



***DESARROLLO DE UNA PALETA DE SALES DE REHIDRATACIÓN ORAL  
ADICIONADA CON CEPA PROBIÓTICA DE *Bacillus clausii****

**DAYANNY BAENA GARCIA**

**NATALY MUÑOZ OSORIO**

**KARELIS PEÑALOZA JIMENEZ**

**UNIVERSIDAD DEL SINÚ SECCIONAL CARTAGENA**

**ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA**

**X SEMESTRE**

**CARTAGENA DE INDIAS D. T. H. Y C.**

**2018**



**DESARROLLO DE UNA PALETA DE SALES DE REHIDRATACIÓN ORAL  
ADICIONADA CON CEPA PROBIÓTICA DE *Bacillus clausii***

**DAYANNY BAENA GARCIA**

**NATALY MUÑOZ OSORIO**

**KARELIS PEÑALOZA JIMENEZ**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR  
EL TÍTULO DE NUTRICIONISTA Y DIETISTA**

**TUTORES:**

**GUSTAVO ANDRÉS LARA OVIEDO. ND**

**OLGA LUCIA LORA DIAZ. IA**

**UNIVERSIDAD DEL SINÚ SECCIONAL CARTAGENA**

**ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA**

**PROYECTO FINAL**

**X SEMESTRE**

**CARTAGENA DE INDIAS D. T. H. Y C.**

**2018**

**Nota de aceptación**

-----  
-----  
-----  
-----  
-----

---

**Firma del presidente del jurado**

---

**Firma del jurado**

---

**Firma del jurado**

Cartagena DT y C.

## **Dedicatoria**

Esta investigación es dedicada a Dios, y especialmente a todas las personas que nos ayudaron a desarrollar esta investigación, a nuestros padres que nos han dado apoyo moral y emocional, a nuestros profesores y asesores que nos brindaron su conocimiento para poner fin a este proyecto.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
1.1. Delimitación del Problema.....	17
2. JUSTIFICACIÓN.....	19
3. OBJETIVOS.....	21
3.1 Objetivo General.....	21
3.2 Objetivos específicos.....	21
4. MARCO TEÓRICO.....	22
5. MARCO CONCEPTUAL.....	27
5.1 Definiciones.....	27
5.2 Historia.....	27
6. MARCO LEGAL.....	29
7. METODOLOGÍA.....	31
8. RESULTADOS.....	37
8.1 Análisis fisicoquímicos.....	37
8.2 Análisis microbiológico.....	38
8.3 Análisis sensoriales.....	49
9. DISCUSION.....	42
9.1 Discusión del análisis fisicoquímico.....	42
9.2 Discusión de la prueba microbiológica.....	42
9.3 Discusión de la escala hedónica facial.....	45

10. CONCLUSION.....	47
11. RECOMENDACIONES.....	49
12. BIBLIOGRAFIA.....	50
13. ANEXOS.....	68

Listas de tabla	Pag
Tabla 1. Modelo de SRO de la OMS.....	31
Tabla 2. Descripción de ingredientes de la formulación paleta No.1.....	32
Tabla 3. Descripción de ingredientes de la formulación paleta No.2.....	33
Tabla 4. Descripción de ingredientes de la formulación paleta No.3.....	33
Tabla 5. Distribución de los niños y niñas de la Prueba Hedónica Facial.....	37
Tabla 6. Ponderación de la prueba Hedónica Facial.....	38
Tabla 7. Análisis fisicoquímicos de la paleta de SRO con <i>Bacillus clausii</i> .....	39
Tabla 8. Análisis microbiológico de la paleta SRO con <i>Bacillus clausii</i> .....	39
Tabla 9. Resultados estadístico sobre la evaluación sensorial de la paleta.....	40

Grafica 1. Medias muestra A (1), B (2) y C (3) con rango significancia 95%.....41

Grafica 2. Medias de muestra A (1) B (2) y C (3) con rango significancia de 95%,  
versus sumatoria o promedio de valoración de cada muestra.....41

Lista de figuras	Pag
Figura 1. Flujograma de elaboración de las mezclas de la paleta.....	34
Figura 2.Prueba estadística ANOVA.....	40

## **GLOSARIO**

CONICET: consejo nacional de investigaciones científica y técnicas

Aw: actividad de agua.

SRO: sales de rehidratación oral.

EDA: enfermedad diarreica aguda

DA: diarrea aguda

OMS: organización mundial de la salud

UNICEF: fondo internacional de emergencia de las naciones unidas para la infancia.

ESPGHAN: sociedad europea de gastroenterología, hepatología y nutrición.

UFC: unidad formadora de colonia

CMC: carboximetilcelulosa

BHI: brain heart infusión

MYP: manitos, yema de huevo, peptona

## INTRODUCCIÓN

El helado es un alimento congelado que por lo general está formado por cuatro compuestos estructurales: burbujas de aire, grasa y cristales de hielo dispersas en una matriz que consiste en una solución de azúcares, proteínas, estabilizadores, emulsionantes, colorantes y aromas<sup>1</sup>. Debido a su complejidad, el helado ha sido estudiado por muchos investigadores que buscan para dilucidar la influencia de la utilización de diferentes ingredientes y las características estructurales y sensoriales del producto. Muchos de estos estudios buscan el enriquecimiento nutricional y/o reducida cantidad de calorías de helado mientras se mantiene la calidad sensorial, con el fin de cambiar el paradigma de que el helado es sólo un tratamiento y que sea una más saludable y nutritivo de manera que puede estar asociado con la prevención de las enfermedades y los buenos hábitos alimenticios <sup>2-12</sup>.

La búsqueda de innovación en la industria alimentaria, atrajo la atención de los autores de este proyecto de investigación teniendo en cuenta que bacterias benéficas o también llamados probióticos, cuentan con una gran popularidad y se han expandido exponencialmente, por los innumerables beneficios potenciales incluyendo una mejor nutrición y crecimiento, mayor inmunidad y prevención de diversos trastornos gastrointestinales (Diarrea, Síndrome de Intestino Irritable (SII), Enfermedad Inflamatoria del Intestino (EII) enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enterocolitis necrosante), trastornos respiratorios, alergias, trastornos de la piel, vaginosis bacteriana y cáncer<sup>13</sup>.

La presente investigación tiene como propósito el desarrollo de una paleta de sales de rehidratación oral con cepa probiótica unificando las características sensoriales de una paleta de agua a base de una solución de sales de rehidratación oral con la acción reconstituyente intestinal, que presentan los microorganismos benéficos como lo son los probióticos *Bacillus clausii*.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de los considerables avances en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad diarreica así como de los diversos agentes enteropatógenos involucrados, las enfermedades diarreicas es la segunda causa de muerte de niños menores de cinco años, y ocasionan la muerte de 760 000 millones de niños en el mundo. La diarrea es causante de eliminación de agua y sales minerales, responsable del funcionamiento orgánico, ocasionada por: bacterias, virus y parásitos<sup>14</sup>.

En Colombia, la enfermedad diarreica aguda ocupa el segundo lugar de morbimortalidad en la población menor de cinco años, especialmente en los municipios con mayor porcentaje de necesidades básicas insatisfechas<sup>16</sup>. El número de casos individuales notificados de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en el periodo de 2000 al 2008 fue de 58.332. En el 2010, se notificaron al sistema 2.103 casos<sup>17</sup>.

De acuerdo al perfil epidemiológico, durante el año 2015 en el Distrito de Cartagena de Indias se notificaron un total de 230 casos de enfermedades transmitidas por alimentos, se evidencia que el grupo etario más afectado fue el de 1 a 4 años de edad con un 18,6% (n=43). Según el comportamiento epidemiológico va en aumento respecto a años atrás<sup>18</sup>.

La mayoría de las personas que fallecen por enfermedades diarreicas en realidad mueren por una grave deshidratación. Los niños malnutridos o inmunodeprimidos son los que presentan mayor riesgo de enfermedades diarreicas potencialmente mortales. Durante un episodio de diarrea, se pierde agua y electrolitos (sodio, cloruro y potasio) en las heces líquidas, los vómitos, el sudor, la orina y la respiración. Cuando estas pérdidas no se restituyen, se produce deshidratación, y puede ocasionar la muerte por falla orgánica<sup>19</sup>.

El grado de deshidratación se establece en función de los signos y síntomas que reflejan la cantidad de líquidos perdidos, en la primera etapa de la deshidratación, no se produce ningún signo ni síntoma. A medida que aumenta la deshidratación aparecen los signos y síntomas. Inicialmente estos consisten en: sed, inquietud o irritabilidad, disminución de la turgencia de la piel, hundimiento de los ojos y hundimiento de la fontanela. En la deshidratación grave estos signos se hacen más notorios y el paciente puede presentar un choque hipovolémico, que trae como consecuencia disminución de la conciencia, extremidades húmedas y frías, pulso rápido y débil, presión arterial baja o indetectable y cianosis periférica. La muerte se produce enseguida si no se rehidrata rápidamente<sup>20</sup>.

Estas pérdidas se logran reponer mediante una solución de sales de rehidratación oral (SRO), podrán darse la mayoría de los líquidos que normalmente toma una persona, se debe dividir estos líquidos en dos grupos: líquidos que normalmente contienen sal, bebidas saladas, agua de arroz, sopas de verduras y hortalizas o de pollo con sal, y por último en caso que el niño presente un grado de deshidratación

alto y los signos se estén manifestando llevar a consulta con un profesional de salud y administrar infusión intravenosa<sup>19</sup>.

Actualmente en el mercado existen diferentes empresas ofreciendo productos para la prevención y tratamiento de la deshidratación, según los modelos establecidos por la OMS, las diferentes casas comerciales han tenido un enfoque unitario en los síntomas de la deshidratación sin abarcar el problema real, el causante de esta enfermedad. Por otra parte en la industria farmacéutica existen diferentes productos que contribuyen a bloquear microorganismos patógenos.

Las sales de rehidratación oral, no cuentan con un sabor apetecible para las personas que las consumen y es que su función más que tener un sabor agradable es la de rehidratación, mejorado la condición de deshidratación del paciente<sup>19</sup>, este atributo (sabor salado) se convierte en un obstáculo para la presente investigación ya que muchas veces con solo probar la solución oral es rechazada, con la posibilidad de reducir la aceptabilidad en la paleta, otra de las limitaciones, es que los probióticos soporten temperaturas bajas y permanezcan vivos en condiciones de congelación, por un largo tiempo.

El desarrollo de una paleta de sales de rehidratación oral adicionada con probióticos es una excelente alternativa para el manejo de la deshidratación, con la incorporación del *Bacillus clausii* ayuda a reducir las acciones patógenas de los microorganismos causantes de la diarrea, disminuyendo la estancia hospitalaria, futuras complicaciones o posibles muertes<sup>20</sup>. Sin opacar la acción rehidratante de

los minerales que contienen las SRO, en una presentación refrescante que recopila todos esos atributos llamativos para los niños en una forma como es la paleta, al mismo tiempo tendrá triple beneficio ya que mejorara el cuadro de deshidratación de los niños, permitirá el restablecimiento de la flora intestinal por la adición de una cepa probiótica y al ser fría aportará un toque refrescante al producto.

## 1.1 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El desarrollo de una paleta de sales de rehidratación oral con adición de probióticos es todo un reto para el área de tecnología de alimentos, nos permite direccionar lo tradicional con lo moderno como también encontrar una mezcla que contribuya al mejoramiento de afecciones gastrointestinales como lo es la diarrea, la paleta de SRO con cepa probiótica, es el plan de mejoramiento para el paciente con EDA en casa.

La paleta está dirigida a la población más vulnerable frente a un proceso diarreico y de deshidratación, niños preescolares entre 3 a 5 años de edad; debido a la gran mortalidad causada por esta enfermedad en este grupo etario. Los diferentes retos que se presenta la investigación radican en la formulación correcta de la paleta con sales de rehidratación oral, supervivencia del *B. clausii* y la aceptación del producto, este aspecto juega un papel importante, por su sabor salado, por el contrario los puntos a favor son la presentación ya que es en forma de paleta y el producto es más atractivo para los niños, en comparación con soluciones en frasco preparadas, como las que se encuentran actualmente en el mercado.

El proyecto se realizó en la ciudad de Cartagena de Indias Colombia, en el laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Universidad del Sinú Elías Bechara Zainúm, se llevó a cabo en un tiempo de año y medio, se aplicó una prueba hedónica facial en población infantil, pruebas microbiológicas y fisicoquímicas, que aclaren las limitaciones, y sustenten el desarrollo de la paleta.

Para afrontar una de esas limitaciones se escogió una cepa termo resistente como lo es la cepa *Bacillus clausii*, que exhibe propiedades probióticas y, al ser formador de esporas, es estable en un amplio rango de temperatura con posibles aplicaciones en una variedad de alimentos<sup>13</sup>.

Se desarrollaron tres formulaciones con variaciones en el porcentaje de los ingredientes, se adicionó un edulcorante artificial (sucralosa) con el fin de modificar su sabor y a la vez para que no aporte calorías al producto.

**Pregunta problema:** ¿Cómo elaborar una paleta con sales de rehidratación oral y adición de cepa probiótica sin que se afecte la supervivencia de la cepa?

## 2. JUSTIFICACIÓN

En Colombia, a pesar de los logros alcanzados en la última década, las Enfermedades Diarreicas Agudas, continúan ocupando los primeros lugares de morbilidad y mortalidad en la población menor de cinco años siendo la causa más comunes de consulta en el servicio de urgencias de pediatría, la mayoría de veces es consecuencia de alguna otra patología y por ende el enfoque debe ser global al tratar la enfermedad, lo que hace que sea necesario un adecuado manejo de la deshidratación con el uso de sales de rehidratación oral.

Por otro lado la investigación científica ha demostrado que algunos probióticos (microorganismos beneficiosos) producen efectos favorables en diversas áreas del tracto gastrointestinal<sup>26</sup> la razón para utilizar los microorganismos benéficos en la diarrea infecciosa se fundamenta en la competencia por los nutrientes y sitios de unión intestinal que establecen con los enteropatógenos, además de que crean un microambiente ácido y estimulan mecanismos de defensa específicos y no específicos<sup>27</sup>. Algunos meta-análisis han concluido que la terapia con probióticos puede reducir la duración de la enfermedad diarreica aguda aproximadamente en un día (8 - 11)<sup>28</sup>.

Desde el punto de vista tecnológico esta investigación busca agrupar dos productos con enfoques distintos en el mercado como son las SRO y el probiótico *Bacillus clausii*, y unificarlos en una paleta, que mejore los síntomas presentes en los

enfermos a causa de la deshidratación. Al igual que reducir patologías entéricas de origen microbiológico, disminuyendo la frecuencia de deposiciones, mejorar la flora intestinal, evitar posibles enfermedades digestivas, deshidratación y la reducción de la morbimortalidad por EDA o posible muerte. Es de igual importancia para el área de la salud y otras disciplinas relacionadas, reconocer el efecto de este producto innovador como una alternativa para mejorar el sistema digestivo de los afectados e implementarlos como un plan mejoramiento básico para enfermedades gastrointestinales en casa o en hospitales.

La realización de este producto innovador traerá diferentes beneficios no solo a la persona que lo consume, sino también las ganancias a escala nacional y mundial, disminuyendo costos hospitalarios y aumentando la esperanza de vida en el infante.

Teniendo en cuenta los objetivos propuestos por el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo en el año 2016, colaborando con el tercer Objetivo del Desarrollo Sostenible y un 2030 más saludable: **Garantizar una vida sana y promover el bienestar de todos a todas las edades**, que buscar reafirmar el compromiso en los países que componen a la OMS, con un abordaje a la atención urgente, en la mortalidad materna y en la niñez. Metas relacionadas con las enfermedades no transmisibles, abuso de sustancias adictivas y salud ambiental, abarcando fácilmente programas de salud y estimulando a los avances<sup>29</sup>.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una paleta de Sales de rehidratación oral adicionada con cepa probiótica de *Bacillus clausii* con el fin de contribuir a la mejoría de niños con enfermedades diarreicas.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Formular tres paletas a base de sales de rehidratación oral de acuerdo a la OMS.
- ✓ Determinar la cantidad de probiótico de *Bacillus clausii* que se debe adicionar a las formulaciones propuestas.
- ✓ Realizar análisis fisicoquímicos y microbiológicos de acuerdo a la NTC 1239 2002 y verificar la viabilidad de cada formula.
- ✓ Realizar pruebas sensoriales de cada formula mediante una escala hedónica facial y determinar cuál sería la más aceptada.

## 4. MARCO TEORICO

### **Marco de antecedentes**

Seguramente estos son los lejanos orígenes del helado, Charles Panati, en su famoso libro *“Extraordinary Origins of every day things”*, atribuye el invento del helado a los chinos, hace 4000 años atrás, sobre la base de una receta de aquella época donde se explicaba cómo preparaban una masa “mantecada” hecha de arroz muy cocido, leche y especias, que una vez mezcladas se colocaban en la nieve para que se solidificaran. La misma fuente describe también como los chinos preparaban también fruta helada (zumo y pulpa mezclados con nieve) y que en Pequín, ya en el XIII siglo a.c, habían numerosos vendedores ambulantes de estos refrescantes “dessert”<sup>45</sup>.

Actualmente existen fabricantes y micro empresas en la producción de helados con diferentes características de formas, tamaños, sabores, colores y combinaciones. La ingeniera alimentaria ha evolucionado la industria de los helados para un fin más allá que el de satisfacer las necesidades de calor, sino también otras necesidades como falta de macronutrientes y micronutrientes. Anteriormente se denominaba al producto congelado el término “Helado” sin importar cuál era su preparación o ingrediente. Los gobiernos han regulado este proceso permitiéndonos definir o clasificar los helados según su género.

**Historia del probiotico:** se dice que en el Antiguo Testamento (*Génesis 18:8*): “Abraham debía su longevidad al consumo de leche ácida”. En el año 76 a.c el

historiador romano Plinio recomendaba la administración de productos lácteos fermentados como tratamiento de la gastroenteritis. En 1892, Döderlein propuso que las bacterias vaginales producían ácido láctico, lo que inhibía el crecimiento de bacterias patógenas<sup>46</sup>. A principios del siglo pasado, Metchnikoff (1907) afirmaba que el consumo de yogur conteniendo lactobacilos resultaba en una reducción de las bacterias productoras de toxinas en el intestino y que esto incrementaba la longevidad del huésped<sup>47</sup>.

En la antigüedad ya se tenía conciencia de cómo, mientras algunos alimentos tenían efectos perjudiciales sobre la salud a corto o medio plazo otros, eran potencialmente beneficiosos incluso con una perspectiva temporal mucho mayor, (Hipócrates, siglo IV a.c). Sin embargo, fue muchos siglos más tarde cuando se comenzó a denominar “prebióticos” a las sustancias que favorecían el desarrollo de la microbiota autóctona, y “probióticos” a aquellos microorganismos que, ingeridos con los alimentos, tenían efectos de prevención de algunas patologías o disminuían los daños que causaban algunas enfermedades<sup>48</sup>.

Es importante señalar que para los procesos diarreicos agudos o crónicos su principal método de intervención son las (SRO) sales de rehidratación oral. Las diferentes modificaciones de la solución de rehidratación oral, por parte de la OMS, UNICEF Y ESPGHAN<sup>35</sup>, a lo largo de la historia ha traído resultados idóneos para las los tipos de deshidratación. La innovación en el campo de la nutrición, ha avanzado para que los factores que benefician al paciente, puedan entregarse en

una sola presentación. Muchos laboratorios incursionan o llevan sus esfuerzos para combatir la enfermedad diarreica aguda, trayendo así al mercado producto que contenga SRO y probióticos.

En 1908 el científico ruso Anatoli Brouchkov, jefe del departamento de geociología de la Universidad Estatal de Moscú, declaró que tenía más energía y un sistema inmunológico más fuerte, después de inyectarse a sí mismo la bacteria *Bacillus frost*. Afirmando que gracias a haberse inyectado 3.5 millones de bacteria presentaba menos gripa, declarando haber encontrado la cura de la inmortalidad<sup>31</sup>.

En 1984 el científico Tissier recomendaba la administración de *Bifidobacterias* a los niños que sufrían diarreas, afirmando que las *Bifidobacterias* podían desplazar a las bacterias putrefactivas que causaban la enfermedad y demostró que las *Bifidobacterias* eran la microbiota predominante en el intestino de niños alimentados con leche materna<sup>32</sup>.

En los últimos años se ha asistido a un constante bombardeo publicitario en relación con las indiscutibles bondades de los probióticos, dejando en un limbo el concepto de esta sustancia y su verdadera eficacia, demostrable únicamente con ensayos clínicos. Por tal, un grupo de investigadores se realizó una pregunta con respecto a los probióticos ¿Se debe extender su uso como medicamento?, la curiosidad los llevo a realizar un estudio basado en el tratamiento de la diarrea aguda en niños con prebióticos; de ahí observaron a 571 niños con esta enfermedad, como resultado

concluyeron que la duración de la diarrea fue significativa más corta, en los niños que recibieron *Lactobacillus rhamnosus* variedad GG<sup>34</sup>, frente a los niños control que solo recibieron soluciones de rehidratación oral. Sintetizando “No todas las preparaciones comerciales probióticos disponibles son efectivas en la diarrea aguda del niños. Los pediatras deberían elegir las preparaciones bacteriológicas basadas en datos efectivos”<sup>35</sup>. En vista al anterior artículo que declara manejar las mismas condiciones o variables de la presente investigación, cabe resaltar que las SRO, por sí solas no mejoran la condición de deshidratación y mucho menos la de diarrea, con base a esto podemos inferir que la combinación de probióticos con SRO, potencializara los beneficios del tratamiento, experimentando una recuperación pronta y disminuyendo la estancia hospitalaria.

Un estudio realizado en Buenos Aires, Argentina por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) “estudio la viabilidad y vitalidad frente al congelado de la levadura probiótica *Saccharomyces boulardii*: efecto del preacondicionamiento fisiológico” que dio como resultado que el probiotico estudiado tuvo una supervivencia a la congelación a -20 °c y posterior a su descongelación tuvo un crecimiento exponencial de 0,13 %, un factor favorable fue la actividad de agua (Aw) que permitió que aumentara 10 veces la supervivencia al congelado de la células que tuvo una duración de 2 meses. Se concluyó que en condiciones de estrés como las estudiadas en este trabajo disminuyen la vitalidad de la *S. boulardii*, además, la cepa estudiada presentó buena tolerancia a la sales biliares aun a bajos valores de pH del cultivo<sup>33</sup>.

Diez Gandía y Col realizaron un ensayo donde estimaron los sabores de las soluciones de rehidratación oral, que más gustan a los niños y analizaron la relación entre los gustos de los niños y la elección de un determinado sabor de SRO, de los 116 niños incluidos en el estudio a 7 de ellos no le gustó ninguno de los sabores propuestos y de este grupo 5 prefirieron el sabor neutro en la SRO. El resto de niños que participó en el estudio prefirió un saborizante en la SRO<sup>36</sup>.

## 5. MARCO CONCEPTUAL

La enfermedad diarreica aguda es definida según la academia americana de pediatría como una enfermedad de rápido inicio, caracterizada por incremento en el número de evacuaciones al día, y alteración en la consistencia de las heces fecales, que puede ir o no acompañado de otros síntomas como los vómitos, las náuseas, el dolor abdominal o la fiebre<sup>30</sup>. Entre los agentes etiológicos más comunes en el mundo se encuentran los virus los cuales representan entre el 70% y 80%<sup>30</sup> de las causas de esta enfermedad.

Los probióticos son cultivos microbianos vivos y activos que resultan ser un beneficio para la salud humana, cuando se ingieren en cantidades indicadas resultan ser combatientes de las enfermedades causadas por microbios patógenos, sin embargo es de vital importancia la investigación acerca de viabilidad (capacidad de reproducirse) en el marco de ambientes hostiles temperaturas altas y bajas.

### **Definiciones**

**Mezcla líquida para helados:** producto líquido higienizado que se destina a la preparación de helado, que contiene todos los ingredientes necesarios en cantidades adecuadas, de modo que al congelarlo, da el producto final descrito en el número<sup>37</sup>.

**Helado de agua o nieve:** preparado con agua potable, azúcar y otros aditivos permitidos. No contienen grasa, ni proteína, excepto las provenientes de los ingredientes adicionados y puede contener frutas o productos a base de frutas<sup>37</sup>.

***Bacillus clausii:*** es una bacteria en forma de bacilo aeróbico esporulado, Gram-positiva, móvil, que forma esporas y que vive en el suelo. Actualmente se clasifica como probiótico; pertenece al grupo de microorganismos que mantienen una relación simbiótica con el organismo huésped<sup>38</sup>.

**Soluciones de rehidratación oral (SRO):** una solución que contiene cloruro sódico, glucosa, cloruro potásico y citrato para reponer el líquido y los electrolitos perdidos durante la deshidratación<sup>40</sup>.

**Estabilizante:** son aquellos que le aportan textura y solidez a los helados, debido a que este tipo de helados no contienen absolutamente nada de grasa, ya que es esta la que aporta a los helado que contiene leche su cremosidad, por lo que un emulgente es inútil<sup>41</sup>.

**Saborizante:** aditivo que añadido a algo, especialmente a un alimento, le da sabor. Esta le da la propiedad de tener el sabor a uva, para mejorar su aspecto sensorial<sup>43</sup>.

**Edulcorante:** sustancia que edulcora los alimentos o medicamentos. Esta le aporta dulzor a la paleta más no calorías<sup>44</sup>.

## 6. MARCO LEGAL

Resolución 8430 de 1993, Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Título 1, Artículo 4 declara la investigación para la salud comprende el desarrollo de acciones que contribuyan: ítem C: a la prevención y control de los problemas de salud y E: a la producción del insumo para la salud<sup>49</sup>.

Resolución 8430 de 1993, Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Capítulo III, artículo 27: la investigación se clasifica con riesgo y con probabilidades de beneficio directo para el menor o el discapacitado, serán admisibles cuando: ítem b: el beneficio sea igual o mayor a otras alternativas ya establecidas para su diagnóstico y tratamiento<sup>49</sup>.

Resolución 3096 DE 2007; Artículo 20: DECLARACION DE PROPIEDAD DE OTRAS FUNCIONES, que los alimentos que contienen probiotico deben tener una cantidad de  $1 \times 10^6$  (1,000.000) UFC por gramo terminado al final de la vida útil. En el cual presenta los requisitos y declaraciones aceptas que necesite o conlleve un alimento con probióticos. El gobierno colombiana establece para los alimentos que se le adicione probióticos deberán ser establecidos como presenta la ley<sup>30</sup>.

La Norma Técnica Colombiana (NTC) 1239 del 2002 HELADOS Y MEZCLAS DE HELADO, en la cual presenta las definiciones, determinación de los requisitos

microbiológicos, higienes, toma de muestras, rotulado, envase, criterios de aceptación y adiciones para la elaboración de helados<sup>37</sup>.

## 7. METODOLOGÍA

Es un estudio experimental donde se tomó como base la formulación original de un helado a base de agua o copos de nieves, y para determinar la cantidad de edulcorante y demás ingredientes se utilizó la NTC 1239 del 2002, con diferentes mezclas de micronutrientes; cloruro de sodio, citrato trisódico, cloruro de potasio y glucosa, y aditivos: ácido cítrico, carboximetilcelulosa y sucralosa. Se seleccionó una bacteria probiótica termoresistente (*Bacillus clausii*) adquirida como espora comercial disponible (Enterogermina). Por consiguiente se tomaron en cuenta las recomendaciones de sales de rehidratación oral para niños según la OMS del año 2004 y sus planes de tratamiento A, B, C, ver tabla 1, además con la recomendación del probiótico para acción reconstituyente de flora intestinal, continuando con los parámetros establecidos por el reglamento técnico sobre las condiciones y requisitos de suplementos dietarios, Resolución 3096 del 2007. Se diseñaron en total tres formulaciones, cada formulación tiene variaciones de aumento o disminución en los porcentaje de acidez, estabilizante y edulcorante.

**Tabla 1. Modelo de Sales de rehidratación oral según la OMS.**

Micronutriente	Cantidad de gr/1 litro	Cantidad en gr/ 100 ml	% para 100 ml
Cloruro de sodio	2,6	0,26	10 %
Citrato trisodico	2,9	0,29	10 %
Cloruro de potasio	1,5	0,15	10 %
Glucosa	13,5	1,3	10 %

Por otro lado la recomendación del probiotico mencionado para acción reconstituyente es de 2 billones de esporas, cumpliendo con los requisitos por la ley

colombiana que exige para declarar un alimento fuente de probiótico, que contenga un millón de UFC por gramo terminado (1.000.000).

### **Proceso de elaboración.**

Para iniciar el proceso de elaboración, se tendrá en cuenta el Codex Alimentario internacional<sup>50</sup> y la Norma Técnica Colombiana (NTC) No1239<sup>37</sup> para productos de helados y mezclas para helado. La elaboración del producto experimental, se llevó a cabo en el laboratorio de Ciencia de los Alimentos en el edificio campus Santillana Laboratorio 601 de la Universidad del Sinú, Elías Bechara Zainúm, seccional Cartagena. Ver en la Tabla N° 2, 3 y 4

Se llevaron al laboratorio para su producción de acuerdo al Flujograma de elaboración de la Figura 1.

**Tabla 2. Descripción de ingredientes de la formulación paleta No.1**

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Variación</b>
CMC	0.5 gr	
Ácido cítrico	1 gr	X
Edulcorante	0.6 gr	X
Sales de Rehidratación Oral	100 gr	
Saborizante	0.05 cc	X
Probióticos	5 cc* (2 billones UFC)	

**Tabla 3. Descripción de ingredientes de la formulación paleta No. 2**

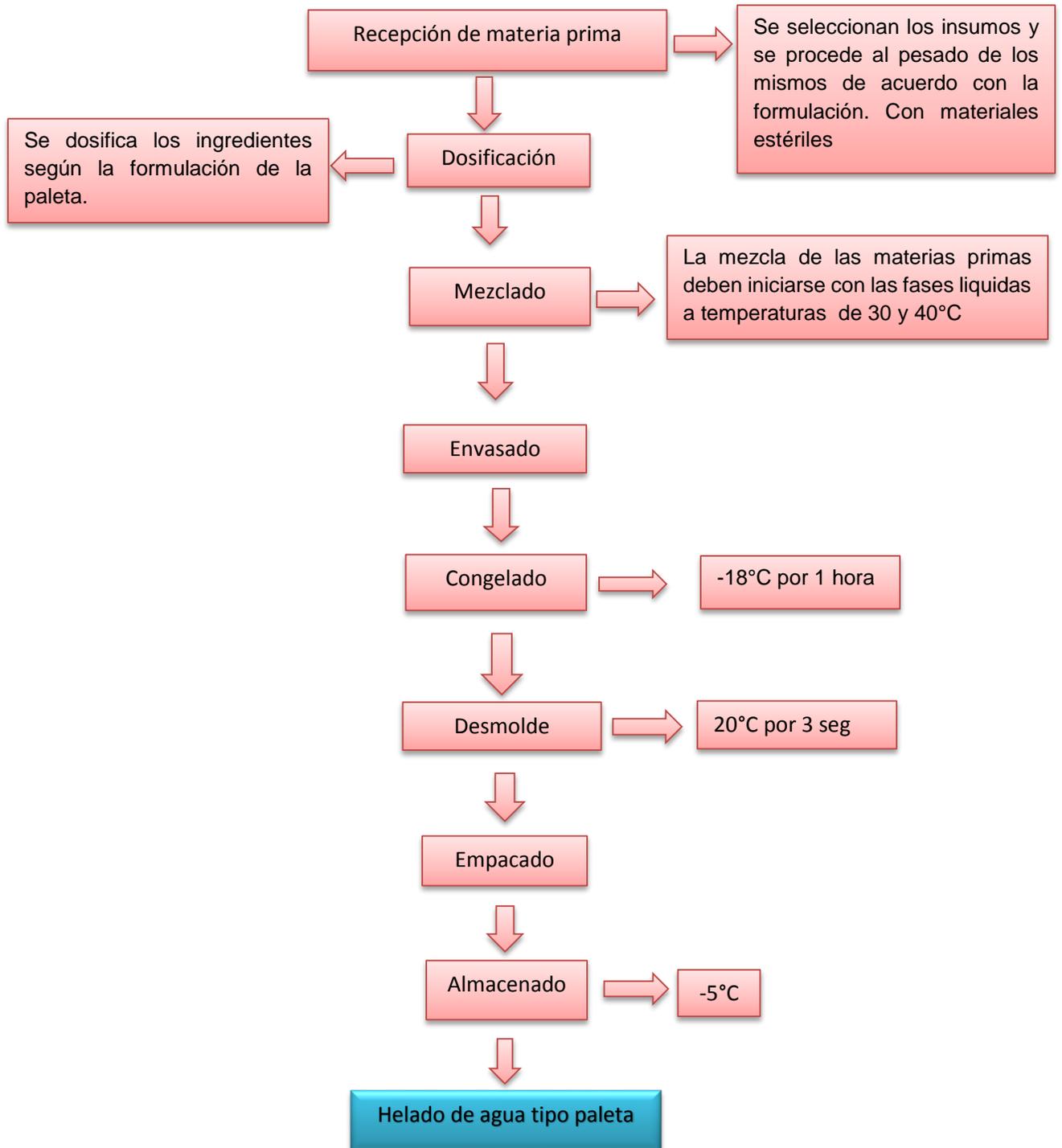
<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Variación</b>
CMC	0.5 gr	X
Ácido cítrico	0.1 gr	X
Edulcorante	0.4 gr	X
Sales de Rehidratación Oral	100 cc	
Saborizante	0.044 cc	X
Probióticos	5 cc* (2 billones UFC)	

**Tabla 4. Descripción de ingredientes de la formulación paleta No. 3**

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Variación</b>
CMC	1 gr	X
Ácido cítrico	1.2 gr	X
Edulcorante	0.8 gr	X
Sales de Rehidratación Oral	100 cc	
Saborizante	0.05 cc	X
Probióticos	5 cc* (2 billones UFC)	

\*Recomendación para Acción Reconstituyente de Flora Intestinal

**Figura 1. Flujograma de elaboración de las mezclas de la paleta**



**Evaluación Físicoquímica.** Se realizaron pruebas de las características físicoquímicas de paletas de agua, los requisitos como: sólidos totales con la indicación de la NTC 4979:2001, el peso/volumen, mediante el método indicado en la AOAC 33.8.01 (968.14), se realizó a dos temperaturas para mayor validación y pH.

**Evaluación microbiológica.** Se realizaron análisis microbiológicos como recuento de microorganismos *Mesófilos* se efectuara con la NTC 4919, *recuentos de Coliformes* que se efectuaron de acuerdo a la NTC 4458:1998, *recuento de Escherichia coli* que se efectuaron de acuerdo a la AOAC 17.3.08 (983.25), *recuento de Staphylococcus áureus coagulasa positiva* que se efectuó de acuerdo NTC 4779. Se realizó prueba de supervivencia o proliferación del probiótico *Bacillus clausii* al día “0” y posteriormente al día 30, luego de ser almacenada a temperatura de -4°C se efectuara con la NTC 4679.

**Evaluación sensorial:** Se realizaron pruebas sensoriales de tipo hedónicas faciales en función al sabor, con panelistas inexpertos, niños preescolares entre edades de 3 a 5 años, la escala consta de tres puntos con caracterizaciones faciales (Anexo 1). Se asignó cada punto con la siguiente calificación: uno “1” para la característica: odio, dos “2” para la característica de: indiferencia y tres “3” para la característica de: me encanta. Una vez, llevada a cabo la evaluación sensorial se procedió a analizar los resultados mediante el método Tukey utilizando el análisis de varianza (ANOVA) con una  $p: <0,5$ .

## **Población y Muestra**

La muestra es de 30 niños(a) de 3 a 5 años de edad, matriculados en el colegio Liceo Bolívar sede 11 de noviembre, barrio canapote, de la ciudad de Cartagena de Indias, cuya participación fue debidamente autorizada por sus padres o responsables (Anexos 2). Se obtuvo la aprobación del Comité de Ética en Salud de la Universidad del Sinú, Elías Bechara Zainúm (Anexo 3). El estudio se llevó a cabo mediante el modelo de escala hedónica facial propuesta por Morí en 1993<sup>52</sup>, adaptada para tres puntos para su uso con preescolares (odio (1), indiferencia (2) y me encanta (3), posteriormente se tabularon los puntos asignados y se analizaron con la prueba estadística ANOVA para determinar que paleta tuvo mayor aceptación para el consumidor. Para la evaluación del juicio de aceptación o rechazo, la prueba se realizó en la escuela pública Liceo Bolívar sede 11 de noviembre de la ciudad de Cartagena de Indias.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Análisis fisicoquímicos:

En la tabla N°5 se muestra los resultados de los análisis fisicoquímicos de la paleta de sales de rehidratación oral con cepa probiótica *B. clausii*. Se realizó en el Laboratorio de Calidad Gerco, de la ciudad de Cartagena de Indias. Ver (anexo 7) se encontró: el pH se obtuvo a partir de un peachimetro calibrado, con un valor de: 3.31 (acido), la densidad o (peso/volumen) se obtuvo a partir de un picnómetro y balanza, se tomó a dos temperaturas a 20°C con un peso/volumen de: 1.0378 gr/cm<sup>3</sup>, y siguiente a una temperatura de 25°C con un peso/volumen de: 1.0367 gr/cm<sup>3</sup>, valor comparado con la densidad de la materia prima de la paleta, CMC: 1.59 gr/cm<sup>3</sup> <sup>53</sup> y Ácido cítrico: 1.66 gr/cm<sup>3</sup> <sup>54</sup>. Los grados Brix se obtuvo a partir de un refractómetro, este estudio mide el cociente total de la sacarosa disuelta en un líquido, sin embargo las formula de la paleta de sales de rehidratación oral no contiene azucares en forma de glucosa por el contrario este monosacárido es remplazado por un edulcorante artificial (sucralosa), por lo cual al momento del análisis representa valores por debajo del mínimo 15% establecido por la NTC 1239.

**Tabla N°5.**  
**Análisis Fisicoquímicos de la paleta de SRO con *Bacillus clausii***

Resultados Del Análisis Fisicoquímico			Mínimo establecido	
Formula N° 1. Paleta número 1.	° Brix	3.9 %		15 %
	pH	Inicia: 4	Final: 3.31	
	Peso/ Volumen	T°20: 1.0378	T°25: 1.0367	

## 8.2 Análisis microbiológicos:

Se realizó prueba en el laboratorio CONAMFI, ver (Anexos 5), de la ciudad de Cartagena, y de acuerdo a los resultados obtenidos microbiológicos en la tabla N°6 en los recuento de *Mesófilos*, *Coliformes*, *E. coli* y *Staphylococcus áureus coagulasa positiva*, se encontró dentro del límite máximo permisible para indicar nivel de buena calidad establecido en la NTC 1239 del 2002.

Se realizó prueba microbiológica del *Bacillus clausii*, al día cero y a los treinta días posteriores de su congelación, en el Laboratorio Microbiológico de Calidad de Alimentos de la Universidad de San Buenaventura de la ciudad de Cartagena de Indias, ver (Anexo 6). Los resultados arrojaron que la paleta de SRO con *Bacillus clausii*, presentó menos de 100 unidades formadoras de colonia (UFC) por gramos de producto terminado, aspecto que no cumple con la resolución 3096 del 2007, que el producto sea considerado fuente de probiótico debe tener 1,000, 000 de UFC por gramos de producto terminado, al igual no cumple con la cantidad establecida, 2 billones, para realizar su acción reconstituyente de la flora intestinal.

**Tabla N°6**  
**Análisis microbiológico de la paleta de SRO con *Bacillus clausii***

Descripción de análisis Microbiológico	Fecha de elaboración	Fecha de toma de la muestra	Resultados (UFC/g)	Parámetros que exige la NTC 1239 (UFC/g)
<i>Recuento de microorganismos mesófilos</i>	20/03/2018	26/03/2018	0 UFC / ml	10.000
<i>Recuento de Coliformes</i>	20/03/2018	26/03/2018	0 UFC / ml	100
<i>Recuento de E. coli</i>	20/03/2018	26/03/2018	0 UFC / ml	<1
<i>Recuento de Staphylococcus áureus coagulasa positiva.</i>	20/03/2018	26/03/2018	0 UFC / ml	100
<i>Bacillus clausii (día cero)</i>	20/03/2018	20/03/2018	<100 UFC	1,000,000
<i>Bacillus clausii (30 días)</i>	28/02/2018	20/03/2018	<100 UFC	1,000,000

### 8.3 Análisis sensorial:

Se realizaron pruebas sensoriales hedónicas faciales a 30 niños y niñas, la prueba tuvo lugar en el curso de preescolar del colegio Liceo Bolívar sede 11 de noviembre de la ciudad de Cartagena de Indias; la supervisión de la evaluación estuvo a cargo de la docente Perla García y la docente Nubia de Ávila personal externo a la investigación, se realizó a las 3 pm hora, para controlar los aspectos de hambre y saciedad y minimizar errores. Ver (Anexos 4) fotográfico de la prueba hedónica.

Se realizó prueba estadística ANOVA con una p: <0,5, para la ponderación se tuvo en cuenta el valor asignado (1,2 y 3) a la cualidad (odio, indiferencia y me encanta) multiplicado por la cantidad de alumnos que asigno el valor a cada paleta, divididos en el total de alumnos encuestado. Como se muestra en la tabla N°7 y los resultados estadísticos de la desviación estándar en la tabla N°8.

**Tabla N°7**  
**Ponderación de la Prueba Hedónica Facial**

Calificación (puntaje)	Paleta 1		Paleta 2		Paleta 3	
	#	%	#	%	#	%
Odio (1)	3	10	6	20	4	13.3
Indiferencia (2)	2	6.6	1	3.3	0	0
Me encanta (3)	25	83.3	23	76	26	86.6
Puntaje promedio	2.73		2.56		2.63	

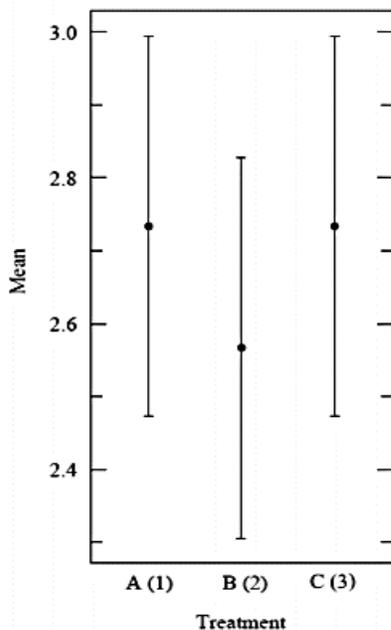
**Tabla N°8**  
**Resultados estadísticos de la desviación estándar de la paleta**

Muestra	Calificación
Paleta 1 (A)	2.7333 ± 0.63
Paleta 2 (B)	2.5666 ± 0.81
Paleta 3 (C)	2.6333 ± 0.85
Total	79.332

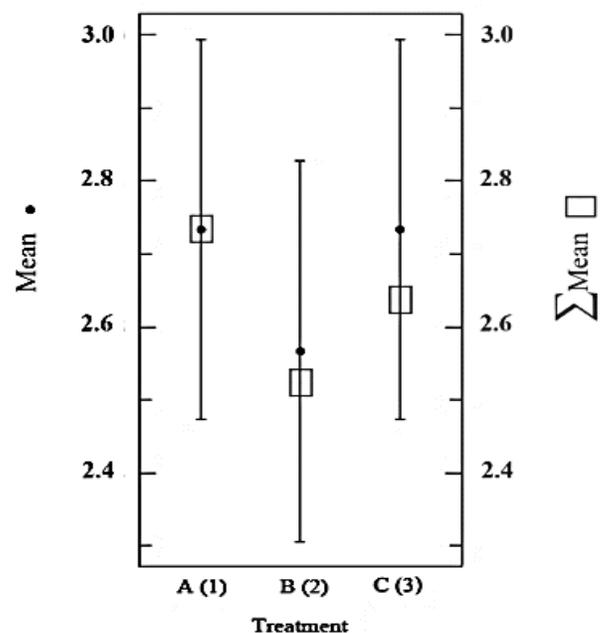


Al realizarse la prueba ANOVA para comprar las tres muestras planteadas anteriormente, se evidencia una diferencia estadísticamente significativa entre las tres muestra con una  $p < 0,5$  bajo el supuesto que la probabilidad para asumir la hipótesis nula fuera de 0,59. Sin embargo, al observar las medias de cada grupo, logra apreciarse una igualdad en la muestra A (paleta 1) y C (paleta 3)  $n=2,7333$  ( $n=$  valor de la ponderación ver tabla 8), una media superior a la muestra B (paleta 2)  $n= 2,566$ ; lo que demuestra mayor preferencia, de la población encuestada, por la muestras A (paleta 1) y C (paleta 3). **Véase grafica 1.**

Por otra parte, si se realiza una comparación y correlación entre la desviación estándar de valoraciones de cada muestra, es observable la preferencia por la muestra A (paleta 1) sobre la muestra B (paleta 2) y C (paleta 3), lo que permitirá la selección de esta como la de mayor aceptación en la población evaluada. **Véase grafica 2.**



**Gráfica 1** Medias de muestras A (1), B (2) y C (3) con rangos de significancia 95%.



**Gráfica 2** Medias de muestras A (1), B (2) y C (3) con rangos de significancia 95%, versus sumatorias o promedios de valoraciones de cada muestra.

## 9. DISCUSIÓN

**9.1 Discusión de análisis fisicoquímicos:** en una investigación en Guatemala del desarrollo de cuatro fórmulas de helados a base de agua con bajo contenido de azúcar y enriquecido con vitamina C, para la paleta de arándano y paleta de tamarindo, se encontró valores fisicoquímicos muy parecidos a la investigación propuesta, con pH de 2 hasta 6, y una densidad de 1.1769 para la paleta de arándano y 1.036 para la paleta de tamarindo, utilizando como edulcorante sucralosa a 0.4 %<sup>83</sup>.

**9.2 Discusión de la prueba microbiológica** en el estudio se observó la supervivencia del *B. clausii* como fuente de probiótico a una paleta de sales de rehidratación oral, en condiciones adversas con temperaturas de congelación y con un pH ácido. Se resalta que la presente investigación es la única en incorporar el *B. clausii* a una matriz alimenticia, basándonos en artículos similares de creación de paletas de agua, alimentos funcionales e investigaciones de él mismo.

La biotecnología ha utilizado agentes microbianos como suplemento en alimentos entre los géneros más utilizados son *Bifidobacterium*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Laeuconostoc*, *Pediococcus*, *Bacillus* y muchos otros están incluidos en la lista<sup>59</sup> en productos lácteos, kimchi, alimentos fermentados como soja y carne<sup>60</sup> etc... ya que estos microbios aportan un atributo al alimento en forma de aroma, sabor y valor nutricional. Su función catalítica se debe al contenido

de glucosa presente en el alimento, la lactosa presente en los productos lácteos y la sacarosa en las frutas, los sacáridos otorgan el sustrato ideal y le dan la habilidad de crecer a los probióticos<sup>72</sup> Los probióticos ejercen múltiples roles que van desde el simple bloqueo físico para microorganismos patógenos, hasta la modulación de respuestas inmunitarias para controlar la presencia de otros microorganismos como bacterias y virus<sup>57</sup>, hoy en día son motivos de interés científico e industrial.

La incorporación de los probióticos se puede realizar bajo técnicas muy diversas: simple agregado al producto, o buscando un medio de proyección a los microorganismos como en el caso de microencapsulación en una matriz variable (carragenina, alginato, goma, etc.) o por impregnación al vacío en sustrato con estructura sólida porosa manteniendo su frescura y apariencia<sup>61</sup>.

En cuanto a los resultados esperados del recuento de *B. Clausii*, investigaciones previas señalan las ventajas de soportar temperaturas bajas<sup>82,62</sup>, aunque no se señalaba temperatura mínima permisible, ser estrictamente aeróbico que tolera el medio alcalino, altamente resistente a condiciones físicas y químicas adversas, sin embargo presenta una temperatura óptima de crecimiento 40°C y pH 9,0<sup>63</sup> además su farmacocinética demuestra que tiene afinidad por sustancias o medios alcalinos, y durante su estado esporulado resiste el medio ácido artificial por lo menos 2 horas a una temperatura de 37°C<sup>64</sup>. Esta bacteria que forma spora es estable al calor y puede almacenarse a temperaturas ambientes sin perder sus propiedades<sup>64</sup>, temperatura inferiores a 30°C advierte recomendaciones de la Enterogermina<sup>65</sup>. Sin embargo la formación de esporas lo hace resistente a las condiciones ácidas del

estómago y por lo puede sobrevivir a su tránsito al intestino, en su forma farmacéutica<sup>66, 67</sup>. La esporulación es un proceso complejo que da como resultado una célula modificada que puede sobrevivir en ambientes muy hostiles sin ningún consumo de nutriente, incluyendo desecación, radiación ultravioleta, temperaturas altas y extremas, ambientes hidratados e incluso muchos desinfectantes químicos durante meses o años<sup>20</sup>, la acción de encapsular que tiene el probiótico preserva sus beneficios, manteniéndose aislado del entorno hasta su liberación<sup>68</sup>.

Los resultados de la elaboración y el almacenamiento del helado batido, de una investigación en Nicaragua, presentaron disminuciones significativas, después del proceso de elaboración, son equivalente a la muerte de un 57% y un 64% de la población para el *Bifidobacterium lactis* y el *Lactobacillus acidophilus*. El descenso de la población microbiana de esta investigación está relacionado con factores como el choque frio, la formación de cristales, la desnaturalización de proteína e incorporación de oxígenos al medio.<sup>84</sup> la conducta de los dos microorganismos mencionados se comportó de la misma forma que la presente investigación, factores como temperatura determinan la supervivencia de los microorganismos.

El medio utilizado en el desarrollo de la paleta de SRO es de Manitol, Yema de huevo, Polimixima (MYP) Agar, a base de extracto de carne, peptona, manitol, cloruro de sodio y fenol rojo<sup>78</sup>, NTC 4679, Método Horizontal para el recuento de *Bacillus cereus* Técnica de Recuento de Colonias<sup>79</sup>, Este bacillus presenta las mismas características facultativas del *Bacillus clausii*. En la investigación de la

caracterización microbiológica y molecular del probiotico disponible comercialmente *Bacillus Clausii* en India y Pakistán utilizaron un agar Brain Heart Indusion (BHI) para el aislamiento y cultivo de bacterias<sup>80</sup> medio que obtiene los nutrientes de la infusión de cerebro y corazón, la peptona y la glucosa. La peptona y la infusión son fuente de nitrógeno orgánico, carbono, azufre, vitaminas y sustancias trazas. La glucosa es la fuente de carbohidratos que los microorganismos utilizan mediante fermentación<sup>81</sup>. Con lo que se pretende resaltar que el medio en la presente investigación es similar al empleado en la investigación anterior.

Aunque a pesar de los búsqueda exhaustiva de articulo no hay ningún estudio que demuestre la viabilidad del *Bacillus clausii* en alimentos como fuente de probiotico, por otro lado se tuvieron en cuenta diferentes artículos que discuten la utilidad del probiotico: “En efectos sobre enfermedades, como en proceso de crecimiento óseo”<sup>59</sup>. “Evaluación de la seguridad del *Bacillus clausii*”<sup>13</sup>, “Uso del bacillus en aplicaciones de probióticos intestinales humanos”<sup>82</sup> y en “Caracterizaciones microbiológicas y moleculares de probiotico comercialmente disponible que contiene *Bacillus clausii*”<sup>79</sup>. Supervivencia y persistencia del *Bacillus clausii* en el tracto gastrointestinal humano después de la administración oral como fórmula probiótica a base de esporas<sup>77</sup>.

**9.3 Discusión de la prueba hedónica:** La evaluación de la preferencia alimentaria en la infancia por medio de escalas desarrolladas para adultos, puede generar distorsión en los resultados obtenidos, al considerar la diferencia entre la percepción

del sabor de diferentes mezclas, o por emplear instrumentos inadecuados, o la madurez necesaria para comprender las instrucciones de la forma para que el degustador exprese correctamente su grado de satisfacción<sup>55</sup>.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la prueba hedónica facial se encuentra que la paleta número uno y tres tuvieron mayor aceptabilidad en correlación con el ítem “me encanta”, sin embargo la paleta número uno obtuvo menor votación para el ítem “odio”, se puede inferir que las formulaciones que presentan un nivel alto de edulcorante y acidificantes (ácido cítrico), mostraron un nivel alto de satisfacción para los catadores, se discute las propuesta de cual paleta le gusto más a los panelistas, si aquella que tuvo más votos por me gusta o aquella que resulto con menor votación en odio, anotando que la diferencia de votos “me encanta” entre la paleta uno y tres solo en uno, al igual que la cantidad en votación de “odio”.

Los productos enfocados hacia la población infantil imponen una gran reto para la industria alimentaria, porque más allá de los aportes nutricionales que esté pueda brindar al infante la presentación de producto, el empaque, la forma, la textura, el color entre otros atributos geométricos y de textura, juegan un papel preponderante cuando el mercado objetivo es la población infantil<sup>56</sup>.

## 10. CONCLUSIONES

Se desarrolló una paleta de sales de rehidratación oral con el cumplimiento del modelo de la OMS, adicionada con una cepa probiótica en la cantidad recomendada para acción reconstituyente de la flora intestinal y que al mismo tiempo estuviera dentro de los parámetros establecidos por la ley colombiana.

Se concluyó que la sacarosa representa un valor importante en los exámenes fisicoquímicos como en los grados brix y densidad, por el contrario por ser una paleta de sales de rehidratación oral sin adición de azúcar, los parámetros obtenidos fueron desiguales al compararlos con la NTC 1239 del 2002.

La paleta a base de agua presenta una mejor calidad microbiológica debido a que su composición no presenta un medio de cultivo adecuado para la gran variedad de microorganismos. Las bases de las paletas con contenido de frutas, leche y las malas prácticas de manufactura son el origen de la contaminación por microorganismos detectadas en las paletas.

Los resultados de menos 100 UFC *B. clausii* no fueron significativos para la presente investigación, se especula que los factores que influyeron en el microorganismo son la temperaturas de congelación, el agar no fue selectivo y el pH ácido, estos atributos no aportaba el medio ideal para el probiotico. De igual

forma esta es la primera investigación con el *Bacillus clausii* como fuente de probiótico en una matriz alimentaria.

La formulación número uno tuvo más aceptación que las otras dos formulaciones propuestas, con una aceptación 83% por parte de los estudiantes del colegio Liceo Bolívar sede 11 de noviembre, en cuanto a la característica del sabor. Se descartan las otras dos formulaciones por motivos de rechazo por parte de los panelistas. Se determinó que la implementación de más ingredientes acidificantes y edulcorantes, favorecen y contribuye a un mejor sabor en el desarrollo de las paletas.

## 11.RECOMENDACIONES

1. Mayor investigación sobre el *Bacillus clausii* su estado de esporulación, con relación en adicción a los alimentos.
2. Realizar estudios de las condiciones de supervivencia del *Bacillus clausii* y estandarizar los métodos de impregnación en una matriz alimenticia.
3. Investigar sobre la fortificación con probiótico a los productos de sales de rehidratación oral en el mercado, para aumentar su valor nutricional y dar un alimento funcional al consumidor.
4. Este estudio sirve de base para que se tenga en cuenta condiciones como pH, ya que permite sentar un precedente, como punto de partida para futuras investigaciones.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Anónimo. Alimentaria. [documento on-line] [Citado el: 15 de abril de 2018.]  
disponible en:  
[http://www.alimentosecuador.com/descargas/bt4e70c3d826d2d\\_estabilizantes\\_obsidian.pdf](http://www.alimentosecuador.com/descargas/bt4e70c3d826d2d_estabilizantes_obsidian.pdf).
2. A.S. Akalin, D Erişir. Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. *Journal of Food Science*, (2008), P:73 (4)
3. A.S. Akalin, C. Karagözlü, G. Ünal. Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. *European Food Research and Technology*, (2007), 227 (3).
4. C.W. Lim, M.H. Norziah, H.F. Lu. Effect of flaxseed oil towards physicochemical and sensory characteristic of reduced fat ice creams and its stability in ice creams upon storage. *International Food Research Journal* (2010), pp. 393–403.
5. C.A. Padiernos, S-Y Lim, B.G. Swanson, C.F. Ross, S. Clark. High hydrostatic pressure modification of whey protein concentrate for use in low-fat whipping

- cream improves foaming properties. *Journal of Dairy Science* (2009), 92 (7) pp. 3049–3056.
6. Cadena, A.G. Cruz, J.A.F. Faria, H.M.A. Bolini. Reduced fat and sugar vanilla ice creams: Sensory profiling and external preference mapping. *Journal of Dairy Science* (2012), 95 (9) pp. 4842–4850.
  7. D. Sun-Waterhouse, L. Edmonds, S.S. Wadhwa, R. Wibisono. Producing ice cream using a substantial amount of juice from kiwifruit with green, gold or red flesh. *Food Research International* (2013),, 50 (2) pp. 647–656.
  8. J.M. Chauhan, S.-Y. Lim, J.R. Powers, C.F. Ross, S. Clark. Short communication: Low-fat ice cream flavor not modified by high hydrostatic pressure treatment of whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science* (2010), 93 (4) pp. 1452–1458.
  9. K.G. Friedeck, Y. Karagul-Yuceer, M. Drake. Soy protein fortification of a low-fat dairy-based ice cream. *Food Chemistry and Toxicology* (2003),, 68 (9) pp. 2651–2657.

10. Lum, A. K., & Albrecht, J. A. (2008). Sensory evaluation of ice cream made with prebiotic ingredients. *RURALS: Review of Undergraduate Research in Agricultural and Life Sciences*, 3(1) (article 4).
  
11. Posada, Liliana. Selección y evaluación de un estabilizante integrado de gomas sobre las propiedades de calidad y reológicas en mezcla para helado. Medellín: s.n. 2009.
  
12. P.N. Rossa, V.M. Burin, M.T. Bordignon-Luiz. Effect of microbial transglutaminase on functional and rheological properties of ice cream with different fat contents. *LWT – Food Science and Technology* (2012), 48 (2) pp. 224–230.
  
13. Suvarna G, Lakshmi, N Jayanthi, M Saravanan, M Sudha. Safety Assesment Of *Bacillus Claussi UBBC07*, a spore forming probiotic. Elsevier, India 2017 1 (p10).
  
14. Nota descriptiva N°330, boletín informativo de la Organización Mundial de La Salud (OMS). Enfermedad diarreica. {Documento on-line} 2013 (consultado 9 marzo 2017); 1(1p). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/>

15. Carranza García, Álvaro E. Montijo Vázquez, Lourdes. Blogs informativo Mortalidad infantil. {Documento on-line} 2007 (consultado 15 marzo 2017); 1(1p). Disponible en: <http://noti-infantez.blogspot.com.co/>
16. Guía para la atención de brotes de ETA (enfermedades transmitidas por alimentos). Ministerio de Salud. Secretaria Distrital de Salud de Bogotá. {Documento on-line} (consultado 15 abril 2018); 4(38p). Disponible: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Todo%20Emergencias/Guia%20Atenci%C3%B3n%20de%20Brotos%20ETA1%20Vr%204.pdf>.
17. Castilla Pabón. Orlando. Profesional especializado. Equipo inmunoprevenible INS, boletín informativo del Ministerio de Salud. Centinela en enfermedad diarreica aguda por rotavirus. {Documento on-line} 2014 (consultado 9 marzo 2017); 3(39p). Disponible en: [http://www.dadiscartagena.gov.co/images/docs/saludpublica/vigilancia/protocolos/pro\\_eda\\_rotavirus\\_2014.pdf](http://www.dadiscartagena.gov.co/images/docs/saludpublica/vigilancia/protocolos/pro_eda_rotavirus_2014.pdf).
18. Perfil Epidemiológico Enfermedades Interés en Salud Pública 2015. Vigilancia en salud pública departamento administrativo distrital de salud- DADIS, Cartagena de Indias D.T. y C. {Documento on-line} (consultado 15 abril 2018); 103(180p). Disponible:

[http://www.dadiscartagena.gov.co/images/docs/saludpublica/perfil\\_epidemiologico\\_2015\\_1.pdf](http://www.dadiscartagena.gov.co/images/docs/saludpublica/perfil_epidemiologico_2015_1.pdf).

19. Evaluación y Manejo inicial de la deshidratación en niños. ClinicalKey, 2014. Disponible en: [https://bibliotecavirtual.unisinucartagena.edu.co:2059/#!/content/medical\\_topic/21-s2.0-2001277?scrollTo=%23heading2](https://bibliotecavirtual.unisinucartagena.edu.co:2059/#!/content/medical_topic/21-s2.0-2001277?scrollTo=%23heading2).
  
20. M Schultz, JP Burton, RM Chanyi: La microbiota en fisiopatología gastrointestinal. Capítulo 11-uso de Bacillus en aplicaciones de probióticos intestinales humanos. [Documento on-line] 2017. [consultado 15 de abril de 2018] p: 119-123 disponible en: <https://bibliotecavirtual.unisinucartagena.edu.co:2065/science/article/pii/B9780128040249000112>.
  
21. Sales para Rehidratación Oral (Documento on-line); 2018 (consultado 21 de abril del 2018). Disponible en: <http://www.roux-ocefa.com/medicinales/sro.shtml>
  
22. Informe del Grupo de Trabajo 1 de la Comisión sobre Macroeconomía y salud. Salud, crecimiento económico y reducción de la pobreza. {Documento on-line} 2003 (consultado 21 abril 2018); 13(136p). Disponible en

<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/165989/92%2075%2032441%207.pdf;jsessionid=CCCDE83EB3E4CA074322197175CE66F4?sequence=1>.

23. Alimentos transgénicos, MedlinePlus; 2018 (documento on-line) (revisado el 21 de abril de 2018). Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002432.htm>
24. Guía de Atención de la Enfermedad Diarreica Aguda. Ministerio de Salud, Dirección General de Promoción y Prevención (Colombia). {Documento on-line} (consultado 11 abril 2018); 5(33p). Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/17Atencion%20de%20EDA.PDF>
25. Carlos-Carranza, Juliana-Gómez, Laura-Wilches. Rehidratación en el paciente pediátrico. Rev.fac.med vol 24.Nº 2. Colombia (Bogotá) 2016;7(2).
26. Alberto Ramos. Mercedes Monteoliva. Fatima E. Nader. Probiotico y salud. (documento on-line). (consultado el 28 de abril de 2018) disponible en: <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788499690513.pdf>.
27. Maria Guadalupe-Miranda Novales, Probiotics and micronutrients: ¿Are they useful for the treatment of acute diarrhea?. Bol. Med. Hosp. Infanti. Mex. Vol. 65

nº3. Mexico (D.F) 2008:8(3).

28. Claudia-Manzano, Diana-Estupiñan, Elpidia-Poveda. Clinical effects of probiotics: what does the evidence says. Rev.chil.nutr.vol 39, N°1, Colombia (Bogota) 2012:7(2).

29. Crónica ONU, Los Objetivos de Desarrollo Sostenible y un 2030 más saludable. (Disponible on-line); 2015, (consultado 21 de abril de 2018). Disponible en: <https://unchronicle.un.org/es/article/objetivo-3-los-objetivos-de-desarrollo-sostenible-y-un-2030-m-s-saludable>.

30. Resolución 3096. Ministerio de la protección social. DECLARACION DE PROPIEDAD DE OTRAS FUNCIONES. Artículo 20 {Documento on-line} 2007 (consultado 15 marzo 2017); 14(19p). Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/RESOLUCI%C3%93N%203096%20DE%202007.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/RESOLUCI%C3%93N%203096%20DE%202007.pdf).

31. García. Beatriz El confidencial. Blogs informativo sobre un científico ruso encuentra el elixir de la vida eterna. {Documento on-line} 2015 (consultado 15 marzo 2017); 1(1p). Disponible en: [http://www.elconfidencial.com/alma-corazon-vida/2015-10-02/anatoli-brouchkov-rusia-bacteria-ciencia\\_1044527](http://www.elconfidencial.com/alma-corazon-vida/2015-10-02/anatoli-brouchkov-rusia-bacteria-ciencia_1044527).

32. Tissier,H. Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora*. Edición 1ra, Vol 3. Berlin (Dahlem), Alemania 1984 3(11-28).
33. Pardo S, Galvagno M, Cerrutti P, Estudio de la viabilidad y vitalidad frente al congelado de la levadura probiótica *Saccharomyces boulardii*: efecto de preacondicionamiento fisiológico. Edición 1ra. Vol 26. Buenos Aires, Argentina. Revista iberoamericana de micología 2009. 1(6p)
34. Canani RB, Cirillo P, Terrin PG, Cesarano L, Spagnulo I, De Vincenzo A. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. Edición 1ra. Italia BMJ 2007 1(336)
35. Mejía Salas H. Sales de rehidratación oral de osmolaridad reducida y otras sales de rehidratación. Rev.bol.ped. v.45 Bolivia (La paz) 2006. P: 1(5).
36. A. Díez-Gandía, M. Aroca Ajenjo, A.B. Gonzalez Navalon, R, Ballestero Fernandez, A. Ballestero Sanz y J. Diez Domingo. Palatabilidad de las soluciones de rehidratación oral en niños sanos de 6 a 9 años. Edición 1ra. Valencia, España. An Pediatr 2009. 3(5p)
37. Norma Técnica Colombiana 1239. Boletín informativo del Ministerio de Salud. {Documento on-line} 2011 (consultado 13 febrero 2017); 5(21p). Disponible en:

<https://es.scribd.com/doc/58309021/NTC-1239-Helados-y-Mezclas-Para-Helados>.

38. Urdaci MC, Bressollier P, Pinchuk I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. Edición 1ra. Gradigna, Francia *J. Clin. Gastroenterol*; 2004. Pag 38 (90).
39. Schrezenmeir, J. de Vrese M. Probiotics, prebiotics and synbiotics-approaching a definition. Edición 1ra. Alemania. *Am J Clin Nutr*; 2001. Pag (5).
40. *New formulation of oral rehydration salts (ORS) with reduced osmolarity*. The United Nations Childrens' Fund Supply Division, {Documento on-line} 2004 (consultado 20 de marzo 2017); 1(1p). Disponible : <http://rehydrate.org/ors/low-osmolarity-ors.htm>.
41. M. Maria Jose. Emulgente y Estabilizante. El aprendiz del Heladero. Blogs Informativo. {Documento on-line} 2014 (consultado 18 de marzo 2017); 1(1p). Disponible: <http://aprendizdeheladero.blogspot.com.co/2014/06/emulgentes-y-estabilizantes.html>.
42. Real Academia Española. Boletín informativo. Definición de conceptos, {Documento on-line} 2004 (consultado 20 de marzo 2017); 1(1p). Disponible

<http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=pectina>.

43. Real Academia Española. Boletín informativo. Definición de conceptos, {Documento on-line} 2004 (consultado 21 de marzo 2017); 1(1p). Disponible: <http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=saborizante>
44. Real Academia Española. Boletín informativo. Definición de conceptos, {Documento on-line} 2004 (consultado 21 de marzo 2017); 1(1p). Disponible: <http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=edulcorante>.
45. Historia del helado, Blog Sani saporini, 2012. (documento on-line) (consultado 05 de marzo del 2017). Disponible en: <http://www.sanisapori.es/Historia%20del%20helado.html>.
46. Döderlein, A. Das Scheidensekret d seine Bedeutung für das Puerperalfieber. (The vaginal transsudate and its significance for childbed fever). Edición 2da. Alemania Centralblatt für Bacteriologie. 1892. 11(700p).
47. Metchnikoff E. La Prolongación De La Vida. Los Estudios Optimistas. Edición 1ra. Londres: Butterworth-Heinemann, 1907. 15 (65p)

48. Marta Martínez López, Sonsoles Pacho Jiménez y Susana Vicario Gonzales. Probiótico: potencial para prevenir y curar. R.C.C.V. 2007 [consultado el 26 de marzo, 2018]; Volumen (1): pág (2) disponible en: <https://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/viewFile/RCCV0707230573A/22744>.
49. Resolución número 8430 de 1993. Ministerio de Salud. {Documento on-line} 1993 (consultado 15 de abril 2017); 1(19p). Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/RESOLUCION-8430-DE-1993.PDF>
50. Codex Alimentario. Boletín informativo de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (Documento on-line) 1963 (consultado 17 de mayo de 2017); 15 (23p) disponible en: <file:///C:/Users/equipo2/Downloads/cha-codex-alimentario.pdf>
51. Norma Técnica Colombiana 1239. Boletín informativo del Ministerio de Salud. {Documento on-line} 2011 (consultado 17 de mayo 2017); (21p). Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/58309021/NTC-1239-Helados-y-Mezclas-Para-Helados>.

52. Almeida TC, Hough G, Damásio MH, da Silva MAAP. Avances en análisis sensorial. São Paulo, Ed. Varela, 1999.
53. Densidad del CMC, (Documento on-line) (consultado el 28 de abril de 2018).  
Disponible en: <https://www.cosmos.com.mx/wiki/carboximetilcelulosa-de-sodio-c-m-c-cpx7.html>.
54. Densidad del Ácido Cítrico. (Documento on-line) (consultado el 28 de abril de 2018).  
Disponible en:  
<https://www.google.com.co/search?q=densidad+acido+citrico&oq=densidad+Acido+citri&aqs=chrome.1.69i57j0l5.8672j1j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>.
55. Semiramis Martins Alvares D, Julian Zapico T, Jose Augusto de Aguilar Carrazedo T. Adaptación de la escala hedónica fácil para medir preferencias alimentaria de alumnos de pre-escolar. Scielo [Internet]. Marzo[27, marzo de 2018]; Vol. 35 (38-42p): Disponible en:  
[https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182008000100005](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182008000100005).
56. Garcia B, Yulieth, Muñoz Yudy, Urrutia Wilmer. Degree of preference of cookies made in the province of Pamplona, North of Santander. 2010 Colombia (Pamplona), [consultado 02, abril de 2018]; Vol. 8 (28-33p): Disponible en:

[http://ojs.unipamplona.edu.co/ojs\\_viceinves/index.php/ALIMEN/article/view/446/445](http://ojs.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/ALIMEN/article/view/446/445).

57. Sanders, M. E. (2008). "Probiotics: definition, sources, selection, and uses". *Clinical Infectious Diseases*, 46 (2), S58-S61; Soccol, C. R., De Souza, L. P., Spier, M. R., Pedroni, A. B., Yamaguishi C. T., De Dea, J., Pandey, A. y Vanete Thomaz-Soccol. (2010). "The Potential of Probiotics: A Review". *Food Technology and Biotechnology*, 48 (4) 413–434.
58. (Documento on-line) Boletín tecnológico: Alimentos funcionales con probióticos. 2014 pag15 (1-114) (Consultado el 22 de abril de 2018).
59. Joongjae Lee. Yong-Ik Jin. Jin-Cheol Jeong. Yoon Hyuk Chang. Youngseung Lee. Yoonhwa Jeong . Características probióticas de la cepas de *Bacillus* aislada de la salsa de soja tradicional coreana. *Ciencia y tecnología de los alimentos*. Vol 79.2017. pagina 518-524.
60. Martínez Valdivieso, R. (2007). *Simposium sobre Bacterias Probióticas*. IX Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de los Alimentos. 16 al 18 de Mayo de 2007. Isla de Margarita, Estado Nueva Esparta. Venezuela. En *Memorias del Congreso*.

61. Benoit F. Catherine D. Bruno P. Probiotics from research to market: the possibilities, risks and challenges. *Current Opinion in Microbiology*. Volumen 16, N° 3. 2013 pag 284-292.
62. Suvarna G, Lakshmi, N Jayanthi, M Saravanan, M Sudha. Safety Assesment Of *Bacillus Claussi UBBC07*, a spore forming probiotic. *Elservie, India* 2017 1 (p10).
63. Marcobal, MA Underwood, DA Mills. Determinación rápida de la composición bacteriana de productos probióticos comerciales por análisis de polimorfismo de longitud de fragmento de restricción terminal. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* , 46 (2008), pp. 608-611.
64. Hamid Y. Dar Sabhashi pal, Prashant Shukla, Pradyumna K. Mishra, Geetanjali B. Tomar Naibedya Chattopadhyay y Rupesh K Srivastava. *Bacillus Clausii* inhibits bone loss by skewing Treg-Th17 cell equilibrium in postmenopausal osteoporotic mice. *Nutrition*, Copyrigh 2018. Pag 15 (1-20).
65. Enterogermina, Sanofi aventis, (Documento on-line) 2018 (consultado el 23 de abril de 2018).
66. Barbosa TM, Serra CR, Regione RM, Woodward MJ, Detención de aislado del bacilo en el tracto gastrointestinal de los pollos de engorde. *Appl Environ*

Microbiol                      2005                      pag                      71                      (968-978).

67. Spinosa MR, Braccini T, Ricca E, De Felice M, Morelli L. Sobre el destino de la espora *Bacillus ingeridas*. Resmicrobiol 2000 pag 151 (361-368).
68. Rodríguez YA, Rojas AF, Rodríguez-Barona S. Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias. Revista Biosalud 2016; 15(2): 106-115.
69. López A, Deladino L, Navarro A, Martino M. Encapsulación de compuestos bioactivos con alginatos para la industria de alimentos. Alimentech Ciencia y Tecnología                      Alimentaria                      2012;                      10:18–27.
70. Heidebach T, Först P, Kulozik U. Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells. Journal of Food Engineering 2010; 98:309–316.
71. Valero-Cases E, Frutos MJ. Effect of different types of encapsulation on the survival of *LactoBacillus plantarum* during storage with inulin and in vitro digestion. LWT - Food Science and Technology 2015; 64:824–828.
72. Keyra Leon, Huniades Urbina, Editza Sanchez, Abraham Abraham, Maria Artis. Productos y efectos. Vol 78. n° 4 2015. Pag 6 (1-9).

73. Tripathi MK, Giri SK. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods* 2014; 9:225–241.
74. Nielsen P, Fritze D, Priest G. Phenetic diversity of alkaliphilic *Bacillus* strains: proposal for nine new species. *Microbiology* 1995; 141: 1745–1761.
75. J. Drisko , B. Bischoff , C. Giles , M. Adelson , RV Rao , R. McCallum. Evaluación de cinco productos probióticos para las declaraciones de la etiqueta mediante extracción de ADN y análisis de la reacción en cadena de la polimerasa, *Cavar. Dis. Sci.* , 50 ( 2005 ) , pp. 1113 – 111.
76. SY Sul, HJ Kim, TW Kim, HY Kim. Identificación rápida de *LactoBacillus* y *Bifidobacterium* en productos probióticos utilizando multiplex PCR, *J. Microbiol. Biotechnol*, 17 (2007), pp. 490 – 495.
77. Ghelardi, E, Celandroni F, Salvetti, Gueye, Luppetti, Senesi S. Survival and persistence of *Bacillus Clausii* in the human gastrointestinal tract following oral administration as spore-based probiotic formulation. *Journal of Applied Microbiology* (2015). Pp 119 (2).

78. Medio de cultivo deshidratados (Documento on-line) (consultado el 21 de abril del 2018) disponible en: [http://www.oxoid.com/uk/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM0929&org=9&c=uk&lang=en](http://www.oxoid.com/uk/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0929&org=9&c=uk&lang=en).
79. Norma Técnica Colombiana 4679, Método horizontal para el recuento de *Bacillus Cereus* Técnica de recuento de colonias. (Documento on-line) 2018 (consultado el 23 de abril de 2018) disponible en: <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC4679.pdf>.
80. Vaina Patrone, Paola Molanari, Lorenzo Morelli. Caracterización microbiológica y Molecular de probióticos comercialmente disponibles que contienen *Bacillus Clausii* de India y Pakistán. Revista Internacional de Microbiología de Alimentos. Vol 237, 2016 página 92-97.
81. Instrucciones de uso-medios en placa listo para usar, BD Brain Heart Infusion. 2013 (Documento on-line) (consultado 21 de abril de 2018) disponible en: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8800>.
82. M. Schultz, JP Burton y RM Chanyi, Uso de *Bacillus* en aplicaciones de probióticos intestinales en humanos. ACADEMIC PRESS. 2017 pag 119-123.

83. Maria Hernandez G. Desarrollo de cuatro formulaciones de helado a base de agua con bajo contenido de azúcar y enriquecido con vitamina C. Facultad de Ciencia de la Salud, Licenciatura en Nutrición. 2014. (consultado 01 de mayo de 2018) disponible en: <http://biblio3.url.edu.gt/Tesario/2014/09/15/Hernandez-Maria.pdf>.

84. Alejandro corrales, Marjorie Henderson, Ileana morales. Sobrevivencia de microorganismo probióticos en helado batido Lactobacillus acidophilus y Bifidobacterium lactis en helado batido. Scielo, Chile 2007.

### 13. ANEXOS

#### Anexo 1. Escala Hedónica Fácil de Morí de 3 puntos.

 <p>UNIVERSIDAD DEL SINÚ Eliás Bechara Zainúm Seccional Cartagena</p>	
--	--

#### Prueba de aceptación de la alimentación escolar

Nombre: \_\_\_\_\_ Año: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Señala la carita que más representa lo que te pareció el \_\_\_\_\_



Odié

1



Indiferente

2



Me encantó

3

Escribe lo que más te gustó en la preparación: \_\_\_\_\_

Escribe lo que menos te gustó en la preparación \_\_\_\_\_

## Anexo 2. Modelo de Asentimiento Informado para Prueba Hedónica Facial.

### EL DESARROLLO DE UNA PALETA DE SALES DE REHIDRATACION ORAL ADICIONADA CON CEPAS PROBIÓTICAS DE BACILLUS CLAUSII

El propósito del estudio es el DESARROLLO DE UNA PALETA DE SALES DE REHIDRATACION ORAL ADICIONADA CON CEPAS PROBIÓTICAS DE BACILLUS CLAUSII. Posteriormente conocer la aceptación o rechazo del producto final, a través de una prueba hedónica facial, evaluado por la población de niños(a) de 3 a 5 años.

Hola mi nombre es DAYANNY BAENA, NATALY MUÑOZ Y KARELIS PEÑALOZA y somos estudiante de decimo semestre de la Universidad del Sinú Cartagena. Actualmente la escuela de Nutrición y Dietética está realizando un estudio para conocer acerca de la aceptación de una paleta de sales de rehidratación oral y para ello queremos pedirte que nos apoyes.

Tu participación en el estudio consistiría en la degustación de tres (3) opciones de paletas, luego se solicitará al niño que indique como se sintió al probar cada una de ellas, para su evaluación se presenta tres caras (*odio, indiferencia y me encanto*). Posteriormente será transcribirá los datos recopilados para realizar los análisis pertinentes a la investigación

Tu participación en el estudio es voluntaria, es decir, aun cuando tus papá o mamá hayan dicho que puedes participar, si tú no quieres hacerlo puedes decir que no. Es tu decisión si participas o no en el estudio. También es importante que sepas que, si en un momento dado ya no quieres continuar en el estudio, no habrá ningún problema, o si no quieres responder a alguna pregunta en particular, tampoco habrá problema.

Toda la información que nos proporcionas/ las mediciones que realicemos nos ayudarán a enriquecer el proceso en innovación de alimentos, una estrategia que buscar tener productos comunes con mayor valor nutricional. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus respuestas a los Instrumentos serán codificadas usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas

Esta información será confidencial. Esto quiere decir que no diremos a nadie tus respuestas (O RESULTADOS DE MEDICIONES), sólo lo sabrán las personas que forman parte del equipo de este estudio. (SI SE PROPORCIONARÁ INFORMACIÓN A LOS PADRES, FAVOR DE MENCIONARLO EN LA CARTA)

Si aceptas participar, te pido que por favor pongas una ( ) en el cuadrito de abajo que dice “Sí quiero participar” y escribe tu nombre.

Si no quieres participar, no pongas ninguna ( ), ni escribas tu nombre.  Sí quiero participar

Nombre: \_\_\_\_\_

Nombre y firma de la persona que obtiene el asentimiento:

\_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_

**EL DESARROLLO DE UNA PALETA DE SALES DE REHIDRATACION ORAL ADICIONADA CON CEPAS PROBIÓTICAS DE BACILLUS CLAUSII**

### **Anexo 3. Modelo de la Carta de Aprobación del Comité de Ética, de la Universidad del Sinú, E.B.Z**

**Cartagena de Indias D T y C. 20 de Febrero de 2018**

Señores:

COMITÉ DE ETICA EN INVESTIGACION

Universidad del Sinú Seccional – Cartagena

Ref: Proyecto estudiante **“DESARROLLO DE UNA PALETA DE SALES DE REHIDRATACIÓN ORAL ADICIONADA CON CEPAS PROBIÓTICAS DE BACILLUS CLAUSII”**

Respetados Señores:

Me permito presentar al comité de ética el consentimiento informado del estudio mencionado en la referencia, para ser sometido y aprobado en la próxima sesión ordinaria, el proyecto es desarrollado por Dayanny Baena García, Nataly Muñoz Osorios y Karelis Peñaloza Jiménez

Cordialmente

---

Dayanny Baena García

Nataly Muñoz Osorios

Karelis Peñaloza Jiménez

**Anexo 4. Fotografía de la Escala Hedónica Facial, Colegio Liceo Bolívar, sede 11 de noviembre.**



**ESTUDIANTES DE PREESCOLAR DEL COLEGIO LICEO BOLIVAR, SEDE 11 DE NOV.**



**Escala Hedonica Facial, Colegio Liceo Bolivar, sede 11 de Noviembre**



**Estudiante llenado el formulario**

## Anexo 5. Resultados microbiológicos de la *E. coli*, *Coliformes Totales*, *Mesófilos Aerobios* y *Staphylococcus Áureus*.

FECHA DE TOMA DE MUESTRA: 26 de marzo de 2018

DE: LABORATORIO CONAMFI PARA:  
KARELYS PEÑALOZA

ANÁLISIS SOLICITADO: Bacteriológico.

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PALETAS DE AGUA

PARÁMETROS	RESULTADO PALETA	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
Escherichia coli	0 ufc/mL	Satisfactorio	Satisfactorio
Coliformes totales	0 ufc/mL	Satisfactorio	Satisfactorio
Mesófilos aerobios	0 ufc/mL	Satisfactorio	Satisfactorio
Staphylococcus aureus	0 ufc/mL	Satisfactorio	Satisfactorio

### PROCEDIMIENTO:

1. Se sembró la paleta en su estado líquido en los medios de cultivo EMB, Plate Count, y Baird Parker (dilución 100) y se incubo por 24 horas a una temperatura de 35-37°C. Para obtener la muestra líquida se descongeló la paleta en un recipiente estéril (Figura 1).



**Figura 1.** Procesamiento de la muestra.

2. Se realizaron controles positivos con las cepas, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. y *Staphylococcus aureus* (Figura 2 y 3) y negativos.

a)



b)



c)



d)



**Figura 2.** Controles positivos a) *Escherichia coli* en EMB b) *Staphylococcus aureus* en Baird Parker c) *Klebsiella* sp en EMB d) *Escherichia coli* en Plate Count.



**Figura 3.** Control negativo de los medios de cultivo EMB, Baird Parker y Plate Count.



**Figura 4.** Resultados de la siembra de la muestra en los medios de cultivo EMB, Baird Parker y Plate Count.

Cartagena de Indias, D. T y Cultural, 2 de abril de 2018

**LABORATORIO CONAMFI**  
NIT: 909192 7-4  
*Jose Maria Guardo Guerrero*

JOSE MARIA GUARDO GUERRERO

Microbiólogo Msc.

## Anexos 6. Resultados microbiológicos del Bacillus Clausii al día cero.

 UNIVERSIDAD DE SAN BUENAVENTURA CARTAGENA	<b>LABORATORIO CONTROL DE CALIDAD DE ALIMENTOS</b>	Pág. 1 de 1
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	Código: F-GR-01
		2009-02-27/V1



FECHA DE EMISION: 03 de abril de 2018

TIPO DE MUESTRA: **PALETA SIN BOLSA MUESTRA #1**

FECHA TOMA DE MUESTRA: 20 de marzo de 2018

FECHA DE RECEPCION DE MUESTRA: 20 de marzo de 2018

FECHA DE ANALISIS: 20 de marzo de 2018

FECHA DE PRODUCCIÓN: 20 de marzo de 2018

ÁREA DE PROCESO DE PRODUCTO: Laboratorio de ciencias de alimentos

TEMPERATURA DE MUESTRA: -2 °C

MUESTRA NÚMERO: **6524**

PROCEDENCIA: **UNIVERSIDAD DEL SINÚ**

ANÁLISIS	RESULTADOS
<i>Recuento Bacillus sp</i>	<100 UFC/gr

**OBSERVACIONES:**

- Los resultados sólo son válidos para la muestra analizada.
- Se prohíbe la reproducción parcial y total sin autorización escrita del laboratorio.
- Técnica Utilizada NTC4679
- La muestra fue tomada por Karelys Peñaloza

NOMBRE ANALISTA

  
**Piedad Franco Anaya**  
 Bacterióloga Reg. 5285



**FIN DEL INFORME**



## Anexos 6. Resultados microbiológicos del Bacillus Clausii al día treinta.

	<b>LABORATORIO CONTROL DE CALIDAD DE ALIMENTOS</b>	Pág. 1 de 1
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	Código: F-GR-01
		2009-02-27/V1



FECHA DE EMISION: 03 de abril de 2018

TIPO DE MUESTRA: **PALETA EN BOLSA MUESTRA #2**

FECHA TOMA DE MUESTRA: 20 de marzo de 2018

FECHA DE RECEPCION DE MUESTRA: 20 de marzo de 2018

FECHA DE ANALISIS: 20 de marzo de 2018

FECHA DE PRODUCCIÓN: 28 de febrero de 2018

Área de Proceso de producto: Laboratorio de ciencias de alimentos

TEMPERATURA DE MUESTRA: -2 °C

MUESTRA NÚMERO: **6525**

PROCEDENCIA: **UNIVERSIDAD DEL SINÚ**

ANÁLISIS	RESULTADOS
<i>Recuento Bacillus sp</i>	<100 UFC/gr

### OBSERVACIONES:

- Los resultados sólo son válidos para la muestra analizada.
- Se prohíbe la reproducción parcial y total sin autorización escrita del laboratorio.
- Técnica Utilizada NTC4679
- La muestra fue tomada por Karelys Peñaloza.

NOMBRE ANALISTA

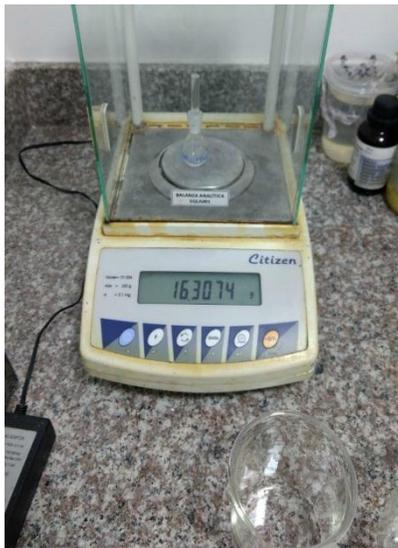
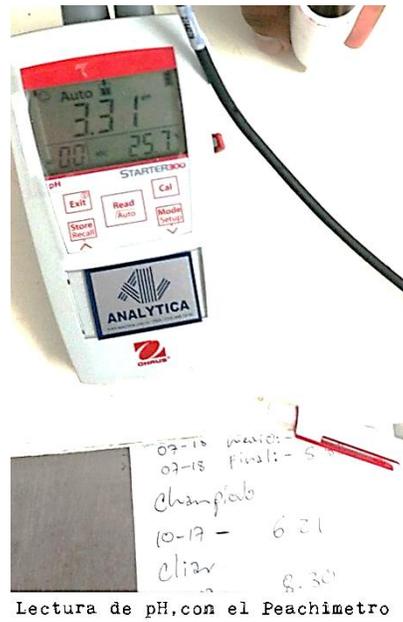
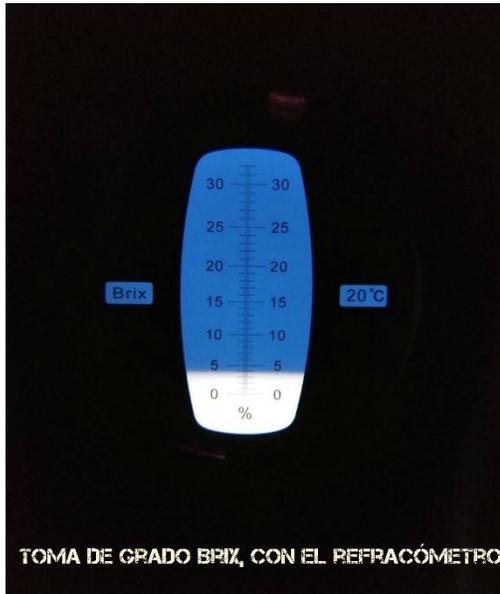
*Piedad Franco Anaya*  
Bacterióloga Reg. 5285



**FIN DEL INFORME**



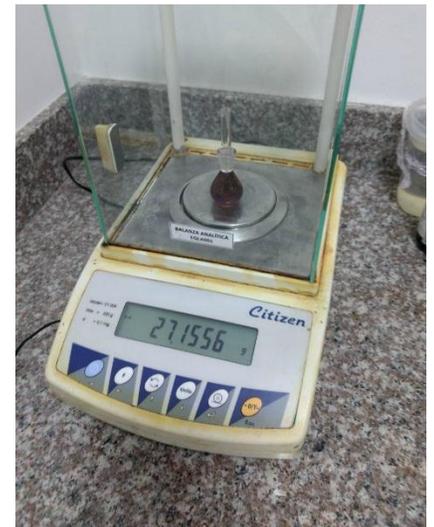
## Anexo 7. Resultados de prueba fisicoquímica, Laboratorios Gerco.



Peso del picnometro



Peso a una T: 25°C



Peso a una T: 20°C



Calentamiento de la paleta para la densidad

**Anexo 8. Tabla nutrición de la Paleta de Sales de Rehidratación Oral con Ceba Probiótica *Bacillus Clausii***

<b>Información Nutricional</b>			
Ración 1 paleta (100 gr)			
Cantidad por ración			
Calorías:		Calorías de grasa 0	
	% de VD		% de VD
Calorías	4	Sodio	60 mg
Grasas totales	0 g	Potasio	20 mg
Saturadas	0 g	Carbohidratos T.	0 g
Poliinsaturados	0 g	Fibra dietética	0 g
Monoinsaturados	0 g	Azúcares	0 g
Trans	0 g	Proteína	0 g
Colesterol	0 mg	Ácido cítrico	1 gr
Edulcorante	0.6 gr	CMC	0.5 g
Probiotico	5 ml		
Vitamina A	0 %	Calcio	0 %
Vitamina C	0 %	hierro	0 %

\*los porcentaje de valor diario (%VD) están basado para una dieta de 2000 caloría

## Anexo 9. Listado de los niños que participaron en la Prueba Hedónica Facial.

Prueba Hedónica Facial, Aceptación De Paleta De Sales De Rehidratación.				
Números de sujetos	Nombre	Paleta 1.	Paleta 2.	Paleta 3.
sujeto 1	Gloria Salazar	3	1	3
sujeto 2	Isacc De Avila	3	3	3
sujeto 3	Eber Corrales	3	3	3
sujeto 4	Kevin Herazo	3	3	3
sujeto 5	Juliet Carrillo	3	3	3
sujeto 6	Lina Perez	3	3	3
sujeto 7	Luis Albert Escobar	2	3	3
sujeto 8	Jesus Castilla Lopez	3	3	3
sujeto 9	Santiago Barrios	3	3	3
sujeto 10	Nelso Herrera	1	3	1
sujeto 11	Edwin Ramos	1	1	1
sujeto 12	Daniel De Avila	3	3	3
sujeto 13	Saul Luna Castro	3	1	3
sujeto 14	Isacc Escalante	3	3	3
sujeto 15	Maria Arrieta	3	3	1
sujeto 16	Adalberto Torres	3	3	3
sujeto 17	Melanis Garcia	3	3	3
sujeto 18	Yeri Orozco	3	1	3
sujeto 19	Matias Verdel Muñoz	1	3	3
sujeto 20	Samuel Pantoja	3	3	3
sujeto 21	Ester Sofia Velilla	3	1	3
sujeto 22	Angie Lucia	3	1	3
sujeto 23	Luis Miguel Manrique	3	3	3
sujeto 24	Marisol Herrera	3	2	1
sujeto 25	Aranza Fernandez	2	3	3
sujeto 26	Jaider Quintabna	3	3	3
sujeto 27	Lorena Atencio	3	3	3
sujeto 28	Yeiris Peñaralda	3	3	3
sujeto 29	Maria Jose Duque	3	3	3
sujeto 30	Karolis Barrios	3	3	3