



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

**FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Microencapsulación de probióticos de yogur en presencia de inulina como prebiótico.

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención de título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: María de los Ángeles Lozada Solís

Tutor: Ing. Orestes Darío López Hernández, PhD.

Ambato – Ecuador

Septiembre - 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. Orestes Darío López Hernández, PhD.

CERTIFICA

Que el presente Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación, Modalidad 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, 21 de julio del 2023

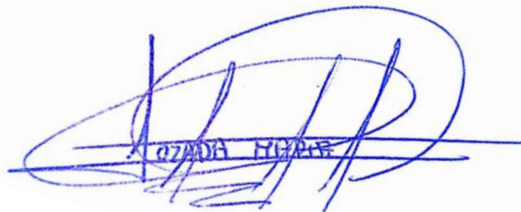
Ing. Orestes Darío López Hernández, PhD.

C.I. 175478486-4

TUTOR

AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, María de los Angeles Lozada Solís, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'MARIA DE LOS ANGELES LOZADA SOLIS', is written over a horizontal line. The signature is stylized and somewhat illegible due to the cursive nature of the handwriting.

María de los Angeles Lozada Solís

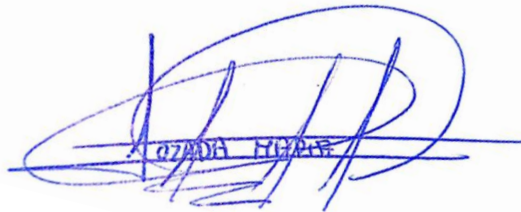
C.I. 1850994037

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga del presente 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 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.



María de los Angeles Lozada Solís

C.I. 1850994037

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, 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:

Presidente del tribunal

PhD. Mirari Yosune Arancibia Soria
C.I. 180214246-1

Mg. María Daniela Garcés Moncayo
C.I. 180357158-5

Ambato, 24 de agosto del 2023

DEDICATORIA

Es un honor dedicar este proyecto de titulación y todos mis esfuerzos,

A Dios por darme salud, por ser mi guía y mi fortaleza

A mis padres, Carlos y Nelly

A mis hermanas, Joseline y Carlita

A mis abuelitos, Ángel, Olimpia, Carlos ☺, y Laura

A mi gran amor, André

A la Universidad Técnica de Ambato

AGRADECIMIENTO

Una etapa maravillosa está por llegar a su fin, y en primer lugar quisiera expresar mi profundo agradecimiento a Dios, por darme salud y brindarme sabiduría y fortaleza para superar cada dificultad y por cada oportunidad de superación.

Agradezco a mis padres, quienes han sido mi mayor apoyo y fuente inagotable de amor y aliento. Su constante apoyo y su confianza en mí han sido fundamentales en este proceso. Gracias por creer en mis capacidades y por motivarme a superar cualquier obstáculo que se presentara en el camino.

A mis hermanas, Joseline y Carlita, quienes han sabido alegrarme, darme ánimo en las dificultades y por celebrar conmigo cada momento. Gracias por creer en mí.

A André, quien ha sido mi compañero incansable en este viaje académico. Su amor, paciencia y comprensión han sido una fuente constante de motivación y aliento. Gracias por estar siempre presente, por ser mi apoyo incondicional, por creer en mis capacidades y no dejar que me rinda en los momentos más difíciles.

También deseo agradecer a todos mis docentes durante todo este proceso académico, y en especial al PhD. Orestes López por haber compartido sus conocimientos y experiencia, guiándome en la dirección correcta y brindándome valiosas orientaciones en cada etapa de este proyecto. Su dedicación y compromiso con la enseñanza han sido fundamentales para mi formación académica y profesional.

Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento a mis compañeros de estudio y amigos, quienes han sido una fuente de apoyo y colaboración. en especial a Dimitri, David y Erick. Gracias por compartir ideas y momentos tanto buenos como desafortunados, y por brindarme su apoyo y su amistad.

Por último, agradezco a todas las personas que participaron en esta investigación, colaborando en los experimentos o brindando su tiempo y disposición para responder a mis preguntas. Sin su contribución, este trabajo no habría sido posible.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN EJECUTIVO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPITULO I. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes investigativos	1
1.1.1 Justificación.....	1
1.1.2 Incidencia de enfermedades gastrointestinales	3
1.1.2.1 Incidencia de enfermedades gastrointestinales en el mundo	3
1.1.2.2 Incidencia de enfermedades gastrointestinales en Ecuador	4
1.1.3 Bacterias probióticas del yogur.....	5
1.1.3.1 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	7
1.1.3.2 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	9
1.1.3.3 <i>Streptococcus thermophilus</i>	10
1.1.4 Efectos del consumo de probióticos de yogur en la salud humana.....	11
1.1.4.1 Efectos en la salud gastrointestinal.....	11
1.1.4.2 Efectos en el metabolismo	11
1.1.4.3 Capacidad inmunorreguladora.....	12
1.1.4.4 Inhibición del crecimiento de patógenos	13
1.1.4.5 Integridad de la barrera intestinal	14

1.1.5	Prebióticos como estrategia para favorecer la viabilidad y crecimiento de probióticos a nivel intestinal	14
1.1.6	Microencapsulación de probióticos.....	16
1.1.6.1	Secado por aspersion	17
1.1.6.2	Polímeros de recubrimiento	18
1.1.6.2.1	Inulina	18
1.1.6.2.2	Maltodextrina.....	19
1.1.6.2.3	Goma arábica.....	20
1.2	Objetivos	22
1.2.1	Objetivo general.....	22
1.2.2	Objetivos específicos	22
1.3	Hipótesis	23
1.3.1	Hipótesis nula	23
1.3.2	Hipótesis alternativa	23
CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA		24
2.1	Materiales	24
2.2	Métodos	26
2.2.1	Evaluación del efecto de diferentes matrices poliméricas en la microencapsulación de yogur con probióticos.....	26
2.2.1.1	Verificación de la presencia de probióticos en marcas comerciales de yogur	26
2.2.1.3	Microencapsulación	27
2.2.1.4	Evaluación del rendimiento de la microencapsulación	27
2.2.2	Comparación de la viabilidad de probióticos	28
2.2.2.1	Preparación del medio de cultivo MRS (Man, Rogose y Sharpe)	28
2.2.2.2	Determinación de la viabilidad de los probióticos en el yogur antes del secado por aspersion	28
2.2.2.3	Determinación de la viabilidad de supervivencia de los probióticos después del proceso de secado por aspersion	29
2.2.2.4	Evaluación de la viabilidad de los probióticos.....	30
2.2.2.5	Análisis estadístico.....	30

2.2.3	Análisis de Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier y Microscopia Electrónica de Barrido de los microencapsulados.	30
2.2.3.1	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)	30
2.2.3.2	Evaluación morfológica del microencapsulado por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	31
CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		32
3.1	Análisis y discusión de los resultados	32
3.1.1	Análisis preliminar para la selección de yogur con probióticos	32
3.1.2	Preparación de suspensiones de polímeros de recubrimiento.....	34
3.1.2	Evaluación del efecto de diferentes matrices poliméricas en la microencapsulación de yogur con probióticos.....	35
3.1.2.1	Microencapsulación y evaluación del rendimiento del proceso	35
3.1.2.2	Análisis de humedad y pH de los microencapsulados	36
3.1.2.3	Evaluación de la viabilidad de los probióticos antes y después del proceso de secado por aspersión.....	38
3.1.2.4	Análisis estadístico.....	42
3.1.2.4.1	Análisis estadístico del rendimiento.....	42
3.1.2.4.2	Análisis estadístico de la viabilidad	43
3.1.3	Análisis de espectroscopía por Transformada de Fourier y Microscopia Electrónica de Barrido de los microencapsulados.	46
3.1.3.1	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier con Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)	46
3.1.3.2	Microscopia Electrónica de Barrido (SEM).....	50
3.2	Verificación de la hipótesis	51
CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		52
4.1	Conclusiones	52
4.2	Recomendaciones	53
MATERIALES DE REFERENCIA		54
	Bibliografía.....	54
	Anexos.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Reactivos requeridos para ejecutar el proyecto de investigación.....	24
Tabla 2. Material fungible requerido para ejecutar el proyecto de investigación.	24
Tabla 3. Equipos requeridos para ejecutar el proyecto de investigación.	25
Tabla 5. Proporción de polímeros de recubrimiento en las suspensiones para secado por aspersión.....	34
Tabla 6. Parámetros de microencapsulación y rendimiento del proceso.	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia e incidencia de enfermedades relacionadas con el tracto digestivo en Ecuador durante los años 1990-2018 en 206 pacientes de diferentes hospitales.	5
Figura 2. Morfología de <i>L. delbruekii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	8
Figura 3. Morfología de <i>L. rhamnosus</i> GG.....	9
Figura 4. Morfología de <i>S. thermophilus</i>	10
Figura 5. Tipos de microencapsulado en función de la distribución de la sustancia encapsulada en el agente encapsulante.	16
Figura 6. Estructura molecular de la inulina	19
Figura 7. Estructura molecular de la maltodextrina.....	20
Figura 8. Estructura molecular de la Goma arábica.....	21
Figura 9. Análisis de la viabilidad de los probióticos en diferentes marcas comerciales de yogur.....	33
Figura 10. Análisis de humedad y pH de los microencapsulados.....	37
Figura 11. Crecimiento celular bacteriano en medio MRS después de 48h de incubación a 37°C.....	38
Figura 12. Viabilidad de los probióticos de yogur a los 0 días y después de 60 días. ..	40
Figura 13. Diagrama de cajas y bigotes del rendimiento del proceso de secado por aspersión.....	42
Figura 14. Diagrama de cajas y bigotes de la viabilidad celular bacteriana después del secado por aspersión (0 días)	44
Figura 15. Diagrama de cajas y bigotes de la viabilidad celular bacteriana después de 60 días del proceso de secado por aspersión.....	45
Figura 16. Análisis FTIR-ATR de los polímeros de recubrimiento y yogur probiótico.....	47
Figura 17. Análisis FTIR-ATR del yogur microencapsulado con diferentes matrices poliméricas frente a la curva descrita por cada uno de los polímeros de recubrimiento.	48
Figura 18. Análisis FT-IR de las combinaciones poliméricas para la microencapsulación de yogur probiótico frente al yogur probiótico libre.	49
Figura 19. Micrografías SEM de yogur microencapsulado por secado por aspersión con maltodextrina, goma arábica e inulina.	51

RESUMEN EJECUTIVO

Los probióticos son microorganismos que administrados en dosis correctas confieren beneficios en la salud del hospedero. Estos microorganismos están presentes en varios productos lácteos fermentados, entre ellos en el yogur. Sin embargo, la supervivencia de los probióticos a través del tracto gastrointestinal y a las condiciones ambientales es uno de los mayores retos de la industria. La elaboración de probióticos microencapsulados en presencia de prebióticos permite ofrecer productos simbióticos estables con impacto positivo en la salud humana, y que complementen la dieta diaria.

Este estudio demostró que la microencapsulación de yogur con maltodextrina, goma arábica e inulina en proporción 30:70, presentó un alto porcentaje de viabilidad celular (60,38 por ciento) después del proceso, sin embargo, debido a las condiciones de almacenamiento, después de 60 días disminuyó considerablemente el número de microorganismos viables. Además, se caracterizaron los productos del proceso de secado por aspersión mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR-ATR) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

Este trabajo tiene la finalidad de ensayar estrategias para mejorar la estabilidad de probióticos y se ha propuesto a la microencapsulación por secado por aspersión como un medio eficaz para proteger a los probióticos de la degradación y promover su capacidad colonizar mucosas y superficies. Además, la presencia de inulina como prebiótico es capaz de brindar a las bacterias las condiciones adecuadas para su crecimiento y subsistencia. Además, este trabajo deja un precedente para el desarrollo de futuros alimentos funcionales y suplementos alimenticios.

Palabras clave: maltodextrina, goma arábica, secado por aspersión, bacterias ácido-lácticas, viabilidad celular.

ABSTRACT

Probiotics are microorganisms that, when administered in the correct doses, confer health benefits on the host. These microorganisms are present in several fermented dairy products, including yogurt. However, the survival of probiotics through the gastrointestinal tract and to environmental conditions is one of the biggest challenges for the industry. The development of microencapsulated probiotics in the presence of prebiotics makes it possible to offer stable symbiotic products that have a positive impact on human health and complement the daily diet.

This study showed that the microencapsulation of yogurt with maltodextrin, gum arabic and inulin in a 30:70 ratio, presented a high percentage of cell viability (60,38 percent) after the process, however, due to storage conditions, after 60 days the number of viable microorganisms decreased considerably. In addition, the products of the spray drying process were characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR-ATR) and Scanning Electron Microscopy (SEM).

This work aims to test strategies to improve the stability of probiotics and spray-drying microencapsulation has been proposed as an effective means to protect probiotics from degradation and promote their ability to colonize mucous membranes and surfaces. In addition, the presence of inulin as a prebiotic can provide the bacteria with suitable conditions for their growth and subsistence. Furthermore, this work sets a precedent for the development of future functional foods and food supplements.

Key words: maltodextrin, gum arabic, spray drying, acido-lactic bacteria, cell viability.

CAPITULO I. MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

1.1.1 Justificación

En la actualidad, las enfermedades gástricas son una problemática creciente debido al cambio en el ritmo de vida y a las condiciones de alimentación. Estas patologías pueden conducir al desarrollo de cáncer u otro tipo de enfermedades sistémicas. Según **Veris (2018)**, en Ecuador registran aproximadamente 1200 nuevos casos de cáncer de colon cada año. Desde una perspectiva preventiva, diversos estudios han demostrado que la administración oral de probióticos es capaz de promover un microbioma intestinal más saludable (**Yao et al., 2020**). Según **Ismail et al. (2020)**, varios alimentos derivados lácteos contienen este tipo de bacterias benéficas, uno de ellos es el yogur; sin embargo, el consumo de este producto puede limitarse debido a que tiene un tiempo corto de vida útil, su actividad fisiológica puede afectarse por factores externos y su sabor no resulta agradable para parte de la población.

El yogur se ha convertido en uno de los alimentos más populares en el mundo debido a su valor nutricional (**Li et al., 2021**). Este es un alimento derivado lácteo, obtenido a través de la fermentación de la leche por bacterias ácido lácticas (**Cuello et al., 2014**). El cultivo iniciador de la fermentación esta principalmente compuesto por bacterias ácido-lácticas-probióticas (**Behare et al., 2015**). Desde la antigüedad se han destacado ampliamente los efectos positivos del yogur en la salud humana, principalmente relacionado con el mejoramiento de la flora intestinal, disminución del colesterol, regulación del sistema inmune, promueve la absorción de nutrientes, alivia la intolerancia a la lactosa y previene el desarrollo de algunos tipos de cáncer (**Li et al., 2020**).

La OMS (2015), definió a los probióticos como organismos vivos que administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios para la salud del hospedero, se alojan en el tracto gastrointestinal superior y se transportan hasta colonizar el colon. La Federación Internacional de Lechería recomienda que el número de probióticos activos para alcanzar una función fisiológica en el tracto intestinal de ser de al menos 10^7 UFC/mL (Sarao & Arora, 2017). Sin embargo, los probióticos pueden verse afectados por factores adversos relacionados con las condiciones almacenamiento, procesamiento, temperatura y el sistema digestivo del huésped; lo cual conduce a una disminución en la actividad biológica y el número de colonias bacterianas viables que llegan a colonizar el intestino humano (Li et al., 2021).

Por otro lado, los prebióticos son componentes de algunos tipos de alimentos como los oligosacáridos, y estimulan el crecimiento preferentemente de bacterias benéficas en el tracto intestinal sobre las bacterias perjudiciales (Jouki et al., 2021). Los prebióticos tienen un sin número de beneficios para la salud humana, entre ellos, puede actuar como agente laxante, prevención de la alergia infantil, se utiliza en el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales, mejora la absorción de minerales y previene el cáncer colorrectal, etc. (Ismail et al., 2020).

Un prebiótico ampliamente utilizado a nivel industria de suplementos es la inulina, la cual es una fibra soluble de origen vegetal (Quitral et al., 2018). De acuerdo con Quitral et al. (2018), es resistente a la digestión intestinal y se fermenta en el colon, gracias a ello está involucrada en la protección y reparación de la mucosa del colon y reduce el riesgo de desarrollar enfermedades gastrointestinales. Estas características hacen que la inulina sea un prebiótico altamente viable para proteger bacterias probióticas y favorecer su actividad (Rodríguez-Barona et al., 2012).

En la actualidad se han propuesto algunos enfoques para la protección de los probióticos del entorno y sus efectos adversos sobre la supervivencia de microorganismos, y la microencapsulación ha demostrado ser un método eficaz (**Ismail et al., 2020; Sarao & Arora, 2017**). En un estudio realizado por **Cuello et al. (2014)**, se reportó que la microencapsulación mejora la viabilidad de las bacterias prebióticas del yogur, por ello, es posible utilizar esta bebida como vehículo para la incorporación de probióticos en la dieta.

1.1.2 Incidencia de enfermedades gastrointestinales

1.1.2.1 Incidencia de enfermedades gastrointestinales en el mundo

Las enfermedades gastrointestinales son trastornos que en los últimos años han elevado sus índices de incidencia, prevalencia y mortalidad (**Licari et al., 2020**). De acuerdo con un estudio realizado por **Sperber et al. (2021)**, de cada diez adultos en el mundo, cuatro sufren trastornos gastrointestinales funcionales de gravedad diversa. Los trastornos gastrointestinales funcionales (FGID, por sus siglas en inglés) es un colectivo de trastornos crónicos en el tracto gastrointestinal. En la parte superior los síntomas se presentan en el esófago y el estómago, puede incluir acidez estomacal, reflujo ácido e indigestión (**Al-Megrin et al., 2021**). Para las partes inferiores del tracto las afecciones son más graves y pueden desembocar en enfermedades sistémicas, puede incluir daño intestinal, estreñimiento crónico, distensión y síndrome del intestino irritable (**Al-Megrin et al., 2021; Licari et al., 2020**).

En una encuesta mundial de FGID realizada recientemente por la Fundación Roma realizada en 33 países en 4 continentes, se analizaron y validaron encuestas realizadas a 73 000 personas, donde se presenta que, en general, el 49% de las mujeres y el 36,6% de los hombres cumplieron criterios para al menos un tipo de FGID con diferentes tasas de

prevalencia, siendo las más comunes estreñimiento, dispepsia funcional, proctalgia fugaz, diarrea funcional e intestino irritable (**Lynda & Underwood, 2018**).

1.1.2.2 Incidencia de enfermedades gastrointestinales en Ecuador

Las enfermedades gastrointestinales son el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales que influyen en la respuesta inmunitaria (**Játiva-Mariño et al., 2019**). En un estudio realizado por **Mayorga Garcés et al. (2020)**, se demostró que la mayor incidencia de FGID puede ocurrir en adolescentes como en adultos y puede afectar tanto a hombres como a mujeres; algunos de los principales síntomas que se experimentan de forma generalizada son: diarrea, dolor abdominal, sangrado rectal, y pérdida de peso. Esta sintomatología puede estar relacionada con patologías como: la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), colitis ulcerativa (CU) o la enfermedad de Crohn (EC) (**Wehkamp et al., 2016**). Además, muchas enfermedades relacionadas con el tracto digestivo durante su evolución tienden a manifestar síntomas extradigestivos en otros sistemas del organismo provocando daño en otros órganos relacionados como el hígado o los riñones (**Seyedian et al., 2019**).

A partir de 206 pacientes con diagnóstico de FGDI de diferentes instituciones de salud pública en todo el país durante los años de 1990 al 2018 se analizó el comportamiento de enfermedades gastrointestinales en la población ecuatoriana. Obteniéndose los resultados reportados en la Figura 1. De acuerdo con el análisis realizado para las enfermedades: colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn y enfermedad inflamatoria intestinal; en el año 2015 el país registró un potencial incremento de enfermedades gastrointestinales, en el año 2018 la tendencia disminuyó considerablemente (**Mayorga Garcés et al., 2020**) (Figura 1).

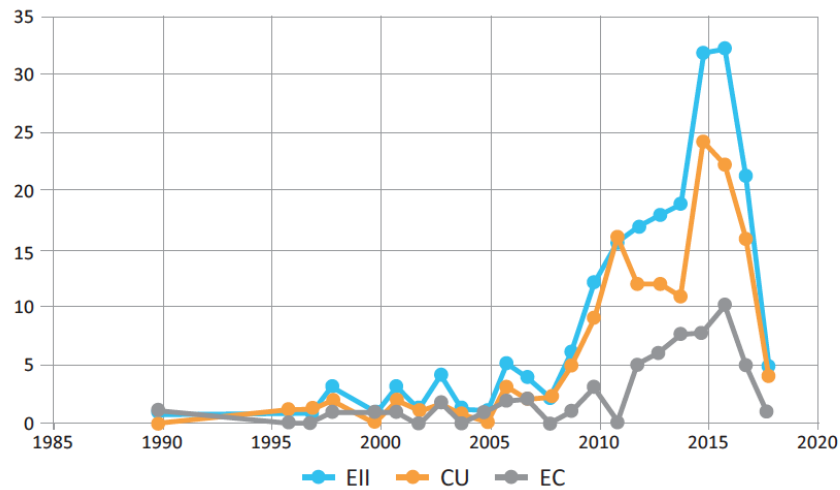


Figura 1. Prevalencia e incidencia de enfermedades relacionadas con el tracto digestivo en Ecuador durante los años 1990-2018 en 206 pacientes de diferentes hospitales.

Nota: Enfermedad inflamatoria intestinal (EII), colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (EC).

Fuente: (Mayorga Garcés et al., 2020)

Sin embargo, el comportamiento de los datos estadísticos es similares a otras zonas consideradas de baja prevalencia como Asia, África y países de Sudamérica, en donde además de que los datos son escasos, la industrialización y aumento de la zona urbana provoca que aumente la tasa de enfermedades relacionadas al tracto digestivo (Mayorga Garcés et al., 2020; Neg et al., 2017). Además, se acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), en Ecuador las enfermedades relacionadas con el tracto digestivo son principalmente transmitidas por alimentos y agua que contenga agentes biológicos o no biológicos en cantidades que afecten a la salud (Wehkamp et al., 2016).

1.1.3 Bacterias probióticas del yogur

El yogur en un alimento básico en varias culturas es un producto originario de países de Medio Oriente y Asia Occidental. Las referencias al yogur y su relación con la salud se

remontan al año 6000 a.C., según muestran los textos medicinales ayurvédicos de la India (**Chauca, 2022**). El yogur es un producto lácteo fermentado que se obtiene de la fermentación de la leche a partir de cultivos iniciadores que principalmente, pueden incluir bacterias ácido-lácticas (LAB) y probióticas como *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* viables y activas (**Gupta & Mishra, 2020**).

Entre los años 1922 y 1932 se ejecutaron los primeros estudios en humanos, donde se observó que la ingesta de *Lactobacillus* mejoraba los síntomas de estreñimiento, diarrea y eczema (**López et al., 2015**). Iliá Metchnikov es considerado como el progenitor de la industria de probióticos, teorizó que la salud puede mejorarse y se puede disminuir la incidencia de enfermedades gástricas e inmunes cuando las bacterias benéficas que se encuentran en el yogur colonizan el intestino del huésped (**Oyeniran et al., 2020**).

El yogur ocupa un lugar preponderante entre los derivados de la leche que no precisan la eliminación de parte de sus componentes, debido a su alto valor nutritivo (**Seyedian et al., 2019**). Los valores de pH de un yogur están un rango comprendido entre 3,7 a 4,5; debido a que el acetaldehído producido por la fermentación bacteriana, lo cual le proporciona su sabor ácido característico (**Saavedra, 2020**). Las bacterias convierten alrededor de la cuarta parte de lactosa en ácido láctico provocando que la densidad aumente (**Chandan et al., 2017; Reis et al., 2012**).

Estudios realizados por Metchnikov (1908), demostraron que la longevidad de un grupo selecto de búlgaros estaba vinculada al consumo de bacterias ácido lácticas de productos lácteos fermentados (**Reis et al., 2012**). Se atribuyó este efecto beneficioso a la colonización e implantación de bacilo búlgaros, ahora conocidos como *L. bulgaricus*. Estas bacterias principalmente logran inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos en el intestino, debido a que altera la microflora y las condiciones en el intestino

(Van De Guchte et al., 2006). *L. bulgaricus* tiene todos los atributos de las bacterias probióticas estándar. Sin embargo, es fundamental que las cepas probióticas sean capaces de colonizar el intestino y sobrevivir el paso a través del tracto gastrointestinal superior para conferir efectos benéficos en la salud (Yilmaz et al., 2015).

Para que un yogur sea considerado como probiótico debe cumplir con los criterios de la National Yogurt Association para “yogur de cultivo vivo y activo” especifica que este debe contener bacterias vivas en cantidades mayores a 10^6 - 10^7 UFC/g en el momento de la fabricación y los cultivos deben permanecer vivos hasta el final del ciclo de vida útil indicada y estar disponibles en todo el tiempo de consumo indicado (Oyeniran et al., 2020). Estos cultivos bacterianos son considerados probióticos debido a que favorecen la salud del huésped cuando son consumidos en cantidades suficientes (Gupta & Mishra, 2020).

Otra de las características deseables que debe cumplir un probiótico es que posea la capacidad de sobrevivir a las condiciones del tracto gastrointestinal (sales biliares, pH o enzimas), que sean capaces de adherirse y colonizar, y que posean estudios previos sustentados con evidencia de sus efectos benéficos en la salud humana (Castillo et al., 2012). En este estudio se utilizó yogur natural sin azúcar de la marca Toni S.A. el cual en su etiqueta menciona que contiene cepas probióticas de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. rhamnosus* GG y *S. termophilus*.

1.1.3.1 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus* (también conocida como *L. bulgaricus*) es una cepa específica de bacterias ácido lácticas que se encuentra en productos lácteos fermentados, especialmente en el yogur (Mo et al., 2022). Por sus características las cepas pertenecientes a esta subespecie en asociaciones con otros microorganismos son utilizadas

en cultivos iniciadores naturales para la elaboración de productos fermentados lácteos **(Dimov et al., 2023)**.

L. bulgaricus trabaja en simbiosis con otra bacteria, *S. thermophilus*, para llevar a cabo el proceso de fermentación **(Oozeer et al., 2004)**. Juntas, estas bacterias convierten los azúcares presentes en la leche en ácido láctico, lo que resulta en la acidificación del producto y contribuye a su sabor y textura característicos **(Petry et al., 2010)**. Además de su importancia en la producción de yogur, *L. bulgaricus* también se ha estudiado por sus posibles beneficios para la salud **(Torriani et al., 2009)**. Se considera un probiótico potencial, lo que significa que, cuando se consume en cantidades adecuadas, puede tener efectos positivos en el equilibrio del microbiota intestinal y en la salud general **(Viili, 2019)**.

Algunos estudios sugieren que *L. bulgaricus* puede tener propiedades antimicrobianas, mejorar la digestión de lactosa en personas con intolerancia a la lactosa y fortalecer el sistema inmunológico **(Torriani et al., 2009)**. *L. bulgaricus* es una bacteria ácido láctica que se encuentra en productos lácteos fermentados, especialmente en el yogur. Juega un papel importante en la fermentación láctica y se considera un probiótico potencial con posibles beneficios para la salud **(Petry et al., 2010)**.

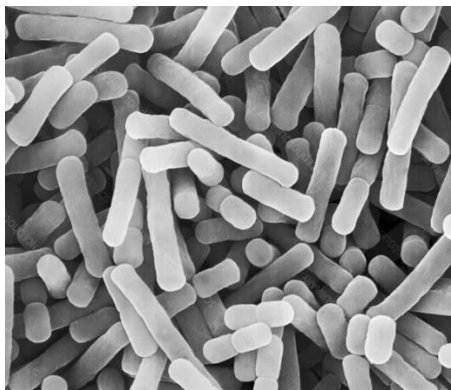


Figura 2. Morfología de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Fuente: **(Viili, 2019)**

1.1.3.2 *Lactobacillus rhamnosus GG*

Es una cepa específica de la bacteria *Lactobacillus rhamnosus*. Es considerado un probiótico, lo que significa que es una bacteria beneficiosa para el organismo (**Cicenia et al., 2016**). Al ingerir *L. rhamnosus GG*, puede ayudar a equilibrar la flora bacteriana del intestino y promover una digestión saludable (**Capurso, 2019**). Se ha demostrado que tiene la capacidad de sobrevivir al paso a través del tracto gastrointestinal, soportar las condiciones acididad de pH y adherirse a las células intestinales. Numerosos estudios científicos que han demostrado varios beneficios para la salud (**Cicenia et al., 2016**). Puede ser útil para tratar afecciones intestinales inflamatorias como la enfermedad inflamatoria intestinal y el síndrome del intestino irritable (**Goktas et al., 2022**).

Otros beneficios son que actúa como refuerzo del sistema inmunológico, se ha demostrado que *L. rhamnosus GG* fortalece el sistema inmunológico, lo que puede ayudar a prevenir infecciones respiratorias, infecciones del tracto urinario y reducir la incidencia de alergias (**Mitra & Ghosh, 2020**). Algunos estudios sugieren que puede ser beneficioso para mantener la salud vaginal y prevenir infecciones como la vaginosis bacteriana y la candidiasis vaginal (**Chiang et al., 2021**).

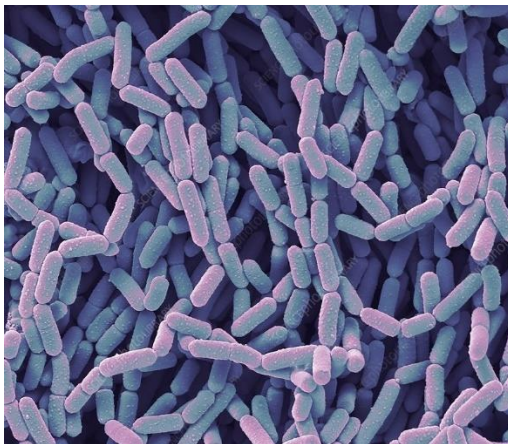


Figura 3. Morfología de *L. rhamnosus GG*

Fuente: (Oozeer et al., 2004)

1.1.3.3 *Streptococcus thermophilus*

S. thermophilus es una bacteria que pertenece al género *Streptococcus* y se clasifica como un microorganismo termófilo, lo que significa que crece mejor en condiciones de calor moderado (Martinović et al., 2020). Esta bacteria es un miembro común de la flora bacteriana en productos lácteos fermentados, especialmente en yogures y algunos quesos (Y. Y. Huang et al., 2023). La bacteria *S. thermophilus* posee la capacidad de llevar a cabo la fermentación láctica. Esta bacteria metaboliza los azúcares presentes en los alimentos y los convierte en ácido láctico, lo que ayuda a acidificar y conservar los productos lácteos fermentados (Junjua et al., 2016).

Esta bacteria desempeña diversos beneficios en la salud humana y es crucial en la producción de yogur y otros productos lácteos fermentados (Martinović et al., 2020). Durante la fermentación, esta bacteria contribuye a la textura, el aroma y el sabor característicos del yogur, así como a la prolongación de su vida útil (Junjua et al., 2016). Mejora la digestión de lactosa ya que produce lactasa, una enzima que descompone la lactosa (azúcar de la leche). Esto puede ser beneficioso para las personas con intolerancia a la lactosa. Sin embargo, principalmente posee propiedades probióticas en la flora bacteriana del tracto digestivo, ayuda a fortalecer el sistema inmunológico y mejora la digestión (Y. Y. Huang et al., 2023).

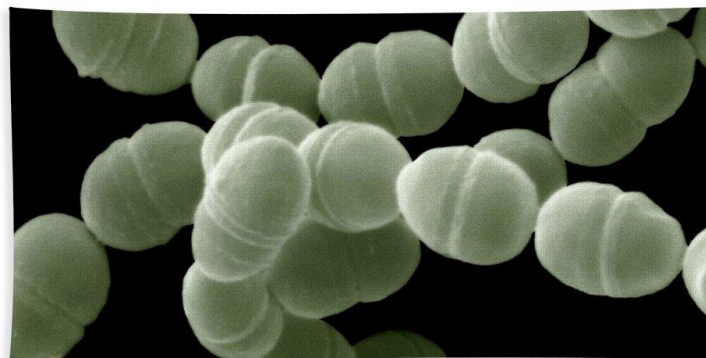


Figura 4. Morfología de *S. thermophilus*

Fuente: (Mater et al., 2005)

1.1.4 Efectos del consumo de probióticos de yogur en la salud humana

1.1.4.1 Efectos en la salud gastrointestinal

Se ha evidenciado que el consumo de yogur se relaciona con beneficios en el sistema gastrointestinal. Se destaca su rol en el tratamiento de infecciones, y mejora los síntomas de la diarrea aguda, la disminución de deposiciones y disminuye el tiempo de la infección. Así como también, en ciertas enfermedades de carácter inmuno-inflamatorio (**Yılmaz et al., 2015**). Además, de acuerdo con la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), se ha reconocido al yogur como probiótico gracias a la actividad de la β -galactosidasa, la cual ayuda a la digestión de la lactosa lo cual mejora la microflora intestinal y disminuye su intolerancia (**Van De Guchte et al., 2006**).

1.1.4.2 Efectos en el metabolismo

Diversos estudios epidemiológicos han demostrado una relación entre el consumo de yogur y beneficios a nivel metabólico, así como en el control de la diabetes tipo II y mantener adecuado el índice de masa corporal (**Baspinar & Güldaş, 2020**). Cabe destacar que el consumo de otros alimentos lácteos similares como la leche no tiene el mismo efecto, debido a que a pesar de contener una composición nutricional similar el yogur contiene fermentos lácticos que contribuyen a potenciar los efectos benéficos de estos nutrientes (**Reis et al., 2012**). En ese sentido, el consumo de yogur tiene un patrón de aminoácidos de alta calidad, reduce la ingesta de alimentos al estimular la saciedad y regula el nivel de glucosa en la sangre. Además de la gran cantidad de proteínas, el yogur contiene péptidos que mejoran la presión arterial. Estos péptidos están codificados en la secuencia principal de las proteínas y pueden ser liberados mediante la fermentación de la leche y están presentes en el yogur (**Aschemann-Witzel et al., 2020**).

1.1.4.3 Capacidad inmunorreguladora

Los probióticos deben atravesar el tracto gastrointestinal y llegar al colon para ejercer sus efectos sobre el sistema inmunitario (**Yan & Polk, 2015**). Los probióticos regulan la respuesta inmunitaria innata y adaptativa del huésped mediante la modulación de las funciones de las células las células epiteliales, las células inmunitarias o las bacterias del microbiota intestinal, a través de mecanismos intrínsecos propios (**Reyes Esparza & Rodríguez Fragoso, 2017**). Pueden actuar como adyuvantes en la respuesta inmune sistémica. La inmunomodulación de los probióticos en el organismo depende de la interacción de los microorganismos con el sistema inmune a nivel intestinal (**Redondo et al., 2019**).

Las bacterias pueden ser internalizadas como células completas o fragmentos antigénicos a través de las células M de la placa de Peyer, adherirse a las células epiteliales intestinales a través de receptores Toll (TLR) favoreciendo la producción de citoquinas como IL-6, linfocitos T y B, proteína quimioatrayente de macrófagos, y mediar la estimulación inmunitaria o interactuar con las células dendríticas de la lámina propia (**Moreno Baptista et al., 2013; Redondo et al., 2019**). Diversos autores afirman que fragmentos de la bacteria probiótica que se internalizaron dentro de las células epiteliales intestinales (IEC). En consecuencia, las IEC forman una red compleja de señales inmunitarias asociadas a la lámina propia y activan la respuesta innata y las citocinas liberadas (**Moreno Baptista et al., 2013**).

Yan & Polk (2015), realizaron un estudio doble ciego controlado con placebo con voluntarios sanos para determinar las respuestas de la mucosa intestinal a *L. acidophilus*, *L. casei* y *L. rhamnosus GG*. Donde el resultado indicó que las tres bacterias probióticas indujeron redes y vías reguladoras de genes diferenciales en la mucosa del intestino delgado proximal humano (**Redondo et al., 2019**). Por lo tanto, los análisis revelaron que

la regulación de la inmunidad mediada por probióticos está regulada por la genética del huésped y por la cepa específica.

1.1.4.4 Inhibición del crecimiento de patógenos

Los probióticos inhiben el crecimiento de patógenos mediante la eliminación o competición por sitios de unión a las células epiteliales, como ocurre con algunas especies de *Lactobacillus* frente a enteropatógenos como *E. coli* o *Salmonella* (Walsh et al., 2014). Otro mecanismo de acción de los probióticos frente a patógenos es la producción de compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular como ácidos acéticos o láctico, los cuales poseen un alto espectro de acción contra patógenos y son capaces de penetrar la célula patógena y disgregar el citoplasma (Maldonado Galdeano et al., 2019). Otras moléculas producidas pueden ser de alto peso molecular, como las bacteriocinas, que actúan creando poros en la pared bacteriana o inhibiendo su síntesis (Yan & Polk, 2015).

Las bacteriocinas pueden ser de espectro reducido e inhibir únicamente el crecimiento de otros bacilos o bacterias Gram positivas o bien ser de espectro amplio e inhibir el crecimiento tanto de Gram positivos como Gram negativos, levaduras y mohos (Maldonado Galdeano et al., 2019). Además, los probióticos disminuyen el pH intestinal, incrementan la producción de metabolitos que inhiben el crecimiento de patógenos, como ácidos grasos libres, péptidos antibacterianos, biosurfactantes y agentes oxidantes. También, inhiben la invasión de bacterias y bloquean la adhesión y traslocación de los patógenos del epitelio (Maldonado Galdeano et al., 2019; Yan & Polk, 2015).

Estudios han demostrado que los probióticos modulan la composición de especies microbianas intestinales al mantener el equilibrio y suprimir el crecimiento de potenciales bacterias patógenas en el intestino. *Lactobacillus acidophilus* o *Lactobacillus casei* lograron colonizar y proliferarse en el intestino, y lograr una disminución concomitante de coliformes fecales y anaerobios (Maldonado Galdeano et al., 2019). Además, un estudio

que realizó **Yan & Polk (2015)**, encontró que los probióticos causan cambios en la composición del microbiota intestinal elevando el número de bacterias beneficiosas específicas como *Prevotella* y *Oscillibacter*.

1.1.4.5 Integridad de la barrera intestinal

La barrera intestinal es una barrera importante en la defensa del organismo frente a la invasión de patógenos, ya que se encarga de la producción de mucus y de IgA secretora. Esta última es el componente del sistema inmune humoral más importante para superficies mucosas ya que se une a los patógenos impidiendo su unión a los receptores epiteliales, estos quedan atrapados en la mucosa y se elimina a través de funciones peristálticas, en un proceso denominado exclusión inmune (**Walsh et al., 2014**). Una forma de evitar la entrada de patógenos en la circulación es la unión entre las células probióticas y la mucosa intestinal. Estas uniones son estructuras celulares dinámicas que experimentan cambios estructurales que modifican su estado funcional (**Maldonado Galdeano et al., 2019**).

Las ocludinas o actínicas favorecen el mantenimiento de la barrera epitelial del intestino y bloquean la adhesión o invasión por patógenos. En ese sentido, los probióticos son estimulan la síntesis de estas proteínas (**Redondo et al., 2019**). Además, existe evidencia de que los probióticos son capaces de elevar la producción de mucus en el intestino, e incluso algunos probióticos disminuyen la secreción de cloro y agua inducida por *E. coli* invasiva (**Reyes Esparza & Rodríguez Fragosó, 2017**).

1.1.5 Prebióticos como estrategia para favorecer la viabilidad y crecimiento de probióticos a nivel intestinal

El término prebiótico fue utilizado por primera vez por Gibson y Roberfroid en 1995 para designar a un “componente no digerible que beneficia al huésped a través de la estimulación selectiva de crecimiento y actividad de un número limitado de bacterias en

el colon, con la finalidad de mejorar la salud del huésped” (**Davani-Davari et al., 2019**). Es decir, los prebióticos cumplen la función de estimular el metabolismo y favorecer el crecimiento y actividad de los probióticos. Desde un punto de vista estructural, los prebióticos son carbohidratos de cadena corta, por lo general se obtienen de fibras vegetales (**Walsh et al., 2014**).

Los criterios que se utilizan para clasificar este tipo de compuestos son los siguientes: los prebióticos deben ser resistentes al pH ácido del estómago, no debe hidrolizarse con enzimas de mamíferos y no pueden ser absorbidos durante su paso por el tracto gastrointestinal; debe tener la capacidad de ser fermentado por el microbiota intestinal y deben favorecer selectivamente el crecimiento o actividad de bacterias intestinales benéficas (**Davani-Davari et al., 2019**).

Entre los prebióticos más utilizados en aplicaciones industriales se destacan materiales como: inulina, oligosacáridos, fructooligosacáridos (FOS) y almidón resistente. Estos componentes por lo general son utilizados como material en la microencapsulación de probióticos. Sin embargo, son pocos los estudios que los aplican como agentes de recubrimiento por si solos, en general, se combinan con otros materiales de microencapsulación como otros tipos de carbohidratos o polímeros de recubrimiento (**Davani-Davari et al., 2019**). La combinación sinérgica de probióticos y prebióticos se denomina producto simbiótico, y en muchas ocasiones la producción de estos supone un incremento en los costos y esto frena el desarrollo de este tipo de productos (**Bernal Castro et al., 2017**).

Además, los prebióticos tienen actividades biológicas adicionales, como inhibir las infecciones gastrointestinales a través de mecanismo anti-adhesivo (**Collins & Reid, 2016**). También en conjunto con los probióticos son capaces de inhibir el crecimiento de patógenos, debido a que las fibras vegetales de los prebióticos son fermentadas por

microorganismos intestinales y posteriormente se producen ácidos grasos de cadena corta como los ácidos láctico, butírico y propiónico (Davani-Davari et al., 2019).

1.1.6 Microencapsulación de probióticos

La microencapsulación es una serie de procesos tecnológicos, que permiten aislar parcial o totalmente sustancias mediante un recubrimiento con diferentes tipos de materiales de tamaño micrométrico que pueden ser de origen natural o sintético (González, 2019). Los tipos de sistema de microencapsulación depende de cómo se distribuye la sustancia encapsulada en los microencapsulados (Huang et al., 2021). Cuando las partículas son de tipo polinuclear y matricial se denominan microesferas, las cuales pueden presentar diferentes formas y estructuras, y pueden estar cubiertas de uno o más tipos de agentes de revestimiento (Figura 5) (González, 2019). Es decir, las microesferas no poseen un núcleo central definido, en cambio todo el volumen de la microesfera contiene la sustancia de interés. Esta estructura es típica de la encapsulación de materiales sólidos (Ismail et al., 2020).

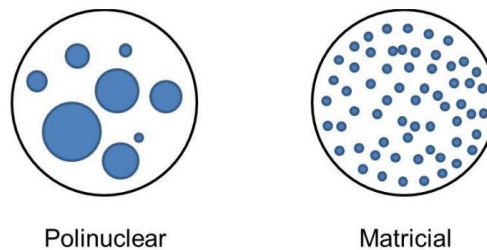


Figura 5. Tipos de microencapsulados en función de la distribución de la sustancia encapsulada en el agente encapsulante.

Fuente: (González, 2019)

La microencapsulación es un proceso que se aplica en diversas industrias con la finalidad de conferir protección a los ingredientes frente a factores externos que facilitan su degradación (**Córdova Solís & López Hernández, 2016**). También permite enmascarar el sabor, color o aroma del ingrediente; facilita la manipulación, y previene la interacción del ingrediente con el resto de los ingredientes constituyentes del producto; previene la volatilización de ingredientes y controlar la liberación del ingrediente activo en un sitio diana (**González, 2019**).

Los probióticos deben permanecer estables durante el proceso de fabricación, almacenado, reconstrucción y consumo (**Rodríguez-Barona et al., 2012**). Una vez que los probióticos ingresan al tracto gastrointestinal se exponen a un medio de condiciones adversas de pH ácido, presencia de enzimas, sales biliares y competencia de microbiota endocrina (**González, 2019**). Considerando lo anterior, la microencapsulación es una estrategia favorable para conservar y proteger los microorganismos probióticos del yogur durante su paso por el tracto gastrointestinal.

1.1.6.1 Secado por aspersión

El secado por aspersión es un método de microencapsulación que consiste en atomizar una solución, emulsión o suspensión y someterla a una corriente de gas caliente a temperaturas de entrada de aproximadamente 100-200 °C (**López et al., 2015**). Tiene la finalidad de eliminar el líquido de manera radical a través del proceso de secado. De este proceso se obtienen partículas esféricas con un recubrimiento polimérica y en el centro se concentra la sustancia encapsulada (**Rodríguez-Barona et al., 2012**). Durante el proceso de secado las sustancias están expuestas a temperaturas entre 50-80 °C. Las microcápsulas o microesferas formadas miden aproximadamente 20-200 µm (**Cuello et al., 2015**).

El método de secado de aspersión es una técnica que permite mantener los microorganismos viables sin afectar las propiedades metabólicas gracias a los materiales

de recubrimiento empleados, sin embargo, hay que considerar que la temperatura durante el proceso no puede exceder la temperatura a la cual las células se mantienen viables (**López et al., 2015; Rodríguez-Barona et al., 2012**).

1.1.6.2 Polímeros de recubrimiento

1.1.6.2.1 Inulina

La inulina es un fructano lineal compuesto con moléculas de glucosa y fructosa unidad por enlaces beta (2→1) y alfa (1→2), respectivamente (Figura 6). La inulina es un carbohidrato que está presente en diversas especies de plantas como la alcachofa, la dalia y la raíz de achicoria; las cuales son fuentes para la producción de inulina comercial (**Kamel et al., 2021**). La inulina tiene un bajo valor calórico debido a que no se digiere en el tracto gastrointestinal y contribuye aproximadamente el 25-30% de la energía que aportan los carbohidratos digeribles (**Kurtuldu & Ozcan, 2018**). Este compuesto es por lo general utilizado como fibra dietética soluble, debido a que no se descompone por las enzimas propias del sistema digestivo humano, sino que es fermentado por microorganismos propios de la flora intestinal; por lo cual es eficaz en el tratamiento de trastornos del colon o estreñimiento (**Esmailnejad Moghadam et al., 2019**).

Además, la inulina es una materia ampliamente utilizada en el desarrollo de productos simbióticos. Diversos estudios han demostrado que la inulina favorece la actividad probiótica de microorganismos como *Lactobacillus* y *Bifidobacterias* (**Esmailnejad Moghadam et al., 2019**). Esta propiedad provoca la reducción de bacterias patógenos presentes en el intestino y la producción de metabolitos tóxicos en el tracto intestinal. Frente a otros prebióticos como los fructooligosacáridos (FOS), el uso de inulina es preferible debido a sus especificaciones favorables como la solubilidad en agua, dulzor y la neutralidad en color y olor (**Kamel et al., 2021**).

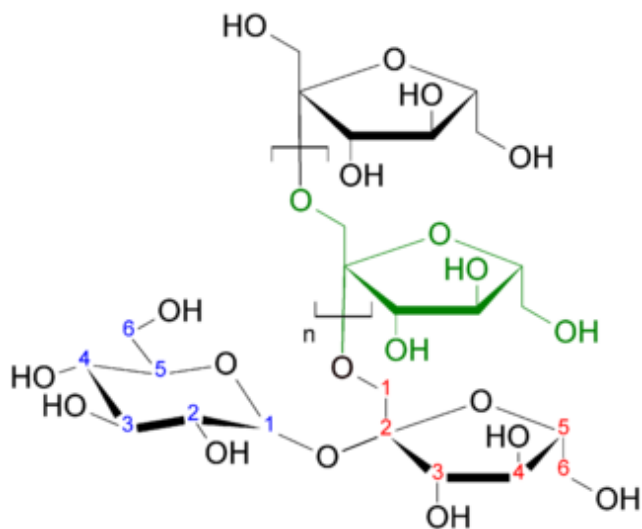


Figura 6. Estructura molecular de la inulina

Fuente: (Kamel et al., 2021)

1.1.6.2.2 Maltodextrina

La maltodextrina es un polisacárido derivado del almidón. Se compone de cadenas de glucosa y se utiliza comúnmente en la industria alimentaria como aditivo. La maltodextrina se produce mediante la hidrólisis parcial del almidón, generalmente a partir del maíz, el arroz o la papa (Ammeraal et al., 2001). El proceso de hidrólisis rompe las cadenas de almidón más largas y las convierte en cadenas más cortas de D-glucosa, lo que resulta en la formación de la maltodextrina (Clarke, 2004) (Figura 7).

La maltodextrina es un polvo blanco o ligeramente amarillento que no tiene sabor ni olor distintivo. Se utiliza en alimentos procesados como edulcorante, estabilizador, espesante o agente de textura (Ammeraal et al., 2001). Debido a su capacidad para disolverse rápidamente en líquidos y formar una solución estable, se utiliza con frecuencia en productos como bebidas deportivas, alimentos para bebés, postres, sopas en polvo, productos horneados y muchos otros productos procesados (Okuma, 2008).

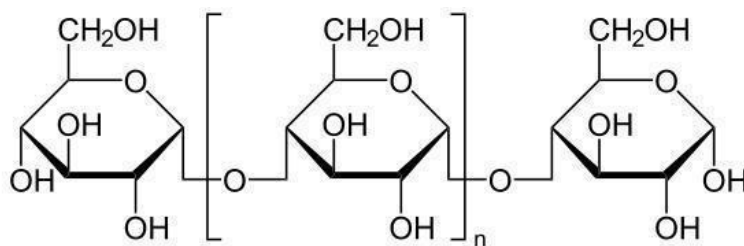


Figura 7. Estructura molecular de la maltodextrina

Fuente: (Fuentes, 2011).

1.1.6.2.3 Goma arábica

La goma arábica, también conocida como goma acacia, es una sustancia natural que se extrae de la savia del árbol de *Acacia senegal* y otras especies relacionadas (**Anderson, 1986**). Se utiliza comúnmente como aditivo alimentario y tiene varias aplicaciones industriales. Tiene una estructura ramificada compuesta por D-galactosa, L-arabinosa, L-ramnosa, ácido D-glucurónico y unidades de galactopiranosas, lo cual hace que sea una molécula estable en amplios rangos de pH (**Phillips, 2009**) (Figura 8).

La goma arábica es una mezcla compleja de polisacáridos y glicoproteínas. Se presenta en forma de un polvo blanco o amarillento, y es soluble en agua. Tiene propiedades espesantes, estabilizadoras y emulsionantes, lo que la hace útil en la industria alimentaria (**Glicksman, 2019**). Se utiliza en una variedad de productos, como bebidas, helados, dulces, productos horneados, aderezos para ensaladas y muchos otros alimentos procesados. Además de su función como espesante y estabilizador, la goma arábica también puede mejorar la textura y la consistencia de los alimentos (**Anderson, 1986; Phillips, 2009**). En términos de seguridad, la goma arábica es considerada generalmente segura para el consumo humano (**Anderson, 1986**).

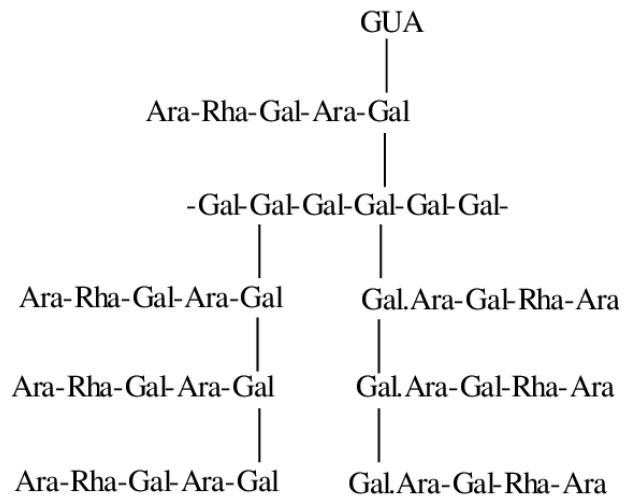


Figura 8. Estructura molecular de la Goma arábica

Fuente: (Vicente, 2018)

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Microencapsular probióticos de yogur en presencia de inulina como prebiótico aplicando la técnica de secado por aspersión.

1.2.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de diferentes matrices poliméricas en la microencapsulación de probióticos de yogur.
- Comparar la viabilidad de los de probióticos antes y después del proceso de microencapsulación.
- Caracterizar mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR-ATR) y Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) los probióticos microencapsulados.

1.3 Hipótesis

1.3.1 Hipótesis nula

La combinación de polímeros de recubrimiento empleada en la microencapsulación de probióticos de yogur no influye en la viabilidad celular bacteriana.

1.3.2 Hipótesis alternativa

La combinación de polímeros de recubrimiento empleada en la microencapsulación de probióticos de yogur influye en la viabilidad celular bacteriana.

CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA

2.1 Materiales

A continuación, se detallan los reactivos, material fungible y equipos empleados en el desarrollo del presente proyecto de titulación.

Tabla 1. *Reactivos empleados en la ejecución del proyecto de investigación.*

Reactivos
Yogur entero natural sin azúcar con probióticos de la marca Toni S.A.
Yogur entero natural sin azúcar con probióticos de la marca Chivería.
Yogur entero natural sin azúcar con probióticos de la marca La Holandesa.
Inulina de pureza >90 % (Beneo™GR)
Maltodextrina
Goma arábiga
Agua destilada
Caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe)
Agar- Agar

Tabla 2. *Material fungible empleados en la ejecución del proyecto de investigación.*

Material fungible
Puntas de micropipeta 1 mL
Asas de Drigalsky
Tubos Eppendorf 1,5 mL
Mechero
Micropipeta 1 mL
Cajas Petri plásticas
Vasos de precipitación 500 mL
Vasos de precipitación 50 mL
Probetas graduadas

Botellas de cristal de borosilicato con tapa azul 500 mL

Espátula

Fundas con cierre hermético

Agitador de vidrio

Tubos Falcon

Piseta

Tabla 3. *Equipos empleados en la ejecución del proyecto de investigación.*

Equipos

Autoclave (Hirayama)

Balanza analítica (Ohaus PA-313)

Balanza de humedad (Kern)

Cámara de flujo laminar (Esco)

Mini Spray Dryer (Büchi B-191)

Incubadora (Esco)

Espectroscopio (FT-IR/ ATR) (PekinElmer)

Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) (JEOL JSM-IT3000HR)

Cuenta colonias (Quebec)

2.2 Métodos

2.2.1 Evaluación del efecto de diferentes matrices poliméricas en la microencapsulación de yogur con probióticos.

2.2.1.1 Verificación de la presencia de probióticos en marcas comerciales de yogur

En un análisis preliminar se verificó la presencia de microorganismos probióticos en tres marcas comerciales de yogur, donde a partir de cada uno se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-4} y se sembró por dispersión en medio MRS en placas Petri, se llevó a incubación por 48 h a 37 °C y se realizó el recuento en placa, posteriormente se seleccionó el yogur comercial con mayor contenido de bacterias probióticas.

2.2.1.2 Preparación de suspensiones de polímeros de recubrimiento

Se determinó el porcentaje de sólidos totales presentes en el yogur, para lo cual se colocaron aproximadamente 3-5 mL de yogur en una balanza de humedad (Kern), se programó el equipo y se obtuvo un porcentaje de humedad y a partir de la Ecuación 1 se determinó el porcentaje de sólidos totales (%ST). Posteriormente, para la microencapsulación se prepararon suspensiones acuosas en agua destilada en proporción 70:30 de los polímeros de recubrimiento y el yogur.

$$\%ST = 100 - \%H \quad (\text{Ecuación 1})$$

Para la suspensión 1 compuesta por maltodextrina e inulina, se pesaron 20 g de maltodextrina, 3,30 g de inulina y 70 g de yogur, se colocaron en un vaso de precipitación junto con 36 mL de agua destilada y se homogeneizó manualmente hasta disolver los polímeros en la suspensión. En la suspensión 2 compuesta por maltodextrina y yogur se colocaron 70 g de yogur con 23,30 g de maltodextrina en 36 mL de agua destilada; se agitó hasta homogeneizar completamente la suspensión. Para la suspensión 4 compuesta por maltodextrina y goma arábica, se pesaron 13,3 g de maltodextrina, 10 g de goma arábica y 70 g de yogur, se disolvieron en 36 mL de agua destilada y se agitó manualmente

hasta que se homogeneizó la suspensión. En la suspensión 4 compuesta por maltodextrina, goma arábiga e inulina, se pesaron 10 g de maltodextrina, 10 g de goma arábiga y 3,30 g de inulina, se colocaron junto con 36 mL de agua destilada y se homogeneizó la suspensión hasta disolver los polímeros.

2.2.1.3 Microencapsulación

Para la microencapsulación se empleó un Mini Spray Dryer Büchi B-191 (Büchi Switzerland, Flawil, Suiza), los parámetros óptimos se determinaron en base a lo reportado por **Suárez & López (2019)** con modificaciones. Se ajustaron los parámetros temperatura de aire de entrada 130 °C, temperatura de aire de salida 70 °C, una aspiración del 100% y la velocidad del flujo de bomba de 45%. Después del proceso de secado por aspersion se recuperaron las microesferas en el vaso colector y se almacenaron a temperatura ambiente en bolsas metalizadas con cierre hermético para evitar la absorción de humedad. Además, se realizó un análisis de humedad de los productos para lo cual se colocaron aproximadamente 3 g de muestra de cada microencapsulado en una balanza de humedad. Para el análisis de pH se disolvió 1 gramo de cada microencapsulado en 40 mL de agua destilada y se colocó el electrodo del potenciómetro en la muestra.

2.2.1.4 Evaluación del rendimiento de la microencapsulación

Se calculó el rendimiento en porcentaje peso/peso (%p/p) relacionando el peso inicial de la suspensión alimentada al secador con peso del polvo microencapsulado obtenido después del secado, medidos en una balanza analítica. De acuerdo con lo mencionado por **Córdova Solís & López Hernández (2016)**, se utilizó la siguiente ecuación:

$$RE = \left(\frac{\text{Masa de sólidos totales obtenidos (g)}}{\text{Masa de sólidos totales iniciales (g)}} \right) * 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

2.2.2 Comparación de la viabilidad de probióticos

2.2.2.1 Preparación del medio de cultivo MRS (Man, Rogose y Sharpe)

Se añadieron 55,15 g de caldo MRS (Man, Rogose y Sharpe) en 1 L de agua destilada y se adicionaron 10 g de agar-agar como solidificante del medio de cultivo. El medio de cultivo preparado se clarificó en el microondas en intervalos de 30 segundos hasta que se disolvió completamente el agar-agar; posteriormente, el medio se llevó a una autoclave a 121 °C por 15 minutos (TM Media, 2020). Se dispensaron aproximadamente 25 mL del medio de cultivo en cajas Petri descartables en una cámara de flujo laminar. Las placas se rotularon de acuerdo con la fecha de cultivo, la combinación de polímeros de la muestra y la dilución correspondiente.

2.2.2.2 Determinación de la viabilidad de los probióticos en el yogur antes del secado por aspersión

Se emplearon métodos similares a los de Li et al. (2020) con modificaciones, para la determinación de la viabilidad de los probióticos se prepararon diluciones seriadas del yogur líquido: Se tomaron 5 mL de yogur líquido y se añadieron a 45 mL de agua destilada estéril para obtener una dilución inicial de 1:10. A partir de esta primera dilución, se prepararon diluciones en serie de manera similar, con la misma proporción. Se realizó la siembra de las diluciones, con una micropipeta, se tomaron 100 µL de cada dilución y se añadieron a tubos Eppendorf individuales que contenían 900 µL de agua destilada estéril. Este procedimiento se repitió para cada dilución hasta obtener una dilución final de 10^{-4} . Se sembraron las diluciones en placas de cultivo tomando alícuotas de 100 µL de cada dilución y se sembraron por triplicado en placas de Petri que contenían medio de cultivo MRS.

Para la siembra, se utilizó un asa de Drigalsky para dispersar las muestras en el medio de cultivo. Se incubaron las placas de cultivo en una incubadora a una temperatura de 37 °C

durante un período de 48-72 horas en condiciones aerobias. Durante este tiempo, los microorganismos presentes en las muestras se desarrollaron y formaron colonias visibles en el medio de cultivo. Se contaron las colonias bacterianas en un cuentacolonia al finalizar el período de incubación. El recuento de colonias obtenido permitió determinar la viabilidad de los probióticos en el yogur líquido, al comparar la cantidad de microorganismos probióticos presentes en el yogur líquido con los microorganismos presentes en las partículas obtenidas después del proceso de secado.

2.2.2.3 Determinación de la viabilidad de supervivencia de los probióticos después del proceso de secado por aspersión

A partir del polvo obtenido del proceso de secado por aspersión se tomó 2,40 g del producto de secado por aspersión y se rehidrató disolviendo en 42,60 mL de agua destilada estéril a temperatura ambiente. Se tuvo en cuenta que la cantidad de polvo tomada era proporcional en sólidos totales al yogur líquido que se añadió a la suspensión del cultivo inicial, para asegurar una comparación significativa. Al igual que con el yogur líquido, se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-4} en una proporción de 1:10. Se sembraron por triplicado alícuotas de 100 μ L de cada dilución mediante dispersión con un asa de Drigalsky en placas que contenían medio de cultivo MRS. Las placas con el cultivo bacteriano se incubaron en condiciones aerobias durante 48-72 horas a una temperatura de 37 °C en condiciones aerobias. Finalmente, se realizaron el recuento de las colonias bacterianas formadas en el medio de cultivo.

Con esta metodología, se determinó la viabilidad de los probióticos comparando la cantidad de microorganismos probióticos presentes en el yogur líquido, con los microorganismos presentes en el polvo obtenido después del proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión. El recuento de las colonias bacterianas formadas en el medio de cultivo proporcionó información sobre la viabilidad de los probióticos en el polvo producto del secado.

2.2.2.4 Evaluación de la viabilidad de los probióticos

Para determinar la viabilidad de la supervivencia de los probióticos después del secado de aspersión se compararon las UFC contadas en las placas Petri tanto en la siembra de yogur líquido, como en las placas Petri con cultivos bacterianos a partir de partículas microencapsuladas. De acuerdo con **Cuello et al. (2015)**, se utilizó la siguiente ecuación, dando como resultado un porcentaje de eficiencia:

$$\%Viabilidad = \left(\frac{N}{N_o} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde, N_o es el número de células viables antes del secado y N es el número de células viables encapsuladas.

2.2.2.5 Análisis estadístico

Para el procesamiento de datos se realizó un análisis de varianzas del rendimiento y de la viabilidad bacteriana del recuento en placa, un diagrama de cajas y bigotes, y una prueba de múltiples rangos. Se comparó la viabilidad antes y después del proceso de secado por aspersión (**Córdova Solís & López Hernández, 2016**).

2.2.3 Análisis de Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier y Microscopia Electrónica de Barrido de los microencapsulados.

2.2.3.1 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Se empleó un equipo de Espectroscopia Infrarroja con sensor de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) ubicado en el laboratorio de Canje de Deuda de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Se sometió cada muestra al análisis en el espectro FTIR con dispositivo ATR con intervalos de frecuencia de barrido entre 490 cm^{-1} y 4000 cm^{-1} realizando tres barridos por espectro para cada muestra: microesferas, polímeros y mezcla física (**Núñez & López, 2022; Sarao & Arora, 2017**).

Se compararon las matrices poliméricas (maltodextrina, inulina y goma arábica); con las muestras de polvo microencapsulado (maltodextrina; goma arábica y maltodextrina; inulina y maltodextrina; y maltodextrina, goma arábica e inulina), y con la muestra líquida yogur.

2.2.3.2 Evaluación morfológica del microencapsulado por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El análisis por Microscopía Electrónica de Barrido se realizó en los laboratorios de la Universidad San Francisco de Quito. Se empleó un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) JEOL JSM-IT3000HR (Estados Unidos). Se colocaron las muestras sobre la cinta conductora de carbono y se retiraron las partículas no adheridas con aire comprimido y se configuraron los parámetros para una aceleración de 20 kV con bajo vacío 24-30 Pa. Se tomaron micrografías a resoluciones de 500X y 2000X.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

3.1.1 Análisis preliminar para la selección de yogur con probióticos

En primera instancia, se llevó a cabo una evaluación de la presencia de probióticos en diferentes marcas de yogur comercial con la finalidad de discriminar cuál de ellos resultaría óptimo en el desarrollo del presente proyecto de investigación. Las marcas comerciales analizadas fueron La Holandesa, Toni S.A y Chivería. La metodología en esta etapa fue similar a la empleada en la etapa de viabilidad de probióticos antes del proceso de secado por aspersión.

Los resultados reportados en la Figura 9 definieron que el yogur natural sin azúcar de la marca Toni S.A presentó un mayor número de unidades formadoras de colonias con un valor medio de $1,07 \times 10^7$ UFC*mL⁻¹ viables después del periodo de incubación. Durante la experimentación posterior, se empleó el yogur de la marca Toni S.A en su presentación de 950 mL, el cual en su etiqueta menciona que contiene los microorganismos probióticos: *L. delbruekii* subsp. *bulgaricus*, *L. rhamnosus* GG y *S. thermophilus*.

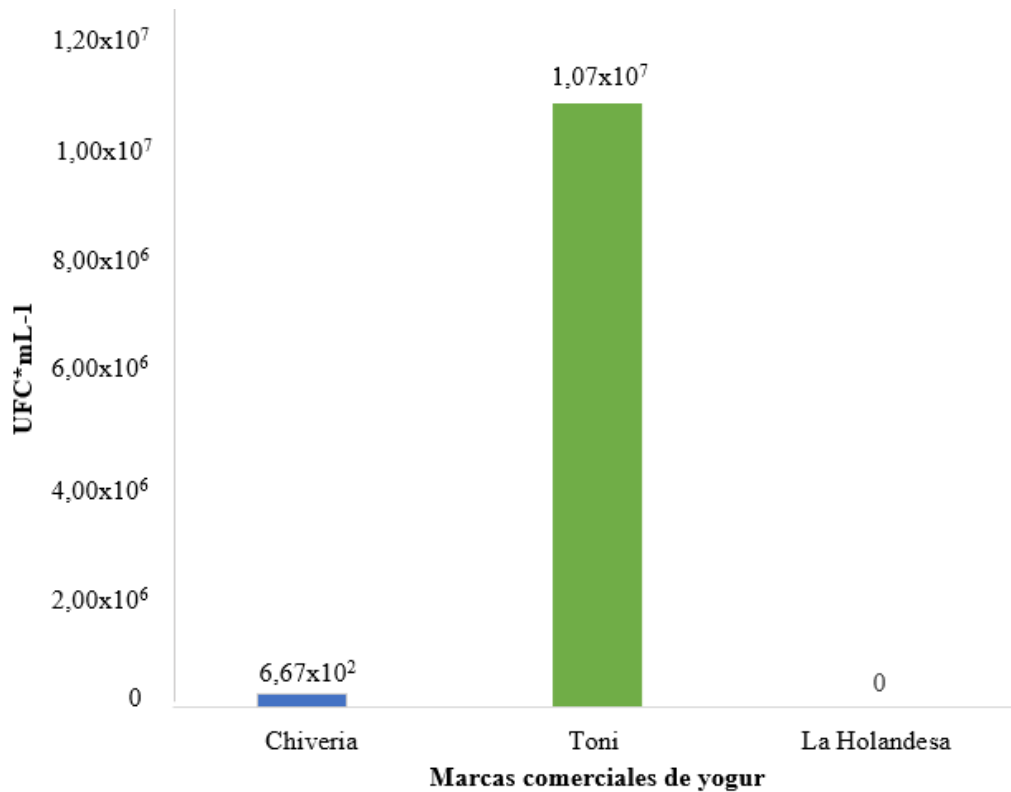


Figura 9. Análisis de la viabilidad de los probióticos en diferentes marcas comerciales de yogur.

De acuerdo con el **Instituto Ecuatoriano de Normalización (2011)**, las leches fermentadas deben cumplir con requisitos de un mínimo contenido de cultivo de microorganismos específicos según sea el caso, y de bacterias probióticas hasta la fecha de vencimiento. Para yogur, kéfir, kumis, leche fermentada concentrada y leche fermentada con ingredientes, se establece la suma de microorganismos de cultivo definido del producto debe ser de mínimo 10^7 UFC*mL⁻¹ y de bacterias probióticas debe ser de 10^6 UFC*mL⁻¹. Entonces de acuerdo con lo reportado en la Figura 9, el yogur de la marca Toni S.A cumple con los requisitos de la normativa INEN para yogur con probióticos.

3.1.2 Preparación de suspensiones de polímeros de recubrimiento

Se midió el porcentaje de humedad del yogur probiótico en la balanza de humedad, obteniéndose un valor medio estimado de $85,62 \pm 0,09\%$ y porcentaje de sólidos totales estimado de $14,38 \pm 0,09\%$, empleando la Ecuación 1. De acuerdo con **Yadav et al. (2018)**, el contenido de sólidos totales presentes en un yogur oscila entre el 14% y 16% mediante la inoculación con la mezcla de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*. Y, según la normativa **INEN (2011)**, el porcentaje de sólidos magros de un yogur debe ser mínimo de 9,5%. En este estudio se empleó yogur natural sin azúcar de la marca Toni S.A, el cual en su etiqueta menciona que contiene grasa saturada, ácidos grasos trans, ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, azúcares, hierro, vitamina A y calcio; todos estos componentes forman parte de los sólidos totales. Las suspensiones que inyectaron al secador por aspersión contenían un porcentaje de 35% de sólidos totales y los polímeros de recubrimiento se adicionaron en proporción 70:30 con el yogur en peso seco, los detalles se presentan en la Tabla 5.

Tabla 4. Proporción de polímeros de recubrimiento en las suspensiones para secado por aspersión.

Suspensiones	Yogur (%)	Polímeros de recubrimiento (%)		
		Maltodextrina	Goma arábica	Inulina
Mezcla ¹	30	60	-	10
Mezcla ²	30	70	-	-
Mezcla ³	30	40	30	-
Mezcla ⁴	30	30	30	10

Nota: Mezcla¹: Maltodextrina + Inulina; Mezcla²: Maltodextrina; Mezcla³: Maltodextrina + Goma arábica; Mezcla⁴: Maltodextrina + Goma arábica + Inulina. Las proporciones de los polímeros componen el 70% de los sólidos totales de la suspensión y el 30% restante corresponde al valor proporcional en sólidos totales del yogur.

3.1.2 Evaluación del efecto de diferentes matrices poliméricas en la microencapsulación de yogur con probióticos.

3.1.2.1 Microencapsulación y evaluación del rendimiento del proceso

El equipo de secado por atomización empleado para la ejecución del proyecto fue un Mini Spray Dryer Büchi B-191 (Büchi Switzerland, Flawil, Suiza). En la Tabla 6 se detallan los parámetros de operación del equipo. La temperatura de aire de entrada fue de 130 °C y la temperatura de aire de salida de 70 °C, para todas las combinaciones de polímeros de recubrimiento. Las condiciones óptimas de temperatura y flujos de alimentación se establecieron en base a lo reportado por **Suárez & López (2019)**.

Tabla 5. *Parámetros de microencapsulación y rendimiento del proceso.*

Parámetros de microencapsulación				
Polímeros	Proporción (ST:Polímeros)	Temperatura de entrada (°C)	Temperatura de salida (°C)	Rendimiento (%)
Mezcla ¹	30:70	130	70	18,94±1,31
Mezcla ²	30:70	130	70	20,77±0,98
Mezcla ³	30:70	130	70	22,12±1,35
Mezcla ⁴	30:70	130	70	20,20±1,59

Nota: La velocidad de flujo de la bomba fue de 45% para todos los ensayos. Mezcla¹: Maltodextrina + Inulina; Mezcla²: Maltodextrina; Mezcla³: Maltodextrina + Goma arábica y Mezcla⁴: Maltodextrina + Goma arábica + Inulina

De acuerdo con **Cuello et al. (2014)**, a temperaturas de entrada entre 130 °C y 150 °C los microorganismos están expuestos a aproximadamente 40 °C, la cual no puede provocar una alteración en la estructura células de las bacterias probióticas. En el experimento descrito por **Cuello et al. (2014)**, durante el secado por aspersion las bacterias ácido lácticas fueron expuestas a temperaturas de entrada de hasta 200 °C sin alterar significativamente su supervivencia.

Por otro lado, **Kim y Bhowmilk (2019)**, observaron que la tasa de supervivencia de las bacterias después del secado era mayor cuando menor era la temperatura de entrada en el spray dryer, no obstante, una menor temperatura en el proceso puede alterar el porcentaje de humedad del producto final y afectar su integridad durante el almacenamiento. Además, las bacterias ácido lácticas son Gram-positivas están constituidos por 40 o más capas de peptidoglicanos, confiriéndoles una mayor protección frente a procesos de atomización en comparación con otros géneros bacterianos.

En un estudio similar realizado por **Suárez & López (2019)**, se microencapsularon microorganismos en condiciones similares de temperatura y se obtuvieron resultados favorables. Este experimento fue un precedente fiable de las condiciones de operación del equipo. Además, el rendimiento del proceso se reporta en la Tabla 6, donde se determinó que la combinación de polímeros compuesta por maltodextrina y goma arábiga exhibió el mayor rendimiento. De acuerdo con **Koç et al. (2014)**, los polímeros de recubrimiento comúnmente empleados para la microencapsulación por secado por aspersion son polímeros derivados del almidón, como la maltodextrina, garantizando protección, biocompatibilidad y biodegradabilidad. Por lo general, se combina con goma arábiga, la cual es un material encapsulante que confiere estabilidad y protección a la sustancia, por lo general son ampliamente utilizados en la industria alimentaria y farmacéutica para conservar componentes activos. Estos dos polímeros juntos han generado el mejor rendimiento en la microencapsulación, lo cual coincidió con los hallazgos de este estudio.

3.1.2.2 Análisis de humedad y pH de los microencapsulados

En la Figura 10 se presentan los resultados del análisis del porcentaje de humedad y del pH de los productos de secado por aspersion. Estos parámetros fueron determinados a partir de los productos del secado por aspersion.

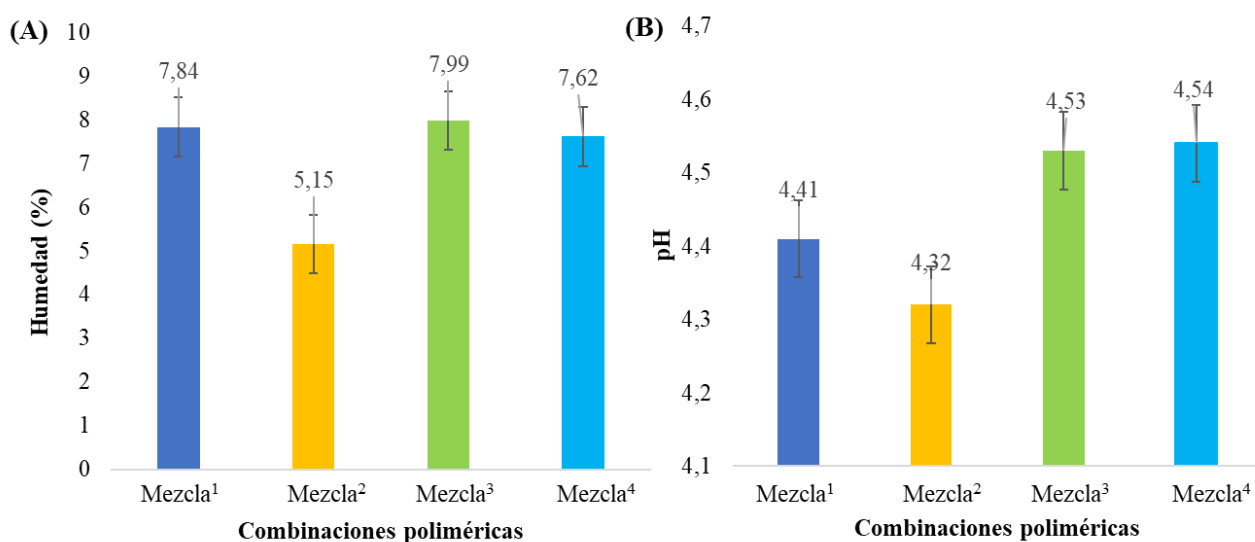


Figura 10. Análisis de humedad y pH de los microencapsulados.

Nota: (A) Análisis de humedad de los microencapsulados. (B) Análisis de pH de los microencapsulados. Mezcla¹: Maltodextrina + Inulina; Mezcla²: Maltodextrina; Mezcla³: Maltodextrina + Goma arábica y Mezcla⁴: Maltodextrina + Goma arábica + Inulina

En la Figura 10-A se observó el contenido de humedad en cada una de las combinaciones poliméricas empleadas en el secado por aspersión; el valor medio estimado del porcentaje de humedad en este estudio fue de $7,15 \pm 1,34\%$. De acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio realizado por **Koç et al. (2014)**, los valores de contenido de humedad en polvos microencapsulados de yogur variaron entre 3,98 y 7,71%. El porcentaje de humedad de los productos del secado por aspersión es directamente proporcional a la temperatura del aire de entrada en el equipo, en este caso se pudo haber elevado la temperatura y disminuir el porcentaje de humedad, pero pudo disminuir la viabilidad y la integridad de las células bacterianas probióticas.

Con respecto al análisis de pH, **Kang et al. (2019)**, menciona que los valores de pH para yogures de buena calidad esta entre 4,0 y 4,6. El valor de pH es importante en las características organolépticas del yogur, debido a que un pH ácido es un indicativo de que

el yogur tendrá un sabor y olor propios de lácteos fermentados y será más denso; esto debido a la producción de ácido láctico por la fermentación de los cultivos bacterianos. En este estudio, como se observa en la Figura 10-B el valor estimado medio de pH fue de $4,45 \pm 0,10$; lo cual se pudo explicar mediante la naturaleza ácida del yogur.

3.1.2.3 Evaluación de la viabilidad de los probióticos antes y después del proceso de secado por aspersión.

La supervivencia de las bacterias microencapsuladas se verificó aplicando la técnica de recuento en placa y determinación del porcentaje de viabilidad de células bacterianas en medio de cultivo MRS antes y después del proceso de secado por aspersión. En la Figura 11, se observa el crecimiento bacteriano en medio MRS después del periodo de incubación en condiciones aerobias. El medio MRS es un medio nutritivo para *Lactobacillus* y otros géneros de bacterias ácido lácticas (Difco TM, 2016). Contiene peptona y dextrosa como suministro de nitrógeno y carbono. Mientras que el polisorbato 80, acetato, magnesio y manganeso, además de proporcionar factores de crecimiento, inhiben el crecimiento de otro tipo de microorganismos (Difco TM, 2016; Wang et al., 2021).

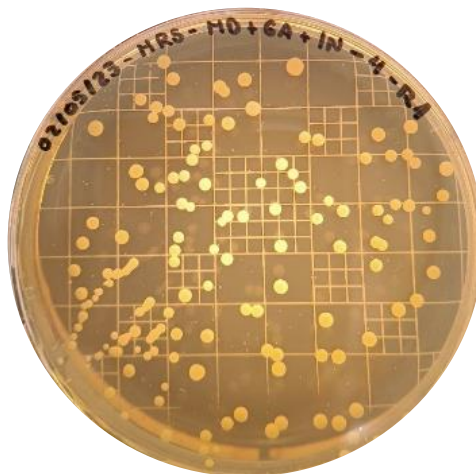


Figura 11. Crecimiento celular bacteriano en medio MRS después de 48h de incubación a 37°C en condiciones aerobias.

Nota: la placa Petri con medio de cultivo corresponde a la siembra en dilución 10^{-4} de la mezcla de polímeros con maltodextrina, goma arábica e inulina.

En un estudio realizado por **Nwadiuto & Salam (2018)**, se realizó cultivo celular de diferentes géneros de bacterias ácido lácticas. En dicho estudio se realizó la identificación fenotípica y genotípica de *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*. donde las colonias formadas en el medio fueron similares a los identificados en este estudio. Entonces, se puede sugerir que las bacterias que se observaron en el medio fueron *L. delbruekii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*; puesto que comparten las características morfológicas, como colonias de forma esférica, color blanco lechoso, elevación convexa, bordes lisos y aspecto brillante. Además, dichas colonias son las que se mencionan en la etiqueta del yogur natural sin azúcar de la marca Toni S.A. (**Dawei, 2018**). Además, en lo reportado por **Iyer et al. (2013)**, el crecimiento celular bacteriano de lactobacilos en medio MRS se presentan como colonias blancas incrustadas en el medio.

En la Figura 12 se reporta el porcentaje de viabilidad de los microorganismos inmediatamente después del secado (0 días) y después de 60 días. Los resultados en el día 0 demostraron que la mayor viabilidad se reportó en la mezcla⁴ que corresponde a la combinación de maltodextrina, goma arábica e inulina, con un valor medio estimado de 60,38%. Además, presentó una carga celular bacteriana media de $1,17 \times 10^7$ UFC*mL⁻¹. Por otro lado, en la mezcla² y mezcla³ la media del recuento fue $7,85 \times 10^6$ y $9,57 \times 10^6$ UFC*mL⁻¹, respectivamente. Mientras que para la mezcla¹ compuesta por maltodextrina e inulina la escala logarítmica del crecimiento celular disminuyó considerablemente en comparación con la carga celular de probióticos libres, y por lo tanto exhibió un menor porcentaje de viabilidad.

Además, después de 60 días a partir del secado por aspersión, los resultados sugirieron que la disminución de la viabilidad es considerable. Sin embargo, se observó que la mezcla⁴ compuesta por maltodextrina, goma arábica e inulina exhibió el mayor porcentaje de viabilidad en el tiempo; las condiciones de almacenamiento fueron cruciales en el mantenimiento de los microorganismos microencapsulados, en este caso las partículas se

conservaron en bolsas herméticas metalizadas y a una temperatura ambiente aproximadamente entre 19-25 °C.

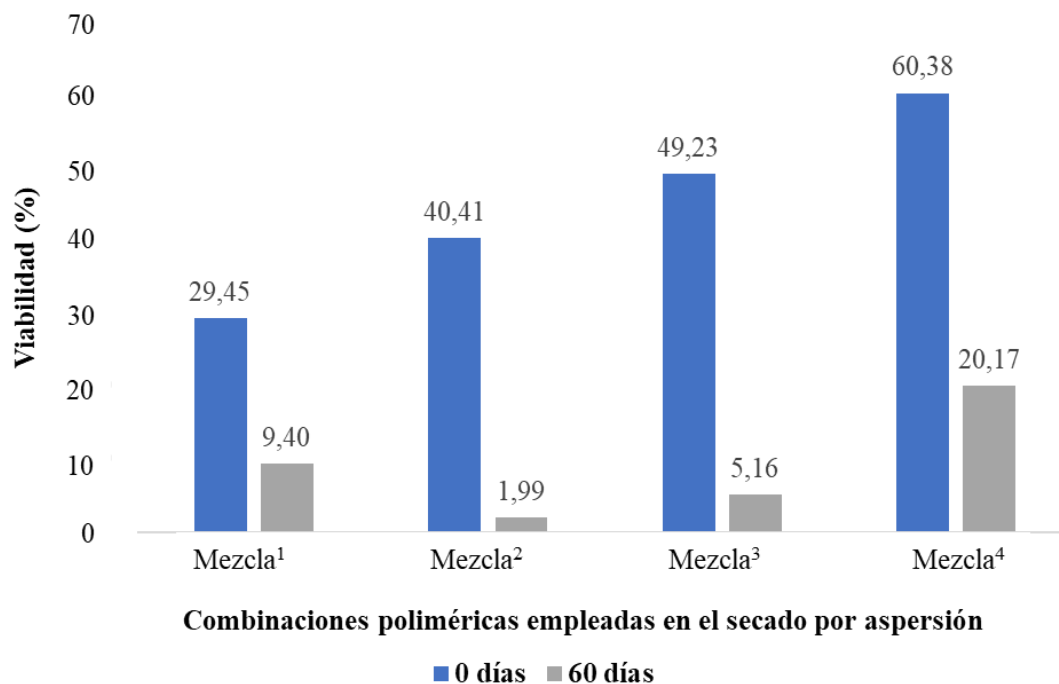


Figura 12. Viabilidad de los probióticos de yogur a los 0 días y después de 60 días.

Nota: Mezcla¹: Maltodextrina + Inulina; Mezcla²: Maltodextrina; Mezcla³: Maltodextrina + Goma arábica; Mezcla⁴: Maltodextrina + Goma arábica + Inulina

Aunque, el yogur debe almacenarse y transportarse a una temperatura aproximada de 5 °C, las bacterias del género *Lactobacillus* con termotolerantes y pueden soportar temperaturas hasta 72 °C (Jannah et al., 2022). Por otro lado, Bai et al. (2022), menciona que la viabilidad de los probióticos microencapsulados con maltodextrina y fructooligosacáridos, se pueden mantener a 4 °C en un periodo superior a 50 días sin alterar su viabilidad, sin embargo, a temperatura ambiente puede mantener su viabilidad por 30 días. Debido a que, si los probióticos microencapsulados no se mantienen en refrigeración puede existir la producción de gases y alterar la composición de los polímeros del recubrimiento y exponerlos a condiciones ambientales (Jannah et al., 2022).

Adicionalmente, **Dawei (2018)**, reportó en su investigación que la microencapsulación con gelatina y goma arábica confirió protección a los microorganismos frente a las condiciones del tracto gastrointestinal y logró mantener la concentración probiótica en periodos de almacenamiento superiores a 3 meses a 25 °C. Entonces la combinación polimérica está relacionada directamente con la viabilidad y supervivencia de los microorganismos microencapsulados. En un estudio realizado por **Iyer et al. (2013)**, se evaluaron diferentes tipos de coadyuvantes para mejorar la eficiencia del proceso de secado por aspersión. En el cual se consideró la maltodextrina como un material de bajo coste y ampliamente utilizado en la industria alimentaria, también se empleó inulina, pero fue catalogado como un material más costoso y menos extendido en la microencapsulación. Las formulaciones compuestas por estos dos tipos de polímeros podrían aportar un efecto sinérgico junto con los probióticos y favorecer la viabilidad, debido a que pueden prevenir la deshidratación de las células durante el proceso de secado (**Ismail et al., 2023**).

Por otro lado, **Li et al. (2021)** en base a los resultados obtenidos en su estudio, demostró que el número de células probióticas microencapsuladas con prebióticos como inulina protegen a los microorganismos del yogur. Determino que *Lactobacillus* es un microorganismo candidato para obtener partículas que contenían simbióticos con alta eficiencia de encapsulación y estabilidad en el tiempo. Además, en el ensayo en condiciones gastrointestinales simuladas exhibieron una alta supervivencia. Así mismo, en el experimento realizado por **Uwamahoro et al. (2022)**, la viabilidad de microencapsulación de probióticos *L. acidophilus* y *Bifidobacterium* con inulina como polímero de recubrimiento fueron de 69,80% a 89,12%. Valores similares reportados en este trabajo para el género *Lactobacillus*.

3.1.2.4 Análisis estadístico

3.1.2.4.1 Análisis estadístico del rendimiento

Para el análisis estadístico se compararon las medias del rendimiento para cada combinación de polímeros. Se realizó una comparación en un diagrama de cajas y bigotes, como se muestra en la Figura 13, donde se evidencia la diferencia entre las variables de estudio.

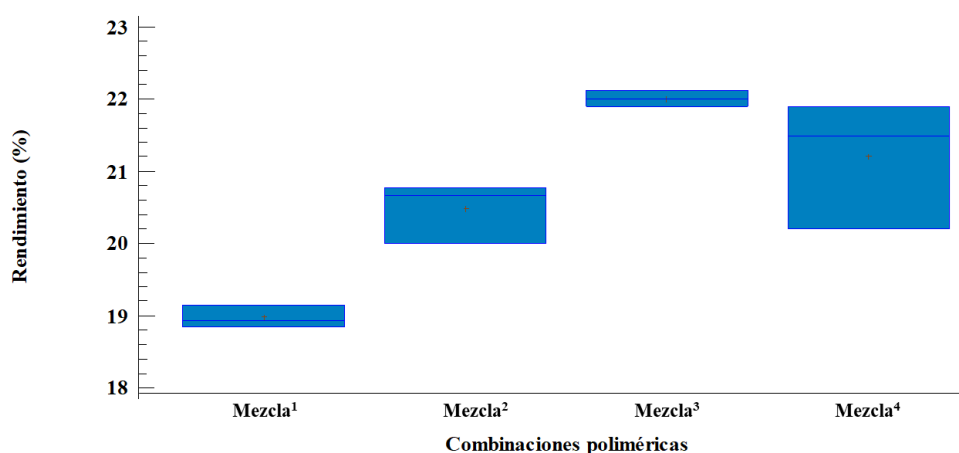


Figura 13. Diagrama de cajas y bigotes del rendimiento del proceso de secado por aspersión.

Nota: Mezcla¹: Maltodextrina + Inulina; Mezcla²: Maltodextrina; Mezcla³: Maltodextrina + Goma arábica; Mezcla⁴: Maltodextrina + Goma arábica + Inulina

El rendimiento de la microencapsulación en el secado por aspersión se refiere a la cantidad de sustancia de interés que se logra encapsular en relación con la cantidad total inyectada al inicio del proceso. Un mayor rendimiento indica que se ha logrado encapsular y recuperar la mayor parte del producto, lo cual es deseable para maximizar la eficiencia del proceso (Dhewa et al., 2014). Como se muestra en el Anexo 2, en este experimento se realizó un análisis estadístico del rendimiento de microencapsulación, se utilizó un diagrama de cajas y bigotes como se muestra en la Figura 13, un análisis ANOVA con 5% de significancia y una prueba de rangos múltiples para 4 variables. El diagrama de

cajas y bigotes mostró que existe una diferencia significativa entre las medias de los datos y esto se corroboró con el valor-P de la prueba-F, puesto que es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Para determinar cuáles variables fueron significativamente diferentes se realizó una la prueba de múltiples rangos, la cual aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias es significativamente diferente de otras, como se muestra en el Anexo 2. El método que se empleó para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Se demostró que entre la mezcla² y mezcla³ no existe diferencia significativa, que la mezcla³ y mezcla⁴ no presentan diferencia significativa, mientras que la mezcla¹ presento un valor significativamente inferior a la media. Entonces se concluyó que en términos de rendimiento la mezcla³ compuesta por maltodextrina y goma arábica y la mezcla⁴ compuesta por maltodextrina, goma arábica e inulina; no presentan diferencias estadísticamente significativas en términos de rendimiento.

3.1.2.4.2 Análisis estadístico de la viabilidad

Para el análisis estadístico de los datos de viabilidad de los probióticos microencapsulados en el día 0 y después de 60 días, se utilizó un análisis ANOVA con 5% de significancia, un diagrama de cajas y bigotes para ilustrar los datos y una prueba de rangos múltiples con 4 variables que fueron las diferentes combinaciones poliméricas, las pruebas se muestran en el Anexo 3. En el análisis ANOVA tanto en el día 0 como a los 60 días se obtuvo que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05; es decir existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

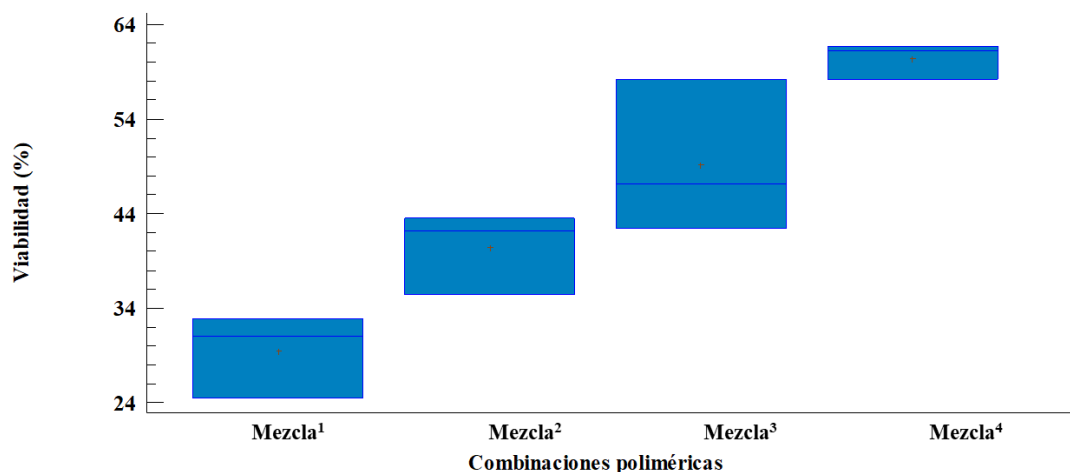


Figura 14. Diagrama de cajas y bigotes de la viabilidad celular bacteriana después del secado por aspersión (0 días)

Nota: Mezcla¹: Maltodextrina + Inulina; Mezcla²: Maltodextrina; Mezcla³: Maltodextrina + Goma arábica; Mezcla⁴: Maltodextrina + Goma arábica + Inulina

Para determinar cuáles variables fueron significativamente diferentes se realizó una la prueba de múltiples rangos la cual aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias es significativamente diferente de otras como se muestra en el Anexo 3. El método que se empleó para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Se determinó que a los 0 días no existía una diferencia estadísticamente significativa entre la mezcla² y mezcla³, sin embargo, la mezcla¹ exhibió un valor inferior a la media en comparación con las demás muestras. Por otro lado, la muestra⁴ presentó una diferencia significativa superior a la media, por lo cual se dedujo que esta combinación de polímeros de maltodextrina, goma arábica e inulina presentó un mayor porcentaje de viabilidad celular bacteriana (Figura 14).

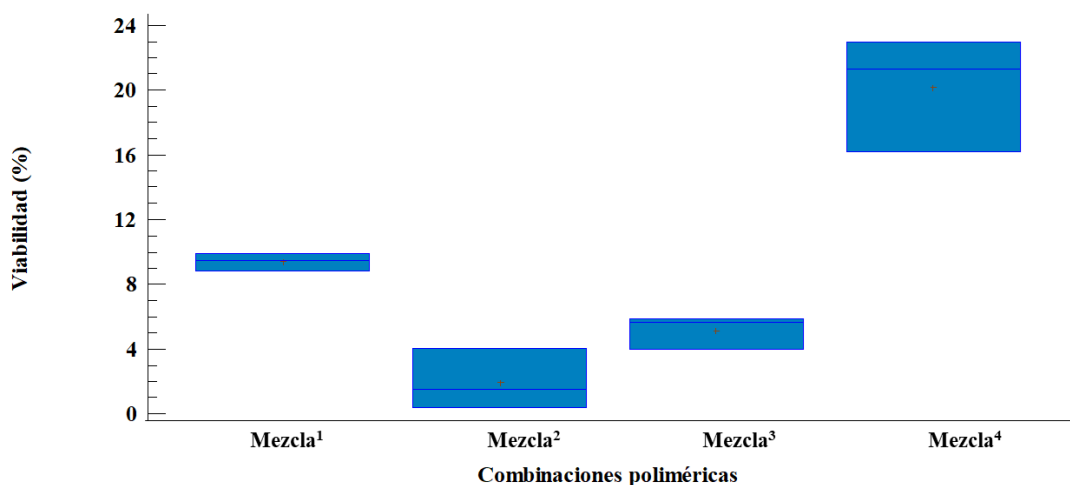


Figura 15. Diagrama de cajas y bigotes de la viabilidad celular bacteriana después de 60 días del proceso de secado por aspersión.

Nota: Mezcla¹: Maltodextrina + Inulina; Mezcla²: Maltodextrina; Mezcla³: Maltodextrina + Goma arábica; Mezcla⁴: Maltodextrina + Goma arábica + Inulina

Mientras que, el análisis de viabilidad después de 60 días definió que la mezcla² y mezcla³ no presentaron diferencia significativa entre ellos, sin embargo, la mezcla¹ presenta un valor estadísticamente superior a la media de la mezcla² y mezcla³ y la mezcla⁴ presenta un valor estadísticamente superior a la media de todas las demás combinaciones de polímeros; como se muestra en las pruebas de múltiples rangos del Anexo 4. Contrastando el rendimiento y porcentaje de viabilidad se pudo determinar que estadísticamente la combinación de polímeros que favorece la eficiencia del proceso es la compuesta por maltodextrina, goma arábica e inulina (Figura 15).

Este resultado es similar al reportado en un estudio realizado por **Rodríguez-Barona et al. (2012)**, donde se demostró que la viabilidad de microorganismos microencapsulados aumenta en presencia de agentes prebióticos, entre ellos, inulina. Evidenciando que para *L. rhamnosus* existe un mayor porcentaje de viabilidad en el tiempo y puede conferir estabilidad en periodos superiores a 21 días. Entonces, la inulina y las moléculas de

oligosacáridos poseen una elevada capacidad de retención y mejoran su supervivencia durante el almacenamiento. Además, la adición de goma arábiga a la formulación con otros polímeros aporta una mayor estabilidad del microencapsulado y favorece la retención del principio activo, evitando su degradación o liberación prematura (**AS Akalin, 2008**).

3.1.3 Análisis de espectroscopía por Transformada de Fourier y Microscopia Electrónica de Barrido de los microencapsulados.

3.1.3.1 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier con Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en siglas), permite analizar muestras en base a las interacciones moleculares y composición química de una muestra (**Fadlelmoula et al., 2022**). La técnica emplea la radiación infrarroja para medir la vibración producida por los enlaces químicos. La transformada de Fourier es una herramienta matemática que permite analizar una señal en base a sus componentes de frecuencia y permite convertir un interferograma infrarrojo en un espectro de frecuencia (**Movasaghi et al., 2008**). El espectro infrarrojo resultante proporciona información sobre los grupos funcionales que se encuentran en la muestra, debido a que los tipos de enlaces químicos poseen frecuencias de longitud de onda específicas dentro del espectro, por lo tanto, facilita la identificación de compuestos químicos y determinar su estructura y composición (**Kowalczuk & Pitucha, 2019**).

Para la ejecución de esta investigación se empleó un espectroscopio infrarrojo FTIR-ATR. Los espectros que se muestran en la Figura 16 indican la composición química de los microencapsulados obtenidos en el secado por aspersión en comparación con el yogur probiótico líquido y el espectro descrito por cada uno de los polímeros de recubrimiento. En general, se observó un patrón similar con algunos picos claramente definidos. En la Figura 16-B se observa un pico de absorción relativamente fuerte a una longitud de onda

de $1633,65\text{ cm}^{-1}$, mientras que en el Figura 16-A se observa el estiramiento de las bandas aproximadamente a la misma longitud de onda para todos los polímeros de recubrimiento empleados.

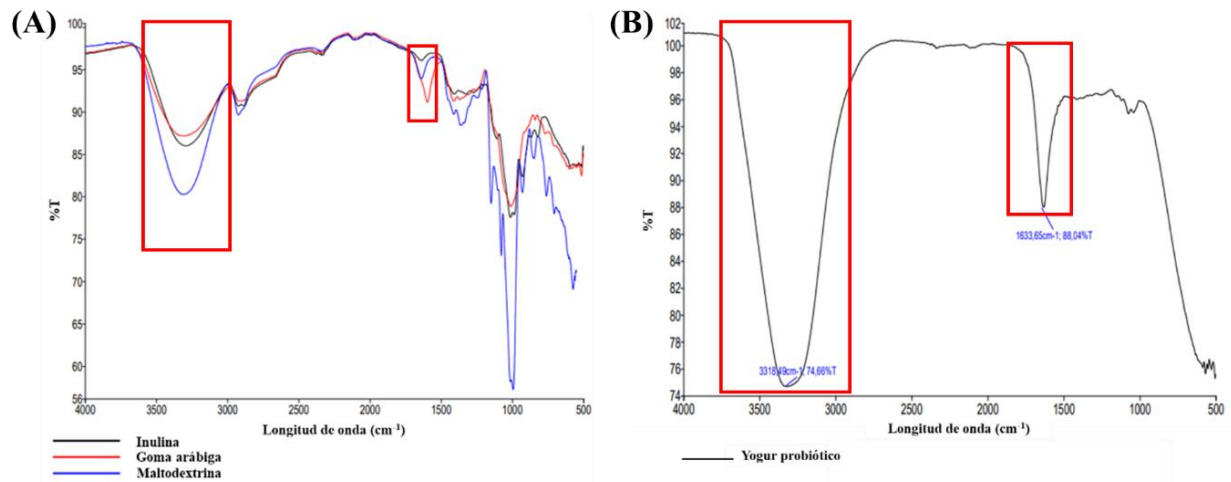


Figura 16. Análisis FTIR-ATR de los polímeros de recubrimiento y yogur probiótico

(A) Se presentan las curvas superpuestas del análisis FTIR-ATR de los polímeros de recubrimiento empleados en la microencapsulación: maltodextrina, goma arábica e inulina. (B) Se presenta la curva determinada por FTIR-ATR del yogur probiótico de la marca comercial Toni S.A.

De acuerdo con lo reportado por **Saleh (2021)**, la banda alrededor de 1650 cm^{-1} se debe presumiblemente a la vibración del estiramiento del enlace carbono-oxígeno del grupo carbonilo (C=O). La banda pronunciada en esta región en la muestra de yogur podría indicar la presencia de los grupos carbonilo presentes en proteínas, lactosa y otros carbohidratos. Además, la vibración de estiramiento de los enlaces C=O presentes en el ácido láctico o ésteres presentes en el yogur. Por otro lado, la banda alrededor de 1633 cm^{-1} en las muestras de polímeros puede estar asociada a la presencia de los grupos carbonilo de los azúcares que los componen (**Movasaghi et al., 2008**).

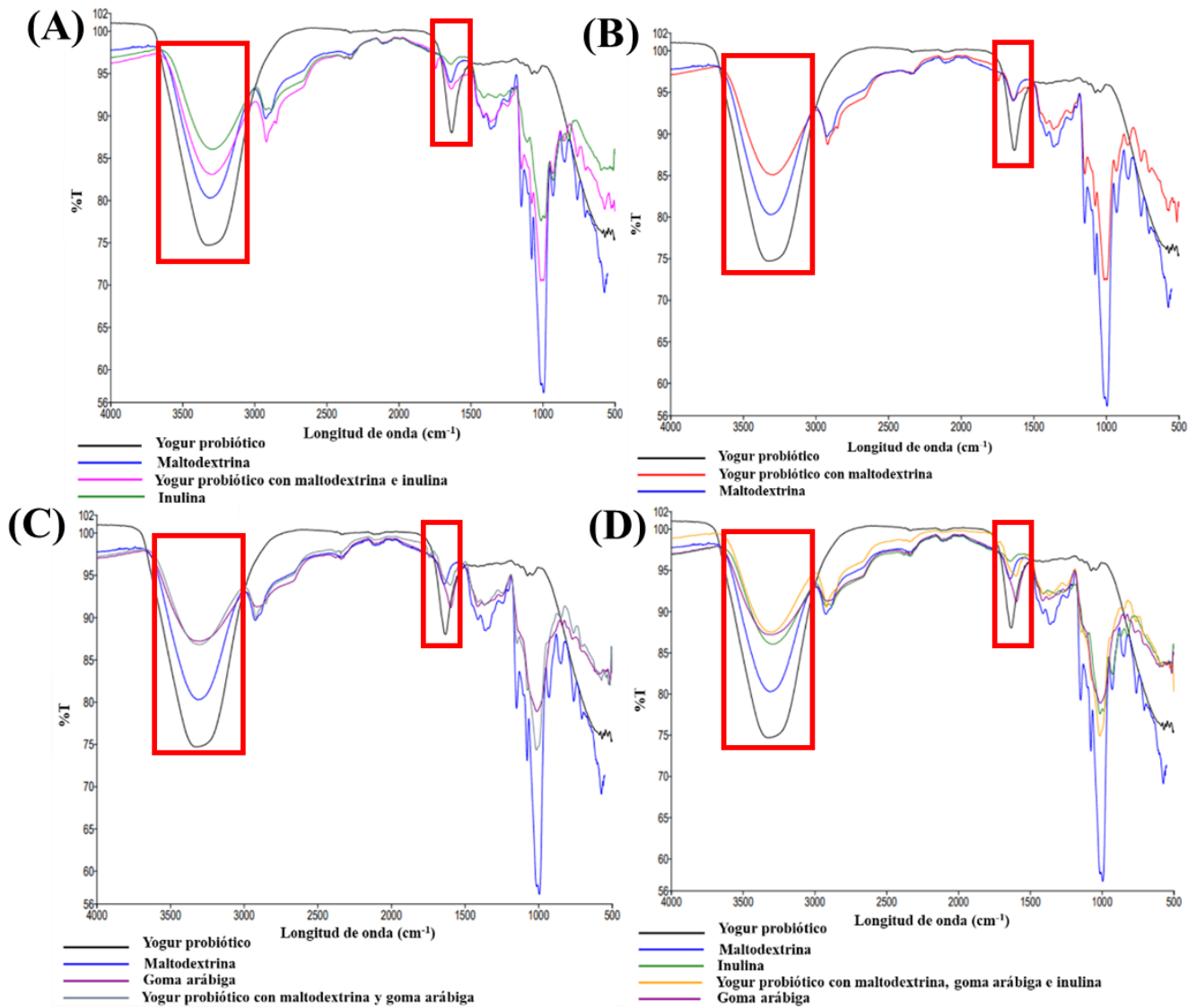


Figura 17. Análisis FTIR-ATR del yogur microencapsulado con diferentes matrices poliméricas frente a la curva descrita por cada uno de los polímeros de recubrimiento.

(A) Se presentan las curvas del yogur microencapsulado con maltodextrina frente al yogur libre y el polímero. (B) Se presentan las curvas del yogur microencapsulado con maltodextrina y goma arábica frente al yogur libre y cada uno de los polímeros. (C) Se presentan las curvas del yogur microencapsulado con maltodextrina y goma arábica frente al yogur libre y cada uno de los polímeros. (D) Se presentan las curvas superpuestas del yogur microencapsulado con maltodextrina e inulina frente al yogur libre y cada uno de los polímeros empleados

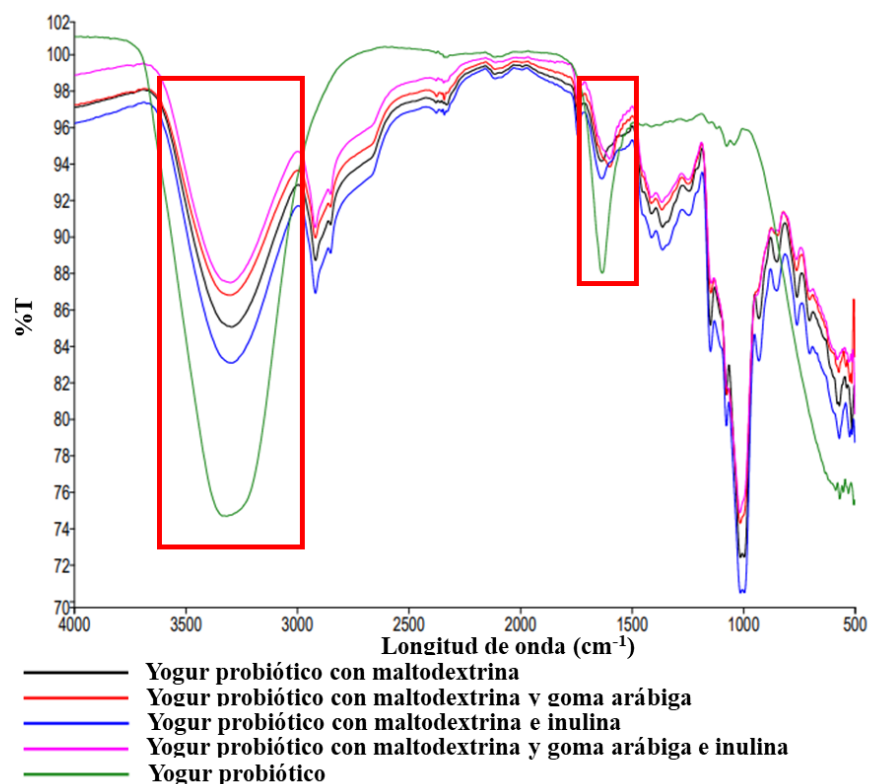


Figura 18. Análisis FT-IR de las combinaciones poliméricas para la microencapsulación de yogur probiótico frente al yogur probiótico libre.

Nota: Se presentan superpuestas las curvas determinadas por Espectroscopia Infrarroja por FTIR-ATR de los microencapsulados con las diferentes combinaciones de polímeros de recubrimiento, frente a la curva descrita por el yogur probiótico.

Debido a que los polímeros empleados en este trabajo son polisacáridos a esta longitud de onda se produce la vibración por el estiramiento de los grupos aldehído o cetona presentes en los monómeros de glucosa. Para los polímeros la banda formada a esa longitud de onda es menos pronunciada en comparación con la banda formada por el yogur debido a la naturaleza de las muestras. Las combinaciones de polímeros empleados en la microencapsulación describen un espectro específico la banda formada a aproximadamente 1633,65 cm⁻¹ se tomó como referencia para verificar la correcta microencapsulación del yogur probiótico (Figura 17).

En la Figura 18 se analizaron los espectros descritos por los productos del secado por aspersión espectro descrito por el yogur; en este caso un indicativo positivo fue la lejanía de las bandas descritas por los microencapsulados con respecto al yogur debido al enmascaramiento de los polímeros. A partir de las bandas formadas se determinó que la combinación de polímeros con maltodextrina e inulina se mantiene más lejana a la banda descrita por el yogur, lo cual sugirió que la muestra se encuentra inmersa en los polímeros de recubrimiento.

3.1.3.2 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

En la Figura 19 se muestran los resultados de la caracterización morfológica por Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) de los microencapsulados de yogur con maltodextrina, goma arábica e inulina, la cual mostró el mayor porcentaje de viabilidad celular bacteriana. En la Figura 19-A a una resolución de 500X se observó una micrografía del polvo microencapsulado como agregados dispersos y partículas esféricas. En la Figura 19-B se observó la micrografía a resolución de 2000X, donde las partículas presentaron forma esférica de tamaños diversos y se observó una superficie con cavidades propias del secado por aspersión y un diámetro estimado de 6,92 μm . Además, cabe destacar que las partículas obtenidas fueron microesferas, ya que los polímeros de recubrimiento almacenan la sustancia de interés en su interior en un centro polinuclear.

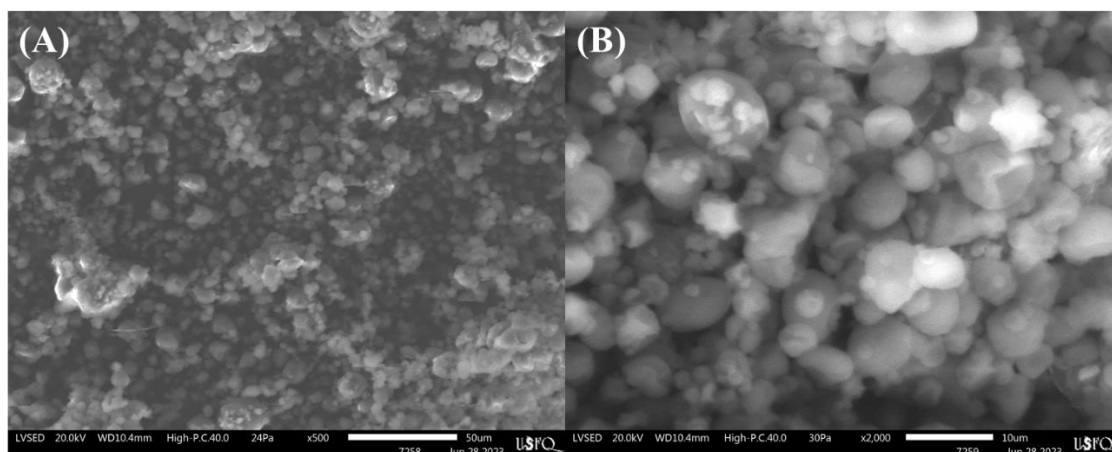


Figura 19. *Micrografías SEM de yogur microencapsulado por secado por aspersión con maltodextrina, goma arábica e inulina.*

Nota: (A) micrografía a resolución 500X. (B) micrografía a resolución 2000X.

Debido al tamaño de las partículas no se pudo definir la calidad de la superficie de las partículas, sin embargo, en el estudio realizado por **Rodríguez-Barona (2012)**, se microencapsularon microorganismos con inulina como polímero de recubrimiento. En los resultados que se obtuvieron se mostraron micrografías de las partículas a una resolución de 4000X, donde se observaron partículas de aproximadamente 5,21 μm . Además, las superficies externas no mostraron fisuras, lo cual garantiza la protección y baja permeabilidad a los gases, con cavidades típicas propias de los materiales empleados en el secado por aspersión debido al encogimiento que tiene lugar durante la atomización a elevadas temperaturas.

3.2 Verificación de la hipótesis

Se acepta la hipótesis alternativa: la combinación de polímeros de recubrimiento en la microencapsulación de probióticos de yogur influye en la viabilidad celular bacteriana.

CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se evaluó el efecto de diferentes matrices poliméricas en la microencapsulación por secado por aspersión de probióticos de yogur, las matrices poliméricas evaluadas incluyeron maltodextrina, goma arábica e inulina; en varias combinaciones en proporción 70:30 de polímeros y yogur. Los resultados mostraron que la combinación con maltodextrina y goma arábica y la mezcla de maltodextrina, goma arábica e inulina no presentan diferencias en términos de rendimiento, siendo estos los mejores. El valor de humedad fue de $7.15 \pm 1.34\%$ y el valor de pH de 4.45 ± 0.10 .
- Se comparó la viabilidad de los de probióticos antes y después del proceso de microencapsulación. Se aplicó la técnica de recuento en placa, se utilizó medio MRS con un periodo de incubación de 48 h a 37 °C. Se evaluó la viabilidad en dos momentos: inmediatamente después del secado por aspersión (0 días) y después de 60 días. El análisis de crecimiento bacteriano y el análisis morfológico sugirió la presencia de *L. delbruekii subesp. bulgaricus*, *L. rhamnosus GG* y *S. thermophilus* en las muestras analizadas. Se determinó que la combinación polimérica con mayor viabilidad fue aquella compuesta por maltodextrina, goma arábica e inulina con un porcentaje de 60,38% después del secado, mientras que después de 60 días mantuvo una viabilidad de 20,17%. Además, en ambos momentos el análisis del recuento bacteriano cumplió los estándares establecidos por normativa para productos probióticos y superó el umbral terapéutico para que los probióticos tengan efectos benéficos en la salud.
- Se caracterizaron mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR-ATR) y se obtuvo el espectro infrarrojo de cada uno de los polvos obtenidos en el proceso de secado por aspersión, cada uno de los polímeros.. El resultado sugirió

que la combinación polimérica con mejor calidad de recubrimiento fue aquella compuesta por maltodextrina, goma arábica e inulina.

- Se aplicó la técnica de Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) para caracterizar los polvos con mayor viabilidad y mayor rendimiento obtenidos del secado por aspersión. En el caso de la microencapsulación con maltodextrina, goma arábica e inulina que fue la que exhibió mayor viabilidad; las micrografías a resoluciones de 500x y 2000x exhibieron microesferas, con cavidades superficiales, baja permeabilidad y partículas con diámetro promedio estimado de 6,92 μm .

4.2 Recomendaciones

- Probar modificación en los parámetros de operación del equipo y en las proporciones o tipos de polímeros de recubrimiento.
- Evaluar la viabilidad de los microorganismos probióticos microencapsulados manteniéndolos en diferentes combinaciones de almacenamiento.
- Analizar la supervivencia y la estabilidad de los microorganismos probióticos microencapsulados mediante condiciones de tracto gastrointestinal simuladas.

MATERIALES DE REFERENCIA

Bibliografía

- Al-Megrin, W. A., Mohamed, S. H., Saleh, M. M., & Yehia, H. M. (2021). Preventive role of probiotic bacteria against gastrointestinal diseases in mice caused by *Giardia lamblia*. *Bioscience Reports*, *41*(2). <https://doi.org/10.1042/BSR20204114/227855>
- Ammeraal, R. N., Delgado, G. A., Tenbarge, F. L., & Friedman, R. B. (2001). High-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection of linear and branched glucose oligosaccharides. *Carbohydrate Research*, *215*(1), 179–192. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(91\)84017-9](https://doi.org/10.1016/0008-6215(91)84017-9)
- Anderson, D. M. W. (1986). Evidence for the Safety of Gum Arabic (*Acacia Senegal* (L.) Willd.) as a Food Additive—a brief review. *Food Additives and Contaminants*, *3*(3), 225–230. <https://doi.org/10.1080/02652038609373584>
- AS Akalin, D. E. (2008). Effect of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. *J Food Sci*, *73*, 184–188.
- Aschemann-Witzel, J., Gantriis, R. F., Fraga, P., & Perez-Cueto, F. J. A. (2020). Plant-based food and protein trend from a business perspective: markets, consumers, and the challenges and opportunities in the future. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–10. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1793730>
- Bai, J., Ding, Z., Su, R., Wang, M., Cheng, M., Xie, D., & Guo, X. (2022). Storage Temperature Is More Effective Than Lactic Acid Bacteria Inoculations in Manipulating Fermentation and Bacterial Community Diversity, Co-Occurrence and Functionality of the Whole-Plant Corn Silage. *Microbiology Spectrum*, *10*(2). <https://doi.org/10.1128/SPECTRUM.00101-22>
- Baspinar, B., & Güldeş, M. (2020). Traditional plain yogurt: a therapeutic food for metabolic syndrome? <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1799931>, *61*(18), 3129–3143. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1799931>
- Behare, P., Lule, V. K., & Patil, P. (2015). Yogurt: Dietary Importance. *Encyclopedia of Food and Health*, 612–616. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00765-0>
- Bernal Castro, C. A., Díaz-Moreno, C., Gutiérrez-Cortés, C., Bernal Castro, C. A., Díaz-Moreno, C., & Gutiérrez-Cortés, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista Chilena de Nutrición*, *44*(4), 383–392. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182017000400383>

- Capurso, L. (2019). Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG A Review. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 53, S1–S41.
<https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001170>
- Castillo, N. A., de Moreno de LeBlanc, A., Galdeano, C. M., & Perdígón, G. (2012). Probiotics: An alternative strategy for combating salmonellosis. Immune mechanisms involved. *Food Research International*, 45(2), 831–841.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.031>
- Chandan, R. C., Gandhi, A., & Shah, N. P. (2017). Yogurt: Historical background, health benefits, and global trade. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 1–29.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00001-8>
- Chauca, J. (2022). Vista de Comparación teórica del proceso de elaboración del yogur frutado. *Producción, Transformación y Comercialización Agropecuaria*, 1(1), 1–3.
<https://cipycos.umsa.bo/index.php/1/article/view/17/17>
- Chiang, M. C., Chen, C. L., Feng, Y., Chen, C. C., Lien, R., & Chiu, C. H. (2021). *Lactobacillus rhamnosus* sepsis associated with probiotic therapy in an extremely preterm infant: Pathogenesis and a review for clinicians. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 54(4), 575–580.
<https://doi.org/10.1016/J.JMII.2020.03.029>
- Cicenia, A., Santangelo, F., Gambardella, L., Pallotta, L., Iebba, V., Scirocco, A., Marignani, M., Tellan, G., Carabotti, M., Corazziari, E. S., Schippa, S., & Severi, C. (2016). Protective Role of Postbiotic Mediators Secreted by *Lactobacillus rhamnosus* GG Versus Lipopolysaccharide-induced Damage in Human Colonic Smooth Muscle Cells. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 50, S140–S144.
<https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000681>
- Clarke, P. (2004). Maltodextrins. *LC-GC North America*, 22(SUPPL.), 45.
https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2159-4_3/COVER
- Collins, S., & Reid, G. (2016). Distant site effects of ingested prebiotics. *Nutrients*, 8(9).
<https://doi.org/10.3390/NU8090523>
- Córdova Solís, J., & López Hernández, O. (2016). *Microencapsulación de secnidazol mediante secado por aspersión* [Universidad Técnica de Ambato].
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24480/1/BQ%20106.pdf>
- Cuello, R. E. G., Mendoza, J. P., & Alcázar, L. B. M. (2015). Efecto de la Microencapsulación sobre la Viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii* sometido a Jugos Gástricos Simulados. *Información Tecnológica*, 26(5), 11–16.
<https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500003>

- Cuello, R. E. G., Mendoza, J. P., & Suarez, N. A. U. (2014a). Efecto de la Microencapsulación sobre las Propiedades Reológicas y Fisicoquímicas del Yogurt Blando. *Información Tecnológica*, 25(6), 45–56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000600007>
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian, A., & Ghasemi, Y. (2019b). Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/FOODS8030092>
- Dawei, C. (2018). Failure to distinguish *L. rhamnosus* from *S. thermophilus* by using MRS medium. a The enumeration results of skim milk fermented for 6 h. L: *L. rhamnosus* LV108 solely cultured; L + S: *L. Research Gate*.
- Dhewa, T., Pant, S., & Mishra, V. (2014). Development of freeze dried synbiotic formulation using a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Food Science and Technology*, 51(1), 83–89. <https://doi.org/10.1007/S13197-011-0457-2>
- Difco TM. (2016). *Availability Difco™ Lactobacilli MRS Agar COMPF ISO SMD Difco™ Lactobacilli MRS Broth*.
- Dimov, I., Mollova, D., Vasileva, T., Bivolarski, V., Nikolova, M., Bivolarska, A., & Iliev, I. (2023). Metabolic profiling of probiotic strain *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* L14 cultivated in presence of prebiotic oligosaccharides and polysaccharides in simulating in vitro gastrointestinal tract system. *Http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tbeq*, 37(1), 260–272. <https://doi.org/10.1080/13102818.2023.2178825>
- Esmailnejad Moghadam, B., Keivaninahr, F., Fouladi, M., Rezaei Mokarram, R., & Nazemi, A. (2019). Inulin addition to yoghurt: Prebiotic activity, health effects and sensory properties. *International Journal of Dairy Technology*, 72(2), 183–198. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12579>
- Fadlelmoula, A., Pinho, D., Carvalho, V. H., Catarino, S. O., & Minas, G. (2022). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood over the Last 20 Years: A Review towards Lab-on-a-Chip Devices. *Micromachines*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/MII13020187>
- Fuentes, T. (2011). *MALTODEXTRINA / TODOesQUIMICA*. Sustancias Orgánicas de Interés. <https://todoesquimica.blogia.com/2011/111101-maltodextrina.php>
- Glicksman, M. (2019). Gum Arabic (Gum Acacia). *Food Hydrocolloids*, 7–29. <https://doi.org/10.1201/9780429290374-2>

- Goktas, H., Dikmen, H., Bekiroglu, H., Cebi, N., Dertli, E., & Sagdic, O. (2022). Characteristics of functional ice cream produced with probiotic *Saccharomyces boulardii* in combination with *Lactobacillus rhamnosus* GG. *LWT*, *153*, 112489. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112489>
- González, C. (2019). *Microencapsulation of probiotics in soybean protein particles obtained from food by-product* [Universidad de Navarra]. https://dadun.unav.edu/bitstream/10171/58377/3/Tesis_GonzalezFerrero19.pdf
- Gupta, E., & Mishra, P. (2020). Functional Food with Some Health Benefits, So Called Superfood: A Review. *Current Nutrition & Food Science*, *17*(2), 144–166. <https://doi.org/10.2174/1573401316999200717171048>
- Huang, Y. Y., Lu, Y. H., Liu, X. T., Wu, W. T., Li, W. Q., Lai, S. Q., Aadil, R. M., Riaz Rajoka, M. S., Wang, L. H., & Zeng, X. A. (2023). Metabolic Properties, Functional Characteristics, and Practical Application of *Streptococcus thermophilus*. <https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2202406>
- Huang, Y. yan, Liang, M. hua, Sun, L. na, Brennan, C. S., & Liu, D. mei. (2021). Effect of microencapsulation on morphology, physicochemical properties and flavour profiles of solid yoghurt-flavoured bases. *International Journal of Food Science & Technology*, *56*(5), 2565–2578. <https://doi.org/10.1111/IJFS.14896>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. *Leches fermentadas. Requisitos*, (2011) (testimony of Instituto Ecuatoriano de Normalización). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/n-te-inen-2395-2r.pdf>
- Ismail, S. A., El-Sayed, H. S., & Fayed, B. (2020). Production of prebiotic chitooligosaccharide and its nano/microencapsulation for the production of functional yoghurt. *Carbohydrate Polymers*, *234*, 115941. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.115941>
- Ismail, S. A., Hassan, A. A., Nour, S. A., & El-Sayed, H. S. (2023). The production of stirred yogurt fortified with prebiotic xylooligosaccharide, probiotic and synbiotic microcapsules. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *50*, 102729. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2023.102729>
- Iyer, B. K., Singhal, R. S., & Ananthanarayan, L. (2013). Characterization and in vitro probiotic evaluation of lactic acid bacteria isolated from idli batter. *Journal of Food Science and Technology*, *50*(6), 1114–1121. <https://doi.org/10.1007/S13197-011-0445-6>

- Jannah, S. R., Rahayu, E. S., Yanti, R., Suroto, D. A., & Wikandari, R. (2022). Study of Viability, Storage Stability, and Shelf Life of Probiotic Instant Coffee *Lactiplantibacillus plantarum* Subsp. *plantarum* Dad-13 in Vacuum and Nonvacuum Packaging at Different Storage Temperatures. *International Journal of Food Science*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/1663772>
- Játiva-Mariño, E., Játiva-Cabezas, Z., & Velasco-Benítez, C. A. (2019). Prevalencia de desórdenes gastrointestinales funcionales y hábito intestinal en lactantes menores de 12 meses internados en el Hospital Infantil Baca Ortíz de Quito, Ecuador. *Medicas UIS*, 32(2), 13–21. <https://doi.org/10.18273/REVMED.V32N2-2019002>
- Jouki, M., Khazaei, N., Rezaei, F., & Taghavian-Saeid, R. (2021). Production of synbiotic freeze-dried yoghurt powder using microencapsulation and cryopreservation of *L. plantarum* in alginate-skim milk microcapsules. *International Dairy Journal*, 122, 105133. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2021.105133>
- Junjua, M., Kechaou, N., Chain, F., Awussi, A. A., Roussel, Y., Perrin, C., Roux, E., Langella, P., Bermúdez-Humarán, L. G., Le Roux, Y., Chatel, J. M., & Dary-Mourot, A. (2016). A large-scale in vitro screening of *Streptococcus thermophilus* strains revealed strains with a high anti-inflammatory potential. *LWT*, 70, 78–87. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.02.006>
- Kamel, D. G., Hamman, A. R. A., Alsaleem, K. A., & Osman, D. M. (2021). Addition of inulin to probiotic yogurt: Viability of probiotic bacteria (*Bifidobacterium bifidum*) and sensory characteristics. *Food Science and Nutrition*, 9(3), 1743–1749. <https://doi.org/10.1002/FSN3.2154>
- Kang, S. S., Kim, M. K., & Kim, Y. J. (2019). Comprehensive Evaluation of Microbiological and Physicochemical Properties of Commercial Drinking Yogurts in Korea. *Food Science of Animal Resources*, 39(5), 820. <https://doi.org/10.5851/KOSFA.2019.E72>
- Koç, B., Sakin-Yilmazer, M., Kaymak-Ertekin, F., & Balkır, P. (2014). Physical properties of yoghurt powder produced by spray drying. *Journal of Food Science and Technology*, 51(7), 1377. <https://doi.org/10.1007/S13197-012-0653-8>
- Kowalczyk, D., & Pitucha, M. (2019). Application of FTIR Method for the Assessment of Immobilization of Active Substances in the Matrix of Biomedical Materials. *Materials*, 12(18). <https://doi.org/10.3390/MA12182972>
- Kurtuldu, O., & Ozcan, T. (2018). Effect of β -glucan on the properties of probiotic set yoghurt with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain Bb-12. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 157–166. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12414>

- Li, H., Liu, T., Yang, J., Wang, R., Li, Y., Feng, Y., Liu, D., Li, H., & Yu, J. (2021). Effect of a microencapsulated synbiotic product on microbiology, microstructure, textural and rheological properties of stirred yogurt. *LWT*, *152*, 112302. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112302>
- Li, H., Zhang, T., Li, C., Zheng, S., Li, H., & Yu, J. (2020). Development of a microencapsulated synbiotic product and its application in yoghurt. *LWT*, *122*, 109033. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2020.109033>
- Licari, A., Votto, M., Scudeller, L., De Silvestri, A., Rebuffi, C., Cianferoni, A., & Marseglia, G. L. (2020). Epidemiology of Nonesophageal Eosinophilic Gastrointestinal Diseases in Symptomatic Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, *8*(6), 1994-2003.e2. <https://doi.org/10.1016/J.JAIP.2020.01.060>
- López, O. D., Turiño, L. W., & Nogueira, A. (2015). Microencapsulacion de sabores mediante secado por aspersion spray drying microencapsulation of flavors. *Alimentos, Ciencia e Investigación.*, *23*(1), 65–69. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/14242/1/L%C3%B3pez%20et%20al.%20%282015%29_ACI-23%281%2965-69.pdf
- Lynda, K., & Underwood, D. (2018). *The Global Prevalence of Functional Gastrointestinal Disorders – Results of the First Global Study | World Gastroenterology Organisation*. A Global Perspective on Irritable Bowel Syndrome: A Consensus Statement of the World Gastroenterology Organisation Summit Task Force on Irritable Bowel Syndrome. <https://www.worldgastroenterology.org/publications/e-wgn/e-wgn-expert-point-of-view-articles-collection/the-global-prevalence-of-functional-gastrointestinal-disorders--results-of-the-first-global-study>
- Maldonado Galdeano, C., Cazorla, S. I., Lemme Dumit, J. M., Vélez, E., & Perdigón, G. (2019). Beneficial Effects of Probiotic Consumption on the Immune System. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *74*(2), 115–124. <https://doi.org/10.1159/000496426>
- Martinović, A., Cocuzzi, R., Arioli, S., & Mora, D. (2020). Streptococcus thermophilus: To Survive, or Not to Survive the Gastrointestinal Tract, That Is the Question! *Nutrients* *2020*, *Vol. 12*, *Page 2175*, *12*(8), 2175. <https://doi.org/10.3390/NU12082175>
- Mater, D. D. G., Bretigny, L., Firmesse, O., Flores, M. J., Mogenet, A., Bresson, J. L., & Corthier, G. (2005). Streptococcus thermophilus and Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus survive gastrointestinal transit of healthy volunteers consuming

- yogurt. *FEMS Microbiology Letters*, 250(2), 185–187. <https://doi.org/10.1016/J.FEMSLE.2005.07.006>
- Mayorga Garcés, A., Rodríguez Vélez, V., Dávila Bedoya, S., Andrade Zamora, D., Carrillo Ubidia, J., & Ordoñez Arce, M. (2020). Epidemiología y comportamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal en la población ecuatoriana. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 50(1). <https://doi.org/10.52787/SMTI9811>
- Mitra, S., & Ghosh, B. C. (2020). Quality characteristics of kefir as a carrier for probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Journal of Dairy Technology*, 73(2), 384–391. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12664>
- Mo, J., Lu, Y., Jiang, S., Yan, G., Xing, T., Xu, D., He, Y., Xie, B., Lan, G., Chen, B., & Liang, J. (2022). Effects of the Probiotic, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, as a Substitute for Antibiotics on the Gastrointestinal Tract Microbiota and Metabolomics Profile of Female Growing-Finishing Pigs. *Animals* 2022, Vol. 12, Page 1778, 12(14), 1778. <https://doi.org/10.3390/ANI12141778>
- Moreno Baptista, R., Salas Osorio, E., Pérez Maldonado, C., & Jiménez, J. M. (2013). Capacidad inmunomoduladora de cepas potencialmente probióticas de *Lactobacillus* aisladas de leche materna y heces de lactante. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 33(1), 24–27. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562013000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & Rehman, I. U. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134–179. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
- Neg, S. C., Shi, H. Y., Hamidi, N., Underwood, F. E., Tang, W., Benchimol, E. I., Panaccione, R., Ghosh, S., Wu, J. C. Y., Chan, F. K. L., Sung, J. J. Y., & Kaplan, G. G. (2017). Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet*, 390(10114), 2769–2778. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0)
- Nuñez, B., & López, O. (2022). *Extracción, microencapsulación y evaluación de la capacidad antioxidante de las antocianinas presentes en las flores de Hibiscus sabdariffa cultivadas en el cantón Milagro, provincia del Guayas* [Universidad Técnica De Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/36009/1/BQ%20336.PDF>
- Nwadiuto, N., & Salam, I. (2018). A selective medium for the enumeration and differentiation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *American Dairy Science Association*.

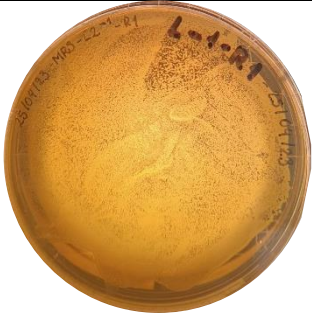
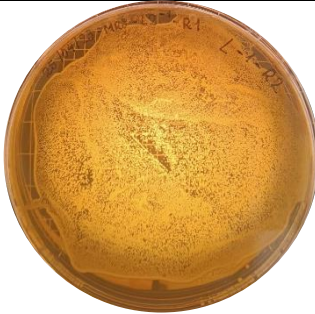




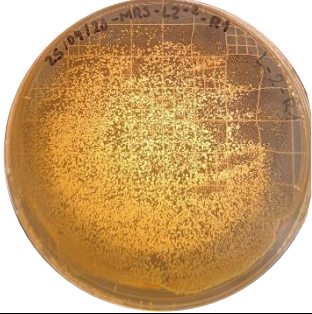


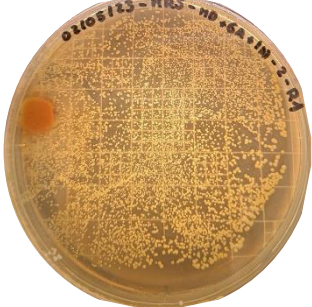
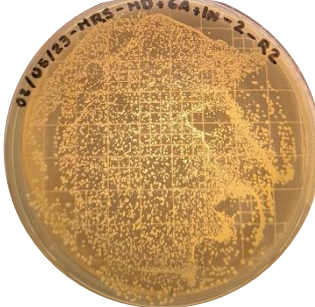
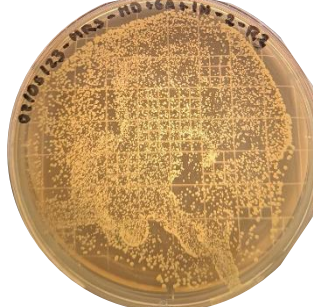
- Okuma, K. (2008). What is resistant maltodextrin? Process, structure, and properties. *Dietary Fiber: An International Perspective for Harmonization of Health Benefits and Energy Values*, 151–160.
- Oozeer, R., Mater, D. D. G., Goupil-Feuillerat, N., & Corthier, G. (2004). Initiation of protein synthesis by a labeled derivative of the *Lactobacillus casei* DN-114 001 strain during transit from the stomach to the cecum in mice harboring human microbiota. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12), 6992–6997. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.6992-6997.2004>
- Oyeniran, A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Krastanov, A., Ibrahim, S. A., Oyeniran, A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Krastanov, A., & Ibrahim, S. A. (2020). *Probiotic Characteristics and Health Benefits of the Yogurt Bacterium Lactobacillus delbrueckii sp. bulgaricus*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.86939>
- Petry, S., Furlan, S., Crepeau, M. J., Cerning, J., & Desmazeaud, M. (2010). Factors affecting exocellular polysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* grown in a chemically defined medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3427–3431. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.8.3427-3431.2000>
- Phillips, G. O. (2009). Acacia gum (Gum Arabic): A nutritional fibre; metabolism and calorific value. [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/02652039809374639](http://Dx.Doi.Org/10.1080/02652039809374639), 15(3), 251–264. <https://doi.org/10.1080/02652039809374639>
- Quitral, V., Torres, M., Velásquez, M., Bobadilla, M., Quitral, V., Torres, M., Velásquez, M., & Bobadilla, M. (2018). Efecto de inulina en la saciedad en humanos. *Perspectivas En Nutrición Humana*, 20(1), 79–89. <https://doi.org/10.17533/UDEA.PENH.V20N1A07>
- Redondo, N., Sánchez, A., & Nova, E. (2019). *Efectos del consumo de probióticos y yogures sobre el sistema inmunitario y el microbiota intestinal de adultos sanos* [Universidad Complutense de Madrid]. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/59870/1/T41889.pdf>
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012a). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124–140. <https://doi.org/10.1007/S12393-012-9051-2>
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012b). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124–140. <https://doi.org/10.1007/S12393-012-9051-2>

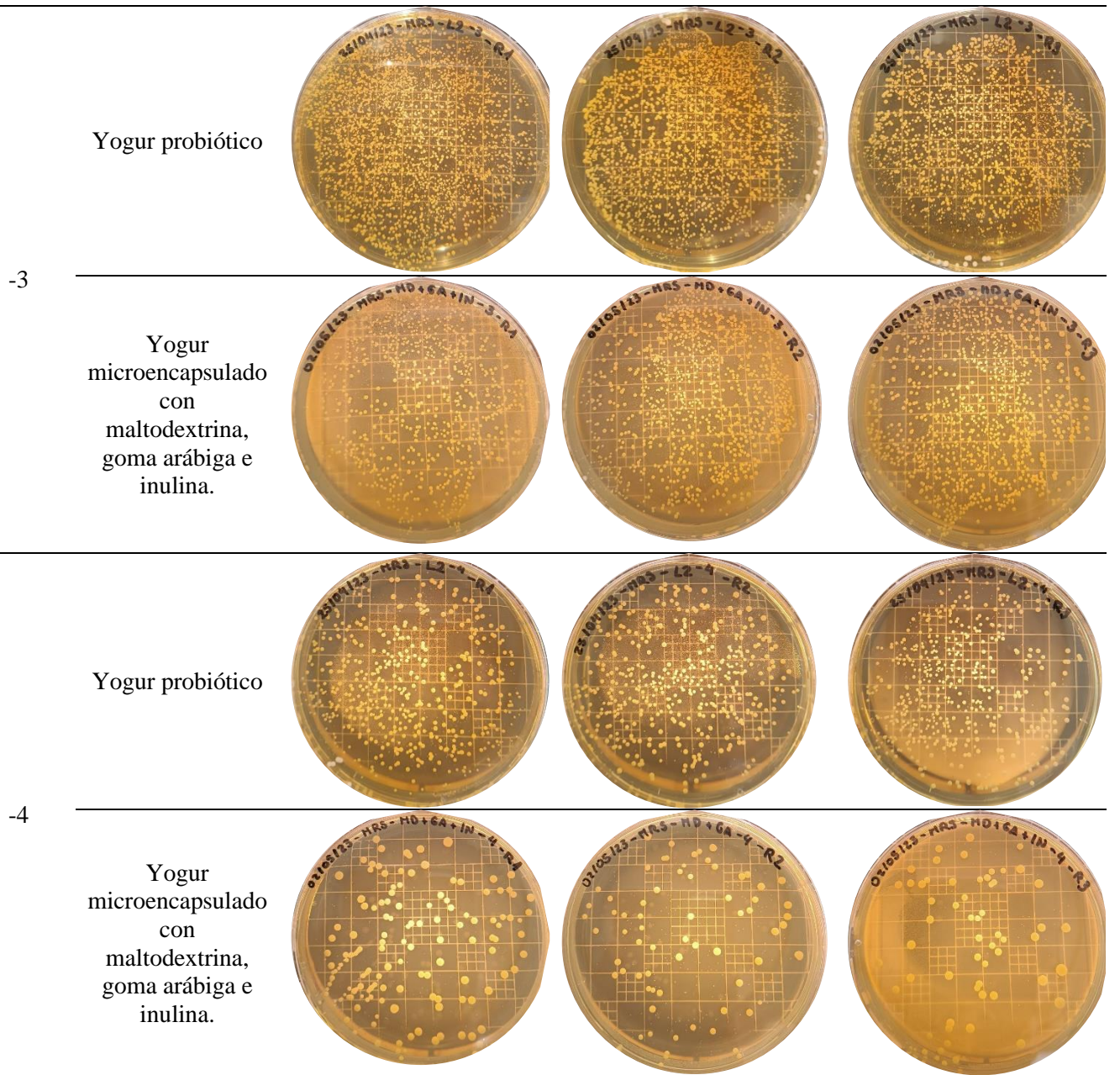
- Reyes Esparza, J. A., & Rodríguez Fragoso, L. (2017). Los probióticos: ¿cómo una mezcla de microorganismos hace un gran trabajo? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(1), 7–17. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Rodríguez-Barona, S., Montes, L. M., & Ramírez, J. (2012a). *Microencapsulación de probióticos mediante secado por aspersión en presencia de prebióticos. 1.* <http://www.R-project.org/>
- Sarao, L. K., & Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 344–371. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055>
- Seyedian, S. S., Nokhostin, F., & Malamir, M. D. (2019). A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *Journal of Medicine and Life*, 12(2), 113–122. <https://doi.org/10.25122/jml-2018-0075>
- Sperber, A. D., Bangdiwala, S. I., Drossman, D. A., Ghoshal, U. C., Simren, M., Tack, J., Whitehead, W. E., Dumitrascu, D. L., Fang, X., Fukudo, S., Kellow, J., Okeke, E., Quigley, E. M. M., Schmulson, M., Whorwell, P., Archampong, T., Adibi, P., Andresen, V., Benninga, M. A., ... Palsson, O. S. (2021). Worldwide Prevalence and Burden of Functional Gastrointestinal Disorders, Results of Rome Foundation Global Study. *Gastroenterology*, 160(1), 99–114.e3. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2020.04.014>
- TM Media. (2020). *Lactobacillus Mrs Agar Manufacturer & Exporter TM 146- TM Media.* Lactobacillus MRS Agar. <https://www.tmmmedia.in/product/lactobacillus-mrs-agar-mrs-agar/>
- Torriani, S., Zapparoli, G., & Dellaglio, F. (2009). Use of PCR-based methods for rapid differentiation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. delbrueckii* subsp. *lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10), 4351–4356. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.10.4351-4356.1999/ASSET/0A04898D-4D40-459E-B5F4-E366AC2859B3/ASSETS/GRAPHIC/AM1091424003.JPEG>
- Uwamahoro, H. P., Li, F., Timilsina, A., Liu, B., Wang, X., & Tian, Y. (2022). An Assessment of the Lactic Acid-Producing Potential of Bacterial Strains Isolated from Food Waste. *Microbiology Research 2022, Vol. 13, Pages 278-291*, 13(2), 278–291. <https://doi.org/10.3390/MICROBIOLRES13020022>
- Van De Guchte, M., Penaud, S., Grimaldi, C., Barbe, V., Bryson, K., Nicolas, P., Robert, C., Oztas, S., Mangenot, S., Couloux, A., Loux, V., Dervyn, R., Bossy, R., Bolotin, A., Batto, J. M., Walunas, T., Gibrat, J. F., Bessières, P., Weissenbach, J., ... Maguin,

- E. (2006). The complete genome sequence of *Lactobacillus bulgaricus* reveals extensive and ongoing reductive evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(24), 9274–9279. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0603024103>
- Veris. (2018). *El cáncer de colon en el Ecuador*. <https://www.veris.com.ec/cancer-de-colon-ecuador/>
- Vicente, C. (2018). *Estructura química de la goma arábica*. | Download Scientific Diagram. ResearchGate. https://www.researchgate.net/figure/Estructura-quimica-de-la-goma-arabiga_fig5_324769211
- Viili, S. (2019). *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus – Bacillus Bulgaricus*. The Power of Bacillus Bulgaricus. <https://bacillusbulgaricus.com/tag/lactobacillus-delbrueckii-subsp-bulgaricus/>
- Walsh, C. J., Guinane, C. M., O’Toole, P. W., & Cotter, P. D. (2014). Beneficial modulation of the gut microbiota. *FEBS Letters*, 588(22), 4120–4130. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.03.035>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2021.612285>
- Wehkamp, J., Götz, M., Herrlinger, K., Steurer, W., & Stange, E. F. (2016). Chronisch entzündliche Darmerkrankungen: Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. *Deutsches Arzteblatt International*, 113(5), 72–81. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2016.0072>
- Yadav, V., Gupta, V. K., & Meena, G. S. (2018). Effect of culture levels, ultrafiltered retentate addition, total solid levels and heat treatments on quality improvement of buffalo milk plain set yoghurt. *Journal of Food Science and Technology*, 55(5), 1648. <https://doi.org/10.1007/S13197-018-3076-3>
- Yan, F., & Polk, D. B. (2015). Probiotics and immune health. *Current Opinion in Gastroenterology*, 27(6), 496. <https://doi.org/10.1097/MOG.0B013E32834BAA4D>
- Yao, M., Xie, J., Du, H., McClements, D. J., Xiao, H., & Li, L. (2020). Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 857–874. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12532>
- Yılmaz, R., Temiz, A., Açıık, L., & Keskin, A. Ç. (2015). Genetic differentiation of *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from raw milk samples collected from different regions of Turkey. *Food Biotechnology*, 29(4), 336–355. <https://doi.org/10.1080/08905436.2015.1092091>

Anexos

Anexo 1. Recuento en medio M.R.S de las colonias bacterianas formadas antes y después del proceso de microencapsulación con Maltodextrina, Goma arábica e Inulina como polímeros de recubrimiento.

Dilución	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
-1 Yogur probiótico			
-1 Yogur microencapsulado con maltodextrina, goma arábica e inulina.			
-2 Yogur probiótico			
-2 Yogur microencapsulado con maltodextrina, goma arábica e inulina.			



Anexo 2. Análisis estadístico del rendimiento del secado por aspersión.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	14,9468	3	4,98226	19,91	0,0005
Intra grupos	2,00153	8	0,250192		
Total (Corr.)	16,9483	11			

Nota: La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos con un nivel del 5% de significación.

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Mezcla 1	3	18,9733	X
Mezcla 2	3	20,48	X
Mezcla 4	3	21,2	XX
Mezcla 3	3	22,0067	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Mezcla 1 - Mezcla 2	*	-1,50	0,941785
Mezcla 1 - Mezcla 3	*	-3,03	0,941785
Mezcla 1 - Mezcla 4	*	-2,23	0,941785
Mezcla 2 - Mezcla 3	*	-1,52	0,941785
Mezcla 2 - Mezcla 4		-0,72	0,941785
Mezcla 3 - Mezcla 4		0,81	0,941785

*** Indica una diferencia significativa.**

Nota: la alineación de las X's en la columna de Grupos Homogéneos indica la diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes niveles. Las X's alineadas no poseen una media con diferencia significativa entre ellas y aquellas que no comparten la misma alineación poseen una media diferente con respecto a las demás. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. Método: 95,0 porcentaje LSD

Anexo 3. Análisis estadístico de la viabilidad celular bacteriana después del secado por aspersión (0 días).

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1551,62	3	517,207	19,30	0,0005
Intra grupos	214,378	8	26,7973		
Total (Corr.)	1766,0	11			

Nota: La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos con un nivel del 5% de significación.

Pruebas de Múltiple Rangos

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Mezcla 1	3	29,44	X
Mezcla 2	3	40,41	X
Mezcla 3	3	49,23	X
Mezcla 4	3	60,37	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
B.Mix 1 - B.Mix 2	*	-10,96	9,74677
B.Mix 1 - B.Mix 3	*	-19,78	9,74677
B.Mix 1 - B.Mix 4	*	-30,93	9,74677
B.Mix 2 - B.Mix 3		-8,81	9,74677
B.Mix 2 - B.Mix 4	*	-19,96	9,74677
B.Mix 3 - B.Mix 4	*	-11,15	9,74677

* indica una diferencia significativa.

Nota: la alineación de las X's en la columna de Grupos Homogéneos indica la diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes niveles. Las X's alineadas no poseen una media con diferencia significativa entre ellas y aquellas que no comparten la misma alineación poseen una media diferente con respecto a las demás. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. Método: 95,0 porcentaje LSD

Anexo 4. Análisis estadístico de la viabilidad celular bacteriana 60 días después del secado por aspersión.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	566,07	3	188,692	43,01	0,0000
Intra grupos	35,10	8	4,38767		
Total (Corr.)	601,17	11			

Nota: La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos con un nivel del 5% de significación.

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Mezcla 2	3	1,99	X
Mezcla 3	3	5,15	X
Mezcla 1	3	9,40	X
Mezcla 4	3	20,17	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Mezcla 1 - Mezcla 2	*	7,41	3,94396
Mezcla 1 - Mezcla 3	*	4,25	3,94396
Mezcla 1 - Mezcla 4	*	-10,76	3,94396
Mezcla 2 - Mezcla 3		-3,16	3,94396
Mezcla 2 - Mezcla 4	*	-18,17	3,94396
Mezcla 3 - Mezcla 4	*	-15,01	3,94396

* Indica una diferencia significativa.

Nota: la alineación de las X's en la columna de Grupos Homogéneos indica la diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes niveles. Las X's alineadas no poseen una media con diferencia significativa entre ellas y aquellas que no comparten la misma alineación poseen una media diferente con respecto a las demás. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. Método: 95,0 porcentaje LSD