

**APLICACIÓN DE UN PROBIÓTICO (*LACTOBACILLUS REUTERI* ATCC 53608)
MICROENCAPSULADO EN UNA BEBIDA TIPO SORBETE A BASE DE PULPA DE
FRUTA (BANANO Y MANGO) COMO ALIMENTO FUNCIONAL Y SU APLICACIÓN
EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

**APPLICATION OF A PROBIOTIC (*LACTOBACILLUS REUTERI* ATCC 53608)
MICROENCAPSULATED IN A FRUIT PULP (BANANA AND MANGO) SORBET
DRINK AS A FUNCTIONAL FOOD AND ITS APPLICATION IN THE FOOD
INDUSTRY**

Henry Jurado-Gómez^{1*}
Jhon Fredy Ceron-Cordoba²
Juan Carlos Bolaños-Bolaños³

Resumen

Los probióticos son microorganismos que al ser administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios al consumidor, son usados en la fermentación de productos lácteos y en diversas matrices alimenticias, sin embargo, factores gastrointestinales, procesos y almacenamiento ponen en riesgo la eficiencia del microorganismo. En este orden de ideas, la microencapsulación es una herramienta que permite proteger y garantizar la estabilidad del probiótico para su posterior aplicación en la industria alimentaria, farmacéutica o salud intestinal. De esta manera, se propone la aplicación de un probiótico (*Lactobacillus reuteri* ATCC 53608) microencapsulado a una bebida a base de pulpa de fruta como propuesta de un alimento funcional, para lo cual, se lleva a cabo la reconstitución y siembra de *L. reuteri*, mediante el ajuste de inóculo y la escala de McFarland se ajustó la UFC/mL para microencapsular por el método de secado por aspersión con adición de inulina y maltodextrina (5 % p/v). Después de almacenar 50 días, se caracterizó estructura, dimensión y morfología mediante microscopía electrónica de barrido, acto seguido se desarrollaron pruebas para establecer, efectividad, viabilidad y se realizaron pruebas físicas para establecer: Solubilidad, humectabilidad, actividad de agua (Aw) y humedad. Luego se estableció un modelo gastrointestinal simulado continuo para evaluar las UFC/mL. Finalmente se formuló un alimento con inclusión del probiótico microencapsulado y se analizó sus características organolépticas mediante una encuesta.

Palabras clave: probióticos, alimento funcional, microencapsulación, industria alimentaria, empresa.

Abstract

Probiotics are microorganisms that when administered in adequate amounts confer benefits to the consumer, they are used in the fermentation of dairy products and in various food matrices, however, gastrointestinal factors, processes and storage put the efficiency of the microorganism at

Recepción: 10 agosto de 2021 /Evaluación: 05 octubre de 2021 / Aprobado: 12 noviembre de 2021

¹Zoot, Esp, M.Sc, Ph.D, Director Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS, Profesor Titular de Tiempo Completo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia, Universidad de Nariño, ORCID: [0000-0003-2118-7997](https://orcid.org/0000-0003-2118-7997), e-mail: henryjugam@gmail.com

²Estudiante de Zootecnia, Investigador Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño, ORCID: [0000-0003-4160-5797](https://orcid.org/0000-0003-4160-5797), e-mail: jhonerycer@gmail.com

³Estudiante de Zootecnia, Investigador Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño, ORCID: [0000-0002-2977-2317](https://orcid.org/0000-0002-2977-2317), e-mail: bjuanCarlos549@gmail.com

*Autor de correspondencia: henryjugam@gmail.com

risk. In this order of ideas, microencapsulation is a tool that protects and guarantees the stability of the probiotic for its subsequent application in the food, pharmaceutical or intestinal health industries. In this way, the application of a microencapsulated probiotic (*Lactobacillus reuteri* ATCC 53608) to a fruit pulp-based drink is proposed as a functional food proposal, for which, the reconstitution and sowing of *L. reuteri* is carried out. By adjusting the inoculum and the McFarland extraction, the UFC / mL was adjusted to microencapsulate by the spray drying method with the addition of inulin and maltodextrin (5% w / v). After storing 50 days, structure, dimension and morphology were characterized by means of scanning electron microscopy, act followed by tests to establish, effectiveness, viability and physical tests were carried out to establish: Solubility, wettability, water activity (A_w) and humidity. A continuous simulated gastrointestinal model was then established to evaluate UFC/mL. Finally, a food was formulated with the inclusion of the microencapsulated probiotic and its organoleptic characteristics were analyzed by means of a survey.

Keywords: probiotics, functional food, microencapsulation, food industry, company.

Introducción

Hill et al. (2014), define probióticos como microorganismos que al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del consumidor, por otra parte, El-Enshasy y Yang (2021), mencionan que los probióticos son ampliamente usados en la industria lechera para la producción de alimentos fermentados y en otras matrices alimentarias, como jugos de frutas, cárnicos y embutidos. De esta forma, la tecnología alimentaria ha desarrollado un carácter dinámico en la importancia de la dieta para salud y el bienestar de las personas y animales, además, ha identificado alimentos específicos que desempeñan un papel clave en el apoyo al estado de salud, la correlación entre la nutrición, la calidad sensorial y la modulación del sistema fisiológico de los consumidores. En este sentido, han aumentado nuevos alimentos, entre ellos los alimentos funcionales, incluidos probióticos, prebióticos y simbióticos, que se han introducido y convertido en un componente importante del comercio. (El-Enshasy & Yang, 2021; Tufarelli & Laudadio, 2016).

Sin embargo, diversas condiciones adversas como la acidez, el oxígeno y los entornos gástricos (enzimas, sales biliares y pH), en humanos y animales pueden afectar la viabilidad del probiótico. En consecuencia, la microencapsulación promueve el concepto de una barrera física que ofrece protección al probiótico y su entrega segura al objetivo, para lo cual, la adición de prebióticos (compuestos no digeribles, presentes en la dieta, que estimulan el crecimiento o la actividad de los microorganismos) como inulina y maltodextrina al proceso, mejora la vida útil del probiótico microencapsulado. (El-Enshasy & Yang, 2021; Rai & Bai, 2014).

Los alimentos funcionales, son de vital importancia para la salud intestinal de las personas y/o animales que los consuman. Por lo tanto, la elaboración de estos alimentos incluyendo microorganismos GRAS (Generalmente Reconocidos Como Seguros), como por ejemplo *Lactobacillus reuteri* y otras especies de *Lactobacillus* adquieren cada día más importancia y demanda en procura de una mejor salud a nivel intestinal y con ello asegurar una eubiosis adecuada, y de esta manera, permitir que los hábitos alimenticios de las personas y/o animales sean cada día más saludables. En este sentido, la industria de los alimentos a nivel mundial ha venido incursionando con mayor fuerza en el diseño de este tipo de alimentos funcionales; Colombia no ha sido ajeno a esta dinámica, sin embargo, este proceso ha sido muy lento y con un a escasa difusión en los últimos años. En el caso de Nariño y su capital San Juan de Pasto y dadas las características agropecuarias, este tipo de alternativas de elaboración de alimentos funcionales con

L. reuteri microencapsulado en matrices como mango, banano y otras que se puedan incluir sería una alternativa valiosa e importante que contribuiría al desarrollo de la industria de los alimentos y de la región en general.

Nariño es reconocido como cuenca lechera con un acopio departamental para el año 2020 de 136.253.147 litros, donde alrededor de 300000 familias derivan su sustento. Los productores a nivel departamental se clasifican en grandes el 4 %, medianos el 12 % y pequeños el 84 % que en su mayoría se ubican en el municipio de Cumbal y Pasto con una producción menor o igual a 100 litros diarios característico del minifundio (Fabio et al., 2012), la producción de leche en Nariño se reduce al pequeño productor quien conforma y representa gran parte de la producción departamental.

El banano es uno de los productos agroalimenticios más representativos en la economía social, siendo Colombia el responsable de exportar el 9 % de la exportación mundial, el banano representa además un producto de consumo de importancia para los países en desarrollo, en conjunto con el café, el trigo, el arroz y el maíz, razón por la que su producción se considera de gran impacto económico, social y político representando un importante recurso de ingreso y empleo para muchos países exportadores, mayormente en Latinoamérica y el Caribe. (Hernandez Espinosa, 2009). Por otra parte, el consumo del mango en Colombia viene en constante crecimiento tanto nacional como internacional, el país ocupa el puesto 24 como productor del fruto y el puesto 39 como exportador del mismo. Actualmente, se cultiva en aproximadamente 19 departamentos concentrando la producción en el departamento del Tolima, Cundinamarca e incrementando plantaciones en Nariño. (Ramirez Garzon, 2020).

La inulina es un carbohidrato no digerible que está presente en muchos vegetales, frutas y cereales. En la actualidad, a nivel industrial se extrae de la raíz de la achicoria (*Cichorium intybus*) y se utiliza ampliamente en varias industrias y productos alimenticios y sus derivados como: espesante, emulsificante, gelificante, sustituto de azúcares y de grasas, humectante, depresor del punto de congelación. También se emplea en la industria de la alimentación animal y se ha evidenciado el efecto positivo en la salud intestinal. (Sanchez Hernandez, 2010). De igual forma, la maltodextrina se utiliza en la industria alimentaria y farmacéutica porque permite la unión de sabor y grasa, la reducción de la permeabilidad del oxígeno a la pared de la matriz y la viscosidad aparente de un fluido. (Melo Sabogal et al., 2015).

Para América latina, en 2020, los suplementos probióticos a base de bacterias representaron cerca del 92 por ciento del mercado total de suplementos probióticos. Para 2027, se pronostica que esta participación aumentará en un 1,5 por ciento. Ese año, el valor de mercado del segmento se estimó en 105 millones de dólares estadounidenses. En comparación, el valor de mercado de los suplementos a base de levadura se pronosticó en 7,7 millones de dólares en 2027. De igual forma, los suplementos probióticos utilizados para la salud gastrointestinal representaron más del 60 por ciento del valor de mercado de los suplementos probióticos en América Latina. Otro segmento importante fue el de los probióticos utilizados para la salud inmunológica. Para 2027, se pronosticó que solo esos dos segmentos ascenderían a 93,5 millones de dólares estadounidenses, de los 112,9 millones de dólares estimados para el mercado de suplementos probióticos ese año. (*Probiotic Supplements: Market Value by Application Latin America 2027 | Statista*, n.d.)

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo de investigación con relación en la industria de alimentos fue aplicar un probiótico (*Lactobacillus reuteri* ATCC 53608) microencapsulado en una

bebida tipo sorbete a base de pulpa de fruta (banano y mango) como propuesta para el diseño de un alimento funcional y su aplicación en la industria alimentaria.

Metodología

Ubicación. La investigación se realizó en laboratorios del grupo de investigación PROBIOTEC-FORAPIS de la Universidad de Nariño ubicados en el Municipio de Pasto, Departamento de Nariño (Colombia), con una temperatura promedio de 14 °C, a 2540 msnm, 1084 mm de precipitación anual promedio y 76 % de humedad relativa.

Reconstitución, siembra y ajuste de inóculo. Se usó la cepa *Lactobacillus reuteri* ATCC 53608. La reconstitución de la cepa se efectuó de acuerdo con las instrucciones del fabricante y su conservación se realizó mediante repiques en caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe – Scharlau) y agar MRS cada 8 días. Para ajustar el inóculo de *L. reuteri* se inoculó la cepa en 40 mL de caldo MRS por 24 h, luego, se tomaron 4 mL y se depositaron en otros 40 mL de caldo MRS y se llevó a incubación por 24 h en condiciones de aerobiosis en incubadora MEMMERT In 55 Single Display. A continuación, se tomaron 10 mL del caldo y se transfirieron a 90 mL de caldo MRS para una nueva incubación; terminada la incubación se agregó 1 mL del preparado, se diluyó con 9 mL de agua peptonada y se realizó lectura mediante espectrofotometría (550 nm) en espectrofotómetro GENESYS 10S UV-VIS.

Microencapsulación de *L. reuteri* mediante secado por aspersión. De acuerdo a la metodología descrita por Rodríguez et al (2016), se preparó para *L. reuteri* un inóculo de 500 mL al 5 %p/v (25 g de Maltodextrina y 25 g de Inulina en 450 mL de Inoculo bacteriano) en relación 1:1 p/p, los cuales fueron agitados hasta homogenizar. Se utilizó el equipo de secado por aspersión Secador Spray Bilon 6000s®, con una temperatura de entrada de 170°C y una temperatura de salida en un rango de 65 – 67 °C, con ciclo completo de 4 horas. El material microencapsulado se empacó en recipientes metálicos esterilizados oscuros y se almacenaron a temperatura ambiente (20±2 °C).

Caracterización estructural, morfología y tamaño de las microcápsulas. La morfología y tamaño de las microcápsulas fueron determinadas mediante un microscopio electrónico de barrido FEG (Field Emission Gun) QUANTA 650 FEG. Para esta determinación las muestras se enviaron al Centro de Microscopia y Universidad Nacional sede Medellín.

Estudio de Supervivencia y estabilidad de *L. reuteri* microencapsulado. Para evaluar el efecto de los materiales microencapsulantes (Maltodextrina e Inulina) sobre la viabilidad de *L. reuteri* microencapsulado se siguió lo establecido en la metodología de Rodríguez et al, (2016) donde el número de células viables fue determinado antes y después de la microencapsulación después de un periodo de 50 días de haberse almacenado a 20±2 °C. Se emplearon como criterios de estabilidad: la Viabilidad de la BAL durante el almacenamiento (mayor a 10⁸ UFC/g) y eficiencia de microencapsulación.

Viabilidad. De acuerdo a lo propuesto por Rodríguez et al, (2016) se realizó el recuento de células viables sobre 1 g de material encapsulado, rehidratado a temperatura ambiente en 9 mL de agua de peptona tamponada al 0,1 % p/v (pH 7,2±2) homogeneizado en vórtex SCILOGEX MX-S y se dejó reposar durante 30 minutos para favorecer la liberación del microorganismo. Se inoculó 150 µL de la dilución preparada en agar MRS con azul de anilina y se llevó a incubación a 37°C por 48

horas en incubación. Los recuentos fueron realizados por duplicado y expresados como UFC/g en base seca, para cada condición experimental de acuerdo a Semniov et al (2010).

El porcentaje de viabilidad para cada muestra se calculó según la ecuación:

$$\% \text{ Viabilidad} = \left(\frac{N}{N_0} \right) \times 100$$

Donde, N_0 es el número de bacterias por mL de solución antes del proceso y N es el número de bacterias por mL de solución después de la etapa de secado

Eficiencia de la Microencapsulación de *Lactobacillus reuteri* ATCC 53608. Según lo descrito por Gonzales et al (2015), para evaluar la eficiencia de la microencapsulación, se tomó 2 g de material microencapsulado y se diluyeron en 18 mL de agua destilada y fueron centrifugadas a 5000 r.p.m. en una criocentrífuga HERMLE 2326K, por 15 minutos con el fin de separar las células libres de *L. reuteri*. Posteriormente, se determinó la concentración bacteriana en el sobrenadante y se calculó la eficiencia de encapsulación (%EE) con la siguiente fórmula:

$$\% EE = \left(\frac{A - B}{A} \right) \times 100$$

Donde A es la concentración bacteriana antes de la microencapsulación y B es la concentración de la bacteria después de microencapsular encontrada en el sobrenadante.

Caracterización física de *Lactobacillus reuteri* microencapsulado

Humedad. Para determinar la humedad se tomó 2 gramos de material microencapsulado y se analizó en el Determinador de Humedad KERN DBS 60-3 (Balingen – Germany) a una temperatura de 105 °C con una Resolución: 0,001 g. (0.01%). El resultado se expresará en porcentaje base seca (% bs).

Actividad de agua A_w . Para la actividad de agua se tomó 2 g de material microencapsulado y se determinó mediante lectura directa usando un Termohigrómetro Hygrolab Rotronic previamente calibrado. El % se expresará en porcentaje base seca (% bs).

Solubilidad. La solubilidad se obtuvo al disolver 1 g de muestra en 100 mL de agua destilada, ésta solución se mantuvo durante 5 minutos a una temperatura de 30±2°C en incubadora MEMMERT In 55 Single Display. La suspensión se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos en criocentrífuga HERMLE 2326K. Posteriormente se tomó una alícuota de 25 mL del líquido sobrenadante y se transfirió a una caja Petri previamente pesada; se llevó a una estufa (Memmert, Germany) a 105°C por 5 h o hasta que alcanzó peso constante. Los sólidos recuperados se pesaron después del secado (m_f) y se calculó el porcentaje de solubilidad con la diferencia de pesos mediante la ecuación.

$$\text{Solubilidad} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \times 100$$

Donde, m_i es 0,25 g (1 g/100 mL x 25 mL del líquido sobrenadante = 0,25 g).

Humectabilidad. El tiempo de humectación de *L. reuteri* ATCC microencapsulado fue determinado por el método de humectación estática Freudig et al (1999) modificada por Ceballos et al (2012) y Rodríguez et al, (2016) y adaptada por los autores: se pesó 1 g de microencapsulado que se colocó en una lámina portaobjetos previamente recubierta en su totalidad con papel aluminio, la lámina se ubicó sobre un beaker de 5 cm x 7 cm con 100 mL de agua destilada a 20°C. Posteriormente, se vertió suavemente el microencapsulado de la lámina en el beaker. El tiempo de

humectación expresado en minutos correspondió al tiempo que se tardó la inmersión completa de un 1 g muestra de microencapsulado depositado suavemente sobre 100 mL de agua a 20°C.

Exposición del microencapsulado de *L. reuteri* a condiciones gastrointestinales simuladas. De acuerdo a la metodología descrita por Cruz Pacheco et al. (2009), Cruz-Ramos (2015) y modificada por los autores: Se tomaron 2 g de microencapsulado y se adicionaron en 18 g de agua destilada, los cual fueron sometidos a actividad de lisozima (0,01 %), manteniéndose a 37°C por 5 minutos en agitación constate a 85 rpm en plancha de agitación MaXtir MSH500. Luego, se adicionó pepsina 3 %; NaCl 0,5 %; ajustando el pH a 2,0 con HCl 5M y se mantuvo a 37°C por 90 minutos en agitación constate a 60 rpm. Posteriormente, se agregó pancreatina 1 %; bilis 0,3 %; NaCl 0,5 %; ajustando el pH a 6,8 con NaOH 1.5 M y se mantuvo a 37°C por 150 minutos en agitación constate a 60 rpm. Para determinar la viabilidad bacteriana se inoculó 150µL con perlas de vidrio en cajas Petri con agar MRS y azul de anilina y se incubó a 37°C por 48 horas. Finalmente se realizó el recuento en placa donde fueron seleccionadas las cajas con conteos entre 30 y 300 UFC/mL.

Aplicación de un probiótico microencapsulado en una bebida tipo sorbete y su aplicación en la industria de alimentos. Para la aplicación del probiotico microencapsulado en la bebida tipo sorbete se utilizó leche de vaca ultrapasterizada (UHT), banano (*Musa x paradisiaca*) y mango (*Mangifera indica*). Las cantidades utilizadas y el costo se describen en la Tabla 1. El proceso para elaboración sorbete se describe en el flujograma correspondiente a la Figura 1.

Tabla 1. Formulación y costos para elaboración de sorbete con adición de probiotico microencapsulado.

Materia prima	g	% Inclusión	Costo mango	Costo banano
Mango y banano	180	30,04	\$ 327,00	\$ 360,00
Leche UHT	415	69,26	\$ 1.079,00	\$ 1.079,00
<i>L. reuteri</i> Microencapsulado	4,15	0,69	\$ 2.075,00	\$ 2.075,00
Total	599,15	100,00	\$ 3.481,00	\$ 3.514,00

Figura 1. Flujograma elaboración de sorbete con adición de probiótico *Lactobacillus reuteri* ATCC microencapsulado



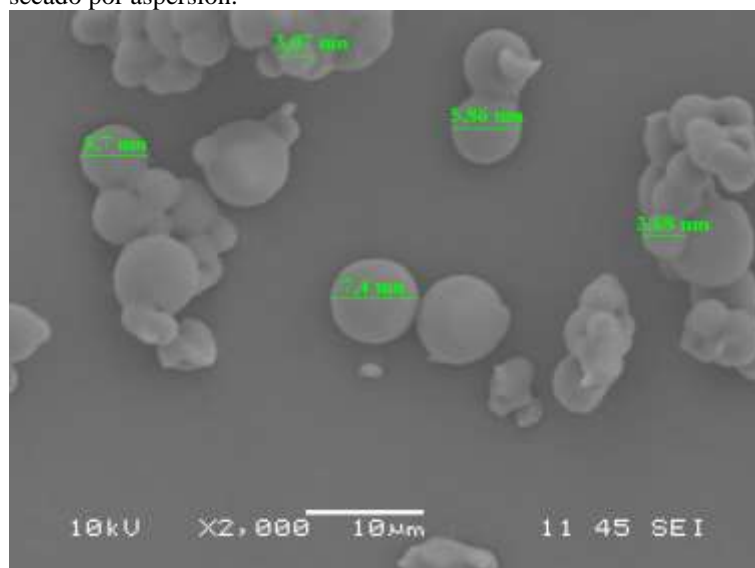
Evaluación sensorial. La evaluación sensorial se realizó a 10 personas al azar en la Ciudad de Pasto. Los encuestados evaluaron 50 mL de cada tratamiento: T1- Sorbete banano, T2 - Sorbete banano + probiótico microencapsulado, T3 – Sorbete mango, T4 - Sorbete mango + probiótico microencapsulado.

Resultados

Microencapsulación de *L. reuteri* mediante secado por aspersión

Caracterización estructural, morfología y tamaño de las microcápsulas Se encontró tamaños de partícula de 3,07 μm a 7,04 μm de diámetro con morfología circular e irregular para *L. reuteri* microencapsulado por Spray Drying con el 5 % de prebióticos como matriz encapsulante (25 g Inulina + 25 g Maltodextrina) como se indica en la (Figura 2).

Figura 2. Microfotografía Electrónica de Barrida de *Lactobacillus reuteri* microencapsulado mediante el proceso de secado por aspersión.



Estudio de Supervivencia y estabilidad de *L. reuteri* ATCC microencapsulado. Los resultados de viabilidad y eficiencia para *L. reuteri* después del proceso de microencapsulación y posterior almacenamiento a una temperatura promedio de 16 °C por 50 días con humedad relativa del 76 %, se reportan en la Tabla 8.

Tabla 2. Valores de supervivencia y estabilidad de *L. reuteri* microencapsulado

Parámetro	Valor obtenido %
Viabilidad	100
Eficiencia	90,60

Caracterización física de *Lactobacillus reuteri* microencapsulado. Los resultados de humedad, actividad de agua, humectabilidad y solubilidad para *L. reuteri* después del proceso de microencapsulación y posterior almacenamiento a una temperatura promedio de 16 °C por 50 días con humedad relativa del 76 %, se reportan en la Tabla 9.

Tabla 3. Evaluación física del probiotico microencapsulado

Factor	Valor obtenido %
Humedad	4,6
Actividad de agua	0,643
Humectabilidad	2:45 min
Solubilidad	98,50

Condiciones gastrointestinales simuladas. Tras simular un modelo gastrointestinal continuo, el crecimiento bacteriano fue de $2,2 \times 10^{11}$ UFC /mL.

Discusión

Microencapsulación de *L. reuteri* por Spray Drying (Secado por Aspersión). De Araujo (2016), reporta un material encapsulado de forma circular y partículas irregulares con tamaños que oscilan entre 7 y 15 μm , por otra parte, Zambrano-Mora y Jurado-Gamez (2020) obtienen tamaños de 3,47 a 17,81 μm de microencapsulación mediante el método de secado por aspersión de *L. casei*, así mismo, Juárez Tomás et al, (2015) tras microencapsular *L. reuteri* por liofilización con la matriz goma de xantano y leche desnatada con lactosa, se observaron esferas imperfectas con un diámetro medio de $2,42 \pm 0,47 \mu\text{m}$, valores similares a los diámetros obtenidos en esta investigación que verían de 3,07 a 7,4 μm .

De acuerdo con Rodríguez et al, (2016) los diámetros de capsulas con diámetros entre 10-100 μm se catalogan como polvos y capsulas con diámetros entre 2 y 3mm como partículas de mayor tamaño, además, mencionan que a grandes tamaños de capsulas existe mayor posibilidad de contacto con agentes externos y como consecuencia mayor deterioro durante el almacenamiento.

Como lo menciona Rios-Aguirre y Gil-Garzón (2021) es fundamental en el método de microencapsulación la elección de una mezcla de materiales microencapsulantes, de manera que conlleve un tamaño de partícula y una morfología de microcápsula simple. Por tanto, lo ideal es usar mezclas de encapsulantes en diferentes proporciones, ya que un solo material de pared no suple con todos los parámetros que se deben tener para formar un recubrimiento uniforme en específico, además, estudios reportan que la combinación maltodextrina con goma arábica o la combinación de inulina con materiales microencapsulantes permiten una mayor efectividad y estabilidad en microencapsulación. (El-Enshasy & Yang, 2021).

Los diámetros reportados en la caracterización física y morfológica del microencapsulado indican un proceso de microencapsulado adecuado que mantuvo estable el producto después de 50 días de almacenamiento.

Viabilidad. La viabilidad indica que porcentaje de UFC/mL permanecen activas después del proceso de microencapsulación, almacén o tratamiento. Al comparar los resultados obtenidos por Rodríguez-Barona et al, (2012) con valores de viabilidad de 84 % para *L. rhamnosus* y 96 % *L. casei*, el valor obtenido en el presente estudio es mayor.

Existen gran cantidad de factores que afectan la viabilidad de los probióticos, sea en alimentos lácteos o alimentos funcionales. Para el caso del microencapsulado se deben tener en cuenta los materiales encapsulantes, la temperatura del proceso, el pH, la temperatura y condición de almacenamiento y la presencia de inhibidores microbianos en la matriz del alimento. Otros factores que pueden afectar la viabilidad de los microorganismos son tratamientos térmicos, homogeneización, y envasado. (Sierre Ames & Guillen Sullca, 2017).

La industria alimentaria, especialmente la industria láctea, ha tomado medidas rápidas para explotar el potencial del mercado impulsado por los posibles efectos beneficiosos de los

probióticos. Esta motivación ha desencadenado esfuerzos para incorporar probióticos en matrices lácteas como yogur, queso o bebidas a base de lácteos. Un desafío importante para la incorporación de probióticos en los alimentos funcionales es mantener el número de microorganismos probióticos más alto que el requerido nivel de “mínimo terapéutico” en el momento del consumo. Este nivel de umbral varía según las regulaciones de los países, pero generalmente es 1×10^6 o 1×10^7 UFC/mL. (El-Enshasy & Yang, 2021)

Eficiencia. Según Sierre Ames y Guillen Sullca (2017) “la eficiencia de encapsulado es una medida de la eficacia del atrapamiento y sobrevivencia de células viables durante el proceso de encapsulado, y fue calculado como la relación entre lo encapsulado y la concentración inicial de bacteria”.

Ames y Guillen Sullca (2017) reportan una eficiencia de encapsulado de 89,874 % al encapsular *Lactobacillus* spp en maltodextrina, similar al valor obtenido en la presente investigación, pero menor a lo publicado por Gonzales et al. (2015), que alcanzaron un 98,7 % de eficiencia al encapsular *Lactobacillus delbrueckii*.

Bringas (2013), menciona que muchos factores están involucrados en la viabilidad de los cultivos probióticos durante el proceso de microencapsulación, entre los que señaló, temperaturas del aire de entrada y de salida y composición del material encapsulante. En este sentido, Ames y Guillen Sullca (2017) mencionan una mayor eficiencia a temperatura de atomizado de 120 °C y una concentración de maltodextrina de 25 %.

Humedad. Es un parámetro importante ya que influye en la conservación del probiótico microencapsulado y puede afectar la integridad del producto final. (Sinsajoa-Tepud et al., 2019). Avila (2011) menciona que la humedad de un microencapsulado por spray drying debe ser menor al 5 %, por otra parte, Paez (2013) resalta que los valores de humedad deben estar entre 3,5 y 4 % para que el probiótico microencapsulado se mantenga estable durante el almacenamiento. Por tanto, existe relación entre humedad del microencapsulado y su conservación. El valor obtenido para humedad en el microencapsulado de *Lactobacillus reuteri* se encuentra dentro de rangos que garanticen su calidad.

Solubilidad. El resultado de solubilidad es del 99,1 % (Tabla 3). Sánchez menciona que el índice de solubilidad se define como la habilidad de los constituyentes del microencapsulado de disolverse en el agua. El valor obtenido es cercano al reportado por Montes (2012) quien obtuvo solubilidades de 98,99% y 96,99% para *L. casei* y *L. rhamnosus* respectivamente, microencapsulados mediante el método de liofilización con inulina y maltodextrina.

Actividad de agua. Avila et al, (2014) describe que una de las propiedades que debe cumplir un microencapsulado por spray drying es un valor de A_w entre 0,15 a 0,30, valor cercano al reportado por Rodríguez-Barona et al (2012), para microencapsulado de *L. casei* y *L. rhamnosus* con valores de 0,36. Páez (2013) describe que la A_w es la cantidad de agua libre en una muestra que puede ser utilizada por microorganismos u otros agentes contaminantes. En consecuencia, *Lactobacillus reuteri* microencapsulado mediante secado por aspersión, no está sobre los rangos establecidos, difiriendo en posibles alteraciones organolépticas y de calidad del producto.

Humectabilidad. La humectabilidad de un polvo refleja la capacidad de absorber agua a una determinada temperatura, es el proceso que explica que la humectación de las partículas que controla la reconstitución y la velocidad de recuperación celular, tiempo en que el polvo desaparece bajo la superficie de un líquido, o bien cuando el agua penetra en la capa de polvo. (Paez, 2013).

La humectabilidad del microencapsulado de *L. reuteri* dio como resultado 2 minutos y 45 segundos, tiempo que tomo 1g de microencapsulado en sumergirse bajo la superficie de un volumen de 100 mL de agua destilada. El tiempo de humectabilidad obtenido de la muestra de *L. reuteri* microencapsulado con inulina y maltodextrina, es más rápido comparado con los valores

reportados en el estudio de Rodríguez-Barona et al, (2012), para *L. casei* 6 min: 33 min y *L. rhamnosus* 4 min: 52 seg.

Condiciones gastrointestinales simuladas. El crecimiento bacteriano de *L. reuteri* después de microencapsular, almacenar y someter a condiciones gastrointestinales simuladas fue de $2,2 \times 10^{11}$ UFC /mL, cantidad mayor a la reportada por De Araújo (2016) y a los revueltos en plava realizados por Sinsajoa-Tepud et al, (2019) que muestran crecimientos de $4,2 \times 10^7$ UFC/mL, $6,4 \times 10^9$.

La mayoría de microorganismos probióticos son muy sensibles a condiciones ambientales como la humedad, la temperatura, el oxígeno, el pH estomacal o sales biliares, y al ser procesados o almacenados como alimentos funcionales puede verse afectada su viabilidad. De acuerdo a esto es necesario desarrollar condiciones protectoras que garanticen la viabilidad y actividad de los microorganismos durante su procesamiento y almacenaje, y además asegurar que sean liberados en el intestino donde es precisa su acción. (De Araujo Uribe, 2016)

En general, la función que cumple la microencapsulación de probióticos es mejorar su capacidad de supervivencia y mantener la viabilidad al log CFU máximo correspondiente a al menos la concentración mínima necesaria para entregar sus efectos beneficiosos al huésped. Los probióticos pueden resistir condiciones adversas y estresantes como la acidez, el oxígeno y los ambientes gástricos utilizando paredes encapsuladas, Además, también puede crear un control para la liberación de ingredientes activos en la pared, ya que depende de ciertas condiciones, lo que le permite llegar al área de administración objetivo (El-Enshasy & Yang, 2021).

Al encontrar un microencapsulado con características dentro de los rangos establecidos y un recuento de crecimiento bacteriano de *Lactobacillus reuteri* microencapsulado con maltodextrina e inulina, mayor al mínimo (1×10^6 o 1×10^7 UFC/mL) recomendado para el tracto gastrointestinal, se logra establecer un producto listo para adicionar a bebidas u otra matriz.

Evaluación sensorial. Según el resultado de las encuestas, las propiedades organolépticas de los tratamientos cambiaron, mostrando preferencia por los tratamientos con inclusión del probiótico microencapsulado. La característica que más cambio presento fue el sabor seguido olor. Por otra parte, la textura y el color no se vieron afectado.

En la formulación del alimento funcional no se utilizaron endulzantes artificiales. Sin embargo, el contenido de inulina y maltodextrina del microencapsulado mejoró notablemente la dulzura del producto, generando mayor preferencia por los tratamientos T2 y T4.

Tabla 4. Encuesta Evaluación sensorial del alimento funcional

Escala	Olor				Color				Sabor				Textura			
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 1	T 2	T 3	T 4	T 1	T 2	T 3	T 4	T 1	T 2	T 3	T 4
Me gusta muchísimo										3		1				2
Me gusta mucho	1	2		4		3	3	3		4		4	3	4	2	5
Me gusta moderadamente	2	1	4	1	1	4	1	3	2	2	1	4	1	5	1	3
Me gusta ligeramente	4	4	3	2	3		2	1	3	1	2	1	4	1	4	
Ni me gusta ni me disgusta	2	3	3	3	4	3	4	3	2		4		2		3	
Me disgusta ligeramente	1				2				3		2					
Me disgusta moderadamente											1					
Me disgusta mucho																
Me disgusta muchísimo																

Composición nutricional del alimento funcional. La composición nutricional teórica del alimento funcional se estimó con el porcentaje de inclusión de la formulación y los aportes nutricionales de cada materia prima.

Tabla 5. Composición nutricional teórica del alimento funcional.

Característica	Unidad	Mango	Banano	Leche	Inulina	Maltodextrina	Aporte teórico
Proteína	g	1,44	2,16	14,03	0,00	0,00	17,63
Grasa	g	0,72	0,54	15,30	0,00	0,00	16,56
Carbohidratos	g	27,00	36,00	21,25	0,18	0,00	84,43
Fructosa, glucosa y sacarosa	g	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01
Dextrosa equivalente	g	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,05
Inulina	g	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01
Fibra	g	2,88	6,12	0,00	0,00	0,00	9,00
Cenizas	g	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01
Energía	Kcal	108,00	169,20	280,50	0,00	0,00	557,70
Calcio	mg	19,80	16,20	514,25	0,00	0,00	550,25
Hierro	mg	0,29	1,08	0,43	0,00	0,00	1,79
Potasio	mg	302,40	630,00	637,50	0,00	0,00	1569,90
Fosforo	mg	25,20	50,40	391,00	0,00	0,00	466,60
Magnesio	mg	18,00	68,40	51,00	0,00	0,00	137,40
Dioxido de azufre	ppm	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,04

Fuente: (Instituto Colombiano de Bienestar Familiar 2018, 2018; Tecnas, 2020, 2021; Valero Gaspar et al., 2018)

Análisis de costos. La producción de 599,15 g del alimento funcional tiene un costo de \$ 3.514,00, con un costo del probiotico microencapsulado de \$ 5.000,00 por gramo. En la industria farmacéutica se puede encontrar gran variedad de probióticos en diversas presentaciones con un costo de \$ 13.680,00 por gramo (*CRUZ VERDE - Alflorex Frasco X 30 Cápsulas*, n.d.). La diferencia entre el probiotico microencapsulado con el probiotico comercial es de \$ 8.680,00, al llevar el microencapsulado a la venta significaría un 63,45 % sobre el precio base del probiotico.

Figura. 3. Adición de probiótico microencapsulado al sorbete.



Presentación y descripción del microencapsulado. El probiótico *Lactobacillus reuteri* microencapsulado tiene presentación en polvo, que lo hace versátil al momento de incluir en bebidas frutales, quesos y otras matrices que se quieran utilizar. Además, los diversos análisis realizados indican una buena interacción en medios líquidos y una carga bacteriana superior a 1×10^7 establecida como mínima requerida para generar beneficios al hospedador.

Figura. 4 Presentación del probiótico microencapsulado



Conclusiones

L. reuteri y los materiales microencapsulantes (inulina y maltodextrina) pueden tener una simbiosis con el microorganismo encapsulado que se reflejará en la salud intestinal del hospedador.

L. reuteri microencapsulado al presentar una viabilidad del 100 % se traduce a una concentración mínima bacteriana de $1,5 \times 10^9$ UFC/ml, correspondiente a la mayor escala de McFarland a la cual se ajustó para llevar al proceso de microencapsulación, y garantiza una liberación del microorganismo bajo los requerimientos establecidos.

Se puede determinar que la concentración de maltodextrina e inulina y la temperatura en la microencapsulación de *L. reuteri* pueden ser uno de los factores que disminuyen la eficiencia del microencapsulado.

L. reuteri microencapsulado y su inclusión en matrices vegetales y productos lácteos, permite una alternativa valiosa en el desarrollo de productos inocuos y que favorecen la economía regional del departamento de Nariño.

L. reuteri microencapsulado, puede ser fabricado y comercializado a bajos costos comparado con los productos comerciales existentes en el mercado, por cuanto un gramo de *L. reuteri* microencapsulado cuesta \$5.000,00 (1,29 USD) y un gramo de probiótico comercial cuesta \$13.680,00 (3,52 USD).

Referencias bibliográficas

- Avila-Reyes, S. V, Garcia-Suarez, F. J., Jiménez, T., San Martín-Gonzalez, M. F., & Bello-Perez, L. A. (2014). Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrate Polymers*, 102, 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.033>
- Cruz Pacheco, K., Madrigal Mendoza, G. A., Valencia, G., & Páramo Durán, E. (2009). *VIABILIDAD DE LACTOBACILLUS DELBRUECKII LIBRE E INMOVILIZADO BAJO CONDICIONES GASTROINTESTINALES SIMULADAS IN VITRO*. 1–22.
- CRUZ VERDE - *Alflorex Frasco X 30 Cápsulas*. (n.d.). Retrieved November 11, 2021, from https://www.cruzverde.com.co/alflorex-frasco-x-30-capsulas/COCV_163175.html
- De Araujo Uribe, N. (2016). *Viabilidad de los Probióticos Bacillus polymyxa, Bacillus megaterium y Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus microencapsulados bajo la técnica de secado por aspersión*. Universidad Nacional de Colombia.
- El-Enshasy, H. A., & Yang, S.-T. (2021). Probiotics, the Natural Microbiota in Living Organisms. In *Probiotics, the Natural Microbiota in Living Organisms* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351027540>
- Fabio, P. :, Zambrano, M., & Godet, M. (2012). *PROSPECTIVA DE LA CADENA LÁCTEA DEL DEPARTAMENTO DE NARIÑO AL HORIZONTE DEL AÑO 2020 “No es necesario padecer el futuro. ¡Podemos construirlo!” XIII(1)*, 36–54.
- Gonzales Cuello, R., Perez Mendoza, J., & Morón Alcazar, L. (2015). Efecto de la Microencapsulación sobre la Viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii* sometido a Jugos Gástricos Simulados. *Información Tecnológica*, 26(5), 11–16. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500003>
- Hernandez Espinosa, L. (2009). LAS DENOMINACIONES DE ORIGEN COMO ESTRATEGIA PARA MEJORAR EL POSICIONAMIENTO INTERNACIONAL DE PRODUCTOS AGROALIMENTARIOS COLOMBIANOS: CASO DEL CAFÉ Y EL BANANO [UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO]. In *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. <https://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/1491/32939151.pdf?sequence=1>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B.,

- Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, *11*(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Instituto Colombiano de Bienestar Familiar 2018. (2018). Tabla De Composición De Alimentos Colombianos. In *Icbf* (pp. 1–147). https://www.icbf.gov.co/bienestar/nutricion/tabla-alimentos%0Ahttps://www.icbf.gov.co/sites/default/files/tcac_web.pdf
- Juárez Tomás, M. S., Romina, P., Leccese Terraf, M. C., & Nader Macias, M. E. F. (2015). Encapsulation and subsequent freeze-drying of *Lactobacillus reuteri* CRL 1324 for its potential inclusion in vaginal probiotic formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *79*, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.08.010>
- Melo Sabogal, D. V., Torres Grisales, Y., Serna Jimenez, J. A., & Torres Valenzuela, L. S. (2015). Vista de Aprovechamiento de pulpa y cáscara de plátano (*musa paradisiaca* spp) para la obtención de maltodextrina. *Bioteología En El Sector Agropecuario*, 76–85. <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/bioteologia/article/view/406/570>
- Paez, R. B. (2013). *Desarrollo de cultivos probióticos deshidratados por secado spray para aplicación en alimentos. Estudios microbiológicos y tecnológicos*. [Universidad Nacional de la Plata]. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/38116/Documento_completo___.pdf?sequence=1
- Probiotic supplements: market value by application Latin America 2027 | Statista*. (n.d.). Retrieved November 10, 2021, from <https://www.statista.com/statistics/1199909/value-probiotic-supplements-market-application-latin-america/>
- Rai, R., & Bai, J. A. (2014). Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods. In *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods*. <https://doi.org/10.1201/b17912>
- Ramirez Garzon, Y. (2020). Análisis Del Potencial Exportador Del Mango En El Departamento Del Tolima. *Sustainability (Switzerland)*, *1*. <https://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/1491/32939151.pdf?sequence=1>
- Rios-Aguirre, S., & Gil-Garzón, M. A. (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión. *Tecnológicas*, *24*(51), e1836. <https://doi.org/10.22430/22565337.1836>
- Rodríguez-Barona, S., Montes, L. M., & De J Ramirez, D. (2012). MICROENCAPSULACIÓN DE PROBIÓTICOS MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN EN PRESENCIA DE PREBIÓTICOS. *Red de Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal*, *19*(1), 186–188. <http://www.r-project.org/>
- Rodríguez, Y. A., Rojas, A. F., & Rodríguez, S. (2016). ENCAPSULACIÓN DE PROBIÓTICOS PARA APLICACIONES ALIMENTICIAS. *Revista Biosalud*, *15*(2). <https://doi.org/10.17151/biosa.2016.15.2.10>
- Sanchez Hernandez, M. del R. (2010). *Evaluación de mezclas de inulina, maltodextrina y goma arábica para la microencapsulación de L. casei*. Universidad de las Americas Puebla.
- Sierre Ames, P. L., & Guillen Sullca, J. M. (2017). *EVALUACION DE LA VIABILIDAD DEL Lactobacillus spp. ENCAPSULADO EN MALTODEXTRINA COMO PROBIÓTICO EN EL JUGO DE AGUAYMANTO* [Universidad Nacional del Centro del Perú]. <http://hdl.handle.net/20.500.12894/1591>
- Sinsajoa-Tepud, M., Jurado-Gamez, H., & Narváez-Rodríguez, M. (2019). Evaluación de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado y su viabilidad bajo condiciones gastrointestinales simuladas e inhibición frente a *Escherichia coli* O157:H7. *Revista de La*

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 66(3), 231–244.
<https://doi.org/10.15446/rfmvz.v66n3.84260>

Tecnas. (2020). *Ficha técnica de producto terminado - MALTODEXTRINA*. 2.

Tecnas. (2021). *Ficha técnica de producto terminado - INULINA*. 2.

Tufarelli, V., & Laudadio, V. (2016). AN OVERVIEW ON THE FUNCTIONAL FOOD CONCEPT: PROSPECTIVES AND APPLIED RESEARCHES IN PROBIOTICS, PREBIOTICS AND SYNBIOTICS. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 4(3). [https://doi.org/10.18006/2016.4\(3S\).273.278](https://doi.org/10.18006/2016.4(3S).273.278)

Valero Gaspar, T., Rodríguez Alonso, P., Ruiz Moreno, E., Ávila Torres, J. M., & Varela Moreiras, G. (2018). “La Alimentación Española: características nutricionales de los principales alimentos de nuestra dieta.” In *Alimentación Española*. <http://recs.codesian.com/wp-content/uploads/2018/09/LA-ALIMENTACIÓN-ESPAÑOLA.pdf>

Zambrano-Mora, E. J., & Jurado-Gámez, H. (2020). Efecto de *Lactobacillus casei* microencapsulado sobre la salud intestinal y parámetros bioquímicos y productivos en pollo de engorde TT - Effect of microencapsulated *Lactobacillus casei* on intestinal health and on biochemical and productive parameters in. *Rev. Udca Actual. Divulg. Cient.*, 23(2), e1480–e1480. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&%0Apid=S0123-42262020000200017