

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE

Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales

Desarrollo tecnológico y generación de riqueza sustentable

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)



ITESO, Universidad
Jesuita de Guadalajara

4D08 – Desarrollo Tecnológico para la Sustentabilidad Ambiental, Energética y
Alimentaria

**Desarrollo de un alimento funcional enriquecido con microorganismos probióticos
y *Camellia sinensis***

PRESENTAN

Lic. en Nutrición y Ciencias de los Alimentos
Javiera I. Armijo Paredes

Ing. de Alimentos
Michel Herrera Higareda
Ana Patricia Lomelí Zavala

Profesores PAP:

Dr. Óscar A. Rojas Rejón

Mtro. Felipe Sánchez Carrillo

Tlaquepaque, Jalisco, Diciembre de 2018

Contenido

REPORTE PAP	2
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional	2
Resumen	3
1. Introducción	4
1.1. Objetivos	4
1.2. Justificación	4
1.3 Antecedentes	5
1.4. Contexto	6
2. Desarrollo	8
2.1. Sustento teórico y metodológico	8
2.2. Planeación y seguimiento del proyecto	11
3. Resultados del trabajo profesional	21
4. Reflexiones del alumno o alumnos sobre sus aprendizajes, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto	51
5. Conclusiones	56
6. Bibliografía	57
Anexos (en caso de ser necesarios)	66

REPORTE PAP

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son una modalidad educativa del ITESO en la que el estudiante aplica sus saberes y competencias socio-profesionales para el desarrollo de un proyecto que plantea soluciones a problemas de entornos reales. Su espíritu está dirigido para que el estudiante ejerza su profesión mediante una perspectiva ética y socialmente responsable.

A través de las actividades realizadas en el PAP, se acreditan el servicio social y la opción terminal. Así, en este reporte se documentan las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo del proyecto, sus incidencias en el entorno, y las reflexiones y aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.

Resumen

PAP Microbiota es un proyecto que busca una colaboración interdisciplinar entre alumnos de diferentes carreras, entre ellas: Lic. en Nutrición y Ciencia de los Alimentos, Ing. de Alimentos, Ing. en Biotecnología e Ing. Química.

Desde Ing. de Alimentos y Lic. en Nutrición y Ciencia de los Alimentos, el objetivo del proyecto fue desarrollar y formular un alimento funcional tipo postre, adicionado con cápsulas de microorganismos probióticos y extracto de té verde, que vaya dirigido a personas que padezcan trastornos metabólicos como la obesidad.

El resultado fue un pudín de chía a base de yogurt, para el cual se probó el uso de diferentes edulcorantes. El alimento preferido por parte de los consumidores fue el formulado con sacarosa, pero debido a que se busca reducir el consumo de azúcares se busca equiparar su perfil sensorial con el uso de otros edulcorantes.

1. Introducción

1.1. Objetivos

Diseña una matriz alimenticia que permita la sobrevivencia de los microorganismos probióticos *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus* encapsulados en alginato de calcio, para su consumo.

- Producir y suministrar los microorganismos encapsulados a los pacientes participantes del programa
- Realizar análisis de viabilidad de los microorganismos probióticos en unidad experimental y encapsulados
- Formular un alimento tipo postre que cumpla con las características y necesidades del sector poblacional al que van dirigido

1.2. Justificación

La prevalencia de enfermedades metabólicas como la obesidad han ido en aumento en los países desarrollados o en vías de desarrollo. Diversos factores como la elevada ingesta calórica y la disminución de la actividad física han sido considerado como las causas del aumento en la prevalencia de obesidad y enfermedades metabólicas. Entre los factores ambientales que podrían estar implícitos en la obesidad se encuentran los posibles cambios en la microbiota. Las variaciones en la composición y diversidad de la microbiota intestinal representan un factor importante en cuanto al desarrollo de trastornos metabólicos, como lo son la diabetes y obesidad, además es considerada como una pieza clave que conecta genes, medio ambiente, y el sistema inmunológico; actuando en la regulación de la función metabólica, desarrollo de inflamación de bajo grado y regulación del balance energético (Tinahores F, 2017).

Los individuos que padecen obesidad manifiestan una menor diversidad microbiana en el tracto gastrointestinal en comparación con los individuos normopeso. Se ha observado que la microbiota en individuos con obesidad presenta una mayor capacidad para

recuperar energía de la dieta y por lo tanto desarrolla un estado de inflamación crónica de bajo grado en el organismo. Debido a dichos problemas de salud se recomienda el uso de suplementos probióticos con la finalidad de aumentar los grupos bacterianos que desempeñan funciones benéficas en el organismo y con ellos modular la microbiota intestinal disminuyendo así los factores de riesgo asociados a la obesidad (Piña et al, 2015).

1.3 Antecedentes

Con el paso de los años, la preocupación por mejorar la calidad de vida ha ido aumentando, y para lograrlo se está trabajando en interrelación con otras disciplinas para el desarrollo de nuevos productos alimenticios que aporten un beneficio adicional al del alimento original. (Reig, A. D. L. C., & Anesto, J., 2008)

Los alimentos funcionales y los suplementos alimenticios son formulados, en su mayoría, a base de probióticos y prebióticos (Reig & Anesto, 2008). Los probióticos son microorganismos vivos que, al ser ingeridos, generan un efecto benéfico en la salud de quien los consume, mientras que los prebióticos son sustancias compuestas principalmente de polisacáridos (no almidón) y oligosacáridos que no pueden ser digeridos por enzimas humanas, los cuales también confieren un beneficio a la salud. (WGO, 2011)

Se considera que los prebióticos funcionan como alimento para los probióticos, aunque muy pocos estudios lo han demostrado, y es por ello por lo que se debe de estudiar y encontrar la mejor concentración para la sinergia entre los microorganismos y prebióticos utilizados en la formulación del suplemento si lo que se busca es el crecimiento del probiótico. (Scott, K., sf)

La viabilidad de los microorganismos implementados para la formulación del suplemento o alimento funcional es muy importante, ya que se busca que estén presentes en altas

concentraciones y que presenten resistencia ante el procesamiento y almacenamiento del producto final. Además, se busca que el microorganismo, al ser ingerido, sobreviva el paso por el tracto gastrointestinal y de esta manera logre interactuar con la microbiota intestinal. (Martínez-Cuesta, Peláez & Requena, 2012)

El aumento de los productos enriquecidos con probióticos se deben a la gran variedad de beneficios que brindan para quienes los consumen ya que entre sus beneficios se encuentra que ayudan a mejorar la digestibilidad de la lactosa, protegen contra enfermedades gastrointestinales, infecciones del tracto urogenital e infecciones respiratorias, promueven la barrera de defensa endógena del intestino, previene el eccema e infecciones con heridas quirúrgicas (Salazar, et al, 2003).

Los microorganismos probióticos que se buscan implementar para la formulación del suplemento alimenticio son *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus*, los cuales son bacterias ácido-lácticas, Gram-positivas, fermentativas y precursoras de ácido láctico (WGO, 2011), así como el uso de una levadura, *Saccharomyces boulardii*, la cual es considerada un “medicamento probiótico” (Buts, Jean-Paul, 2005).

El prebiótico a utilizar, *Camellia sinensis*, se ha utilizado para aumentar la cantidad de células viables presentes de estas bacterias ácido-lácticas (Li, Gong, Ma, Liu, & Cai, 2016).

1.4. Contexto

La microbiota intestinal es considerada un nuevo factor que participan en la obesidad y los trastornos metabólicos. Se ha demostrado que tanto animales como seres humanos obesos manifiestan alteraciones en la composición de la microbiota intestinal en comparación con sus homólogos delgados (Prados et al, 2015).

La obesidad es denominada como el aumento de grasa corporal, la Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como un valor de Índice de Masa Corporal (IMC) igual o superior a 30 kg/m² en adultos. La prevalencia de obesidad ha ido en aumento y es

reconocida actualmente como una crisis mundial de salud pública por sus comorbilidades asociadas (Prados et al, 2015).

La OMS señala que la obesidad en adultos es también resultado del hambre, ya que en países donde una alimentación adecuada es de difícil acceso, las familias optan por una alimentación que no cubre las necesidades de una dieta adecuada la cual trae problemas como la obesidad (NEWSWEEK, 2018).

En México puede observarse que la prevalencia combinada de sobrepeso u obesidad es mayor en las mujeres (73.0%) que en los hombres (69.4%), al igual que la prevalencia de obesidad. En cuanto al estado de Jalisco la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue de 71.0% en mujeres y de 72.0% en hombres. La prevalencia de obesidad fue 65% más alta en mujeres (40.8%) que en hombres (26.0%), mientras que la prevalencia de sobrepeso fue mayor en hombres (45.9%) que en mujeres (30.2%) (ENSANUT, 2012).

Existen diferentes factores que influyen en el desarrollo de la obesidad, como lo son los factores ambientales, genéticos, socioeconómicos (Rivera et al, 2013).

En cuanto a los factores socioeconómicos se ha demostrado que los hogares con menores ingresos deciden consumir una mayor cantidad de calorías a un menor precio. El nivel de ingreso es un determinante que interfiere en las elección de alimentos, las personas con menores ingresos son más propensos al sobrepeso y la obesidad (Rivera et al, 2013). La incorrecta elección de alimentos conlleva a una dieta poco saludable la cual puede traer consigo padecimiento como el sobrepeso, obesidad y enfermedades cardiovasculares, todo esto repercute al mismo tiempo en la microbiota ya que esta puede verse modificada y alterada por varios factores como lo es la dieta, las enfermedades tanto sistémicas como intestinales crónicas y la terapia con antibióticos (González et al, 2017).

Una dieta alta en grasa saturadas, ácidos grasos trans y azúcares ocasiona un deterioro en la microbiota intestinal, lo que condiciona un ambiente proinflamatorio. El microbioma obeso se identifica por la capacidad de extraer energía de la dieta y disminuye la función

de producir factores intestinales como lo son las hormonas que inhiben el almacenamiento de grasa (González et al, 2017).

Con el fin de reducir dichos riesgos asociados a la obesidad y modular la microbiota intestinal se requiere aumentar los grupos bacterianos que desempeñan funciones benéficas en el organismo por lo que se plantea el uso de probióticos y prebióticos (Piña et al, 2015).

2. Desarrollo

2.1. Sustento teórico y metodológico

Los probióticos son microorganismos vivos que administrados en ciertas cantidades pueden producir beneficios a la salud del huésped (Ramos et al., 2012). Algunos de estos beneficios son la prevención de infecciones intestinales, control de los niveles de colesterol, mejoramiento de la utilización de la lactosa y mejoramiento de la absorción de nutrientes (Krasaekoopt et al., 2002).

Se ha definido como probiótico a los cultivos únicos o mezclados de microorganismos vivos que al ser ingeridos ayudan a mejorar el balance poblacional de la microbiota intestinal evitando así la adherencia de patógenos (Salazar, et al, 2003).

Un microorganismo se considera probiótico si es un residente normal del tracto gastrointestinal y sobrevive al paso por el estómago, manteniendo su viabilidad y función. Las bacterias probióticas más comunes son los *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (de Araújo et al., 2015). Estos géneros son ideales para el aislamiento, caracterización y desarrollo de nuevos cultivos probióticos, ya que son integrantes de la microbiota humana, demuestran una adecuada tolerancia a las barreras gastrointestinales y se ha reportado que tienen efectos benéficos a la salud relacionados a su consumo (Vinderola, 2014).

Cada vez son más conocidos los efectos benéficos de los probióticos sobre la salud y nutrición, los probióticos desempeñan un papel importante en las funciones inmunitaria, digestiva y respiratoria, además podrían tener un efecto significativo en el alivio de las enfermedades infecciosas en niños y otros grupos de alto riesgo (FAO, OMS. 2006).

Los probióticos poseen forma bacilar o cocobacilar gram positivos, no esporulados, con propiedades de desdoblar algunos carbohidratos, para así producir compuestos de menor peso molecular como los ácidos lácticos, propiónico, acético, fórmico, CO₂, diacetilo y H₂O₂, además estos productos intervienen en la mejora de los procesos digestivos, combatir la microbiota patógena intestinal y mantener el equilibrio inmunológico (Salazar, et al, 2003).

Las bacterias ácidos lácticas (BAL), entre las que se incluyen la especie *Lactobacillus*, también son utilizadas para la conservación de los alimentos. Por lo tanto pueden tener doble función, actuando como agentes para la fermentación de alimentos y además confiriendo beneficios a la salud (Guarner et al., 2011). Entre las BAL más estudiadas se encuentran los *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus*, ya que se ha demostrado su efectividad para colonizar el tracto gastrointestinal humano (Castillo et al., 2017).

Las bacterias que forma la microflora intestinal son necesarias para mantener el bienestar del huésped. Por lo que se ha llevado a cabo la elaboración de alimentos que ayuden al aumento de estas bacterias (FAO, 2006). La cantidad de probióticos que debemos consumir para observar un efecto positivo depende de la especie usada, aunque generalmente se considera que el consumo diario debe ser 100g de alimento que contenga entre 10⁶ y 10⁷ UFC/g (Ramos et al., 2012).

Los alimentos probióticos principales son los productos lácteos, en especial los yogures y las leches fermentadas. Sin embargo, se ha buscado añadir probióticos a otros productos como son los quesos, helados y postres (de Araújo et al., 2015). Muchas compañías internacionales han desarrollado y comercializado nuevos alimentos funcionales con

probióticos, como son barras nutritivas, chocolates y jugos de fruta utilizando cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Además de que se ha buscado la adición de probióticos en cereales, bebidas no lácteas y productos de soya (Ramos et al., 2012).

Es importante considerar una serie de factores tecnológicos durante el proceso para garantizar que las bacterias probióticas permanezcan viables durante el alimento. Por lo que se ha buscado también técnicas que mejoren la sobrevivencia de los probióticos al ser añadidos en matrices alimenticias (Ramos et al., 2012).

Una de las estrategias es usar las especies más adecuadas dependiendo de las condiciones del medio, del proceso de producción y del efecto buscado. Otra técnica es añadir factores o promotores de crecimiento a la formulación, como caseína, hidrolizados de proteínas de suero, extractos de levadura, glucosa y algunas vitaminas. La adición de prebióticos también ayuda a la sobrevivencia de estas bacterias, como es la inulina, almidones resistentes, goma arábica y otros carbohidratos no digeribles (Ramos et al., 2012).

La microencapsulación es otra técnica efectiva para proteger a los probióticos ya que sirve como barrera física semipermeable que los protege del oxígeno, pH, tensiones mecánicas, bajas temperaturas y otras condiciones de estrés. Estas barreras son elaboradas a partir de algunos polímeros de calidad alimenticia, como proteínas, lípidos y carbohidratos (Ramos et al., 2012). Esta encapsulación de probióticos da estructura y permite crear nuevas funciones e innovar sistemas para alimentos funcionales (Burgain et al., 2011).

Algunos de los materiales usados para la elaboración de estas cápsulas es el alginato, goma gellan, goma xantana, carregenina, celulosa, almidón, citosina, entre otros (Burgain et al., 2011). Sin embargo el alginato es el más utilizado para la encapsulación de BAL ya que tiene la capacidad de absorber agua, es fácil de manipular, se utiliza como aditivo alimenticio, es un gelatinizante y tiene un bajo costo. Las partículas generadas de alginato pueden elaborarse a partir de dos métodos: extrusión y emulsificación (de Araújo et al., 2015).

La técnica de extrusión es la más antigua y común para la microencapsulación de las bacterias probióticas (Krasaekoopt et al., 2002). Se basa en preparar una mezcla de alginato de sodio con probióticos y gotearla utilizando un jeringa con aguja en una disolución de cloruro de calcio, permitiendo el fenómeno de intercambio de iones para la gelatinización (de Araújo et al., 2015). La forma y tamaño de las perlas formadas dependen del diámetro de la aguja y de la distancia que tiene la jeringa con la disolución. Este método es fácil, simple, de bajo costo y mejora la viabilidad de los probióticos (Krasaekoopt et al., 2002).

Esta estrategia tiene varias ventajas, ya que además de que inmoviliza y brinda protección a las células, también incrementa la sobrevivencia de ellas durante ciertos procesos y almacenamientos a bajas temperaturas (Krasaekoopt et al., 2002). Sin embargo, al añadir estas cápsulas a alimentos puede provocar un efecto negativo sensorialmente (Ramos et al., 2012), las esferas no se pueden disolver completamente evitando que los probióticos se liberen en el intestino para hacer su función (Burgain et al., 2011) y este procedimiento de encapsulación es lento y difícil de escalar para industrias (Krasaekoopt et al., 2002).

2.2. Planeación y seguimiento del proyecto

- Descripción del proyecto

Durante el semestre de *Otoño 2017* se inició con el planteamiento del proyecto, así como del desarrollo de algunas pruebas preliminares.

En el semestre de *Primavera 2018*, la carrera de *Ingeniería de Alimentos* tuvo participación en este proyecto mediante el análisis de viabilidad de dos de los microorganismos con los cuales se busca trabajar para llevar a cabo este estudio. El análisis de viabilidad consistió en realizar cinéticas para la medición de distintos factores (véase anexos, diseño de experimentos) durante un periodo de 8 semanas.

Para *verano 2018* se trabajó en el desarrollo de un postre lácteo tipo pudín utilizando tapioca. Buscando la estabilización de la matriz para lograr la sobrevivencia de los probióticos.

Durante el semestre de *Otoño 2018*, se continuó el análisis de viabilidad de los microorganismos, tanto en unidad experimental como a los encapsulados. Además, se formuló un postre lácteo a base de yogurt y chía.

- Plan de trabajo

Activación de microorganismos

Para el desarrollo de este proyecto se contó con los microorganismos en forma liofilizada. Su activación se llevó a cabo en caldo MRS, el cual es un medio de cultivo utilizado específicamente para *Lactobacillus*.

Para llevar a cabo la activación del microorganismo se debe trabajar en área estéril, desinfectando el área sobre la que se trabajara. Asimismo, se desinfecta la espátula con la que se tomará el microorganismo liofilizado limpiándola con alcohol y poniéndola en contacto directo con la llama del mechero. Sin retirar de área estéril, se deja enfriar la espátula y se toma una pequeña cantidad de microorganismo liofilizado para suspender en el caldo MRS. El microorganismo inoculado se incuba a una temperatura de 35-37 °C, esperando su crecimiento a partir de las 12 h de la inoculación, esto puede ser detectado por la presencia de turbidez en el medio.

Preparación de corrida experimental

De acuerdo con el diseño de experimentos planteado (véase anexos) se prepararon 32 corridas experimentales, para las cuales primero se añadió la

harina de trigo, el caldo MRS, el extracto de té verde (en caso de que este aún no haya sido esterilizado) y el agua destilada (para ajustar volúmenes) en tubos *Falcon* de 50 mL, y se sometieron a esterilización. Una vez esterilizadas las muestras, en área estéril, se añadió la solución de glucosa y el inóculo correspondiente (*Lactobacillus plantarum* o *Lactobacillus rhamnosus*). Finalmente, se incubaron por 24 h a una temperatura de 37 °C para después mantenerlas en refrigeración.

Medición de células viables (biomasa, capacitancia y conductividad)

Para estas mediciones se trabajó con el biorreactor *Applikon Biotechnology ez-Control*, mediante el uso del filtro de bacterias de 90 mm, así como del software Futura Lite V4.7. Para la calibración del biorreactor se usó como blanco agua, y una vez ajustado el blanco se hizo la medición de cada una de las muestras sumergiendo el filtro en el tubo con muestra.

Medición de densidad óptica (D.O.)

La medición de densidad óptica se llevó a cabo por medio del espectrofotómetro Genesys 10 UV de Thermo Electron Corporation, a una longitud de onda de 660 nm y utilizando como blanco solución salina con peptona. Para llevar a cabo la medición fue necesario realizar una centrifugación de la muestra a 10'000 rpm por 10 min, esto para separar las células de los sólidos solubles presentes en la muestra. Una vez centrifugada la muestra se desecha el sobrenadante y se agrega solución salina con peptona para realizar un lavado celular, se resuspenden las células por medio del uso del vórtex, se vuelve a centrifugar, se desecha el sobrenadante, se añade

solución salina con peptona nuevamente y se resuspenden las células, y así la muestra está lista para ser analizada por medio del espectrofotómetro.

Medición de glucosa y lactato

La medición de glucosa y lactato se realiza por medio del analizador bioquímico YSI 2900/2950. Este equipo nos permite saber la cantidad de sustrato y producto presentes en cada una de las muestras que estamos analizando. Para utilizar el equipo es necesario realizar antes una verificación de integridad de membrana y una verificación de estándares, esto para comprobar que las membranas siguen en buen estado. Posteriormente se inserta la microplaca para comenzar el análisis.

Encapsulación de bacterias

Una vez teniendo el inóculo, se procedió a concentrar los probióticos. Para eso se centrifugó a 3000 rpm por 3 min y se retiró el sobrenadante, conservando la biomasa. Después se realizó una mezcla de alginato de sodio al 7.5%, extracto de té verde con una concentración de 6 g/L y los probióticos, poniendo porciones iguales de cada uno.

Se realizó el método de extrusión para el encapsulamiento de los probióticos. Para eso se hizo una disolución de cloruro de calcio (CaCl_2) a 0.25 M, en el cual se dejó gotear la mezcla con probióticos utilizando una jeringa con aguja. Por último, estas se lavaron con agua, para retirar el exceso de CaCl_2 y se almacenaron a 4°C.

Caracterización de las cápsulas de probióticos

Las cápsulas elaboradas se midieron su diámetro y su dureza. Para el diámetro, se calculó un promedio utilizando 5 cápsulas al azar y un vernier digital. Mientras que para la dureza se hizo un promedio de 10 cápsulas utilizando el texturómetro TA-XT plus texture analyser, con las siguientes condiciones: altura de 5 mm, velocidad antes de la prueba de 1 mm/s, velocidad durante la prueba de 0.6 mm/s y velocidad después de la prueba de 1 mm/s. Se utilizó el cilindro P/0.5 con una deformación del 70% y una fuerza de 0.045 N.

Determinación de viabilidad de las cápsulas de probióticos

Se realizó una disolución de 0.1 M de citrato de sodio, 0.05 M de fosfato de sodio dibásico, 1% de peptona y 0.85% de NaCl. Se tomó una muestra de 1 g de las esferas y se añadieron en 9 mL de la disolución anterior. Se dejó reposar por 15 min con agitación procurando diluir completamente las esferas. Posteriormente se utilizó una disolución de 1% peptona y 0.85% de NaCl para hacer diluciones en serie 1:10 a partir de las esferas diluidas, para determinar la cantidad de células. Se utilizó la técnica por vaciado en placa utilizando agar MRS. Al final se incubó por 48 h a 37 °C. Este procedimiento se hizo por duplicado.

Determinación de fenoles: Folin-Ciocalteu

La determinación de fenoles (expresado en equivalentes de ácido gálico) se realizó a partir de la técnica de *Folin-Ciocalteu*, esto para conocer el aporte fenolico del té verde a las cápsulas. El reactivo de Folin-Ciocalteu se trabaja a una concentración 1:10, la solución de carbonato sódico a 0.7 M, mientras que el ácido gálico se prepara 1:10 disuelto en etanol y aforado con agua destilada

a 100 mL. Para realizar la curva patrón se disuelven las soluciones a distintas concentraciones, se dejan reaccionar 2 h y se mide absorbancia a 765 nm por medio de un espectrofotómetro.

Estudio de mercado

Se aplicó una encuesta a 183 personas, de las cuales 142 fueron mujeres y 41 hombres. En esta encuesta se preguntó sobre el conocimiento y gusto de alimentos con probióticos, postres tipo pudín, chía y pudín de chía.

Elaboración de pudín de chía

- Base leche

Se mezclaron 90.1% de leche, 1.8% de azúcar (sacarosa) y 8.1% de chía **marca**. Esta mezcla se llevó a ebullición con agitación constante y se calentó por 5 min. Se dejó enfriar hasta 30°C, para después poder almacenar a 4°C.

- Base yogurt

Se pesó 8.3% chía y se añadió a 91.7% de yogurt natural. Esta mezcla se revolvió bien y se almacenó a 4°C por 12 h.

Elaboración de yogurt

- Activación de cultivo

En área estéril, se midió 12 mL de leche ultrapasteurizada y se añadió 1 g de cultivo Lyofast Y 4.70E de 10UC, marca Sacco. Por cada litro de leche utilizada para la preparación de yogurt, se utilizó 3 mL del cultivo activo.

- Yogurt

Se pesó 86.50% de leche light Sello Rojo, 1.00% de estabilizante Y01, 6.00% de azúcar (sacarosa), 1.26% de leche descremada en polvo (LDP), 0.14% de conservador Lactin K03 y 0.10% de grenetina. Se mezcló $\frac{1}{3}$ del azúcar con el estabilizante y la grenetina y por separado se calentó la leche hasta 35°C. Se añadió LDP y se disolvió completamente. Seguido, se añadió la mezcla de estabilizantes con el azúcar y después el azúcar restante. Se disolvió completamente. Se llevó a una temperatura de 72°C y se mantuvo por 15 min. Se dejó enfriar a 42°C para poder añadir el cultivo previamente activado. Se mezcló perfectamente y se llevó a incubar a 44°C por 4 h, o hasta que el pH fuera cercano a 4.7. Por último, se añadió el conservador y se disolvió completamente. Se almacenó a 4°C.

Prueba preliminar: propuesta de formulación

Se realizó 4 muestras de pudín de chía: con leche entera Sello Rojo, con leche deslactosada Sello Rojo, con bebida de almendra Pacific y con yogurt natural Danone. Se realizó una prueba hedónica a 100 consumidores, en el rango de 18 a 25 años, en el que se evaluó el nivel de agrado, para poder determinar y seleccionar la matriz alimenticia que más gustó y con la que se trabajará. Se utilizó una escala de 9 puntos de acuerdo a la ISO 11136:2014, cuyos extremos fueron “me gusta muchísimo” y “me disgusta muchísimo”.

Caracterización del yogurt

Al yogurt prototipo elaborado y a tres marcas comerciales, se determinó pH, acidez titulable, porcentaje de humedad, actividad de agua y viscosidad:

- pH

Se pesó aproximadamente 100 g de cada muestra y se utilizó un potenciómetro para esta medición. Esto se realizó por duplicado.

- Acidez titulable

La determinación de acidez titulable en las muestras fue realizada de acuerdo a la NMX-F-102-S-1978. Se midió aproximadamente 25 mL de la muestra y se aforó a 100 mL con agua destilada. Se tituló utilizando NaOH 0.1N. Este procedimiento se realizó dos veces y se calculó el porcentaje de ácido láctico presente utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{(V - V_b)(N \text{ NaOH})(\text{meq ácido})(FD)}{\text{peso muestra}} \times 100$$

Donde V es el volumen de NaOH gastado en la muestra, V_b el volumen de NaOH gastado en el blanco, N es la normalidad de NaOH, m_{eq} ácido es igual a 0.09 y FD es el factor de dilución.

- Porcentaje de humedad

Se utilizó la termobalanza OHAUS MB35 Halogen y se programó a una temperatura de 110°C (Adam, 2016). El equipo se debía encender 30 min antes de su utilización. Se realizó este proceso por duplicado y para cada medición se pesó aproximadamente 1 g de la muestra.

- Actividad de agua

Se utilizó el equipo AquaLab ATEV - Dew Point Activity Meter, el cual se encendía 30 min antes de ser utilizado para poder estabilizar la temperatura a la que se llevó a cabo las mediciones, 25°C. Se colocó suficiente muestra en las charolas del equipo. Estas charolas fueron introducidas en la cámara de medición del higrómetro, se cerró la tapa y se movió el pasador hacia la

izquierda para dar inicio a la medición automáticamente. Esta medición se realizó por duplicado para cada muestra.

- Viscosidad

Se utilizó el viscosímetro Brookfield DV-II Pro viscometer, utilizando la geometría 4 con una velocidad de 3 rpm. Se esperó a que el equipo se estabilizara para registrar viscosidad, porcentaje de torque y temperatura.

Prueba de sobrevivencia de probióticos encapsulados al ser añadidos al yogurt

Se utilizó el yogurt prototipo elaborado y un yogurt comercial. Para cada muestra se utilizó 603.95 g de yogurt y se añadió 4.05 g de cápsulas de probióticos, para que tuvieran una concentración esperada de 1×10^8 UFC/g. Se almacenaron a 4°C y se determinó el diámetro y viabilidad de las cápsulas al inicio y después de 120 h y 168 h.

Prueba de textura para las cápsulas de probióticos al ser añadidos al yogurt con chía

Primeramente, una vez realizado el pudín de chía con base de yogurt, se midió el porcentaje de humedad para determinar si existía un cambio en esta variable, debido a que la semilla de chía absorbe agua. Se pesó 603.95 g de yogurt con chía y se añadió 4.05 g de cápsulas de probióticos. Se midió el diámetro y dureza de las cápsulas al inicio y después de 120 h y 192 h.

Viabilidad en yogurt

Se determinó la cantidad de microorganismos probióticos presentes en el yogurt prototipo elaborado y de un yogurt comercial. Después se determinó el cambio de concentración de estos microorganismos después de añadirle las cápsulas de probióticos. Primero, a 603.95 g de yogurt con chía se añadió 4.05 g de cápsulas de probióticos. Se tomó 1 g de muestra, procurando no utilizar ni chía ni cápsulas de probióticos, y se disolvió en 9 mL de una disolución de 1.00% peptona y 0.85% de NaCl. Posteriormente, utilizando la misma disolución de peptona con NaCl, se realizaron diluciones decimales 1:10. Se siguió la técnica de vaciado en placa utilizando agar MRS. Por último, se incubó a 37°C por 48 h. Este procedimiento se realizó por triplicado.

Reformulación del yogurt

Se utilizó como único factor el tipo de edulcorante. Se utilizaron 4 diferentes edulcorantes a distintas proporciones: sacarosa al 6%, edulcorante comercial (95.9% de sacarosa, 2.05% de stevia, 1% de isomalt y 0.6% de sucralosa) al 0.34%, splenda al 0.42% y stevia pura al 0.02%. Se determinó la viscosidad a cada una de las muestras utilizando el equipo viscosímetro Brookfield DV-II Pro viscometer con la geometría 4 a 3 rpm. Después se realizó a 100 consumidores una prueba hedónica, para determinar el agrado general utilizando una escala de 9 puntos donde los extremos fueron “me gusta muchísimo” y “me disgusta muchísimo”; una prueba Just About right (JAR) para determinar agrado de dulzor y espesor utilizando una escala de 5 puntos, donde los extremos fueron “mucho más de lo que esperaba” y “mucho menos de lo que esperaba”; y una prueba de intensidad de dulzor y espesor con una escala de 15 puntos, para estas mismas 4 muestras.

3. Resultados del trabajo profesional

Caracterización cápsulas

Las cápsulas de probióticos elaboradas tuvieron un diámetro promedio de $2.36 \text{ mm} \pm 0.17$ y una dureza de $4.06 \text{ N} \pm 0.23$. De acuerdo con Kraesakoopt y colaboradores (2002) las perlas obtenidas por el método de extrusión tienen un diámetro entre 2-3 mm. Esto puede variar dependiendo del tamaño de la aguja y de la composición del alginato, es decir de la cantidad de ácido glucurónico presente. Mientras que la dureza también cambia de acuerdo a la proporción de alginato. Puesto que mientras el grado de entrecruzamiento incrementa, debido al aumento de la densidad de la cadena de polímeros, también incrementará la dureza (Kuo & Ma, 2001).

Se busca que las cápsulas elaboradas sean lo suficientemente duras para que las bacterias sobrevivan y lleguen completas al estómago, pero que éstas, una vez en el estómago, se puedan disolver y liberar los microorganismos probióticos. De acuerdo con lo reportado anteriormente por Uribe (2017), para una deformación al 80% se necesita aproximadamente 1.5 N para las cápsulas con una concentración de 2% de alginato de sodio y utilizando además harina de trigo, siendo este último lo que provoca que la red de alginato requiera menor fuerza.

Tanto el diámetro como la dureza de las cápsulas pueden cambiar dependiendo del pH del entorno, ya que a pH ácidos los grupos carboxilo del alginato se protonan, lo cual forma un gel más compacto debido a que se reduce la repulsión electrostática entre las cadenas poliméricas del alginato. Una vez que todos los grupos carboxilo se protonan ya no hay cambio en el tamaño ni dureza (Ching et al., 2017). Mientras que a pH alcalinos los grupos carboxilo del alginato se desprotonan, haciendo más hidrofílico el gel lo cual hace que absorba más agua. Al absorber más agua los iones de sodio se difunden más fácilmente en las esferas y sucede más rápido el intercambio iónico entre los iones de calcio que están en la matriz del alginato, provocando la disolución completa de la cápsula (Sheu & Marshall, 1993). Debido a lo anterior, es importante considerar el pKa del alginato que

está dentro de un rango de 3.5-4.5 (Cuizano et al., 2007). Esto para evitar un mayor endurecimiento o la disolución total de las esferas.

Viabilidad de las cápsulas de probióticos

A estas mismas cápsulas se les determinó la viabilidad de los probióticos, dando como resultado $4.11 \times 10^9 \pm 0.18$ UFC/g inicialmente y $1.58 \times 10^8 \pm 0.13$ UFC/g después de dos semanas de ser encapsulados. Sin embargo, antes de que los probióticos fueron encapsulados, tuvieron un conteo inicial de biomasa de $1.59 \times 10^{10} \pm 0.15$ UFC/g, por lo que hay un porcentaje de sobrevivencia de 25.85%. Asimismo se tiene reportado que un alimento con probióticos a la hora de su consumo debe tener una concentración mínima entre 10^6 UFC/g - 10^7 UFC/g o estén presentes en cantidades suficientes para conseguir una ingesta diaria de 10^8 UFC/g (Castillo et al., 2017).

Determinación de fenoles: Folin-Ciocalteu

Para la determinación de fenoles se realizó una curva de calibración para el ácido gálico a concentraciones conocidas (Figura 1). Se preparó té verde a la concentración utilizada para las cápsulas y se midió la muestra a 765 nm en el espectrofotómetro.

Al sustituir los datos obtenidos en la ecuación de la recta, se obtuvo una concentración promedio de 0.220 ± 0.002 mg/mL equivalentes de ácido gálico.

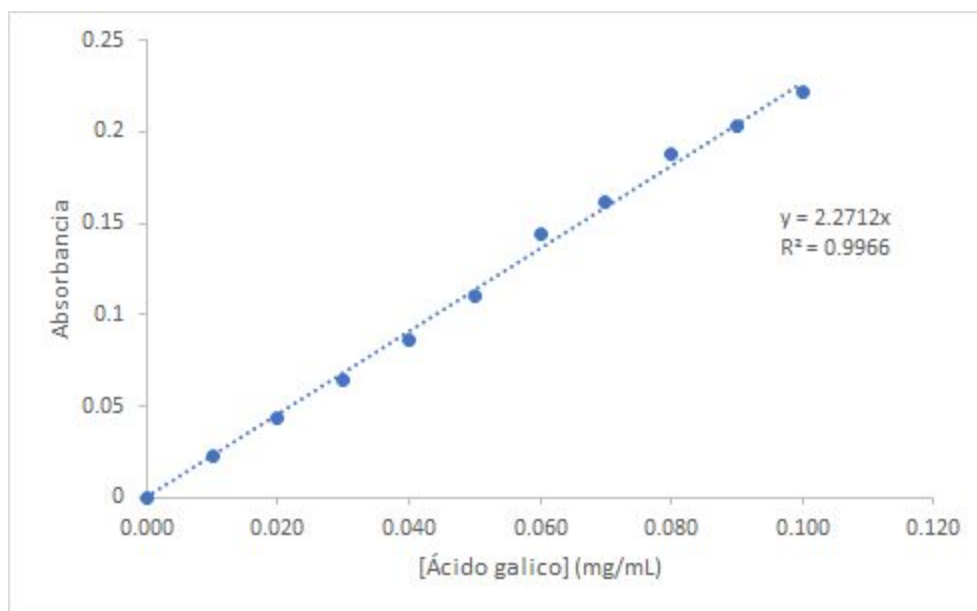


Figura 1. Curva de calibración para determinación de fenoles.

Viabilidad en unidad experimental

Como se mencionó anteriormente, durante el semestre de *Primavera 2018* se trabajó en el análisis de viabilidad en unidad experimental por medio de un análisis de carbohidratos residuales y viabilidad por medio un sensor de biomasa viable. El análisis de carbohidratos residuales durante los experimentos de activación mostró que los microorganismos consumieron $99.41 \pm 0.8\%$ de la glucosa total durante las primeras 24 h a 37°C (sustrato a corto plazo, figura 2), mientras que los resultados de la viabilidad mostraron que durante las primeras 24 h de incubación no hubo cambios significativos ($\alpha = 5$) en la producción de biomasa que podrían ser consecuencia de la fase de adaptación microbiana a la fuente de carbono a largo plazo (harina de trigo). Sin embargo, un menor volumen de extracto de té verde tuvo un impacto positivo en la producción de biomasa para ambas cepas de *Lactobacillus*.

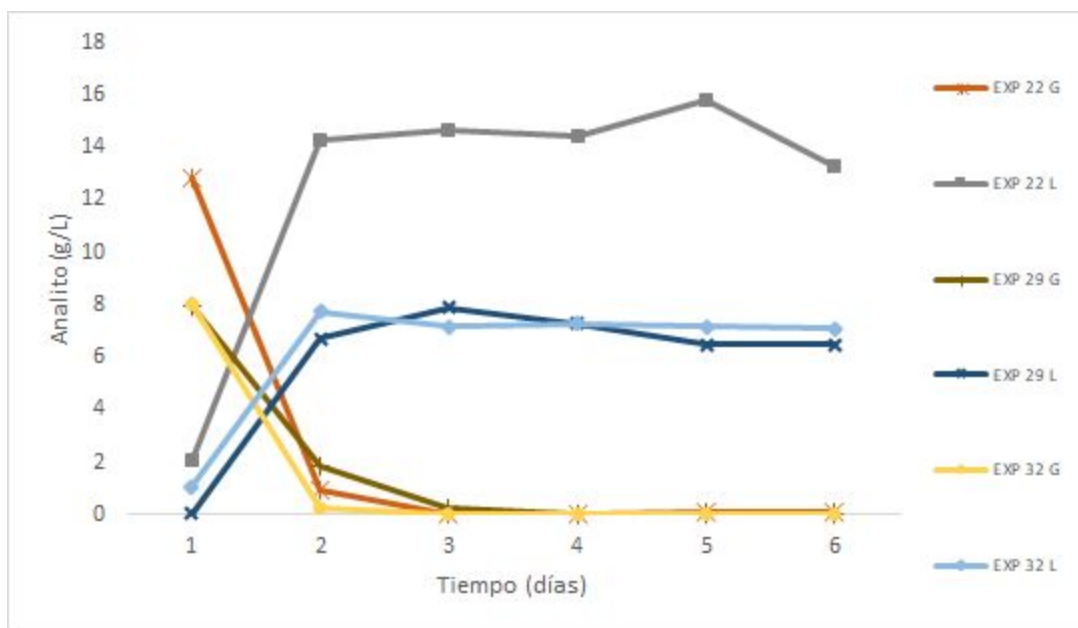


Figura 2. Consumo de glucosa (G) y producción de lactato (L) en unidades experimentales de *Lactobacillus rhamnosus*.

En cuanto a la medición de biomasa viable, la conductividad eléctrica (figuras 3-4) mostró que durante las primeras 24 h de incubación no hubo cambios significativos en la biomasa, lo cual podría deberse a la fase de adaptación microbiana, teniendo así un mayor aumento a través del análisis de 8 semanas; se observó un comportamiento similar en la permitividad celular (figuras 5-6).

Después de 8 semanas de análisis, los resultados de conductividad eléctrica mostraron que a niveles más bajos de extracto de té verde hay un aumento de la biomasa en ambas cepas de *Lactobacillus*.

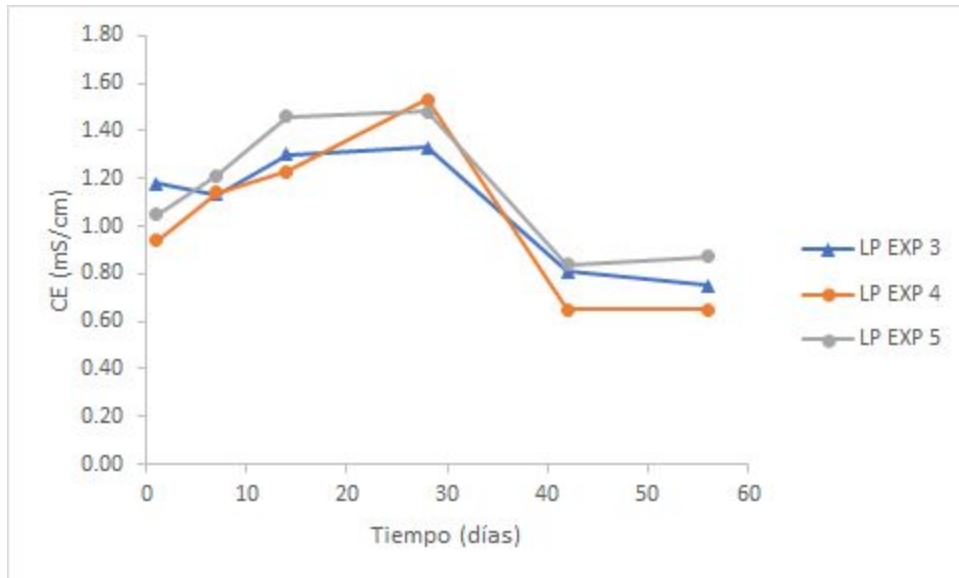


Figura 3. Conductividad eléctrica en unidades experimentales de *Lactobacillus plantarum* (LP).

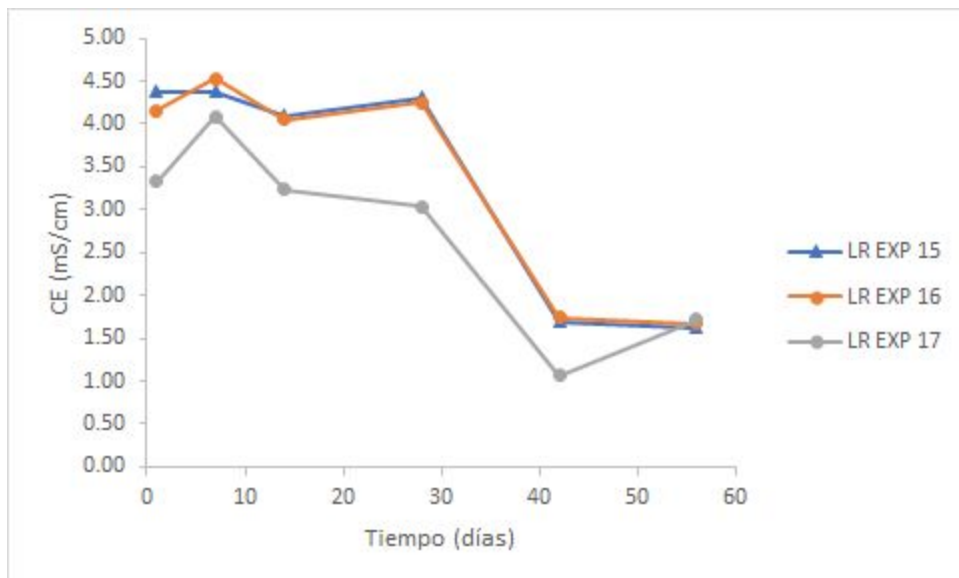


Figura 4. Conductividad eléctrica en unidades experimentales de *Lactobacillus rhamnosus* (LR).

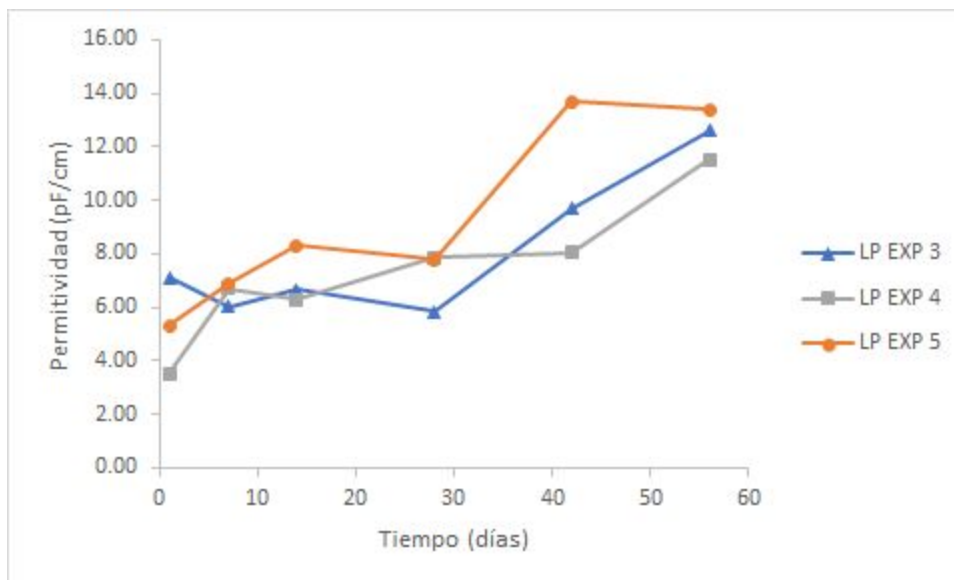


Figura 5. Permitividad en unidades experimentales de *Lactobacillus plantarum* (LP).

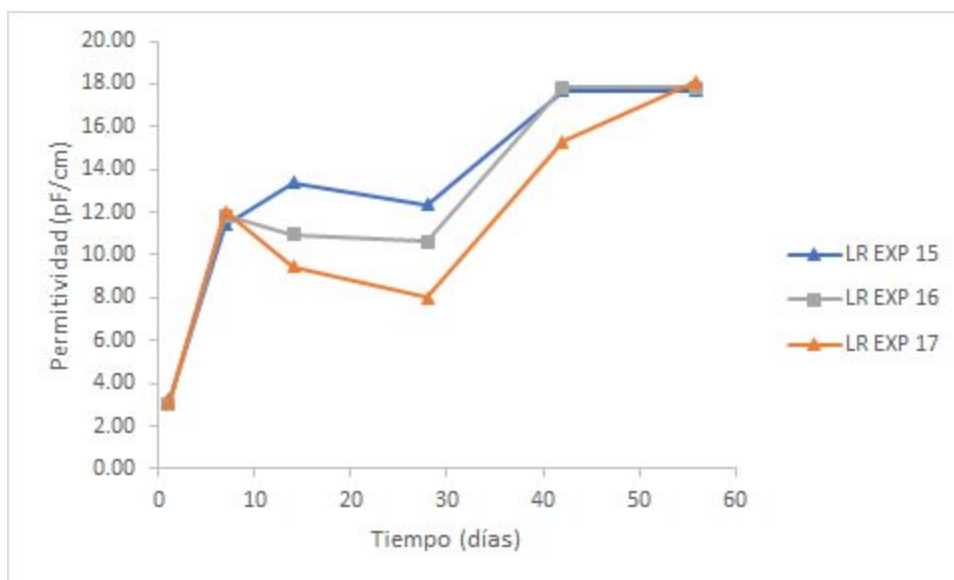


Figura 6. Permitividad en unidades experimentales de *Lactobacillus rhamnosus* (LR).

Para comprobar estos análisis de viabilidad, este semestre (*Otoño 2018*) se trabajó con pruebas de viabilidad por conteo en placa. Sin embargo, no fue posible realizar este análisis debido que contábamos con un contaminante (esporas de hongos, véase figura 7).



Figura 7. Análisis de viabilidad en unidad experimental por conteo en placa.

Para verificar que esta contaminación no era resultado de malas prácticas de laboratorio se decidió hacer diferentes muestreos: por componente, componentes en sinergia, ambiental (Laboratorio de microbiología e incubadora). Además, se probó con sembrado en superficie y por vaciado en placa, así como el uso de micropipeta y pipeta estéril. Al no tener resultados favorables tras la realización de estas pruebas, se decidió aumentar el periodo de esterilización a 20 min, teniendo a la vez resultados no favorables por lo que se concluyó que se estaba tratando con una espora termoresistente.

Estudio de mercado

Para el desarrollo del alimento funcional, primeramente se realizó un estudio de mercado en el que se aplicó una encuesta acerca del conocimiento y consumo de alimentos con probióticos, postres tipo pudín, chía y pudín de chía. Esta encuesta fue contestada por 183 personas, de las cuales el 78% fueron mujeres y el 22% hombres. Además de que el 34% de los encuestados se encuentran dentro de un rango de edad de 40-53 años, el 30% entre 18-22 años, el 25% entre 23-39 años y el restantes siendo mayores de 54 años.

La primera pregunta fue sobre el conocimiento de probióticos, en el que el 69% de los encuestados respondieron si conocerlos. A estas personas se les preguntó cuáles eran los

alimentos con probióticos que conocían, siendo yakult y yogurt los más mencionados, con una frecuencia de mención de 40 y 36 respectivamente. En una encuesta anteriormente realizada a 111 personas, sobre el consumo de pudín de tapioca, se les preguntó la frecuencia de consumo de estos alimentos, en el que el 31% de las personas consumen probióticos una o dos veces a la semana, mientras que el 27% solamente los consume 1 vez al mes.

La demanda en el mercado sobre el consumo de este tipo de alimentos va creciendo, por lo que se han desarrollado diferentes estrategias para aumentar la sobrevivencia de estas bacterias probióticas, lo que ha dado lugar a que la industria de lácteos y la tecnología innovaran alimentos funcionales, entre ellos los postres. Aunque las matrices lácteas sean las mejores y más usadas para añadir probióticos, existen ya matrices sólidas como chocolates y cereales que permiten la viabilidad de los probióticos. Es por eso que se interesa saber las características preferidas en un postre por parte de los consumidores:

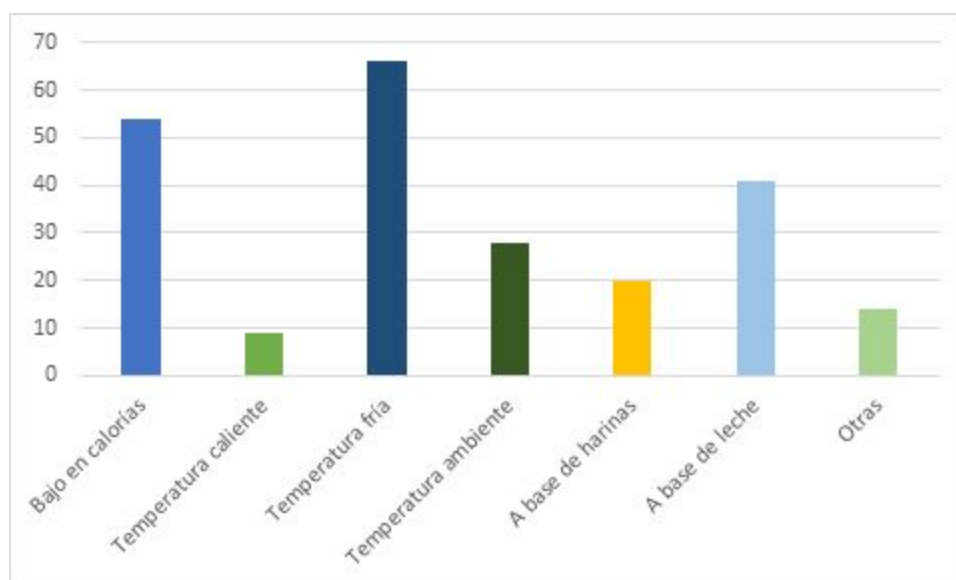


Figura 8. Características preferidas en postre de acuerdo a la encuesta de pudín de tapioca contestada por 111 personas.

En la figura anterior se puede observar que las tres principales características es que el postre se consuma a una temperatura fría, sea bajo en calorías y sea a base de leche. Lo

cual concuerda con un producto lácteo que necesita un almacenamiento en frío y por lo tanto con la propuesta de pudín de chía.

La siguiente pregunta fue sobre el consumo de postres tipo pudín, en el que el 56% afirmó consumirlos. A estas mismas personas se les preguntó la frecuencia en la que consumen este tipo de productos. Alrededor del 50% de las personas consumen postres tipo pudín una vez al mes, mientras que un 29% de los encuestados afirmó nunca consumirlos. Estos porcentajes obtenidos se pueden observar mejor en la figura 9:



Figura 9. Frecuencia de consumo de postres tipo pudín para 183 personas encuestada

Después se les preguntó cuál es el pudín de su preferencia, dando como opciones pudín solo, de tapioca, de chía, de quinoa, de amaranto o si conocía otro. Estos resultados se muestran en la figura 10, y se puede observar que el pudín con mayor preferencia es el de tapioca, ya que un 34% de los encuestados optó por esta opción. Mientras que para el pudín solo y para el pudín de chía el 31% y 15%, respectivamente, de los encuestados los prefirieron.

■ Pudín (solo) ■ Pudín de tapioca ■ Pudín de chia
 ■ Pudín de quinoa ■ Pudín de amaranto ■ Otras

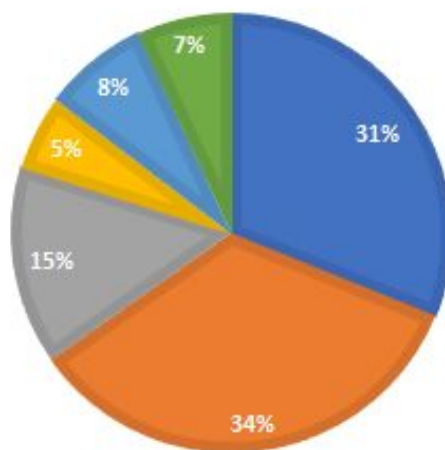


Figura 10. Preferencia de consumo para postres tipo pudín de acuerdo a lo contestado por las 183 personas

Sin embargo la chía (Salvia Hispánica) es considerada un súper alimento, es una semilla proveniente del sur de México y norte de Guatemala la cual aporta diversos beneficios a la salud ya que está constituida de ácidos grasos, fibra, aminoácidos, antioxidantes, vitaminas, minerales. La fibra dietética de la chía regula el tránsito intestinal, reduce los lípidos, la glucemia en diabéticos, por lo que se utiliza dentro del tratamiento de pérdida de peso y además es fuente directa de Omega 3 y es rica en proteínas ya que 19-23% de su peso es proteína. (Carrillo et al, 2017, Tosco G, 2016)

Una de las habilidades que se le atribuyen a dicha semilla es el poder de absorber 12 veces su peso de agua lo cual contribuye a prolongar la hidratación y retención de electrolitos en fluidos del cuerpo, mayormente durante esfuerzos, al gel protector que se produce al absorber el agua se le conoce como mucílago que al ser ingerido genera una barrera física, que separa las enzimas digestivas de los carbohidratos, esto hace una lenta conversión de carbohidratos en azúcar pero mantiene los niveles de azúcar en la sangre, el cual puede ser útil en la prevención y control de la diabetes. Los ácidos grasos insaturados

que posee la chia son esenciales para el cuerpo, para emulsificar y absorber vitaminas liposolubles como A, D, E y K (Tosco G, 2016).

Debido a dichos beneficios que posee la chía es utilizada en alimentos funcionales, nutraceuticos y suplementos dietéticos (Tosco G, 2016).

Por lo que se prosiguió a preguntar sobre el conocimiento y gusto por esta semilla, el 100% de las personas conocen la chía y el 97% contestó que tiene un agrado hacia ella. Además de que el 75% de los encuestados conocen el pudín de chía, de los cuales solamente el 56% tienen un gusto hacia este producto.

Por último, se les preguntó a las personas si estarían interesados en consumir un postre tipo pudín con probióticos y cuánto pagarían por un producto así. El 91% de los encuestados contestaron que sí están interesados en consumir un alimento así. Mientras que aproximadamente el 39% de las personas pagarían entre \$16-25 MXN y el 33% pagaría entre \$10-15 MXN (figura 11).

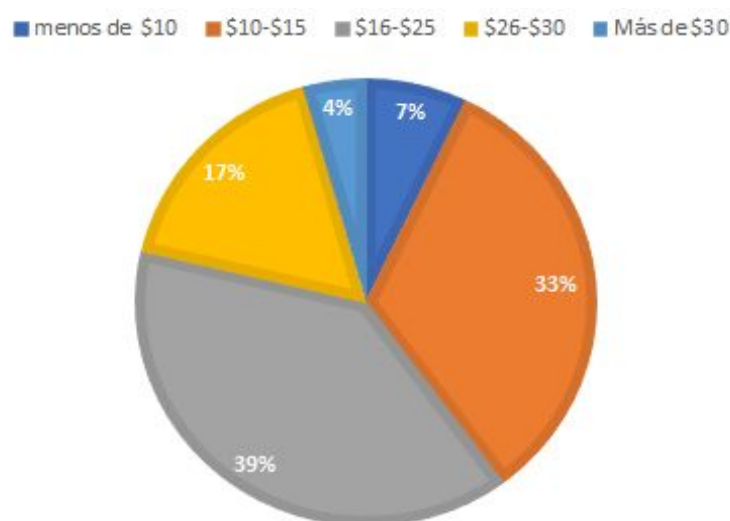


Figura 11. Costo que estarían dispuestos a pagar las 183 personas encuestadas

Prueba preliminar: propuesta de formulación

Se busca que el producto sea dirigido a un mercado entre 18-39 años de edad. Por lo que en la prueba hedónica 97% de los consumidores cumplían con este requerimiento. En el cual el 53% consume postres tipo pudín y el 73% consume chía. Se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA) en el cual se obtuvo un valor P igual a 0.00, lo que indica que existe una diferencia significativa entre las 4 muestras elaboradas. Se pudo distinguir 3 grupos entre ellas al aplicar la prueba múltiple de Tukey, donde el pudín de chía elaborado con leche entera y deslactosada forman un grupo, el pudín de chía con bebida de almendras forma otro grupo y el último grupo lo representa el pudín de chía a base de yogurt. Siendo este último el que presentó mayor nivel de agrado para los consumidores, mientras que el pudín de chía elaborado con bebida de almendras tuvo el menor nivel de agrado. Estos resultados se pueden observar en la figura 12:

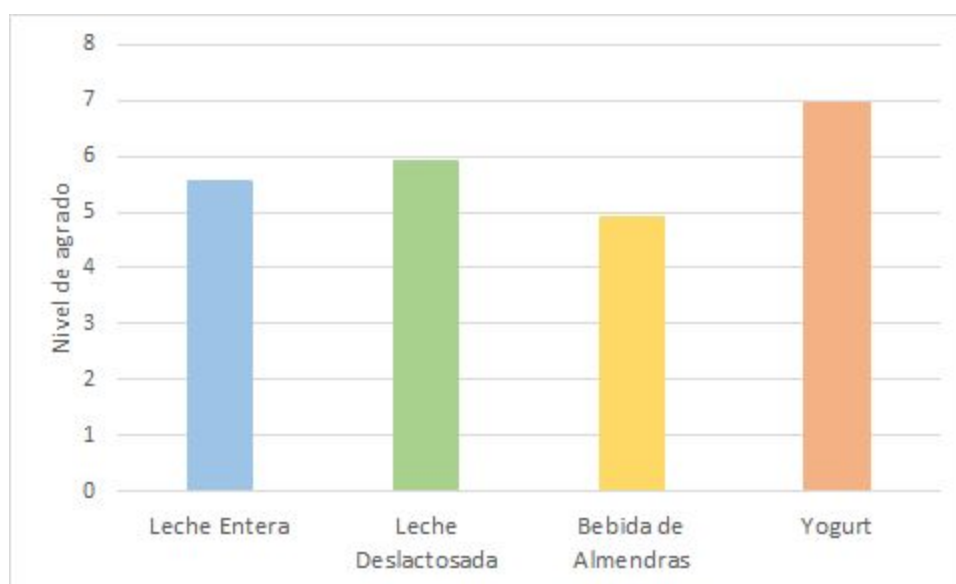


Figura 12. Nivel de agrado promedio para las 4 muestras de pudín de chía con leche entera, leche deslactosada, bebida de almendras y yogurt por 100 consumidores a partir de una prueba hedónica con una escala de 9 puntos.

Por lo que se decidió realizar el pudín de chía a base de yogurt.

El yogurt es un alimento funcional, derivado lácteo obtenido por fermentación de bacterias ácido lácticas de la leche (Vera, 2011).

La leche es uno de los alimentos más antiguos utilizados por el hombre, el consumo de productos lácteos forma parte de los alimentos de una dieta habitual. El yogurt aporta una gran cantidad de nutrientes al ser un alimento derivado de la leche ya que es rico en vitaminas y minerales (calcio y fósforo), es considerado un alimento completo ya que contiene proteínas, grasas y carbohidratos, además las proteínas producidas por las bacterias lácticas hacen que el yogurt sea un producto con mayor aporte biológico, además que hace que sea más sencillo el metabolizar grasas y lactosa (Vera, 2011).

Además es considerado como un alimento probiótico, prebiótico e incluso como simbiótico. Lo que hace que el yogurt sea considerado como un alimento probiótico es la acción que realiza en el organismo debido a los *Lactobacillus* y *Streptococcus*, además aportan directamente bacterias beneficiosas vivas a la flora intestinal (Vera, 2011). Los microorganismos que se encargan de la fermentación láctica deben estar presentes en el producto terminado en una cantidad mínima de 1×10^7 colonias por gramo o mililitro (Babio et al, 2017).

El yogurt aporta bastantes beneficios a la salud de los seres humanos apoyando en la mejora y disminución de enfermedades patógenas, además posee nutrientes que son de fácil asimilación, por lo que se puede consumir a cualquier edad (Vera, 2011).

Caracterización de yogurt

En la actualidad, la industria láctea utiliza ingredientes y sistemas tecnológicos que permiten la producción de postres variados, fáciles de digerir y con mayor contenido de nutrientes. Estos postres tienen las características de ser cremosos o gelificados de leche, son mezclas complejas de productos lácteos combinados con hidrocoloides, azúcares, frutas, galletería o cubiertas. La combinación de estos ingredientes produce ciertos

sabores y texturas, por lo que estos atributos se vuelven parte del control de calidad para este tipo de productos (Martínez et al., 2008).

Como se mencionó anteriormente, los niveles de pH influyen en la disolución de las cápsulas de probióticos en alginato de calcio. Se espera que estas cápsulas no sean disueltas completamente en el alimento, pero que además no se endurezcan lo suficiente para que las bacterias no puedan ser liberadas dentro del cuerpo humano. Cabe mencionar, que dependiendo de la especie de bacterias utilizada es el pH recomendado para aumentar la sobrevivencia de estas bacterias. De acuerdo con Ramos y colaboradores (2012) para los *Lactobacillus* el pH debe ser entre 5.50 y 6.00.

Es por eso que se midió el pH de estos productos. La leche por sí sola tiene un pH entre 6.60 y 6.80 (Reyes et al., 2010), mientras que para el yogurt se reporte un pH entre 4.50 y 4.70 (Izadi, Nasirpour & Garoosi, 2014). Por lo que se esperaba que las muestras de yogurt utilizadas tuvieran un pH dentro de este rango. Para los 3 yogures comerciales se obtuvieron pH's de 4.24, 4.34 y 4.48, mientras que para el yogurt prototipo elaborado se obtuvo un valor de 3.96. Como el pKa del alginato de sodio está entre 3.5-4.5 se puede considerar que el yogurt es una matriz que no provocará la protonación o desprotonación del alginato. Sin embargo, el nivel del pH está fuera del rango para la sobrevivencia de *Lactobacillus*.

L. plantarum es parte del grupo BAL, es decir que es productora de ácido láctico. Por lo que se calculó el porcentaje inicial de ácido láctico en cada muestra de yogurt, siendo de 0.04%, 0.03% y 0.05% para los 3 yogures comerciales, y con un porcentaje de ácido láctico de 0.06% para el yogurt prototipo. Estos valores son bajos comparados con lo reportado por Izadi y colaboradores (2014), donde el yogurt tuvo un porcentaje de ácido láctico entre 0.14-0.16% y se observó un aumento de la acidez durante la fermentación y almacenamiento. La adición de BAL en productos lácteos es muy común, debido a que contribuyen en la biopreservación de los alimentos, mejoran características sensoriales y aumentan la calidad nutritiva. Sin embargo, la producción de ácido láctico es un indicativo

del crecimiento de estas bacterias y puede reducir el pH del alimento provocando un efecto inhibitorio para estas mismas bacterias (Ramírez et al., 2011).

A estas mismas muestras se les determinó el porcentaje de humedad y la actividad de agua. Los valores obtenidos se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Valores obtenidos de pH, porcentaje de ácido láctico, viscosidad, actividad de agua y porcentaje de humedad para las 3 marcas comerciales de yogurt y para el yogurt prototipo elaborado.

Marca	pH	% ácido láctico	Viscosidad (cP)	Actividad de agua	Porcentaje de humedad
Yogurt 1	4.24	0.04	27667	0.9941	81.77
Yogurt 2	4.34	0.03	10667	0.9954	79.81
Yogurt 3	4.48	0.05	34133	0.9925	85.24
Yogurt prototipo	3.96	0.06	28000	0.9936	83.90

Según la NOM-243-SSA1-2010, los dulces de alta humedad tienen más del 20% de humedad, por lo que las 4 muestras de yogurt caen dentro de esta categoría. En el trabajo de “Propiedades fisicoquímicas y de flujo de un yogur asentado enriquecido con microcápsulas que contienen ácidos grasos Omega 3” de Reyes y colaboradores (2015), elaboraron varias muestras de yogurt con diferentes formulaciones, sobre todo en el contenido de grasa. Sin embargo, todas las muestras tuvieron un porcentaje de humedad entre 81-87%.

Esta variable ayuda a determinar la calidad del producto, ya que, en este tipo de alimentos, el cambio de porcentaje de humedad está relacionado con la sinéresis. Esto es la expulsión o separación del lactosuero que afecta la calidad de productos lácteos. Uno de los principales factores asociados con la sinéresis es la acidificación (Acevedo et al.,

2010). Como los *Lactobacillus* son productoras de ácido láctico, pueden provocar además una acidificación del producto, por lo tanto un aumento en el porcentaje de humedad.

El pudín es un postre tipo lácteo parecida a una natilla, con una consistencia cremosa o en forma de gel, que se presenta de manera líquida. Pueden presentar consistencia y textura fuerte, muy compacta y densa o ligera (Martínez et al., 2008). Una manera de determinar la consistencia de los pudines es conociendo su viscosidad. De acuerdo con Tobar y colaboradores (2016), el pudín tiene una viscosidad mayor de 1750 cP. Mientras que otros alimentos como el néctar o la miel tiene una viscosidad entre 51-350 cP y 351-1750 cP, respectivamente. Sin embargo, Parrilla & Landa (2009) reportan que el pudín tiene una viscosidad de 4000 cP.

Mientras que el yogurt es un producto ampliamente consumido y una de las propiedades importantes para el consumidor es la consistencia. Estas propiedades fisicoquímicas, la textura y las propiedades de flujo depende de factores como es la composición y formulación del yogurt y las bacterias ácido lácticas utilizadas (Reyes, Ramírez & Vélez, 2015). Mientras que Izadi y colaboradores (2014), en su trabajo “Rheological and physical properties of yogurt enriched with phytosterol during storage” reportan que la viscosidad del yogurt depende de la fuerza y del número de enlaces que hay entre las micelas de caseína, así como su estructura y distribución espacial. Se considera que el yogurt es un gel conformado por estas micelas que atrapan agua, otorgando una viscosidad cercana a 31200 cP (Izadi, Nasirpour & Garoosi, 2014). En el cuadro 1 se puede observar los valores obtenidos de viscosidad para las 3 marcas comerciales de yogurt y para el yogurt prototipo.

Estas variables medidas al yogurt, ayudarán a determinar si al añadir los probióticos se presentará un cambio que pueda afectar la textura, sabor, aceptabilidad y viabilidad de las bacterias.

Prueba de sobrevivencia de probióticos encapsulados al ser añadidos al yogurt

Para esta prueba, primeramente se calculó la cantidad de cápsulas de probióticos que se iban a añadir en el alimento, queriendo obtener una concentración de 10^8 UFC/g, de acuerdo con lo obtenido de viabilidad en estas cápsulas, siendo de 4.11×10^9 UFC/g. Por lo que se tiene que el 93.33% debe ser del alimento y añadir 6.67% de cápsulas de probióticos.

Como se ha mencionado anteriormente, el pH influye en el diámetro de las cápsulas de alginato, ya que este polisacárido puede protonarse si se encuentra en pH ácidos, haciendo que la red se compacte hasta que no haya cambios en su tamaño. Pero a pH alcalinos se desprotona, haciendo que sea más fácil la absorción de agua y el intercambio de iones se de más rápido, por lo que se disolverá la cápsula. De acuerdo con los pH medidos anteriormente del yogurt, se esperaba una disminución mínima en el tamaño de la cápsulas al ser añadidas a esta matriz. Este cambio con respecto al tiempo se puede observar en la figura 13.

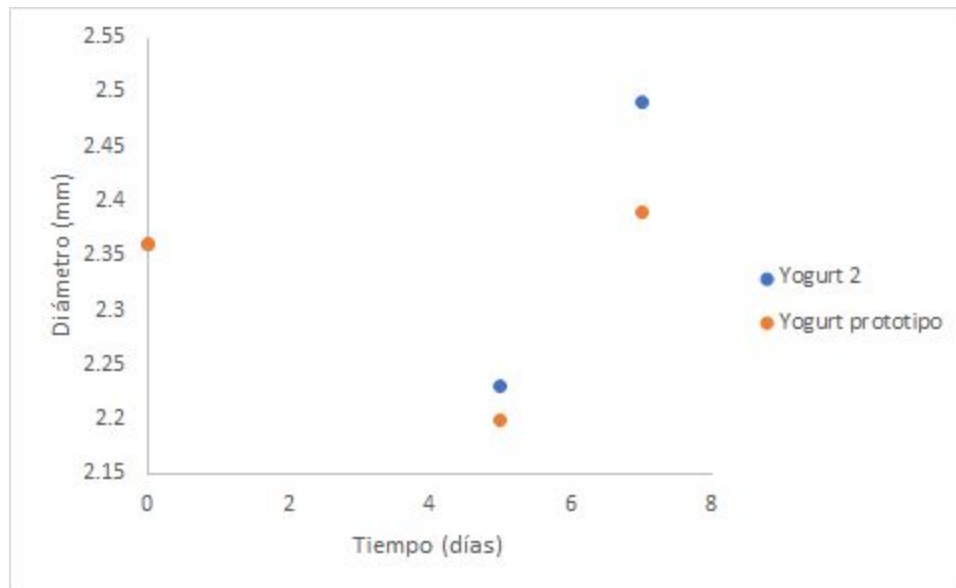


Figura 13. Cambio del diámetro de las cápsulas de probióticos en alginato de calcio con respecto al tiempo después de 7 días (168 h) al ser añadidos a un yogurt comercial y al yogurt prototipo.

En la figura anterior se puede observar que después de 5 días (120 h), el diámetro de las cápsulas de probióticos para ambas matrices disminuyó. Pero el tamaño de estas vuelve a aumentar, volviendo a llegar por arriba de su tamaño original. A pesar de que el pH se encontraba dentro del rango del pKa del alginato, se puede suponer que existe un flujo de agua hacia el interior de las cápsulas, lo que provoca este comportamiento en el tamaño. De acuerdo con Bajpai & Sharma (2004) en su estudio de “Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca^{2+} and Ba^{2+} ions” a esferas de alginato de calcio las colocaron en diferentes soluciones de NaCl y observaron que las esferas iban aumentando su tamaño hasta que se disolvían completamente. Las esferas de alginato de calcio son estables en medios acuosos. Sin embargo, con la presencia de iones Na^+ , se da el proceso de intercambio iónico entre los iones Na^+ y Ca^{2+} , lo que provoca la hinchazón de las esferas y su posterior degradación (Bajpai & Sharma, 2004).

Por estos mismos 7 días, se determinó la viabilidad de los probióticos al ser añadidos en la matriz alimenticia. Sobre todo, se pudo observar que si hubo sobrevivencia de estas bacterias (figura 14).

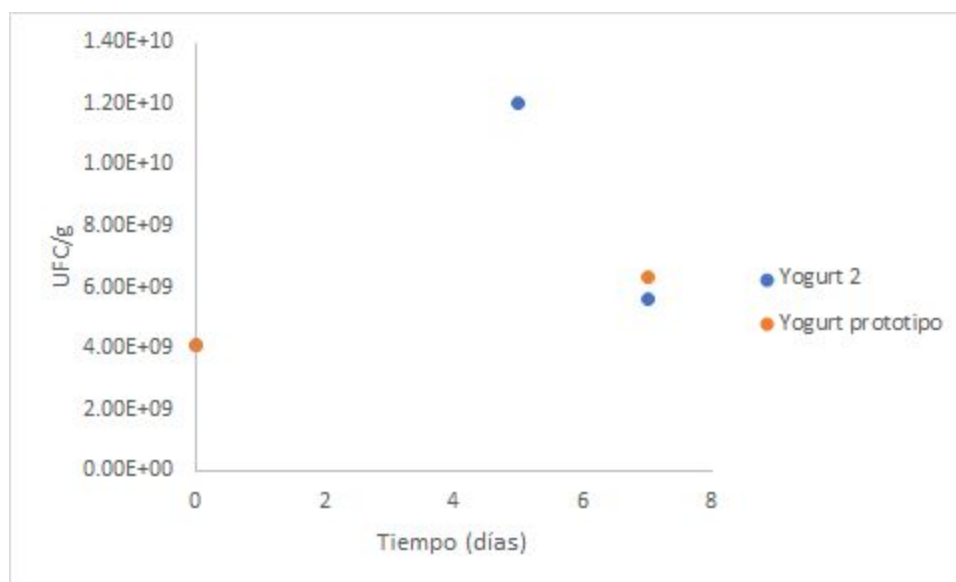


Figura 14. Cambio en la viabilidad de los probióticos encapsulados con respecto al tiempo después de 7 días (168 h) para el yogurt comercial y el yogurt prototipo.

* Para el día 5 (120 h) el valor para el yogurt prototipo fue incontable

Durante el desarrollo de las cápsulas de probióticos, se añadió extracto de té verde, esto con el objetivo de que sirva como sustrato para las bacterias y fomentar su crecimiento. Esto pudo ser una razón por la cual después de 5 días, las cápsulas tuvieron un aumento en su biomasa. Además de que, la lactosa que se encuentra en la matriz alimenticia también puede tener esa funcionalidad como sustrato. En la figura anterior, se puede observar que a pesar de que después de 7 días vuelve a ver una disminución en la concentración de los probióticos, este valor sigue siendo mayor que al inicial, antes de que las cápsulas se integran al yogurt. Este aumento también puede ser debido al flujo de agua que hay al interior de la cápsula, puesto que se puede suponer que durante el

intercambio iónico también hay paso de las bacterias lácticas propias del yogurt hacia el interior de las cápsulas.

Prueba de textura para las cápsulas de probióticos al ser añadidos al yogurt con chía

Para esta prueba también se buscó una concentración en el alimento de bacterias probióticas de 10^8 UFC/g, por lo que se mezcló 93.33% de yogurt con chía junto con 6.67% de las cápsulas de probióticos.

Debido a que se detectó un flujo de agua hacia el interior de las cápsulas, lo que puede provocar la degradación completa de estas antes de ser consumidas, se buscó la manera de retener el agua del producto para evitar que se disolvieran las cápsulas de probióticos. La chía es una semilla con gran demanda debido a sus efectos benéficos a la salud. Además que aporta algunas propiedades útiles para la industria de alimentos. Algunas veces la chía se usa para dar espesor a mermeladas, jaleas, yogurt, mostaza y algunas salsas. El mucílago o el gel obtenido de esta semilla es fuente de hidrocoloides con propiedades de retención de agua, emulsionante, espesante, estabilizador y es soluble en agua fría y caliente (López et al., 2017). Por lo que, con la adición de la chía se esperaba que el porcentaje de humedad disminuirá y así evitar el hinchazón de las cápsulas. El porcentaje de humedad del yogurt con chía se muestra a continuación:

Cuadro 2. Determinación de porcentaje de humedad del prototipo de yogurt con chía y de un yogurt comercial con chía

Muestra	% H
Yogurt prototipo con chía	71.74
Yogurt 2 con chía	71.57

En el cuadro anterior y el cuadro 2 (cuadro de porcentaje de humedad inicial) se puede observar que el cambio de humedad es casi de un 10%, por lo que se espera que las cápsulas tengan un menor cambio en cuanto al diámetro y dureza:

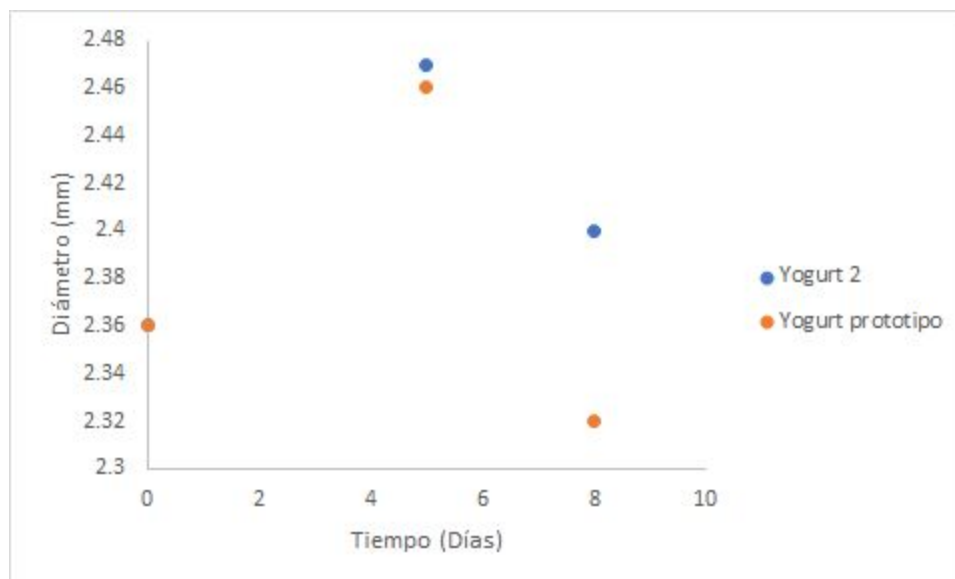


Figura 15. Cambio del diámetro de las cápsulas de probióticos adicionadas a un yogurt comercial con chía y al yogurt prototipo elaborado con chía por 8 días (192 h).

En la figura anterior se observa que en los primeros 5 días, el tamaño de la cápsula aumentó, esto puede aun ser causa del flujo de agua que hay hacia el interior de la cápsula, pues el porcentaje de humedad, a pesar de que disminuyó sigue siendo alto. Otra razón puede ser debido al aumento de la biomasa, provocando un aumento en el diámetro de la cápsula. A pesar de esto, para el día 8, el diámetro tiene una disminución, llegando casi a su tamaño original. Esto puede ser a que, como hay crecimiento de las bacterias, hay producción de ácido láctico, acidificando el medio y por lo tanto disminuyendo el pH. Por lo que, mientras más bajo el pH el alginato se irá protonando, provocando una disminución en el tamaño de la cápsula y por lo tanto aumentando la dureza en estas mismas.

En la figura 16 muestra que después de 8 días, las cápsulas efectivamente tienen un aumento en su dureza, para ambas matrices. Por lo que se puede considerar que si hay

una acidificación del medio, generando la protonación del alginato, volviendo la red más compacta y por lo tanto más dura.

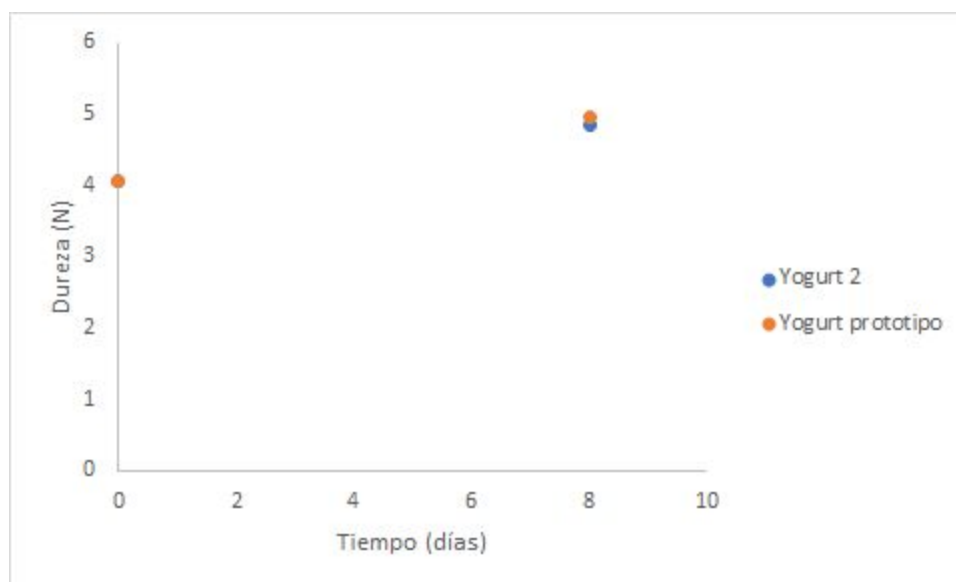


Figura 16. Cambio de la dureza de las cápsulas de probióticos adicionadas a un yogurt comercial con chía y al yogurt prototipo elaborado con chía por 8 días (192 h)

Viabilidad de yogurt

Como se mencionó anteriormente, las cápsulas de probióticos tuvieron un aumento en la biomasa, esto puede ser por la utilización del extracto de té verde y de la lactosa como sustrato, estimulando el crecimiento de las bacterias. Otra razón puede ser que exista una transición de las bacterias propias del yogurt hacia el interior de las cápsulas, provocando este aumento en la viabilidad de las cápsulas. Por lo que se determinó la viabilidad del yogurt antes de ser añadidas las cápsulas de probióticos y después de ser añadidas (figura 17).

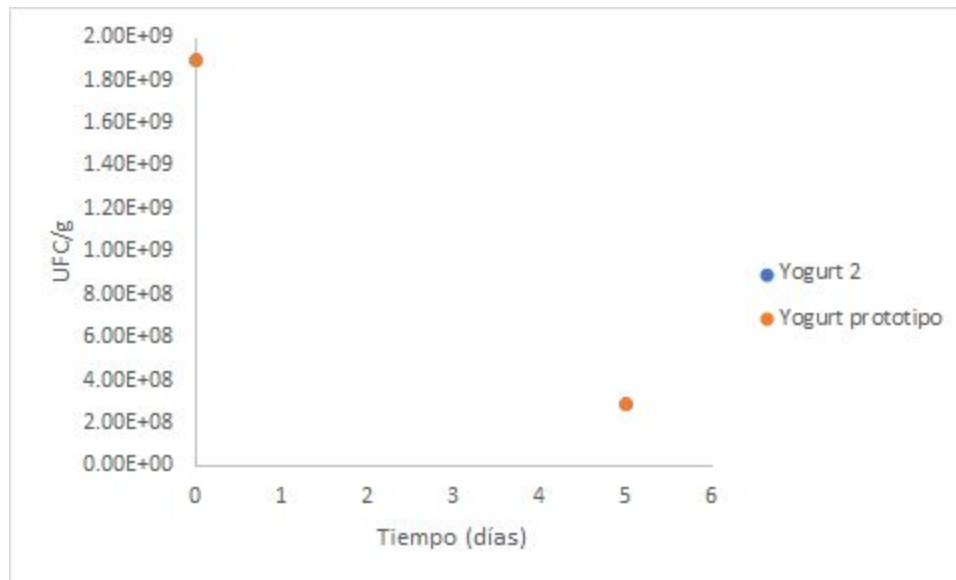


Figura 17. Viabilidad del yogurt comercial 2 y yogurt prototipo antes y después de añadir las cápsulas de probióticos por 5 días (120 h)

El yogurt comercial utilizado y el yogurt prototipo tuvieron un contenido de bacterias, tanto al inicio como después de ser añadidas las cápsulas. Por lo que en la figura 17 no se alcanza a distinguir diferencia entre estas dos muestras. Este valor disminuyó después de 5 días, de aproximadamente 1.9×10^9 UFC/g hasta 2.9×10^8 UFC/g. De acuerdo con la NOM-181-SCFI-2010, el yogurt debe contener mínimo 10^7 UFC/g de la suma de los cultivos adicionados, como son los *Lactobacillus*. Por lo que, a pesar de esta disminución, ambas muestras de yogurt siguen cumpliendo con este contenido mínimo de biomasa aún después de determinado tiempo.

Algunas razones por lo que pudo existir este cambio en la viabilidad de las muestras de yogurt es que hubo muerte de las células durante el almacenamiento del producto o que hubo un flujo de células propias del yogurt hacía en el interior de las cápsulas de probióticos. Sin embargo, en un estudio realizado por Parra & Medina (2012) en el que elaboraron cápsulas cargadas con microorganismos ácidos lácticos y las añadieron en yogurt durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración. Los resultados

mostraron que la adición de estas cápsulas influyeron en las características finales del yogurt, como es el pH y la acidez. Además de que el recuento microbiológico indicó que hubo liberación de las bacterias, provocando un aumento de estas en el yogurt, desde 3.6×10^6 UFC/g a 1.45×10^7 UFC/g (Parra & Medina, 2012). Esta diferencia en el comportamiento de la cantidad de biomasa en el yogurt, puede ser debida a la concentración de alginato utilizada, ya que en este trabajo anterior la encapsulación de microorganismos utilizó alginato al 4%, por lo que la red generada era menos resistente.

Reformulación yogurt

La viscosidad del yogurt depende principalmente del contenido de sólidos lácteos no grasos, es decir de la proteína. El aumento de este compuesto potencializa la viscosidad del producto, volviendo más firme y rígido (Lignia et al., 2018). En el trabajo de “Desarrollo y evaluación de un yogurt firme utilizando tres edulcorantes no calóricos y dos porcentajes de magro” por Bazán (2010), se realizó diferentes muestras de yogurt utilizando mezclas de edulcorantes diferentes a la sacarosa: splenda, aspartame y acesulfame-K. En este estudio se demostró que no existe diferencia significativa en la viscosidad para los yogures elaborados. Asimismo, se reportó que fue posible obtener un yogurt endulzado con stevia, teniendo características fisicoquímicas similares a un yogurt endulzado con sacarosa, como es el pH, acidez y viscosidad (López, 2009).

Por lo que se esperaba que en las muestras de yogurt elaboradas con diferentes edulcorantes, no hubiera diferencia entre ellas. Pero, como se muestra en el cuadro 3, se tuvieron viscosidades diferentes para cada yogurt:

Cuadro 3. Viscosidades obtenidas para las 4 muestras de yogurt con diferentes edulcorantes: sacarosa, edulcorante comercial, splenda y stevia pura.

Yogurt	Viscosidad* (cP)
Sacarosa	28000
Edulcorante comercial	34800
Splenda	15800
Stevia	13400

Como se mencionó anteriormente, el yogurt tiene una viscosidad cercana a 31200 cP. Pero el yogurt con sacarosa, siendo la muestra control, tuvo un valor de viscosidad menor a este. En cuanto que al yogurt con la edulcorante comercial tuvo una viscosidad mayor a la reportada. Mientras que las otras dos muestras con splenda y stevia, tuvieron una viscosidad casi dos veces menor a la reportada. Una baja viscosidad en el yogurt se puede considerar un defecto del producto, provocado por una mala calidad de la leche, agitación excesiva, temperatura de incubación alta y cultivo incorrecto o contaminado (Wurth, 2017). La baja viscosidad de las muestras preparadas pudo ser debido a una contaminación del cultivo, lo que además provocó filamentos en el yogurt.

Aun así, las 4 muestras de yogurt se le realizó una prueba hedónica a 100 consumidores, para determinar la aceptabilidad de estos, obteniendo un valor P igual a 0, por lo que se encontró diferencia significativa entre ellas:

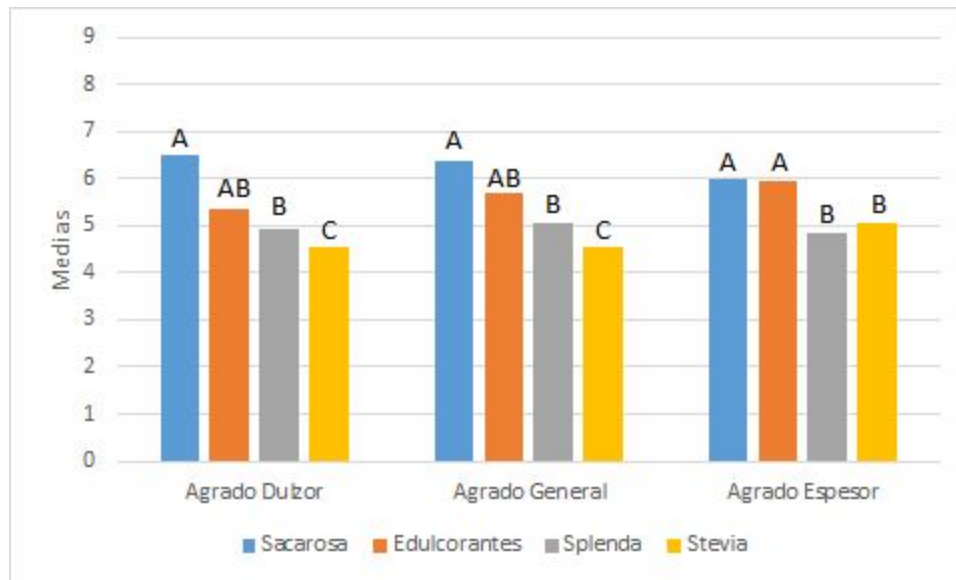


Figura 18. Medias obtenidas de los 100 consumidores en la prueba hedónica de agrado general, agrado de dulzor y agrado de espesor de las 4 muestras de yogurt con sacarosa, edulcorante comercial, splenda y stevia pura.

El yogurt endulzado con sacarosa fue el que tuvo mayor aceptabilidad, con un valor promedio de 6.38, lo que cae dentro de un rango de “me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”. Mientras que en cuanto a dulzor y espesor también fue la muestra con mayor preferencia, teniendo valores promedio de 6.48 y 5.99, respectivamente. Después, el yogurt endulzado con el edulcorante comercial fue el segundo con mayor preferencia para general, dulzor y espesor. Sin embargo, al aplicar una prueba múltiple de Tukey no hubo diferencia significativa entre esta muestra con la de sacarosa.

La muestra endulzada con splenda fue con la tercera con mayor preferencia, teniendo valores de 5.05 para agrado general, 4.92 para agrado de dulzor y 4.86 para agrado de espesor. Se encontró que entre esta muestra y la de edulcorante comercial no existía diferencia significativa para el agrado general y para el dulzor, pero si la hay para el espesor. Esto se puede observar en la figura 18, en la que se marca además los grupos formados entre las muestras que estadísticamente tienen similitud.

Seguido de esta prueba, se evaluó la intensidad del dulzor y espesor para cada muestra. Primero preguntando qué tan dulce o espesa se esperaban que fuera el yogurt (prueba JAR) y después ya marcándole un valor de intensidad entre el 0 y el 15. Los resultados de esto se muestran en las figuras 19-20.

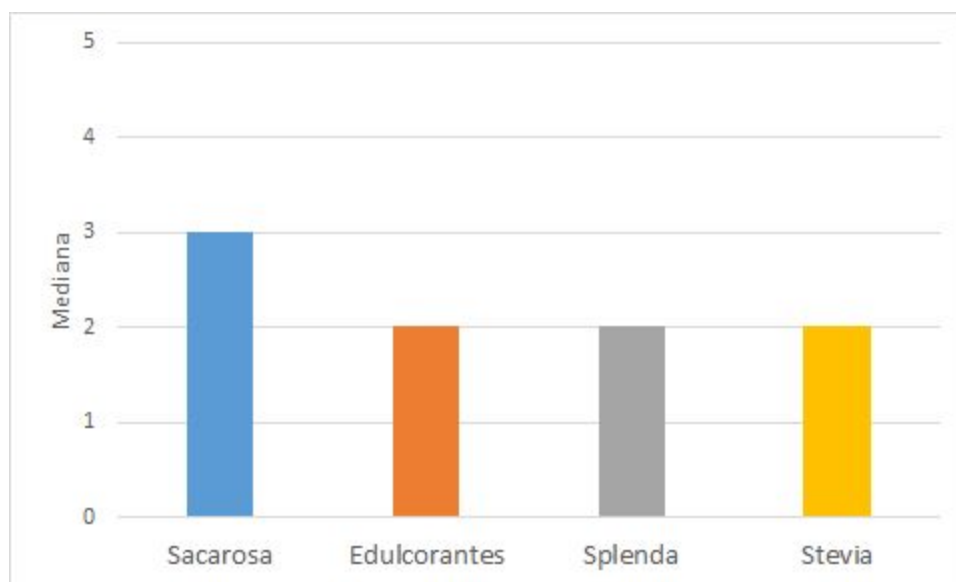


Figura 19. Medianas obtenidas para la prueba JAR evaluando el dulzor de las 4 muestras de yogurt con sacarosa, edulcorante comercial, splenda y stevia pura, por 100 consumidores.

Como se observa en la figura 19, la muestra endulzada con sacarosa tuvo una mediana de 3, lo que significa que los consumidores marcaron su dulzor justo como lo esperaban. Mientras que las demás muestras están por debajo de este valor, teniendo una mediana de dos, lo que quiere decir que están menos dulce de lo que se esperaba. Para esta prueba también se detectó que existe diferencia significativa entre las muestras, ya que se obtuvo un valor de P menor a 0.00001. En el cual, la muestra con sacarosa formó un grupo, las muestras con el edulcorante comercial y la splenda fueron otro grupo y por último, la muestra con stevia fue otro grupo.

Con esta prueba se puede conocer el nivel de dulzor que están buscando los consumidores. Se encontró que el yogurt con sacarosa tiene el dulzor deseado, por lo que

para poder elaborar un postre bajo en calorías y utilizando otro edulcorante, se debe igualar este nivel de dulzor para que sea del agrado de los consumidores. Es por eso, que al conocer la intensidad de cada una de las muestras, se podrá conocer la cantidad de edulcorante que falta añadir para que tenga características sensoriales parecidas al yogurt control, que es el que está endulzado con sacarosa.

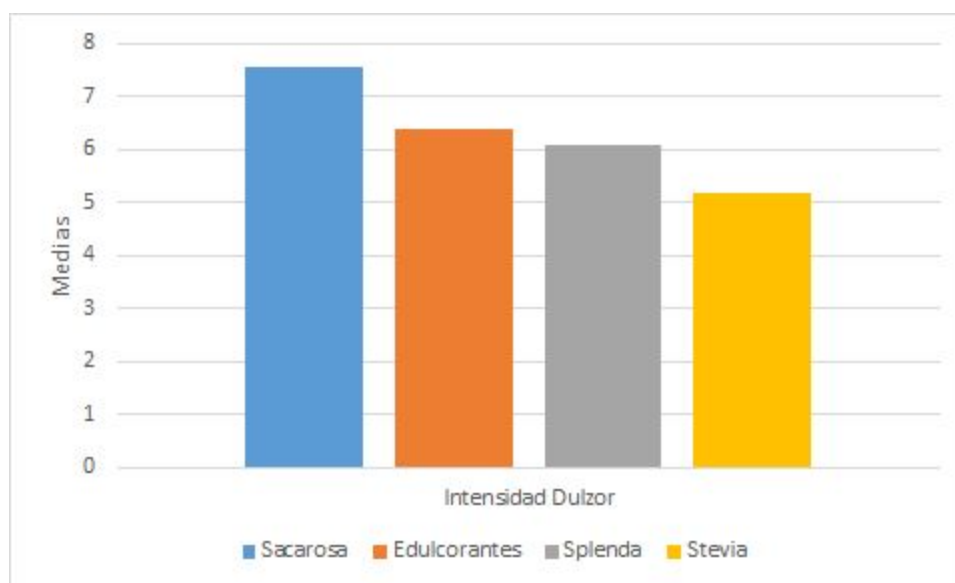


Figura 20. Intensidad de dulzor para las 4 muestras de yogurt con sacarosa, edulcorante comercial, splenda y stevia pura obtenida de los 100 consumidores

En la prueba de intensidad del dulzor también hubo diferencia significativa entre las muestras, teniendo un valor de P igual 0 y obteniendo 3 grupos: 1 formado para la muestra con sacarosa, otro por la muestra con edulcorante comercial y splenda y el último con la muestra de splenda y con stevia. El yogurt endulzado con sacarosa, siendo el dulzor que se quiere igualar, tuvo una intensidad con un valor de 7.57, mientras que la muestra con edulcorante comercial, con splenda y stevia tuvieron 6.40, 6.08 y 5.17 respectivamente. Teniendo estos valores, se podrá calcular la cantidad necesaria de cada edulcorante para poder llegar a un dulzor esperado y aceptado por los consumidores. Esto mismo se repitió evaluando el espesor de cada yogurt.

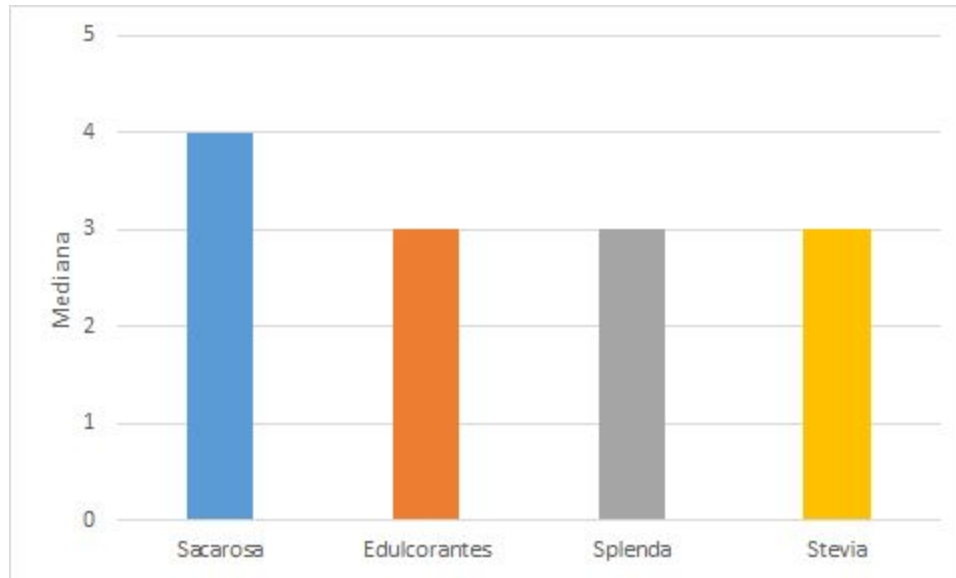


Figura 21. Medianas obtenidas para la prueba JAR evaluando el espesor de las 4 muestras de yogurt con sacarosa, edulcorante comercial, splenda y stevia pura, por 100 consumidores.

En la figura 21, se muestra las medianas de cada muestra de yogurt evaluando qué tan espeso esperaban el producto según los consumidores. Se obtuvo un comportamiento contrario al dulzor, ya que la muestra con sacarosa tuvo un valor de 4, es decir que su consistencia estuvo más espesa de lo que esperaban. Mientras que las otras 3 muestras tuvieron una mediana de 3, lo que significa que su espesor fue justo como los consumidores lo esperaban. En esta prueba se obtuvo un valor P igual a 0.007, es decir que existen diferencias significativas entre las muestras de yogurt, en el cual solamente la muestra con sacarosa y con stevia muestran esta diferencia.

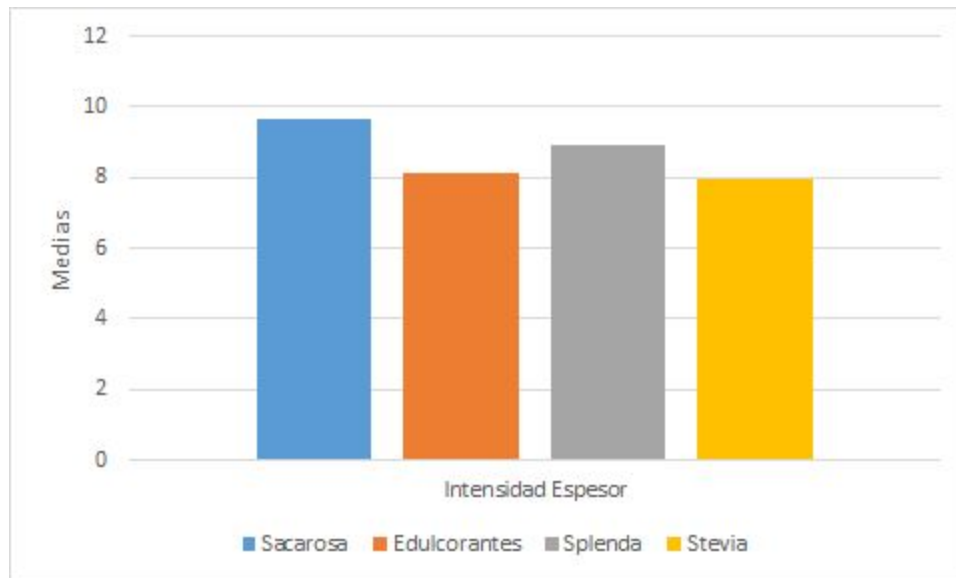


Figura 22. Intensidad de espesor para las 4 muestras de yogurt con sacarosa,edulcorante comercial, splenda y stevia pura obtenida de los 100 consumidores

En este caso, se quiere conservar el espesor de los yogures con edulcorantes diferentes a la sacarosa. Por lo que al determinar la intensidad de esta variable, se podrá obtener un rango en cual debe permanecer el producto. Se obtuvo que el yogurt endulzado con sacarosa tuvo un valor de intensidad de 9.66, mientras que el que contiene el edulcorante comercial tuvo 8.13, el de splenda 8.91 y por último, el que tiene stevia tuvo un calor de 7.95. Mientras que se determinó que existe diferencia significativa entre las muestras, donde las muestras con los tres edulcorantes diferentes a la sacarosa formaban un grupo. Por lo que, se puede considerar que un rango adecuado de espesor está entre el 7.95 y 8.91.

Con los resultados anteriores obtenidos, se puede seguir trabajando para realizar una formulación del yogurt, que genere un producto aceptable sensorialmente pero que cumpla con el requisito de ser bajo en calorías.

4. Reflexiones del alumno o alumnos sobre sus aprendizajes, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto

- Aprendizajes profesionales

Javiera I. Armijo Paredes:

Durante el proyecto tuve la posibilidad de poner en práctica todo lo que he aprendido a lo largo de la carrera ya que durante el desarrollo del alimento tuvimos que analizar qué tipo de producto es el que buscábamos desarrollar y para qué sector y así tener en cuenta las distintas necesidades nutricionales que se deben de tomar en cuenta para poder saciar esas necesidades, trabajar en equipo me ayudó a ampliar mis conocimientos para colaborar con distintas áreas, además de trabajar en equipo y ser siempre constante para lograr los objetivos. Todas estas oportunidades son importantes para desarrollar habilidades que servirán para futuros proyectos a futuro.

Michel Herrera Higareda:

Al colaborar en este proyecto fue necesario poner en prácticas los conocimientos adquiridos durante el transcurso de la carrera, así como estar en un constante aprendizaje sobre nuevas técnicas y temas relacionados al proyecto. Parte de los conocimientos que se han puesto en práctica son técnicas microbiológicas y desarrollo de cinéticas, así como el aprendizaje del funcionamiento de nuevos equipos. Además, ser parte de este proyecto me ha presentado la oportunidad para aprender a desarrollar documentos científicos.

Al ser parte de un proyecto de investigación, puedes darte cuenta de que es un campo que podría explotarse mucho más, pero que hay muy pocas personas interesadas en hacerlo, y parte de esto es por la falta de apoyo que hay por parte de instituciones y del gobierno.

Ana Patricia Lomelí Zavala:

Durante este proyecto pude reforzar los conocimientos adquiridos en semestres anteriores, sobre todo dentro del área de microbiología, ya que tuve que volver a aplicar distintas técnicas y métodos, como fue desde la preparación de materiales, hasta técnicas de sembrado. También aprendí a usar diferentes equipos útiles que ayudan a determinar distintas características fisicoquímicas de alimentos. Pero, sobre todo considero que aprendí a investigar y dirigir el proyecto hacia un mercado en específico, asegurando que guste y se vaya consumir. Además de que pueda ayudar a resolver un problema social. También aprendí que es importante tener en cuenta la parte nutricional al momento de desarrollar un alimento. Pues muchas veces al tratar de resolver un problema en cuanto a las características físicas y sensoriales del alimento, se vuelve un producto poco saludable o ya no tan llamativo para los consumidores. Por lo que se tuvo que estar adaptando el proyecto, para que realmente cumpliera con esta parte y además se enfocará.

- Aprendizajes sociales

El consumo de probióticos y prebióticos tiene como objetivo dar un beneficio a la salud de quien los consume, razón por la cual este proyecto busca encontrar la mejor formulación del suplemento alimenticio que se está desarrollando.

La carrera de *Nutrición y Ciencia de los Alimentos* está llevando a cabo un estudio con un grupo de personas previamente seleccionadas, a las cuales se les está suministrando el suplemento desarrollado por parte de *Ingeniería de Alimentos*, con el fin de comprobar el beneficio a la salud que este aporta.

- Aprendizajes éticos

Javiera I. Armijo Paredes:

Está problemática me ayudó a incorporar todos los conocimientos de nutrición los cuales son desde que alimentos vas a crear para solucionar el problema ya que debes de pensar en la población que lo va a consumir, sus gustos, su estilo de vida y el problema a nivel metabólico que se desarrolla y así poder decidir cual es la mejor opción para brindarles a aquellas personas, algunas de las decisiones que tomamos durante el proceso fueron que alimento y el porqué, más después se nos cruzaron otro tipo de preguntas como qué tipo de edulcorantes incorporaremos en el alimento, lo cual me llevó a realizar investigaciones para poder escoger aquel que sea el más adecuado, este tipo de trabajos me ayuda a ser más consciente y observadora con todo aquello que se va a realizar para generar buenos proyectos a futuro.

Michel Herrera Higareda:

Si bien, esta parte del proyecto está enfocada en el desarrollo y formulación de un alimento funcional y el análisis de viabilidad de los microorganismos que contiene, muchas veces dejamos de lado los aspectos bioéticos, queremos solo darle importancia a desarrollar un alimento que le guste a las personas pero también tenemos que cuidar que este sea un alimento saludable.

Considero que los proyectos de investigación se encuentran en un área que se puede explotar aún más y que con ello se puede ayudar a muchas personas .

Ana Patricia Lomelí Zavala:

Muchas de las decisiones tomadas eran respecto a resolver problemas que iban surgiendo durante la elaboración del alimento. Sobre qué pruebas se tenían que realizar para determinar y lograr la estabilidad de los microorganismos probióticos en el alimento. Muchas de estas decisiones ayudaron a poder ir cumpliendo los

objetivos de este proyecto. Sin embargo, considero que hizo falta realizar más pruebas e investigar más, para poder tener el alimento desarrollado completamente.

Creo que trabajar en esta área de investigación, me ayudó a tener una idea sobre todo el trabajo y compromiso que se debe realizar. Además de que puedo decir que es un área que me gusta mucho y que me gustaría seguir trabajando. Ya que implica aplicar distintos conocimientos, de varias ramas de la carrera.

- Aprendizajes en lo personal

Javiera I. Armijo Paredes:

El participar en este proyecto me ayudo mucho ya que tuve la oportunidad de participar en otra área completamente diferente a la que me he enfocado durante la carrera de nutrición, aprendí a trabajar con compañeros de otras carreras y ver otros puntos de vista para solucionar la problemática, además he aprendido a manejar diferentes equipos que se encontraban en el laboratorio. Considero que me ayudó a tener una visión muy diferente y más realista de lo que es el desarrollo de un producto con lo cual aprendí que no siempre las cosas saldrán bien a la primera sino que debes de intentarlo hasta que lo logres y no rendirte durante el proceso. Creo que nuestro desempeño como equipo fue bastante bueno ya que nos apoyamos para poder lograr los objetivos del proyecto y compartir todas nuestras ideas y conocimientos para lograr obtener el producto final el cual fue un yogurt lo que me pareció una excelente idea ya que es un producto apto para toda la población y también es accesible lo cual conlleva a que sea una buena idea su desarrollo. Este proyecto me será muy útil a futuro ya que me enseñó a trabajar en conjunto con otras carreras y así ver diversas caras de la problemática y las soluciones sin encerrarse solo en una, además me interesa mucho el área de creación de nuevos alimentos por lo que el proyecto ya me brindó conocimientos que podré aplicar en el futuro.

Michel Herrera Higareda:

Antes de participar en este proyecto no había contemplado la posibilidad de dedicarme al área de investigación, a pesar de que ya había participado en proyectos que requerían de esta área, pero ahora es algo que contempló dentro de mis posibilidades laborales. Trabajar en este proyecto me ha gustado mucho y creo que me ha ayudado a tener un mejor desempeño en mi desarrollo profesional y personal.

Además, al participar en este proyecto tuve la oportunidad de seguir desarrollando aptitudes de trabajo en equipo, contrario al semestre pasado que no contaba con uno, así como el poder apoyar y compartir conocimientos con compañeros de otros semestres y carreras.

Ana Patricia Lomelí Zavala:

Considero que trabajar en este proyecto me ayudó mucho a aprender organizar mis tiempo y crear un plan de trabajo para poder dar seguimiento y cumplir con los objetivos propuestos. También me ayudó a expandir mis conocimientos y ser autodidacta, realizando actividades que no había hecho con anterioridad y que no conocía, por lo que tuve que aprender por mi cuenta. Algo también importante, es que considero que me ayudó a trabajar en equipo, pues no solo tenía que organizar mis horarios, sino que era importante llegar a un acuerdo con el equipo. Esto también ocurría al momento de tomar decisiones.

También me ayudó a enfocar y crear un plan de trabajo que ayude a resolver la problemática propuesta. Sin salirnos de ese camino, para cumplir con el objetivo propio del proyecto. Trabajar en el área de investigación y desarrollo de productos me gusto, porque considero que es muy completa y que se necesita aplicar varios conocimientos. Por lo que me permite reafirmar y reforzar todo lo aprendido durante la carrera.

5. Conclusiones

Se cumplió con los objetivos del proyecto al producir y suministrar las cápsulas con *Lactobacillus plantarum* y extracto de té verde al departamento de nutrición, para que ellos a su vez las proporcionarán a los pacientes que participaban en el programa. Para esto se realizó el encapsulamiento de los probióticos, que es una técnica útil que permite la sobrevivencia de estos por un mayor tiempo. Asimismo, se caracterizó y determinó la viabilidad de las cápsulas elaboradas, y midió viabilidad en unidad experimental.

Por último, se formuló un alimento tipo postre: pudín de chía base yogurt, y se caracterizó de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas. Se utilizó un producto lácteo, ya que estos se consideran los mejores para la adición de probióticos. Se realizaron pruebas sensoriales a consumidores para determinar si el pudín desarrollado era de agrado general y se evaluaron las variables obtenidas, ya que la adición de estas cápsulas puede causar efectos negativos sensorialmente, sobre todo en la textura. Es por eso que se busca que al mezclarlos con la chía se oculten o que su adición no sea notoria. Se buscó que la matriz alimenticia elaborada debe permitir la conservación de las cápsulas de probióticos y las puede proteger según las condiciones del medio.

Son varios factores importantes a tomar en cuenta durante el diseño de una matriz alimenticia para crear un alimento funcional, que pueda ser almacenado y que cumpla con la recomendación de ingesta diaria de probióticos durante su consumo.

6. Bibliografía

- Martínez-Cuesta, M.C., Peláez, C. & Requena, T. (2012). Probióticos en la salud humana. Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, Madrid. Disponible en pdf: http://www.sepy.es/pdf/probioticos_y_Salud_humana_sepy2012.pdf
- Buts, Jean-Paul. (2005). Ejemplo de un medicamento probiótico: *Saccharomyces boulardii* liofilizada. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 25(2), 176-188. Recuperado en 14 de febrero de 2018, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292005000200007&lng=es&tling=es
- Li, S., Gong, G., Ma, C., Liu, Z., & Cai, J. (2016). Study on the Influence of Tea Extract on Probiotics in Skim Milk: From Probiotics Propagation to Metabolite. *Journal of Food Science*, 81(8), M1981–M1986. <http://doi.org/10.1111/1750-3841.13383>
- Reig, A. D. L. C., & Anesto, J. (2008). Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment Nutr*, 16(1), 63–68. Recuperado de: http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_1_02/ali10102.htm
- Scott, K. (2016). Prebiotics. ISAPP. Consultado el 30 de Abril de 2018. Disponible en línea: <https://isappscience.org/prebiotics/>
- WGO. (2011). Probióticos y prebióticos. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos. Disponible en pdf: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-spanish-2011.pdf>
- Bosch Gallego, M. B., Espadaler Mazo, J., Méndez Sánchez, M., Pérez Carre, M., Farrán Codina, A., Audivert Brugué, S., ... Cuñé Castellana, J. (2011). El consumo del probiótico *Lactobacillus plantarum* CECT 7315/7316 mejora el estado de salud

- general en personas de edad avanzada. *Nutrición Hospitalaria*, 26(3), 642–645.
<https://doi.org/10.3305/nh.2011.26.3.5230>
- Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D. (2017). *Lactobacillus plantarum* and Its Probiotic and Food Potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(2), 111–122. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9264-z>
- Segers, M. E., & Lebeer, S. (2014). Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG - host interactions. *Microbial Cell Factories*, 13(Suppl 1), S7.
<http://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S7>
- Buts, Jean-Paul. (2005). Ejemplo de un medicamento probiótico: *Saccharomyces boulardii* liofilizada. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 25(2), 176-188. Recuperado en 05 de mayo de 2018, de
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292005000200007&lng=es&tlng=es.
- Kelesidis, T., & Pothoulakis, C. (2012). Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 5(2), 111–125.
<http://doi.org/10.1177/1756283X11428502>
- A., P. H. R. (2013). Efecto del té verde (*Camellia sinensis* L .) en las características fisicoquímicas , microbiológicas , proximales y sensoriales de yogurt durante el almacenamiento bajo refrigeración, 11(1692–7125), 56–64.
- De Almeida G, Batista P, L. Pereira C, Scartezini M, Von Der Heyde R, Murílo G, & Fabrício De Melo S. (2009). Prospective Double-Blind Crossover Study of *Camellia Sinensis* (Green Tea) in Dyslipidemias. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 93(2), 125–131.
<https://doi.org/10.1590/S0066-782X2009000800010>

- Francisco J. Tinahores (2017). La importancia de la microbiota en la obesidad. *Revista Española Endocrinología Pediátrica*. Recuperado el 23 de noviembre de 2018 de <http://www.endocrinologiapediatrica.org/revistas/P1-E22/P1-E22-S1079-A394.pdf>
- Piña, L., Rodríguez, N., Gómez, C., Reyes, M. (2015). Papel de la microbiota intestinal en la obesidad empleo de probióticos y prebióticos. *Entre textos*. Recuperado el 23 de noviembre de 2018 de <http://entretextos.leon.uia.mx/num/21/PDF/ENT21-3.pdf>
- NEWSWEEK.(2018)Obesidad en Jalisco, gran reto para la salud pública. Recuperado el 23 de noviembre de 2018 de <https://newsweekespanol.com/2018/10/obesidad-en-jalisco-gran-reto-para-la-salud-publica/>
- Prados, A., Gómez, S., Nova, E., Ascensión, M., El papel de los probióticos en el manejo de la obesidad. *Nutrición Hospitalaria*. Recuperado el 23 de noviembre de 2018 de <http://www.aulamedica.es/nh/pdf/8702.pdf>
- ENSANUT. (2012) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, resultados por entidad federativa. Recuperado el 23 de noviembre de 2018 de <https://ensanut.insp.mx/informes/Jalisco-OCT.pdf>
- Carrillo, C., Gutiérrez, M., Muro, M., Martínez. R., Torres, O,. (2017). La chía como súper alimento y sus beneficios en la salud de la piel. *Medigraphic*. Recuperado el 23 de noviembre de 2018 de <http://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2017/rr171c.pdf>
- RIVERA, J., VELASCO, A., AGUILAR C., VADILLO, f,. (2013). Obesidad en México. Recuperado el 30 de noviembre del 2018 de <https://www.anmm.org.mx/publicaciones/Obesidad/obesidad.pdf>
- Acevedo, D., Rodríguez, A., Fernández, A. (2010). Efecto de las Variable de proceso sobre la cinética de acidificación, la viabilidad y la sinéresis del suero Costeño Colombiano. Universidad de Cartagena. Colombia. Scielo. Recuperado en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642010000200005

- Beserra, L., Ramires, L., do Padro, J., Franco, R., Sloboda, M. (2016). Viability os probiotic microorganism *Lactobacillus acidophilus* in dairy chocolate dessert and its action foodborne pathogens. Universidad Federal Fluminense. Brasil
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotics living cells: from laboratory scale to industrial applications. Nancy University. Francia.
- Castillo, S., Alvarado, J., Baez, J., Macías, E., Ramírez, P., Candelas, M., Gallardo, C. (2017). Diseño de microcápsulas de alginato con matriz prebiótica de aloe vera para la encapsulación de *Lactobacillus plantarum*. Universidad Juárez del Estado de Durango. Universidad Autónoma de Nuevo León. México.
- Ching. S., Bansal, N., Bhandari, B. (2017). Alginate gel particles: a review of production techniques and physical properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition.
- Cuizano, N., Llanos, B., Chang, L., Navarro, A. (2007). Equilibrio ácido-base de algas marinas del litoral peruano elucida su alta afinidad por contaminantes ambientales. Revista de la Sociedad Química del Perú. Redalyc. Perú. Recuperado en: <http://www.redalyc.org/pdf/3719/371937605003.pdf>
- De Arúajo, M., Smanioto, J., Cichoski, A., Lopes, E., Wagner, R., Martins, L., Ragagnin, C. (2015). Microencapsulation of probiotcis using sodium alginate. Universidad Federal de Santa María. Brasil.
- De los Reyes, G., Molina, B., Coca, R. (2010). Calidad de la leche cruda. Veracruz. Recuperado en: https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf

FAO. Probióticos en los alimentos: propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Recuperado en: <http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf>

Fuangpaiboon, N., Kijroongrojana, K. (2015). Qualities and sensory characteristics of coconut milk ice cream containing different low glycemic index (GI) sweetener blends. Prince of Songkla University. Thailand.

González, M., Álvarez, S., Riera, F., Álvarez, R. (2007). Lactc acid recovery from whey ultrafiltrate fermentation broths and artificial solutions by nanofiltration. University of Oviedo. Spain.

Guarner, F., Khan, A., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., Krabshuis, J., Lemair, T. (2011). Probióticos y prebióticos. Organización Mundial de Gastroenterología. Recuperado en: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-spanish-2011.pdf>

Hernández, A., Guerra, Y., Pedroso, Y., Pérez, H. (2014). Desarrollo de un helado de leche con cultivos probióticos. Universidad de la Habana. Cuba. Scielo. Recuperado en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852014000100009

Hernández, M., Torruco, J., Chel, L., Betancur, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. Universidad Autónoma de Yucatán. Scielo. Recuperado en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612008000300031

Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H. (2002). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. University of Queensland. Australia.

Kuo, C., Ma, P. (2001). Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. Biomaterials.

- Martínez, O., Román, M., Gutiérrez, E., Medina, G., Cadavid, M., Flórez, O. (2008). Desarrollo y evaluación de un postre lácteo con fibra de naranja. Revista de la facultad de química farmacéutica. Universidad de Antioquia. Colombia.
- Mojica, L. (2013). Proceso de elaboración de un postre de arroz con leche instantáneo. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- NMX-F-102-S-1978. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE EN PRODUCTOS ELABORADOS A PARTIR DE FRUTAS Y HORTALIZAS. NORMA MEXICANA. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.
- NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Parrilla, P., Landa, J. (2009). Cirugía AEC: Asociación Española de Cirujanos. (2ª edición). España: Editorial Medica Panamericana.
- Possemiers, S., Marzorati, M., Vertraete, W. & Van de Wiele, T. (2010). Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. International Journal of Food Microbiology.
- Ramírez, J., Ulloa, P., Velázquez, M., Ulloa, J., Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Universidad Autónoma de Nayarit. México. Recuperado en: <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf>
- Ramos, G., Hernández, L., Fernández, S., Froto, M., Vázquez, L. (2012). Estrategias para mejorar la sobrevivencia de probióticos en helados. Universidad Autónoma de Coahuila. México.

- Rivera, L., Giraldo, G., Agudelo, L. (2017). Efecto de dos cultivos probióticos en la elaboración de yogurt a partir de leche en polvo reconstituida. Universidad del Quindío. Colombia.
- Rodríguez, Y., Rojas, A., Rodríguez, S. (2016). Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias. Universidad Nacional de Colombia. Colombia.
- Sastre, A., Sastre, R., Tortuero, F., Suárez, G., Vergara, G., López, C. (2002). Lecciones sobre el huevo. (1ª edición). Instituto de Estudios del Huevo. Madrid.
- Serna, L., Angulo, J, Ayala, A. (2014). Barras de cereal como matriz sólida para la incorporación de microorganismos probióticos. Universidad de Valle. Colombia
- Sheu, T., Marshall, R. (1993). Microentrapment of Lactobacilli in Calcium Alginate Gels. Institute of Food Technologist. Journal of Food Science.
- Tobar, R., Campos, C., Cancino, V., Diez de Medina, M., Fierro, N. (2016). Dominio del fonaudiólogo para la determinación del grado de viscosidad de alimentos líquidos. Universidad de Chile. Revista Chilena de Fonoaudiología. Chile
- Vinderola, G. (2014). Bacterias probióticas en productos lácteos fermentados. Instituto de Lactología Industrial. Argentina.
- Zuñiga, G. (2017). Desarrollo de un helado funcional con adición de prebióticos y bacterias probióticas. Universidad del Azuay. Recuperado en: <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/6736/1/12732.pdf>
- Tosco, G. (2016). “LOS BENEFICIOS DE LA CHÍA EN HUMANOS Y ANIMALES”. Chile. Recuperado en: <http://beneficios-del.com/wp-content/uploads/2016/06/CHIA-Estudio-Giovanni-Toscob-cB.pdf>

- Carrillo, C., Gutiérrez. M., Muro, M., Martínez, R., Torres., O. (2017) La chía como súper alimento y sus beneficios en la salud de la piel. Medigraphic. Recuperado en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2017/rr171c.pdf>
- Wurth, D. (2017). Lácteos fermentados: defectos y causas. Disponible en: <http://proleche.com/wp-content/uploads/2017/10/Charla20.pdf>
- Bazán, C. (2010). Desarrollo y evaluación de un yogur firme utilizando tres edulcorantes no calóricos y dos porcentajes de mango. Honduras. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/231/1/AGI-2010-T010.pdf>
- Lignia, J., Guzmán, F., Vayas, E., Bonifaz, V. (2018). Niveles de agave americana (sirope de agave) como edulcorante natural para la elaboración de yogurt de glycine max (soya). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. Disponible en: <https://www.eumed.net/rev/caribe/2018/04/agave-edulcorante-yogurt.html>
- López, E. (2009). Evaluación de la utilización de stevia en yogurt. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/2426/1/107394.2010.pdf>
- Parra, R., Medina, O. (2012). Sobrevivencia y encapsulación de bacterias y su efecto en las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y microbiológicas del yogurt. Universidad pedagógica y tecnológica de Colombia. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914022.pdf>
- Reyes, C., Ramírez, M., Veléz, J., (2015). Propiedades fisicoquímicas y de flujo de un yogur asentado enriquecido con microcápsulas que contiene ácidos grasos Omega 3. Universidad de las Américas. México. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v26n5/art12.pdf>
- Izadi, Z., Nasipour, A., Ghasemalia, A., Tamjidi, F. (2014). Rheological and physical properties of yogurt enriched with phytosterol during storage. J Food Sci Tecnol.

Bajpai, S., Sharma, S. (2004). Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca^{2+} and Ba^{2+} ions. Government Autonomous Science College.

Xingú, A., González, A., de la Cruz, E., Sangerman, K., Orozco, G., Rubí, M. (2017). Chía (Salvia hispanica L.) situación actual y tendencias futuras. Revista mexicana de Ciencias Agrícolas. México. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/2631/263153520010.pdf>

NOM-181-SCFI-2010 Yogurt-denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. DOF. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5167303&fecha=16/11/2010

Vera, M. (2011). Elaboración y aplicación gastronómica del yogurt.

Babio, N., Mena, G., Salas, J. (2017) Más allá del valor nutricional del yogur: ¿un indicador de la calidad de la dieta?. *Nutrición Hospitalari*. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3092/309253480006.pdf>

Anexos (en caso de ser necesarios)

- Diseño de experimentos: viabilidad en unidad experimental

Factor	Unidades	Tipo	Mínimo	Máximo
Extracto de té verde	% v/v	Numérico	2.0	20.0
Glucosa	g/L	Numérico	20.0	100.0
Inóculo	% v/v	Numérico	0.1	10.0
Harina de trigo	% p/v	Numérico	0.1	1.0
Microorganismo		Categórico	<i>L. plantarum</i>	<i>L. rhamnosus</i>

- Preparación de material

1. Caldo MRS

- 55 g por litro de medio a preparar
- Suspender cantidad de medio a preparar en matraz Erlenmeyer con agua destilada
- Calentar con agitación frecuente hasta llegar a ebullición
- Trasvasar a frasco Schott
- Esterilizar el mismo día de preparación

2. Agar MRS

- 70 g por litro de medio a preparar
- Suspender cantidad de medio a preparar en matraz Erlenmeyer con agua destilada
- Calentar con agitación frecuente hasta llegar a ebullición
- Trasvasar a frasco Schott
- Esterilizar el mismo día de preparación

3. Extracto de té verde

- 6 g por litro

- b. Calentar agua destilada con agitación frecuente hasta llegar a ebullición y agregar té
 - c. Dejar infusionar 3 min
 - d. Trasvasar a frasco Schott
 - e. Esterilizar el mismo día de preparación
- 4. Solución de glucosa
 - a. 50 g por 100 mL
 - b. Suspender glucosa en agua destilada
 - c. Agitar hasta completa disolución
 - d. Filtrar por medio de un filtro millipore y recolectar en tubo/frasco estéril
- 5. Solución salina con peptona
 - a. Peptona de caseína al 1 %
 - b. NaCl al 0.85 %
 - c. Esterilizar el mismo día de preparación
- 6. Esterilización de material con autoclave
 - a. Agregar agua destilada hasta nivel de base interior
 - b. Colocar material a esterilizar dentro de autoclave y cerrar
 - c. Colocar pesa en válvula cuando ésta comience a liberar vapor
 - d. Encender tres mecheros y dejar que la presión suba a 15 psi
 - e. Transcurridos 15 min, apagar mecheros
 - f. Dejar enfriar y retirar material