



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación probiótica de tres cepas ácido-lácticas en leche entera pasteurizada

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autora: Chicaiza Barreno Cynthia Juliana

Tutora: Mg. María Daniela Garcés Moncayo

Ambato – Ecuador

Enero – 2026

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato 12 de diciembre de 2025



Mg. María Daniela Garcés Moncayo

1803571585

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.

Yo, Cynthia Juliana Chicaiza Barreno manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Cynthia Juliana Chicaiza Barreno

1850653708

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Cynthia Juliana Chicaiza Barreno

1850653708

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Firmado electrónicamente por:
**LORENA DE LOS
ANGELES NUNEZ
VILLACIS**
Validar únicamente con FirmaEC

Presidente del Tribunal

Firmado electrónicamente por:
**DANAE FERNANDEZ
RIVERO**
Validar únicamente con FirmaEC

Mg. Danae Fernandez Rivero

1757181209

Firmado electrónicamente por:
**GABRIEL ALEJANDRO
MORENO TOASA**
Validar únicamente con FirmaEC

Mg. Gabriel Alejandro Moreno Toasa

1500647910

Ambato, 18 de Diciembre de 2025

DEDICATORIA

A Dios, Creador de todas las cosas, quien siempre me brindó la fuerza para seguir adelante, mostrándome que Su tiempo es siempre perfecto.

A San Juan Bautista por fortalecer mi corazón, iluminar mi mente y guiarme en cada paso de este camino.

A mi mamá Tannia Barreno cuya fortaleza, amor incondicional y apoyo constante han sido el pilar más grande en mi vida. Gracias, mamá, por cada palabra de aliento, por cada sacrificio silencioso y por creer en mí incluso en los momentos en que yo dudaba. Este logro es tan mío como tuyo

A mi papá Elguin Chicaiza por enseñarme el valor del esfuerzo, la responsabilidad y la constancia y a impulsarme a cumplir mis sueños y no darme por vencida.

A mis hermanos Bryan y Damián, por su compañía, por motivarme, por hacerme reír en los momentos más tensos y por recordarme que siempre tengo un hogar al que volver. Ustedes han sido un apoyo inmenso, y este logro también les pertenece.

A mi abuelito Marcelo, aunque ya no esté físicamente conmigo, su recuerdo, sus enseñanzas y su cariño siguen presentes en mi vida. Espero que este logro llegue hasta donde él está y que se sienta orgulloso de mí, porque su amor forma parte de lo que hoy soy.

A mi abuelita Marisol Gavilanes quien con su amor y ternura has sido mi refugio en cada paso de mi vida y mi abuelita Emma Carrera por enseñarme el valor de la paciencia, la esperanza y la fuerza interior.

Aquella persona cuyo apoyo y amor incondicional ha sido el motor detrás de este logro importante, impulsándome a cumplir mis sueños SALB

A todos ustedes, mi familia, gracias por caminar conmigo, por sostenerme y por darme fuerzas. Esta dedicatoria es para ustedes, porque sin su amor este sueño no habría sido posible.

— Con todo mi amor y gratitud.

Cynthia Juliana Chicaiza Barreno.

AGRADECIMIENTO

A Dios y a San Juan Bautista, gracias por guiarme en cada paso y no dejar que me rendiera.

A mi Mamita, Tannia Barreno, gracias por tu amor incondicional, por los sacrificios que hiciste sin esperar algo a cambio y por todas las enseñanzas que me has regalado a lo largo de mi vida. Gracias por ser mi refugio en los momentos de duda, por estar siempre a mi lado como mi guía y apoyo, por esas noches en las que te desvelaste junto a mí y no me dejaste sola, velando por mi bienestar, por todas esas oraciones y por siempre ponernos a nosotros primero. No hay palabras suficientes para agradecerte todo lo que has hecho por mí, y por enseñarme que el amor puede lograrlo todo. Este logro es tuyo tanto como mío, porque sin ti, sin tu lucha constante a mi lado, mis sueños no serían una realidad.

A mi papi, Elguin Chicaiza gracias por tu amor, y todo el apoyo incondicional que siempre me has brindado. Eres mi ejemplo de sacrificio, trabajo y perseverancia siento mi guía y protección. Gracias por estar siempre a mi lado, por tus risas y por esas palabras de aliento en los momentos de duda. por darme la seguridad de que siempre puedo contar contigo.

A mis hermanos Bryan y Damián gracias por su amor y alegría constante. Por ser mi fuente de motivación y por recordarme, en cada sonrisa y gesto, la importancia de la familia. Su apoyo, su paciencia y sus pequeños detalles han sido un gran impulso en este proceso. Este logro también es suyo, porque cada uno de ustedes ha sido parte fundamental de mi camino. Los quiero mucho y siempre estaré aquí para ustedes, como ustedes lo han estado para mí.

A mi tutora Ing. María Daniela Garcés, gracias por compartir sus conocimientos, su tiempo y su guía. Su dedicación y exigencia académica han sido fundamentales para mi crecimiento personal y profesional. Cada orientación brindada fue clave para la elaboración de este proyecto. Y al Ing. Orestes López, Ing. Alejandra Sanches e ing. Isabel Guerrero por su guía y apoyo en el desarrollo de este proyecto.

A mis amigos y compañeros Daimy, Ángel, Andy, Roger y Marcelo gracias por su apoyo, paciencia, pláticas, por esos días llenos de alegría y hacer que todos esta etapa junto a ustedes sea más llevadera

Finalmente, agradezco a todas las personas y familia que, de alguna manera, aportaron a este logro quienes me motivaron, quienes me escucharon y quienes creyeron en mí. Este proyecto es el resultado del esfuerzo conjunto de todos los que formaron parte de este proceso. A cada uno de ustedes, ¡gracias de corazón

— Con todo mi amor y gratitud.

Cynthia Juliana Chicaiza Barreno.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ECUACIONES	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN EJECUTIVO.....	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO.	1
1.1. Antecedentes investigativos.	1
1.2. Fundamentación teórica	2
1.2.1. Alimentos funcionales y probióticos.	2
1.2.2. Bacterias ácido – lácticas (BAL).	2
1.2.3. Leche entera como matriz para probióticos.	3
1.2.4. Propiedades probióticas de <i>Weissella cibaria</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	4
1.2.5. Evaluación de las actividades probióticas.	5
1.2.6. Viabilidad probiótica y criterios de evaluación en productos fermentados.....	6
1.2.7. Metabolitos funcionales generados por bacterias ácido lácticas.	7
1.2.8. Relevancia científica y social.	8
1.2.9. Productos lácteos fermentados.	8
1.3. Objetivos.....	10
1.3.1. Objetivo general.....	10
1.3.2. Objetivos específicos.....	10
CAPÍTULO II - METODOLOGÍA.....	11

2.1.	Materiales.....	11
2.2.	Métodos	13
2.2.1.	Inoculación de las cepas ácido lácticas en un sustrato lácteo bajo condiciones controladas de crecimiento.....	13
2.2.2.	Comparación del crecimiento bacteriano, los cambios fisicoquímicos del sustrato y la producción de compuestos funcionales.	14
2.2.3.	Determinación la viabilidad probiótica de las cepas y la estabilidad de los metabolitos funcionales durante el almacenamiento de producto fermentado en condiciones controladas.....	16
CAPÍTULO III.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN		17
3.1.	Análisis y discusión de los resultados.	17
3.1.1.	Inoculación de las cepas ácido-lácticas en un sustrato lácteo bajo condiciones controladas de crecimiento.....	17
3.1.2.	Comparación del crecimiento bacteriano, los cambios fisicoquímicos del sustrato y la producción de compuestos funcionales de las tres cepas ácido-lácticas.	18
3.1.3.	Determinación la viabilidad probiótica de las cepas y la estabilidad de los metabolitos funcionales durante el almacenamiento del producto fermentado en condiciones controladas.	30
CAPÍTULO IV- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.		38
4.1.	CONCLUSIONES.	38
4.2.	RECOMENDACIONES.	40
5.	MATERIAL DE REFERENCIA.	41
5.1.	Referencias bibliográficas	41
6.	ANEXOS.....	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Recursos que se emplean en el proyecto final de titulación.	11
Tabla 2 Inoculación de cepas probióticas.....	17
Tabla 3 Evaluación de aceptabilidad de las bebidas fermentadas	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Recuento de viabilidad bacteriana	20
Figura 2 Medición de pH.	22
Figura 3 Espectro FTIR de W. cibaria, L. mesenteroides y L. plantarum en la hora 0.....	24
Figura 4 Espectro FTIR de W. cibaria, L. mesenteroides y L. plantarum a las 192 horas.	26
Figura 5 Espectro FTIR de W. cibaria, L. mesenteroides y L. plantarum a las 480 horas.	27
Figura 6 Producción de ácido láctico de W. cibaria	28
Figura 7 Producción de ácido láctico de L. mesenteroides.....	29
Figura 8 Producción de ácido láctico de Lactobacillus plantarum	30
Figura 9 Evaluación sensorial de color de las tres cepas probióticas.	33
Figura 10 Evaluación sensorial de olor de las tres cepas probióticas.	34
Figura 11 Evaluación sensorial de sabor de las tres cepas probióticas.	35
Figura 12 Evaluación sensorial de textura de las tres cepas probióticas.....	36
Figura 13 Evaluación sensorial de aceptabilidad de las tres cepas probióticas.....	37

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Recuento de la viabilidad bacteriana	14
Ecuación 2 Porcentaje de ácidos láctico.....	15

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Multiplicación de la cepa <i>L. mesenteroide</i>	51
Anexo 2 Multiplicación de la cepa <i>L. plantarum</i>	51
Anexo 3 Multiplicación de <i>W. cibaria</i>	51
Anexo 4 pH de las cepas probióticas	52
Anexo 5 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	52

RESUMEN EJECUTIVO

En la actualidad existe un creciente interés por los alimentos funcionales que aportan beneficios adicionales a la nutrición. Entre ellos, los productos lácteos fermentados con bacterias ácido lácticas representan una opción accesible para mejorar la salud digestiva, modular la microbiota intestinal y ofrecer alternativas con mayor valor agregado para la industria láctea local. En este estudio se evaluó la actividad probiótica de tres cepas ácido lácticas *Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus plantarum* en leche entera pasteurizada. Las cepas se cultivaron en agar MRS, se preparó un inóculo estandarizado y se fermentó la leche bajo condiciones controladas de tiempo y temperatura. Durante la fermentación y el almacenamiento se contabilizó el recuento microbiano y se midieron los parámetros de pH, la producción de ácido láctico por titulación y por espectroscopia infrarroja, además se realizó una evaluación sensorial básica de los tratamientos. Los resultados demostraron que las tres cepas probióticas alcanzan y mantienen recuentos viables en el rango considerado aceptable 10^6 UFC sobre mL y generan una acidificación adecuada de la matriz láctea 4.4 a 4.6 de pH. *Weissella cibaria* presentó la mejor combinación entre estabilidad y aceptación sensorial, mientras que *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus plantarum* mostraron perfiles complementarios entre ellos. La leche entera pasteurizada es una matriz adecuada para formular bebidas lácteas probióticas con estas cepas, y se evidencia su potencial para futuras aplicaciones y transferencia a la industria láctea regional.

Palabras clave: Leche entera pasteurizada, *Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, probióticos, ácido láctico, FTIR, Ácido láctico.

ABSTRACT

Currently, there is a growing interest in functional foods that provide additional benefits to nutrition. Among these, dairy products fermented with lactic acid bacteria represent an accessible option to improve digestive health, modulate the intestinal microbiota, and offer value-added alternatives for the local dairy industry. This study evaluated the probiotic activity of three lactic acid bacterial strains: *Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides*, and *Lactobacillus plantarum* in pasteurized whole milk. The strains were cultured on MRS agar, a standardized inoculum was prepared, and the milk was fermented under controlled conditions of time and temperature. During fermentation and storage, microbial counts were recorded, and parameters such as pH, lactic acid production by titration and infrared spectroscopy were measured. Additionally, a basic sensory evaluation of the treatments was performed. The results demonstrated that all three probiotic strains achieved and maintained viable counts within the acceptable range 10 to the power of 6 CF per mL and generated adequate acidification of the dairy matrix pH 4.4 to 4.6 . *Weissella cibaria* showed the best combination of stability and sensory acceptance, while *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* exhibited complementary profiles. Pasteurized whole milk is an adequate matrix for formulating probiotic dairy beverages with these strains, and its potential for future applications and transfer to the regional dairy industry is evident.

Keywords: Pasteurized whole milk, *Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, probiotics, lactic acid, FTIR, Lactic acid.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO.

1.1. Antecedentes investigativos.

Los cambios en los hábitos alimentarios y el aumento de enfermedades crónicas no transmisibles han impulsado el desarrollo de alimentos funcionales, entendidos como aquellos que además de aportar nutrientes básicos contribuyen de forma específica a la salud del consumidor **Klimko et al., (2020)**. Dentro de este grupo, los alimentos probióticos destacan por incorporar microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del huésped, especialmente a nivel gastrointestinal, inmunológico y metabólico. En este contexto, los productos lácteos fermentados constituyen una de las matrices más utilizadas para el transporte de microorganismos probióticos, debido a su composición nutricional, su aceptabilidad sensorial y su disponibilidad en el mercado. **(Urcan et al., 2024)**.

Sin embargo, uno de los principales desafíos es garantizar la estabilidad de las cepas probióticas durante la fermentación y el almacenamiento, así como la producción sostenida de metabolitos funcionales como ácidos grasos de cadena corta, ácido láctico y vitaminas, que contribuyen a los beneficios para la salud del consumidor **Hu et al., (2023)**. Estudios recientes reportan que la selección de cepas adecuadas y el control de las condiciones de fermentación son claves para obtener productos con calidad funcional y microbiológica óptima **(Urcan et al., 2024)**.

Para lo cual se busca evaluar la viabilidad probiótica de tres cepas ácido-lácticas (*Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus plantarum*) en leche entera pasteurizada, identificando su capacidad de producir metabolitos beneficiosos, su comportamiento durante el almacenamiento y su potencial de ser utilizados en el desarrollo de nuevos productos lácteos con valor agregado para la industria local en un futuro. En consecuencia, el presente trabajo de titulación se justifica por su contribución al desarrollo de alimentos funcionales lácteos, aportando evidencia científica sobre el comportamiento probiótico de tres cepas ácido-lácticas en leche entera pasteurizada y ofreciendo una base para futuras aplicaciones industriales. **(Ruiz et al., 2023)**.

1.2. Fundamentación teórica

1.2.1. Alimentos funcionales y probióticos.

En las últimas décadas ha crecido el interés por los alimentos funcionales, definidos como aquellos que, además de aportar nutrientes básicos, contienen componentes biológicamente activos capaces de ejercer efectos benéficos específicos sobre una o más funciones del organismo y contribuir a la reducción del riesgo de enfermedad cuando se consumen en el marco de una dieta habitual **(Kaur et al., 2022)**. Dentro de este grupo, los productos lácteos fermentados enriquecidos con bacterias probióticas se han consolidado como una de las categorías más relevantes, debido a su asociación con la salud digestiva, la modulación de la microbiota intestinal y el soporte del sistema inmunitario **(Sawant & Tamhane, 2025)**.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud introdujeron la definición de probióticos como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del huésped” **(Guarner et al., 2023)**. Esta definición, ratificada por la International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP), implica que las cepas probióticas deben estar correctamente identificadas, ser seguras, mantenerse viables durante el almacenamiento del producto y contar con evidencia científica de sus efectos benéficos.

Diversos documentos de consenso y guías clínicas señalan que, para que un alimento pueda considerarse probiótico, el producto final debe aportar del orden de 10^8 – 10^9 UFC por porción diaria o, al menos, concentraciones cercanas a 10^6 – 10^7 UFC/g o mL al final de la vida útil, a fin de asegurar una dosis efectiva en el consumidor **(Guarner et al., 2023)**. Esto condiciona el diseño de las formulaciones, los procesos de fermentación y las estrategias de almacenamiento para garantizar la estabilidad de los cultivos probióticos.

1.2.2. Bacterias ácido – lácticas (BAL).

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) constituyen el grupo microbiano más utilizado en la elaboración de alimentos fermentados y en el desarrollo de productos probióticos. Se caracterizan por ser Gram positivas, catalasa negativas y por producir ácido láctico como principal producto de la fermentación de carbohidratos **(Santander & Castro, 2024)**. Además de su función tecnológica como cultivos iniciadores, diversas cepas de BAL poseen propiedades de interés probiótico, tales como resistencia a pH gástrico bajo y a sales biliares, capacidad de adhesión a células epiteliales intestinales,

producción de compuestos antimicrobianos (bacteriocinas, ácidos orgánicos) y potencial antioxidante **(Park & Kim, 2025; García et al., 2021)**.

Desde el punto de vista funcional, se ha propuesto que las BAL pueden contribuir a la modulación de la microbiota intestinal, al desplazamiento competitivo de patógenos, al refuerzo de la barrera mucosa y a la regulación de respuestas inmunes y oxidativas **(García et al., 2021; Park & Kim, 2025)**. Sin embargo, estas propiedades son cepa-dependientes, por lo que no es posible extrapolar los efectos de una especie completa a todas sus cepas. De ahí la necesidad de evaluar experimentalmente cada aislado en condiciones específicas de matriz, fermentación y almacenamiento antes de considerarlo probiótico.

Las BAL comprenden géneros como *W. cibaria*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, caracterizados por producir ácido láctico como principal metabolito de la fermentación de carbohidratos. Estas bacterias son resistentes a condiciones ácidas y pueden tolerar sales biliares, dos características esenciales para garantizar su viabilidad en el tracto gastrointestinal **(Santander & Castro, 2024)**.

Además, durante la fermentación llevada a cabo por BAL implica la transformación de azúcares (como la lactosa) en ácido láctico, lo que reduce el pH y contribuye a la conservación del alimento. Este proceso estimula además la producción de metabolitos funcionales como exopolisacáridos, compuestos antimicrobianos, ácidos grasos, péptidos bioactivos, bacteriocinas y vitaminas del complejo B, los cuales potencian el valor funcional de estos productos. **Urcan et al., (2024)**. En particular, se ha reportado que *L. plantarum* es capaz de sintetizar riboflavina (vitamina B2) y en ciertos casos cobalamina (vitamina B12), mientras que *W. cibaria* puede sobre producir riboflavina y dextranos, mejorando las propiedades nutricionales y reológicas del producto fermentado **(Gizachew et al., 2023)**.

1.2.3. Leche entera como matriz para probióticos.

Los productos lácteos son considerados matrices privilegiadas para el desarrollo de alimentos funcionales, debido a su elevado valor nutricional y a la presencia de proteínas, lípidos, lactosa, vitaminas y minerales que pueden favorecer el crecimiento y la supervivencia de las BAL **(Kaur et al., 2022)**. En particular, la leche entera pasteurizada ofrece un medio relativamente estable y seguro desde el punto de vista microbiológico, ya que el tratamiento térmico reduce la flora competidora y los microorganismos patógenos, preparando el sustrato para la inoculación de cultivos seleccionados.

Los lácteos fermentados se consideran uno de los vehículos más eficaces para la administración de probióticos, porque la matriz láctea actúa como sistema de protección frente a condiciones adversas del tracto gastrointestinal, amortiguando el estrés ácido y biliar (Kaur et al., 2022; Divnych & Lytvyn, 2025). Además, la interacción entre proteínas lácteas, grasa y exopolisacáridos producidos por las BAL contribuye a mejorar la textura, la viscosidad y la estabilidad del producto, aumentando su aceptabilidad sensorial.

En este contexto, la leche entera pasteurizada se presenta como una matriz adecuada para formular bebidas probióticas fermentadas, siempre que se optimicen variables como la temperatura y el tiempo de incubación, la concentración del inóculo y las condiciones de almacenamiento, de modo que se mantenga una alta viabilidad de las cepas y propiedades fisicoquímicas aceptables a lo largo de la vida útil del producto (Kaur et al., 2022).

1.2.4. Propiedades probióticas de *Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*.

Dentro del grupo de las BAL, tres especies probióticas son evaluadas en una matriz láctea: *W. cibaria*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum*.

L. plantarum es una especie versátil que se aísla con frecuencia de alimentos fermentados de origen vegetal y animal, así como del tracto gastrointestinal humano. Se caracteriza por su alta tolerancia a pH ácido y sales biliares, por su capacidad para fermentar una amplia variedad de carbohidratos y por su aptitud para adherirse a la mucosa intestinal (García et al., 2021).

Una revisión reciente indica que diversas cepas de *L. plantarum* muestran propiedades antimicrobianas frente a patógenos entéricos, actividad antioxidante, modulación de la respuesta inmune e incluso efectos beneficiosos en modelos de síndrome metabólico, obesidad y enfermedades inflamatorias intestinales (García et al., 2021). Además, se han descrito exopolisacáridos (EPS) producidos por *L. plantarum* con capacidad antioxidante y efectos texturizantes en productos lácteos fermentados, lo que refuerza su interés como cultivo funcional y tecnológico.

Estas características convierten a *L. plantarum* en una candidata sólida para aplicaciones probióticas en leche entera pasteurizada, donde puede contribuir tanto a la acidificación y estabilidad microbiológica como a la obtención de propiedades funcionales adicionales. Evaluar su comportamiento en comparación con otras BAL emergentes, como *W. cibaria* y *L. mesenteroides*, permite seleccionar la cepa con mejor desempeño integral en la matriz de estudio.

Por su parte, el género *W. cibaria* se ha consolidado como emergente en el ámbito de los alimentos funcionales, debido a su capacidad para producir exopolisacáridos, bacteriocinas y otros metabolitos bioactivos (Ma et al., 2025). En particular, cepas de *W. cibaria* han mostrado producción de EPS (Entidades Promotoras de Salud) con propiedades texturizantes y antioxidantes, así como tolerancia a pH ácido y sales biliares, lo que las convierte en buenas candidatas para aplicaciones probióticas y para mejorar la textura de productos como yogures y leches fermentadas (Zhang et al., 2023; Erdem & Dogan, 2023). su evaluación en leche entera pasteurizada permitió determinar si estas propiedades se manifiestan también en esta matriz y si contribuyen a la estabilidad fisicoquímica y funcional del producto durante el almacenamiento refrigerado.

L. mesenteroides es otra BAL heterofermentativa, frecuentemente dominante en fermentaciones vegetales y de jugos, que ha mostrado propiedades probióticas en distintas matrices. Estudios recientes describen cepas de *L. mesenteroides* con buena capacidad fermentativa, producción de compuestos aromáticos y potencial actividad antioxidante, así como supervivencia adecuada durante el almacenamiento (Ariute et al., 2025). Estas características la posicionan como un microorganismo interesante para el desarrollo de bebidas fermentadas funcionales. Se le reconoce como productora de ácidos orgánicos, dióxido de carbono y compuestos aromáticos que contribuyen al perfil sensorial de los alimentos fermentados.

La evaluación comparativa de tres cepas ácido-lácticas pertenecientes a estas especies en leche entera pasteurizada permite determinar cuál de ellas presenta mejor desempeño probiótico en términos de crecimiento, acidificación, producción de metabolitos funcionales y estabilidad durante el almacenamiento, generando información útil para la selección de cultivos con potencial aplicación industrial.

1.2.5. Evaluación de las actividades probióticas.

Por ello, es fundamental el desarrollo de investigaciones que evalúen no solo la viabilidad de las cepas probióticas en matrices lácteas, sino también la producción de metabolitos funcionales y su estabilidad a lo largo del tiempo Mo et al., (2022). Además, es importante comprender cómo las condiciones de fermentación (temperatura, tiempo, concentración de inóculo) y almacenamiento (temperatura de refrigeración, tiempo de conservación) influyen en estas variables (Gizachew et al., 2023).

Otro aspecto relevante es la aceptación sensorial del producto por parte del consumidor. Si bien las propiedades funcionales son un factor clave para el desarrollo de alimentos innovadores, el éxito comercial depende en gran medida de atributos como sabor, aroma, textura y apariencia del producto fina **Stefańska et al., (2021)**. La incorporación de cepas como *W. cibaria*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, ofrece ventajas, ya que se ha demostrado que pueden contribuir positivamente a las características sensoriales de productos lácteos fermentados, mejorando la viscosidad, reduciendo la sinéresis y desarrollando perfiles aromáticos agradables **(Gu et al., 2023)**.

1.2.6. Viabilidad probiótica y criterios de evaluación en productos fermentados.

La viabilidad probiótica es uno de los criterios centrales para el éxito de un alimento funcional fermentado. Diversos autores señalan que la simple inclusión de una cepa en la formulación no garantiza el carácter probiótico del producto; es indispensable demostrar que las células se mantienen vivas en cantidades suficientes a lo largo de la vida útil.

Para que un alimento fermentado pueda considerarse probiótico, no basta con la simple presencia de la cepa en la formulación inicial; es necesario que las células se mantengan viables en concentraciones suficientes durante toda la vida útil del producto **(Guarner et al., 2023)**.

Factores como la disminución del pH, la acumulación de ácidos orgánicos, el estrés oxidativo, la temperatura de almacenamiento y la disponibilidad de nutrientes pueden provocar una reducción progresiva de las cuentas viables de BAL en lácteos fermentados **(Palanivelu et al., 2022)**.

Los principales parámetros de evaluación probiótica en productos lácteos incluyen:

- La cinética de crecimiento de las cepas (UFC/mL),
- La evolución del pH
- La acidez titulable
- La capacidad para mantener concentraciones $\geq 10^6$ – 10^7 UFC/mL durante el almacenamiento refrigerado,
- La estabilidad de compuestos bioactivos de interés.
- La temperatura y la duración del almacenamiento.

La determinación de la viabilidad se realiza usualmente mediante recuentos en placa en medios selectivos o diferenciales adecuados para BAL, mientras que los cambios fisicoquímicos se monitorean por medición de pH, acidez titulable y, en algunos casos, parámetros reológicos o de textura. Estos resultados permiten establecer relaciones entre el comportamiento microbiológico y las características tecnológicas del producto, así como definir tiempos de vida útil en los que se garantice el aporte de una dosis probiótica adecuada **(Kaur et al., 2022)**.

1.2.7. Metabolitos funcionales generados por bacterias ácido lácticas.

Además de su papel en la acidificación del medio, las BAL pueden producir metabolitos funcionales con efectos potencialmente benéficos para la salud. Entre ellos destacan los exopolisacáridos (EPS), péptidos bioactivos derivados de proteínas lácteas, ácidos orgánicos, compuestos aromáticos y sustancias con actividad antioxidante **(Sawant & Tamhane, 2025)**.

Los exopolisacáridos generados por BAL se consideran componentes de tipo “postbiótico” con funciones tecnológicas y fisiológicas: pueden mejorar la viscosidad y la estabilidad de los productos fermentados y, al mismo tiempo, mostrar efectos antioxidantes, inmunomoduladores o hipocolesterolémicos en distintos modelos experimentales **(Erdem & Dogan, 2023)**. En el caso de *W. cibaria*, se ha descrito la producción de EPS (Entidades Promotoras de Salud) que mejoran la textura de yogures tipo firme y podrían contribuir a la retención de agua y a la sensación cremosa del producto **(Zhang et al., 2023)**.

Por otro lado, la fermentación láctica de la leche puede conducir a la liberación de péptidos bioactivos con actividades antihipertensiva, antioxidante o inmunomodulador, derivados de la hidrólisis parcial de caseínas y otras proteínas lácteas **(Kaur et al., 2022)**. La combinación de viabilidad probiótica adecuada y producción de metabolitos funcionales aporta un valor añadido al producto final, posicionándolo como un alimento potencialmente beneficioso para la salud del consumidor.

La evaluación probiótica de tres cepas ácido-lácticas en leche entera pasteurizada se centra precisamente en estudiar la relación entre el crecimiento de las BAL, las modificaciones fisicoquímicas del sustrato lácteo y la estabilidad de los metabolitos funcionales durante el almacenamiento, con miras a desarrollar una matriz láctea fermentada con características funcionales y tecnológicas satisfactorias.

1.2.8.Relevancia científica y social.

Diversos estudios han mostrado que el consumo regular de productos lácteos fermentados puede mejorar la digestión de la lactosa en personas intolerantes, reforzar el microbiota intestinal, modular la respuesta inmunológica y reducir el riesgo de trastornos gastrointestinales (**Zhang et al., 2023**). Por ejemplo, la producción de ácidos grasos de cadena corta como acetato, propionato y butirato por las bacterias ácido lácticas (BAL) durante la fermentación se ha asociado con efectos benéficos sobre la salud intestinal y sistémica. Estos compuestos actúan como fuente primaria de energía, regulan la respuesta inflamatoria y fortalecen la integridad de la barrera intestinal. Asimismo, contribuyen al equilibrio del microbiota, favorecen la absorción de nutrientes y modulan la actividad inmunológica, promoviendo así la homeostasis y la resistencia frente a patógenos (**Kang et al., 2023**).

Entre las BAL, cepas como *W. cibaria*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum* se destacan por su versatilidad tecnológica y potencial funcional. *L. plantarum* ha demostrado capacidad para sobrevivir en condiciones gastrointestinales adversas, adherirse al epitelio intestinal y producir compuestos antimicrobianos, lo que refuerza su potencial probiótico (Jeong et al., 2021). Por su parte, *W. cibaria* y *L. mesenteroides* han sido estudiadas por su habilidad para producir exopolisacáridos (EPS) que mejoran la textura de productos lácteos, además de contribuir a la modulación del microbiota intestinal (**Kang et al., 2023**).

A pesar de estos avances, persisten desafíos técnicos y científicos en la incorporación efectiva de probióticos en matrices lácteas fermentadas. Según **Hernández et al., (2022)**. Uno de los principales retos es garantizar la viabilidad de las cepas probióticas durante el procesamiento y el almacenamiento del producto, ya que la exposición a cambios de pH, temperatura y actividad de agua puede comprometer la estabilidad de las poblaciones microbianas (**Ismael et al., 2020**). Asimismo, se ha reportado que la concentración y estabilidad de metabolitos funcionales como ácidos grasos y vitaminas del complejo B pueden verse afectadas por las condiciones de almacenamiento y la interacción entre cepas durante la fermentación (**Klimko et al., 2022**).

1.2.9.Productos lácteos fermentados.

Los productos lácteos fermentados representan un campo prometedor para el desarrollo de alimentos funcionales con beneficios probados para la salud humana **Jeong et al., (2023)**. La evaluación de cepas BAL seleccionadas como *W. cibaria*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, en la fermentación láctea no solo permitirá ampliar el conocimiento científico sobre su funcionalidad y potencial probiótico,

sino también sentar bases sólidas para la innovación tecnológica la industria alimentaria **(Pham et al., 2022)**.

Centrada en la evaluación probiótica de tres cepas ácido-lácticas en leche entera pasteurizada aporta información relevante sobre: la cinética de crecimiento y la viabilidad de cada cepa; los cambios fisicoquímicos inducidos en la matriz láctea; y la estabilidad de metabolitos funcionales durante el almacenamiento. Estos resultados pueden servir de base para el desarrollo de nuevas bebidas lácteas probióticas fermentadas y para la selección de cultivos con potencial de aplicación a escala industrial.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la actividad probiótica de tres cepas ácido-lácticas en leche entera pasteurizada.

1.3.2. Objetivos específicos

Inocular las cepas ácido-lácticas en un sustrato lácteo bajo condiciones controladas de crecimiento.

Comparar el crecimiento bacteriano, los cambios fisicoquímicos del sustrato y la producción de compuestos funcionales de las tres cepas ácido-lácticas.

Determinar la viabilidad probiótica de las cepas y la estabilidad de los metabolitos funcionales durante el almacenamiento del producto fermentado en condiciones controladas.

CAPÍTULO II - METODOLOGÍA.

2.1. Materiales

El presente proyecto de titulación fue de tipo experimental y se llevó a cabo en los laboratorios académicos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. En la **Tabla 1**, se enlistan los reactivos, material fungible y equipos que se utilizaron durante la investigación.

Tabla 1.

Recursos que se emplean en el proyecto final de titulación.

Material	Cantidad
Reactivos	
Medio MRS (caldo y agar)	2 L
Agua destilada	5 L
Etanol (95%)	1L
NaOH y HCl (0.1 N)	50 mL
Ácido láctico	2mL
Ácido acético	2 mL
Ácido propiónico	2 mL
Ácido butírico	2 mL
Tampón fosfato	10 mL
Material fungible	
Placas Petri estériles	50 unidades

Tubos Falcon 15 y 50 mL	20 unidades
Matraz Erlenmeyer 250 mL	5 unidades
Vasos de presentación 50,250,600,1000 mL	20 unidades
Micropipetas de 100 a 1000 + puntas	1 set
Mechero	1
Papel film	1
Equipos	
Incubadora	1
Cabina de flujo laminar	1
Espectrofotómetro	1
Potenciómetro	1
Refrigerador (4 °C)	1
Centrifuga	1

Nota: Materiales, reactivos y equipos que se emplearon para el proyecto final de titulación.

2.2. Métodos

2.2.1. Inoculación de las cepas ácido lácticas en un sustrato lácteo bajo condiciones controladas de crecimiento

2.2.1.1. Activación de cepas ácido lácticas

Las cepas de las bacterias ácido lácticas obtenidas del estudio “Obtención de cepas probióticas a partir de diferentes sustratos de origen orgánico de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador” (Cevallos, 2024). Se reactivaron por rehidratación en caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe) y se incubarán a 37°C por 48 h en condiciones anaerobias.

2.2.1.2. Multiplicación y estandarización del inóculo.

Una vez activadas, las cepas se multiplicaron en agar MRS durante 24 – 48 horas. La concentración del inóculo se ajustó utilizando la escala de McFarland 0.5, asegurando una carga inicial de aproximadamente 1×10^8 UFC/mL.

2.2.1.3. Preparación del sustrato.

Se utilizó leche entera pasteurizada a 90 °C por 10 minutos para asegurar la reducción de microorganismos competidores, luego se enfriará a 37 °C. como lo menciona (Dumpler et al., 2020).

2.2.1.4. Inoculación en el sustrato lácteo y fermentación.

Las cepas se inocularon de forma individual, la fermentación se llevó a cabo a 21 °C durante 21 días, bajo condiciones controladas. Se tomó una muestra al inicio (T0), a las 24 horas, 48 horas, 5 días, 10 días, 15 días y al final 21 días (Tf) de fermentación. El volumen del sustrato fue de 400 mL y 3ml del inóculo, se realizó tres réplicas independientes por cepa para el análisis de ácidos grasos, ácido láctico y crecimiento bacteriano.

2.2.2. Comparación del crecimiento bacteriano, los cambios fisicoquímicos del sustrato y la producción de compuestos funcionales.

2.2.2.1. Recuento de viabilidad bacteriana.

Se utilizó el medio de cultivo MRS, el cual es específico para estas bacterias, y que se preparará en cajas Petri. En cada toma de muestra se destinó 1.8 ml para el recuento microbiológico. Se realizó 7 diluciones seriadas y se empleara el método de siembra por extensión en placa y por triplicado. Se incubo las placas a 37°C durante 24 horas, y, transcurrido este tiempo, se realizó el conteo de colonias formadas utilizando un contador de colonias (**Jongenburger et al., 2010**).

Se estableció las UFC/ml de muestra tomada, por medio de la siguiente ecuación

$$\text{UFC/ml} = (N \cdot D) / V$$

Ecuación 1

Donde:

N = número de colonias contadas en la placa

D = inverso de la dilución

V = volumen inoculado en mL

2.2.2.2. Medir el pH.

En un vaso de precipitación se colocó 10ml de cada una de las muestras y se procedió a introducir el potenciómetro durante 10 segundos o hasta que el valor se mantuviera estable y se registró el valor (**Uppuluri et al., 2021**).

2.2.2.3. Determinación de ácido láctico.

Para cuantificar el contenido de ácido láctico producido durante la fermentación, se utilizó el método de titulación ácido-base, el cual permite estimar la acidez titulable de la muestra (**AOAC., 2005**).

Se tomó 10 mL del fermentado y, en caso de observarse residuos sólidos o exceso de grasa, se procedió a centrifugar la muestra a 5.000 rpm durante 10 minutos a 4 °C para clarificarla. Posteriormente, se tomó 10 mL del sobrenadante claro y homogéneo con ayuda de una pipeta y se

transfirió a un vaso de precipitados, seguido, se añadió 2 gotas de una solución de fenolftaleína al 1% como indicador ácido-base **(AOAC., 2005)**.

La muestra fue titulada gota a gota con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, agitando constantemente durante el proceso. El punto final de la titulación se determinó por el cambio de color de la solución, de incolora a rosado pálido, el cual se mantuvo durante al menos 30 segundos. El volumen de NaOH se utilizó hasta alcanzar este punto, y fue registrado el valor en mililitros (mL) **(AOAC., 2005)**.

Finalmente, se calculó la concentración de ácido láctico (en g/L) utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Ácido láctico (g/L)} = (\text{ml de NaOH} \times \text{Normalidad de NaOH} \times 90.08) / (\text{Volumen de muestra (mL)})$$

Ecuación 2

Donde:

90.08g/mol = corresponde al peso molecular del ácido láctico

V = volumen de muestra corresponde a 10 mL.

NaOH 0.1 N, de esta manera los valores se van a remplazar en la ecuación 2.

2.2.2.4. Determinación de ácidos grasos.

Para la determinación de ácidos grasos se empleó espectrofotometría FTIR para ácidos grasos de cadena corta (AGCC: acético, propiónico y butírico) en bebida fermentada se apoya en las vibraciones del grupo carboxilo. En matriz acuosa-alcohólica, las formas COO^- y COOH muestran bandas intensas y reproducibles en la región de huella ($\approx 1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$), en alimentos fermentados (vino/vinagre, lácteos). **(Ríos et al., 2018)**.

Se registró espectros entre 4000 y 600 cm^{-1} con resolución de 4 cm^{-1} y 32 escaneos por muestra (y 64 para el fondo inicial). Se depositaron $20\text{--}40\text{ }\mu\text{L}$ de estándar o muestra sobre el cristal ATR, se esperó $\sim 30\text{ s}$ para estabilizar el contacto y se obtendrán las señales. Para el análisis se utilizó principalmente la región $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$, que capturo las bandas $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ ($\sim 1550\text{--}1520\text{ cm}^{-1}$) y $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ ($\sim 1415\text{--}1390\text{ cm}^{-1}$), evitando la interferencia dominante del agua **(Korotkevich et al., 2023)**.

2.2.3. Determinación la viabilidad probiótica de las cepas y la estabilidad de los metabolitos funcionales durante el almacenamiento de producto fermentado en condiciones controladas.

2.2.3.1. Condiciones de almacenamiento.

Las muestras fermentadas se almacenaron a 4 °C durante 21 días en frascos estériles y sellados.

2.2.3.2. Análisis periódicos.

Cada 7 días se analizó la viabilidad microbiana ($>10^6$ UFC/mL) por recuento en placa, se midió pH, concentración de ácido láctico y ácidos grasos como se menciona en el apartado 2.2.2

2.2.3.3. Evaluación sensorial básica.

Se evaluaron color, olor sabor, textura y aceptabilidad en cada intervalo mediante inspección visual, olfativa y degustativa en una catación del producto fermentado.

CAPÍTULO III.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados.

3.1.1. Inoculación de las cepas ácido-lácticas en un sustrato lácteo bajo condiciones controladas de crecimiento.

3.1.1.1. Inoculación de las cepas ácido-lácticas en un sustrato lácteo.

La estandarización del tamaño de inóculo y del estado fisiológico (fase log) es central para lograr alcanzar la viabilidad mínima requerida para un alimento con probióticos ($\geq 10^6$ – 10^7 UFC/ml). La evidencia muestra que la viabilidad final en matrices lácteas depende de factores microbiológicos (cepa, fase de crecimiento), tecnológicos (dosis de inóculo) y de la matriz; en leche, pequeñas variaciones en el inóculo modifican la caída de pH, la acidez titulable y el conteo de UFC durante la incubación y el almacenamiento. Además, los marcos regulatorios y analíticos recientes recomiendan asegurar $\geq 10^6$ UFC/ml por porción diaria declarada, lo que en lácteos suele traducirse en diseñar procesos que garanticen $\geq 10^6$ – 10^7 UFC/ml al consumo (Meybodi et al., 2020).

Tabla 2

Inoculación de cepas probióticas.

Cepas	Sustrato (ml)	Inoculo (ml)	Temperatura
<i>W.cibaria</i>	400	3	21°C
<i>L. mesenteroide</i>	400	3	21°C
<i>L.plantarum</i>	400	3	21°C

Nota: condiciones de la inoculación en las cepas en leche entera pasteurizada.

El control de temperatura y las condiciones anaerobias durante la incubación condiciona tanto la tasa de crecimiento como el metabolismo secundario. Para *L. plantarum*, temperaturas en el rango 30–37 °C maximizan el crecimiento y la acidificación en lácteos; paralelamente, aunque las LAB son microaerófilos o anaerobias facultativas, su tolerancia a oxígeno y su respuesta a estrés oxidativo influyen en rendimiento y robustez del cultivo. Ajustar recipientes (tapado hermético) y temperatura

permite modular la velocidad de acidificación sin comprometer la viabilidad ni inducir estrés innecesario que afecte el proceso fermentativo (Gökmen et al., 2024).

Desde la funcionalidad reológica, los exopolisacáridos (EPS) producidos por LAB son un eje de calidad: incrementan viscosidad, mejoran retención de agua y reducen sinéresis en matrices lácteas fermentadas. La tasa de producción de EPS depende de la cepa, el sustrato (lactosa/proteínas), el pH y la temperatura; por ello, condiciones “suaves” (pH final ~4.4–4.6; incubación en el rango óptimo de cada cepa) favorecen mantener viabilidad sin sacrificar textura. Justificar la selección de cepas productoras de EPS (o su combinación con no productoras) permite mejorar el desempeño tecnológico con estabilidad durante el almacenamiento (Zhang et al., 2024).

Además del ácido láctico, cepas fermentativas como *W. cibaria* y *L. mesenteroides*, aportan CO₂ y compuestos aromáticos (diacetilo, acetoinas) que diversifican el perfil sensorial de la leche fermentada; sin embargo, su inclusión exige controlar tiempo y temperatura para evitar sobre acidificación y variabilidad. Bioquímicamente, su flujo de carbono vía fosfocetolasa explica la coproducción de lactato y acetato/etanol/CO₂ (Candeliere et al. 2024).

3.1.2. Comparación del crecimiento bacteriano, los cambios fisicoquímicos del sustrato y la producción de compuestos funcionales de las tres cepas ácido-lácticas.

3.1.2.1. Recuento de la viabilidad bacteriana.

En la **figura 1**. Se muestra curvas de crecimiento típicas de bacterias ácido-lácticas (BAL) en cultivo en lote: una fase de latencia corta (alrededor de 0–24 h), una fase exponencial marcada hasta ~144 h, seguida de una fase estacionaria prolongada (144–360 h) con conteos cercanos a 8,3–8,6 log UFC/mL y, finalmente, una fase de declive suave a partir de las 360 h, donde los recuentos disminuyen, pero se mantienen por encima de 7,5 log UFC/mL al final del ensayo. Este comportamiento sigmoide coincide con el patrón descrito para LAB en medios lácteos, donde se distinguen claramente las fases lag, exponencial, estacionaria y de muerte, asociadas a la adaptación inicial, consumo activo de sustrato, agotamiento de nutrientes y acumulación de metabolitos como ácido láctico (Rezvani et al., 2017).

Los valores máximos alcanzados para *W. cibaria* (~8,53 log UFC/mL), *L. mesenteroides* (~8,63 log UFC/mL) y *L. plantarum* (~8,45 log UFC/mL), son comparables a los reportados en otros trabajos con BAL en leches fermentadas. Por ejemplo, Queiroz et al., (2025). observaron que *L. plantarum*

en leches de transición bovina alcanza concentraciones superiores a 8,4 log UFC/mL tras la fermentación y se mantiene en el orden de 8 log UFC/mL durante el almacenamiento refrigerado, aunque con cierta pérdida de viabilidad en leche entera (**Queiroz et al., 2025**). De forma similar, describen que *L. plantarum* en leches fermentadas conserva recuentos viables superiores a 7 log UFC/mL durante varias semanas, confirmando su idoneidad como cultivo probiótico en matrices lácteas. Estos resultados son coherentes con tu curva, donde *L. plantarum* logra y sostiene niveles superiores a 8 log UFC/mL durante buena parte del almacenamiento (**Queiroz et al., 2025**).

En cuanto a *W. cibaria*, la cinética observada en la **figura 1** (rápido ascenso hasta ~8,4–8,5 log UFC/mL y mantenimiento cercano al máximo durante la fase estacionaria) es consistente con estudios donde esta especie se evalúa como cultivo iniciador. **Cirat et al., (2024)**. Demostraron que cepas de *W. cibaria* y *L. plantarum* aisladas de leche de camello muestran buena adaptación a matrices lácteas y vegetales, alcanzando altos recuentos y produciendo metabolitos de interés tecnológico, lo que respalda el uso de *W. cibaria* como probiótico. Del mismo modo, trabajos sobre crecimiento de *W. cibaria* en fermentaciones de pseudocereales muestran que puede llegar a valores cercanos a 8–9 log UFC/mL, similares a los máximos observados en este estudio (**Zannini et al., 2018**).

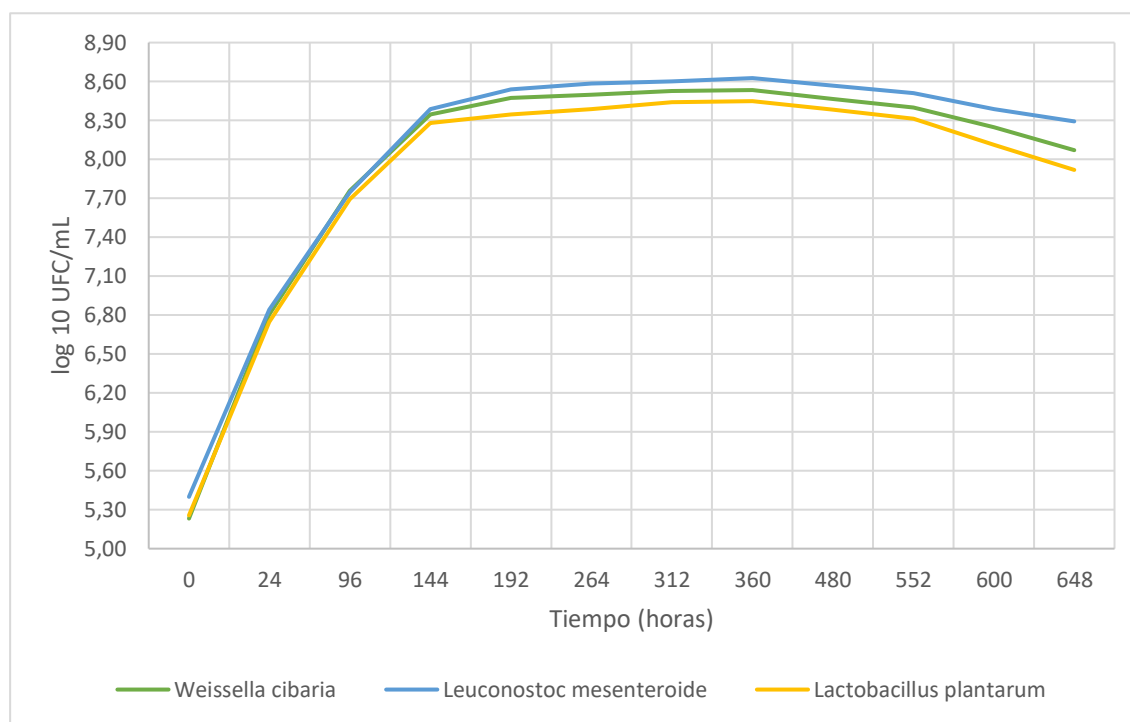
Para *L. mesenteroides*, la curva muestra un comportamiento muy próximo al de las otras cepas, con un máximo alrededor de 8,5 log UFC/mL y un descenso ligeramente más lento en la fase final. Esto coincide con lo descrito por **Cenci et al., (2020)** quienes reportan que cepas de *L. mesenteroides* en medios ricos alcanzan poblaciones de ~8 log UFC/mL bajo refrigeración y pueden mantenerse viables durante varios días, a pesar de la baja temperatura y la acidificación progresiva.

Cenci et al., (2020) informan que cepas de *L. mesenteroides* pueden llegar a valores entre 8 y casi 10 log UFC/mL bajo diferentes condiciones de pH y temperatura, lo que refuerza que este género es capaz de sostener altos niveles de biomasa en ambientes fermentados (**Foti et al., 2025**).

Si se comparan los resultados de las tres cepas probióticas con los criterios para alimentos probióticos, las tres cepas mantienen recuentos por encima del umbral mínimo recomendado (6–7 log UFC/mL) por lo que pueden considerarse funcionales desde el punto de vista probiótico, según FAO/OMS (**Bae et al., 2025**). Esto indica que, a lo largo de prácticamente todo el periodo de almacenamiento, la leche fermentada inoculada con *W. cibaria*, *L. mesenteroides* o *L. plantarum* podría aportar una dosis adecuada de microorganismos viables. En conjunto, la comparación con la literatura sugiere que el comportamiento de crecimiento observado en la **figura 1** es típico de BAL bien adaptadas a la matriz láctea, y las tres cepas presentan un desempeño microbiológico compatible con su uso como cultivos iniciadores o probióticos en productos lácteos fermentados.

Figura 1

Recuento de viabilidad bacteriana



Nota: Las tres cepas muestran primero una fase de latencia entre 0 y aproximadamente 24 h, donde las bacterias se adaptan al sustrato lácteo sin multiplicarse. Posteriormente se observa una fase exponencial o logarítmica (24–144 h), en la que la concentración de microorganismos aumenta de forma rápida hasta valores cercanos a 8,3–8,5 log₁₀ UFC/mL. Entre 144 y 360 h las curvas se estabilizan, definiendo una fase estacionaria con recuentos prácticamente constantes. Finalmente, a partir de ~360 h se aprecia una fase de muerte, evidenciada por una disminución gradual de los recuentos celulares, más marcada en *L. plantarum*, mientras que *L. mesenteroides* mantiene valores ligeramente superiores hasta el final del tiempo de almacenamiento.

3.1.2.2. Medición de pH.

La evolución del pH de la leche entera pasteurizada inoculada con *W. cibaria*, *L. mesenteroides* y *L. plantarum* durante aproximadamente 480 horas de fermentación-almacenamiento. Todas las formulaciones parten de un pH cercano a 6,6–6,7 y muestran un descenso progresivo hasta valores finales de ~4,4–4,6. *W. cibaria* presenta la acidificación más rápida en las primeras 200 horas (pH ≈ 6,0–5,7), mientras que *L. plantarum* desciende de forma más lenta al inicio pero termina alcanzando

el pH más bajo (~4,4). *L. mesenteroides* mantiene los valores de pH ligeramente más altos a lo largo del ensayo, lo que evidencia una cinética fermentativa más suave. Aun así, las tres cepas logran acidificar la leche hasta rangos típicos de productos lácteos fermentados, compatibles con la inhibición de microorganismos como se muestra en la **figura 2**.

La acidificación registrada es coherente con lo descrito para *W. cibaria* y *L. plantarum* en yogures y otras bebidas lácteas, donde la fermentación suele detenerse cuando se alcanza un pH cercano a 4,4 a 4,6, considerado óptimo para una buena textura y la seguridad microbiológica (**Bancalari et al., 2020; Huang et al., 2025**). En productos fermentados con *W. cibaria* se han reportado pH finales alrededor de 4,5–4,6, similares a los observados en la **figura 2**. Sin afectar la aceptabilidad sensorial del producto (**Zannini et al., 2018; Carlosama, 2022**). Para *L. plantarum* **Yamamoto et al., 2022** menciona que las cepas con baja capacidad acidificante en leche —con descensos modestos de 6,5 a 6,3 tras 18–48 h, debido a la limitada disponibilidad de nutrientes—, mientras que otros reportan aislamientos capaces de reducir el pH hasta valores cercanos a 4,0 en menos de 48 h, dependiendo de la cepa y las condiciones de cultivo (**Horácková et al., 2022**). El hecho de que *L. plantarum* en este estudio alcance un pH final comparable o incluso ligeramente inferior al de las otras bacterias indica una buena aptitud tecnológica de la cepa utilizada dentro del rango de variabilidad conocido para la especie.

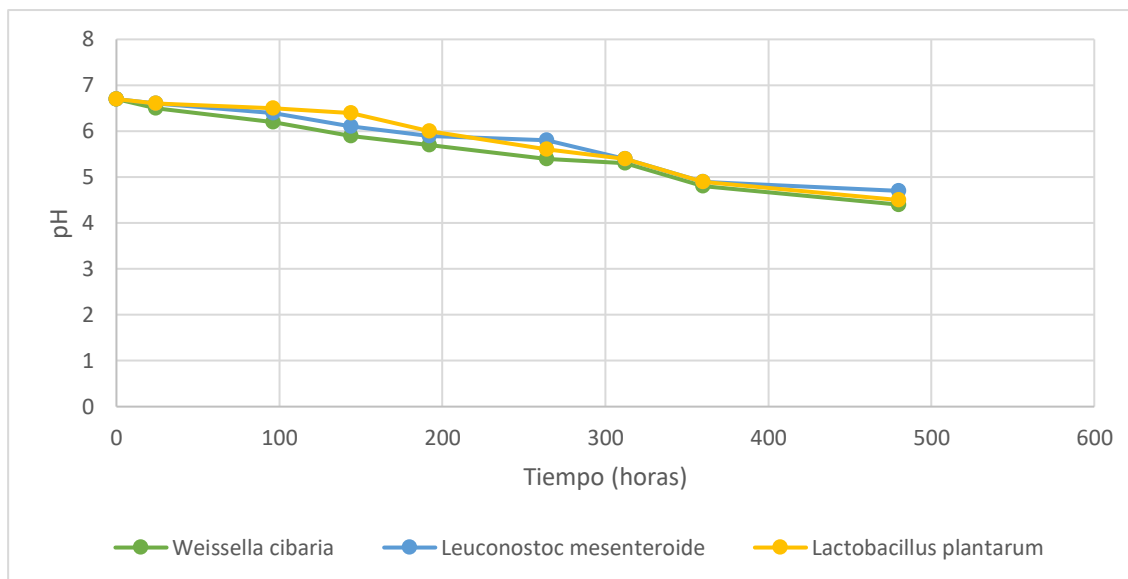
Por otro lado, el comportamiento de *L. mesenteroides* coincide con su carácter fermentativo: suele emplearse como cultivo aromático y no como principal acidificante, presentando óptimos de crecimiento alrededor de pH 5,0–6,0 y una actividad más limitada a pH más bajos (**Vera-Peña et al., 2020**). A pesar de ello, al final del almacenamiento el pH de este tratamiento también desciende por debajo de 4,6, intervalo en el que la mayoría de bacterias ácido-lácticas se mantienen viables mientras que el crecimiento de patógenos se ve fuertemente restringido como se muestra en el **Anexo 4 (Ayivi et al., 2022; Erem et al., 2024)**. En conjunto, la **figura 2** demuestra que las tres cepas logran una acidificación sostenida y convergente de la leche llegando a un pH de 6,7 a 4,4 por parte de *W. cibaria*, mientras que *L. mesenteroides* llega a un pH de 6,7 a 4,7 y *L. plantarum* de un pH de 6,7 a 4,5. Demostrando *W. cibaria* llega al pH mas bajo con 4,4.

En productos lácteos fermentados se considera que valores de pH cercanos o inferiores a 4,5 marcan el final de la fermentación, asociados con mayor estabilidad microbiológica y las características sensoriales típicas de yogur y leches fermentadas.

El hecho de que las tres cepas alcancen pH entre 4,4 y 4,7 indica una adecuada capacidad acidificante y un potencial interesante como cultivos probióticos o iniciadores, ya que la disminución del pH inhibe microorganismos alterantes y patógenos y mejora la seguridad del producto final.

Figura 2

Medición de pH.



Nota: Evolución del pH de la leche entera pasteurizada inoculada con *W. cibaria*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, durante 480 h de almacenamiento. Se observa una disminución progresiva del pH en las tres cepas, siendo *W. cibaria* la que presenta la mayor capacidad acidificante, seguida de *L. plantarum* y *L. mesenteroides*. Los valores corresponden al promedio de las mediciones realizadas para cada tratamiento.

3.1.2.3. Detección de ácidos grasos.

El espectro FTIR de la leche entera pasteurizada inoculada con *W. cibaria* a la hora 0 mostró una banda ancha en $3326,78\text{ cm}^{-1}$ correspondiente al estiramiento O–H del agua y grupos hidroxilo de proteínas y lactosa, una región de absorción en $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ asociada a los estiramientos C–H de las cadenas alifáticas de los lípidos, y una banda en $1632,04\text{ cm}^{-1}$ atribuida a la amida I de las proteínas, como se muestra en la **figura 3 (A)**. Este patrón es consistente con las asignaciones reportadas para leche cruda, donde dichas regiones se relacionan con grasa, proteína y carbohidratos (Grewal et al., 2017; Bahadi et al., 2021; Mesgaran et al., 2020).

La presencia de bandas en $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ confirma la existencia de cadenas acilo de ácidos grasos en la muestra; sin embargo, la ausencia de una banda definida alrededor de 3010 cm^{-1} y de un máximo intenso en $1740\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$ indica que, en este punto inicial, los ácidos grasos están mayoritariamente esterificados en triglicéridos de la leche y no como ácidos grasos libres generados por la actividad lipolítica de *W. cibaria*. Esto coincide con lo descrito para matrices lácteas no fermentadas (**Grewal et al., 2017; Bahadi et al., 2021**) y sugiere que el espectro a la hora 0 puede considerarse como el perfil de referencia de la leche antes de que el crecimiento bacteriano modifique significativamente el perfil lipídico (**figura 3A**).

En cuanto a los ácidos grasos libres, no se aprecia una banda adicional de carbonilo ácido desplazada a números de onda algo menores ($\sim 1705\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$) respecto a la banda de éster a $\sim 1740\text{ cm}^{-1}$, la cual suele intensificarse cuando hay liberación significativa de ácidos grasos libres por lipólisis. **Uçar et al. (2024)** destacan que los ácidos grasos libres presentan una banda C=O ácida en la región $1700\text{--}1720\text{ cm}^{-1}$, diferenciables de los carbonilos esterificados de triglicéridos. Además, las sales de estos ácidos grasos muestran desplazamientos hacia menores números de onda debido a la formación de carboxilatos (**Bahadi et al., 2021**). En el espectro inicial de la leche, predomina una única banda estrecha de carbonilo en torno a 1740 cm^{-1} , lo que sugiere que la mayor parte de los lípidos están en forma de triglicéridos intactos, tal como se observa en leche fresca o yogur recién inoculado antes de que la fermentación avance.

Por otro lado, en el espectro FTIR de *L. mesenteroides* a la hora 0 en leche entera pasteurizada, se observan dos bandas principales: una ancha y intensa en 3329 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento O-H del agua fuertemente ligada y de los grupos hidroxilo de lactosa y otros carbohidratos, además de N-H de las proteínas de la leche; y otra en 1635 cm^{-1} , asociada principalmente a la amida I (C=O de los enlaces peptídicos de caseínas y proteínas del suero), además de la flexión del agua ligada (Andronie et al., 2019), como se presenta en la **figura 3 (B)**.

Aunque en la **figura 3 (B)** en la región $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ se observan picos de estiramiento C-H de los grupos CH_2/CH_3 de los triglicéridos lácteos (~ 2920 y 2852 cm^{-1}), y en torno a 1740 cm^{-1} aparece el carbonilo éster de la grasa, la zona $1200\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ está dominada por las vibraciones C-O de lactosa y otros carbohidratos (**Andronie et al., 2019**).

En esta etapa inicial, la contribución espectral de *L. mesenteroides* (pared celular, peptidoglucano, exopolisacáridos) es mínima. A medida que la cepa comienza a producir exopolisacáridos, aparecen bandas típicas de polisacáridos: un O-H ancho cercano a 3400 cm^{-1} , C-H alrededor de 2920 cm^{-1} , una banda en $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ asociada a agua ligada, y un conjunto de picos intensos en la región 1200--

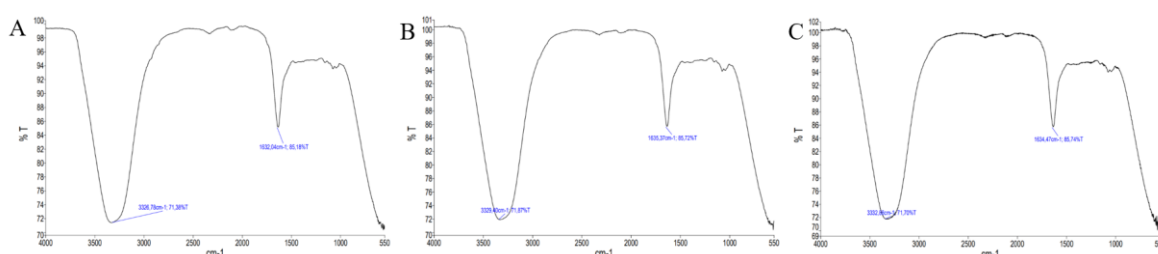
800 cm^{-1} , como se observa en los exopolisacáridos de *L. mesenteroides* (Yang et al., 2024). En el espectro inicial, solo se observan claramente las bandas de O–H/N–H y la amida I, lo que indica que al momento de la inoculación (hora 0), aún no se ha acumulado una cantidad apreciable de metabolitos fermentativos, como ácido láctico o ácidos grasos libres. (Wu et al., 2021).

Finalmente, el espectro FTIR de *L. plantarum* se presenta una banda ancha de –OH en 3 200–3 400 cm^{-1} , bandas de grupos carboxilato/amida en torno a 1 620–1 650 cm^{-1} y un conjunto de picos intensos en la región 1 200–950 cm^{-1} , considerada la “huella digital” de los polisacáridos. Como se presenta en la **figura 3(c)**. El espectro inicial estas contribuciones están enmascaradas por la señal dominante de la leche, lo que es coherente con que, en el punto cero, *L. plantarum* aún no ha sintetizado cantidades apreciables de microorganismos ni ha consumido lactosa de forma significativa. (Chakraborty et al., 2020 ; Bahadi et al., 2021).

Por tanto, este espectro de *L. plantarum* a la hora 0 puede interpretarse como el patrón basal de leche entera pasteurizada recién inoculada, refleja la composición típica de la leche (agua, proteínas, grasa y lactosa) y coincide con lo reportado por otros autores para leche cruda o pasteurizada antes de la fermentación, mientras que las modificaciones asociadas a producción de ácido láctico, exopolisacáridos y posibles ácidos grasos libres se evidenciarán en los espectros de tiempos de incubación posteriores (Papadopoulou et al., 2021).

Figura 3

Espectro FTIR de *W. cibaria*, *L. mesenteroides* y *L. plantarum* en la hora 0.



Nota: El espectro FTIR a la hora 0 mostró que la matriz láctea conserva el perfil típico de proteínas, lactosa y triglicéridos, con una contribución aún limitada de ácidos grasos libres, y los cambios asociados a la actividad metabólica. **(A)** muestra el resultado de *W. cibaria* con una banda ancha en 3326,78 cm^{-1} y una banda en 1632,04 cm^{-1} . **(B)** muestra el resultado de *L. mesenteroides* con dos bandas principales marcadas 3329,40 cm^{-1} y 1635,37 cm^{-1} . **(C)** se muestran los resultados de *L. plantarum* con dos bandas anchas en 3332,88 cm^{-1} y 1634,47 cm^{-1} .

A las 192 horas, el espectro FTIR en la **figura 4 (A)** de *W. cibaria* en leche entera muestra una banda ancha a 3341 cm^{-1} , asociada al estiramiento O–H y N–H de agua, carbohidratos y proteínas lácteas, y una banda a 1632 cm^{-1} que corresponde a la amida I de proteínas y al ion lactato, indicativa de una acumulación de ácido láctico como lo muestra en la **figura 4 (A)**. Además, se observa una banda a 1075 cm^{-1} relacionada con carbohidratos y exopolisacáridos (EPS) generados durante la fermentación. Este patrón es consistente con la producción de EPS y lipólisis, que son típicos de la fermentación láctica avanzada (Păucean et al., 2014).

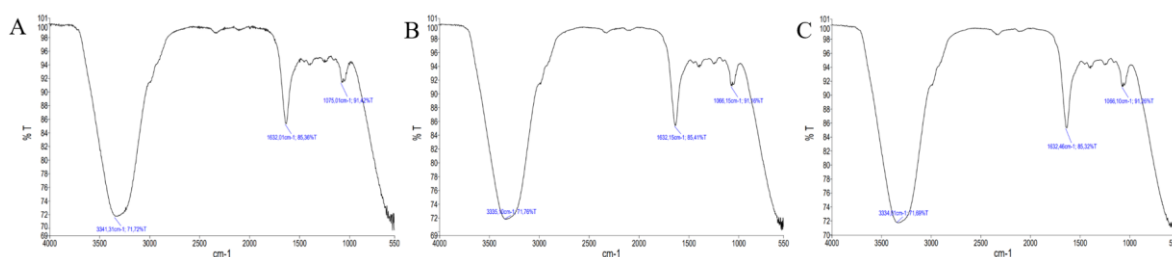
Al comparar con estudios previos, la intensidad de la banda en 1632 cm^{-1} y la aparición de la señal en 1075 cm^{-1} indican un estado avanzado de fermentación, donde se ha producido ácido láctico y polisacáridos extracelulares. El incremento de las bandas asociadas a triglicéridos y ácidos grasos libres, aunque no tan evidente, sugiere que la lipólisis y la liberación de ácidos grasos contribuyen al desarrollo del sabor y funcionalidad del producto (Păucean et al., 2014).

En el espectro **figura 4 (B)** de *L. mesenteroides* a 192 horas, se destacan tres bandas principales: a 3335 cm^{-1} (O–H y N–H), 1632 cm^{-1} (amida I y lactato), y 1066 cm^{-1} (carbohidratos y exopolisacáridos). El aumento relativo de la banda en 1632 cm^{-1} y la aparición de la señal en 1066 cm^{-1} indican que la fermentación está avanzada, con la acumulación de ácido láctico y la producción de exopolisacáridos. Estos patrones coinciden con los reportados por otros estudios en leches fermentadas por *L. mesenteroides*, lo que refuerza que el proceso de fermentación está bien establecido y que el producto tiene propiedades típicas de un alimento probiótico (Bisson et al., 2023; Wu et al., 2021).

Por último, el espectro en la **figura 4 (C)** de *L. plantarum* también muestra tres bandas a 3334 cm^{-1} (O–H), 1632 cm^{-1} (amida I y lactato), y 1066 cm^{-1} (carbohidratos y exopolisacáridos). El aumento de la banda a 1632 cm^{-1} y la marcada presencia de la banda a 1066 cm^{-1} sugieren que *L. plantarum* ha fermentado significativamente la leche, produciendo ácido láctico y exopolisacáridos, con un perfil que coincide con el de otros estudios sobre leche fermentada con esta cepa (Yu et al., 2023).

Figura 4

Espectro FTIR de W. cibaria, L. mesenteroides y L. plantarum a las 192 horas.



Nota: El espectro FTIR a las 480 horas de la fermentación. **(A)** muestra el resultado de *W. cibaria* con una banda ancha en 3341,31 cm⁻¹, otra banda en 1632,01 cm⁻¹ y una banda en 1075,01 cm⁻¹. **(B)** muestra el resultado de *L. mesenteroides* con tres bandas principales marcadas en 3335,10 cm⁻¹, 1632,15 cm⁻¹ y 1066,15 cm⁻¹. **(C)** se muestran los resultados de *L. plantarum* con tres bandas anchas en 3334,61 cm⁻¹, otra banda en 1632,46 cm⁻¹, y 1066,10 cm⁻¹, . y 1634,47 cm⁻¹.

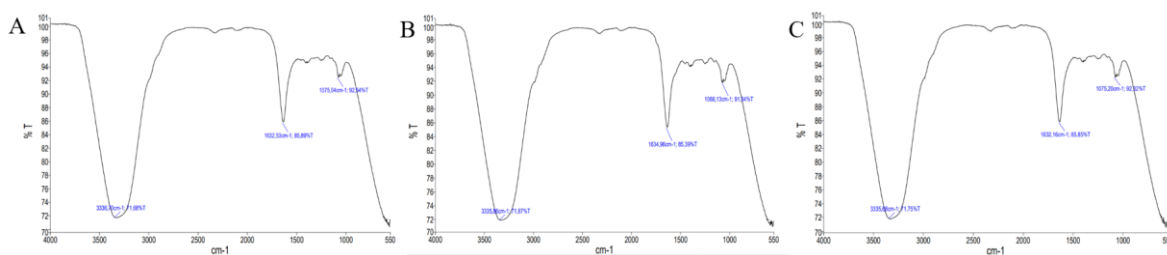
W. cibaria a las 480 horas muestra un espectro similar al observado a las 192 horas, con tres bandas principales 3336 cm⁻¹, 1632 cm⁻¹ y 1075 cm⁻¹ como se presenta en la **figura 5 (A)**. La persistencia de estas bandas, con pequeños cambios en intensidad, indica que la leche ha llegado a un estado estacionario con acidificación estable y una fracción de carbohidratos estructurales equilibrada. La banda en 1075 cm⁻¹ respalda la producción de exopolisacáridos por *W. cibaria*, lo cual es consistente con su capacidad para mejorar la textura y estabilidad del producto fermentado (**Păucean et al., 2014**).

En la **figura 5 (B)**, se muestra *L. mesenteroides*, el espectro a las 480 horas mantiene el patrón de las 192 horas, con las bandas a 3335 cm⁻¹, 1635 cm⁻¹ y 1066 cm⁻¹. Las pequeñas variaciones entre las 192 y 480 horas se presenta en un estado estacionario, con una fermentación avanzad .La banda a 1066 cm⁻¹ refleja la producción de exopolisacáridos, que contribuyen a la viscosidad y estabilidad del producto (**Păucean et al. 2014**).

Finalmente, *L. plantarum* muestra un patrón de bandas a las 480 horas con las principales bandas a 3335 cm⁻¹, 1632 cm⁻¹ y 1075 cm⁻¹ en la **figura 5 (C)**. La fuerte banda a 1075 cm⁻¹ indica la producción continua de exopolisacáridos, que son responsables de las propiedades funcionales del producto, como la viscosidad y estabilidad. No se observa una acumulación significativa de ácidos grasos libres (**Uçar et al., 2024**).

Figura 5

Espectro FTIR de W. cibaria, L. mesenteroides y L. plantarum a las 480 horas.



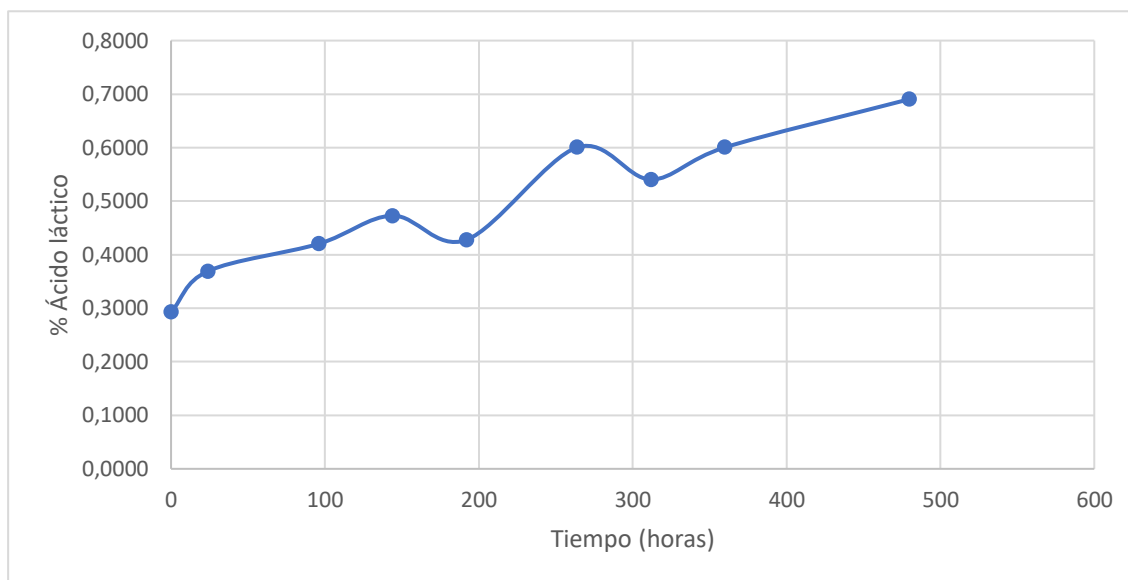
Nota: El espectro FTIR a las 480 horas al final de la fermentación. **(A)** muestra el resultado de *W. cibaria* con una banda ancha en 3336,70 cm⁻¹, otra banda en 1632,53 cm⁻¹ y una banda en 1075,04 cm⁻¹. **(B)** muestra el resultado de *L. mesenteroides* con tres bandas principales marcadas en 3335,86 cm⁻¹, 1634,96 cm⁻¹ y 1066,13 cm⁻¹. **(C)** se muestran los resultados de *L. plantarum* con tres bandas anchas en 3335,68 cm⁻¹, otra banda en 1632,16 cm⁻¹, y 1075,20 cm⁻¹, . y 1634,47 cm⁻¹.

3.1.2.4. Producción de ácido láctico.

En la **Figura 6** *W. cibaria* se observa un incremento sostenido del porcentaje de ácido láctico desde valores cercanos a 0,30 % hasta aproximadamente 0,69 % al final del periodo de almacenamiento. Esta tendencia ascendente, con pequeñas oscilaciones intermedias, sugiere que la cepa mantiene una alta actividad fermentativa a lo largo del tiempo, metabolizando de manera eficiente los azúcares de la leche entera pasteurizada. La presencia de un tramo de aumento más marcado alrededor de la mitad del ensayo indica una fase de adaptación exitosa al sustrato y posterior intensificación del metabolismo ácido-láctico. El hecho de alcanzar los niveles más altos de ácido láctico entre las cepas evaluadas resalta el potencial de *W. cibaria* como cultivo con elevada capacidad acidificante, capaz de contribuir de forma significativa a la disminución del pH, la estabilidad microbiológica y la conservación del producto, aunque este comportamiento podría asociarse también a una acidez sensorial más intensa que debe considerarse en el diseño final del alimento fermentado.

Figura 6

Producción de ácido láctico de W. cibaria

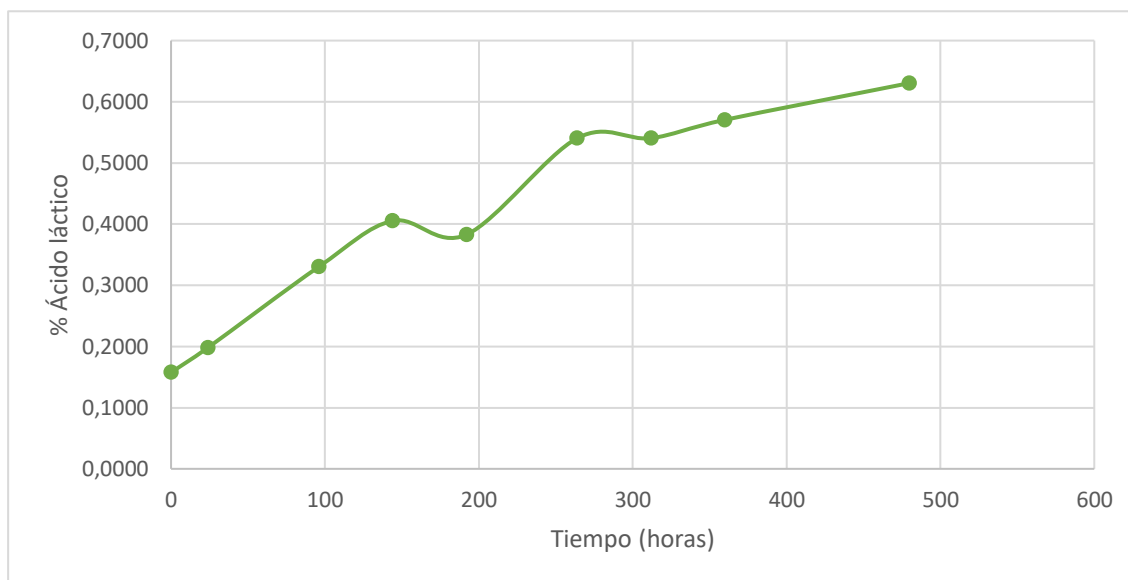


Nota: La cepa *W. cibaria* muestra un incremento progresivo en el porcentaje de ácido láctico a lo largo del tiempo. Parte alrededor de 0,3 % y llega aproximadamente a 0,7 % hacia el final del período de almacenamiento.→ Es decir, la bacteria sigue metabolizando los azúcares de la leche y produciendo ácido láctico durante todo el tiempo evaluado.

En el caso de *L. mesenteroides* se evidencia igualmente una tendencia general de aumento del ácido láctico, pasando de valores iniciales cercanos a 0,15–0,20 % hasta alrededor de 0,63 % en los últimos tiempos de almacenamiento. Lo que refleja una acidificación progresiva y estable en la matriz láctea. Este patrón sugiere que la cepa logra adaptarse de forma gradual al medio, manteniendo una actividad metabólica continua sin cambios bruscos, lo cual es ventajoso desde el punto de vista tecnológico, ya que favorece una evolución predecible de la acidez y, por ende, del perfil sensorial del producto como se presenta en la **figura 7**. Los valores finales por encima de 0,5 % de ácido láctico indican que *L. mesenteroides* aporta una capacidad acidificante adecuada para apoyar la estabilidad sanitaria del alimento, pero con un impacto potencialmente menos agresivo en la acidez percibida que el observado para *W. cibaria*.

Figura 7

Producción de ácido láctico de L. mesenteroides.

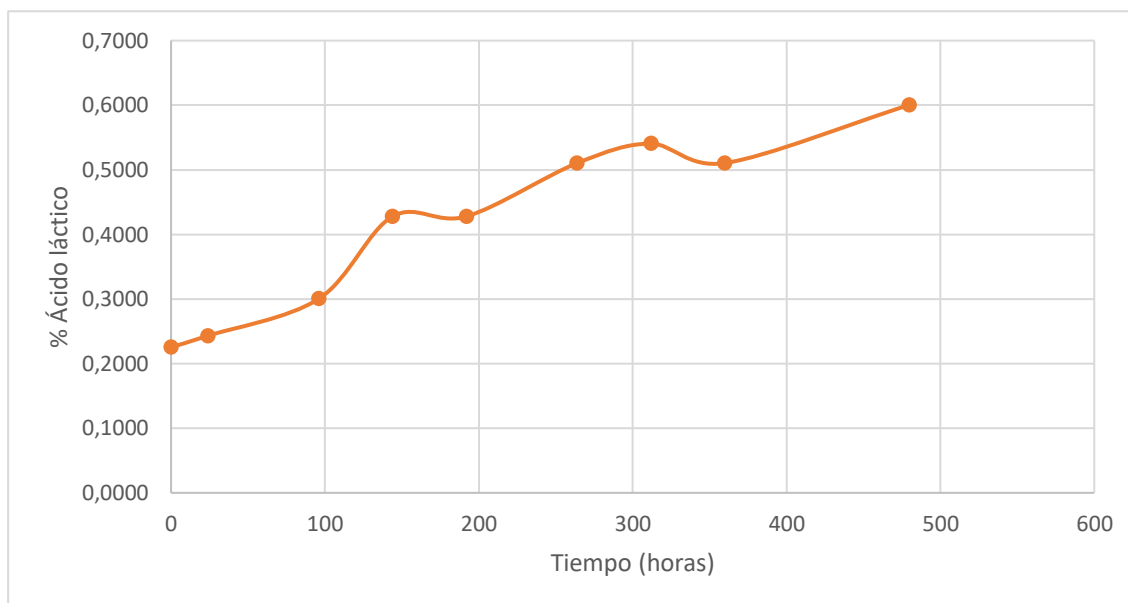


Nota: *L. mesenteroides* muestra un aumento progresivo del % de ácido láctico a lo largo del tiempo de almacenamiento. Parte alrededor de 0,15–0,20 % y llega aproximadamente a 0,62–0,63 % hacia el final del periodo. → Indica que la cepa mantiene una producción sostenida de ácido láctico en la leche entera pasteurizada.

La curva de *L. plantarum* muestra un comportamiento intermedio, con un incremento del ácido láctico desde aproximadamente 0,22 % hasta cerca de 0,60 % al finalizar el periodo experimental. Tras una fase inicial de aumento moderado, se observa un salto importante hacia valores alrededor de 0,43 %, seguido de ligeras fluctuaciones y un nuevo ascenso hasta estabilizarse próximo a 0,60 %. Este comportamiento indica que *L. plantarum* requiere una etapa de adaptación inicial, pero una vez establecida en la matriz láctea es capaz de mantener una producción de ácido láctico constante y suficiente como se muestra en la **figura 8**. Desde el punto de vista tecnológico, estos resultados sugieren que la cepa ofrece un equilibrio entre capacidad acidificante y moderación de la acidez final, lo que podría traducirse en productos con buena estabilidad microbiológica, pero con un perfil sensorial más aceptable para consumidores que prefieren bebidas lácteas probióticas menos ácidas.

Figura 8

Producción de ácido láctico de Lactobacillus plantarum.



Nota: *L. plantarum* muestra un aumento progresivo del porcentaje de ácido láctico a lo largo del tiempo. Parte alrededor de 0,22–0,25 % y llega a valores cercanos a 0,60 % al final del periodo. → Indica que la cepa mantiene una actividad fermentativa sostenida en la leche entera pasteurizada.

3.1.3. Determinación la viabilidad probiótica de las cepas y la estabilidad de los metabolitos funcionales durante el almacenamiento del producto fermentado en condiciones controladas.

3.1.3.1. Viabilidad probiótica.

Al comparar el comportamiento de las tres cepas, se observa que *W.cibaria* alcanza el mayor porcentaje de ácido láctico, lo que la posiciona como la de mayor capacidad acidificante dentro del sistema evaluado en la **tabla 3** *L. mesenteroides* y *L. plantarum* son ligeramente inferiores, más suaves y estables. Estas diferencias pueden estar asociadas a la variabilidad en el metabolismo de carbohidratos, la tolerancia al ácido y la adaptación específica de cada especie a la leche entera pasteurizada. Desde una perspectiva aplicada, *W. cibaria* sería una candidata idónea cuando se busca una rápida disminución de pH y un efecto conservante más marcado, mientras que *L. plantarum* y *L.*

mesenteroides resultarían especialmente interesantes para el desarrollo de productos probióticos en los que se privilegie un balance entre funcionalidad y aceptabilidad sensorial, ya que permiten alcanzar niveles adecuados de acidificación sin generar una acidez excesiva. En conjunto, los perfiles obtenidos respaldan el uso potencial de las tres cepas como cultivos probióticos en matrices lácteas, con roles complementarios según el objetivo tecnológico y sensorial del producto final.

Tabla 3

Evaluación de aceptabilidad de las bebidas fermentadas.

	cepa	<i>W. cibaria</i>	<i>L. mesenteroide</i>	<i>L. plantarum</i>
COLOR	Me disgusta mucho	0	0	0
	Me disgusta	0	1	3
	No me gusta ni me disgusta	8	4	5
	Me gusta	19	22	20
	Me gusta mucho	7	7	6
	cepa	<i>W. cibaria</i>	<i>L. mesenteroide</i>	<i>L. plantarum</i>
OLOR	Me disgusta mucho	2	2	0
	Me disgusta	5	2	9
	No me gusta ni me disgusta	13	8	9
	Me gusta	12	16	13
	Me gusta mucho	2	6	3
	cepa	<i>W. cibaria</i>	<i>L. mesenteroide</i>	<i>L. plantarum</i>
SABOR	Me disgusta mucho	0	7	3
	Me disgusta	7	7	9

	No me gusta ni me disgusta	11	9	6
	Me gusta	14	8	15
	Me gusta mucho	2	3	1
	cepa	<i>W. cibaria</i>	<i>L. mesenteroide</i>	<i>L. plantarum</i>
TEXTURA	Me disgusta mucho	0	0	1
	Me disgusta	1	13	7
	No me gusta ni me disgusta	8	9	7
	Me gusta	20	8	15
	Me gusta mucho	5	4	4
	cepa	<i>W. cibaria</i>	<i>L. mesenteroide</i>	<i>L. plantarum</i>
ACEPTABILIDAD	Me disgusta mucho	0	2	2
	Me disgusta	2	10	9
	No me gusta ni me disgusta	13	11	8
	Me gusta	17	9	13
	Me gusta mucho	2	2	2

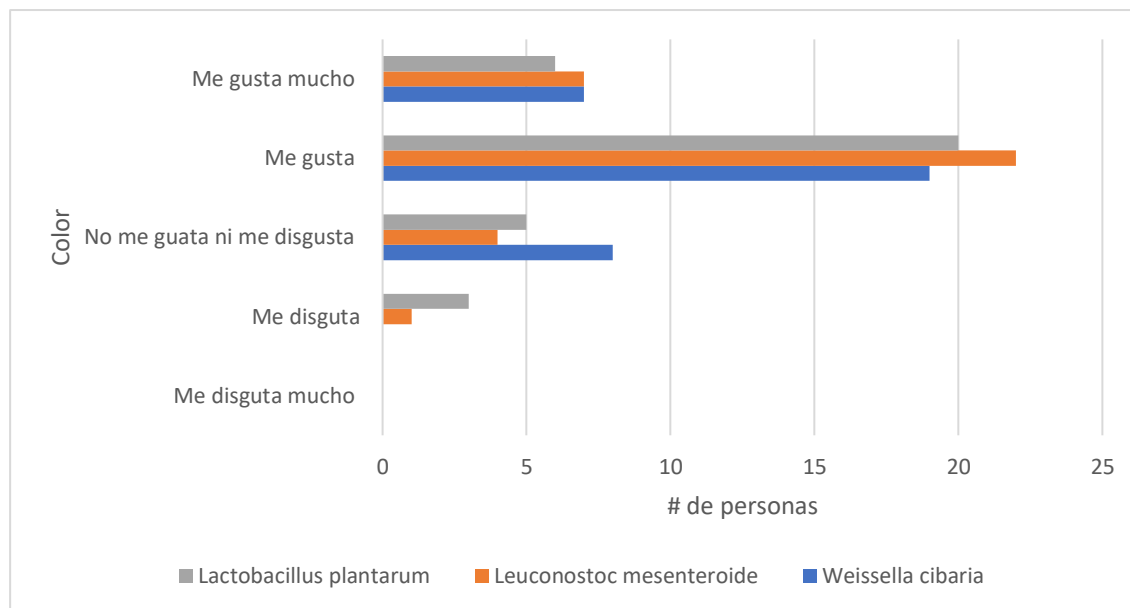
Nota: En la presente tabla se presentan los resultados de la captación de las tres cepas ácido lácticas teniendo en cuenta los parámetros básicos de viabilidad como color, olor, sabor, textura y aceptabilidad de dichas cepas.

En la evaluación del color como la **figura 9**, las tres formulaciones fermentadas presentaron un alto nivel de aceptación. La mayoría de los panelistas seleccionó las categorías “me gusta” y “me gusta mucho” para los tres tratamientos, con una ligera ventaja de la leche fermentada con *L. mesenteroides*, que concentró el mayor número de respuestas en “me gusta”. *L. plantarum* y *W. cibaria* mostraron un comportamiento muy similar, con predominio de valoraciones positivas y un número reducido de

respuestas neutrales. Las respuestas “me disgusta” y “me disgusta mucho” fueron escasas o prácticamente ausentes, lo que indica que, en términos de apariencia visual, todas las bebidas desarrollaron un color aceptable para el consumidor.

Figura 9

Evaluación sensorial de color de las tres cepas probióticas.

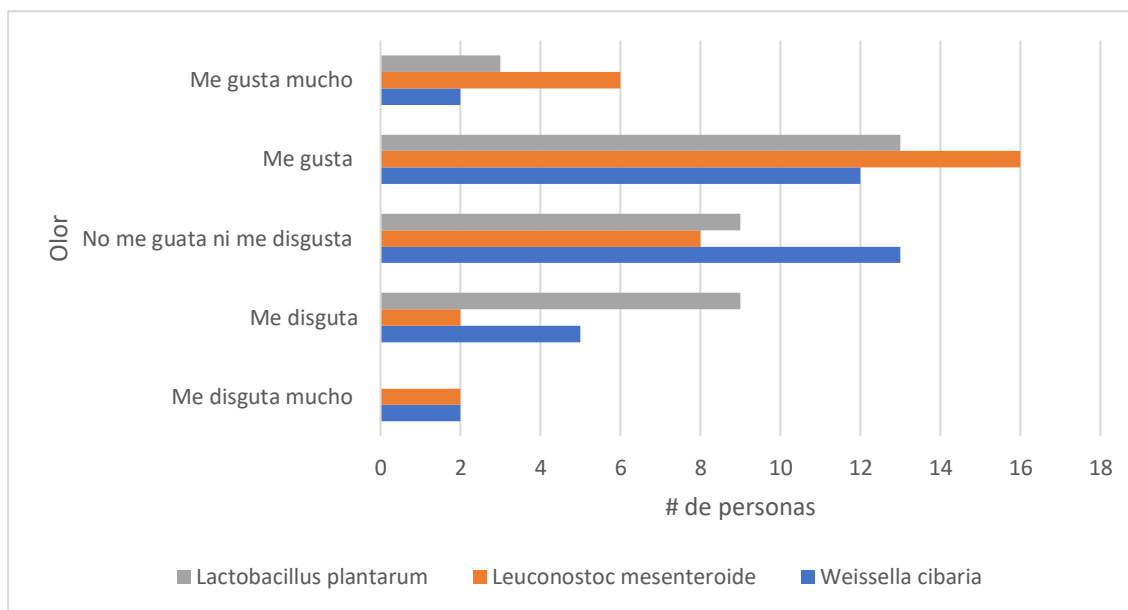


Nota: Captación de las tres cepas probióticas tomando en cuenta el color que se muestra. Evaluando en parámetros como, me gusta mucho, me gusta, no me gusta ni me disgusta, me disgusta, me disgusta mucho.

En cuanto al olor, se observó en la **figura 10**, una distribución más heterogénea de las respuestas. La formulación con *L. mesenteroides* recibió el mayor número de valoraciones en “me gusta” y “me gusta mucho”, lo que sugiere que su perfil aromático fue el más atractivo para el panel. La bebida con *W. cibaria* se caracterizó por una alta proporción de respuestas “no me gusta ni me disgusta”, indicando un olor percibido como neutro o poco intenso por parte de muchos jueces. En cambio, la formulación con *L. plantarum* presentó más respuestas en las categorías “me disgusta”, lo que sugiere la presencia de notas aromáticas menos agradables para una parte importante de los evaluadores. No obstante, en los tres casos predominaron las respuestas positivas o neutras, por lo que el olor, en general, fue aceptable.

Figura 10

Evaluación sensorial de olor de las tres cepas probióticas.

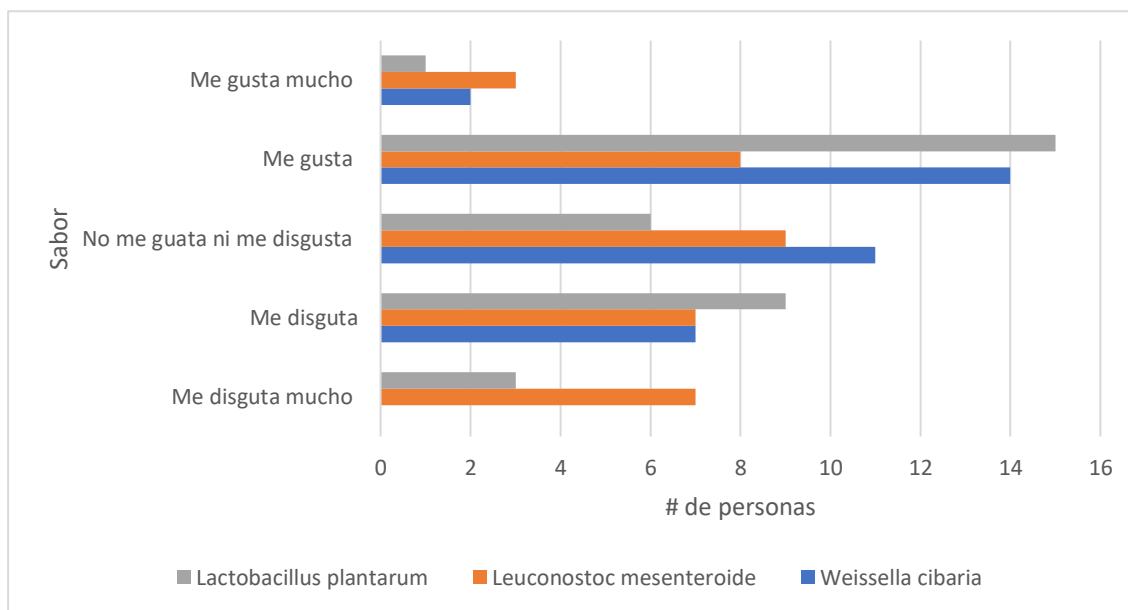


Nota: Captación de las tres cepas probióticas tomando en cuenta el olor que se muestra. Evaluando en parámetros como, me gusta mucho, me gusta, no me gusta ni me disgusta, me disgusta, me disgusta mucho.

Para el sabor, la bebida fermentada con *L. plantarum* mostró el mayor número de respuestas en “me gusta”, seguida muy de cerca por la formulación con *W. cibaria*, lo que indica que ambas cepas generan un perfil gustativo preferido por la mayoría de los consumidores. Sin embargo, *L. plantarum* también concentró una proporción considerable de respuestas en “me disgusta” y “me disgusta mucho”, lo que evidencia una reacción contrastante, a muchos panelistas les agradó, pero a otros les resultó poco aceptable. La formulación con *L. mesenteroides* obtuvo menos respuestas en “me gusta” y destacó por un número relativamente elevado de valoraciones en las categorías de rechazo, en especial “me disgusta mucho”, lo que sugiere que su perfil de acidez y compuestos saborizantes resultó menos atractivo para el grupo de prueba como en la **figura 11**.

Figura 11

Evaluación sensorial de sabor de las tres cepas probióticas.

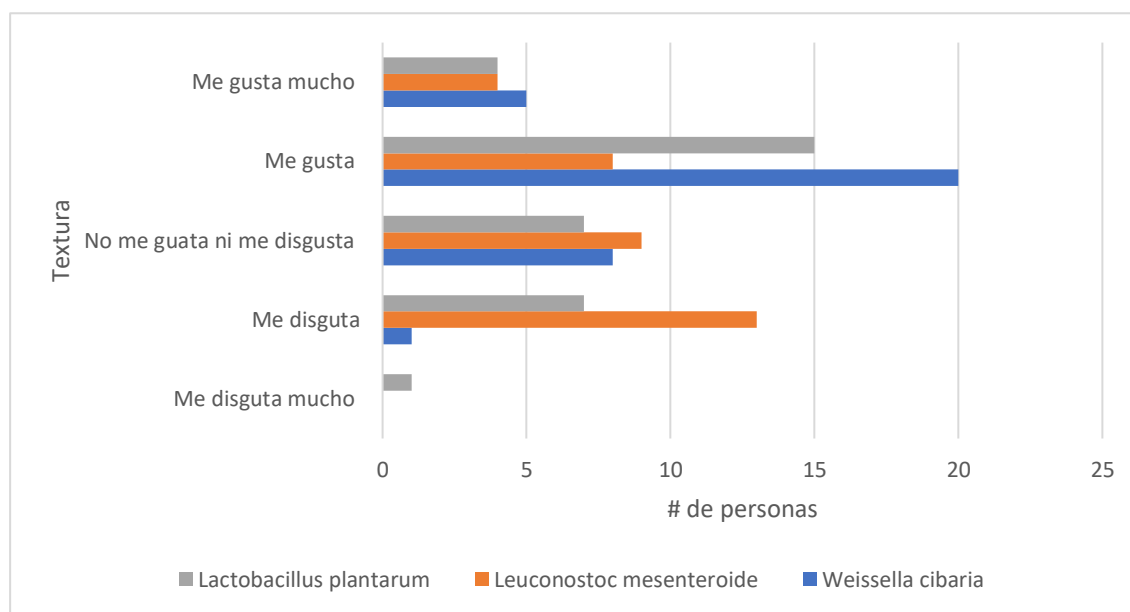


Nota: Captación de las tres cepas probióticas tomando en cuenta el sabor que se muestra. Evaluando en parámetros como, me gusta mucho, me gusta, no me gusta ni me disgusta, me disgusta, me disgusta mucho.

La textura fue el atributo donde se observaron diferencias más marcadas entre las cepas como la **figura 12**. La leche fermentada con *W. cibaria* concentró la mayor cantidad de respuestas positivas (“me gusta” y “me gusta mucho”) y prácticamente no recibió valoraciones extremas de rechazo, lo que indica una sensación en boca homogénea y agradable (probablemente asociada a una viscosidad y cremosidad adecuadas). *L. plantarum* mostró un comportamiento intermedio, con un buen número de respuestas positivas pero también una fracción de panelistas que indicó “me disgusta”. En contraste, la formulación con *L. mesenteroides* presentó la mayor proporción de respuestas negativas en textura, especialmente en “me disgusta”, lo que sugiere problemas de consistencia (posible sinéresis, granulosidad o falta de uniformidad) que afectaron la percepción sensorial.

Figura 12

Evaluación sensorial de textura de las tres cepas probióticas.

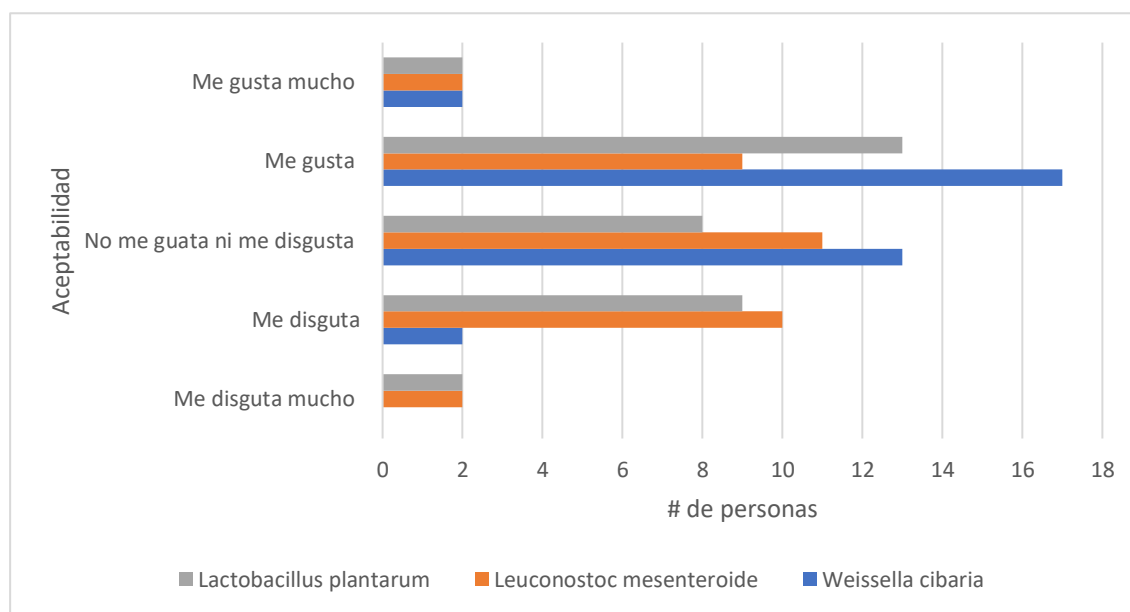


Nota: Captación de las tres cepas probióticas tomando en cuenta la textura que se muestra. Evaluando en parámetros como, me gusta mucho, me gusta, no me gusta ni me disgusta, me disgusta, me disgusta mucho.

En la aceptabilidad global, la formulación elaborada con *W. cibaria* fue claramente la mejor valorada, concentrando el mayor número de respuestas en “me gusta” y prácticamente sin valoraciones extremas de rechazo. *L. plantarum* ocupó una posición intermedia: si bien una proporción importante de panelistas indicó “me gusta”, también se registró un número considerable de respuestas “me disgusta” y “me disgusta mucho”. Por su parte, la bebida con *L. mesenteroides* presentó menores frecuencias en “me gusta” y una mayor acumulación de respuestas en “no me gusta ni me disgusta” y “me disgusta”, lo que indica una aceptabilidad más limitada frente a las otras dos formulaciones así como lo presento en la **figura 13**.

Figura 13

Evaluación sensorial de aceptabilidad de las tres cepas probióticas.



Nota: Captación de las tres cepas probióticas tomando en cuenta la aceptabilidad que se muestra. Evaluando en parámetros como, me gusta mucho, me gusta, no me gusta ni me disgusta, me disgusta, me disgusta mucho.

De manera integrada, los resultados sensoriales muestran que las tres cepas ácido-lácticas generan productos con buena aceptación visual, pero difieren en su desempeño en los atributos de olor, sabor, textura y aceptabilidad global. *L. mesenteroides* destaca ligeramente en color y olor, sin embargo el sabor y textura no son tan aceptables como es el caso de *w. cibaria*, lo que repercute en una menor aceptabilidad general. *L. plantarum* ofrece un buen equilibrio en color y sabor, aunque su olor y textura no son tan apreciados por todos los panelistas, dando lugar a respuestas más polarizadas. En cambio, *W. cibaria* sobresale principalmente en textura y aceptabilidad global, con un número reducido de respuestas de rechazo y un alto porcentaje de valoraciones positivas, lo que la posiciona como la cepa con el mejor desempeño sensorial integral en la leche entera pasteurizada. Estos hallazgos respaldan el uso de *W. cibaria* como microorganismo de elección para el desarrollo de bebidas lácteas probióticas, mientras que *L. plantarum* y *L. mesenteroides* podrían emplearse de forma complementaria o en mezclas, ajustando las condiciones de fermentación para mejorar aquellos atributos sensoriales menos valorados

CAPÍTULO IV- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

4.1. CONCLUSIONES.

La evaluación de la actividad probiótica de *Weissella cibaria*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus plantarum* en leche entera pasteurizada permite que las tres cepas presentan un comportamiento compatible con el concepto de alimento funcional probiótico. A lo largo del periodo de fermentación y almacenamiento se mantuvieron recuentos superiores al umbral mínimo recomendado ($\geq 10^6$ – 10^7 UFC/mL), lo que garantiza una carga bacteriana suficiente para ejercer un potencial efecto benéfico sobre el consumidor. Paralelamente, se observó una acidificación progresiva de la matriz láctea, con descensos de pH desde valores cercanos a 4,4–4,7 hasta rangos típicos de leches fermentadas, lo que contribuye tanto a la estabilidad microbiológica como a la generación de características sensoriales propias de este tipo de productos. La producción de ácido láctico y la presencia de señales atribuibles a metabolitos funcionales en los espectros FTIR respaldan la capacidad de estas cepas para transformar la leche en una bebida con mayor valor agregado. En conjunto, los resultados confirman que la leche entera pasteurizada constituye una matriz adecuada para el desarrollo de productos probióticos empleando estas bacterias ácido-lácticas.

La comparación entre *W. cibaria*, *L. mesenteroides* y *L. plantarum* evidenció que, si bien las tres cepas alcanzan viabilidades similares en términos de orden de magnitud, existen diferencias en la cinética de crecimiento y en la intensidad de los cambios fisicoquímicos inducidos en la leche. *W. cibaria* se destacó por presentar una mayor capacidad acidificante, reflejada en un descenso más pronunciado del pH y en una mayor producción de ácido láctico al final de la fermentación, lo que sugiere una actividad metabólica intensa y una mayor transformación de los azúcares presentes en la matriz. *L. mesenteroides* mostró una acidificación más moderada y estable, lo que podría ser ventajoso para formulaciones que requieren acidez menos marcada y mejor balance sensorial. Por su parte, *L. plantarum* presentó un comportamiento intermedio, combinando buena viabilidad con una acidificación adecuada. Los espectros FTIR registraron señales asociadas a lactato, carbohidratos transformados y posibles exopolisacáridos, sin evidenciar picos dominantes de ácidos grasos libres, lo que indica una fermentación controlada y la formación de metabolitos funcionales que contribuyen a la estructura y estabilidad del producto.

El monitoreo de las bebidas fermentadas durante el almacenamiento refrigerado permitió verificar que las tres formulaciones conservaron recuentos bacterianos por encima del umbral probiótico hasta el final del periodo evaluado, lo que demuestra una buena estabilidad de las cepas en condiciones de refrigeración. El pH se mantuvo en rangos compatibles con la seguridad microbiológica y con las características esperadas de leches fermentadas, sin observarse descensos extremos que pudieran comprometer la aceptabilidad sensorial. De igual manera, la concentración de ácido láctico tendió a estabilizarse, indicando que la actividad metabólica se ralentiza pero no desaparece completamente, permitiendo conservar las propiedades funcionales del producto a lo largo del tiempo. Los análisis por FTIR sugieren que los grupos funcionales asociados a los metabolitos generados durante la fermentación se mantienen presentes durante el almacenamiento, lo cual respalda la estabilidad de la fracción funcional del sistema. Finalmente, los resultados de la evaluación sensorial, que ubicaron a *W. cibaria* como la cepa con mejor aceptación global y a *L. plantarum* y *L. mesenteroides* como alternativas con perfiles complementarios, confirman que es posible desarrollar productos probióticos estables, viables y sensorialmente aceptables utilizando estas tres cepas ácido-lácticas de manera individual o en combinación.

4.2. RECOMENDACIONES.

Evaluar mezclas de *W. cibaria* con *L. plantarum* y/o *L. mesenteroides* con el fin de modular la acidez final y optimizar simultáneamente la estabilidad microbiológica y el perfil sensorial (sabor, olor, textura, sabor, aceptabilidad), aprovechando el carácter fermentativo y productor de compuestos aromáticos de estas cepas.

Realizar estudios adicionales variando temperatura y tiempo de fermentación (por ejemplo, rangos más cercanos a los óptimos de crecimiento de *L. plantarum*), para reducir el tiempo de proceso industrial manteniendo recuentos probióticos adecuados y niveles de pH compatibles con la seguridad microbiológica.

Complementar el análisis por FTIR con técnicas cuantitativas específicas (por ejemplo, cromatografía para ácidos grasos) que permitan confirmar y precisar la naturaleza y concentración de los metabolitos funcionales generados durante la fermentación y el almacenamiento.

Repetir la evaluación sensorial con paneles más amplios y segmentados por grupo etario o preferencias de consumo, incorporando análisis descriptivo más detallado para definir con mayor precisión el perfil de consumidor objetivo de cada formulación.

Explorar la escalabilidad del proceso en colaboración con pequeñas y medianas industrias lácteas de la región, evaluando aspectos de costo, vida útil comercial y aceptación del producto en mercado real, aprovechando el potencial de estas cepas para generar alimentos funcionales con valor agregado para la población.

5. MATERIAL DE REFERENCIA.

5.1. Referencias bibliográficas

- Adesulu-Dahunsi, A. T., Sanni, A. I., & Jeyaram, K. (2018). Production, characterization and in vitro antioxidant activities of exopolysaccharide from *Weissella cibaria* GA44. *LWT – Food Science and Technology*, 87, 432–442.
- Andronie, L., Coroian, A., Sobolu, R., Longodor, A. L., Pop, I., & Odagiu, A. (2019). Assessment of buffalo milk nutritional composition using FT-IR spectroscopy. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, 62(1), 279–283.
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Ariute, J. C., Coelho-Rocha, N. D., Dantas, C. W. D., de Vasconcelos, L. A. T., Profeta, R., de Jesus Sousa, T., de Souza Novaes, A., Galotti, B., Gomes, L. G., Gimenez, E. G. T., Diniz, C., Dias, M. V., de Jesus, L. C. L., Jaiswal, A. K., Tiwari, S., Carvalho, R., Benko-Iseppon, A. M., Brenig, B., Azevedo, V., Barh, D., ... Aburjaile, F. (2025). Probiogenomics of *Leuconostoc Mesenteroides* Strains F-21 and F-22 Isolated from Human Breast Milk Reveal Beneficial Properties. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 17(2), 500–515. <https://doi.org/10.1007/s12602-023-10170-7>
- Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., da Silva, R. C., & Ibrahim, S. A. (2022). Lactic acid bacteria: An essential probiotic and starter culture for the production of yoghurt. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(11), 7008–7024.
- Bae, C.-I., Gwak, Y.-S., Nam, D., Nam, T. G., Kim, H.-S., & Kim, M.-J. (2025). Formulation of a Functional Probiotic Beverage Using Maesil (*Prunus mume*) Syrup By-Product Fermented by *Lactiplantibacillus plantarum* KFOM 0042. *Fermentation*, 11(7), 368. <https://doi.org/10.3390/fermentation11070368>
- Bahadi, M., Ismail, A. A., Boudalia, S., Sok, J., & Vasseur, E. (2021). Fourier transform infrared spectroscopy as a tool to study milk composition changes in dairy cows attributed to housing modifications to improve animal welfare. *Foods*, 10(2), 450. <https://doi.org/10.3390/foods10020450>

- Bancalari, E., Classen, T., Levante, A., De Noni, I., & Gatti, M. (2020). Ability of a wild *Weissella* strain to modify viscosity of fermented milk. *Frontiers in Microbiology*, 11, 3086.
- Bisson, G., Comuzzi, C., Giordani, E., Poletti, D., Boaro, M., & Marino, M. (2023). An exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* showing interesting bioactivities versus foodborne microbial targets. *Carbohydrate Polymers*, 301, 120363. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120363>.
- Bouzaïene, T., Mohamedhen Vall, M., Ziadi, M., Ben Rejeb, I., Yangui, I., Aydi, A., Ouzari, I., & Moktar, H. (2024). Exopolysaccharides from *Lactiplantibacillus plantarum* C7 exhibited antibacterial, antioxidant, anti-enzymatic, and prebiotic activities. *Fermentation*, 10(7), 339.
- Candeliere, F., Cetrullo, S., & Tabanelli, G. (2024). The metabolism of *Leuconostoc* genus decoded by multi-omics approaches. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1402575. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1402575>
- Carlosama, A. M. (2022). Viabilidad de *Weissella cibaria* durante los procesos de fermentación y almacenamiento en matrices alimentarias [Tesis de maestría, Universidad Técnica].
- Cenci-Goga, B. T., Sechi, P., Iulietto, M. F., Amirjalali, S., Barbera, S., Karama, M., Aly, S. S., & Grispoldi, L. (2020). Characterization and Growth under Different Storage Temperatures of Ropy Slime-Producing *Leuconostoc mesenteroides* Isolated from Cooked Meat Products. *Journal of food protection*, 83(6), 1043–1049. <https://doi.org/10.4315/JFP-19-521>
- Cevallos Álvarez, N. M. (2024). Obtención de cepas probióticas a partir de diferentes sustratos de origen orgánico de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador [Trabajo final de graduación, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional UTA. <https://repositorio.uta.edu.ec/items/8a43f048-c61a-436b-99e6-5567676854d6>
- Chakraborty, P., Hazarika, S., Nath, D. R., & Dutta, R. K. (2020). Understanding the effect of milk composition and milking season on the quality of chhana using FTIR and rheology. *International Journal of Dairy Technology*, 73(3), 509–519.
- Cirat, R., Benmechernene, Z., Cunedioğlu, H., Rutigliano, M., Scauro, A., Abderrahmani, K., Mebrouk, K., Capozzi, V., Spano, G., la Gatta, B., Rocchetti, M. T., Fiocco, D., & Fragasso, M. (2024). Cross-Over Application of Algerian Dairy Lactic Acid Bacteria for the Design of Plant-Based Products: Characterization of *Weissella cibaria* and *Lactiplantibacillus*

- plantarum for the Formulation of Quinoa-Based Beverage. *Microorganisms*, 12(10), 2042. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12102042>
- Divnych, A., & Lytvyn, O. (2025). Fermented dairy products for healthy ageing. *Aging and Longevity*, 1(2), 45–56.
- Dumpler, J., Huppertz, T., & Kulozik, U. (2020). Invited review: Heat stability of milk and concentrated milk: Past, present, and future research objectives. *Journal of dairy science*, 103(12), 10986–11007. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18605>
- Erdem, T. K., & Dogan, M. (2023). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: A review of their structure, production and functional properties. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 11(3), 5213.
- Erem, E., Taban, N., & Taban, B. (2024). The role of fermentation with lactic acid bacteria in quality and safety of dairy products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(2), 2833–2859.
- Filopoulou, A., Vlachou, S., & Boyatzis, S. C. (2021). Fatty acids and their metal salts: A review of their infrared spectra in light of their presence in cultural heritage. *Molecules*, 26(19), 6005. <https://doi.org/10.3390/molecules26196005>.
- Foti, P., Romeo, F. V., Sciuto, G., Strano, M. C., Allegra, M., Russo, N., & Caggia, C. (2025). Postbiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Strains in Functional Minimally Processed Oranges. *Applied Sciences*, 15(12), 6736. <https://doi.org/10.3390/app15126736>.
- Fugaban, J. I. I., Jung, E. S., Todorov, S. D., & Holzapfel, W. H. (2023). Evaluation of Antifungal Metabolites Produced by Lactic Acid Bacteria. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 15(5), 1447–1463. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09995-5>
- Garcia-Gonzalez, N., Battista, N., Prete, R., & Corsetti, A. (2021). Health-promoting role of *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from fermented foods. *Microorganisms*, 9(2), 349. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020349>
- Ge, Y., Wu, H., Zhang, T., & Chen, J. (2024). Fermentation characteristics and postacidification of yogurt are affected by the microbial ratio of starter cultures. *Journal of Dairy Science*, 107(7), 1–13. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24166>

- Gizachew, S., Van Beeck, W., Spacova, I., Dekeukeleire, M., Alemu, A., Mihret, W., Lebeer, S., & Engidawork, E. (2023). Characterization of potential probiotic starter cultures of lactic acid bacteria isolated from Ethiopian fermented cereal beverages, Naaqe, and Cheka. *Journal of applied microbiology*, 134(11), lxad237. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad237>
- Gökmen, G. G., Çelik, E., & Tüzün, A. (2024). A novel *Lactiplantibacillus plantarum* strain: Probiotic properties and optimal growth conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40, 173. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03862-3>
- Grewal, M. K., Chandrapala, J., Donkor, O., Apostolopoulos, V., Stojanovska, L., & Vasiljevic, T. (2017). Fourier transform infrared spectroscopy analysis of physicochemical changes in UHT milk during accelerated storage. *International Dairy Journal*, 66, 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.11.010>
- Gu, M., Nguyen, H. T., Cho, J. H., Suh, J. W., & Cheng, J. (2023). Characterization of *Leuconostoc mesenteroides* MJM60376 as an oral probiotic and its antibiofilm activity. *Molecular oral microbiology*, 38(2), 145–157. <https://doi.org/10.1111/omi.12397>
- Guarner, F., et al. (2023). World Gastroenterology Organisation global guidelines: Probiotics and prebiotics. World Gastroenterology Organisation.
- Hernández-Alcántara, A. M., Chiva, R., Mohedano, M. L., Russo, P., Ruiz-Masó, J. Á., Del Solar, G., Spano, G., Tamame, M., & López, P. (2022). *Weissella cibaria* riboflavin-overproducing and dextran-producing strains useful for the development of functional bread. *Frontiers in nutrition*, 9, 978831. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.978831>
- Horáčková, Š., Šimůnek, J., & Tůma, P. (2022). Use of *Lactiplantibacillus plantarum* for dairy and non-dairy fermented beverages. *Czech Journal of Food Sciences*, 40(5), 381–389.
- Hu, Y., Xie, Y., Su, Q., Fu, J., Chen, J., & Liu, Y. (2023). Probiotic and Safety Evaluation of Twelve Lactic Acid Bacteria as Future Probiotics. *Foodborne pathogens and disease*, 20(11), 521–530. <https://doi.org/10.1089/fpd.2023.0039>
- Huang, Q., Ye, H., Yang, Y., Zhu, C., & Tang, J. (2025). Physicochemical properties, antioxidant activities, and aromatic profile of yogurt co-fermented by *Weissella cibaria* G232 with traditional starters. *Foods*, 14(9), 1607.

- Ismael, M., Gu, Y., Cui, Y., Wang, T., Yue, F., Yantin, Q., & Lü, X. (2022). Lactic acid bacteria isolated from Chinese traditional fermented milk as novel probiotic strains and their potential therapeutic applications. *3 Biotech*, 12(12), 337. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03403-z>
- Jeong, S., Kim, Y., Park, S., Lee, D., Lee, J., Hlaing, S. P., Yoo, J. W., Rhee, S. H., & Im, E. (2023). Lactobacillus plantarum Metabolites Elicit Anticancer Effects by Inhibiting Autophagy-Related Responses. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(4), 1890. <https://doi.org/10.3390/molecules28041890>
- Jongenburger, I., Reij, M. W., Boer, E. P., Gorris, L. G., & Zwietering, M. H. (2010). Factors influencing the accuracy of the plating method used to enumerate low numbers of viable micro-organisms in food. *International journal of food microbiology*, 143(1-2), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.025>
- Jurášková, D., Perni, S., De Silva, S. R., & Jaros, D. (2024). Exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* SJC113 and its potential applications in food. *Fermentation*, 10(3), 40. <https://doi.org/10.3390/fermentation10030040>
- Kanauchi M. (2024). Hydroxylation of Fatty Acids by Lactic Acid Bacteria. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 2851, 107–114. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4096-8_9
- Kang, C. E., Park, Y. J., Kim, J. H., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2023). Probiotic *Weissella cibaria* displays antibacterial and anti-biofilm effect against cavity-causing *Streptococcus* mutans. *Microbial pathogenesis*, 180, 106151. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106151>
- Kaur, H., Kaur, G., & Ali, S. A. (2022). Dairy-based probiotic-fermented functional foods: An update on their health-promoting properties. *Fermentation*, 8(9), 425. <https://doi.org/10.3390/fermentation8090425>.
- Klimko, A. I., Cherdynitseva, T. A., Brioukhanov, A. L., & Netrusov, A. I. (2020). In Vitro Evaluation of Probiotic Potential of Selected Lactic Acid Bacteria Strains. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12(3), 1139–1148. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09599-6>
- Korotkevich, A. A., Moll, C. J., Versluis, J., & Bakker, H. J. (2023). Molecular Orientation of Carboxylate Anions at the Water-Air Interface Studied with Heterodyne-Detected

- Vibrational Sum-Frequency Generation. *The journal of physical chemistry. B*, 127(20), 4544–4553. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c08992>
- Kowsalya, M., & coautores. (2023). Extraction and characterization of exopolysaccharides from *Lactiplantibacillus plantarum* and evaluation of their functional properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 226, 113298.
- Li, J., Xu, H., Zhang, X., & Chen, W. (2022). Structural characterization of exopolysaccharides from *Weissella cibaria* NC516.11 and their functional properties. *Carbohydrate Polymers*, 281, 119040.
- Li, Y., Liu, Y., Cao, C., Zhu, X., Wang, C., Wu, R., ... Wu, J. (2020). Extraction and biological activity of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc mesenteroides* SN-8. *International Journal of Biological Macromolecules*, 157, 36–44.
- Llamas-Arriba, M. G., Hernández-Alcántara, A. M., Mohedano, M. L., Chiva, R., Celador-Lera, L., Velázquez, E., Prieto, A., Dueñas, M. T., Tamame, M., & López, P. (2021). Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Doughs in Spain Produce Dextrins and Riboflavin. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(9), 2004. <https://doi.org/10.3390/foods10092004>
- Ma, W., Liu, X., Jing, Y., Zhang, M., Zhang, X., Wang, C., Khan, M. Z., & Zhu, M. (2025). *Weissella*: From Beneficial Probiotics to Opportunistic Pathogens-A Review. *Nutrients*, 17(19), 3162. <https://doi.org/10.3390/nu17193162>
- Mesgaran, S. D., Eggert, A., Höckels, P., Derno, M., & Kuhla, B. (2020). The use of milk Fourier transform mid-infrared spectra and milk yield to estimate heat production as a measure of efficiency of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(8), 7134–7146. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18024>
- Meybodi, N. M., Mortazavian, A. M., Arab, M., & Nematollahi, A. (2020). Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. *Food Research International*, 136, 109479. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109479>
- Mo, S. J., Lee, K., Hong, H. J., Hong, D. K., Jung, S. H., Park, S. D., Shim, J. J., & Lee, J. L. (2022). Effects of *Lactobacillus curvatus* HY7601 and *Lactobacillus plantarum* KY1032 on Overweight and the Gut Microbiota in Humans: Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Nutrients*, 14(12), 2484. <https://doi.org/10.3390/nu14122484>

- Palanivelu, J., Thanigaivel, S., Vickram, S., Dey, N., Mihaylova, D., & Desseva, I. (2022). Probiotics in functional foods: Survival assessment and approaches for improved viability. *Applied Sciences*, 12(1), 455. <https://doi.org/10.3390/app12010455>
- Papadopoulou, O. S., Argyri, A. A., Varzakas, T., Tassou, C. C., & Chorianopoulos, N. G. (2021). Use of Fourier transform infrared spectroscopy for monitoring the shelf life and safety of yogurts supplemented with a *Lactobacillus plantarum* strain with probiotic potential. *Frontiers in Microbiology*, 12, 678356.
- Park, I., & Kim, J. (2025). Fermented foods as functional systems: Microbial metabolism and health benefits. *Fermentation*, 11(1), 15.
- Păucean, A., Man, S., Chiș, M., Mureșan, C., & Muste, S. (2014). Monitoring the evolution of major chemical compound in dairy products during shelf-life by FTIR. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca – Food Science and Technology*, 71(2), 137–141.
- Pham, M. T., Tran, T. D., & Zayabaatar, E. (2022). *Leuconostoc mesenteroides* utilizes glucose fermentation to produce electricity and ameliorates high-fat diet-induced abdominal fat mass. *Archives of microbiology*, 204(11), 670. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03281-2>
- Queiroz, C. S. de, Rekowsky, B. S. dos S., Salgado, M. J. G., Lopes, M. F. B. da H., Souza, M. R. de, Costa, M. P. da, & Silva, J. G. da. (2025). Development of fermented milks with *Lactobacillus casei* B5 and *Lactiplantibacillus plantarum* B7 isolated from Minas artisanal cheese. *Fermentation*, 11(10), 560. <https://doi.org/10.3390/fermentation11100560>
- Rachah, A., Coroian, A., Pistol, G. C., & Gavrilăș, L. (2021). Exploring dry-film FTIR spectroscopy to characterize milk composition and detect subclinical ketosis in dairy cows. *Foods*, 10(9), 2033.
- Rezvani, F., Ardestani, F., & Najafpour, G. (2017). Growth kinetic models of five species of *Lactobacilli* and lactose consumption in batch submerged culture. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 48(2), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.12.007>
- Richardson, Z., Perez-Guaita, D., Kochan, K., & Wood, B. R. (2019). Determining the age of spoiled milk from dried films using attenuated total reflection Fourier transform infrared (ATR-

- FTIR) spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 73(9), 1041–1050. <https://doi.org/10.1177/0003702819842548>
- Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., de los Reyes-Gavilán, C. G., & Salazar, N. (2016). Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Frontiers in Microbiology*, 7, 185. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00185>
- Ruiz-Ramírez, Y., Valadez-Blanco, R., Calderón-García, C., Chikindas, M. L., & Ponce-Alquicira, E. (2023). Probiotic and functional potential of lactic acid bacteria isolated from pulque and evaluation of their safety for food applications. *Frontiers in microbiology*, 14, 1241581. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1241581>
- Russo, P., De Simone, N., Capozzi, V., Mohedano, M. L., Ruiz-Masó, J. Á., Del Solar, G., López, P., & Spano, G. (2021). Selection of Riboflavin Overproducing Strains of Lactic Acid Bacteria and Riboflavin Direct Quantification by Fluorescence. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 2280, 3–14. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1286-6_1
- Santander-Cortés, A. I., & Castro-Rosas, J. (2024). Aislamiento de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico de alimentos fermentados típicos de México: Una revisión. *Pädi*, 11(22). <https://doi.org/10.29057/icbi.v11i22.11072>
- Sawant, S. S., & Tamhane, V. A. (2025). Microbial fermentation in food: Impact on functional properties and public health. *Fermentation*, 11(1), 15.
- Schifano, E., Tomassini, A., Preziosi, A., Montes, J., Aureli, W., Mancini, P., Miccheli, A., & Uccelletti, D. (2021). *Leuconostoc mesenteroides* Strains Isolated from Carrots Show Probiotic Features. *Microorganisms*, 9(11), 2290. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112290>
- Stefańska, I., Kwiecień, E., Józwiak-Piasecka, K., Garbowska, M., Binek, M., & Rzewuska, M. (2021). Antimicrobial Susceptibility of Lactic Acid Bacteria Strains of Potential Use as Feed Additives - The Basic Safety and Usefulness Criterion. *Frontiers in veterinary science*, 8, 687071. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.687071>
- Tan, X., et al. (2024). Characterization of exopolysaccharides from *Lactiplantibacillus plantarum* PC715 and their antibiofilm activity against *Hafnia alvei*. *Foods*, 13(x), xx–xx.

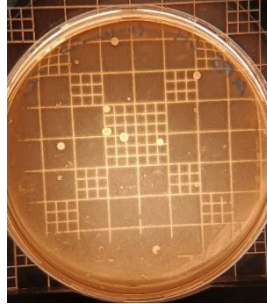
- Uçar, B., Gholami, Z., Svobodová, K., Hradecká, I., & Hönig, V. (2024). A comprehensive study for determination of free fatty acids in selected biological materials: A review. *Foods*, 13(12), 1891. <https://doi.org/10.3390/foods13121891>
- Uppuluri, K., Lazouskaya, M., Szwagierczak, D., Zaraska, K., & Tamm, M. (2021). Fabrication, Potentiometric Characterization, and Application of Screen-Printed RuO₂ pH Electrodes for Water Quality Testing. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 21(16), 5399. <https://doi.org/10.3390/s21165399>
- Urcan, A. C., Criste, A. D., Bobiş, O., Cornea-Cipcigan, M., Giurgiu, A. I., & Dezmirean, D. S. (2024). Evaluation of Functional Properties of Some Lactic Acid Bacteria Strains for Probiotic Applications in Apiculture. *Microorganisms*, 12(6), 1249. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061249>
- Vera-Peña, M. Y., Sánchez-Pardo, M. E., & Gutiérrez-López, G. F. (2020). Effect of pH on the growth of three lactic acid bacteria strains isolated from sour cream. *Universitas Scientiarum*, 25(2), 341–358.
- Wang, L., Gu, Y., Zheng, X., Zhang, Y., Deng, K., Wu, T., & Cheng, H. (2021). Analysis of physicochemical properties of exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* strain XR1 and its application in fermented milk. *LWT – Food Science and Technology*, 146, 111449.
- Wu, J., Ji, H., Wang, L., He, Z., Liang, R., & Chen, Y. (2021). Purification, structural characteristics, and biological activities of exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* SN-8. *Frontiers in Microbiology*, 12, 644226. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.644226>
- Yamamoto, M., Yamamoto, Y., & Ueda, M. (2022). In vitro antioxidant, anti-glycation, and bile acid-lowering properties of pineapple juice fermented with *Lactiplantibacillus plantarum* Kinko-SU4. *Heliyon*, 8(9), e10435.
- Yang, Y., Wang, H., Yang, Y., Hu, B., & Chen, Y. (2024). Exploration of exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* HDE-8: Unveiling structure, bioactivity, and food industry applications. *Polymers*, 16(7), 954. <https://doi.org/10.3390/polym16070954>

- Ye, G., Wang, H., Zhang, Y., & Zhang, J. (2018). Purification and characterization of exopolysaccharide produced by *Weissella cibaria* YB-1 isolated from Chinese cabbage. *Carbohydrate Polymers*, 193, 132–140.
- Yu, L., Zhang, Y., Zhang, X., Wang, M., & Li, Y. (2023). Purification, characterization and probiotic proliferation activity of an exopolysaccharide from *Lactiplantibacillus plantarum* HDC-01. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1210302.
- Zannini, E., Jeske, S., Lynch, K. M., & Arendt, E. K. (2018). Development of novel quinoa-based yoghurt fermented with dextran producer *Weissella cibaria* MG1. *International journal of food microbiology*, 268, 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.001>
- Zhang, F., Wang, L., Zhang, Z., Zheng, B., Zhang, Y., & Pan, L. (2023). A novel exopolysaccharide from *Weissella cibaria* FAFU821: Structural characterization and cryoprotective activity. *Food chemistry: X*, 20, 100955. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100955>
- Zhang, K., Li, J., & Zhao, M. (2024). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, biosynthesis and applications. *Carbohydrate Polymers*, 321, 121357. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.12135>

6. ANEXOS.

Anexo 1

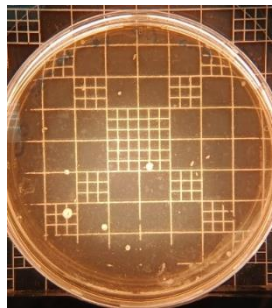
Multiplicación de la cepa L. mesenteroide.



Nota: Primer cultivo de multiplicación en agar MRS de la cepa L. mesenteroide.

Anexo 2

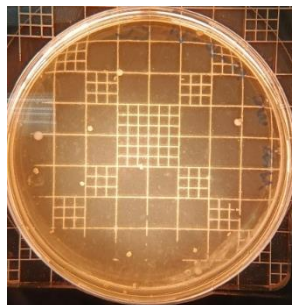
Multiplicación de la cepa L. plantarum.



Nota: Primer cultivo de multiplicación en agar MRS de la cepa L. plantarum.

Anexo 3

Multiplicación de W. cibaria



Nota: Primer cultivo de multiplicación en agar MRS de la cepa W. cibaria.

Anexo 4

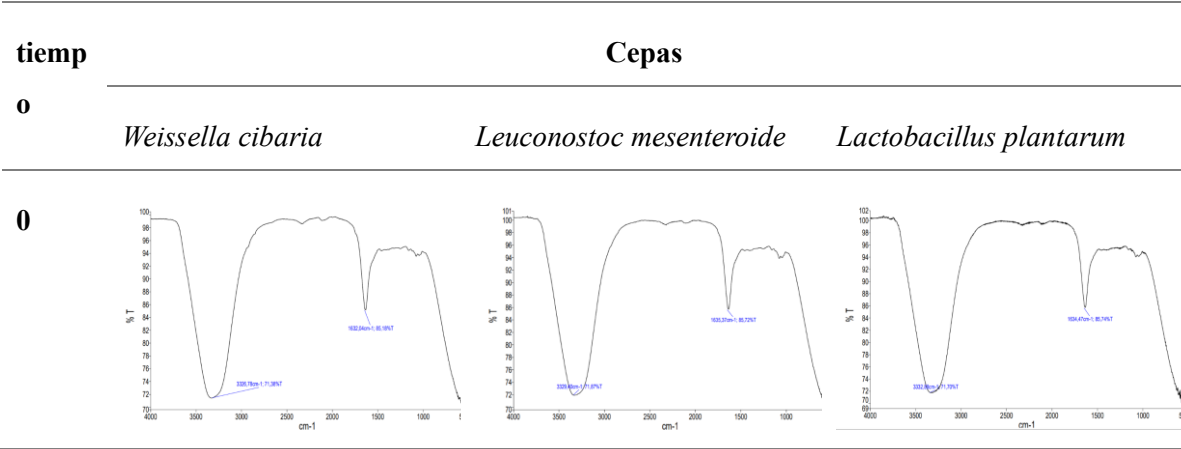
pH de las cepas probióticas

Tiempo	<i>W. cibaria</i>	<i>L. mesenteroide</i>	<i>L. plantarum</i>
0	6,7	6,7	6,7
24	6,5	6,6	6,6
96	6,2	6,4	6,6
144	5,9	6,1	6,4
192	5,7	5,9	6,0
264	5,4	5,8	5,6
312	5,3	5,4	5,4
360	4,8	4,9	4,9
480	4,4	4,7	4,5

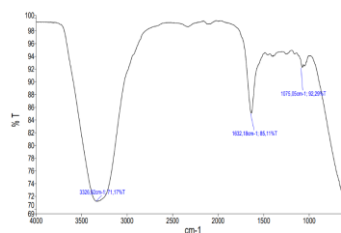
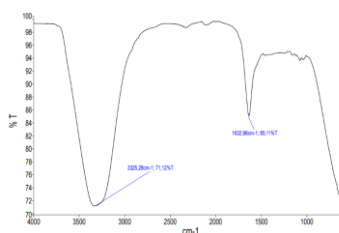
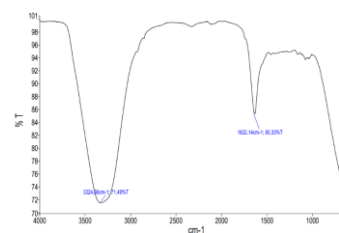
Nota: Control periódico de pH en las cepas probióticas

Anexo 5

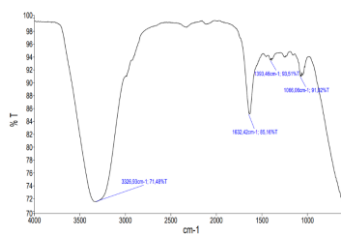
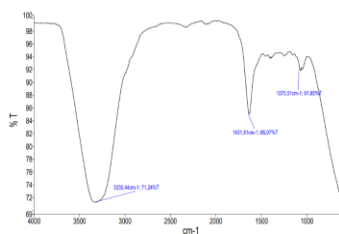
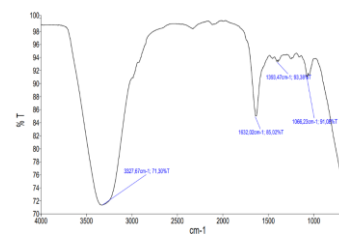
Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).



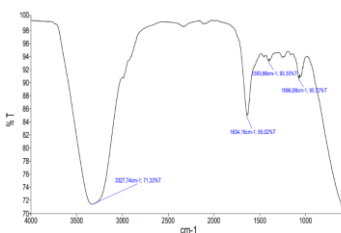
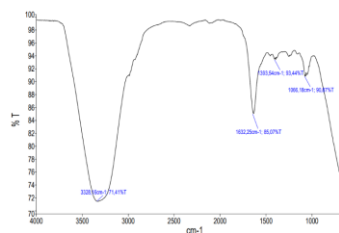
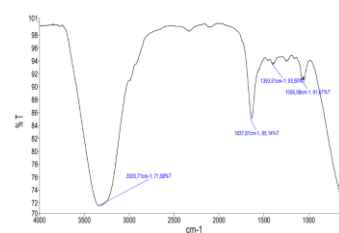
24



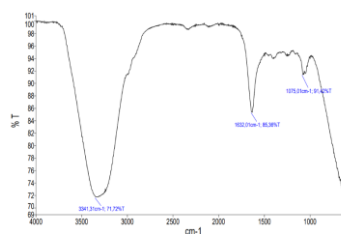
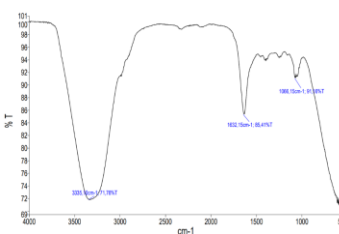
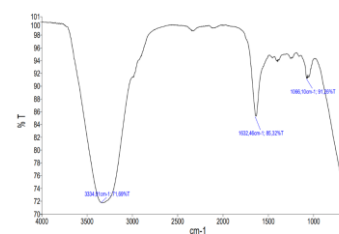
96



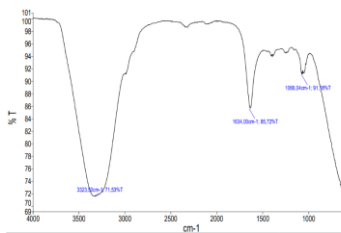
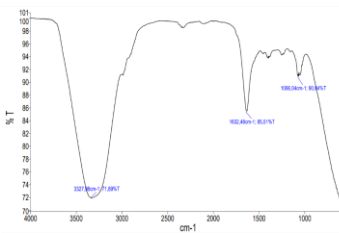
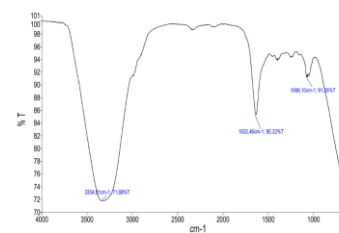
144



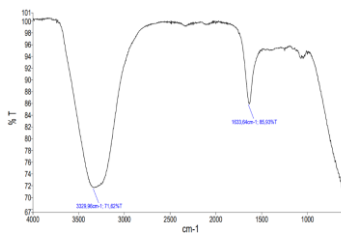
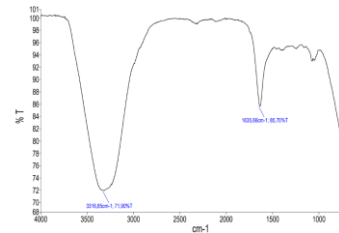
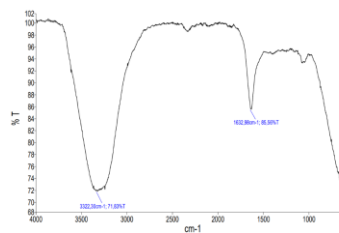
192



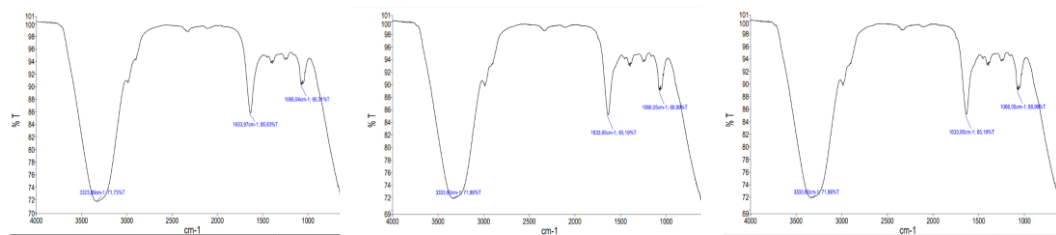
264



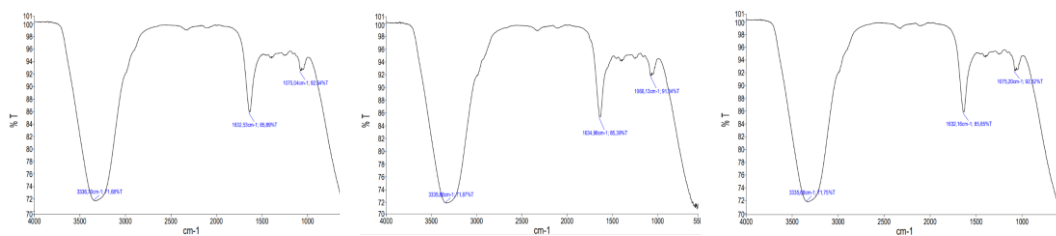
312



360



480



Nota: Análisis periódicos en el espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) de las distintas cepas probióticas.