéficas en el tubo digestivo, se han asociado con aumento en el rendimiento del animal, lo que refleja una digestión más eficiente y mejora en la inmunidad. La capacidad de los probióticos de reducir los microorganismos patógenos en el tubo digestivo, puede deberse a la producción de bacteriocinas, a la exclusión por competencia al adherirse los probióticos al epitelio intestinal, al cambio en pH y a la inducción de la respuesta del sistema inmune. ⁽⁹⁾

Dentro de los efectos benéficos que se han atribuido a estos microorganismos se incluyen:

- Descenso del colesterol sérico.
- Progreso en la absorción del calcio.
- Reducción de la intolerancia a la lactosa.
- Favorece la prevención de cáncer colon-intestinal.
- Alivio en las enfermedades infecciosas.
- Alivio en enfermedades crónicas intestinales como colitis ulcerosa.

Estos efectos pueden deberse directa o indirectamente a la regulación de la respuesta inmunológica o de la microflora intestinal. Los probióticos mejoran el equilibrio de la microflora intestinal, puesto que se unen a los receptores intestinales competitivamente, actúan acidificando la luz intestinal, segregando sustancias que inhiben la proliferación de microorganismos patógenos, ya que producen ácidos orgánicos, bacteriocinas, entre otros. ⁽¹⁹⁾

Las bacteriocinas son de gran importancia para la industria de alimentos, puesto que gracias a su actividad antimicrobiana pueden utilizarse como conservadores biológicos, y estos en un momento podrían ocupar el lugar de los conservadores químicos porque tienen la ventaja de ser proteínas que al biodegradarse no forman compuestos secundarios. ⁽¹⁹⁾

Los probióticos se sitúan en la mucosa del intestino y ahí originan las sustancias inhibitorias que combaten la acción de bacterias toxigénicas, por lo tanto, esta población microbiana, figura un potencial metabólico importante que no solo conserva los procesos de digestión, sino que también actúa sobre los procesos de destoxificación, llevados a cabo en el intestino, además de la estimulación del sistema inmunológico. Los probióticos son llamados también bioterapéuticos, bioprotectores o bioprolifáticos y se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales. ⁽¹⁹⁾

3.3. El yogur

Es un producto lácteo obtenido mediante la fermentación bacteriana de la leche. Si bien se puede emplear cualquier tipo de leche, la producción actual usa predominantemente leche de vaca. La fermentación de la lactosa (el azúcar de la leche) en ácido láctico es lo que da al yogur su textura y sabor tan distintivo. A menudo se le añade fruta, vainilla, chocolate y otros saborizantes, pero también puede elaborarse sin añadirlos; en algunos países se conoce al de sabor natural como Kumis ("natural"). ⁽¹⁴⁾

"Es el producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de ésta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas. *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, pudiendo estar acompañadas de otras bacterias ácido lácticas que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables y activas desde su inicio y durante toda la vida útil del producto. ⁽¹⁴⁾

3.3.1. Definición

Según la norma NSO 67.01.10:06 Productos Lácteos Yogur. Especificaciones define yogur como el producto lácteo pasteurizado obtenido por fermentación láctica mediante la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a partir de leche entera, semidescremada o descremada fortificada o no con sólidos de leche. Los microorganismos vivos presentes en el producto final deben ser de los tipos antes mencionados y su contenido abundante. Pueden contener cultivos prebióticos. ⁽¹⁰⁾

3.3.2. Historia

Es muy difícil establecer un lugar de origen del yogur, ya que se consumía antes que la agricultura iniciará, sin embargo, hay indicios que explican que el yogur se originó en Europa Oriental donde hoy se ubica la república de Turquía. Por otra parte, hay algunos datos que indican que su origen se dio en Bulgaria o Asia Central. ⁽¹⁵⁾

El yogur fue descubierto por accidente; se dice que en un comienzo las personas que conformaban los pueblos ganaderos nómadas trasladaban leche fresca que recolectaban de los animales en bolsas fabricadas con piel de cabra, en donde gracias al calor y el contacto con dicha piel, sucedía una alteración biológica, las bacterias se multiplicaban y daban como resultado una leche fermentada de consistencia semisólida y coagulada.

Este descubrimiento fue de suma importancia para estos pueblos, ya que, gracias a la fermentación de la leche, esta se conservaba más tiempo, prolongando así la vida útil del producto y generando una serie de características organolépticas agradables. ⁽¹⁵⁾

Existen estudios sobre el yogur que revelan a este como una bebida proveniente del prokisch, que es una leche ácida fabricada en Tracia, una región Balcánica del sureste de Europa ubicada al norte del mar Egeo, cuya elaboración partía de la leche de oveja o de búfala, a la que se le combinaba con leche de cabra o de vaca.

El yogur tuvo mucha importancia en todo el oriente de Europa, debido a los beneficios que aportaba a la salud, y se lo denomina de diferentes formas en algunos lugares antiguos de Turquía o de la zona oriente de Europa.

Es por eso que en Rusia se lo conocía como KUMIS en el siglo IV A.C. Mientras que en algunos textos médicos árabes se le llamaba LEBEL 633 A.C. El nombre de yogur nace en Turquía, ya que ellos en un principio lo llamaban YUGURUT. El DAHI y el suero ácido aparecen en la India entre los siglos VII y VIII A.C. Se le llamo AIRAN, en Asia Central, en el siglo XII D.C. al igual que el KHERAN en Rusia y TARHO en Hungría en el siglo XIV. ⁽¹⁵⁾

A lo largo del tiempo los derivados lácteos han sido muy consumidos por todo el mundo, productos como el kéfir y el kumis son claros ejemplos de esta popularidad.

Al kéfir se lo consideraba una bebida de profetas, su origen se remota al Cáucaso donde se le consumía regularmente durante miles de años para evitar el envejecimiento y tener una vida sana, por esta razón se le llamaba

elixir de salud y larga vida. El kumis es una leche fermentada proveniente del Kumaso, pueblo de la provincia de Yamato (Japón), de ahí se deriva su nombre. Era considerada un alimento divino, ya que se utilizaba en sanatorios para curar a personas que sufrían de tuberculosis.

En el siglo II el yogur fue un alimento muy reconocido a nivel medicinal, ya que el consumo del mismo disminuía los dolores estomacales, también se le recomendaba para curar enfermedades como la tuberculosis y malestares de hígado, además se vio el beneficio que tenía como calmante y regulador intestinal. Con la llegada de los pueblos nómadas asiáticos a toda Europa, el yogur comienza a ser difundido en distintos pueblos europeos, primero tuvo mucha acogida en pueblos germánicos y nórdicos siendo estos amantes de la leche y de preparados lácteos. ⁽¹⁵⁾

El yogur aparece en América del norte gracias a colonizadores y exploradores que trajeron este producto para soportar hambre y prevenir enfermedades durante su viaje. El yogur logró obtener mucha aceptación en América, y en Europa occidental su consumo fue despreciado debido a su sabor natural y característico que éste contenía. En la década de los años 60 logró superar una mayor demanda el yogur con frutas o saborizado, además se le incorporó una innovación en la presentación en los diferentes recipientes de plástico desechables para su venta. De esta manera el yogur logró una gran demanda en países como México, Estados Unidos, Canadá etc. Siendo los países con mayor producción en la actualidad Japón, América del Norte y Australia.

A principios del siglo XX el yogur toma mayor importancia en la alimentación diaria de las personas en todo el mundo, puesto que verificó gracias a estudios de la época, que el yogur tenía grandes ventajas para el organismo de los seres humanos.

Metchnikoff, a quien le fue concedido el premio Nobel 1908 (Junto con Paul Ehrlich), sostenían la teoría de que muchas bacterias patógenas no se desarrollan bien en medios ácidos y observó que, en los pueblos balcánicos, grandes consumidores de yogur, estaban libres de una serie de enfermedades y presentaban, en general, una vida más larga. Intentó, por esta razón, la implantación en el intestino de ácido láctico de origen bacteriano, escogiendo para ello el “bacilo búlgaro”, ya que sus investigaciones demostraron que era un germen láctico muy activo. Más tarde comprobó que la acción acidificante era más adecuada si se añade a este “bacilo paraláctico”. Además, apoyó también 10 con argumentos científicos esta teoría, al estudiar la actividad de los microorganismos implicados en la obtención del producto. ⁽¹⁵⁾

3.3.3. Generalidades sobre la industria del yogur

A través de los años, se ha comercializado el yogur en distintas formas y presentaciones. La gran variedad existente en el mercado, es explicada por las diferentes tecnologías, así como materias primas que pueden ser utilizadas para la elaboración de este alimento. Las constantes modificaciones realizadas buscan adaptarse a las distintas necesidades que demanda el consumidor.

La utilización de este producto en cantidad y en frecuencia en la alimentación de los lechones proporciona ventajas en el peso, su consumo sistemático aporta al organismo bacterias que favorecen los procesos digestivos y contrarrestan el desarrollo de los agentes patógenos.

3.3.4. Clasificación

Los yogures se clasifican de acuerdo a su composición y al origen de sus ingredientes como se refleja en el Cuadro N° 2. ⁽¹⁰⁾

Cuadro N° 2: Clasificación y designación de los diferentes tipos de yogur Según la norma NSO 67.01.10:06

Clasificación	Designación
Yogur natural	Yogur natural entero, semidescremado o descremado.
Yogur natural edulcorado	yogur edulcorado entero yogur edulcorado semi descremado yogur edulcorado descremado
Yogur saborizado, aromatizado	Yogur entero con sabor y aroma de... Yogur semidescremado con sabor y aroma de... yogur descremado con sabor y aroma de ...
Yogur con fruta	Yogur entero con... Yogur semidescremado con... yogur descremado con ...

Fuente: elaboración propia, retomado de la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.10:06 ⁽¹⁰⁾

3.3.5. Yogur en polvo como suplemento nutricional animal.

Se trata de un pienso complementario en polvo a base de leche y otros ingredientes que, una vez reconstituido con agua, adquiere la textura y el gusto del yogur. Su elevada palatabilidad incita a que los lechones se alimenten, superando así la barrera del apetito. A efectos prácticos, es tan

apetecible que los lechones lo comen enseguida y difícilmente dejan algo en el comedero. ⁽⁸⁾

3.3.6. Especificaciones y Características

3.3.6.1. Características Generales.

El yogur debe ser elaborado y envasado bajo estrictas condiciones higiénicas sanitarias y Buenas Prácticas de Fabricación, así como de cualquier alteración que pueda afectar la comestibilidad, la adecuada conservación y el buen aspecto del producto final. A continuación, se presentan los aspectos que se consideran críticos o importantes durante el desarrollo de la fórmula del suplemento alimenticio (producto terminado en polvo) que será reconstituido en agua y catalogado como un alimento funcional ⁽¹⁰⁾

3.3.6.2. Características Organolépticas ⁽¹⁰⁾

Entre las principales características sensoriales u organolépticas consideradas críticas en un alimento funcional dirigido a la población porcina se encuentran las siguientes con el objetivo de lograr la aceptación del producto terminado y este pueda ser ingerido.

- Sabor: El yogur deberá tener sabor dulce y estará libre de sabor excesivamente ácido o sabor amargo o cualquier sabor extraño.
- Olor: El yogur deberá tener el olor a vainilla en esta forma de presentación y estará libre de cualquier olor extraño.
- Color: El yogur deberá tener el color blanco para esta forma de presentación.
- Aspecto: producto en polvo de color blanco de consistencia espesa al reconstituirlo con buena palatabilidad.

3.3.6.3. Requisitos Físico-químicos y Bromatológicos.

El análisis de las propiedades fisicoquímicas y bromatológicas del yogur son aspectos principales en el aseguramiento de su calidad (parámetros críticos). Cumple un papel importante en la búsqueda de la estabilidad del producto terminado, así como, la determinación del valor nutricional. Con el análisis fisicoquímico y bromatológico, se puede conocer las características básicas del yogur, tales como el pH, densidad, acidez, fluidez de polvos, viscosidad, fibra, proteína, grasa, humedad; toda la información obtenida en estos requisitos servirá como “indicador de calidad” ⁽¹⁰⁾

3.3.6.4. Características Microbiológicas

El yogurt deberá cumplir con los requisitos microbiológicos especificados en la tabla N° 3. Siguiente: ⁽¹⁰⁾

Cuadro N° 3: Requisitos microbiológicos, según la norma NSO 67.01.10:06.

Características	Valores (UFC)
Coliformes por gramo	10 máximo
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia
<i>Salmonella ssp.</i>	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausencia

Fuente: elaboración propia, retomado de la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.10:06 ⁽¹⁰⁾

3.3.7. Materias Primas y Materiales.

Los ingredientes que se emplean en la elaboración del yogurt deben ser limpios, sanos y libres de contaminación; además deben cumplir con las normas salvadoreñas correspondientes y en su defecto con las normas del Codex Alimentarius de la FAO/OMS. Los principales ingredientes son los que se indican a continuación: ^(3, 4)

- Leche: constituyentes lácteos y productos lácteos, pasteurizados, concentrados, deshidratados, leche en polvo descremada, suero de leche, lactosa, fermentados, reconstituidos o combinados.
- Edulcorantes: Azúcar (sacarosa) o cualquiera de los edulcorantes, edulcorantes artificiales. Ej. Sacarina sódica.
- Saborizantes: preparados naturales y artificiales. Características Límite máximo permitido.
- Estabilizadores: gelatina, carboximetilcelulosa, Goma xantan, guar de algarroba, alginatos, carragenanos y concentrado de proteína de suero.
- Conservantes: cloruro de potasio, sorbato de potasio.
- Aromatizantes: Aromas naturales o artificiales. Ej. Vainilla, naranja, manzana.
- Aditivos alimentarios: ácido ascórbico, cítrico, color natural o artificial.

- Agua potable.

3.3.8. Proceso de Elaboración del yogur

El yogur se elabora de leche en polvo reconstituida, debe estar limpia, libre de presencia de antibióticos porque su presencia inhibe el desarrollo de los microorganismos. Las materias primas utilizadas son sólidas, fácilmente solubles en agua.

Existen nueve aspectos a considerar como pasos irremplazables en la fabricación del yogurt. Dichas actividades son:

- Recepción y almacenamiento de los ingredientes lácteos.

Los principales ingredientes son la leche deshidratada y el suero de leche. Requiriendo distintas temperaturas de almacenamiento, ya que un máximo periodo de tiempo de almacenamiento podría ocasionar alteraciones como la acidificación de la leche o el enranciamiento de las grasas.

- Recepción y almacenamiento de los ingredientes complementarios.

Los Ingredientes complementarios son principalmente edulcorante, saborizante, estabilizante, conservantes, agente regulador de pH, Acidificante/Antioxidante, materia prima que contiene el probiótico y colorante. La humedad y la temperatura, son las principales condiciones críticas en el almacenamiento ya que debido a las características de los polvos facilita la absorción de agua y con esto la formación de grumos que perjudican al proceso o crecimiento microbiano.

- Pesaje y dosificación.

Toda la materia prima es dosificada a los respectivos recipientes. Los sólidos se miden en peso, después de esto se mezclan.

- Adición de los componentes.

En esta etapa se procederá a unir, todos los ingredientes de mayor a menor peso, (Leche deshidratada, Suero de leche, etc.), en primera instancia y posteriormente se añadirán los demás componentes de la fórmula (estabilizante, saborizante, colorante, agente regulador de pH, acidificante/antioxidante, edulcorante, conservante etc.).

- Mezcla todos los ingredientes.

Esta operación se efectúa en mezcladora “V” de acero inoxidable. En primera instancia se mezclará la leche deshidratada, con el suero de leche, durante 10 minutos, luego se incorporarán los demás ingredientes y se mezclarán durante otros 10 minutos, para asegurar su completa homogeneización, los controles en proceso a llevar son, tiempo de agitación, velocidad de agitación, homogeneidad, color, olor y sabor se medirán organolépticamente. Esto se realiza a una temperatura menor de 25°C y humedad relativa entre 40% a 60%.

- Realizar controles en proceso.
- A la mezcla obtenida verificar:
 - Apariencia: color, olor, sabor y textura (organolépticamente).
 - Homogeneidad de polvos.
 - Libre de partículas extrañas.
 - Tiempo de agitación.
 - Temperatura y humedad de fabricación.
 - Realizar ensayos para verificar la reconstitución del agua.
 - Tomar 10 g del producto mezclado obtenido.
 - Reconstituir con 100.0 mL de agua tibia.
 - Agitar por 5 minutos hasta lograr una mezcla uniformemente distribuida y verificar las características sensoriales. El producto reconstituido debe tener consistencia espesa (se medirá instrumentalmente), color, olor y sabor característicos. El pH del producto debe estar dentro del rango de 3.1 a 5.5.
- Revisar material de empaque.

Debe ser una bolsa de polietileno de color negra que impida el ingreso de rayos de luz como empaque primario, y bolsa de papel kraft como empaque secundario el cual garantice la estabilidad y presentación del producto terminado. Así también se debe colocar etiqueta con información de acuerdo a requisitos de RTCA 65.05.52:11. ⁽¹²⁾

Debe poseer su respectiva etiqueta la cual debe contener la siguiente información:

- Nombre del alimento.
- Lista de ingredientes.
- Contenido neto.
- Nombre y dirección.
- País de origen.
- Identificación de lote.
- Fecha de fabricación y vencimiento.
- Instrucciones de uso.
- Envasar el producto.

Colocar el producto final elaborado en bolsas de color negro que sean de material doble, y en papel Kraft se depositan en las bolsas pertinentes según la cantidad a envasar o cualquier otro tipo de envase autorizado.

- Dejar limpio y despejar área
- Almacenamiento

3.3.9. ICH Q8 ^(6, 7)

El objetivo principal de la Conferencia Internacional sobre Armonización de Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos para Uso Humano (ICH, por sus siglas en inglés), es evitar la necesidad de duplicar las pruebas llevadas a cabo en el proceso de investigación y desarrollo de nuevos medicamentos, recomendar maneras de lograr una mayor armonización en la interpretación y aplicación de las directrices técnicas y requisitos para obtener registros.

La armonización debe conducir a:

- Economizar recursos humanos, animales y materiales.
- Fomentar la eliminación de demoras innecesarias en la disponibilidad de nuevos medicamentos.
- Mantener garantías de calidad, seguridad y eficacia.
- Crear restricciones para proteger la salud pública.

Dentro de las directrices establecidas en la Armonización sobre Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos de las normas ICH se encuentra una guía para el Desarrollo Farmacéutico (ICH Q8) y Buenas Prácticas de Manufactura (ICH Q7) para la industria farmacéutica, de las cuales ha sido tomada la información para el diseño y formulación del producto.

Es relevante aclarar que la investigación se centra en el desarrollo de un alimento probiótico dirigido a una población animal, para ello se ha retomado la (ICH Q8) que comprende el desarrollo farmacéutico, que a su vez se desglosa en las etapas de preformulación farmacéutico y diseño farmacéutico, es así como se sigue esta línea para la fabricación del yogur partiendo de un producto prototipo.

3.3.9.1. Desarrollo Farmacéutico

El objetivo del desarrollo farmacéutico es diseñar un producto de calidad en su proceso de fabricación, para entregar de manera consistente el rendimiento de un producto. La información y los conocimientos adquiridos a partir de estudios de desarrollo farmacéutico, así como la experiencia de fabricación, proporcionan el conocimiento científico para apoyar la creación del espacio de diseño, especificaciones y controles de fabricación.

Por lo menos para aquellos aspectos de los principios activos, excipientes, sistema de cierre de contenedores, y procesos de fabricación que son críticos para la calidad del producto; deben determinarse estrategias de control justificadas. Atributos críticos de la formulación y los parámetros del proceso se identifican generalmente a través de una evaluación de la medida en que su variación puede tener impacto en la calidad del producto.

3.3.9.2. Etapas del desarrollo farmacéutico

- Preformulación Farmacéutica

A. Principio Activo

Antes de proceder a desarrollar una forma farmacéutica, es imperativo investigar determinadas propiedades físicas y químicas fundamentales del o los principios activos y otras propiedades derivadas de los fármacos que pueden ser de mucha ayuda para la formulación de una forma farmacéutica, tales como: solubilidad, pH y estabilidad en solución del principio activo, incompatibilidades con excipientes, propiedades biofarmacéuticas, entre otras, de esta información dependen muchos de los pasos y métodos

utilizados posteriormente en el desarrollo del producto, esta fase inicial de la investigación se conoce como preformulación.

B. Excipientes

Los excipientes tienen como función facilitar la administración del fármaco, proteger el fármaco de la degradación y promover la liberación y biodisponibilidad del principio activo. Por lo que los excipientes elegidos, su concentración, características y el método de fabricación deben ser estudiados en relación con la función respectiva de cada uno en la fórmula.

El objetivo del estudio de la preformulación de los excipientes es detectar en corto tiempo, posibles interacciones físicas o químicas entre el principio activo y excipientes y otros elementos que intervienen en la elaboración de la forma farmacéutica. La información que se genera sobre las características del excipiente puede ser utilizada para justificar la elección del mismo para diseñar una forma farmacéutica.

- Diseño Farmacéutico

El objetivo principal del diseño farmacéutico es lograr una respuesta terapéutica previsible a un fármaco que forma parte de una formulación y que pueda fabricarse a gran escala con una calidad reproducible. Para asegurar la calidad del producto han de cumplirse múltiples condiciones como son: la estabilidad química y física, conservación adecuada frente a la contaminación microbiana, uniformidad de la dosis, aceptabilidad por los usuarios y un envasado y etiquetado idóneos.

Cada tipo de forma farmacéutica requiere un estudio cuidadoso de las propiedades físicas y químicas de las sustancias farmacológicas con el fin de lograr que el producto sea estable y eficaz. Estas propiedades, entre las que se encuentran la solubilidad, el tamaño de las partículas y su polimorfismo, la estabilidad y las interacciones aditivas del fármaco, pueden tener un efecto muy importante sobre la estabilidad física y química del producto.

a. Perfil del producto

Es un resumen prospectivo de las características de calidad de un fármaco que idealmente serían alcanzadas para asegurar la calidad deseada, teniendo en cuenta la seguridad y eficacia del fármaco.

Las consideraciones para diseñar el perfil del producto deben incluir:

-Indicaciones y vía de administración.

- Forma de dosificación y concentración de la dosis.
- Sistema contenedor-cierre.
- Atributos que afectan el desempeño del producto.
- Criterios de calidad por ejemplo (pH, sabor, olor, ausencia de partículas extrañas, etc.) apropiados para el producto.

b. Atributos de calidad

Son propiedades químicas, físicas, biológicas o microbiológicas que deben estar dentro de los límites, rangos o distribuciones apropiadas, para garantizar la calidad del producto.

Los siguientes son elementos que generalmente se identifican:

- Prueba de valoración del principio activo en el producto farmacéutico terminado.
- Pureza.
- Contenido de uniformidad del principio activo en el producto farmacéutico terminado.
- Estabilidad y adecuabilidad del Sistema contenedor-cierre

c. Estudio del producto

Determinados los atributos críticos de calidad, se continúa con el estudio de cómo estos se ven afectados por: los principios activos, los excipientes y el proceso. Las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los principios activos pueden influir en el diseño farmacéutico. Para productos que contienen más de una sustancia farmacológica, la compatibilidad de las sustancias farmacológicas entre sí también debe ser evaluada.

Los excipientes elegidos, su concentración y las características pueden influir en el producto farmacológico (ej. estabilidad, biodisponibilidad o capacidad de fabricación, debe discutirse en relación con la función respectiva de cada excipiente. Esto debería incluir todas las sustancias utilizadas en la fabricación del producto.

En esta etapa se debe de realizar un análisis de riesgo y ensayos a nivel de laboratorio, en el análisis de riesgo se deben de estudiar y controlar los atributos que implican un riesgo alto para la formulación y se procede a la elaboración de los ensayos en base a un proceso predeterminado. La fórmula

definitiva surge del estudio del innovador, de las recomendaciones bibliográficas y de la experiencia previa en este tipo de fórmulas.

d. Envase y sistema de cierre.

El envasado puede definirse como un sistema económico para conseguir la presentación, protección, identificación y/o información, contención, comodidad y cumplimiento de un producto durante su almacenamiento, transporte, exhibición y uso hasta el momento de su uso o administración. Este intervalo temporal total debe ajustarse a la vida útil del producto y para ello se selecciona la combinación idónea de producto y envase.

La función del envase y la operación de envasado son muy importantes, ya que la vida útil de cualquier producto, depende en gran medida de determinadas características del envasado. Este debe ser económico y por tanto contribuir a que el producto en su conjunto sea asequible, ha de proporcionar protección frente a los peligros climáticos, biológicos, físicos y químicos y debe ofrecer una presentación aceptable para mejorar la confianza del producto.

La diferencia de los envases utilizados en la industria farmacéutica comparado con el de otras industrias se encuentra en la calidad o las características requeridas, siendo sus especificaciones mucho más rigurosas.

En la elección de materiales de envase primario se debe tomar en cuenta algunos elementos como, por ejemplo, la elección de materiales, protección contra la humedad y la luz, compatibilidad de los materiales con la forma de dosificación, y la seguridad de los materiales. La justificación de los materiales de embalaje secundario debe ser incluida, cuando sea pertinente.

La selección del envase debe seleccionarse en:

- Capacidad de conservar y proteger
- Capacidad de mantener la estabilidad del producto
- Costo
- Comodidad de su empleo
- Estética en presentación
- Facilidad de aprovisionamiento, de manipulación y almacenaje.

CAPÍTULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Tipo de Estudio

- Transversal: La investigación se llevó a cabo en un periodo de seis meses, de abril a septiembre del año 2020.
- Prospectivo: Es un estudio que se basó en investigaciones previas y llevará consecuencias actuales y futuras, puesto que se realizaron ensayos y análisis que servirán como antecedentes para posteriores investigaciones relacionadas con el tema, que se enfocará en la incorporación de cultivos probióticos en el proceso de elaboración de yogur a escala de laboratorio.
- Experimental: Se realizaron ensayos en cuanto a la formulación y elaboración de un suplemento alimenticio (posteriormente reconstituido en agua para formar un yogur), a los cuales se evaluaron los atributos de calidad, entre ellos, propiedades organolépticas, físico-químicas, bromatológicas y microbiológicas, algunos se evaluaron a los componentes de la fórmula y otros únicamente al producto terminado, se seleccionó un proceso en específico de fabricación para la elaboración del producto y finalmente los atributos de calidad fueron comparados con un producto prototipo. El análisis de la parte práctica se realizó en el Laboratorio de Innovaciones Nutricionales S.A de CV, Zaragoza, cantón San Francisco, km 22 1/2 carretera al puerto de La Libertad.

4.2. Investigación Bibliográfica.

Se realizó una investigación consultando libros, revistas, artículos científicos en las siguientes bibliotecas:

- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador
- Central de la Universidad de El Salvador.
- Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.
- Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad de El Salvador. - Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM)
- Internet.

4.3. Investigación de Campo

UNIVERSO: Un lote de yogur formulado para un Kg, que contenía la siguiente concentración de probióticos 109 UFC/g (Lote F-01)

MUESTRA: El lote de 1Kg a granel, del cual, se realizó la toma de muestra para la realización de las siguientes determinaciones: características fisicoquímicas y microbiológicas al producto terminado (yogur en polvo), así como al producto reconstituido (liquido).

4.4. Parte experimental

El desarrollo experimental se realizó en el laboratorio de Innovaciones Nutricionales S.A de CV, Zaragoza, cantón San Francisco, km 22 1 / 2 carretera al puerto de La Libertad.

- Material y equipo utilizado para la realización de los ensayos. (Ver Anexo N.º 1)
- Material y equipo utilizado para la realización de controles en proceso. (Ver Anexo N.º 2)

4.4.1. Propuesta, Formulación y Proceso de elaboración de yogur en polvo

Para obtener un producto color blanco homogéneo, se realizaron ensayos en serie, en el cual se desarrolló de la siguiente manera:

- Formulación y Recepción de Materias Primas.
- Pesada y Dosificación.
- Adición de Probióticos.
- Adición de Aditivos.
- Mezclado.
- Envasado.
- Almacenamiento.

4.4.1.1. Formulación

Basado en la clasificación y de las materias primas y materiales que describe la Norma Salvadoreña Obligatoria para yogur (NSO 67.01.10:06) se elaboró una fórmula de yogur en polvo, con el propósito de obtener un polvo de color blanco homogéneo. ^(3, 4, 10) (Ver Tabla 1).

Tabla N° 1 Fórmula del Yogur

Descripción	Función en la fórmula	Rango ensayado en %
Sustituto de leche	Contiene <i>B. licheniformis</i> .	55,8
Suero de leche	Estimulador de la microbiota benéfica.	37,5
Cloruro de potasio	Fuente de electrolitos	0,35
Sulfato de hierro	Fuente de electrolitos	0,5
Vitamina B1	Fuente de Vitaminas	0,6
Vitamina B12 1%	Fuente de Vitaminas	0,6
Caolín	Antidiarreico	1,2
Goma xantan	Estabilizante/espesante	0,4
Dióxido de Titanio	Colorante	1
Sorbato de potasio	Sustancia conservadora	0,2
Ácido ascórbico	Acidificante/Antioxidante, Regulador de pH	0,25
Sacarina sódica	Edulcorante	0,6
Aroma a vainilla	Acentuador del sabor	1
Total, batch:		100 %

Fuente: elaboración propia.

NOTA: Cálculos para preparar 1 Kg y fórmulas detalladas de cada lote. (Ver Anexo N° 3)

4.4.1.2. Pesada y Dosificación

La materia prima se dosificará en los respectivos recipientes, en su mayoría bolsas plásticas y otros recipientes de acero inoxidable. Para fines de exactitud en la fórmula materia prima sólida las mediciones se hicieron en unidades de peso.

4.4.1.3. Adición de Probióticos

La cantidad de inóculo de probiótico no está definida, depende de la resistencia de cada especie, por lo que se añadió una concentración mayor de leche deshidratada (Sustituto de leche) que contiene el inóculo.

4.4.1.4. Adición de Aditivos

Después de haber adicionado los aditivos y mezclado, en el momento en el que se agregó saborizantes naturales, y el azúcar (sacarina sódica), se adicionaron los colorantes, u otros aditivos.

4.4.1.5. Mezclado

Después de agregar todas las materias primas sólidas se procedió a mezclar y almacenar por unos 30 minutos la base en polvo a temperaturas ambientes 35 °C

4.4.1.6. Envasado

El producto final elaborado se colocó en bolsas de material plástico, según la cantidad a envasar.

4.4.2. Proceso para la elaboración del yogur en polvo

Se detalla el paso a paso el procedimiento para la Elaboración del yogur en polvo a Nivel de Laboratorio (ver anexo N° 4)

- Realizar limpieza y sanitización del área de producción.
- Lavar la cristalería y material a utilizar. (ver anexo N° 5)
- Pesar la materia prima según ensayo a realizar.
- El formato de fabricación del yogur en polvo, detalla las materias primas a pesar, los materiales y equipos a utilizar, la técnica específica según ensayo y la evaluación de las características de desempeño.
- Impresión de hojas de requisición de materias primas y material de empaque, (se remiten a las áreas del proceso de producción).
- Las materias primas son entregadas por el personal de bodega al área de producción. Estas materias primas se encuentran en la bodega de materias primas a una temperatura menor de 30 °C.

-Una vez entregadas se procede a la verificación y posterior pesada, en básculas y balanzas de acuerdo a la capacidad requerida y tipo de ingrediente.

En el caso de los ingredientes:

-En el área de menores son pesados en una balanza METTLER TOLEDO Modelo M532001CE de 32 Kg de capacidad y precisión 0.1 g.

-En el área de mayores estos son pesados en una báscula METTLER TOLEDO. Modelo INDD 226 con capacidad de 1000 Kg y con precisión de 0,2 Kg. Estas balanzas han sido previamente calibradas.

-Las materias primas pesadas son trasladadas al área de preparación de polvos.

-El mezclado se realiza en la mezcladora de acero inoxidable. Se utilizará la mezcladora tipo "V" para obtener una mezcla homogénea de sólidos. El área debe estar limpia.

El proceso de mezclado:

Se realiza añadiendo los ingredientes de mayor a menor peso de la siguiente manera:

-Probióticos: En forma de mezcla en polvo (Sustituto de leche) que contiene 1 Cepa de Microorganismos Probióticos. (Ver Anexo N° 6)

-Suero de leche: (Estimulador del microbiota benéfico).

-Cloruro de potasio y sulfato de hierro: (fuente de electrolitos)

-Vitamina B1 y Vitamina B12 1%: (fuente de vitaminas)

*mezclar por un periodo de 5 minutos.

Y posteriormente se añadirán los demás componentes de la fórmula.

-Caolín: (anti diarreico)

-Goma xantan: (Agente estabilizante)

-Dióxido de titanio: (Modificador del color)

-sorbato de potasio: (agente conservador)

-Ácido ascórbico: (Agente acidificante/ regulador de pH).

-Sacarina sódica: (agente edulcorante)

-Aromatizante a vainilla: (Modificador del sabor)

*mezclar por un periodo de 20 minutos.

Mezclar:

-Geométricamente con un tiempo de mezclado de 20 minutos hasta homogeneizar.

Realizar el siguiente control de proceso.

-Medición de pH a temperatura ambiente.

*El pH del producto debe ser Max 5.5 y Min 3.1.

Revisar material de empaque: ⁽¹⁰⁾

-Número de lote

-Fecha de fabricación

-Fecha de vencimiento

-Envasar el producto:

Colocar el producto final elaborado en bolsas de color negro que sean de material doble, y en papel Kraft, se depositan en las bolsas pertinentes según la cantidad a envasar o cualquier otro tipo de envase autorizado.

- Dejar limpio y despejar el área.

Los ensayos realizados serán almacenados en un lugar seco y con temperatura no mayor a 35 °C para realizar la evaluación del cumplimiento del Perfil del producto y para llevar a cabo el correspondiente estudio de estabilidad, el cual no forma parte de este trabajo de investigación.

4.4.3. Método de análisis determinación del color, olor, sabor, partículas extrañas, textura, pH y la densidad

Se describe el paso a paso para la determinación de los parámetros de color, olor, sabor, partículas extrañas, textura, pH y la densidad como se describe en el anexo 2 (específicamente ver Anexo del 2.1 al 2.5)

Se aclara que los resultados obtenidos al aplicar la metodología descrita en el Anexo 2 se deben comparar con los resultados esperados según lo especificado en el cuadro N°4.

Cuadro N° 4: Metodología utilizada para el análisis de la medición de los atributos asignados en el Perfil del producto para cada ensayo.

ENSAYO			
Atributos	Límite de aceptación	Resultado (polvo)	Resultado (reconstituido)
Color (Homogeneidad)	Banco cremoso	A Determinar	A Determinar
Olor	Característico o a vainilla	A Determinar	A Determinar
Sabor	vainilla agradable	A Determinar	A Determinar
Aspecto	Mate	A Determinar	A Determinar
Partículas extrañas	Ausencia	A Determinar	A Determinar
Textura	viscoso	A Determinar	A Determinar
pH	3.1 - 5.5	N/A	A Determinar
Densidad	Documentar resultado	N/A	A Determinar
Objetivo del ensayo: A Determinar			
Observaciones del granel: A Determinar			

Fuente: elaboración propia.

4.4.3.1. Método de análisis del producto terminado caracterización del flujo del polvo.

Fluidez de polvo USP <1174>. ^(16, 18)

- Métodos indirectos.
- Ángulo de reposo.

- Mediciones de la densidad de la masa. (índice de compresibilidad e índice de Hausner.
- Métodos directos.
- Velocidad de flujo en la tolva (flujo másico).

Fluidez de polvos:

El amplio uso de polvos en la industria farmacéutica generó una amplia variedad de métodos para caracterizar su fluidez. La literatura farmacéutica cuenta con innumerables publicaciones que intentan establecer correlaciones entre las diversas medidas de la fluidez del polvo y sus propiedades durante el proceso de fabricación. El comportamiento de un polvo es multifacético, lo cual dificulta la caracterización de su fluidez y hace inevitable la proliferación de métodos de ensayo.

Hay cuatro métodos comúnmente utilizados para determinar la fluidez de un polvo: cabe recalcar que se utilizaran solo tres métodos para los análisis del producto final.

1. El ángulo de reposo.
2. El índice de compresibilidad o el índice de Hausner.
3. La velocidad de flujo a través de un orificio.
4. Celda de corte.

Además, existen numerosas variantes de cada uno de estos métodos básicos. En vista de la amplia variedad de métodos disponibles y de sus variantes, es necesario estandarizar la metodología de ensayo en la medida de lo posible.

Con el objetivo de estandarizar la metodología, a continuación, se describen los métodos usados con mayor frecuencia. Se definen factores experimentales que es necesario tener en cuenta y recomendaciones para la estandarización de estos métodos. En general, todo método para medir la fluidez de un polvo debería ser práctico, útil, reproducible, sensible y producir resultados significativos. Cabe recalcar que ningún método simple para determinar la fluidez del polvo podrá caracterizar correcta e íntegramente la amplia variedad de propiedades de fluidez que se manejan en la industria farmacéutica.

- Ángulo de reposo.

El ángulo de reposo se define como el ángulo tridimensional constante (con respecto a la base horizontal) que adopta un montículo de material en forma de cono, el cual se origina mediante alguno de los diversos métodos que se describen someramente a continuación.

– Métodos Básicos para Determinar el Ángulo de Reposo:

1. La altura del “embudo” a través del cual se hace pasar el polvo puede regularse con relación a la base, o incluso se puede variar su altura a medida que se forma el cono.
2. La base sobre la cual se forma el cono puede tener un diámetro fijo o se puede dejar que el diámetro del cono de polvo varíe a medida que este se forma.

Consideraciones Experimentales sobre el Ángulo de Reposo:

El ángulo de reposo no es una propiedad intrínseca del polvo, es decir, varía en función del método que se usó para formar el cono de polvo.

factores que es necesario considerar:

- El impacto del polvo que cae puede distorsionar el pico del cono de polvo. Esta distorsión se puede reducir al mínimo formando cuidadosamente el cono de polvo.
- El tipo de base sobre la que se forma el cono de polvo altera el ángulo de reposo. Se recomienda formar el cono usando una base común, que se obtiene formando el cono sobre una capa de polvo. Esta capa se puede formar usando una base de diámetro fijo con un reborde externo que sobresalga y retenga la capa de polvo sobre la cual se formará el cono.

Procedimiento Recomendado para el Ángulo de Reposo.

- Formar el ángulo de reposo en una base fija con un reborde que contenga una capa de polvo en la base. La base no debe estar sometida a ninguna vibración.
- Regular la altura del embudo para formar cuidadosamente un cono de polvo simétrico. Tomar las precauciones necesarias para evitar vibraciones al mover el embudo.

- Para reducir al mínimo el impacto del polvo que cae sobre la punta del cono, a medida que se forma el cono, mantener el embudo a una altura entre 2 y 4 cm del extremo superior del cono.
- El método no es apropiado si el cono de polvo obtenido es asimétrico o si no es posible reproducir el cono obtenido. Medir la altura del cono y calcular el ángulo de reposo, con la siguiente ecuación y comparar los resultados utilizando la tabla 2.

$$\tan \theta = \frac{\text{Altura}}{0,5 \text{ base}}$$

Tabla N° 2: Propiedades del flujo.

Propiedades de flujo y su correspondiente reposo.	
Propiedades del flujo	Ángulo de reposo en grados.
EXCELENTE	25-30
BUENO	31-35
Adecuado-no se necesita ayuda	36-40
Aceptable-puede demorarse	41-45
Pobre- es necesario agitar o someter a vibración	46-55
Muy Pobre	56-65
Extremadamente pobre	>66

Fuente: elaboración propia con base a la referencia de la Farmacopea de los Estados Unidos de Norte América USP 30. ⁽¹⁶⁾

- Índice de compresibilidad e Índice de hausner.

El índice de compresibilidad y el índice de Hausner, que están estrechamente relacionados, se han convertido en métodos rápidos, simples y muy usados para predecir las características de fluidez de los polvos. El índice de compresibilidad se ha propuesto como una medida indirecta de la densidad aparente, el tamaño y la forma, la superficie, el contenido de humedad y la cohesión de los materiales, dado que todos ellos pueden afectar el índice de compresibilidad observado. Los índices de compresibilidad y de Hausner se determinan midiendo el volumen aparente y el volumen por asentamiento de un polvo.

- Métodos Básicos para Determinar el Índice de Compresibilidad y el Índice de Hausner.

El método para determinar el índice de compresibilidad y el índice de Hausner presenta algunas variantes, el procedimiento básico consiste en medir (1) el volumen aparente sin asentar, V_o , (2) el volumen final asentado, V_f , (3) la densidad aparente, (4) la densidad por asentamiento del polvo que se obtiene luego de golpear suavemente el material hasta que no se observan más cambios en el volumen. Los índices de compresibilidad y d Hausner se calculan de la siguiente manera y comparar los resultados utilizando la tabla 3.

Índice de compresibilidad

$$= \frac{\text{densidad por asentamiento} - \text{densidad aparente}}{\text{densidad por asentamiento}} \times 100$$

$$\text{Relación de hausner} = \frac{\text{densidad por asentamiento}}{\text{densidad aparente}}$$

Tabla N° 3: Escala de Fluidez

Escala de Fluidez		
Índice de Compresibilidad (%)	Fluidez	Índice de Hausner
< 10	Excelente	1,00-1,11
11-15	Buena	1,12-1,18
16-20	Adecuada	1,19-1,25
21-25	Aceptable	1,26-1,34
26-31	Pobre	1,35-1,45
32-37	Muy Pobre	1,46-1,59
>38	Extremadamente pobre	> 1,60

Fuente: elaboración propia con base a la referencia de la Farmacopea de los Estados Unidos de Norte América USP 30. ⁽¹⁶⁾

Consideraciones Experimentales sobre los Índices de Compresibilidad y de Hausner:

Los índices de compresibilidad y de Hausner no son propiedades intrínsecas de los polvos, es decir, varían en función de la metodología empleada. factores que es necesario considerar:

- El diámetro del cilindro usado.
- El número de veces que se golpea el polvo para obtener la densidad por asentamiento.
- La masa de material empleada en el ensayo.
- La rotación de la muestra durante el asentamiento.

Procedimiento Recomendado para Determinar los Índices de Compresibilidad y de Hausner.

Usar una probeta volumétrica de 250 mL y una muestra de prueba de 100 g. Se pueden utilizar volúmenes y pesos menores, pero debería incluirse una descripción de las variaciones del método con los resultados. Se recomienda emplear el promedio de tres determinaciones.

- Flujo a través de un orificio.

La velocidad de flujo de un material está determinada por distintos factores, algunos relacionados con el tipo de partícula y otros con el proceso. Se ha propuesto medir la velocidad de flujo de un material a través de un orificio como una forma más apropiada para determinar la fluidez de un polvo. El control continuo del flujo es especialmente útil ya que ciertos materiales, e incluso algunos que fluyen con facilidad, presentan patrones de flujo discontinuo. La velocidad de flujo también cambia a medida que el recipiente se vacía. Si bien se han formulado ecuaciones empíricas que calculan la velocidad de flujo según el diámetro del orificio, el tamaño de las partículas y su densidad, la determinación de la velocidad de flujo a través de un orificio solo es útil si se trata de materiales que fluyen con facilidad.

La velocidad de flujo a través de un orificio se mide, en general, como la masa que fluye a través del orificio de salida de un recipiente (probetas, embudos, tolvas) en un tiempo determinado. La velocidad de flujo se puede medir con incrementos discretos o continuos.

- Métodos Básicos para Determinar el Flujo a través de un Orificio.

El método más común para determinar la velocidad de flujo a través de un orificio se puede clasificar en función de tres variables experimentales:

1. El tipo de recipiente en el que se coloca el polvo. Los recipientes usados comúnmente son probetas, embudos y tolvas de los equipos de producción.
2. El tamaño y la forma del orificio. Tanto el diámetro como la forma del orificio son factores clave para determinar la velocidad de flujo de un polvo.
3. El método empleado para medir la velocidad de flujo del polvo.

Es posible medir la velocidad de flujo de forma continua con una balanza electrónica acoplada a algún tipo de dispositivo de registro (como por ejemplo una computadora o un registrador gráfico continuo). También se puede medir en muestras discretas (por ejemplo, calculando el tiempo necesario para que 100 g del polvo pasen a través del orificio con una aproximación de una décima de segundo, o la cantidad de polvo que pasa a través del orificio en diez segundos con una aproximación de una décima de gramo).

Variantes de los Métodos de Flujo a través de un Orificio.

Se puede determinar tanto la velocidad de flujo de la masa o la velocidad de flujo del volumen. La velocidad de flujo de la masa es el método más fácil, pero los resultados resultan sesgados, favoreciendo a los materiales de alta densidad. Considerando que el relleno de la matriz es volumétrico, se recomienda determinar la velocidad de flujo del volumen. En algunos casos se acopla un vibrador con el fin de facilitar el flujo de salida del recipiente; sin embargo, esta práctica complica la interpretación de los resultados. Se ha propuesto usar un dispositivo de movimiento en el orificio para simular las condiciones de una prensa rotatoria. Otro método consiste en identificar el diámetro mínimo del orificio a través del cual fluye el polvo.

Factores Experimentales del Flujo a través de un Orificio:

El flujo a través de un orificio no es una propiedad intrínseca de los polvos, sino que varía en función de la metodología empleada. La literatura plantea varias consideraciones importantes que afectan los resultados de los distintos métodos:

- El diámetro y la forma del orificio.
- El tipo de material del recipiente que contiene el polvo (de metal, de vidrio, de plástico).
- El diámetro y la altura del lecho de polvo.

Procedimiento Recomendado para Determinar el Flujo a través de un Orificio. La velocidad de flujo a través de un orificio solo es adecuada para materiales que cuentan con una cierta capacidad de flujo. No es adecuado para materiales cohesivos. Siempre que la altura del lecho de polvo (la “cabeza” del polvo) sea mucho mayor que el diámetro del orificio, la velocidad de flujo es prácticamente independiente de la altura del lecho del polvo. Emplear una probeta como recipiente para contener el polvo, ya que el material de la probeta apenas afectará el flujo. De esta forma, la velocidad de flujo se determina por el movimiento del polvo sobre el polvo, en lugar del polvo contra la pared del recipiente. A menudo se observa que la velocidad de flujo del polvo aumenta si la altura de la columna de polvo no supera el doble del diámetro de la columna. Emplear un orificio circular y asegurarse de que la probeta no vibre. Guía general para escoger las dimensiones de la probeta:

- Diámetro de la abertura > 6 veces el diámetro de las partículas.
- Diámetro de la probeta > 2 veces el diámetro de la abertura.

En algunos casos, es apropiado emplear una tolva como recipiente ya que representa bien el flujo en una situación de producción. No se recomienda emplear un embudo, especialmente los que tienen un vástago, ya que el tamaño y la longitud del vástago y la fricción entre ese vástago y el polvo determinarán la velocidad de flujo. En algunos casos un cono truncado es adecuado, pero es necesario prestar especial cuidado en la selección del material del cono ya que el coeficiente de fricción entre las paredes del cono y el polvo afectan el flujo.

Para la abertura de la probeta, emplear una placa de superficie plana con un dispositivo que permita variar el diámetro del orificio, de forma de obtener la máxima flexibilidad y para garantizar que haya un patrón de flujo de polvo sobre polvo. La medición de la velocidad puede realizarse de forma discreta o continua. La medición continua con una balanza electrónica permite detectar eficazmente las variaciones puntuales de la velocidad de flujo, se calculan de la siguiente manera:

$$\text{Flujo másico} = \frac{M(g)}{t(s)}$$

4.4.3.2. Método de análisis, químicos del producto terminado, análisis de viscosidad, análisis bromatológicos y análisis microbiológicos

Análisis químico de producto terminado.

- Determinación de viscosidad del producto terminado.

El referido análisis se realiza con la finalidad de conocer la viscosidad obtenida en el yogur.

- Descripción de la muestra: polvo de color blanco, olor característico a vainilla, contenido en una bolsa plástica de color negro con etiqueta provisional.
- Se realizó el análisis en el Laboratorio de control de calidad Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM). Para llevar a cabo dichos análisis se utilizó la siguiente metodología:

Cuadro N.º 5: Metodología Utilizada para análisis de viscosidad

DETERMINACIÓN	MÉTODO DE REFERENCIA
Determinación de viscosidad a 25°C spindle 61, 2.0 RPM	USP NF-2021 FÍSICO

Fuente: elaboración propia.

- Análisis bromatológico del producto terminado.

El referido análisis se realiza con la finalidad de conocer la distribución y porcentaje de la naturaleza del producto sometido al mismo y por lo tanto encontramos grados de humedad, ceniza, proteínas, grasa, fibra cruda, carbohidratos por diferencia, calorías, azúcares, calcio, sodio, hierro, grasas saturadas, colesterol y grasas trans, cuya tabla se agrega como (cuadro N° 6).

- Descripción de la muestra: polvo de color blanco, olor característico a vainilla, contenido en una bolsa plástica de color negro con etiqueta provisional.
- Se realizó el análisis en el Laboratorio de Servicios de Química Agrícola, Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal "Enrique Alvarez Cordova" (CENTA). Para llevar a cabo dichos análisis se utilizó la siguiente metodología: ⁽¹⁵⁾

Cuadro N° 6: Metodología Utilizada para análisis bromatológicos.

ANÁLISIS	METODOLOGÍA
Carbohidratos	Por diferenciación
Grasas Total	Extracción Soxhlet
Humedad	Método de secado a 105°C
Proteína Cruda	Kjeldahl
Cenizas	Incineración a 600 °C
Fibra Cruda	Digestión Ácido-Base
Calcio (Ca)	Absorción Atómica

Fuente: elaboración propia con base a la referencia del Método Oficial de la A.O.A.C 15° edición 1990.

- Análisis microbiológico del producto terminado.

Técnica Petrifilm AOAC Official Method 991.14. La placa de 3M Petrifilm® Recuento de E.coli, S. aureus, salmonella spp. constituyen un sistema listo para usar que contiene elementos nutritivos de Violeta Rojo Bilis (V.R.B.), un agente gelificante soluble en agua, un indicador de la actividad glucuronidasa (5- bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-glucurónido) (BCIG) y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. Colocar la placa Petrifilm® para Recuento de E.coli, S. aureus, en una superficie plana.

- Levantar el film superior y colocar 1 ml de la muestra (100) o su dilución (10-1 o 10-2) en el centro del film inferior.
- Bajar con cuidado el film superior sobre la muestra evitando que se formen burbujas de aire.
- Colocar el aplicador con la cara lisa hacia abajo en el centro de la placa. Presionar ligeramente el centro del aplicador para distribuir la muestra uniformemente.
- Distribuir el inóculo por toda el área de crecimiento del Petrifilm® antes de que se forme el gel. No deslizar el aplicador por el film.
- Sacar el aplicador y dejar la placa en reposo durante al menos un minuto para que el gel se solidifique.
- Por cada dilución existente siembre en una o dos placas. • Incubar las placas en posición horizontal, cara arriba, en pilas de hasta 20 placas.
- Incubar las placas Petrifilm® EC para lectura de E. coli durante 48 h ± 4 h a 35oC ± 1oC.

- Incubar las placas Petrifilm® Staph para lectura de *S. aureus* durante 24 h \pm 2 h a 35°C \pm 1°C.
- Colocar la placa Petrifilm® para Recuento Salmonella spp.
- Hidratar la placa.
- Inocular la placa con el microorganismo enriquecido, usando asa y distribuyendo por el gel hidratado.
- Incubar las film 41.5 \pm 1 °C durante 24 h \pm 2 horas en posición horizontal.
- Para la evaluación de la calidad microbiológica se compararon los resultados con los requisitos establecidos en Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 67.04.50:08) Grupo 1 leche y productos lácteos, 1.10 subgrupo: yogur. ⁽¹³⁾

- Caracterización de *B. licheniformis*. ⁽¹⁾

Se seleccionaron colonias blanquecinas, de bordes regulares que se sembraron en forma individual en Agar nutriente para determinar tamaño, forma bacilar, tinción de Gram positiva.

El tamaño y forma de las colonias bacterianas se determinaron mediante observación en microscopio óptico 100x, además a las cepas bacterianas aisladas se les realizó tinción Gram:

- Colocando un portaobjetos con una gota de agua destilada y una pequeña alícuota del cultivo bacteriano (BM y BL) con el asa de siembra estéril.
- Se dejó secar fijando la muestra al fuego. Se cubrió con unas gotas de cristal violeta la placa durante 1 minuto, retirando el exceso de colorante con agua destilada.
- Se añadió lugol, solución de yodo-yoduro potásico, durante 1 minuto igualmente descartando el exceso con agua destilada.
- Se procedió a lavar la placa con alcohol-cetona formando un ángulo (el tiempo de decoloración es clave para un resultado correcto).
- Se cubrió con el colorante de contraste, safranina durante 1 minuto y finalmente se retiró el exceso de colorante con agua destilada, se dejó secar al ambiente. Para la observación en lente de 100x se añadió una gota de aceite de inmersión.

Tabla N° 4: Tinción de Gram

Solución	Tiempo de Aplicación (min)	Bacterias Grampositivas	Bacterias Gramnegativas.
Cristal Violeta	1	Violeta	Violeta
Lugol	1	Violeta	Violeta
Alcohol Cetona	1	Violeta	Incolora
Safranina	1	Violeta	Rosada

Fuente: elaboración propia con base a la referencia de Campaña V., 2018 ⁽¹⁾

Los análisis realizados se hicieron en el Laboratorio Especializado de Diagnóstico Pecuario Always on time.

CAPÍTULO V
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

5.1. Perfil del producto.

Para la investigación se diseñó el “Perfil del Producto” (ver tabla 5) tomando como referencia el producto prototipo (yogurLac), comercializado en el país, al cual se le realizó una caracterización mediante la preformulación, para determinar los parámetros que se evaluarían en el producto, como las características organolépticas; entre ellas: sabor, olor, ausencia de partículas extrañas y aspecto y textura, que son medidas mediante la utilización de los sentidos y algunos parámetros físico-químicos como el pH, viscosidad, densidad y bromatológicos, estos parámetros son de utilidad al momento de seleccionar la fórmula definitiva.

En relación al sabor, inicialmente se estableció que el producto debía tener un sabor agradable a vainilla como el producto prototipo; durante el proceso experimental de la investigación se hicieron modificaciones a la fórmula y se incorporaron otros edulcorantes en los ensayos realizados con el fin de hacer el producto más agradable para su administración.

Respecto al pH, es un parámetro fisicoquímico crítico para la formulación en este estudio, la estabilidad de los probióticos depende de este parámetro. Se estableció que el rango de pH óptimo para la formulación en estudio debía ser entre 3.1-5.5 dado que en ese rango se garantiza que los probióticos se encuentren totalmente estables y viables en el medio y no se afecten las características organolépticas y fisicoquímicas del producto.

Tabla N° 5: Perfil del producto para un yogur para lechón.

Descripción General del Producto	
PRODUCTO: yogur para lechón (suplemento nutricional)	
Forma farmacéutica: polvo para reconstituir oral Vía de administración: Oral, mezclado con el alimento. Forma de dosificación: Tomar 200 g de la bolsa y llevarlo a un volumen de 1L con agua tibia agitando vigorosamente.	Dosificación: Durante la lactancia: Mezclar 200 g por litro 2 veces al día por un periodo de 3 a 5 días, antes de que comiencen a comer alimento seco (preiniciador). Durante el destete: Mezclar 200 g en 1 litro de agua purificada 2 veces al día, administrar primero el alimento seco y verter encima el yogur para su consumo.
Empaque primario: bolsa de polietileno de color negro	

Continuación de Tabla N° 5

Indicaciones terapéuticas: Indicado especialmente para lechones durante la primera semana de vida, para el periodo de amamantamiento o lactancias de camadas muy grandes, camadas donde la cerda no produce suficiente cantidad de leche, camadas donde hay riesgo de diarreas o con muchos lechones pequeños y débiles.			
principios activos: 1. Probióticos. 2. Estimulante de la microbiota benéfica.			
PRODUCTO: yogur para lechón (suplemento nutricional)			
Diseño del “Perfil del producto”			
Características	Atributo	Unidad en Sistema Internacional	Dato esperado que debe presentar la fórmula (Límite de aceptación)
Desempeño: Apariencia	Sabor	--	Agradable a vainilla
	Olor	--	vainilla
	Color	--	Blanco cremoso
	Partículas extrañas	--	Ausencia de partículas extrañas
	Aspecto	--	Polvo
	Textura	--	Viscoso
Fisicoquímicas	pH	--	3.1 – 5.5
	Densidad	g/cm ³	A documentar

Fuente: elaboración propia.

5.2. Preformulación del yogur para lechón con un (sustituto de leche) como probiótico.

5.2.1. Resultados no experimentales de la Preformulación.

Mediante una revisión bibliográfica en monografías consultadas se conoció el pH que generan las materias primas en solución, Además, se conoció la solubilidad de estas en diferentes solventes, mediante la revisión de estudios previos se pudo conocer el rango de pH en el cual se demuestra la viabilidad del microorganismo utilizado como probiótico. El resumen de las propiedades fisicoquímicas de los probióticos y excipientes de formulación se encuentran en la tabla 6. como resultado de la investigación para Preformulación, y en cumplimiento de los objetivos específicos 1 y 2.

Nota: Para la Tabla N° 6 se llaman principios activos al microorganismo probiótico y al suero de leche.

Tabla N° 6: Resumen de la Preformulación de Activos y Excipientes. ⁽¹¹⁾

Pre-formulación de Principios activos y Excipientes						
Propiedades farmacéuticas	Materia prima	Descripción	Solubilidad	Densidad pH en solución	Incompatibilidades	Rango de uso (%)
Principios activos	Sustituto de leche (<i>B. licheniformis</i>)	Polvo cristalino blanco, inodoro y de sabor dulce.	Soluble en 2.5 partes de agua.	--	No disponible	55.98
	Suero de leche	Polvo cristalino blanco, inodoro y de sabor levemente ácido.	Soluble en 4 partes de agua, 10 partes de alcohol.	--	No disponible	37.5
Fuentes de electrolitos	Sulfato de hierro	Sólido mini granular de color gris verdoso.	Soluble en 1.5 partes de agua.	--	Sus soluciones se precipitan por sales minerales.	2
	Cloruro de potasio	Polvo cristalino blanco, inodoro o casi inodoro, higroscópico e insípido.	Soluble en 2.8 partes de agua.	1.99 g/cm ³ / 1.17g/cm ³	Incompatible El cloruro de potasio reacciona violentamente con el trifluoruro de bromo y con una mezcla de ácido sulfúrico.	0.05 – 0.5
Fuente de vitaminas	Vitamina B1	Polvo cristalino blanco, inodoro o casi inodoro, higroscópico e insípido.	Miscible con agua.	--	No disponible	c.s
	Vitamina B12 1%	Polvo cristalino rosado, inodoro o casi inodoro, higroscópico e insípido.	Miscible con agua y otros compuestos polares.	--	No disponible	c.s

Continuación de Tabla N° 6

Preformulación de Principios activos y Excipientes						
Propiedades farmacéuticas	Materia prima	Descripción	Solubilidad	Densidad pH en solución	Incompatibilidades	Rango de uso (%)
Sustancia conservadora	Sorbato de potasio	Polvo cristalino blanco, higroscópico, inodoro con un ligero olor característico.	Soluble en 1.72 partes de agua.	1.363 g/cm ³	Incompatible con cierta pérdida de actividad antimicrobiana ocurre en presencia de tensioactivos no iónicos y algunos plásticos.	0.1 -0.2
Acentuador del sabor	Aroma de vainilla	Polvo cristalino blanco, inodoro y de sabor levemente dulce.	No disponible	--	No disponible	c.s
Antidiarreico	Caolín	Polvo untuoso de color blanco a blanco grisáceo. libre de partículas arenosas. Tiene un característico terroso o arcilloso.	Insoluble en éter dietílico, etanol (95%), agua, otros disolventes orgánicos,	--	Incompatibilidades Las propiedades adsorbentes del caolín pueden influir en la absorción de otros medicamentos administrados por vía oral.	2.5
Regulador de pH	Ácido ascórbico	Sustancia no higroscópica de color blanco a amarillo claro. polvo cristalino escópico, inodoro, cristales incoloros con una sabor fuerte y ácido	Soluble 1 en 3.5 partes de agua.	0.7– 0.9g/cm	Incompatible con álcalis, iones de metales pesados, especialmente cobre y hierro, materiales oxidantes, metenamina, clorhidrato de fenilefrina uro, maleato de pirlamina, salicilamida, nitrito de sodio, sodio.	0.1– 1.0

Fuente: elaboración propia.

5.3. Formulación y evaluación de los ensayos del yogur para lechón.

Una vez diseñado el perfil del producto, y con la información generada en la preformulación, se dio inicio a los ensayos del yogur; a los cuales se le realizaron pruebas para seleccionar la fórmula que cumpliera con las especificaciones del perfil del producto. Se concluyeron con 4 ensayos utilizando diferentes excipientes a los cuales previamente se les realizó su estudio de preformulación.



Figura N° 1: Mezcla de Probióticos (Sustituto de leche) utilizados en el proceso de elaboración de yogur en escala de laboratorio.

	ENSAYO N° 1 (polvo)		ENSAYO N° 1 (reconstituido)
	ENSAYO N° 2 (polvo)		ENSAYO N° 2 (reconstituido)
	ENSAYO N° 3 (polvo)		ENSAYO N° 3 (reconstituido)

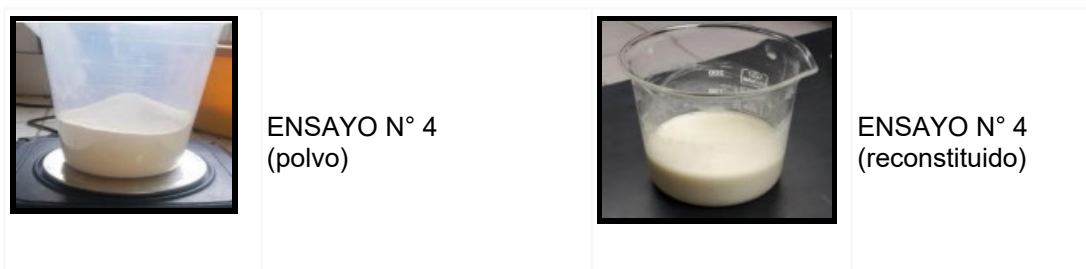


Figura N° 2: Resultados en los Ensayos realizados hasta obtener un producto con textura cremosa. (ver tabla. N°8 y 9).

Ensayo N° 1: Dentro de las no conformidades presentadas en este ensayo se mencionan las siguientes:

- En el primer ensayo se obtuvo sabor y olor no agradable, color no aceptable, de textura y apariencia no aceptable debido a que el aditivo (vitaminas) no se logró incorporar en el proceso de elaboración, presentando una apariencia y textura compacta poco agradable; pH obtenido 6.65.
- Mediante la incorporación del modificador del sabor a la mezcla en polvo, no se percibe el olor a vainilla, por lo tanto, es necesario volver a plantear los cálculos para esta materia prima (saborizante) para llegar al sabor característico aroma a vainilla.
- Al incorporar las vitaminas a la mezcla en polvo se tornó un color amarillo característico, se debe aumentar la concentración del modificador del color, en este caso de dióxido de titanio para que al mezclarse se logre la coloración deseada, una mezcla color blanco especificado en la formulación. Al terminar de mezclarse y llevarlo a reconstituir con agua se observó que la coloración permaneció aún amarilla por lo tanto en el segundo ensayo se valoró disminuir la concentración de vitaminas.

Ensayo N° 2: Dentro de las no conformidades presentadas en este ensayo se mencionan las siguientes:

- En el segundo ensayo se obtuvo sabor y olor no agradable, color no aceptable, de textura y apariencia no aceptable debido al aditivo (vitaminas) no se logró incorporar en el proceso de la segunda elaboración, presentando una apariencia y textura poco agradable. Además, se pudo

comprobar una disminución en el pH en el producto respecto al ensayo N°1, obteniendo 4.1.

- Al aumentar la concentración del modificador de sabor no percibe el sabor dulce, por lo tanto, se investigó una mejor opción para emplear como edulcorante, debido al tipo de producto en este caso se utilizó sacarina sódica por las propiedades de tener mayor poder edulcorante de todos los edulcorantes artificiales; esta materia prima posee aproximadamente 550 veces el poder endulzante de la sacarosa y es utilizado en aditivos alimentarios.
- El color amarillo característico de las vitaminas persiste aún con el aumento de la cantidad del colorante (dióxido de titanio), por lo tanto, se utilizó la menor cantidad posible para el ensayo N° 3 en la búsqueda de que las partículas de la mezcla no se tornen de color amarillo y así obtener la mezcla homogénea de color blanco, este color debe persistir de igual manera al reconstituirlo presentando un aspecto cremoso.

Ensayo N° 3: Dentro de las no conformidades presentadas en este ensayo se mencionan las siguientes:

- En el tercer ensayo se obtuvo sabor y olor agradable, color aceptable, de textura y apariencia poco aceptable, aunque la materia prima goma xantan se logró incorporar en el proceso de elaboración fue determinante para presentar baja viscosidad en el producto terminado, el pH obtenido fue 3.5.
- Al incorporar la sacarina sódica, se logró obtener el resultado especificado en la fórmula de sabor dulce agradable.
- Al aumentar la concentración de dióxido de titanio al 1%, se logró tener una mezcla homogénea de color blanquecina (polvo), y al reconstituirla el líquido es de color blanco, pero con apariencia baja en viscosidad.
- Se aumentó la concentración del agente espesante (goma xantan) la cual fue seleccionada por ser un agente estabilizante, producto no tóxico y compatible con la mayoría

de los demás ingredientes de la formulación, es estable en un amplio rango de pH. Mediante este aumento de la concentración se logró obtener una mezcla con una viscosidad alta comparada físicamente con el prototipo.

Ensayo N° 4: Dentro de las no conformidades presentadas en este ensayo se mencionan las siguientes:

- En el cuarto ensayo se obtuvo sabor, olor y color característico agradable, textura y apariencia aceptable, ya que, al momento del mezclado, la mezcla es totalmente homogénea libre de partículas extrañas, además se logró una incorporación total del espesante, presentando buena viscosidad en el producto elaborado; el pH obtenido del producto final fue de 3.5, estando dentro del parámetro rango de pH de 3.1 a 5.5 según prototipo.
- El proceso de elaboración del yogur a escala de laboratorio se llevó a cabo bajo las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) desde la recepción de materias primas, durante el desarrollo del procedimiento para la elaboración del producto hasta su envasado y almacenamiento, con el objetivo de ofrecer un alimento inocuo que no provoque efectos negativos en el consumidor.

5.3.1 Resultados de análisis del producto terminado, la caracterización del flujo del polvo.

CARACTERIZACIÓN DEL FLUJO DEL POLVO.

Ángulo en reposo.



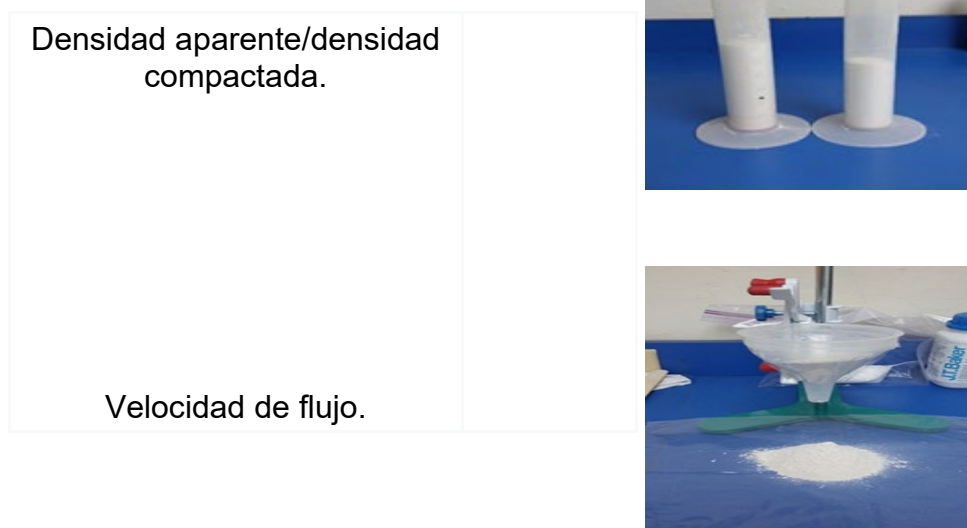


Figura N° 3: Resultados obtenidos en el producto final, realizados a partir de la caracterización de un flujo de polvo. (ver tabla N° 7)

Tabla N° 7: Resultados de densidad y fluidez de polvos (ver anexo N°7).

Resultados de densidad y fluidez de polvo

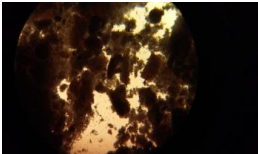
NOMBRE DEL PRODUCTO: YOGUPIG

NÚMERO DE LOTE: 22092020

FECHA DE ANÁLISIS: 10 FEBRERO 2022

PRUEBA	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO			CRITERIO DE EVALUACIÓN
	RANGO	DETERMINACIÓN 1	DETERMINACIÓN 2	RESULTADO (Promedio)	
DENSIDAD APARENTE (g/mL)					
Masa (g)	16.5 – 18.5 g	17.6	17.4	17.5	CUMPLE
Volumen aparente (ml)	50 mL	50	50	50	
Densidad aparente (g/ml)	0.35 – 0.45 g/mL	0.352	0.348	0.35	

Continuación de Tabla N° 7

DENSIDAD COMPACTADA (g/mL)					
Masa (g)	16.5-18.5 g	17.6	17.4	17.5	CUMPLE
Volumen compactado (ml)	40.0 – 46.0 mL	44.4	42.2	43.3	
Densidad compactada (g/ml)	0.35 – 0.45 g/mL	0.396	0.412	0.40	
DETERMINACIÓN DE FLUIDEZ					
Índice de Compresibilidad (%)	≤10 – 20%	11.11	15.53	13.32	BUENA FLUIDEZ
Razón de Hausner (Densidad compactada/Densidad aparente)	1.0 – 1.25	1.12	1.18	1.15	BUENA FLUIDEZ
ÁNGULO DE REPOSO (masa: 30 g)					
Altura (cm)	4.0 – 4.4 cm	4.0	4.1	4.05	ACEPTABLE
Diámetro (cm)	7.7 – 8.1 cm	8.1	8.0	8.05	
Angulo (°)	45 - 50°	44.64	45.71	45.20	
VELOCIDAD DE FLUJO					
Masa (g)	100 g	100	100	100	CUMPLE
Tiempo (s)	7.0 – 10.0 s	7.16	8.44	7.8	
F _{polvo} (g/s)	10.5 - 14.5 g/s	13.96	11.84	12.90	
Apariencia	 <p>Observaciones: Mezcla de polvos, color blanquecino. Hábito cristalino: cristal polimorfo. Asociación de partículas: agregado</p>				

Fuente: elaboración propia.

Interpretación de criterios de evaluación

- **Índice de Compresibilidad (%):** El resultado obtenido se encuentra dentro del rango 11-15 de la tabla oficial de la USP 30 para criterio de evaluación de fluidez de polvo según índice de compresibilidad o de Carr, lo que indica que el polvo ensayado YOGUPIG, posee una buena fluidez.

- **Razón de Hausner:** El resultado obtenido se encuentra dentro del rango 1.12-1.18 de la tabla oficial de la USP 30 para criterio de evaluación de fluidez de polvo según índice de Hausner, lo que indica que el polvo ensayado YOGUPIG, posee buena fluidez.

- **Ángulo de reposo (masa: 30 g):** El resultado obtenido se encuentra dentro del rango 41-45 de la tabla oficial de la USP 30 para criterio de evaluación de fluidez de polvo según índice ángulo de contacto, lo que indica que el polvo ensayado YOGUPIG, es aceptable o puede demorar un poco, Los resultados de acuerdo a este método son menos confiables que los de índice de Carr o Hausner, debido a que en el criterio de evaluación no regula la medida de un embudo específico, por ejemplo, el diámetro del orificio del embudo, el ancho de la tolva, la altura del lecho del polvo y el ángulo de la pared de la tolva.

- **Velocidad de flujo:** No hay valores en tabla oficial que certifique la velocidad de flujo de la tolva (embudo) por lo que pueden dar valores altos o bajos.

5.3.2 Resultados de análisis químicos y microbiológicos del producto terminado, análisis de viscosidad, bromatológicos y microbiológicos.

- **Análisis de resultados de viscosidad.**

Los resultados realizados en el Laboratorio de control de calidad Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM), nos dio a conocer la viscosidad real

del producto terminado (yogur), el cual se puede concluir que la muestra se encuentra dentro de las especificaciones en donde presenta valores aceptables en comparación al producto prototipo de referencia. viscosidad obtenida 2784 cP. presentando un valor cercano al prototipo (2780 cP) (ver anexo 8)

– **Análisis de resultados bromatológicos.**

Los resultados realizados en el Laboratorio de Servicios de Química Agrícola, Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova” (CENTA), reflejó los valores en cuanto al porcentaje de humedad, la cantidad de calorías, carbohidratos, azúcares y proteínas, adecuados para la nutrición del lechón, para tener conocimiento del aporte nutricional del producto terminado (ver anexo 9- 9.1). Un análisis de laboratorio específicamente al parámetro de *Humedad por laboratorios Always on Time*, dio a conocer un valor de humedad (%p/p) de 3.49, mediante la Metodología de Termobalanza, encontrándose por debajo del 5.00%, el cual es valor de referencia del producto prototipo. (ver anexo 9- 9.2).

– **Análisis de resultados microbiológicos.**

Los resultados realizados en el Laboratorio Especializado de Diagnóstico Pecuario Always on time, da a conocer la presencia (viabilidad) del microorganismo *B. licheniformis* en materia prima obteniendo una concentración de 1.28×10^9 UFC/g (ver anexo 10), así como en el producto terminado obteniendo una leve disminución a 1.27×10^9 UFC/g, además se obtiene un recuento de coliformes conforme a la norma específica de 10 UFC/g como máximo. (ver anexo N° 11).

Tabla N° 8: Resumen de Fórmulas ensayadas

Descripción	Función en la fórmula	Proveedor	Ensayo (F-01)	Ensayo (F-02)	Ensayo (F-03)	Ensayo (F-04)
			Rango ensayado%	Rango ensayado%	Rango ensayado%	Rango ensayado%
Sustituto de leche	Contiene <i>B. licheniformis</i>	LACTALIS (Feed)	55,8	55,8	55,8	55,8
Suero de leche	Estimulador de la microbiota benéfica.	MISSOULA	37,5	37,5	37,5	37,5
Cloruro de potasio	Fuente de electrolitos	MAXPHARM	0,35	0,35	0,35	0,35
Sulfato de hierro	Fuente de electrolitos	PEER CHEMICAL CO., LIMITED	0,6	0,6	0,5	0,5
Vitamina B1	Fuente de Vitaminas	ADISSEO	0,6	0,6	0,6	0,6
Vitamina B12 1%	Fuente de Vitaminas	ADISSEO	0,6	0,6	0,6	0,6
Caolín	Antidiarreico	VETANCO	1,2	1,2	1,2	1,2

Continuación Tabla N° 8.

Goma xantan	Estabilizante/ espesante	MISSOULA	0,2	0,2	0,2	0,2
Dióxido de Titanio	Colorante	QUANTUM	0,4	0,5	1	1
Sorbato de potasio	Sustancia conservadora	NINGBO WANGTONG TECH	0,2	0,2	0,2	0,2
Ácido ascórbico	Acidificante/ Antioxidante, Regulador de pH	RZBC	0,25	0,25	0,25	0,25
Azúcar glass	Edulcorante	QUANTUM	1,25	1,3		
Aroma a vainilla	Acentuador del sabor		1	1	1	1
Sacarina sódica	Edulcorante	GLOBE CHEMICALS			0,6	0,6
Agua purificada	Vehículo	INOVO	c.s.p	c.s.p	c.s.p	c.s.p
TOTAL			99.95	100.1	99.8	100

Fuente: elaboración propia.

Tabla N ° 9: Resumen de resultados del perfil del producto de fórmulas ensayadas.

PERFIL DEL PRODUCTO		RESULTADOS			
Fórmulas de cada ensayo reconstituidos.					
Atributos	Límite de aceptación	Ensayo (F01)	Ensayo (F02)	Ensayo (F03)	Ensayo (F04)
Color	Blanco cremoso	Amarillo	Amarillo pálido	Blanco	Blanco cremoso
Olor	Olor a vainilla	Característico a vainilla	Característico a vainilla	Característico a vainilla	Característico a vainilla
Sabor	Vainilla/Agradable dulce	Vainilla Levemente amarga	Vainilla levemente amarga	Vainilla (Dulce)	Vainilla (Dulce)
Partículas extrañas	Ausencia de partículas extrañas	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Textura	Viscoso	Viscoso	Viscoso	Ligeramente Viscoso	Viscoso
pH	3.1 - 5.5	6.65 Corregido (4.62)	4.1	3.5	3.5
Densidad	A documentar	N/A	N/A	N/A	1.082 g/ mL
Microbiológico	Ausencia <i>E. coli</i> , Presencia <i>B. licheniformis</i>	N/A	N/A	N/A	Conforme

Fuente: elaboración propia.

5.4. Selección y evaluación de la fórmula definitiva del yogur para lechón.

La fórmula idónea se seleccionó en base al cumplimiento del perfil del producto establecido al inicio de la investigación, la fórmula seleccionada (Ensayo F-04) en la que cumple con los requisitos establecidos en el perfil del producto, por las siguientes razones:

- En el cuarto ensayo se obtuvo sabor y olor característico agradable, color aceptable, textura y apariencia aceptable, ya que, al momento del mezclado, la mezcla es totalmente homogénea libre de partículas extrañas, además de que se logró una incorporación total del espesante, presentando buena viscosidad en el producto elaborado; pH obtenido 3.5.
- La densidad obtenida estaba dentro de los límites establecidos en el Perfil del producto. (ver anexo 12), La fórmula cuali-cuantitativa definitiva luego de la evaluación de los ensayos en relación al diseño del “Perfil del Producto” se puede observar en la Tabla N° 10

Tabla N°10 Formula cuali-cuantitativa que cumple con el “perfil del producto”

FÓRMULA CUALICUANTITATIVA PRODUCTO: YOGUR PARA LECHON			
Forma farmacéutica: polvo de reconstitución oral Vía de administración: Oral Forma de dosificación: Tomar 200 g de la bolsa y llevarlo a un volumen de 1L con agua purificada agitando vigorosamente.			Empaque primario: bolsa plástica de color negro y/o papel Kraft.
N°	Materia Prima	Función en la Fórmula	Cantidad porcentual
			%m/m
1	Leche deshidratada	(Sustituto de leche) Contiene <i>B. licheniformis</i> .	55,8
2	Suero de leche	Estimulador de la microbiota benéfica.	37,5
3	Cloruro de potasio	Fuente de electrolitos	0,35
4	Sulfato de hierro	Fuente de electrolitos	0,5

Continuación de Tabla N° 10.

5	Vitamina B1	Fuente de Vitaminas	0,6
6	Vitamina B12 1%	Fuente de Vitaminas	0,6
7	Caolín	Antidiarreico	1,2
8	Goma xantan	Estabilizante/espesante	0,4
9	Dióxido de Titanio	Colorante	1
10	Sorbato de potasio	Sustancia conservadora	0,2
11	Ácido ascórbico	Acidificante/Antioxidante, Regulador de pH	0,25
12	Sacarina sódica	Edulcorante	0,6
13	Aroma a vainilla	Acentuador del sabor	1
TOTAL			100%

Fuente: elaboración propia.

Para él %m/m producto final (ver anexo N° 3)

5.5. Describir proceso de fabricación y control en el proceso. (ver tabla 11)

Tabla N° 11: Comparación de escalamiento de método de fabricación a Escala de Ensayo a Escala Piloto y sus controles en el proceso. (ver anexo 13)

#	Tipo de ensayo	Escala de ensayo 1 kg	Escala de ensayo 5 kg	Escala piloto 25 Kg
	Procedimiento			
1	Tanque granel	Bolsa de 5 lb	Bolsa de 10 lb	Tanque de acero inoxidable en "V" de 25 kg
2	Rotular la bolsa (bolsa F01)	Bolsa 5 lb / temperatura ambiente	Bolsa de 10 lb/ temperatura ambiente	Temperatura ambiente
3	Adicionar las siguientes materias primas: leche deshidratada, suero de leche y caolín con agitación mecánica después de cada adición. (agitar durante 5 min.)	5 minutos Manual en rotación	5 minutos Manual en rotación	6 minutos 500rpm

Continuación de Tabla N° 11.

4	Dejar reposar por 5 minutos	5 minutos	5 minutos	5 minutos
5	Adicionar a la (bolsa F01) las siguientes materias primas: cloruro de potasio, sulfato de hierro, vitamina B1 y B12 1%, goma xantan, sorbato de potasio y sacarina sódica, con agitación mecánica después de cada adición hasta completa homogeneidad. (agitar durante 3 min.)	Bolsa de 5 lb / 3 minutos Agitación mecánica	Bolsa de 10 lb/ 3 minutos Agitación mecánica	Tanque de acero inoxidable en "V" de 25 kg 4 minutos 500 rpm
6	Adicionar el dióxido de titanio, aroma de vainilla y agitar hasta completa homogeneización. (agitar durante 7-10 min.)	7 minutos Agitación mecánica	10 minutos Agitación mecánica	10 minutos 500rpm
7	Adiciona la (bolsa F01) el ácido ascórbico agitar hasta completa homogeneización. (agitar durante 1 min.)	1 min	1 min	1 min
8	En el tanque de acero inoxidable de 25 kg mezclar hasta completar la homogeneización.	Beaker de 100 ml 50 segundos	Beaker de 600 ml 1 min	Tanque de acero inoxidable en "V" de 25 kg 1 min
9	Adicionar al tanque granel las siguientes materias primas: sabor a vainilla y dióxido de titanio y mezclar hasta completa incorporación. (agitar durante 2 min.)	2 min Agitación mecánica	2 min Agitación mecánica	3 min 500rpm
10	Verificar rendimiento. %(p/p) .	-	-	-
11	Ajustar el pH si fuese necesario con: Ácido ascórbico. (El pH del producto debe ser como máximo 5.5 y como mínimo de 3.1).	-	-	-
12	Realizar controles en proceso: (determinación de color, olor, sabor, textura, partículas extrañas y determinar la densidad).	Aplica.	Aplica.	Aplica.
13	Revisar material de empaque, según la norma ⁽¹⁰⁾	-	-	-
14	Envasar el producto: En bolsas de color negro que sean de material doble, y en papel Kraft, se depositan en las bolsas pertinentes según la cantidad a envasar o cualquier otro tipo de envase autorizado.	-	-	Aplica.
15	Dejar limpio y despejar el área.	-	-	-

Fuente: elaboración propia.

5.6. Comparación de parámetros físicas, químicas y microbiológicas del prototipo con el producto terminado. (ver tabla 12)

Tabla N° 12: Comparación del prototipo con el producto terminado (Yogur para lechón).

Descripción	Prototipo	Producto terminado
Características físicas	Especificación	Resultado
Color (Homogeneidad)	Blanco	Blanco cremoso
Olor	Característico a leche	Característica vainilla
Sabor	Dulce	Vainilla (Dulce)
Textura	Polvo fluido	Polvo fluido
Textura reconstituida	Viscoso blanco	Viscoso blanco cremoso
Partículas extrañas	Ausencia	Ausencia
Características Química	Especificación	Resultado
Viscosidad	2780 cp.	2784 cp.
pH	<4.0	3.5
Densidad	1.060 g/mL	1.082 g/mL
Características Microbiológicas	Especificación	Resultado
Probiótico	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia	Ausencia
<i>E.coli</i>	<10 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	<10 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Enterobacterias totales</i>	<40,000 UFC/g	<40,000 UFC/g
Recuento total de aerobios	25,000 UFC/g	25,000 UFC/g
Hongos y levaduras	Sin crecimiento	Sin crecimiento

Fuente: elaboración propia.

La elaboración del informe de la fórmula definitiva del yogurt para lechón para entregar al laboratorio de Innovaciones Nutricionales SA. De CV, se comenzó a elaborar cuando se culminó la parte experimental del estudio; hasta ese momento se contaba con toda la información necesaria y la fórmula cuali-cuantitativa definitiva.

Las partes que contendrá el informe de formulación a ser entregado al laboratorio cuenta con información de carácter confidencial que no puede ser agregada en el trabajo final por lo que no formará parte de los resultados finales de la presente investigación, las partes que incluirá el informe de formulación son las siguientes:

- Resumen de la preformulación del suplemento alimenticio, tomada de la investigación y consulta bibliográfica en diferentes fuentes de información para formular todos los ensayos.
- Método de fabricación utilizado para desarrollar la fórmula definitiva.
- Recomendaciones y precauciones al momento de la fabricación a escala industrial de la fórmula definitiva.
- Fórmula cuali-cuantitativa seleccionada.
- Material de empaque primario para el acondicionamiento del yogurt.

CAPÍTULO VI
CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. Se concluye que el sustituto lácteo en polvo leche en polvo utilizado en el desarrollo de la investigación el cual contenía el microorganismo *Bacillus licheniformis* como probiótico, permitió una reconstitución completa con agua tomando la textura característica de yogur, lo que permite una fácil administración del alimento al lechón en sus primeros días de vida.
2. La fórmula desarrollada en polvo, así como la fórmula reconstituida con agua, se evaluaron atributos de calidad organolépticos, físico-químicos, bromatológicos y microbiológicos, la cual se cumplieron completamente en el ensayo F-04 con los parámetros establecidos en el trabajo de investigación presentado.
3. Se realizaron cuatro ensayos para determinar, incorporación de cada ingrediente, apariencia, tiempos de mezclado, entre otros; esto para establecer proceso de fabricación final para que la fórmula sea reproducible a escala industrial.
4. Por ser un país aún en desarrollo, para la investigación y desarrollo de un producto, se debe tomar en cuenta un prototipo que es un producto comercial registrado. Para la investigación presentada se siguieron características de un prototipo establecido, como resultado final se desarrolló un equivalente, cumpliendo con todos los aspectos de calidad considerados críticos.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7. RECOMENDACIONES

1. Que se valide el método de fabricación y la metodología analítica en futuras investigaciones para asegurar que el proceso y la metodología son estables, son reproducibles y dan los resultados esperados.
2. Que en futuras investigaciones se realice el estudio de estabilidad conveniente a los lotes pilotos, para asegurar que el producto conserva sus características iniciales en el periodo que ha sido asignado hasta su caducidad.
3. Realizadas las pruebas de palatabilidad se sugiere utilizar otros saborizantes para enmascarar el sabor amargo de la muestra y hacer pruebas hedónicas a mayor profundidad con los animales y determinar así el nivel de aceptación
4. Demostrar en futuras investigaciones la eficacia en campo del producto desarrollado en diferentes áreas pecuarias u otras en desarrollo económico del país, ya que los beneficios a obtener serán de gran impacto a la economía interna de El Salvador.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Campaña, V., IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL DE DOS BACTERIAS DEL GÉNERO *Bacillus*, DE INTERÉS AGROBIOTECNOLÓGICO, Universidad Politécnica Salesiana, sede Quito, Ecuador, 2018.
2. Castillo, B., Probióticos y prebióticos como alimentos funcionales en nutrición animal, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogotá, Colombia, 2016.
3. Codex Alimentarius, Codex Stan 243-2003 Norma del codex para leches fermentadas, adoptada en 2003, revisada en 2008, 2010, 2018.
4. CODEX,. Leche y productos lácteos. 2 ed. OMS/FAO, Roma, 2011.
5. González, M., Estudio de la diversidad genética y propiedades biotecnológicas de aislamiento de *Bacillus licheniformis* provenientes de polvos comerciales, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, 2013.
6. International Conference of Harmonization. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of pharmaceuticals for Human Use. Pharmaceutical Development Q8 (R2) 2009.
7. International Conference of Harmonization. International Conference on validation of microbiological methods and quality management systems. Pharmaceutical Development Q8 (R2), 2015. pág. (45-46).
8. LIVISTO., YogurLac de Livisto, Suplemento Nutricional para lechones, 2018, (Recuperado de: <https://porcinews.com/yoghurlac-de-livisto-suplemento-nutricional-para-lechones/>).
9. Molina, A., Probióticos y su mecanismo de acción en alimentación animal. Universidad de Costa Rica, Costa Rica, 2018.
10. Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.10:06 Diario Oficial, N.º 384, Productos lácteos. Yogur especificaciones. (primera actualización), 2009.
11. Raymond, C., Paul, J., Marian, E., handbook of pharmaceutical excipients 6th ed, 2009.

12. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 65.05.52:11. N.º 282-2012, Diario Oficial, N.º 197, Productos utilizados en alimentación animal y establecimientos. Requisitos de registros sanitarios y control. (primera actualización), 2012.
13. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. N.º 243-2009, Diario Oficial, N.º 977 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. (primera actualización), 1997, 2009.
14. Risco, R., "ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE YOGURT A PARTIR DE LECHE DE CABRA (*Capra hircus*) EDULCORADO CON ESTEVIA (*Stevia Rebaudiana* Bertoni), FRUTADO CON MANGO (*mangifera indica* cv. Kent) Y ENRIQUECIDO CON SEMILLAS DE CHÍA (*salvia hispánica*)". Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú, 2015.
15. Sánchez, M., "Elaboración de un yogur semi-sólido saborizado naturalmente con una bebida étnica salvadoreña (horchata de morro), sus análisis sensorial, bromatológico y microbiológico". Universidad Dr. Jose Matias Delgado. San Salvador, El Salvador, 2016.
16. The United States Pharmacopeial Convention. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP30. Formulario Nacional NF 25. 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852, Estados Unidos de América, (30a ed.); Vol.1 pág. (708-710), 2007.
17. Vásquez, P., USO DE PROBIÓTICOS EN LA ALIMENTACIÓN CON SUERO DE LECHE EN CERDOS AL DESTETE, Universidad Autónoma, San Luis Potosí, México, 2013.
18. York P. El diseño de las formas farmacéuticas. En Aulton M., Director. Farmacia la ciencia del diseño de las Formas Farmacéuticas (pág. 1-12) 2ª ed. Madrid. Elsevier, 2004.
19. Zeceña L., E. A., INCORPORACIÓN DE UNA MEZCLA PROBIÓTICA EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE HELADO A ESCALA DE LABORATORIO, Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador. 2018.

ANEXOS

ANEXO N° 1
Materiales y equipo

(Para realizar ensayos de laboratorio)

MATERIAL Y EQUIPO	
Nivel de laboratorio	Nivel industrial
Vaso de precipitado de 100, 250, 500, 1000, mL	Tanques de acero inoxidable de capacidad de 25 kg en forma de "V"
Probeta de 100 mL, 1000 mL.	Agitador de acero inoxidable
Vidrio de reloj	Agitador de motor neumático
Agitador de vidrio	pH-metro
Embudo de plástico	Báscula
Hot-plate	
pH-metro	Balanza METTLER TOLEDO Modelo M532001CE de 32 Kg de capacidad y precisión 0.1 g.
Picnómetro	
balanza analítica	
bolsas de 1 Lb, 5 Lb, 10 Lb	báscula METTLER TOLEDO. Modelo INDD 226 con capacidad de 1000 KG y con precisión de 0,2 Kg.
Termómetro infrarrojo	

Fuente: elaboración propia.

ANEXO N.º 2
Procedimientos de controles en proceso

Anexo 2.1. Determinación de color, olor.

Descripción:

Material y Equipo

- Vidrio de Reloj
- Hoja de papel bond
- Vaso de precipitado

Procedimiento de Operación

Determinación en (polvo)

- Tomar una cantidad de 10 g del producto en un vidrio de reloj, colocarlo sobre una hoja de papel bond como base y comparar con el producto prototipo tomando la misma cantidad de muestra.
- Con respecto al olor, característico al aromatizante utilizado a vainilla.

Especificación:

- El color de la muestra es igual al del prototipo (blanco).
- El olor característico a vainilla.

Determinación en (reconstitución)

- Tomar una cantidad de 1 g del producto colocarlo en un beaker de 20 mL, reconstituirlo con 10 mL de agua tibia, agitar constantemente por un periodo de 3 min.
- Con respecto al olor, característico al aromatizante utilizado a vainilla.

Especificación:

- El color de la muestra es igual al del prototipo (blanco cremoso).
- El olor característico a vainilla.

Anexo 2.2. Determinación de sabor.

Descripción:

Material y Equipo

- Vidrio de Reloj
- Vaso de precipitado

Procedimiento de Operación

Determinación en (polvo)

- Colocar 1 g del producto sobre un vidrio de reloj, colocar el dedo índice sobre el polvo, realizar una prueba de sabor.

Especificación:

- Presenta un sabor característico a vainilla.

Determinación en (reconstitución)

- Colocar en un beaker 1 g del producto reconstituirlo con 10 ml de agua tibia y colocar 5 ml en una cucharita y realizar una prueba de sabor.
- Los saborizantes enmascaran en mayor medida el sabor del principio activo o aditivos.

Especificación:

- Presenta un sabor característico a vainilla.

Anexo 2.3. Determinación de partículas extrañas, textura.

Descripción:

Material y Equipo

- Vidrio de Reloj
- Papel bond
- Vaso de precipitado
- Agitador de vidrio
- Hot-plate

Procedimiento de Operación

Determinación en (polvo)

- Colocar una cantidad de 10 g del producto sobre un vidrio de reloj, colocarlo sobre una hoja de papel bond como base y observar que no posea partículas extrañas.

Especificación:

- El sólido no posee partículas extrañas.
- Textura sólida.

Determinación en (reconstitución)

- Tomar una cantidad de 20 g del producto en un beaker de 100 mL.
- Calentar 100 ml de agua purificada por un periodo de 3 minutos.
- Agregar 50 ml de agua tibia al polvo contenido en el beacker de 100 mL, Agitar vigorosamente por 5 minutos hasta lograr una mezcla uniformemente distribuida y homogénea.
- Observar que el líquido no posea partículas extrañas visibles o precipitados.

Especificación:

- El líquido no posee partículas extrañas.
- Líquido con textura viscosa.

Anexo 2.4. Determinación de densidad.

Descripción:

Procedimiento de Operación

- Pesar en balanza analítica 20 g del producto en un beaker de 100 mL.
- Agregar 50 ml de agua tibia al contenido, Agitar vigorosamente por 5 minutos hasta lograr una mezcla uniformemente distribuida y homogénea.
- Dejar reposar por un periodo de 10 min.
- Lavar y secar perfectamente el picnómetro con papel que no libere fibras.
- Pesar el picnómetro vacío, anotando su peso: Masa del picnómetro solo (P vacío) gramos.
- Llenar el matraz completamente con líquido problema hasta casi rebosar y se tapa con la pieza que tiene la señal de enrase o aforo. El nivel del líquido problema debe quedar por encima de la señal del aforo.
- Con un trozo de papel de filtro se seca el picnómetro por fuera y con otro trocito de papel filtro se quita el líquido problema que queda por encima de la señal de aforo, dejándolo perfectamente enrasado.
- Pesar el picnómetro con líquido problema y anotar el peso a continuación: Masa del picnómetro con líquido problema: en gramos.
- Aplicar la fórmula de la densidad relativa al agua: Densidad.

$$\rho = \frac{[(\text{Masa Picnómetro} + \text{líquido problema}) - \text{Masa Picnómetro Vacío}]}{\text{Volumen}}$$

- Comparar los resultados según la tabla que se presenta a continuación cuadro N°4.

Anexo 2.5. Determinación potenciométrica del pH.

Descripción:

Material y Equipo

- pH metro
- Agitador de vidrio
- Vaso de precipitado
- Termómetro

Procedimiento de Operación

- Encender el aparato.
- Estandarizar el pH metro como sigue a continuación a 25 °C con los siguientes buffer pH = 4, pH = 7, pH = 10.
- Colocar los electrodos en buffer 4 ajustar según procedimiento.
- Retirar los electrodos del buffer 4 hasta que se lea el valor correcto del buffer.
- Lavar y colocar los electrodos en buffer 7 ajustar.
- Retirar el buffer 7 hasta que se lea el valor correcto del buffer.
- Lavar y colocar los electrodos en el buffer 10.
- Retirar el buffer 10 hasta que se lea el valor correcto del buffer.
- Enjuagar el electrodo con agua destilada (libre de CO₂).
- En un vaso de precipitado, colocar 30 mL de la muestra.
- Llevar la muestra a temperatura de 25 °C ± 2 °C.
- Leer el pH de la muestra.

ANEXO N.º 3
Cálculos y formulación de 1 Kg de yogur

Cálculos de cantidades para la preparación de 1,0 Kg de yogur para la fórmula.

- Para la leche deshidratada y suero de leche.

LECHE DESHIDRATADA	SUERO DE LECHE
1Kg — 100%	1Kg — 100%
X Kg — 55.8%	X Kg — 37.5%
X=0.5580 Kg de Leche deshidratada en gramos.	X=0.3750 Kg de Suero de leche en gramos.

$$0.5580\text{Kg} = 558 \text{ g para } 1000 \text{ g} \quad 0.3750\text{Kg} = 375 \text{ g para } 1000 \text{ g}$$

- Para el cloruro de potasio y sulfato de hierro.

CLORURO DE POTASIO	SULFATO DE HIERRO
1Kg — 100%	1Kg — 100%
X Kg — 0.35%	X Kg — 0.6%
X=0.0035 Kg de Leche cloruro de potasio en gramos.	X=0.006 Kg de sulfato de hierro en gramos

$$0.0035 \text{ Kg} = 3.5 \text{ g para } 1000 \text{ g} \quad 0.006 \text{ Kg} = 6 \text{ g para } 1000 \text{ g}$$

- Para el caolín y goma xantan.

CAOLÍN	GOMA XANTHAN
1Kg — 100%	1Kg — 100%
X Kg — 1.2%	X Kg — 0.2%
X=0.012 Kg de caolín en gramos.	X=0.002 Kg de goma xanthan en gramos

$$0.012\text{Kg} = 12 \text{ g para } 1000 \text{ g} \quad 0.002 \text{ Kg} = 2 \text{ g para } 1000 \text{ g}$$

Continuación de anexo N° 3

- Para el dióxido de titanio y ácido ascórbico.

DIOXIDO DE TITANIO

ÁCIDO ASCÓRBICO

1Kg — 100%

1Kg — 100%

X Kg — 0.4%

X Kg — 0.25%

X=0.004 Kg de dióxido de titanio en gramos.

X=0.0025 Kg de ácido ascórbico en gramos

0.004Kg = 4 g para 1000 g

0.0025 Kg = 2.5 g para 1000 g

- Para el azúcar glass y aroma a vainilla.

AZÚCAR GLASS

AROMA A VAINILLA

1Kg — 100%

1Kg — 100%

X Kg — 1.25%

X Kg — 1%

X=0.0125 Kg de azúcar glass en gramos.

X=0.01 Kg de aroma a vainilla en gramos

0.0125Kg = 12.5 g para 1000 g

0.01 Kg = 10 g para 1000 g

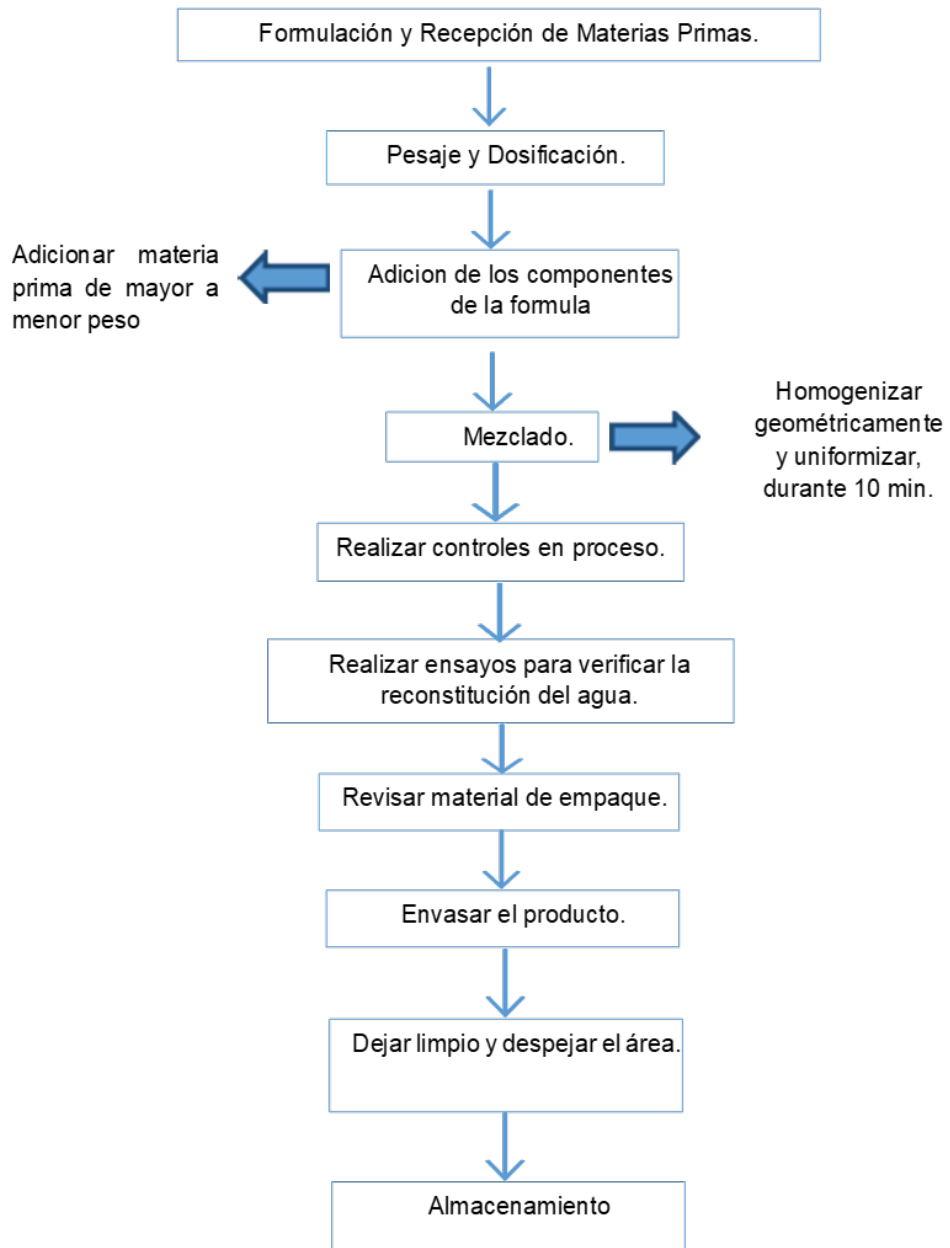
**Cálculo realizado para los demás componentes de la fórmula.*

Continuación de anexo N° 3

Descripción	Función en la fórmula	Rango ensayado en %	1000 g
Leche deshidratada	(Sustituto de leche) Contiene <i>B. licheniformis</i> .	55,8	558
Suero de leche	Estimulador de la microbiota benéfica.	37,5	375
Cloruro de potasio	Fuente de electrolitos	0,35	3.5
Sulfato de hierro	Fuente de electrolitos	0,6	5
Vitamina B1	Fuente de Vitaminas	0,6	6
Vitamina B12 1%	Fuente de Vitaminas	0,6	6
Caolín	Antidiarreico	1,2	12
Goma xantan	Agente estabilizante	0,2	4
Dióxido de Titanio	Modificador de color	0,4	10
Sorbato de potasio	Agente conservador	0,2	2
Ácido ascórbico	Acidificante/Antioxidante, Regulador de pH	0,25	2.5
Azúcar glass	Agente edulcorante	1,25	6
Aroma a vainilla	Modificador del sabor	1	10
Total, batch:		100%	1000 g

Fuente: elaboración propia.

ANEXO N° 4 Procedimiento para la preparación de un lote de yogur



Fuente: elaboración propia con base a la referencia de Guía ICH Q8.

Figura N° 4: Esquema del procedimiento para la preparación de un lote de yogur.

ANEXO N° 5
Procedimiento de lavado de cristalería

- Preparar una solución jabonosa con 20 mL de Hipoclorito de sodio 5% en 10L aproximadamente de agua potable.
- Enjuagar de manera inmediata la cristalería con agua potable eliminando cualquier sustancia acumulada.
- Lavar con suficiente solución jabonosa haciendo uso de un mascón, haciendo enjuagues repetitivos por lo menos en 4 ocasiones para garantizar la eliminación de cualquier sustancia.
- Realizar un último enjuague con agua desmineralizada.
- Colocar la cristalería en posición de secado
- Colocar la cristalería por decantación para que se seque a temperatura ambiente.

Anexo N° 6
Ficha técnica de principios activos

INOVO MILK

SUSTITUTO DE LECHE



Reemplazador Lácteo para sistemas de crianza artificial de lechones en regímenes tradicionales o destetes a 60 días. Gracias a su perfil elevado en proteína el INOVO MILK permite responder a los objetivos de crecimiento y así desarrollar el «alto nivel energético» de sus futuros lechones.

SUPLEMENTADO CON:

Productos lácteos, aceites y grasas vegetales, productos y sub-productos de granos de cereales, productos y sub-productos de granos oleaginosos, productos y sub-productos de granos de leguminosas, minerales, vitaminas y mezcla de probióticos: *Bacillus licheniformis* DSM 5749 / *Bacillus subtilis* DSM 5750 (n° CE 1700): 1.28 * 10⁹ UFC / kg, Antioxidantes: BHT = 33 ppm / E433 = 116 ppm, emulsificantes: E 487 = 720 ppm.

DOSIS:

225 g por toma (2 veces al día)

Peso: 25 Kg

INNOVACIONES NUTRICIONALES S.A. DE C.V.
Carretera al puerto de La Libertad, Km 22 1/2, Zaragoza
La Libertad, El Salvador.
www.innovacionesnutricionales.com



Figura N.º 5: Ficha Técnica de la Mezcla de Probióticos (Sustituto de leche).

Continuación de anexo N° 6

FORMULA ESPECIAL PARA SISTEMA TRADICIONAL DE CRIANZA DE LECHONES HASTA EL DESTETE A 60 DÍAS

ANALISIS DE GARANTIA

Proteína.....	22.50	% Mín.
Grasa.....	18.00	% Mín.
Cenizas.....	7.50	% Máx.
Humedad.....	3.00	% Máx.
Fibra Cruda.....	0.10	% Máx.
Calcio.....	0.80	% Max.
Fosforo.....	0.55	% Min.

INGREDIENTES:

Productos lácteos, aceites y grasas vegetales, productos y sub-productos de granos de cereales, productos y sub-productos de granos oleaginosos, productos y sub-productos de granos de leguminosas, minerales, vitaminas y mezcla de probióticos: *Bacillus licheniformis* DSM 5749 / *Bacillus subtilis* DSM 5750 (n° CE1700): 1.28 * 10⁹ UFC / kg, Antioxidantes: BHT= 33 ppm / E433 = 116 ppm, emulsificantes: E 487 = 720 ppm.

DOSIS:

Mezclar a razón de 125 gramos de sustituto de leche por litro de agua; para una óptima disolución, usar agua con una temperatura de entre 43 y 49°C y agitar constantemente; dejar enfriar a temperatura de 32 a 38°C. Se recomienda dar dos tomas al día, usando como guía las proporciones del cuadro siguiente.

Edad del lechón	RAZAS GRANDES		RAZAS PEQUEÑAS	
	Landrace y otras		Dalland y otras	
	Sustituto (g)	Agua (L)	Sustituto (g)	Agua (L)
Del día 4 al destete	225	2	220	1.8

ADVERTENCIAS:

Guárdese en lugar fresco y seco. No se exponga el material a humedades excesivas. No exponga a la luz directa, si no utiliza todo el contenido, cierre el envase con el contenido sobrante.

HECHO EN FRANCIA POR:
Lactalis Feed Les Placis -35230 – Bourgbarré - France



Fuente: Proveedor Lactalis Feed

Figura N.º 5: Ficha Técnica de la Mezcla de Probióticos (Sustituto de leche).

ANEXO N° 7

Cálculos de los resultados de densidad y fluidez del polvo

Cálculos para los resultados de densidad y fluidez del polvo de yogur para la fórmula final.

***se trabajó con el resultado promedio. (ver tabla N° 7)**

Determinación de densidad.

- Densidad aparente (g/mL). $\rho = \frac{Masa}{Volumen}$

Masa : 17.5 g

Volumen: 50 mL

Densidad (aparente):

$$\text{Densidad (aparente)} \rho = \frac{17.5 \text{ g}}{50 \text{ mL}} \quad d = 0.35 \text{ g/mL.}$$

- Densidad compactada (g/mL).

Masa : 17.5 g

Volumen: 43.33 mL

Densidad (compactada):

$$\text{Densidad (compactada)} \rho = \frac{17.5 \text{ g}}{43.33 \text{ mL}} \quad d = 0.40 \text{ g/mL.}$$

Determinación de fluidez.

- Índice de compresibilidad (%).

$$IC = \frac{\text{densidad compactada} - \text{densidad aparente}}{\text{densidad compactada}} \times 100$$

$$IC = \frac{0.40 \text{ g/mL} - 0.35 \text{ g/mL}}{0.40 \text{ g/mL}} \times 100 \quad IC = 12.5 \%$$

Continuación de anexo N° 7

Razón de Hausner.

$$RH = \frac{\text{densidad compactada}}{\text{densidad compactada}}$$

$$RH = \frac{0.40 \text{ g/mL}}{0.35 \text{ g/mL}} \quad RH = 1.14$$

Ángulo en reposo

Altura: 4.05 cm

Diámetro: 8.05 cm

Angulo θ : ?

$$\theta = \text{Tan}^{-1} \frac{\text{Altura}}{0,5 \text{ base}}$$

$$\theta \text{ tan}^{-1} = \frac{4.05 \text{ cm}}{4.025 \text{ cm}} \quad \theta = 45.2 \text{ cm}$$

-Velocidad de flujo

Masa : 100 g

Tiempo: 7.8 s

Flujo másico: ?

$$\text{Flujo másico} = \frac{\text{masa (g)}}{\text{tiempo (s)}}$$

$$\text{Flujo másico} = \frac{100 \text{ g}}{7.8 \text{ s}} \quad F = 12.82 \text{ g/s}$$

*Cálculo realizado para la fluidez del polvo del producto final.

ANEXO N° 8

Certificado de análisis de viscosidad del producto terminado.



CERTIFICADO DE ANALISIS

Código: F-PG-22-1

*Nombre de la Muestra/ Marca Comercial YOGUPIG	*Lote 51074	*Fabricación 09/2020	*Vencimiento 03/2023	*Número de Registro de Muestra: -----	Fecha de Recepción 19/12/2020	Fecha de Emisión 31/01/2021
Número de Muestra 76237	*Tipo de Muestra/ Forma Farmacéutica POLVO	Vía de Administración -----	*Nombre del solicitante del análisis: INNOVACIONES NUTRICIONALES S.A. DE C.V. *Dirección: Carretera a La Libertad, Km 22 ½ Cantón San Francisco, Zaragoza. *N° Teléfono: 2399-3700			
*Descripción de la muestra: Polvo de color crema, olor característico a vainilla, contenido en una bolsa plástica de color negro con etiqueta provisional						

DETERMINACION	FECHA DE ANALISIS	METODO DE REFERENCIA	ESPECIFICACION	RESULTADO	FECHA DE FINALIZACION DEL ANALISIS
DETERMINACION DE VISCOSIDAD A 25°C SPINDLE 61, 2.0 RPM	03/02/2021	USP NF - 2021 FÍSICO	-----	2784 cP	03/02/2021

CONCLUSIONES ANALITICAS:

- No es posible concluir sobre si la muestra se encuentra dentro o fuera de especificación dado que, para la determinación ensayada, no se ha establecido especificaciones.

NOTAS ACLARATORIAS

- Lo marcado con doble asterisco (**) corresponde a Análisis Acreditado
- Lo marcado con un asterisco (*) corresponde a la información proporcionada por el cliente
- El presente certificado de análisis corresponde únicamente a la muestra enviada por el interesado
- Declaramos que el Laboratorio de Control de Calidad USAM mantiene estricta confidencialidad de la información y resultados del análisis realizado y no tenemos ningún conflicto de interés con la muestra analizada.
- Prohibida la reproducción total o parcial sin previa autorización

Lic. Melissa Gámez
QUÍMICO ANALISTA
FÍSICO QUÍMICO

Licda. Silvia Melissa Gámez Medina
QUÍMICA FARMACÉUTICA
Insc. JVPQF No. 3046

República de El Salvador
D.N.M.
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD USAM
No. Insc. 520
Prop. UNIVERSIDAD SALVADOREÑA ALBERTO MASFERRER (USAM)
San Salvador San Salvador

Lic. Gracia Magaña de Gómez
GERENTE TÉCNICA

Licda. Gracia Rocio Magaña de Gómez
QUÍMICA FARMACÉUTICA - BIOLOGÍA
Insc. JVPQF No. 2868

-FIN DEL DOCUMENTO-

controldecalidad@usam.edu.sv

Tels: 2231-9651 / 2231-9656

3ª Calle Poniente N° 1126 entre 19 y 21 Av. Norte, San Salvador, El Salvador.


Laboratorio de Ensayo Acreditado por el OSA con Registro No. LEA 19:08 para el alcance detallado en www.osa.gob.sv Inscrito en la DNM con el número 520



Figura N° 6: Certificado de análisis de la viscosidad del producto terminado.

ANEXO N° 9 Análisis bromatológicos

Anexo 9.1 Certificado de análisis bromatológico del producto terminado.



LABORATORIO DE QUÍMICA AGRÍCOLA
labquimica@centa.gob.sv / lquimicaagricola.centa@gmail.com

San Andrés, 20 de diciembre de 2020.

DATOS GENERALES

Solicitante: **INNOVACIONES NUTRICIONALES, S.A. DE C.V.**
Responsable: **Lic. Diana Tovar**
Tipo de muestra: **Núcleo de concentrado**
Identificación de Muestra: **YOGUPIG**
Recibido: **22/11/2020**

No. Análisis: **388P**

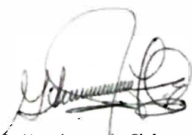
RESULTADO

ANÁLISIS	BASE HUMEDA P/P	UNIDADES	Metodología
Humedad	4.00	g/100g de muestra	Método de Secado a 105°C
Proteína Cruda	9.84	g/100g de muestra	Método Kjeldhal
Grasas	6.00	g/100g de muestra	Método Soxhlet
Cenizas	10.69	g/100g de muestra	Incineración a 600°C
Carbohidratos	69.47	g/100g de muestra	Diferencia
Fibra Cruda	0.22	g/100g de muestra	Digestión Ácido-Base
Calcio (Ca)	0.45	g/100g de muestra	Absorción Atómica ¹

¹Métodos Oficiales de la A.O.A.C 15ª edición 1990.

Nota: Este informe de análisis corresponde a una muestra recibida por el laboratorio, el proceso del muestreo ha sido responsabilidad del interesado.

Químico Analista: Lic. Héctor Shunico Shunico


Ing. Grecia Henríquez de Chávez
Jefa del Laboratorio de Química Agrícola

Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal "Enrique Álvarez Córdova" (CENTA)
Km. 33 ½ Carretera a Santa Ana, San Andrés, La Libertad, El Salvador, Centroamérica.
Teléfonos: (503) 2397-2200 ext. 269
www.centa.gob.sv



CENTAELSALVADOR

Figura N° 7: Certificado de análisis bromatológico del producto terminado.

Anexo 9.2 Resultados de parámetro de humedad del producto terminado mediante método de termobalanza

	LABORATORIO ALWAYS ON TIME	Código: REG-LAB-037
	INFORME DE RESULTADOS	Versión: 2.0
<small>Carretera a la Libertad km 22½, cantón San Francisco, Zaragoza, La Libertad. Tel: 2399-3700 Email: alwaysontime@innovaciones.com.sv</small>		Agencia: 03/2023

Cliente: Innovaciones Nutricionales SA de CV **Fecha de Ingreso:** 26/09/23
N° de Ingreso: 230945 **Fecha de Análisis:** 26/09/23
Fecha de Fabricación: 2/9/2023 **Fecha de Reporte:** 26/09/23
Fecha de Vencimiento: 2/9/2025 **Análisis Solicitado:**
Determinación de Humedad

RESULTADOS

MUESTRA	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS	REFERENCIA
Yogu Pig L: 66096	<5%	3.49%	Termobalanza

OBSERVACIÓN: La muestra analizada de Yogu Pig CUMPLE con las especificaciones establecidas


 Ing. Mirna Martínez
 Analista

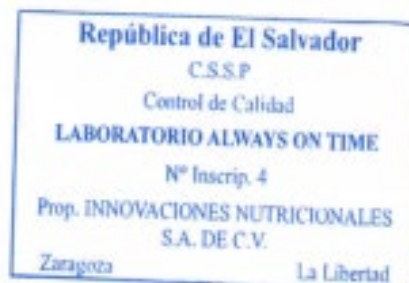


Figura N° 8: Resultado de Análisis de Humedad a producto terminado mediante metodología de Termobalanza

ANEXO N° 10
Certificado de análisis de materia prima
- Viabilidad del microorganismo *Bacillus licheniformis*.



LABORATORIO DE DIAGNOSTICO PECUARIO
ALWAYS ON TIME

Carretera a La Libertad km 22½, Cantón San Francisco, Zaragoza, La Libertad

INFORME DE RESULTADO

Cliente : Innovaciones Nutricionales
 Fecha de entrada: 20/12/22
 Fecha de análisis: 21-26/12/22
 Fecha de reporte: 27/12/22
 Análisis Solicitado: Microbiológico
 Tipo de muestras: Materia Prima

Resultado:

Producto	<i>Bacillus Licheniformis</i>	Enterobacterias Totales	Recuento total de Aerobias	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>
INOVO MILK LOTE:60009	1.28x10 ⁹ UFC/g	<40,000UFC/g	25,000 UFC/g	Ausencia	Ausencia

Microorganismo	Parámetro
<i>Bacillus Licheniformis</i>	Max. 1.28x10 ⁹ UFC/g
Enterobacterias totales	≤40,000 UFC/g
RT de Aerobias	≤40,000 UFC
<i>E.coli</i>	Ausencia
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia

Bibliografía: Reglamento (CE) 1831/2003. Higiene de piensos. Miproma, alimentos y aditivos .R


 Ing. Mirna Martínez
 Técnico Analista



Figura N° 9: Certificado de análisis de materia prima - viabilidad del microorganismo *B. licheniformis*.

ANEXO N° 11
Certificado de análisis microbiológico del producto terminado.



LABORATORIO DE DIAGNOSTICO PECUARIO
ALWAYS ON TIME

Carretera a La Libertad km 22½, Cantón San Francisco, Zaragoza, La Libertad

INFORME DE RESULTADO

Cliente : Innovaciones Nutricionales
Fecha de entrada: 14/02/22
Fecha de análisis: 15-17/02/22
Fecha de reporte: 18/02/22
Análisis Solicitado: Microbiológico
Tipo de muestras: Producto Terminado

Resultado:

Producto	<i>Bacillus Lincheniformis</i>	Enterobacterias Totales	Recuento total de Aerobias	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>
YOGUPIG LOTE:22092020	1.27x10 ⁹ UFC/g	<40,000UFC/g	25,000 UFC/g	Ausencia	Ausencia

Microorganismo	Parámetro
<i>Bacillus Lincheniformis</i>	Max. 1.28x10 ⁹ UFC/g
<i>Enterobacterias totales</i>	≤40,000 UFC/g
<i>RT de Aerobias</i>	≤40,000 UFC
<i>E. coli</i>	Ausencia
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia

Bibliografía: Reglamento (CE) 1831/2005. Higiene de piensos. Miproma, alimentos y aditivos .R


 Ing. Mirna Martínez
 Técnico Analista



Figura N° 10: Certificado de análisis microbiológico del producto terminado.

ANEXO N° 12

Cálculos para determinar la densidad del yogur

Cálculos de los resultados experimentales de la densidad del yogur.

Picnómetro vacío = 36.382 g

Picnómetro + agua = 60.418 g

Picnómetro + yogur = 62.389 g

$$\rho (\text{Yogur}) = \frac{\text{Masa}}{\text{Volumen}}$$

$$\rho (\text{yogur}) = \frac{[(\text{Masa Picnómetro} + \text{liquido problema}) - \text{Masa Picnómetro Vacío}]}{\text{Volumen ?}}$$

$$\rho (\text{H}_2\text{O}) = \frac{\text{Masa}}{\text{Volumen}} = V = \frac{\text{Masa}}{\rho (\text{H}_2\text{O})}$$

$$V = \frac{[(\text{Masa Picnómetro} + \text{agua}) - \text{Masa Picnómetro Vacío}]}{\rho (\text{agua})}$$

$$\rho (\text{yogur}) = \frac{[(\text{Masa Picnómetro} + \text{liquido problema}) - \text{Masa Picnómetro Vacío}]}{(\text{Masa Picnómetro} + \text{agua}) - \text{Masa Picnómetro Vacío}}$$

$$\rho (\text{H}_2\text{O})$$

$\rho (\text{yogur}) =$

$$\frac{[(\text{Masa Picnómetro} + \text{liquido problema}) - \text{Masa Picnómetro Vacío}]}{(\text{Masa Picnómetro} + \text{agua}) - \text{Masa Picnómetro Vacío}} \cdot \rho (\text{H}_2\text{O})$$

$$\rho (\text{yogur}) = \frac{[(62.389) - (36.382 \text{ g})]}{(60.418 \text{ g}) - (36.382 \text{ g})} \cdot \rho (1.00 \text{ g/mL})$$

$$\rho (\text{yogur}) = \frac{[(26.007 \text{ g})]}{(24.036 \text{ g})} \cdot \rho (1.00 \text{ g/mL})$$

$$\rho (\text{yogur}) = (1.082) \cdot \rho (1.00 \text{ g/mL})$$

$$\rho (\text{yogur}) = 1.082 \text{ g/mL}$$

*Cálculo realizado para la densidad del producto terminado.

ANEXO N° 13
Procedimiento para la elaboración a nivel industrial



Limpeza y Sanitización



Pesaje y Dosificación



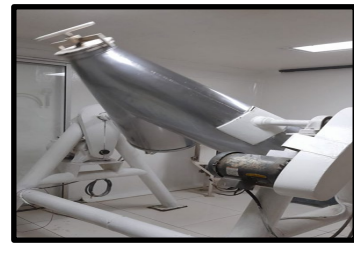
Adición de los componentes de la fórmula



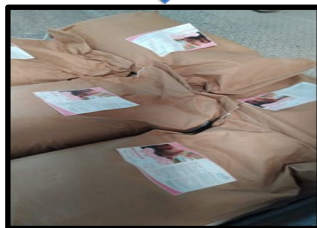
Envasado



Yogur en Polvo

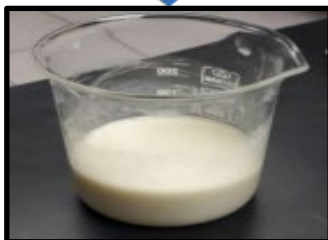


Mezclado



Almacenamiento

Realizar controles en proceso.



Reconstitución en Agua Tibia



Alimentación de Lechones

Fuente: elaboración propia.

Figura N° 11 : Diagrama del proceso de elaboración del yogur paso a paso.