

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec



S.E. P. TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

**DESARROLLO DE UNA BEBIDA FUNCIONAL DE JUGO
DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA (*Camellia sinensis*) Y
Lactobacillus acidophilus ENCAPSULADO**

PRESENTA:

IIA LORENZO GONZALEZ JAZMÍN

DIRECTOR:

DRA. ERNESTINA PAZ GAMBOA

CO-DIRECTOR INTERNO:

DRA. MARÍA DE LOS ÁNGELES VIVAR VERA

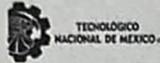
CO-DIRECTOR EXTERNO

DR. OMAR ROBERTO LÓPEZ VIDAL

TUXTEPEC, OAXACA

DICIEMBRE, 2023

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC

Subdirección Académica
División de Estudios Profesionales

Autorización de Presentación Electrónica de Tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax., **11/diciembre/2023**

Oficio No. DEP/CT-6155

C. JAZMÍN LORENZO GONZALEZ
EGRESADA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS
CON NÚMERO DE CONTROL M21350011
P R E S E N T E

POR MEDIO DE LA PRESENTE ME PERMITO COMUNICARLE QUE EL COMITÉ TUTORIAL INTEGRADO POR LOS CC. ERNESTINA PAZ GAMBOA, MARIA DE LOS ANGELES VIVAR VERA, OMAR ROBERTO LÓPEZ VIDAL, ARACELI PEREZ SILVA E IVET GALLEGOS MARIN REVISÓ Y APROBÓ EN SU TOTALIDAD EL TRABAJO PROFESIONAL DENOMINADO " DESARROLLO DE UNA BEBIDA FUNCIONAL DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA (CAMELLIA SINENSIS)." Y LACTOBACILLUS ACIDODOPHILLUS ENCAPSULADO PRESENTADO POR USTED COMO PRODUCTO DE TESIS DE ACUERDO AL LINEAMIENTO DE TITULACIÓN CORRESPONDIENTE, PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS.

POR LO ANTERIOR Y DE ACUERDO A LOS LINEAMIENTOS INSTITUCIONALES SE LE DA TRÁMITE LEGAL PARA QUE PROCEDA A LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO PROFESIONAL.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica.


JULIÁN KURI MAR
SUBDIRECTOR ACADÉMICO

ccp. Depto. Servicios Escolares
Archivo

MJC/emh*



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC

SUBDIRECCIÓN
ACADÉMICA



Calzada Dr. Víctor Bravo Ahuja Num. 561, Col. Pradío el Paraíso, C.P. 68350, San Juan Bautista Tuxtepec,
Oax. Tel. 2878751044 e-mail: difusion@tuxtepec.tecnm.mx | tecnm.mx | tuxtepec.tecnm.mx



Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Tuxtepec

Carta de Cesión de Derechos Autorales

Título de la Tesis	Desarrollo de una bebida funcional de jugo de piña-té verde matcha (<i>Camellia sinensis</i>) y <i>Lactobacillus acidophilus</i> encapsulado
Autor principal	Jazmin Lorenzo Gonzalez
Email de contacto	ing.lorenzojazmin@gmail.com
Segundo autor	Ernestina Paz Gamboa
Tercer autor	María de los Ángeles Vivar Vera
Registro ISBN / ISSN (Cuando aplique)	

Tuxtepec, Oaxaca **9/DICIEMBRE/2023**

Por este conducto manifiesto que es mi libre voluntad el ceder los derechos patrimoniales relativos a la obra literaria de la cual soy el autor, a favor del Tecnológico Nacional de México / Campus Tuxtepec; para que sea publicada, sin más límites que los establecidos en la Ley Federal del Derecho de Autor.

Extiendo la presente para los fines legales a que haya lugar.

Atentamente

Autor1: [Jazmín Lorenzo Gonzalez]

Firma 

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec



Similarity Report ID: oid:20755:299527137

PAPER NAME

TESIS MAESTRIA JAZ.docx

WORD COUNT

18559 Words

CHARACTER COUNT

100268 Characters

PAGE COUNT

91 Pages

FILE SIZE

2.9MB

SUBMISSION DATE

Dec 17, 2023 12:16 PM CST

REPORT DATE

Dec 17, 2023 12:18 PM CST

● 23% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

- 21% Internet database
- 10% Submitted Works database
- 0% Publications database

● Excluded from Similarity Report

- Crossref database
- Bibliographic material
- Small Matches (Less than 10 words)
- Crossref Posted Content database
- Cited material

Summary

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

**“Desarrollo de una bebida funcional de jugo de piña-té
verde matcha (*Camellia sinensis*) y *Lactobacillus
acidophilus* encapsulado”**

Por:

IIA Jazmín Lorenzo Gonzalez

Tesis propuesta al

Instituto Tecnológico de Tuxtepec

Como requisito para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias en Alimentos

Diciembre 2023

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y DE NO PLAGIO

Yo, **Jazmín Lorenzo Gonzalez** con Número de control: **M21350011**, RFC: **LOGJ9810035G5**, alumno de la Maestría en Ciencias en Alimentos, del Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec, autor (a) de la Tesis titulada “**DESARROLLO DE UNA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULADO**”

DECLARO QUÉ:

1. El presente trabajo de investigación y tema de la tesis presentada para la obtención del Título de Maestro en Ciencias en Alimentos es original y asignado por mi Director de tesis el **M.C. Ernestina Paz Gamboa**, siendo resultado de mi trabajo experimental y escritura personal, el cual no he copiado de otro trabajo de investigación, ni utilizado ideas, formulas, ni citas completas, así como ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc. (en versión digital o impresa). Caso contrario, menciono de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

2. Declaro que el trabajo de investigación que pongo en consideración para evaluación no ha sido presentado anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni ha sido publicado en sitio alguno.

3. Soy consciente de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones administrativas y/o legales por parte del Instituto, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en la tesis, así como de los derechos sobre la obra presentada.

Asimismo, me hago responsable ante la Institución o terceros, de cualquier irregularidad o daño que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado. De identificarse falsificación, plagio, fraude, o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente del Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec.

Tuxtepec, Oaxaca a 13 de noviembre del 2023.



IIA. Jazmin Lorenzo Gonzalez

Nombre y firma

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de Tuxtepec el día 13 de noviembre del 2023, el que suscribe, C. **Jazmín Lorenzo Gonzalez**, estudiante del programa de posgrado Maestría en Ciencias en Alimentos con numero de control: **M21350011**, inscrito al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtepec, manifiesto que soy autor intelectual de la presente investigación de Tesis bajo la dirección de la **M.C. Ernestina Paz Gamboa**, cedo los derechos del trabajo titulado: “**Desarrollo de una bebida de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophillus* encapsulado**” al Tecnológico de Tuxtepec para su difusión, con fines académicos y de investigación. Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, graficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a los correos: ing.lorenzojazmin@gmail.com y ernestina.pg@tuxtepec.tecnm.mx, si el permiso se otorga el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente al citar la fuente de este trabajo de investigación.

Tuxtepec, Oaxaca a 13 de noviembre de 2023



IIA. Jazmín Lorenzo Gonzalez

Nombre y firma

AGRADECIMIENTOS

Al conahcyt

Gracias a esta institución por ser parte fundamental en este proyecto, ya que sin la beca de apoyo brindado por la institución esto no hubiese sido posible.

A mi asesora

M.C. Ernestina Paz Gamboa gracias por ser una gran asesora, por su paciencia y dedicación y siempre guiarme en este camino, muchas gracias por formar en mí una mejor persona.

A mi Co-asesora.

Dra. María de los Ángeles Vivar Vera, le quiero agradecer por todo el conocimiento brindado, por su apoyo y sobre todo su amistad, es usted una gran persona, por su paciencia que tuvo en mí y la confianza brindada, muchas gracias.

A mis compañeros y maestros

Gracias a los maestros que me guiaron para formarme como maestra en ciencias.

A mis compañeros Luis Andrés, Mónica, Jocelyn y Mariana por aceptarme desde el primer día para complementarnos en nuestras debilidades y fortalezas por brindarme su amistad, confianza y apoyo fue un gusto coincidir con ustedes los quiero mucho, gracias por todo.

A mis compañeros de laboratorio Miriam y Miguel, a los niños de residencia Abel y René a los de servicio social, Luz Adriana, Rosa y a los dos Francisco Javier por toda el apoyo, confianza y amistad brindada durante toda la estancia.

DEDICATORIA

A Dios

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo del camino, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad. Gracias Dios.

A mis padres

Cristino y Herminia por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los concejos, valores y principios que me han inculcado, por enseñarme a luchar día a día para lograr conquistar mi sueño, por siempre creer en mí. Siempre estaré agradecida por todo lo que han hecho por mí.

A mis hermanos

Christian y Servando por estar siempre presentes, acompañándome, por el apoyo que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida.

A mi hijo

Braulio por llegar a mi vida y llenarla de mucha felicidad y ser el motor que me obliga a funcionar y ser cada día mejor, su nacimiento ha coincidido con el final de la Tesis. Él es lo mejor que me ha pasado y ha venido a este mundo para darme el último empujón para terminar el trabajo. Es sin duda mi referencia para el presente y para el futuro.

Al Primer Mtre. Omar+

Por enseñarme a que todo lo que me proponga lo puedo lograr, por siempre motivarme y apoyarme, aunque ya no estes sé que me cuidas y me guías, gracias por todo.

RESUMEN

Lorenzo Gonzalez, Jazmín. Maestría en Ciencias en Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtepec, noviembre del 2023. “Desarrollo de una bebida de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado”. Director: M.C. Ernestina Paz Gamboa, Co-director interno: Dra. María de los Ángeles Vivar Vera, Co-director externo: Dr. Omar Roberto López Vidal.

El valor nutritivo y económico de jugos de frutas es ampliamente conocido, por su una fuente rica en vitaminas, antioxidantes, al ser reformulados con la adición de polvos de plantas con alto contenido de compuestos bioactivos y bacterias probióticas encapsuladas pueden asegurar su efecto benéfico. El objetivo del trabajo fue desarrollar una bebida probiótica de jugo de piña-té verde matcha con *Lactobacillus acidophilus* encapsulado y evaluar propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, antioxidantes y sensoriales. Se empleó rodajas de piña de variedad MD2 de 3/4 de madurez para extraer el jugo y se diluyó con agua (9:1 v/v). Se encapsuló el *Lactobacillus acidophilus* a concentraciones de 1, 1.5 y 2% utilizando alginato de sodio y goma xantana como material de recubrimiento. Para el desarrollo de la bebida, se adicionó polvo de té matcha (t.m) a concentraciones 0.3, 0.6 y 0.9% (p/v). Las bebidas desarrolladas fueron caracterizadas mediante análisis fisicoquímico, evaluación de viabilidad del probiótico (1, 7, 21 días), contenido de polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante *in vitro* mediante los métodos ABTS•+ y FRAP y una prueba de aceptación. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza empleando el software estadístico Minitab v.17. Obteniéndose en propiedades fisicoquímicas de las bebidas un pH entre 5-5.5, acidez titulable 0.41-0.49%, sólidos solubles 12.45-13.19%, azúcares reductores 10.58-22.38% un rendimiento de *L.a.* para el 1%-89.07%, 1.5%-91.79 y 2%-99.54%; una eficiencia de 78, 77 y 76% respectivamente, alcanzándose una viabilidad 2% *L.a* y 0.3, 0.6 0.9 té verde matcha de: 11.39, 11.45, 11.58 Log UFC/ mL respectivamente. El contenido de polifenoles para el 1, 1.5 y 2% de *L.a.* y 0.9 t.m fue: 0.34, 0.33, y 0.45 g GAE/100 mL, flavonoides de: 5.89, 6.28 y 6.64 g EQ/100 mL. Capacidad antioxidante por el método FRAP: 9.28, 9.69 y 16.50 $\mu\text{mol ET}/100$

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

mL, método ABTS•+: 13.85, 20.75 y 35.50 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$. En el análisis microbiológico no se encontró presencia de mesófilos aerobios, mohos y levaduras durante los 14 días de almacenamiento. La muestra más aceptada fue la que contenía 0.9% t.m-2% *L.a*. Se obtuvo una bebida funcional a base de piña, té verde matcha y probiótico (*L. acidophilus*) encapsulado que mostró propiedades probióticas, antioxidante, calidad fisicoquímica y aceptación por los consumidores.

ABSTRACT

Lorenzo Gonzalez, Jazmín. Master of Science in Food. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. November 2023. Development of a pineapple juice-matcha green tea drink and encapsulated *Lactobacillus acidophilus*. Director: M.C. Ernestina Paz Gamboa, Internal co-director: Dr. María de los Ángeles Vivar Vera, External co-director: Dr. Omar Roberto López Vidal.

The nutritional and economic value of fruit juices is widely known for their rich source of vitamins and antioxidants. When reformulated with the addition of plant powders with a high content of bioactive compounds and encapsulated probiotic bacteria, they can ensure their beneficial effect. The objective of the work was to develop a probiotic drink of pineapple juice-matcha green tea with encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and evaluate physicochemical, microbiological, antioxidant and sensory properties. Pineapple slices of the MD2 variety of 3/4 maturity were used to extract the juice and it was diluted with water (9:1 v/v). *Lactobacillus acidophilus* was encapsulated at concentrations of 1, 1.5 and 2% using sodium alginate and xanthan gum as coating material. For the development of the drink, matcha tea powder (t.m) was added at concentrations of 0.3, 0.6 and 0.9% (w/v). The developed drinks were characterized by physicochemical analysis, evaluation of probiotic viability (1, 7, 21 days), content of polyphenols, flavonoids and antioxidant activity in vitro using the ABTS•+ and FRAP methods and an acceptance test. The results were analyzed by analysis of variance using Minitab v.17 statistical software. Obtaining in physicochemical properties of the drinks a pH between 5-5.5, titratable acidity 0.41-0.49%, soluble solids 12.45-13.19%, reducing sugars 10.58-22.38% a yield of L.a. for 1%-89.07%, 1.5%-91.79 and 2%-99.54%; an efficiency of 78, 77 and 76% respectively, reaching a viability of 2% L.a and 0.3, 0.6 and 0.9 matcha green tea of: 11.39, 11.45, 11.58 Log CFU/ mL respectively. The polyphenol content for 1, 1.5 and 2% L.a. and 0.9 t.m was: 0.34, 0.33, and 0.45 g GAE/100 mL, flavonoids of: 5.89, 6.28 and 6.64 g EQ/100 mL. Antioxidant capacity by the FRAP method: 9.28, 9.69 and 16.50 µmol ET/100 mL, ABTS•+ method: 13.85, 20.75 and 35.50 µmol ET/100 mL. In the microbiological analysis, no presence of aerobic mesophiles,

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

molds and yeasts was found during the 14 days of storage. The most accepted sample was the one containing 0.9% t.m-2% L.a. A functional drink was obtained based on pineapple, matcha green tea and encapsulated probiotic (*L. acidophilus*) that showed probiotic, antioxidant properties, physicochemical quality and consumer acceptance.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	8
DEDICATORIA	9
RESUMEN	10
ABSTRACT	12
ÍNDICE DE FIGURAS	19
ÍNDICE DE TABLAS	20
INTRODUCCIÓN	22
CAPÍTULO I	25
1. MARCO TEÓRICO	25
1.1. INGREDIENTES Y ALIMENTOS FUNCIONALES	25
1.2. BEBIDAS VEGETALES.....	25
1.3. BENEFICIOS PARA LA SALUD DE CONSUMIR JUGOS DE FRUTAS..	26
1.4. ANTIOXIDANTES EN FRUTAS Y VERDURAS	27
1.5. PIÑA (<i>Ananas comosus</i>)	28
1.5.1 FISIOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS DE LA PIÑA MD2	29
1.5.2 COMPOSICIÓN FÍSICOQUÍMICA	30
1.5.3. VALORES NUTRICIONALES	30
1.7. TÉ VERDE (<i>Camellia sinensis</i>).....	33
1.7.1. TÉ VERDE Y SU COMPOSICIÓN	33
1.7.2. TÉ VERDE MATCHA	34
1.7.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL TÉ VERDE MATCHA	36
1.7.3.1. CONTENIDO DE CATEQUINAS	36
1.7.3.2. CONTENIDO DE CAFEÍNA	36

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

1.7.3.3.	CONTENIDO DE ÁCIDOS FENÓLICOS	37
1.7.3.4.	CONTENIDO DE VITAMINA C	37
1.7.3.5.	CONTENIDO DE TEANINA	37
1.8.	ALIMENTOS FUNCIONALES	38
1.9.	PROBIÓTICOS.....	38
1.10.	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	40
1.11.	ENCAPSULACIÓN.....	41
1.11.1.	MÉTODOS DE ENCAPSULACIÓN	42
1.11.2.	ENCAPSULACIÓN POR EMULSIÓN	42
1.11.3.	ENCAPSULACIÓN MEDIANTE SECADO	43
1.11.4.	ENCAPSULACIÓN POR GELIFICACIÓN IÓNICA.	43
1.11.5.	ENCAPSULACIÓN POR EXTRUSIÓN	44
1.12.	MATERIALES DE RECUBRIMIENTO.....	44
1.12.1.	ALGINATO DE SODIO (ALGNA).....	45
CAPÍTULO II	48
2.1. ANTECEDENTES	48
2.2. JUSTIFICACIÓN	51
2.3. OBJETIVOS	53
2.3.1.	OBJETIVO GENERAL	53
2.3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	53
CAPITULO III	55
MATERIALES Y MÉTODOS	55
3.1.	MATERIALES.....	55
3.2.	MÉTODOS	56
3.2.1.	RECEPCIÓN DE LA PIÑA	56

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

3.2.2. ACTIVACIÓN Y PROPAGACIÓN DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	56
3.2.3. ENCAPSULACIÓN POR EXTRUSIÓN DE LA BACTERIA PROBIÓTICA <i>Lactobacillus acidophilus</i> .	57
3.2.4. PREPARACIÓN DEL JUGO DE PIÑA (<i>ANANAS COMOSUS</i>) VARIEDAD MD2	59
3.2.5. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA BEBIDA FUNCIONAL	60
3.2.6. SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (93.2.12)	61
3.2.7. AZÚCARES REDUCTORES POR EL MÉTODO VOLUMÉTRICO DE LANE & EYNON	61
3.2.8. ACIDEZ TITULABLE DE ACUERDO AL MÉTODO DE LA AOAC 942.15	62
3.2.9. pH MEDIANTE UN POTENCIÓMETRO	63
3.2.10. DETERMINACIÓN DE COLOR	63
3.2.11. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES SOLUBLES	63
3.2.12. FRAP (PODER ANTIOXIDANTE/REDUCCIÓN FÉRRICA)	64
3.2.13. MÉTODO 2,2'-AZINOBIS-(3-ETILBENZOTIAZOLINA-6-SULFÓNICO) O ABTS	64
3.2.14. VIABILIDAD DE <i>L. acidophilus</i> EN LA BEBIDA FUNCIONAL DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A $4 \pm 1^\circ \text{C}$	65
3.2.15. EVALUACIÓN SENSORIAL	66
3.2.17. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	67
CAPÍTULO IV	69
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
4.1. EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL JUGO DE PIÑA Y POLVO DE TÉ VERDE MATCHA	69

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

4.2. VIABILIDAD DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> DE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES.	70
4.3. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA Y RENDIMIENTO DEL ENCAPSULADO DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> A DIFERENTES CONCENTRACIONES.	71
4.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SOLIDOS SOLUBLES TOTALES EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4 ± 1 °C.	72
4.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AZÚCARES REDUCTORES EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4 ± 1 °C.	73
4.5. DETERMINACIÓN DEL PH EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y <i>L. acidophilus</i> ENCAPSULADO DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4 ± 1 °C.	74
4.6. VARIACIÓN DE PH DE LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y <i>Lactobacillus acidophilus</i> LIBRE DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO.	76
4.7. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y <i>L. acidophilus</i> ENCAPSULADO DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4 ± 1 °C.	77
4.8. VARIACIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ DE LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y <i>Lactobacillus acidophilus</i> LIBRE DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO.	78
4.9. VIABILIDAD DEL <i>Lactobacillus acidophilus</i> EN EL SISTEMA ENCAPSULADO DE LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO.	79

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

4.10. VIABILIDAD DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> EN EL SISTEMA LIBRE EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO.....	80
4.11. DETERMINACIÓN DE COLOR DE LAS BEBIDAS SELECCIONADAS CON LA MEJOR VIABILIDAD DEL <i>Lactobacillus acidophilus</i> ENCAPSULADO..	82
4.12. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES SOLUBLES EN BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MACHA Y <i>Lactobacillus acidophilus</i> ENCAPSULADO.	83
4.13. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y <i>Lactobacillus acidophilus</i> ENCAPSULADO.....	85
4.14. FRAP (PODER ANTIOXIDANTE/REDUCCIÓN FÉRRICA) EN BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MACHA Y <i>Lactobacillus acidophilus</i> ENCAPSULADO.	86
4.15. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO ABTS•+ EN BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MACHA Y <i>Lactobacillus acidophilus</i> ENCAPSULADO.	87
4.16. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS BEBIDAS DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y <i>Lactobacillus acidophilus</i> ENCAPSULADO DURANTE 14 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4±1 °C.....	89
4.17. EVALUACIÓN SENSORIAL.....	90
5. CONCLUSIONES	94
REFERENCIAS	96

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de activación y propagación de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	57
Figura 2. Proceso de obtención de los encapsulados de AlgNa-Goma Xantana con <i>L. acidophilus</i>	58
Figura 3. Proceso de extracción del jugo de piña.....	60
Figura 4. Determinación de sólidos solubles.	61
Figura 5. Viabilidad del <i>L. acidophilus</i>	66
Figura 6. Cambio de pH en el sistema encapsulado de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y <i>L. acidophilus</i> durante 21 días de almacenamiento a 4 ° C.	75
Figura 7. Cambio de pH en el sistema libre de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y <i>L. acidophilus</i> durante 21 días de almacenamiento a 4 ° C.	76
Figura 8. Determinación de acidez en sistema encapsulado de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y <i>L. acidophilus</i> durante 21 días de almacenamiento a 4° C.	78
Figura 9. Determinación de acidez en sistema libre de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y <i>L. acidophilus</i> durante 21 días de almacenamiento a 4° C.	78
Figura 10. Viabilidad de <i>L. acidophilus</i> en el sistema encapsulado durante 21 días de almacenamiento a 4° C.	80
Figura 11. Viabilidad de <i>L. acidophilus</i> en el sistema libre durante 21 días de almacenamiento a 4° C.	81
Figura 12. Cuantificación de polifenoles solubles de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y <i>L. acidophilus</i>	84
Figura 13. Contenido de flavonoides de las bebidas seleccionadas	86
Figura 14. Contenido de flavonoides de las bebidas seleccionadas	87
Figura 15. Contenido de ABTS•+ de las bebidas seleccionadas.....	88
Figura 16. Características sensoriales de las bebidas seleccionadas.....	91
Figura 17. Evaluación sensorial escala hedónica.....	92

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Componentes principales de la piña MD-2 (por 100g)	31
Tabla 2. Compuestos fenólicos existentes en las hojas frescas de té (% del extracto seco).	34
Tabla 3. Bacterias probióticas	40
Tabla 4. Materiales de recubrimiento	45
Tabla 5. Tratamientos elaborados.....	55
Tabla 6. Determinación fisicoquímica.....	56
Tabla 7. Especificaciones según la NOM-130-SSA1-1995 para jugos y néctares pasteurizados	67
Tabla 8. Análisis fisicoquímico, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del jugo de piña y té verde matcha.....	69
Tabla 9. Viabilidad en 1 g de cápsula de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	70
Tabla 10. Eficiencia y Rendimiento del encapsulado de <i>L. acidophilus</i>	72
Tabla 11. Contenido de solidos solubles totales en la bebida de jugo de piña-té verde matcha durante 21 días de almacenamiento a 4 ± 1 °C	73
Tabla 12. Contenido de azúcares reductores en la bebida de jugo de piña-té verde matcha durante 21 días de almacenamiento.....	74
Tabla 13. Parámetro de color de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y <i>Lactobacillus acidophilus</i> encapsulado.....	82
Tabla 14. Recuento de microorganismos patógenos de las bebidas seleccionadas de <i>L. acidophilus</i> en sistema encapsulado durante 14 días de almacenamiento a 4 ± 1 °C.....	90

INTRODUCCION

INTRODUCCIÓN

Los ingredientes y alimentos funcionales se refieren a los alimentos que brindan beneficios adicionales para la salud además del valor nutritivo habitual del alimento, ejemplos conocidos de alimentos funcionales son aquellos que contienen compuestos bioactivos, como fitoquímicos, fibra dietética y bacterias activas “amigables”, por ejemplo, los probióticos (Jankovic et al., 2010; Shah y Prajapati 2013). Los probióticos son microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas ejercen un efecto beneficio en la salud del huésped. Los probióticos suelen presentar una alta susceptibilidad frente a tratamientos térmicos, medios ácidos y almacenamiento. Esta situación hace necesario, aplicar tecnologías que favorezcan su estabilidad y viabilidad para permanecer fisiológicamente activos al momento del consumo. Existen tecnologías como la encapsulación, el cual permiten mejorar la estabilidad de los probióticos al protegerlos mediante un material de recubrimiento, utilizando materiales de recubrimiento como el alginato de sodio. El alginato de sodio ha sido uno de los materiales más utilizados para el encapsulamiento de bacterias probióticas, las propiedades bioadhesivas de este polímero facilitan el recubrimiento con otros polímeros e influyen en la velocidad de liberación de los compuestos activos encapsulados. Los principales alimentos probióticos en el mercado son los productos lácteos fermentados se han considerado convencionalmente como los portadores más excelentes de probióticos, sin embargo, el uso de productos lácteos también puede verse limitado por los problemas de intolerancia a la lactosa, alergias y vegetarianismo. Por lo tanto, en los últimos años se ha explorado ampliamente varias materias primas para determinar si son sustratos apropiados para producir nuevos alimentos no lácteos. Los jugos de frutas representan un portador prometedor para bacterias probióticas y no contienen alérgenos. La piña es una fruta que tiene propiedades promotoras de la salud con efectos antimicrobianos, anticancerígenos, antioxidantes. El jugo de piña puede ser un portador adecuado para cultivos probióticos ya que posee nutrientes benéficos como minerales, fibra, vitaminas y antioxidantes, un sabor agradable que es disfrutado por personas de todas las edades. Por otro lado, el té

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

verde es una bebida que se consume en todo el mundo, matcha es un tipo de té verde que se produce secando y moliendo las hojas de té (*Camellia sinensis*) es un polvo fino, contiene catequinas, teanina y cafeína. En el trabajo de investigación se planteó desarrollar de una bebida de jugo de piña y té verde matcha adicionada con *Lactobacillus acidophilus*.

MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. INGREDIENTES Y ALIMENTOS FUNCIONALES

Un alimento funcional se refiere a un alimento natural, al que se le ha añadido o ha eliminado un componente, se le ha modificado su naturaleza de uno o varios de sus componentes, la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes ha sido modificada o cuando se ha producido cualquier combinación de las anteriores. Los ingredientes con propiedades funcionales pueden ser macronutrientes (péptidos, almidón, ácidos grasos omega 3.), micronutrientes (minerales o vitaminas), o no nutrientes (antioxidantes), pero es necesario que ejerzan sus efectos benéficos al ser consumido en el contexto de un alimento, dentro de una dieta convencional y en una cantidad en que habitualmente es ingerido (Cencic et al., 2011). Los productos funcionales que actualmente se ofrecen en el mercado son las bebidas, las más emergentes de todas las categorías por su conveniencia y posibilidad de satisfacer las necesidades de los consumidores en términos de contenido, tamaño, forma y apariencia, por su facilidad de distribución y almacenamiento, por su larga vida útil y por la oportunidad de incorporar nutrientes y componentes bioactivos fácilmente, así como bacterias probióticas (Jiménez-Cucaita, 2017). Existen diferentes tipos de productos comerciales como: bebidas lácteas incluyendo bebidas probióticas y bebidas enriquecidas con minerales y omegas, bebidas de frutas y vegetales, bebidas deportivas y energizantes (Corbo et al., 2015).

1.2. BEBIDAS VEGETALES

Los jugos y bebidas a base de frutas forman parte de una dieta equilibrada que asegura la salud y el vigor del cuerpo. Participan activamente en la regeneración celular, desintoxicación y tratamiento de muchas enfermedades, siendo recomendado por nutricionista para un estilo de vida saludable (Butu et al., 2019). Las bebidas naturales de frutas y verduras son sabrosas, nutritivas y rico en vitaminas, minerales y fitonutrientes, más precisamente en compuestos bioactivos

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

naturales que interactúan positivamente con las fibras alimentarias y otras sustancias extraídas de los alimentos. Aunque los productos de origen vegetal, como las frutas presentan algunos obstáculos, pueden considerarse sustratos ideales para cultivos probióticos también contienen nutrientes como vitaminas, minerales, carbohidratos, fibra y compuestos antioxidantes.

Algunos alimentos se distinguen por su contenido, cualitativo y cuantitativo de compuestos bioactivos. Los fitoquímicos más comunes presentes en el té verde son catequinas principalmente flavonoides, cafeína y teofilina. Mientras que, en los cítricos, los terpenoides responsables de su distintivo aroma y en las frutas tropicales son las vitaminas (C y E), compuestos fenólicos y fibra dietética, estos compuestos ha sido relacionados como compuestos benéficos para la salud (Dubey et al., 2020)

1.3. BENEFICIOS PARA LA SALUD DE CONSUMIR JUGOS DE FRUTAS

Estudios de relación entre el consumo de verduras y frutas y diferentes aspectos de la salud nos permite identificar los beneficios que estos aportan. La OMS estima que, en 2017, unos 3.9 millones de muertes se debieron a un consumo inadecuado de frutas y verduras debido principalmente a las enfermedades cardiovasculares. De hecho, el aumento del consumo de estos alimentos disminuye el riesgo de mortalidad. Concretamente por cada 100 g de frutas que añadimos a nuestra dieta, se reduce el riesgo de enfermedad coronaria e infarto. Además, consumir frutas disminuye la probabilidad de sufrir hipertensión (OMS, 2018).

Para tratar la deficiencia de potasio, magnesio o calcio, son beneficiosas las bebidas a base de melón, albaricoque, melocotón o brócoli. Las enfermedades del corazón se pueden prevenir con bebidas de piña. Por otro lado, las bebidas carbonatadas, los cocteles de frutas y las bebidas energéticas se encuentran entre las bebidas más dañinas. Sin embargo, se aporta menos información sobre los beneficios del consumo de zumos de frutas y hortalizas en la calidad de la dieta (Rodino et al., 2019).

1.4. ANTIOXIDANTES EN FRUTAS Y VERDURAS

Los antioxidantes son en realidad compuestos naturales que se pueden encontrar en frutas y verduras y tienen un papel importante en la estimulación y promoción de la salud del cuerpo y en ayudarlo a hacer frente a los ataques ambientales internos y externos. Comprenden un gran clase de compuestos, que incluyen vitaminas, minerales y polifenoles. El aporte de los antioxidantes naturales en la prevención y tratamiento de enfermedades es de primordial importancia. Con tales aliados, el sistema inmunitario puede combatir y neutralizar la agresión mucho más rápido y así evitar la aparición de desequilibrios que se traducen en homeostasis corporal por enfermedad, inflamación, enfermedades degenerativas (Butu et al., 2019).

Las fuentes más importantes de antioxidantes se encuentran en la naturaleza, en formas complejas y nunca solas. Los complejos polivitamínicos que aportan las frutas y las verduras son muy beneficiosos para todo el organismo y pueden ayudar a estimular el sistema inmunitario para que podamos protegernos frente a una gama amplia de afecciones. Con el tiempo los especialistas han analizado el contenido de antioxidantes de más de 100 frutas, verduras, cereales, nueces y especias.

Saikia et al. Seleccionó 13 frutas de la región de Assam, India, para estudiar su contenido fitoquímico y su actividad antioxidante. Sus resultados mostraron que el jamun negro tiene el contenido fenólico total más alto seguido de litchi, bogi jamun y carambola. El potencial antioxidante reductor férrico más alto se encontró en Amla. La actividad de eliminación de radicales DPPH de amla, litchi estuvo por encima del 90%. Los extractos de frutas se estudiaron en RP-HPLC (cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa) y los resultados mostraron la presencia de ácido ascórbico, ácidos fenólicos y flavonoides con una composición y contenido diferente según el tipo de fruta (Saikia et al., 2016).

Actualmente en la industria alimentaria se están buscando nuevas formulaciones, sabores para mejorar la composición química de las bebidas a base de frutas. Debido a que los consumidores están cada vez más interesados en consumir comidas y bebidas saludables, por lo que es importante la formulación de nuevas

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

bebidas usando probióticos (*L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. lactis*, etc.), frutos de la región (mango, sandía y piña) y plantas que puedan ayudar a cumplir este objetivo, uno de estos sabores pueden ser añadiendo la piña que es un fruto de la región y el cual es muy producido y así aprovechar sus nutrientes en esta bebida de jugo de fruta así también la adición de plantas como el té verde matcha el cual presenta composición alta en antioxidantes la cual ayudaría a fortificar esta bebida y así ser una bebida funcional.

1.5. PIÑA (*Ananas comosus*)

La piña es una fruta tropical ampliamente cultivada en América del Sur que puede consumirse fresca o procesada en diversos productos alimenticios. Ocupa el tercer lugar en producción de frutas tropicales después del banano y los cítricos. El mercado de la piña ha crecido ampliamente debido a los atractivos compuestos aromáticos y los valores nutricionales, así como a la gran demanda y los precios minoristas competitivos. La piña se cultiva principalmente en las regiones tropicales y subtropicales debido al clima templado y la distribución de las lluvias. El cultivo puede dar frutos en una etapa temprana después de la floración, lo que permite la producción de rendimiento durante todo el año (Shamsudin, Zulkifli y Kamarul Zaman, 2020).

Debido al alto reconocimiento de los valores nutricionales y beneficiosos de la piña, es una oportunidad de oro para que los productores de frutas accedan a los mercados nacionales e internacionales de la fruta. El nivel de madurez, el tipo de cultivo, las condiciones climáticas y el manejo postcosecha son varios factores que contribuyen a las propiedades químicas y bioquímicas presentes en la piña. En los últimos años, la piña ha ganado mucha atención ya que la composición nutricional ha contribuido a los usos potenciales como alimento funcional y diversos productos a base de piña. Un estudio previo realizado por Hussein (2018) identificó que las piñas son ricas en compuestos de éster, incluidos metil-2-metilbutanoato, metil-3-(metiltiol) propanoato, metil octanoato y 2-metoxi-4-vinil fenol que están asociados con la calidad del sabor de diferentes tipos de variedades de piña. En este sentido,

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

los diferentes niveles de madurez de la piña provocan cambios en la composición química y diferentes perfiles de aroma de la fruta, especialmente durante el almacenamiento.

Con base en la composición fisicoquímica y los valores nutricionales, la piña puede considerarse como una de las frutas más útiles para la fabricación de compuestos de valor agregado como antioxidantes, ácidos orgánicos, bromelina y compuestos fenólicos. Barretto y col. (2013) extrajo compuestos volátiles de la pulpa de la piña para utilizarlos como productos que mejoran el aroma, así como para la producción de esencias naturales. Asimismo, los beneficios para la salud de la piña también se asocian con diferentes fitoquímicos y bioactividad funcional para mantener el metabolismo y mejorar la salud humana. Los compuestos bioactivos típicos de la piña son principalmente compuestos fenólicos y flavonoides que están presentes en las partes morfológicas del fruto (Lobo y Yahia, 2016).

1.5.1 FISIOLÓGÍA Y CARACTERÍSTICAS DE LA PIÑA MD2

La piña es una fruta exótica muy valorada por su aroma, sabor y jugosidad. Hasta la fecha, existen muchas variedades de piña con varios colores, formas, tamaños y sabores. Es una especie de gran demanda comercial, entre las variedades más promisorias se encuentra la MD2 la cual ha acaparado la atracción del consumidor en los últimos años.

Por lo general, los indicadores de madurez de la piña se evalúan en función de los atributos físicos, fisicoquímicos y químicos de la fruta con sabor y características morfológicas aceptables (Nadzirah *et al.*, 2013). Aparte de las diferencias varietales y las etapas de madurez, la calidad y la vida útil de la piña está fuertemente influenciada por el manejo y manejo postcosecha (MPIB, 2020).

La piña posee diferentes valores de composición con diferentes variedades y estados de madurez del fruto. Hasta la fecha, existen más de 100 variedades de piña en las que solo se cultivan comercialmente de 6 a 8 variedades (Steingass *et al.*, 2020). La variedad principal es Smooth Cayenne, que comprende más del 70% de la piña cultivada en todo el mundo. Recientemente, ha sido sustituido por el

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

exitoso híbrido MD-2 que se produjo a partir de la hibridación de Smooth Cayenne. La variedad MD-2 tiene un alto contenido de azúcar, una vida útil más larga y es más aromática en comparación con otras variedades de piña (Hossain, 2016).

1.5.2 COMPOSICIÓN FISICOQUÍMICA

La composición fisicoquímica es vital para la piña, debido al efecto potencial sobre la calidad y la vida útil de diferentes tipos de variedades de piña. La piña MD2 es un híbrido conocido como “Honey Golden”, “Golden Sweet” o “piña miel”, resultado de una mezcla compleja de variedades, donde más del 50 % corresponde a Cayena Lisa (Cerrato, 2013). En la hibridación de la piña miel se buscó mayor dulzura, así como la uniformidad y consistencia en tamaño y madurez. Las piñas se sintetizan normalmente para obtener una composición fisicoquímica favorable para usos específicos, que dependen principalmente de las estructuras químicas y las condiciones de procesamiento. La composición fisicoquímica de la piña está estrechamente relacionada con los atributos sensoriales como el aroma (compuestos volátiles) y el sabor.

1.5.3. VALORES NUTRICIONALES

La piña contiene principalmente carbohidratos y agua que son fuentes vitales de fibra dietética, azúcares, ácidos orgánicos, vitaminas (ácido ascórbico, niacina y tiamina) y minerales (magnesio, manganeso y cobre), la fruta de la piña también contiene una enzima proteolítica llamada bromelina que ayuda en el proceso de digestión, además de ser esencial para los efectos terapéuticos asociados con la bromelina. La bromelina tiene varios usos potenciales como agente antiinflamatorio, antioxidante, anticanceroso y cardioprotector (Zdrojewicz *et al.* 2018).

Además, la bromelina en la piña es útil para aliviar los trastornos menstruales, lo cual es beneficioso para las mujeres, especialmente durante el embarazo y la menstruación, ya que reduce la acumulación excesiva de agua en el cuerpo (Khalid, Suleria y Ahmed, 2016). Sin embargo, quienes toman medicamentos como antibióticos, barbitúricos, benzodiazepinas y antidepresivos deben tener cuidado con el consumo excesivo de piña, ya que algunos medicamentos tienen efectos

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

secundarios. Las composiciones químicas y nutricionales de la piña, ya sea la pulpa de la fruta o el jugo de fruta, varían en términos de composición aproximada, minerales y vitaminas, como se puede mostrar en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes principales de la piña MD-2 (por 100g)

Constituyentes	Pulpa de piña	Jugo de piña
Composición próxima		
Proteína	0.5	0.4
Carbohidratos	11.7	12.1
Grasa	0.5	0.1
Azúcares totales	10.5	12.1
Fibra	1.2	0.2
Cenizas	0.3	0.4
Minerales		
Calcio	8.0	8.1
Magnesio	15.0	13.6
Potasio	140.0	134.0
Hierro	0.17	0.2
Manganeso	0.8	1.2
Sodio	5.0	5.2
Cobre	0.06	0.04
Fósforo	8.1	9.8
Zinc	0.08	0.08
Vitaminas		
Ácido ascórbico	46.1	14.0
Folato	19.6	23.0
Niacina	0.3	0.3
Tiamina	0.1	0.1
Riboflavina	0.03	0.02

Fuente: (ANSES, 2020).

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

En las bebidas a base de frutas además de adicionarse otros componentes como la piña y el té verde también se le pueden agregar bacterias probióticas, el uso de estas bacterias va a depender del sistema donde sea adicionado, y debido a su composición ácida es importante que el *Lactobacillus* o la bacteria que sea adicionado resista estas condiciones, dentro de los *Lactobacillus* o bacterias probióticas que pueden resistir estas condiciones son, por ejemplo, *L. plantarum*, *L. bifidus*, *L. fermenti* dentro de la cuales se encuentra el *L. acidophilus* para ser utilizado como probióticos y obtener una bebida funcional probiótica.

1.6. PRODUCCIÓN DE PIÑA NACIONAL Y REGIONAL

La Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural reportó que México produjo en 2020 un millón 209 mil toneladas de piña considerada la reina de las frutas tropicales, cifra que implicó un crecimiento de 16.2%. Oaxaca es la segunda entidad con mayor producción de piña con 156 mil 497 toneladas, mientras que la región de la Cuenca del Papaloapan se posiciona como una de la más idóneas en este cultivo.

En el ranking mundial, México se ubica en el noveno lugar en producción del fruto tropical con la obtención de 999 mil 861 toneladas registradas hasta el año pasado, lo que permite mayores excedentes para su exportación, y a su vez, la ampliación de los países a los que llega la piña.

La región de la Cuenca del Papaloapan es considerada como la zona de mayor producción del fruto, sobre todo los municipios de Loma Bonita con 122 mil 219 y San Juan Bautista Tuxtepec 45 mil 240. La producción de piña tiene un valor comercial de alrededor de 2 mil 899 millones de pesos y un consumo anual per cápita de 6.9 kilogramos.

El titular de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Pesca y Acuicultura (SEDAPA), Carlos Grau López recordó que Oaxaca es el séptimo estado con mayor producción en el país al generar alrededor de 318 mil toneladas anuales. Las características geográficas adecuadas para la producción es contar con una altitud menor a los 800 metros sobre el nivel del mar, lluvias de mil a mil 500 milímetros,

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

temperaturas de 25 a 27 °C, suelos arenosos, arcillo arenosos con pH entre 4.5 y 5.5.

La piña o ananá es una fruta rica en vitaminas, ácido fólico, fibra y de un delicioso sabor, por lo que su consumo y producción, en cuanto a frutas tropicales se refiere, es uno de los más importantes a nivel mundial (SEDAPA, 2022).

1.7. TÉ VERDE (*Camellia sinensis*)

La planta del té *Camellia sinensis* se cultiva en más de 30 países y es la bebida preparada más consumida en todo el mundo. Incluso en los Estados Unidos, donde el té no es un cultivo nativo, se estima que las importaciones totales de té exceden los 6742.88 mil con ventas de hasta \$ 8.2 mil millones cada año. De las principales variedades de té, el té verde se procesa mínimamente, en comparación con té negro, de tal manera que su alto contenido en catequinas monoméricas se conserva.

Los beneficios para la salud del té verde a menudo se atribuyen a las actividades antioxidantes y antiinflamatorias de sus catequinas que regulan eficazmente las respuestas al estrés oxidativo que conducen a enfermedades crónicas (Bruno *et al.*, 2014).

1.7.1. TÉ VERDE Y SU COMPOSICIÓN

El té verde es un producto mínimamente procesado que se produce a partir de hojas recién cosechadas de la planta del té (*Camellia sinensis*). A diferencia de otros productos de té, como el té verde, tés negro y oolong, las hojas de té destinadas para el té verde se cosechan, se marchitan inmediatamente y se cuecen al vapor o se fríen en una sartén para inactivar rápidamente el polifenol oxidasa y preservar su carácter fresco y su perfil polifenólico monomérico (Frei y Higdon, 2003).

Por lo tanto, estos oportunos procesos de postcosecha conservan las catequinas que de otro modo se habrían oxidado. De hecho, las catequinas representan aproximadamente un tercio del peso seco de las hojas de té, siendo las ocho

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

principales catequinas del té verde, el galato de epigalocatequina (EGCG), galato de galocatequina (GCG), galato de epicatequina (ECG), galato de catequina (CG), epigalocatequina (EGC), galocatequina (GC), epicatequina (EC) y catequina (C). De estos compuestos, EGCG, EGC, ECG y EC son los más comunes en las hojas de té y los productos de té elaborados (Graham, 1992). EGCG es el representante más abundante ~ 50% del contenido total de catequinas y exhibe la mayor actividad antioxidante.

Tabla 2. Compuestos fenólicos existentes en las hojas frescas de té (% del extracto seco).

Compuesto	Cantidad
(-)-Epicatecol	1-3
(-)-Galato de epicatecol	3-6
(-)-Digalato de epicatecol	+ a
-)-Epigalocatecol	3-6
(-)-Galato de epigalo-catecol	+
(+)-Catecol	1-2
(+)-Galocatecol	3-4
Flavonoles y glicósidos de flavonoles (quercetina, canferol, etc.)	+
Flavonas (vitexina, etc)	+
Leucoantocianos	2-3
Ácidos fenólicos y esteres (ácido gálico, ácidos clorogénicos, ácidos <i>p</i> -cumaroilquínico, teogalina)	5
Total, fenoles	25-35

^a No se dispone de datos cuantitativos.

Fuente: Baltés (2007).

1.7.2. TÉ VERDE MATCHA

El té verde matcha es un tipo de té verde en polvo de origen japonés de consumo común a nivel mundial y cuya frecuencia va en aumento (Jakubezyk et al., 2020). Este té se obtiene de la misma planta del té *Camellia sinensis* fundamentalmente

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

en el norte de India y el sur de China. El té matcha se caracteriza por su alto contenido en antioxidantes y sustancias antiinflamatorias, lo cual se le atribuye a la forma tradicional en la que se cultiva, basada en el sombreado de la planta durante el crecimiento, lo que mejora los procesos de síntesis y acumulación de compuestos bioactivos como clorofila, cafeína, teanina y diversos tipos de catequinas (Cao et al., 2019). Tales compuestos bioactivos poseen efectos benéficos contra diversas enfermedades como diabetes, hepatopatías, obesidad, cáncer y enfermedad cardiovascular (ECV). Dentro de la composición del té verde matcha se encuentran las catequinas, las cuales poseen una actividad antioxidante excepcional al contar con la capacidad de neutralizar radicales libres y potenciar la actividad enzimática de la glutatión peroxidasa, la glutatión reductasa y la catalasa, todas ellas enzimas importantes en el mantenimiento de la homeostasis del potencial celular de oxidación redox.

El té verde matcha está compuesto por cuatro catequinas principales, las cuales son la galato de epigalocatequina (EGCG), epigalocatequina (EGC), galato de epicatequina (ECG) y epicatequina (EC), siendo la primera la más abundante. La EGCG ha demostrado impactar en la reducción de lesión miocárdica y anomalías lipídicas, ejerciendo de esta manera un efecto protector en el músculo cardíaco, lo que previene la inflamación cardíaca. Por otro lado, inhibe la activación de la proteinquinasa activada por estrés y las vías de señalización que inducen a respuesta inflamatoria (Kochman et al., 2020). Estas y otros factores le confieren la característica de ayudar a la prevención de enfermedades cardiovasculares a través de diferentes vías moleculares. Además de las catequinas, otro de los importantes compuestos del té verde matcha son los flavonoides, los cuales corresponden a pigmentos naturales a base de fenilalanina con la capacidad de actuar de manera sinérgica con las catequinas (o de forma independiente) a manera de antioxidante y potencializador de antioxidantes endógenos.

Asimismo, se han descrito otros efectos benéficos de este compuesto como son su capacidad de causar vasodilatación y la reducción en la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL); de tal forma que se ha planteado que el té

verde matcha podría ser una bebida con efectos protectores sobre el sistema cardiovascular mediante el control preventivo de diferentes factores que pueden precipitar las patologías de dicho sistema.

1.7.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL TÉ VERDE MATCHA

Los beneficios para la salud del té verde surgen de la presencia de antioxidantes naturales como los polifenoles, se cree que los polifenoles son antioxidantes excepcionalmente poderosos, con efectos comparables a los de la vitaminas, como las vitaminas C y E, el caroteno y el tocoferol (Kochman et al.,2020).

1.7.3.1. CONTENIDO DE CATEQUINAS

Los estudios que confirman el alto potencial antioxidante de las bebidas de té afirman que se origina en el contenido considerable de catequinas, un tipo de compuesto fenólico con efectos beneficiosos para la salud humana. El té verde contiene cuatro catequinas principales, es decir, (-) -epicatequina (EC), (-) -epicatequina-3-galato (ECG), (-) -epigallocatequina (EGC) y (-) -epigallocatequina-3-galato (EGCG), de los cuales este último es el más activo y abundante. El alto contenido polifenólico tiene una mayor capacidad para eliminar los radicales libres que la vitamina C por sí sola. Los compuestos fenólicos se encuentran naturalmente en las hojas de *Camellia sinensis*. Por lo tanto, el matcha puede describirse como una fuente importante de catequinas en la dieta humana diaria (Benzie et al., 1999).

1.7.3.2. CONTENIDO DE CAFEÍNA

La cafeína es un compuesto esencial de las bebidas de té y es el responsable de su sabor distintivo y deseable. Es un poderoso antioxidante que se suma al potencial antioxidante de la bebida. Su nivel puede estar asociado con el momento de la cosecha y la edad de las hojas cuanto más viejas son las hojas, menor es el contenido de cafeína. Matcha tiene un contenido de cafeína relativamente alto en comparación con otros té verdes, lo que le da un aroma y sabor únicos (Kolácková et al., 2020).

1.7.3.3. CONTENIDO DE ÁCIDOS FENÓLICOS

Los ácidos fenólicos son metabolitos secundarios, caracterizados por un potencial antioxidante y antiinflamatorio, además de efectos neuroprotectores e hipoglucemiantes. Algunos ácidos fenólicos, mediante la modulación del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos, pueden contribuir a la regulación de los trastornos metabólicos (Naveed et al., 2018). Un análisis detallado reveló los siguientes niveles máximos de ácidos fenólicos en las muestras de té matcha, que difieren en términos críticos, incluidos el origen: ácido gálico 423µg/g.

1.7.3.4. CONTENIDO DE VITAMINA C

La vitamina C es un poderoso antioxidante exógeno. Por sus propiedades refuerza las defensas inmunológicas del organismo. Es un micronutriente esencial en la nutrición humana que debe suministrarse todos los días en cantidades adecuadas (Carr et al., 2017).

Jakubczyk y col. demostraron que las infusiones de té matcha contienen de 32,12 a 44,8 mg / L de vitamina C, dependiendo de la temperatura del agua utilizada para preparar la infusión y del tipo de té. En el estudio de KolC.Akova et al. 2020, se encontró que el matcha contiene más del doble de vitamina C que otros té verdes. Su contenido se determinó en 1,63-3,98 mg / g, según el tipo de producto y su origen.

1.7.3.5. CONTENIDO DE TEANINA

La teanina es un aminoácido que se encuentra en la planta del té *Camellia sinensis*. Debido al crecimiento a la sombra de las plantas destinadas a la producción de matcha, la teanina no se degrada. Como resultado, las hojas de Tencha contienen mayores cantidades en comparación con otros té. El contenido relativamente alto de teanina en el té matcha es responsable de su sabor no amargo único, y en combinación con la cafeína proporciona la sensación de sabor y la característica umami de este tipo de té. La combinación de l-teanina y cafeína puede mejorar la

concentración, la vigilancia y la eficacia en mayor medida que el uso de cualquiera de los compuestos por separado, aliviando además el estrés (Unno et al., 2019).

1.8. ALIMENTOS FUNCIONALES

El término alimento funcional se introdujo por primera vez en Japón en la década de 1980 y se refiere a alimentos procesados que contienen ingredientes que ayudan a funciones corporales específicas, además de ser nutritivos (Kaur et al., 2011). De acuerdo con la definición que otorga la ILSI establece que un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado que posee un efecto beneficioso sobre una o varias funciones específicas en el organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales y el bienestar o la reducción de riesgo de enfermar, un alimento funcional puede ser; un alimento natural, un alimento que se le ha agregado o eliminado un componente por alguna tecnología o biotecnología, un alimento donde la naturaleza de uno o más componentes ha sido variada, un alimento en el cual la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes ha sido modificada o cualquier combinación de las anteriores (FECYT, 2005)

1.9. PROBIÓTICOS

La palabra probiótico proviene de las palabras griegas “pro” y “biótico”, que significan “para la vida” y apareció el concepto de “probióticos”. Hace mucho tiempo a principios del siglo XX, el premio Nobel Elie Metchnikoff fue el primer microbiólogo en sugerir que la longevidad de los campesinos búlgaros podría estar relacionada con su consumo extensivo de leche agria que contenía *Lactobacillus bulgaricus* (Mitropoulou et al., 2013).

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped (FAO/OMS, 2001). Los microorganismos probióticos suelen estar disponibles como concentrados de cultivo en forma seca o ultracongelada, para añadirlos a un alimento para uso industrial o doméstico (Tripathi y Giri, 2014).

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

Pueden consumirse como productos alimenticios (fermentados o no fermentados) o como suplementos dietéticos (productos en forma de polvo, cápsula o tableta), y actualmente, el consumo de células probióticas transportadas por productos alimenticios es el enfoque más popular. La mayoría de los productos alimenticios probióticos se clasifican como alimentos funcionales y representan una parte significativa de estos alimentos. La demanda de alimentos funcionales probióticos está creciendo rápidamente debido a la mayor conciencia de los consumidores (Tripathi y Giri, 2014).

Inicialmente se anticipó que las cepas probióticas individuales de estos géneros o especies podrían producir los beneficios para la salud previstos utilizando los mecanismos citados anteriormente, pero a medida que aumentó el conocimiento sobre el uso de probióticos, quedó claro que, para obtener efectos óptimos, los probióticos mixtos deben formularse (Fredua-Agyeman et al., 2017).

En el proceso de selección de microorganismos probióticos se deben tener en cuenta varios aspectos relacionados con las características de seguridad, funcionales y tecnológicas. Muchos microorganismos pueden considerarse probióticos potenciales, pero solo unos pocos pueden satisfacer los criterios necesarios (Mitropoulou et al., 2013).

La primera especie de probiótico introducida en investigación fue el *Lactobacillus acidophilus* por Hull y cols. en 1984 y el *Bifidobacterium bifidum* por Holcomb y cols. en 1991. Han sido utilizados durante décadas como productos diarios fermentados; pero el uso potencial de los probióticos como terapia médica nutricional no ha recibido un reconocimiento formal. Los microorganismos deben cumplir con características específicas para que sean considerados como probióticos; algunas características son: resistencia al ácido o a la bilis, adhesión a las células intestinales presentes en los humanos, ser seguros en el momento del consumo, inhibir bacterias patógenas, poder colonizar el intestino y la sustentación de estudios que comprueben los posibles efectos benéficos en la salud, por lo que su adición a varios tipos de alimentos tales como leches fermentadas, quesos,

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

mantequilla y otros derivados lácteos, la cual también pueden ser introducidos en bebidas, la adición de estos microorganismos han aumentado considerablemente en la tabla 3 se enlistan los microorganismos que son considerados probióticos, que dentro de las cuales se encuentra el *L. acidophilus*.

Tabla 3. Bacterias probióticas

Lactobacilos	Cocos Gram positivos	Bifidobacterias	Levaduras
<i>L. acidophilus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. casei</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>B. adolescentes</i>	<i>boulardii</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. brevis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>B. longum</i>	
<i>L. curvatus</i>	<i>S. diacetylactis</i>	<i>B. termophilus</i>	
<i>L. fermentum</i>			
<i>L. reuteri</i>			

Fuente: Cervantes-Negrete, 2014

Debido a las condiciones de la bebida que se pretende realizar se cree o se espera que el *Lactobacillus acidophilus* debido a las condiciones en la que trabaja puede ser el más adecuado.

1.10. *Lactobacillus acidophilus*

El *Lactobacillus acidophilus* fue propuesto por primera vez hace más de 100 años en 1901 por M. W. Beijerinck. Las especies acidófilo (que significa “amante del ácido”) se llamó así quizás porque, históricamente, los *lactobacilos* se aíslan del tracto intestinal y la vagina de humanos y animales, donde el ambiente puede ser bastante ácido. *Lactobacillus acidophilus* una de las especies más reconocidas del género *Lactobacillus*. Esto se debe principalmente a la comercialización de esta

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

especie en varios alimentos fermentados y suplementos dietéticos que promueven la salud (Gomes y Macalta, 1999).

Morfológicamente, el *L. acidophilus*, comprende bacilos gram positivos que no forman esporas con extremos redondeados, generalmente el tamaño es de 0.6 a 0.9 μm de ancho y 1.5–6 μm de longitud que ocurren solos, en parejas y en cadenas cortas. No son flagelados e intolerantes a la sal. Las colonias en medios de agar suelen ser pequeñas (2 a 5 mm) con márgenes bien definidos, convexas, lisas, brillantes y opacas sin pigmentos.

Lactobacillus acidophilus es una especie termófila homofermentativa que crece de manera óptima a 35–40 °C, pero es capaz de crecer a temperaturas tan altas como 45 °C. También tiene un crecimiento óptimo a valores de pH entre 5.5 y 6.0 (Sha, 2007; Yerlikaya, 2014). Sin embargo, Alterman et al. (2005) informó la temperatura óptima de crecimiento a 37–42 °C, dependiendo de la cepa y condiciones nutricionales, por ejemplo, tensión de oxígeno, cantidad de carbohidratos fermentables, vitaminas del complejo B, proteínas y minerales. Aunque la mayoría de las cepas son bastante aerotolerantes, el crecimiento óptimo se logra en condiciones microaerófilas o anaeróbicas los miembros de *L. acidophilus*. El grupo son organismos fastidiosos adaptados para crecer en sustratos orgánicos complejos. La especie requiere no solo carbohidratos como fuente de carbono, sino también nucleótidos, aminoácidos y vitaminas. Sin embargo, los probióticos suelen presentar una alta susceptibilidad frente a tratamientos térmicos, almacenamiento y medios ácidos por lo que se recurren a tecnologías para favorecer su estabilidad y viabilidad y permanecer fisiológicamente activos al momento del consumo existen tecnologías como la encapsulación.

1.11. ENCAPSULACIÓN

La encapsulación es la tecnología que envuelve y cubre completamente a los probióticos con una matriz sin que exista exposición superficial de los probióticos al medio externo (Pérez-Leonard et al, 2016). La encapsulación protege a los materiales encapsulados de diversos factores, tales como, calor, humedad entre

otros los cuales podrían afectar la estabilidad y viabilidad del material encapsulado, de igual forma se ha utilizado para disfrazar aromas y sabores con el fin de no afectar las características sensoriales en diversos alimentos, fármacos, entre otros.

1.11.1. MÉTODOS DE ENCAPSULACIÓN

La selección del método de encapsulación estará en función del tamaño medio de la partícula requerida, de las propiedades físicas del agente encapsulante, de la sustancia a encapsular, de las aplicaciones del material encapsulado propuesto, del mecanismo de liberación deseado y del coste (Villena et al., 2009).

Entre las técnicas de encapsulación utilizadas se encuentran:

- Encapsulación por emulsión.
- Encapsulación mediante secado
- Encapsulación por gelificación iónica.
- Encapsulación por extrusión

1.11.2. Encapsulación por emulsión

La técnica de encapsulación en emulsión se ha definido como el proceso de dispersión de un líquido en otro líquido inmiscible donde la fase dispersa consta de la matriz que incluye el componente a encapsular. La adición de una tensioactiva mejora la formación y estabilidad de la emulsión, así como la distribución de tamaño de las gotas (Lupo Pasin et al, 2015).

En este sentido, la preparación de microcápsulas por emulsificación puede llevarse a cabo empleando el mecanismo de gelificación externa o interna. Para el primer caso, la gelificación externa en emulsión consta en la dispersión de una mezcla solución de alginato-componente en una fase continua no acuosa, seguido de la adición de una fuente de calcio que al difundirse a la fase dispersa inicie la gelificación permitiendo la encapsulación, y a su vez, la desestabilización de la emulsión para la separación de las cápsulas formadas. Mientras que, la técnica en emulsión por gelificación interna se fundamenta en la liberación del ion calcio desde

un complejo insoluble o parcialmente soluble en cuyo caso se adiciona un agente secuestrante, contenido en una solución de alginato-componente el cual es dispersado en una fase continua no acuosa generando una emulsión agua en aceite (W/O).

La liberación del ion calcio ocurre con la adición de un ácido orgánico soluble en la fase continua que al difundirse disminuye el pH del medio solubilizando la sal y produciendo la gelificación. (Champagne y Fustier, 2007; Lupo-Pasin et al., 2015).

1.11.3. ENCAPSULACIÓN MEDIANTE SECADO

Consiste en la preparación de una emulsión o suspensión que contenga al compuesto a encapsular y el material polimérico, el cual es pulverizado sobre un gas caliente que generalmente es aire promoviendo así la evaporación instantánea del agua, permitiendo que el principio activo presente quede atrapado dentro de una película de material encapsulante. Las micropartículas en polvo obtenidas son separadas del gas a bajas temperaturas. Una de las grandes ventajas de este proceso es, además de su simplicidad, que es apropiado para materiales sensibles a altas temperaturas debido a que los tiempos de exposición son muy cortos (5 a 30 s) (Martín-Villena et al., 2009; de Vos et al., 2010; López-Hernández, 2010).

1.11.4. ENCAPSULACIÓN POR GELIFICACIÓN IÓNICA.

La encapsulación a través del método de gelificación puede proteger al núcleo de condiciones adversas del medio como pH, temperatura, disolventes orgánicos y contaminación. En esta técnica la formación de la cubierta de las cápsulas tiene lugar por una reacción de gelificación iónica entre un polisacárido y un ion de carga opuesta. También se conoce como método de goteo con alginato, éste ha sido extensamente utilizado debido a que es un método fácil de reproducir a nivel laboratorio. El proceso se lleva a cabo rápidamente y se puede encapsular cualquier tipo de sustancia ya sea hidrofóbico, hidrofílico, termosensible, líquido o sólido.

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

Es un proceso que se desarrolló para inmovilizar células, donde se utiliza principalmente alginato como componente de la membrana y la combinación con iones divalentes como el calcio, para inducir la gelificación (Pedroza, 2009).

1.11.5. ENCAPSULACIÓN POR EXTRUSIÓN

Este método consiste en producir pequeñas gotas de material encapsulado forzando el paso de una solución a través de una aguja de jeringa o de una boquilla en los dispositivos generadores de goteo. De esta manera, los microorganismos son adicionados a una solución hidrocoloide, cuya suspensión se hace gotear sobre una solución de endurecimiento, la cual va a variar en dependencia del material empleado. El tamaño de las cápsulas obtenidas va a depender del diámetro de salida de la solución porque mientras menor sea el diámetro de la aguja/boquilla menor será el tamaño de las cápsulas. Es una técnica ampliamente utilizada para la encapsulación de probióticos (Pérez-García, 2016).

A veces el proceso de encapsulación debe ser necesario la combinación de métodos para obtener las cápsulas, los métodos que pueden ser combinados es la gelificación iónica combinada con el método de extrusión, la cual pueden trabajar combinados o separados, es uno de los métodos a utilizar en la encapsulación ya que se ha observado que ha presentado una mejor protección hacia el probiótico en estudio. Existen diversos materiales que se ocupan para la encapsulación las cuales pueden ser los lípidos, polisacáridos (almidón y sus derivados amilosa, amilopectina, dextrinas maltodextrinas, celulosa y derivados), exudados y extractos de plantas (goma arábica, goma tragacanto, goma xantana, entre otras) carragenatos, alginatos, adicionalmente proteínas como suero lácteo y proteína aislada de soya, para la realización de los encapsulados se utilizará como materiales alginato de sodio.

1.12. MATERIALES DE RECUBRIMIENTO

Los materiales más utilizados para cubrimientos de encapsulados deben ser de grado alimenticio, biodegradables y capaces de formar una barrera entre la fase interna y su entorno. Los materiales tienen que proveer máxima protección al

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

material activo contra las condiciones ambientales, mantener los activos dentro de la estructura de la cápsula durante el procesamiento o el almacenamiento bajo varias condiciones, no reaccionar con el material encapsulado, tener buenas características reológicas a alta concentración si es necesario y tener la capacidad de facilitar el trabajo durante encapsulación. En la tabla 1 se muestran los principales materiales de recubrimiento más utilizados en la encapsulación de alimentos. Para este estudio el material de interés es el alginato de sodio, la cual servirá como agentes encapsulantes para el sistema *Lactobacillus acidophilus*.

Tabla 4. Materiales de recubrimiento

Tipo de material	Ejemplos
Proteínas	Albumina, caseinatos, gelatina, gluten, péptidos, proteínas de soya, proteínas de guisantes, proteínas de suero.
Azúcares simples	Fructosa, galactosa, glucosa, maltosa, sacarosa.
Carbohidratos/gomas	Quitosano, jarabe de maíz, ciclodextrina, jarabe de glucosa deshidratado maltodextrinas, almidones y derivados de almidones modificados, agar, alginatos, carragenina, goma arábica, pectinas, goma gelana.
Lípidos	Grasas y aceites comestibles, grasas fraccionadas, grasas duras, ceras de abeja.
Emulsificantes	Mono y diglicéridos, lecitina, liposoma, surfactantes de grado alimenticio.
Celulosa	Acetilcelulosa, carboximetilcelulosa, celulosa acetato butírico, celulosa acetato ftalato, etilcelulosa, metilcelulosa.

Fuente: Gari & McClements (2012)

1.12.1. ALGINATO DE SODIO (AlgNa)

El alginato de sodio ha sido uno de los materiales más utilizados para el encapsulamiento de bacterias probióticas, es cual es un polisacárido extraído

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

principalmente de algas marinas. Este polisacárido natural está constituido por unidades de ácidos D-manurónico y L-gulurónico unidos linealmente por enlaces 1,4-glucosídico (Mokarram et al., 2009; Salehi-Katouzi et al., 2011). Las propiedades bioadhesivas de este polímero facilitan el recubrimiento con otros polímeros. Las propiedades mecánicas y la permeabilidad de las cápsulas de alginato, por ejemplo, se pueden modificar utilizando policationes como el quitosano (Peniche et al., 2004) que son complejos con las cadenas de alginato cargadas negativamente e influyen en la velocidad de liberación de los compuestos activos encapsulados. El atrapamiento de compuestos en geles de alginato reticulados por iones metálicos como el calcio puede dar como resultado cápsulas insolubles en agua, pero muchas técnicas se limitan a la producción por lotes y son difíciles de escalar. (Sohail et al., 2011), varias investigaciones han demostrado que el alginato es utilizado comúnmente porque tiene beneficios de no ser tóxico, por su facilidad de formar gel y disponibilidad (Ortakci et al., 2012; Corbo et al., 2016).

ANTECEDENTES

CAPÍTULO II

2.1. ANTECEDENTES

Marhamatizadeh et al. (2013), evaluaron el efecto de la suplementación con extracto de té verde en leche probiótica y yogurt en post-acidificación, acidez titulable y recuento de bacterias probióticas: *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* durante 21 días de almacenamiento a 2 °C. Los resultados de este estudio demostraron la correlación positiva entre el aumento del crecimiento bacteriano y el aumento de la concentración de té verde. La suplementación con té verde influyó positivamente en la acidez inicial y el recuento de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* en comparación con la leche natural y el yogurt ($p < 0.05$) *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, se observó que concentraciones elevadas de extracto de té verde crean un sabor favorable en la leche y el yogurt. El análisis de las pruebas sensoriales del consumidor encontró que las muestras de yogurt y leche de té verde eran tan agradables como las muestras de yogurt y leche de control. Donde se concluyó que el extracto de té verde promovió el metabolismo de las bacterias del ácido láctico en la leche y el yogurt.

Rodríguez-Pérez et al., (2016), evaluaron el efecto de un multi-compuesto polimérico en la co-encapsulación de *Lactobacillus reuteri* expuesto a altas temperaturas, evaluando el efecto de un multi-compuesto polimérico utilizado en la co-encapsulación de *Lactobacillus reuteri* con un extracto del concentrado de fibra de bagazo de carambola (ECFBC) sobre la viabilidad de este sometido a condiciones extremas de temperatura. La suspensión activa (10^{11} UFC/mL) fue encapsulada mediante extrusión combinando alginato-goma xantana (Alg-GX) y un recubrimiento con quitosano (Qo) de bajo y medio peso molecular a 0.2 y 0.4%. Donde se calculó la eficiencia de encapsulación, los encapsulados fueron sometidos a altas temperaturas y se evaluó su viabilidad. Donde se concluyó que la utilización de quitosano de bajo peso molecular y ECFBC favorecieron la protección de *L. reuteri*.

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

Thakur y Sharma, (2017), evaluaron las propiedades fisicoquímicas y las características microbianas de una bebida probiótica desarrollada a partir de granada e inoculada con *Lactobacillus bulgaricus* (10%) y *Lactobacillus plantarum* (1:1) la cual fue fermentada por 7 días. Dentro de los parámetros fisicoquímicos realizados se determinó que la bebida tenía una concentración de sólidos totales solubles de 13°Brix, acidez titulable con 0.540%, un pH de 3.512, contenido de glucosa de 60.35 g/L, fructosa 62.82 g/L, azúcares totales 13.14%, azúcares reductores y no reductores 12.32 y 0.82%, ácido ascórbico 9.53 mg/100mL, polifenoles con 206.64 mg/100mL, taninos 0.114%, así como la evaluación del color de la bebida, donde se encontró diferentes tonalidades sin embargo se encontró que el color era rojo, y era el más aceptable para bebidas a base de granada. Además, se encontró que la viscosidad de la bebida disminuía con el aumento de temperatura. En cuanto al análisis microbiológico mostro un conteo de 10^9 UFC / mL, lo cual se consideró que era adecuado para mantener la salud del tracto gastrointestinal y también reportaron que estaba libre de levaduras, moho y bacterias, concluyendo que la bebida es un buen portador de cultivos probióticos y solo contiene beneficios para la salud.

Fernandes Pereira *et al.* (2017), evaluaron el impacto de las condiciones de fermentación sobre la calidad y las propiedades sensoriales de una bebida probiótica a base de capuassu (*Theobroma grandiflorum*). Las condiciones de fermentación que se evaluaron fueron, pH(5.8), temperatura(30°C) y tiempo de fermentación(18h) sobre la concentración de azúcares, ácidos orgánicos, actividad antioxidante durante la fermentación de la bebida, encontrando que la fructosa fue uno de los azúcares más consumidos (84.76%), seguidos de la sacarosa (62.10%) y la glucosa (34.52%) y la actividad antioxidante durante la fermentación, por otro lado también se logró encontrar el contenido de ácidos orgánicos presentes en el fruto lo cual fueron cítrico, ascórbico y quínicos también reportaron que es un buen soporte para el crecimiento del *Lactobacillus casei* encontrando células viables superiores a 9.34 Log UFC/mL, provocando que esta bebida tenga un valor

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

nutricional. Finalmente concluyeron que la aceptación de la bebida probiótica de este fruto puede ser aceptada como una bebida funcional alternativa.

JUSTIFICACIÓN

2.2. JUSTIFICACIÓN

La Justificación de este trabajo parte del hecho que los consumidores están cada vez más preocupados por la calidad de los alimentos y los problemas de salud. Por lo tanto, el desarrollo de alimentos innovadores mediante el uso de ingredientes funcionales para la prevención eficaz de enfermedades y la promoción de la salud es hoy en día de interés.

En este contexto, la adición de probióticos a bebidas de jugos de frutas las cuales son consideradas de alto consumo, resulta un reto debido a la susceptibilidad de la inactivación por acidez, pH y temperatura de los microorganismos probióticos durante la preparación del producto y almacenamiento, pudiendo ser complejo el comportamiento cuando se adiciona una fuente novedosa de compuestos bioactivos de origen vegetal para potenciar la funcionalidad del producto.

En el presente proyecto se plantea desarrollar una bebida funcional de jugo de piña con inclusión de polvo de té verde matcha y probióticos encapsulados por un método sencillo de implementar y económico para ayudar a mantener su estabilidad durante la elaboración del producto, el cual se espera que además de resultar en una bebida con propiedades probióticas presente propiedades antioxidantes así como las propiedades fisicoquímicas características de una bebida de jugo y sensorialmente aceptable al consumidor.

OBJETIVOS

2.3. OBJETIVOS

2.3.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una bebida probiótica de jugo de piña, té verde matcha (*Camellia sinensis*), *Lactobacillus acidophilus* encapsulado y caracterizar sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, antioxidantes y sensoriales.

2.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extraer el jugo a partir de rodajas de piñas (*Ananas comosus*) MD-2 y analizarlo fisicoquímicamente.
- Obtener encapsulados de *Lactobacillus acidophilus* a diferentes concentraciones.
- Elaborar la bebida de jugo de piña-té verde matcha-*Lactobacillus acidophilus* encapsulado y seleccionar tres tratamientos que muestren la mayor viabilidad probiótica.
- Evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* de los tratamientos seleccionados de bebida de jugo de piña-té verde matcha-*Lactobacilos acidophilus* encapsulado.
- Evaluar microbiológicamente los tratamientos seleccionados de la bebida de jugo de piña-té verde matcha-*Lactobacillus acidophilus* encapsulado.
- Realizar una evaluación sensorial de la bebida funcional.

METODOLOGÍA

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

El cultivo de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 fue adquirido por Kwik-Stik™, Microbiologics.

El cloruro de calcio, alginato de sodio y quitosano de Sigma Aldrich® para la elaboración de los encapsulados.

Las piñas serán adquiridas de San Juan Bautista Tuxtepec.

El té verde de una marca comercial.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Se realizó un diseño factorial 2^3 (2 a la $k = 3$), la concentración de *Lactobacillus acidophilus* (1, 1,5 y 2%) y la concentración de té verde matcha (0.3, 0.6 y 0.9) son los factores estudiados, tomando como variables de respuesta las propiedades fisicoquímicas y el número de unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) de *L. acidophilus*, como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Tratamientos elaborados

Tratamientos	[% <i>L. acidophilus</i>] (10^{11} UFC/mL)			[Matcha]		
	1	1.5	2	0.3	0.6	0.9
T1	X			X		
T2	X				X	
T3	X					X
T4		X		X		
T5		X			X	
T6		X				X
T7			X	X		
T8			X		X	
T9			X			X

3.2. MÉTODOS

3.2.1. RECEPCIÓN DE LA PIÑA

La piña fue obtenida de San Juan Bautista Tuxtepec, llegando al Laboratorio de Desarrollo de Nuevos productos donde se determinó sólidos solubles totales, azúcares reductores, pH, acidez titulable mencionado en la tabla 6, siguiendo la metodología de la AOAC 2005. Las piñas fueron lavadas con una solución clorada al 1% por 10 min para los posteriores determinaciones.

Tabla 6. Determinación fisicoquímica

Técnica	Fundamento	Referencia
Sólidos solubles	Refractómetro digital	932.14 AOAC, 2005
Azúcares reductores	Método general volumétrico de Lane & Eynon	AOAC, 2005
pH	Potenciómetro	AOAC, 2005
Acidez titulable	Titulación con solución valorada de NaOH al 0.1 N	947.05 AOAC, 2005

3.2.2. ACTIVACIÓN Y PROPAGACIÓN DE *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

En la figura 1 se observa la realización de la activación de propagación de la cepa de *Lactobacillus acidophilus* se utilizó el medio de cultivo MRA (De Man Rogosa y Sharpe) el cual debe tener un pH de 5.5 para que el *Lactobacillus* se desarrolle.

ACTIVACIÓN

El cultivo liofilizado de ATCC 4356 se preparó mediante transferencia secuencial de dos veces en caldo MRS y luego se incubó anaeróticamente a 37 °C durante 72 h.

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

después de la incubación durante la noche, las células que contenían los medios se centrifugaron a 3500 rpm durante 20 min a 4 °C, después de los cual se eliminó el sobrenadante y las células se lavaron (4000 rpm durante 15 min a 4 °C) en agua peptonada estéril al 1% (peso/vol.).

PROPAGACIÓN

Se obtuvo el ultimo subcultivo del cual se realizó la propagación, se tomó 1 mL por cada 100 mL de caldo MRS en el matraz, se dejó incubando a 37 °C/72 h. transcurrido este tiempo, fue centrifugado el caldo a 3500 rpm/ 20 min. Para obtener el paquete celular (pellets). Los pellets fueron lavados con una solución de peptona de caseína al 1% con un pH 7. El sedimento obtenido fue añadiendo a los diferentes tratamientos, dependiendo de la concentración (1, 1,5 y 2%).

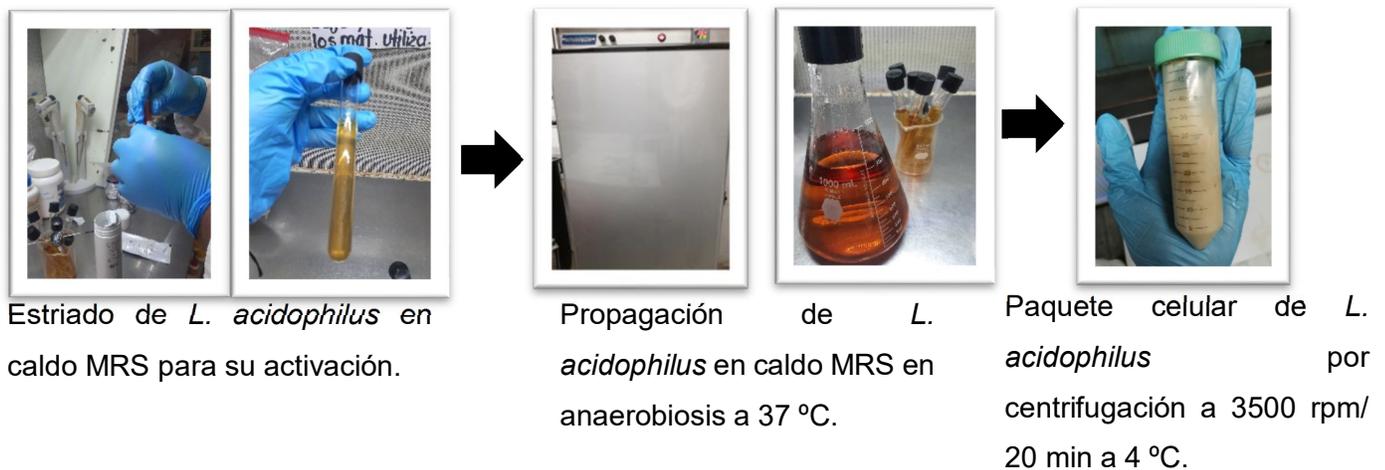


Figura 1. Proceso de activación y propagación de *Lactobacillus acidophilus*.

3.2.3.ENCAPSULACIÓN POR EXTRUSIÓN DE LA BACTERIA PROBIÓTICA *Lactobacillus acidophilus*.

En la figura 2 se observa el proceso de encapsulación de acuerdo con la metodología de (Rodríguez-Pérez et al., 2016), para los tratamientos de la (tabla 4) utilizando alginato de sodio (AlgNa) al 2% como sustancia encapsulante, donde se preparó 50 mL de agua destilada, en combinación con goma xantana al 0.015% en

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

vasos de precipitados de 250 mL se adicionaron por separado 1, 1.5 y 2% de la suspensión activa (*L. acidophilus*) con una concentración de 10^{10} UFC/ mL. Se mezcló con 50 mL de una solución de AlgNa estéril al 2% en combinación con goma xantana. La solución preparada fue agregada por extrusión con un tamaño de aguja de 21 G x 32 (con tecnología Ultra-Thin Wall que permite un mejor flujo de la solución) para goteo donde el recipiente se colocó en un soporte universal. Sobre un termo agitador se colocaron 200 mL de CaCl_2 (0.2 M) como agente entrecruzante para la obtención de las cápsulas, se mantuvo en agitación suave durante 420 rpm/30 min, con la finalidad de evitar la coalescencia y reticulación de las partículas. Con una distancia de 15 cm a una velocidad aproximada de 3.5 mL/min de entre la punta de goteo y el CaCl_2 . Las capsulas obtenidas se depositaron en una bolsa zipper, se almacenaron en refrigeración a 4 °C/12h.



Figura 2. Proceso de obtención de los encapsulados de AlgNa-Goma Xantana con *L. acidophilus*.

❖ PARA EL RECUBRIMIENTO CON QUITOSANO:

Las cápsulas de alginato fueron recubiertas usando una concentración de 0.4% de quitosano de bajo peso molecular, para cada una. El recubrimiento consiste en una etapa: Quitosano de bajo peso molecular (Sigma Aldrich) se disolvió de acuerdo a la concentración (0.4 %) en 90 mL de agua destilada y después se acidificó con 0.4 mL de ácido acético glacial para conseguir una concentración final de 0.4 % (w/v). La mezcla se filtró a través de papel filtro Whatman # 4 y el volumen se ajustó a 100 mL antes de la esterilización en autoclave a 121°C/15 min. Posteriormente, se hizo una inmersión en 100 mL de solución de quitosano de 15 g de perlas lavadas para el recubrimiento y se agitó a 120 Xg durante 40 min. Las perlas recubiertas de quitosano se lavaron con agua destilada estéril y se almacenaron a 4 °C (Krasaekoopt et al., 2004).

3.2.4. PREPARACIÓN DEL JUGO DE PIÑA (*Ananas comosus*) VARIEDAD MD2

Para la obtención del jugo de piña se utilizó la variedad MD-2 en una escala de madurez 3 donde el color amarillo-anaranjado en prácticamente todo el fruto y solo los extremos presentan una pequeña tonalidad verde. Las hojas de la corona han perdido turgencia según Mercado-Ruiz et. al (2019). Para la extracción del jugo, se lavó y se desinfectó para después eliminar la cáscara, se cortaron en cubos para ser pasado por un extractor comercial (Réconds®) para jugo. Posteriormente se pasó por un colador fino con maya de acero para eliminar todas partículas indeseables de la piña. Después de ese proceso el jugo se colocó en botellas de vidrio de color ámbar previamente esterilizadas, una vez embotellado se pasteurizó a 63 °C/ min. Al jugo de piña se le agregó concentrado de té verde matcha en una proporción de 9:1 v/v y cultivo de *Lactobacillus acidophilus* libre y encapsulado al 1, 1.5 y 2%.



Figura 3. Proceso de extracción del jugo de piña.

3.2.5. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA BEBIDA FUNCIONAL

Se realizó el análisis fisicoquímico de la bebida funcional obtenida en cada tratamiento por triplicado, de acuerdo con los métodos de la AOAC (2005): Sólidos solubles totales utilizando un refractómetro digital marca Generic modelo K13979 (93.2.12), azúcares reductores siguiendo la metodología de Lane & Eynon, acidez titulable se determinó mediante titulación con NaOH a 0.1 N (942.15), pH mediante un potenciómetro, determinación de color utiliza un colorímetro marca UltraScan® Vis.

3.2.6.SOLIDOS SOLUBLES TOTALES (93.2.12)

Se midió los sólidos solubles totales inmediatamente después de la extracción con un refractómetro Generic modelo K13979.



Figura 4. Determinación de solidos solubles.

3.2.7.AZÚCARES REDUCTORES POR EL MÉTODO VOLUMÉTRICO DE LANE & EYNON

❖ PROCEDIMIENTO PARA OBTENER EL FACTOR DE FEHLING

Se preparó una solución al 1% de dextrosa anhidra (1 g en 100 mL de agua destilada= 0.01g dextrosa pura/mL). En un matraz Erlenmeyer se agregó 5 mL de los dos reactivos (Fehling A y B) y 50 mL de agua destilada, se puso en ebullición la mezcla, la cual permaneció de esa manera durante toda la prueba. Se colocó en una bureta la solución de dextrosa y se tituló hasta que el color azul casi haya desaparecido, cuando ocurre esto se añaden 2 gotas de azul de metileno y se continúa titulando hasta que el color cambie, observándose al final la formación de un precipitado color rojo ladrillo.

Ecuación:

$$\text{Facto de Fehling} = (\text{mL gastado de sol. Dextrosa}) (0.01 \text{ g/mL})$$

PROCEDIMIENTO CON LA MUESTRA

Se peso 20 g de muestra y se extrajo el jugo con un extractor, se filtró en una manta, se transvaso el filtrado a un matraz volumétrico de 100 mL, se aforó con agua destilada y se agitó manualmente, en un matraz Erlenmeyer se agregó 5 mL de los reactivos Fehling A y B y 50 mL de agua destilada, se pone a ebullición de la mezcla, la cual permaneció de esa manera durante toda la prueba, se colocó en una bureta el extracto y se tituló hasta que el color azul casi haya desaparecido, cuando ocurrió esto se añadió 2 gotas de azul de metileno y se continua titulado hasta que el color cambie, observándose al final la formación de un precipitado color rojo ladrillo. se determinó el contenido de azúcares reductores, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Azúcares reductores (\%)} = \frac{(FF)(V)}{(g)(m)} \times 100$$

Donde:

F: Factor de Fehling [mL de dextrosa utilizando en la titulación x 0.01]

V: volumen al que se afora

g: mL de solución de muestra empleada en la titulación

m: peso fresco de la muestra en gramos

3.2.8.ACIDEZ TITULABLE DE ACUERDO AL MÉTODO DE LA AOAC 942.15.

Pesar 20 g de la muestra, macerar perfectamente con 20 mL de agua destilada en un mortero, posteriormente filtrar y transvasar el filtrado a un matraz aforado, tomar una alícuota de 10 mL y colocar en un matraz Erlenmeyer agregar 3 gotas de fenolftaleína, titular con NaOH a 0.1 N.

Ecuación

$$\% \text{ Acidez titulable} = \frac{(g)(N)(Meq)(V)(100)}{(m)(a)}$$

Donde:

g: mL gastado de NaOH

N: normalidad del NaOH

V: volumen de aforo

Meq: miliequivalente

a: alícuota

m: gramos de muestra

3.2.9. pH MEDIANTE UN POTENCIÓMETRO

Para la determinación del pH se utilizó un potenciómetro de la marca Ultra-basic, donde se calibro el potenciómetro con las soluciones buffer 4, 7 y 10, para la preparación de la muestra, se pesó 10 g de muestra y se mezcló con una licuadora con 10 mL de agua destilada, colocará el homogeneizado en un vaso de precipitado de 50 mL y se sumergió el electrodo en la muestra y se tomó la lectura.

3.2.10. DETERMINACIÓN DE COLOR

El color de las bebidas se determinó mediante un colorímetro UltraScan® Vis (HunterLab, Hunter Associates Laboratory Inc, 11491 Sunset Hills Road, Reston, Virginia U. S. A). Se obtuvo los valores L* (Luminosidad), a* (-verde a + rojo) y b* (-azul a + amarillo).

3.2.11. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES SOLUBLES

En matraces volumétricos de 25 mL se añadió 0.5 mL del extracto polifenólico o agua destilada para el blanco, añadir 0.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, agitar con ayuda de un agitador eléctrico (vortex). Reposar 3 min, posteriormente añadir 10 mL de carbonato de sodio y aforar a 25 mL con agua destilada. Agitar bien los matraces y dejar a temperatura ambiente 60 min. Pasada la hora se leyó a 750 nm en un espectrofotómetro Agilent Technologies, Cary 60 UV-Vis, Estados Unidos de América.

3.2.12. FRAP (PODER ANTIOXIDANTE/REDUCCIÓN FÉRRICA)

El método FRAP fue propuesta por Pulido et al., (2000). Con este método se determina la capacidad de reducción férrica que tiene una muestra, a pH bajo y en presencia de un reductor (antioxidante), donde el complejo TPTZ (tripiridiltriazina) con Fe (III) se reduce a la forma ferrosa desarrollando un intenso color azul, cuantificado espectrofotométricamente a 595 nm. En el procedimiento se mezcla por inversión el reactivo FRAP (manteniéndolo a 37 °C), agua destilada y la muestra en metanol por triplicado, tomando lecturas cada 20 segundos durante 32 minutos. Los resultados son expresados como μm de trolox por gramo de materia seca. En un frasco de color topacio mezclar 25 mL de tampón acetato, 2.5 mL de la solución de TPTZ 10 mM y 2.5 mL de la solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM (este reactivo se prepara diario) la solución de FRAP debe tener un color café muy claro.

3.2.13. MÉTODO 2,2'-AZINOBIS-(3-ETILBENZOTIAZOLINA-6-SULFÓNICO) O ABTS•

La generación del radical catión ABTS [2,2'-azinobis- (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] forma la base de uno de los métodos espectrofotométricos que se han aplicado a la medición de la actividad antioxidante total de las soluciones de sustancias puras, mezclas acuosas y bebidas. El ensayo ABTS•1 original se basa en la activación de la metamioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para producir el catión radical, en presencia o ausencia de antioxidantes.

El método ABTS•+ (ácido 2,2,-azino-bis- (3-etilbenzo-tiazolina-6-sulfónico) como secuestrador de radicales libres propuesto por Re et al. (1999) consiste en diluir el radical catión ABTS•+ (preformado por oxidación con persulfato de potasio) con metanol hasta obtener una absorbancia a 730 nm de 0.70 ± 0.02 , se utilizan cuatro celdas simultáneamente, la primera para el control (metanol) y el resto para la muestra o patrón (por triplicado), mezclándolo por inversión y tomando lecturas cada 20 segundos durante 7 minutos. La absorbancia, del intenso color verde de la muestra, disminuye con el tiempo debido a la reducción del ABTS•+ por un agente

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

antioxidante. El trolox (análogo hidrosoluble de la vitamina E) es utilizado como estándar y los resultados son expresados como μm de trolox por gramo de materia seca

3.2.14. VIABILIDAD DE *Lactobacillus acidophilus* EN LA BEBIDA FUNCIONAL DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A $4 \pm 1^\circ\text{C}$

La viabilidad se evaluó durante los días 1, 7 y 21 días de almacenamiento a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ (todas las evaluaciones se realizaron por duplicado), se tomó 10 mL del jugo donde se homogenizó con 90 mL de agua de peptona estéril al 1% de peptona y 0.5% de NaCl con un pH 7. Se tomó 1 mL de las diluciones 10^7 , 10^8 , 10^9 en cajas petri para después verter aproximadamente 20 mL de medio MRS. Se mezcló el contenido de las cajas, haciendo movimientos circulares en forma de cruz para homogenizar la muestra (método vertido en placa). Una vez solidificadas las cajas fueron incubadas en la estufa, creándoles un ambiente anaeróbico, esto se logró colocando las cajas en un bote con tapa y al fondo se colocó una vela la cual se apagó al cerrar el bote, siendo consumido el oxígeno contenido dentro del bote, creado así el ambiente para el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus*. Todas las cajas fueron incubadas durante 72 h a 37°C en anaerobiosis, transcurrido el tiempo fueron contadas las colonias de *Lactobacillus acidophilus*.

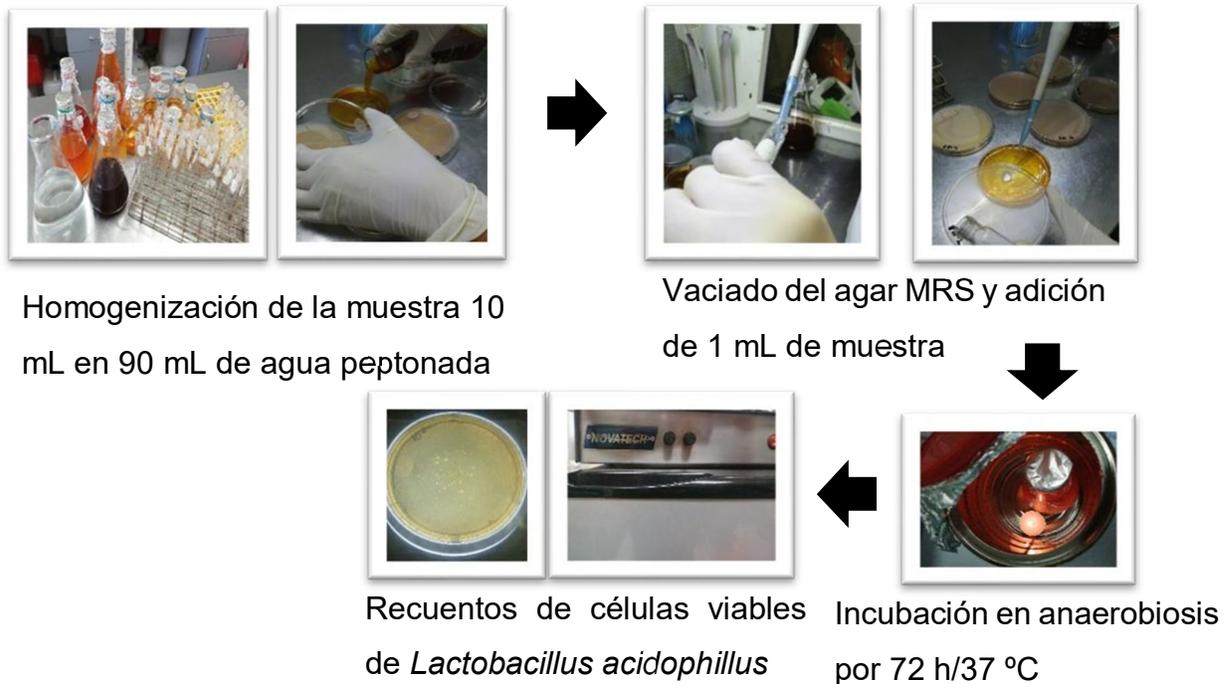


Figura 5. Viabilidad del *Lactobacillus acidophilus*

3.2.15. EVALUACIÓN SENSORIAL

La evaluación sensorial se realizó por 100 panelistas no capacitados, de todas las edades. La sesión se llevó a cabo en stands individuales. Las muestras se sirvieron, 40 mL uno a la vez a 7 ° C. Las pruebas de aceptación del consumidor se realizó evaluación del color, olor, sabor, apariencia. Se empleó la escala hedónica, de 5 puntos, donde 5: me gusta mucho, 4: me gusta moderadamente, 3: no me gusta ni me disgusta, 2: me disgusta moderadamente y 1: me disgusta mucho.

3.2.16. EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LAS BEBIDAS

Los análisis microbiológicos se realizaron a las bebidas de acuerdo con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995 por conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/g) en placas. Las determinaciones que se realizó son Mesofílicos aerobios, Mohos y levaduras.

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

Tabla 7. Especificaciones según la NOM-130-SSA1-1995 para jugos y néctares pasteurizados

MICROORGANISMO	LIMITE UFC/g o mL
Mesofílicos aerobios	100
Mohos y levaduras	25

La preparación de las muestras y diluciones se realizó de acuerdo con la NOM-110-SSA1-1994, se tomó 1 mL de muestra y se homogenizó en 9 mL de agua peptonada. Siguiendo la NOM-092-SSA1-1994 se realizó el conteo de Mesofílicos aerobios utilizando el Agar para Métodos Estándar (PCA). De la dilución anterior se depositó 0.1 mL sobre la superficie de las placas de agar PCA y se distribuyó con varilla de vidrio estéril en ángulo recto. Posteriormente se invirtió las cajas y se incubaron por 48 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$; las colonias de bacterias aerobias se presentan de un color blanquecino, de forma puntiforme y extendidas. La determinación de Mohos y Levaduras se realizó de acuerdo a la NOM-111-SSA1-1994, se utilizó como medio de cultivo el Agar Dextrosa y Papa, las placas se incubaron con 0.1 mL de la dilución a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días.

3.2.17. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos por triplicado se analizaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía con el programa estadístico Minitab, versión 17. Las diferencias entre las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Fisher ($p < 0.01$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL JUGO DE PIÑA Y POLVO DE TÉ VERDE MATCHA.

Al jugo de piña y el polvo de té verde matcha que se utilizó en este proyecto se evaluaron sus propiedades fisicoquímicas, así como el contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante mediante dos métodos ABTS•+ y FRAP como se puede observar en la tabla 8, el té verde matcha presento valores altos en cuanto al contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante sobre los dos métodos así mismo se puede apreciar que las determinaciones de acidez titulable, pH y azúcares reductores, se encontró dentro de los parámetros establecidos por la NMX-FF-028-SCFI-2008 para el jugo de piña.

Tabla 8. Análisis fisicoquímico, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del jugo de piña y té verde matcha.

Análisis	Jugo de piña, Var. MD2	Polvo de té verde matcha	Norma NMX-FF-028-SCFI-2008 para piña
Acidez titulable (%)	0.417 ± 0.00 ^a	0.394 ± 0.01 ^b	0.42 a 0.60%
pH	5.03 ± 0.05 ^b	6.99 ± 0.00 ^a	5.5
SST (° Bx)	12.53 ± 0.05 ^a	4.4 ± 0.17 ^b	12.8%
Azúcares reductores (%)	21.62 ± 0.64 ^a	5.48 ± 2.89 ^b	27.30%
Contenido de polifenoles totales (g GAE/ 100 mL o g ms.)	0.570±0.00 ^b	10.236±0.01^a	
Contenido de flavonoides (g EQ/ 100 mL o g ms.)	1.047±0.08 ^b	9.10±2.05^a	
Actividad antioxidante ABTS•+ (µmol	7.052±0.00 ^b	187.4±0.00^a	

ET/ 100 mL o g ms.)		
Actividad antioxidante FRAP (µmol ET/ 100 mL o g ms.)	3.85±0.29 ^b	291.00±0.29^a

Promedio de tres repeticiones. Todos los valores se expresan como la media ± desviación estándar mediante la prueba de Fisher (p<0.01).

En esta primera fase se analizó la viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* que fue adicionada en forma encapsulada en la bebida de jugo de piña-té verde matcha. Teniendo una cuenta inicial de *Lactobacillus acidophilus* de 10¹⁰ UFC/ mL.

4.2. VIABILIDAD DE *Lactobacillus acidophilus* DE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES.

Las cápsulas se obtuvieron por extrusión como se indicó en la sección. En la tabla 9 se presenta los datos obtenidos para 1 g de cápsulas, con una viabilidad al 1% de 8.95, 1.5% con 9.57 y 2% de 11.58 Log UFC/ g de *Lactobacillus acidophilus*. Identificando que las cápsulas entran dentro del rango de encapsulados ya que una microcápsula mide dentro del rango de 100µm.

Tabla 9. Viabilidad en 1 g de cápsula de *Lactobacillus acidophilus*.

<i>Lactobacillus acidophilus</i> (%)	Encapsulados (g)	Cantidad de cápsulas (unidades)	Peso de una capsula (g)	Diámetro (mm)	Viabilidad (Log UFC/g)
1	1	72 ± 0.5 ^a	0.011 ± 0.0002a	1	8.95 ± 0.1 ^a
1.5	1	73 ± 0.5 ^a	0.011 ± 0.0002a	1	9.57 ± 0.1 ^b
2	1	74 ± 0.5 ^a	0.011 ± 0.0002a	1	11.58 ± 0.1 ^a

Promedio de tres repeticiones. Todos los valores se expresan como la media ± desviación estándar.

4.3. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA Y RENDIMIENTO DEL ENCAPSULADO DE *Lactobacillus acidophilus* A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Se realizaron tres repeticiones las cuales fueron centrifugadas y encapsuladas con un mínimo de un día de almacenamiento para poder disminuir el error en la reducción de logaritmos que se puede dar por un periodo de almacenamiento largo. En la tabla 10 podemos observar la eficiencia y el rendimiento de los encapsulados del *Lactobacillus acidophilus*, la diferencia en la eficiencia se puede atribuir a que los probióticos encapsulados en una matriz de alginato de sodio pueden resultar de cápsulas blandas, lo que puede provocar la aparición de poros, por lo que se trataron de reducir al recubrirlas con quitosano de bajo peso molecular, el cual puede verse beneficiada la viabilidad de la bacteria; de igual manera el tamaño de las cápsulas y la técnica de encapsulación son otros factores que se deben considerar. Estos resultados fueron similares a lo reportado por De la Cruz-Molina & Terán-Ratti (2013), en la que haciendo el uso del gel de alginato de sodio obtuvieron cápsulas de *Lactobacillus casei* usando el método de extrusión teniendo una eficiencia de encapsulado del 82.48%. Lo que nos indica que el uso del recubrimiento con quitosano beneficia para tener una mejor eficiencia en el encapsulado del *Lactobacillus acidophilus*.

Los resultados del rendimiento donde tomando en cuenta la relación entre el promedio inicial de la mezcla de alginato más *Lactobacillus acidophilus* con el promedio del peso final de cápsulas en gramos, resultaron en un rendimiento de encapsulación para el 1%, 78, 1.5, 77 y 2%, 76. El bajo rendimiento se puede deber a la falta de un equipo especializado para realizar el proceso ya que el peso está ligado directamente a la cantidad de aire que se aloja en el émbolo de la jeringa el cual se manifiesta en cápsulas de menor peso (De la Cruz- Molina & Terán- Ratti, 2013) esto sin crear un efecto significativo en la concentración de bacteria ni en su viabilidad durante el almacenamiento.

Tabla 10. Eficiencia y Rendimiento del encapsulado de *Lactobacillus acidophilus*.

	Concentración de <i>L. acidophilus</i> (%)	Promedio
Concentración inicial (<i>L. acidophilus</i> en solución de alginato) (Log UFC/ mL)		11.71 ± 0.12
Concentración final (<i>L. acidophilus</i> encapsulado) (Log UFC/ mL)	1	8.95 ± 0.1 ^c
	1.5	9.57 ± 0.1 ^b
	2	11.18 ± 0.1 ^a
Eficiencia del encapsulado (%) μ	1	89.07 ± 0.1 ^a
	1.5	91.79 ± 0.1 ^b
	2	99.54 ± 0.1 ^c
Rendimiento del encapsulado (%) α	1	78 ± 0.5 ^a
	1.5	77 ± 0.5 ^a
	2	76 ± 0.5 ^a

μ Relación entre la concentración inicial de bacteria y concentración final después del encapsulado.

α Relación entre la cantidad inicial de alginato comparada con el peso final de cápsulas.

Promedio de 3 repeticiones con su desviación estándar en cada tratamiento

4.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4 ± 1 °C.

La tabla 11, muestra el porcentaje de los sólidos solubles totales representados como °Bx de la bebida de jugo de piña-polvo de té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado durante 21 día de almacenamiento, observándose que aumentaron a medida que se incrementa la concentración del polvo de té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus*. Esto se puede deber al contenido de azúcares, fibra dietaria que contiene el té verde matcha en su composición química, carbohidratos y ácidos orgánicos contenidos en el jugo de piña, aunado al hecho que podría deberse a la hidrólisis de los polisacáridos en monosacáridos y oligosacáridos, ejerciendo una contribución importante sobre el aumento en el contenido de azúcares; azúcares que influyen en la medida de sólidos solubles, así mismo por la actividad microbiana por lo que hay un aumento en los azúcares reductores.

Tabla 11. Contenido de sólidos solubles totales en la bebida de jugo de piña-té verde matcha durante 21 días de almacenamiento a 4 ± 1 °C

Sólidos solubles totales (% Brix)			
Tratamientos	Día 1	Día 7	Día 21
Control (Jugo-té)	12.50±0.00 ^{gC}	12.60±0.00 ^{hB}	12.70±0.00 ^{eA}
T1 (0.3% t.m-1% <i>L.a.</i>)	12.45±0.00 ^{hC}	13.00±0.07 ^{gB}	13.10±0.00 ^{dA}
T2 (0.6% t.m-1% <i>L.a.</i>)	12.60±0.00 ^{fC}	13.10±0.00 ^{fB}	13.11±0.00 ^{cA}
T3 (0.9% t.m-1% <i>L.a.</i>)	12.60±0.00 ^{fC}	13.10±0.00 ^{fB}	13.11±0.00 ^{cA}
T4 (0.3% t.m-1.5% <i>L.a.</i>)	12.70±0.00 ^{eC}	13.30±0.00 ^{eA}	13.14±0.00 ^{bB}
T5 (0.6% t.m-1.5% <i>L.a.</i>)	12.80±0.00 ^{dC}	13.40±0.00 ^{dA}	13.15±0.00 ^{aB}
T6 (0.9% t.m-1.5% <i>L.a.</i>)	12.80±0.00 ^{dC}	13.50±0.00 ^{cA}	13.16±0.00 ^{aB}
T7 (0.3% t.m-2% <i>L.a.</i>)	12.90±0.00 ^{cC}	13.50±0.00 ^{cA}	13.17±0.00 ^{aB}
T8 (0.6% t.m-2% <i>L.a.</i>)	12.95±0.00 ^{bC}	13.60±0.00 ^{bA}	13.18±0.00 ^{aB}
T9 (0.9% t.m-2% <i>L.a.</i>)	12.96±0.00 ^{aC}	13.70±0.00 ^{aA}	13.19±0.00 ^{aB}

Todos los valores se expresan como la media \pm desviación estándar. Medias con letras distintas en la misma columna son significativamente diferentes mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). t.m: té matcha, *L.a.*: *Lactobacillus acidophilus*.

4.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AZÚCARES REDUCTORES EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4 ± 1 °C.

En la tabla 12 se presenta el contenido de azúcares reductores, el cual tiene un valor inicial de 11.33 % en el control mientras que para el día 1 en las muestras T7, T8 y T9 hubo un contenido mayor de 17.00, 18.41 y 21.06% a las concentraciones adicionadas de 0.3, 0.6 0.9% de polvo de té verde matcha y *L. acidophilus* encapsulado al 2% donde se observó un aumento; lo mismo se ve reflejado para el día 7 y 21 en las muestras T7, T8 y T9, lo cual se puede atribuir a la adición del té verde matcha, jugo de piña y *L. acidophilus*, ya que por sí solo el té verde matcha contiene 5.8% de azúcares principalmente reductores como la glucosa mientras que

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

el jugo de piña contiene 21.6% de azúcares totales. Por lo que estos azúcares presentes hacen que se favorezca la estabilidad del *Lactobacillus acidophilus*.

Tabla 12. Contenido de azúcares reductores en la bebida de jugo de piña-té verde matcha durante 21 días de almacenamiento.

Azúcares reductores (%)			
Tratamientos	Día 1	Día 7	Día 21
Control (Jugo)	11.33±0.57 ^{eF}	12.33±0.57 ^{dE}	13.00±1.00 ^g
T1 (0.3% t.m-1% <i>L.a.</i>)	10.58±0.07 ^{eA}	10.63±0.00 ^{eA}	10.53±0.07 ^{hA}
T2 (0.6% t.m-1% <i>L.a.</i>)	13.93±0.22 ^{dA}	13.42±0.04 ^{dA}	13.13±0.12 ^{gA}
T3 (0.9% t.m-1% <i>L.a.</i>)	16.67±0.32 ^{bA}	16.78±0.37 ^{cA}	15.54±0.17 ^{fA}
T4 (0.3% t.m-1.5% <i>L.a.</i>)	15.10±1.64 ^{cA}	16.05±1.64 ^{cA}	17.00±0.00 ^{eA}
T5 (0.6% t.m-1.5% <i>L.a.</i>)	15.92±0.16 ^{bA}	17.70±0.07 ^{bcA}	18.74±0.24 ^{dA}
T6 (0.9% t.m-1.5% <i>L.a.</i>)	16.66±0.00 ^{bA}	17.00±0.00 ^{cA}	19.76±0.00 ^{cA}
T7 (0.3% t.m-2% <i>L.a.</i>)	17.00±0.00 ^{bA}	17.46±0.20 ^{cA}	20.90±0.59 ^{bA}
T8 (0.6% t.m-2% <i>L.a.</i>)	18.41±2.45 ^{bA}	19.83±2.45 ^{abA}	20.22±0.00 ^{bC}
T9 (0.9% t.m-2% <i>L.a.</i>)	21.06±0.30 ^{aA}	21.06±0.30 ^{aA}	22.36±0.00 ^{aA}

Todos los valores se expresan como la media ± desviación estándar. Medias con letras mayúsculas en la misma línea son significativamente diferentes, letras minúsculas en la misma columna son significativamente diferente, mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). t.m: té matcha, *L.a.*: *Lactobacillus acidophilus*.

4.5. DETERMINACIÓN DEL PH EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULADO DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4 ± 1 °C.

La figura 6 muestra los resultados del cambio de valores de pH de la bebida de jugo de piña- polvo de té verde matcha durante 21 días de almacenamiento a 4 °C, se observa que el pH se incrementó de 5 a 5.1 en el día 1 de almacenamiento. Se encontró diferencia significativa en función al tiempo para cada uno de los tratamientos, cuando se utilizan concentraciones de 0.3 y 0.6% de té verde con 1.5 % de *L. acidophilus*, esto se le puede atribuir a la producción de ácido láctico generado durante el metabolismo de *L. acidophilus*. Sin embargo, cuando se incrementa la concentración de *L. acidophilus* a 2%, se observa diferencia significativa para cada uno de los tratamientos T6, T7, T8 y T9; esto se puede atribuir

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

a la adición del jugo de piña que contiene ácido cítrico el cual favorece la formación de iones citrato que actúan como regulador de pH cuando entra en contacto con el té verde matcha, pudiendo favorecer la supervivencia del *L. acidophilus* así mismo puede deberse a la conversión de ácidos en sales y azúcares por enzimas particularmente invertasa. Autores como Shukla et al., (2013) reportaron valores de pH entre 4.82-5.3. De la Cruz Molina et al., (2013), tuvieron pH en encapsulado de 5 mientras que para el sistema libre de 3.1-3.2.

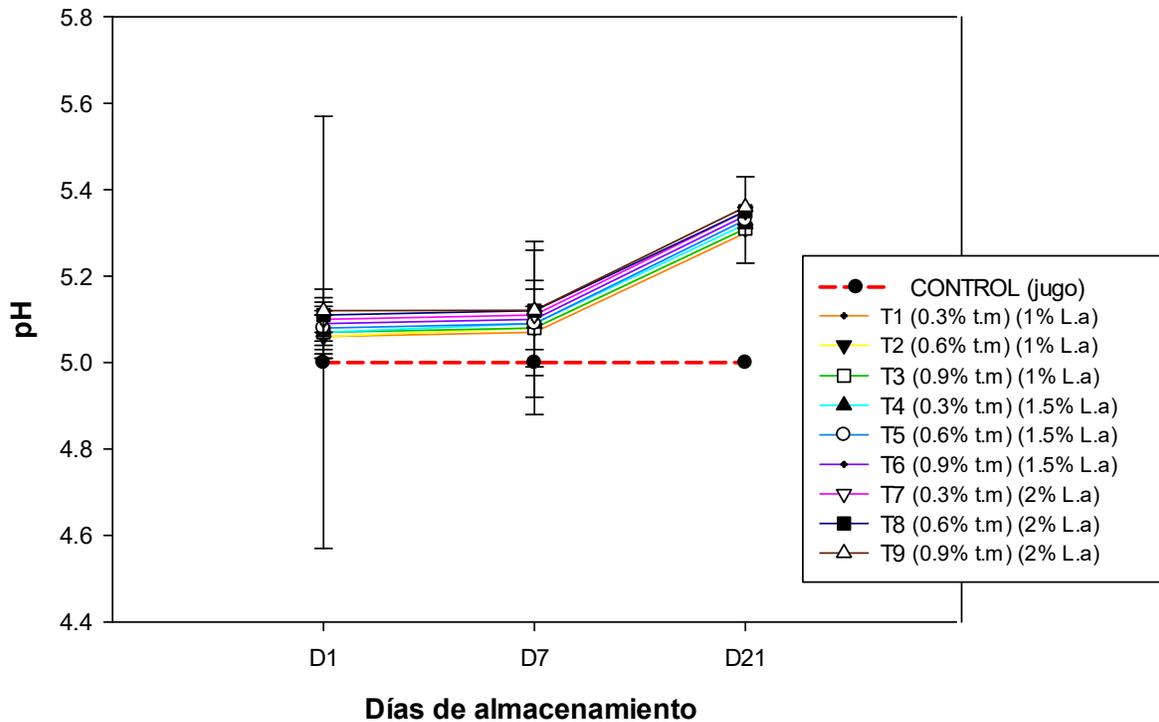


Figura 6. Cambio de pH en el sistema encapsulado de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y *L. acidophilus* encapsulado durante 21 días de almacenamiento a 4 ° C.

4.6. VARIACIÓN DE PH DE LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y *Lactobacillus acidophilus* LIBRE DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO.

El cambio del pH de los tratamientos durante 21 días de almacenamiento a 4 °C se observa en la figura 6. Todos los tratamientos presentaron disminución de pH a los 21 días, los tratamientos T7 (3.64-3.49), T8 (3.69-3.50), T9 (3.70-3.51) que fueron elaborados 2% de *Lactobacillus acidophilus* esto se puede deber a la producción de ácido láctico durante el periodo de almacenamiento.

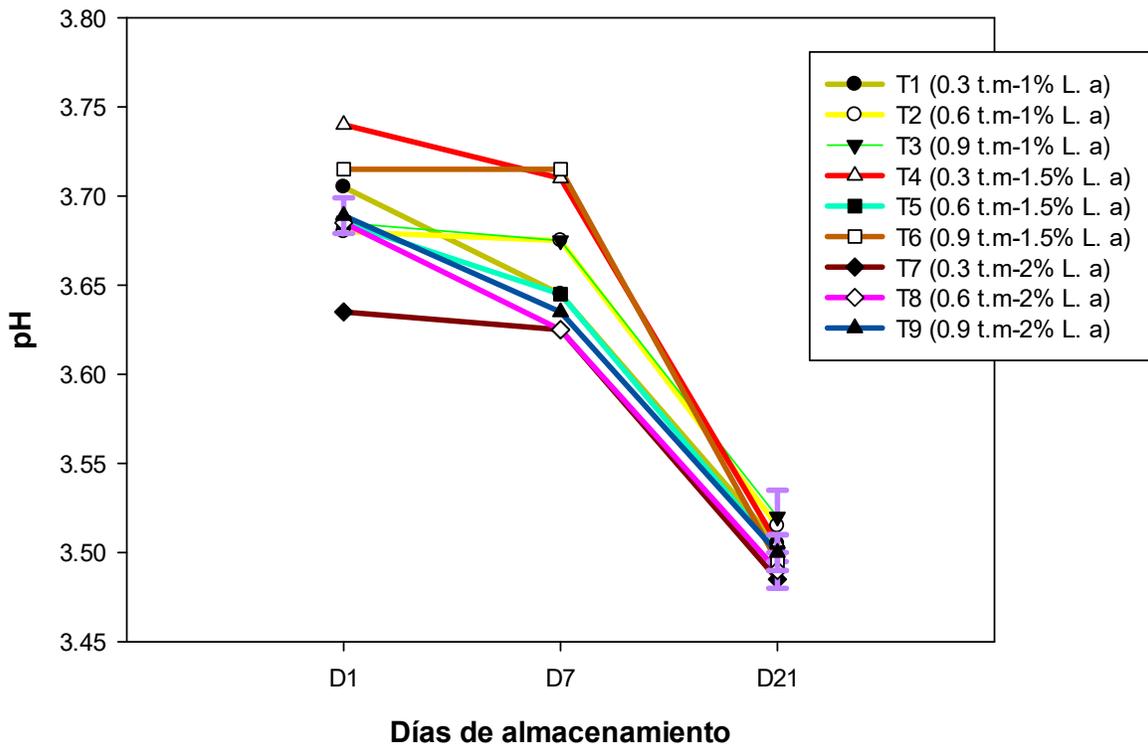


Figura 7. Cambio de pH en el sistema libre de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y *L. acidophilus* durante 21 días de almacenamiento a 4 °C.

4.7. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULADO DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 4 ± 1 °C.

En la figura 8 se muestra el comportamiento de la acidez de los días 1, 7 y 21 de almacenamiento con diferentes concentraciones de probiótico encapsulado (1,1.5,2%), y té verde matcha (0.3,0.6,0.9%), observándose que se presentó un aumento en el día 21, favoreciéndose en los tratamientos T7, T8 y T9 que fueron elaborados con encapsulados con 2% de *L. acidophilus* y té verde matcha (0.3, 0.6, 0.9%), alcanzando valores de 0.47, 0.48 y 0.49 % de acidez respectivamente, debido al metabolismo propio de *L. acidophilus*. El mantenimiento del pH y la acidez titulable puede estar relacionado con la alta capacidad amortiguadora de los jugos y con el hecho de que algunas cepas probióticas como el *L. acidophilus* es capaz de metabolizar ácido cítrico, lo cual se mantiene estable frente a los cambios de pH cuando el microorganismo probiótico esta encapsulado.

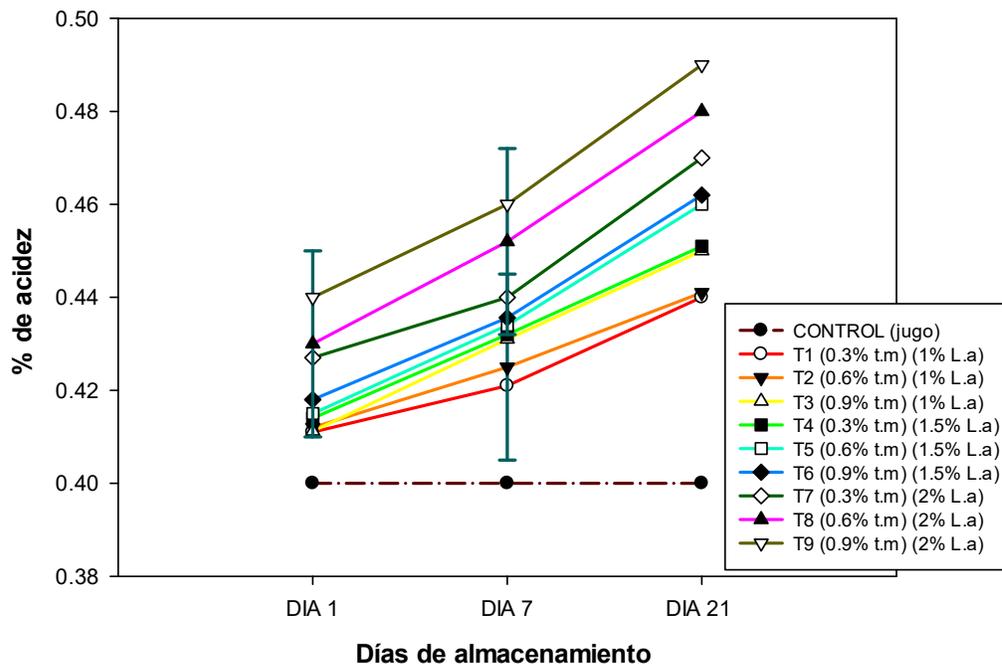


Figura 8. Determinación de acidez en sistema encapsulado de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y *L. acidophilus* encapsulado durante 21 días de almacenamiento a 4° C.

4.8. VARIACIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ DE LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y *Lactobacillus acidophilus* LIBRE DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO.

En la figura 9 podemos observar la acidez de los tratamientos con *Lactobacillus acidophilus* libre presentaron la mayor acidez en todas las muestras en el día 21 de almacenamiento, esto generado por la misma bacteria ácido láctica que se encuentra de manera libre, esta bacteria como parte de su metabolismo genera ácido láctico acidificando la bebida durante los días de almacenamiento.

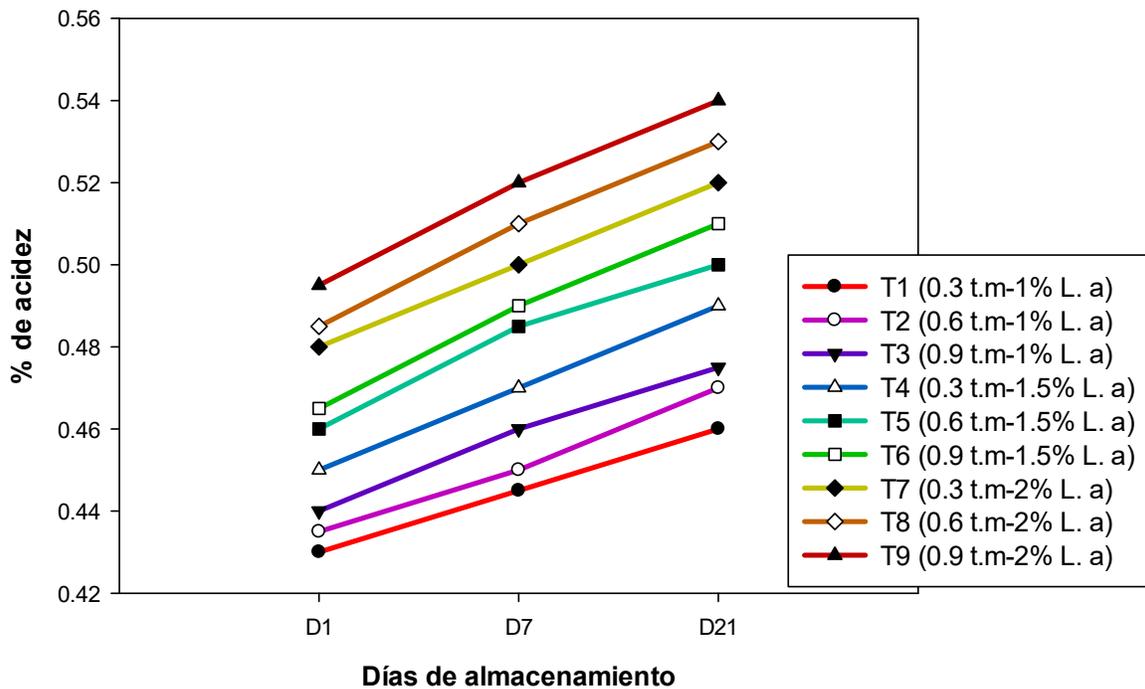


Figura 9. Determinación de acidez en sistema libre de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* durante 21 días de almacenamiento a 4° C.

4.9. VIABILIDAD DEL *Lactobacillus acidophilus* EN EL SISTEMA ENCAPSULADO DE LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO.

En la figura 10 se puede observar la viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* encapsulado en las bebidas de jugo de piña-té verde matcha durante 21 días de almacenamiento. Se realizó la encapsulación del sistema con las diferentes concentraciones (1.0, 1.5 y 2.5%) *L. acidophilus* respectivamente utilizando alginato de sodio-goma xantana. Obteniendo con 1 % de *L. acidophilus* una viabilidad inicial de 8.90, 8.92 y 8.95 Log UFC/ mL y con las concentraciones de 1.5% de *L. acidophilus* una cuenta de 9.11, 9.24 y 9,75 Log UFC/ mL, no encontrándose diferencia estadística significativa en los tratamientos ($p < 0.05$), por el contrario, con la concentración de 2% se obtuvo una viabilidad inicial de 11.45, 11.58 y 11.39 Log UFC/ mL. Sin embargo, para el día 21 los tratamientos tuvieron un aumento en su viabilidad, los tratamientos con 1% de *L. acidophilus* presentaron aumento en su ciclo logarítmico de 1.25 Log UFC/ mL. Las concentraciones de 1.5 y 2% tuvieron un aumento de 1.36 ciclos logarítmicos. Los resultados se pueden atribuir a que la encapsulación favorece la viabilidad del *L. acidophilus* durante el periodo de almacenamiento ya que la bebida no es sometida a ningún tipo de estrés que afecte su viabilidad, así mismo el té matcha y el jugo de piña favorece a la estabilidad del probiótico siendo un buen sustrato para su crecimiento. Estos resultados pueden ser comparados con lo reportado por Hossein et al., (2013) demostraron la correlación positiva en el crecimiento bacteriano con la suplementación de té verde en leche y yogur observando que con concentraciones elevadas de extracto de té verde crean un sabor favorable. En otro estudio realizado por Thakur et al., (2017) utilizando jugo de granada reportaron 6.5×10^9 UFC/ mL lo cual concluyeron que la utilización de jugo de frutas son un buen sustrato para el crecimiento de bacterias probióticas.

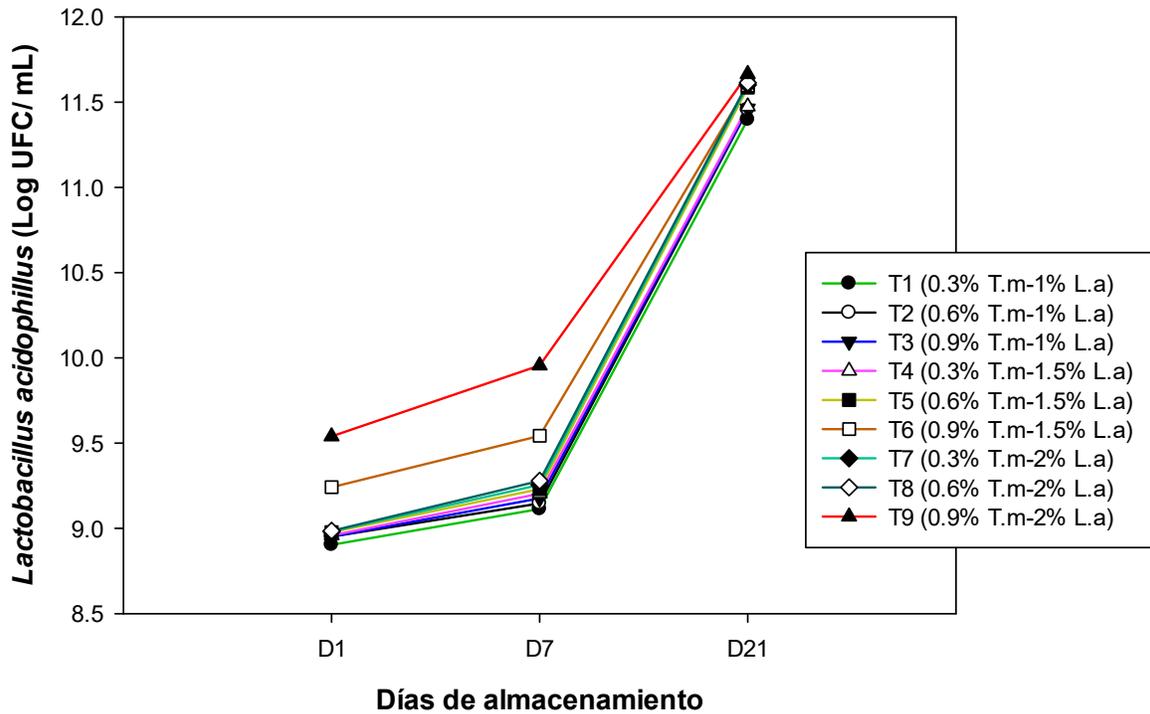


Figura 10. Viabilidad de *L. acidophilus* en el sistema encapsulado durante 21 días de almacenamiento a 4° C.

4.10. VIABILIDAD DE *Lactobacillus acidophilus* EN EL SISTEMA LIBRE EN LA BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA DURANTE 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO.

En la figura 11 se puede mostrar la viabilidad en sistema libre en la bebida de jugo de piña-té verde matcha durante 21 días de almacenamiento. La viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* en los tratamientos, inicialmente se obtuvieron conteos de 7.70 a 7.86 Log UFC/ mL en los tratamientos con 1, 1.5 y 2% de *L. acidophilus*, no encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos en el día 1. Sin embargo, al día 21 se obtuvieron una cuenta final en los tratamientos T1, T2 y T3 (1% *L. acidophilus* y 0.3, 0.6 y 0.9% de polvo de té verde matcha) alcanzando una viabilidad de 6.70, 6.78 y 6.90 Log UFC/ mL, los tratamientos con 1.5% de *L. acidophilus* T4, T5 y T6 (1.5 *L. acidophilus* y 0.3, 0.6 y 0.9% de polvo de té verde matcha) alcanzaron una viabilidad 6.72, 6.75 y 6.78 Log UFC/ mL y los tratamientos

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

T7, T8 y T9 (2% *L. acidophilus* y 0.3, 0.6 y 0.9% de polvo de té verde matcha) obtuvieron una cuenta de 6.65, 6.69 y 6.70 Log UFC/ mL. La reducción en la concentración de *L. acidophilus* libre se atribuye principalmente a que estos microorganismos son susceptibles al rompimiento de la cadena de frío a la producción de ácido láctico y la temperatura de almacenamiento, mientras que el *L. acidophilus* encapsulado es más resistente a estos cambios de temperatura debido a que dentro de las cápsulas se genera un micro ambiente que brinda protección a cambios externos.

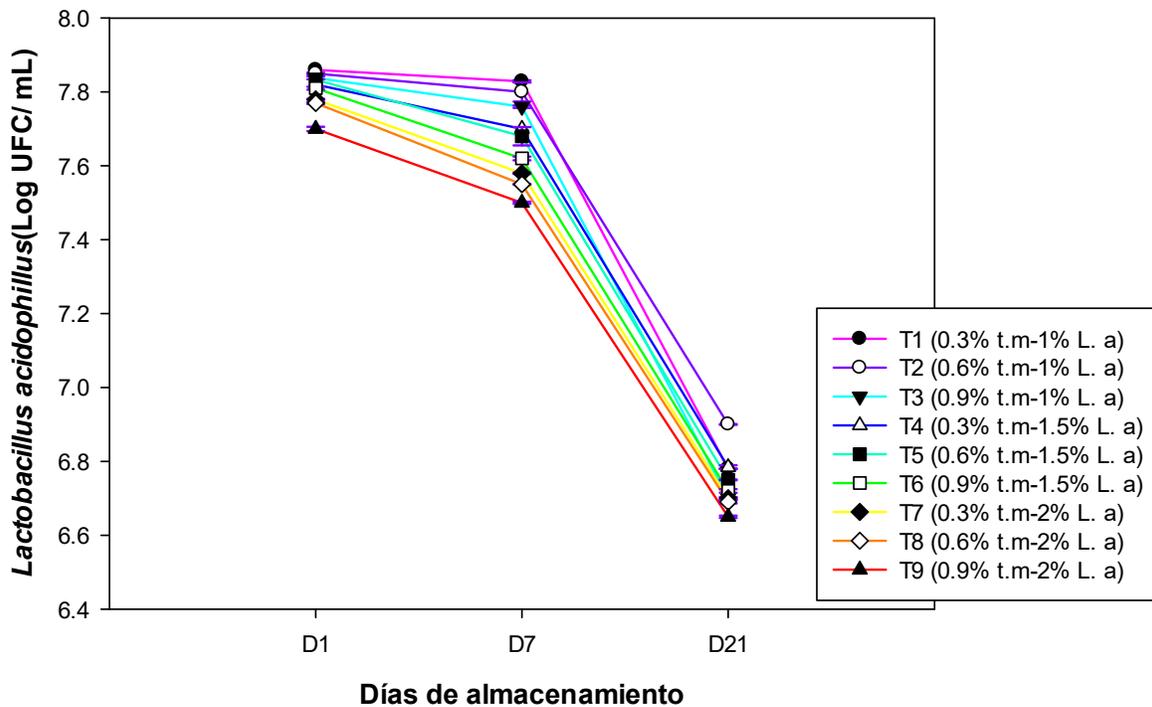


Figura 11. Viabilidad de *L. acidophilus* en el sistema libre durante 21 días de almacenamiento a 4° C.

4.11. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE COLOR DE LAS BEBIDAS SELECCIONADAS CON LA MEJOR VIABILIDAD DEL *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULADO.

En la tabla 13 se observan los valores de los parámetros de color de las bebidas seleccionadas con la mejor viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* encapsulado. El color es uno de los parámetros más importantes a la hora de la selección de la mayoría de los productos alimenticios ya que se aprecia a simple vista, asimismo en muchas ocasiones, cambios en el color son un indicativo relacionado con reacciones químicas, bioquímicas y microbiológicas que ocurren durante el almacenamiento de las bebidas. En el caso del jugo de piña, se observó valores de luminosidad (L^*) de 85.5, lo que nos indica una muestra con una luminosidad muy alta, un valor de a^* de 10, estos valores nos indican que el jugo de piña presentó una tonalidad amarilla y un código de color #ffc000, para el té verde matcha una luminosidad (L^*) de 60.24, lo que nos indica que la muestra tiene una luminosidad baja, el valor de a^* -4.22 estos valores nos dice que el polvo de té verde matcha tiende a un color verde y un código de color #9e9150. En las muestras T1, T2 y T3, se obtuvieron valores de luminosidad de 58, 55.24, 50.24, a^* y b^* de -2, -1.5, -0.5, 40, 35 y 30.82 respectivamente, estos valores son el resultado de la formación de una bebida de jugo de piña con la inclusión del polvo de té verde matcha, lo que dio como resultado muestras con tendencia a las tonalidades verdes, además, se observó una menor luminosidad en aquella muestra en donde se usó una menor concentración del polvo de té verde matcha, también se obtuvieron los códigos de color para la muestra T1 (#989B43), T2 (#908446) y T3 (#847742).

Tabla 13. Parámetro de color de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado.

Muestra	Luminosidad (L^*)	a^*	b^*	ΔE	Código
Jugo de piña	85.5 ± 0.04 ^{bc}	10 ± 0.05 ^b	88 ± 0.19 ^{bc}	6.48 ± 0.06 ^b	#988B43
Polvo de té verde matcha	60.24 ± 2.17 ^{ab}	-4.22 ± 0.00 ^a	35.82 ± 0.06 ^a	6.71 ± 0.01 ^e	#908446
T1 (0.9% t.m-1% <i>L. a</i>)	58 ± 0.65 ^b	-2 ± 0.14 ^b	40 ± 0.34 ^a	2.88 ± 0.5 ^a	#847742
T2 (0.9% t.m-1.5% <i>L. a</i>)	55.24 ± 0.02 ^b	-1.5 ± 0.36 ^a	35 ± 2.60 ^a	2.45 ± 0.2 ^c	#9e9150
T3 (0.9% t.m-2% <i>L. a</i>)	50.24 ± 0.11 ^a	-0.5 ± 0.03 ^b	30.82 ± 0.2 ^a	0.92 ± 0.2 ^b	#ffc00

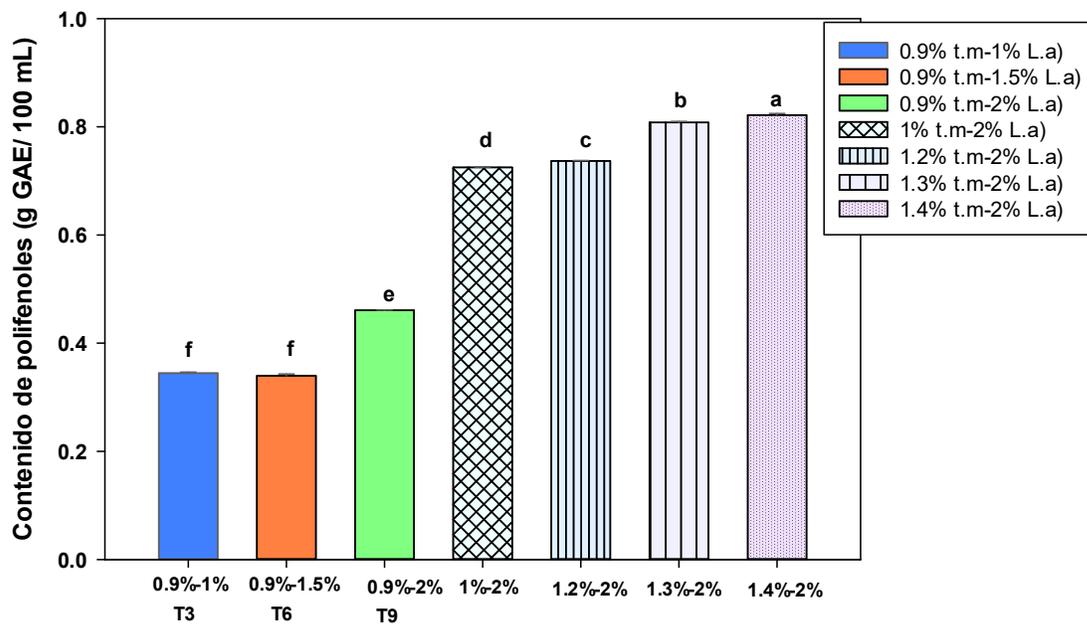
Todos los resultados se expresan como la media ± desviación estándar. Medias con letras minúsculas en la misma columna son significativamente diferente, mediante la prueba de Fisher ($p < 0.01$). t.m: té matcha, *L.a*: *Lactobacillus acidophilus*.

4.12. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES SOLUBLES EN BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MACHA Y *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULADO.

El contenido de polifenoles es un buen indicativo de la actividad antioxidante, ya que un mayor contenido de polifenoles implica una mayor capacidad antioxidante. En la figura 12 se muestra el contenido de polifenoles de las bebidas de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado representados en g GAE/ 100 mL. Pudiendo observar que con 0.9% del polvo de té verde matcha al 1 y 1.5% del *L. acidophilus* encapsulado se encontró una cantidad de 0.3395 y 0.3395 g GAE/100 mL, mientras que para el 2%, 0.4608 teniendo un aumento del 26.23%, esto posiblemente se deba a que el probiótico se encuentra encapsulado y no provoca una fermentación en la bebida ya que después del proceso de fermentación

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

hay una mayor disminución debido a la degradación de los compuestos fenólicos por las BAL. Algunos polifenoles son hidrolizados por la microflora en varios ácidos aromáticos, el *L. acidophilus* es capaz de degradar más compuestos fenólicos que otras bacterias probióticas como el *L. casei*. A medida que aumenta el porcentaje del polvo de té verde matcha aumenta el porcentaje de polifenoles con el 2% de la bacteria probiótica para el 1%-0.7250, 1.2%-0.7367, 1.3%-0.8079 y 1.4%-0.8217 g GAE/100 mL esto comparado con lo reportado por Malik et al., 2019 con el desarrollo de una bebida fermentada y no fermentada de jugo de remolacha, zanahoria y jugo de mezcla con potencial probiótico y antioxidante, teniendo como resultado que el jugo de mezcla no fermentado tuvo un contenido de polifenoles de 776 mg GAE/ L y el fermentado tuvo una disminución de 498 mg GAE/ L.

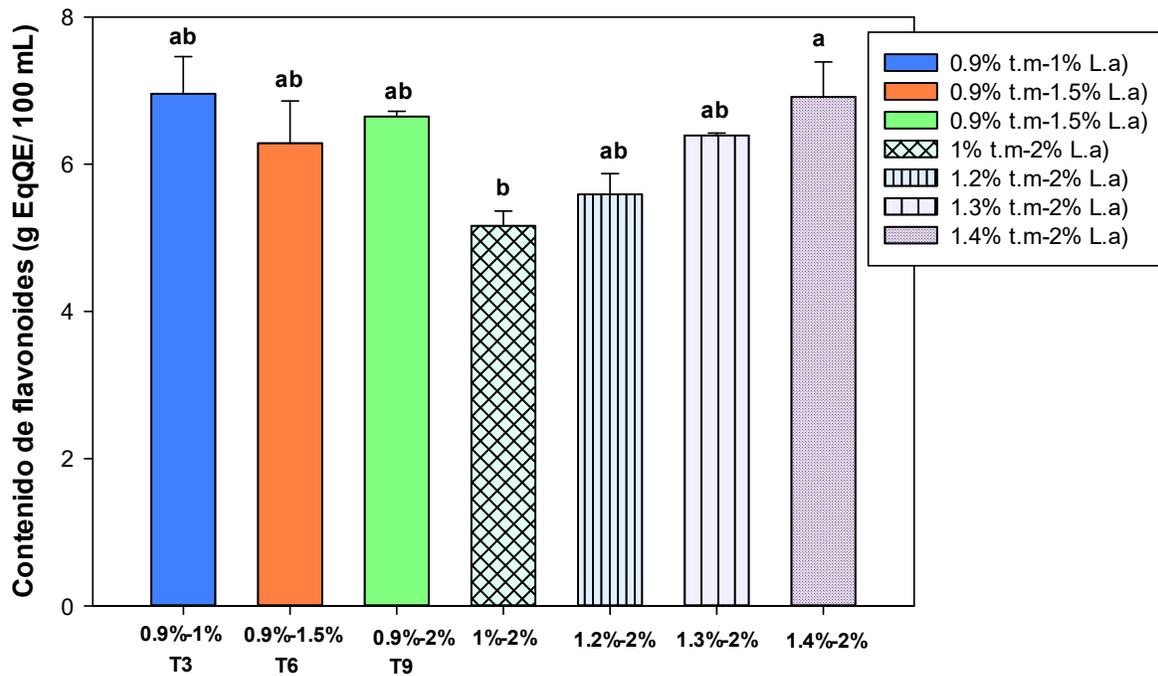


Todos los valores se expresan como la media \pm desviación estándar. Medias con letras distintas en la misma columna son significativamente diferentes mediante la prueba de Fisher ($p < 0.01$).

Figura 12. Cuantificación de polifenoles solubles de la bebida de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado.

4.13. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULADO.

Las catequinas forman parte de la clase más grande de los flavonoides presentes en el té verde matcha conocidos como flavan-3-ol o también como flavonoles. Los cuales pertenecen a la familia de los polifenoles del té verde matcha y suelen representar del 30 al 42% del peso seco de los sólidos en el té verde elaborado (Sang et al., 2011). Estos compuestos representan actividad biológica que tienen numerosos beneficios a la salud del consumidor, por lo que es esencial conservar en gran medida estos compuestos. En la figura 13 se puede observar el contenido de flavonoides de las bebidas con diferente porcentaje de polvo de té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado teniendo que para el 0.9% de polvo de té verde matcha al 1, 1.5 y 2% se encontró una cantidad de 5.89, 6.28 y 6.64 g EQ/100 mL, pudiendo observar que a medida que aumentaba el porcentaje del polvo de té verde matcha hubo un aumento del 5.42% en el tratamiento con 2% del *L. acidophilus*, mientras que para el 1, 1.2, 1.3 y 1.4% de polvo de té verde matcha con el 2% del *L. acidophilus* se encontró 5.16, 5.59, 6.39 y 6.91 gEQ/100 mL. En una investigación realizada por Malik, 2019 con el desarrollo de una bebida fermentada y no fermentada de jugo de remolacha, zanahorita y jugo de mezcla con potencial probiótico y antioxidante tuvieron como resultado que el jugo de mezcla no fermentado mostró el mayor contenido de TFC de 247.2 mg QE/ L. El jugo fermentado por *L. casei*, *L. acidophilus*, mostró una disminución en la cantidad de TFC a 154.75mg QE/ L.



Todos los valores se expresan como la media \pm desviación estándar. Medias con letras mayúsculas en la misma línea son significativamente diferentes, letras minúsculas en la misma columna son significativamente diferentes, mediante la prueba de Fisher ($p < 0.01$).

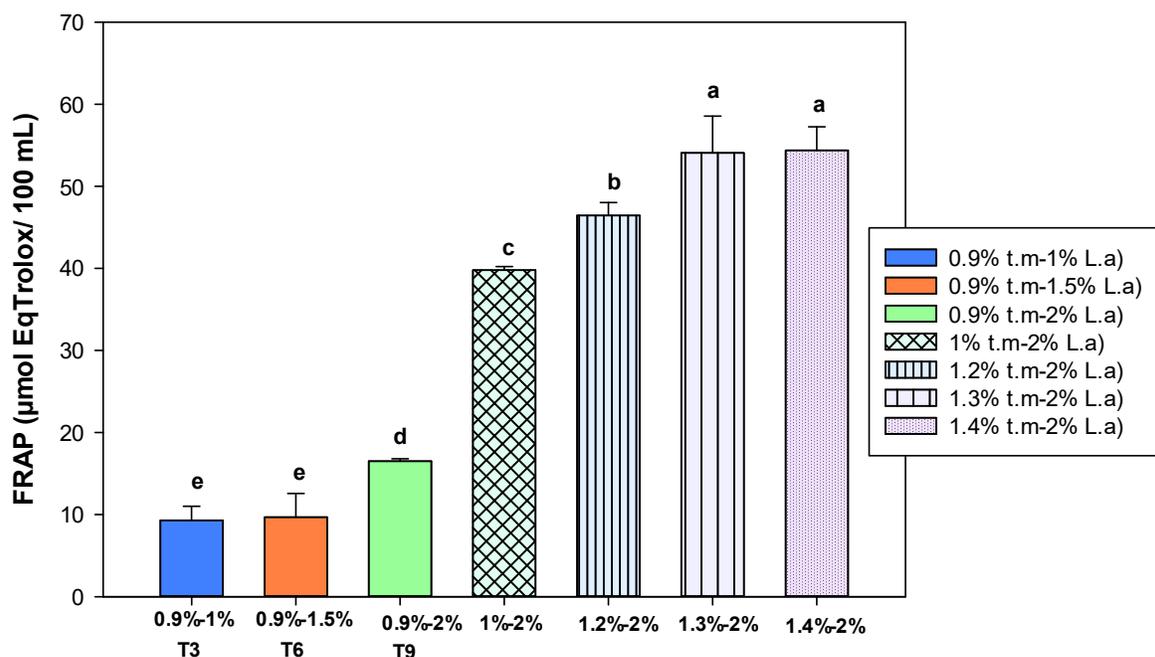
Figura 13. Contenido de flavonoides de las bebidas seleccionadas de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

4.14. FRAP (PODER ANTIOXIDANTE/REDUCCIÓN FÉRRICA) EN BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MACHA Y *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULADO.

En la figura 14 se muestra la capacidad antioxidante por el método FRAP, se puede observar que el polvo de té verde matcha tiene un contenido de 291 μmol Eq Trolox/ 100 mL, el jugo de piña 3.85 μmol Eq Trolox/ 100 mL. Observando que en las diferentes bebidas hay un incremento entre bebidas de 3.55 y 43.75% esto podría

deberse al contenido del polvo de té verde matcha ya que a manera de que se aumenta su porcentaje aumenta la capacidad antioxidante. Los antioxidantes actúan rápidamente, siendo probablemente los más eficientes aquellos compuestos que muestran una mayor reducción de Fe (III) al comienzo de la reacción, este método nos permite medir la capacidad antioxidante con un amplio rango de diluciones de jugos.



Todos los valores se expresan como la media \pm desviación estándar. Medias con letras minúsculas en la misma columna son significativamente diferentes, mediante la prueba de Fisher ($p < 0.01$).

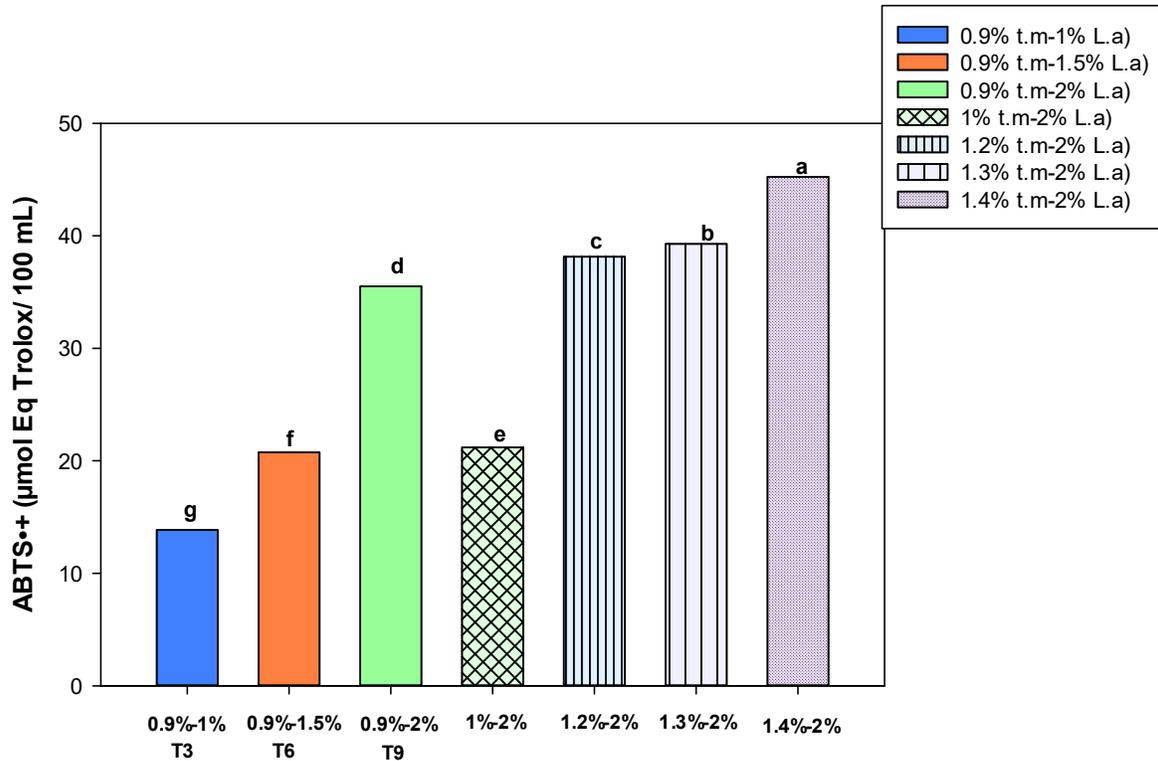
Figura 14. Poder Antioxidante/Reducción Férrica en bebida de jugo de piña-té verde macha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado.

4.15. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO ABTS•+ EN BEBIDA DE JUGO DE PIÑA-TÉ VERDE MACHA Y *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULADO.

La actividad antioxidante se atribuye principalmente al alto contenido fenólico. En la figura 15 se muestra los resultados de las diferentes bebidas a base de jugo de piña-

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado. Para las bebidas con 0.9% de polvo de té verde matcha y el 1% de *Lactobacillus acidophilus* se encontró una actividad antioxidante de 13.85 $\mu\text{mol. eq trolox/ 100 mL}$, para el 1.5% 20.75 y para el 2% 35.50 $\mu\text{mol. eq trolox/ 100 mL}$, mientras que para las bebidas con un porcentaje más elevado de polvo de té verde matcha se obtuvo una actividad antioxidante para el 1%-21.20 1.2%-38.14, 1.3%-39.28 y para el 1.4%-45.23 $\mu\text{mol. eq trolox/ 100 mL}$.



Todos los valores se expresan como la media \pm desviación estándar. Medias con letras minúsculas en la misma columna son significativamente diferentes, mediante la prueba de Fisher ($p < 0.01$).

Figura 15. Capacidad antioxidante por el método ABTS•+ en bebidas seleccionadas de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado.

**4.16. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS BEBIDAS DE JUGO DE
PIÑA-TÉ VERDE MATCHA Y *Lactobacillus acidophilus*
ENCAPSULADO DURANTE 14 DÍAS DE ALMACENAMIENTO
A 4±1 °C.**

RECUENTO DE MESÓFILOS AEROBIOS, MOHOS Y LEVADURAS.

En la tabla se muestra el análisis microbiológico de las bebidas durante 14 días de almacenamiento, donde se puede observar que no hubo presencia de carga microbiana en las diferentes mezclas, esto puede ser atribuido a la acidez y bajo pH causado por el jugo de piña es bien sabido que los cítricos son una fuente valiosa de d-limoneno, carotenoides, fibra dietaria, polifenoles y aceites esenciales. Estos últimos se utilizan como conservadores naturales debido a su amplio espectro de actividades biológicas, incluidos los efectos antimicrobianos y antioxidantes, estos efectos se han atribuido principalmente a la presencia de terpenos, flavonoides y carotenos, así mismo al diferente porcentaje de polvo de té verde matcha ya que se ha comprobado que ejerce un efecto antimicrobiano. En una investigación realizada por Orizaga, 2020 evaluaron la carga microbiana de una bebida de jugo de naranjita y té verde matcha donde no encontraron presencia de mesófilos, coliformes totales, hongos y levaduras, atribuyendo su función antimicrobiana a los compuestos fenólicos, tanto del jugo de naranjita como el té verde matcha, pueden actuar en forma individual, sinérgico, este efecto puede ser relacionado al incremento de la acidez, debido al contenido de compuestos bioactivos presentes en el jugo de naranjita, coadyuvando a la preservación de las bebidas por más tiempo.

Tabla 14. Recuento de microorganismos patógenos de las bebidas seleccionadas de *L. acidophilus* en sistema encapsulado durante 14 días de almacenamiento a 4 ± 1 °C.

Microorganismos	Tiempo (días)			Límites máximos (UFC/g)
	1	7	14	
Mesófilos aerobios	--	--	--	100
Mohos	--	--	--	
Levaduras	--	--	--	25

Todos los valores se expresan como la media \pm desviación estándar. Sin presencia (--)

4.17. EVALUACIÓN SENSORIAL

La evaluación sensorial de las bebidas de jugo de piña-té verde matcha y *Lactobacillus acidophilus* tiene una gran influencia sobre la actitud del consumidor hacia la elección de los alimentos y su aceptación. En la primera etapa se evaluaron las características de las bebidas que fueron seleccionadas conforme a la mayor viabilidad probiótica, las características sensoriales que se evaluaron fue el color, olor, sabor, que tan líquido era la bebida y homogénea, esto se realizó a un grupo de personas de 18 a 24 años que fueron entrenados mediante un perfil flash esto se realizó con el fin de que los panelistas fueran relacionándose con la descripción adecuada y generar su propia descripción sobre la bebida, observando en la figura 11 que la bebida con 0.9% de té verde matcha y 1.5 de *Lactobacillus acidophilus* fue el que tuvo mejores resultados en cuanto a sus características sensoriales generado por los panelistas entrenados.

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

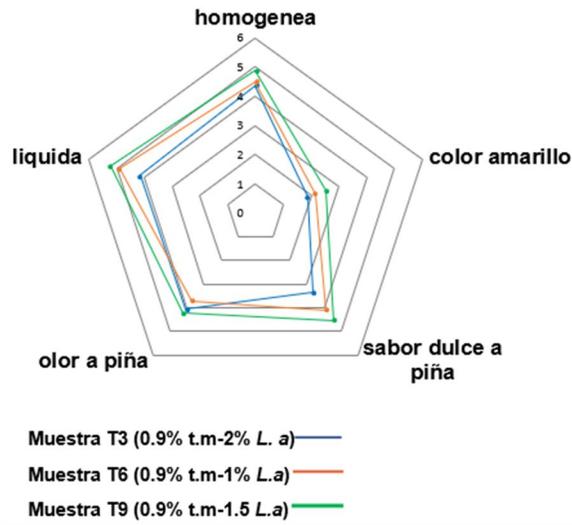


Figura 16. Características sensoriales de las bebidas seleccionadas

En la segunda etapa se realizó la evaluación sensorial a 100 panelistas no entrenados jóvenes entre 22 y 28, adultos 32 y 40 años y adultos mayores de 60 y 68 años, con una escala hedónica de 5 puntos desde no me gusta nada hasta me encanta, observando en la figura 12 que la bebida con 0.9% de té verde matcha y 2% de *Lactobacillus acidophilus* fue la que más le gusto a los panelistas no entrenados con un 56%, esto se debe a que la bebida probiótica no láctea desarrollada sirve como una alternativa útil para brindar bacterias saludables a la población vegana y a las personas intolerantes a la lactosa ya que las opciones disponibles se basan esencialmente en productos lácteos y al ser la bebida con mayor cantidad de probiótico y estar en forma encapsulada asegura su efecto benéfico al consumidor.

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

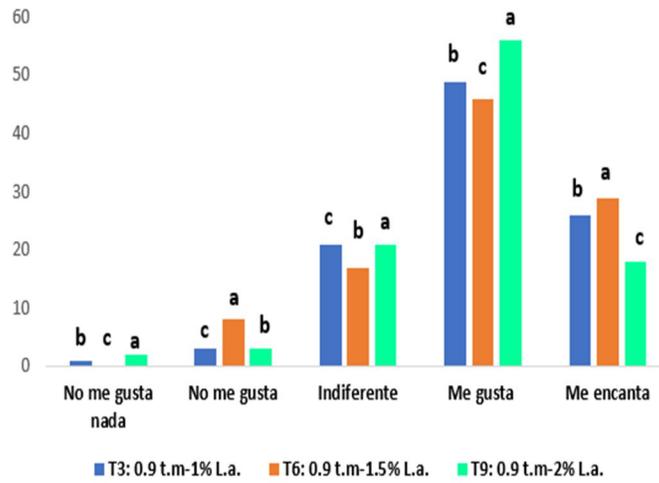


Figura 17. Evaluación sensorial escala hedónica

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

- ❖ La adición de *Lactobacillus acidophilus* a la bebida desarrollada, generó cambios significativos en la acidez, pH a los 21 días y favoreció el incremento de sólidos solubles esto asociado a la actividad metabólica de la bacteria.
- ❖ En el análisis de viabilidad se encontró que las bebidas contenían el nivel deseado de cultivos probióticos (10^9 UFC/ mL) para denominación de producto probiótico.
- ❖ Se encontró una relación entre los azúcares reductores y la viabilidad ya que cuando aumenta los azúcares reductores aumenta la viabilidad esto debido a que la glucosa y fructosa es utilizada como fuente de carbono por las bacterias y resulta favorable para la viabilidad probiótica.
- ❖ La concentración de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante presentes en las bebidas no se vio afectada. Por el contrario, el porcentaje de sustitución del polvo de té verde matcha influyó significativamente en la concentración de estos componentes.
- ❖ Las bebidas preparadas no contenían ningún microorganismo como levaduras y mohos y tampoco mesófilos aerobios, lo que indica que las bebidas solo contienen bacterias beneficiosas para la salud.
- ❖ El análisis sensorial realizado sobre la aceptabilidad muestra que el producto fue bien aceptado. Además, la aceptación general fue mayor cuando los consumidores fueron informados sobre lo saludables que son las bebidas probióticas, mostrando que la aceptación depende de la información del producto.

Referencias

1. Braca, A., Sortino, C., Politi, M., Morelli, I., & Mendez, J. (2002). *Antioxidant activity of flavonoids from Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 379–381. doi:10.1016/s0378-8741(01)00413-5.
2. Bruno, RS, Bomser, JA y Ferruzzi, MG (2014). Antioxidant Capacity of Green (Camellia sinensis). Processing and Impact on Antioxidants in Beverages, 33–39. doi:10.1016/b978-0-12-404738-9.00004-0.
3. Butu, M., & Rodino, S. (2019). *Fruit and Vegetable-Based Beverages—Nutritional Properties and Health Benefits*. *Natural Beverages*, 303–338. doi:10.1016/b978-0-12-816689-5.00011-0
4. Cerrato I. 2013. Parámetros de comercialización de la piña MD2 en los principales mercados hondureños. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Programa Nacional de Desarrollo Agro-alimentario.
5. Champagne, Claude P. and Fustier, Patrick. 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*. 18(2):184-190.
6. Corbo, M., Bevilacqua, A., Speranza, B., Di Maggio, B., Gallo, M., & Sinigaglia, M. (2016). Use of alginate beads as carriers for lactic acid bacteria in a structured system and preliminary validation in a meat product. *Meat Science*, 111, 198-203.
7. Cao SY, Zhao CN, Gan RY, Xu X, Wei XL, Corke H, Atanasov G, et al. Effects and Mechanisms of Tea and Its Bioactive Compounds for the Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases: An Updated Review. *Antioxidants*. 2019; 8(6): 166. DOI: 10.3390/antiox8060166.
8. Carr, A.C.; Maggini, S. Vitamin C and Immune Function. *Nutrients* 2017, 9, 1211. [CrossRef] [PubMed]
9. Dubey, K. K., Janve, M., Ray, A., y Singhal, R. S. (2020). Ready-to-Drink Tea. In *Trends in Non-alcoholic Beverages* (pp. 101-140).

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

10. Das, R., Sailo, L., Verma, N., Bharti, P., Saikia, J., Intiwati, KR y Kumar, R. (2016). Impacto del estrés por calor en la salud y el rendimiento de los animales lecheros: una revisión. *Mundo veterinario*, 9 (3), 260-268.
11. Das, A. B., Goud, V. V., & Das, C. (2019). Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages. *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages*, 285–323. doi:10.1016/b978-0-12-816687-1.00009-6
12. Frei, B., Higdon, J.V., 2003. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J. Nutr.* 133, 3275S–3284S.
13. Francou, A., Hebel, P., Braesco, V., & Drewnowski, A. (2015). *Consumption Patterns of Fruit and Vegetable Juices and Dietary Nutrient Density among French Children and Adults. Nutrients*, 7(8), 6073–6087. doi:10.3390/nu7085268
14. FECYT, F. E. (2005). *Alimentos funcionales*. Ed. Rumagraf.
15. Gallego, C. G., & Salminen, S. (2016). Novel probiotics and prebiotics: How can they help in human gut microbiota dysbiosis? *Applied Food Biotechnology*, 3(2), 72–81.
16. Hossain, M. F. (2016). World pineapple production: An overview. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 16(4), 11443–11456. 10.18697/ajfand.76.15620.
17. H. Wang, G. Cao, and R. L. Prior, “Total antioxidant capacity of fruits,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry Agric Food Chem*, vol. 44, no. 3, pp. 701–705, 1996.
18. Jakubczyk K, Kochman J, Kwiatkowska A, Kałduńska J, Dec K, Kawczuga D, Janda K. Antioxidant Properties and Nutritional Composition of Matcha Green Tea. *Foods*. 2020; 9(4):483. DOI: 10.3390/foods9040483.
19. Khalid, N., Suleria, HAR y Ahmed, I. (2016). Jugo de piña. En F. Shahidi y C. Alasalvar (Eds.), *Manual de bebidas funcionales y salud humana (primera edición, págs. 489–500)*. Prensa CRC. 10.1201 / b19490-43.

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

20. Kochman J, Jakubczyk K, Antoniewicz J, Mruk H, Janda K. Beneficios para la salud y composición química de Matcha Green Tea: A Review. *Moléculas*. 2020; 26(1): 85. DOI: 10.3390/ molecules26010085
21. Koláčková, T.; Kolofiková, K.; Sytařová, I.; Snopek, L.; Sumczynski, D.; Orsavová, J. Matcha Tea: Analysis of Nutritional Composition, Phenolics and Antioxidant Activity. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2020, 75, 48–53. [CrossRef]
22. López-Hernández, Orestes Darío. 2010. Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersion. *Revista Cubana de Farmacia*. 44(3):381-389.
23. Liu, M.; Li, X. Q.; Weber, C.; Lee, C. Y.; Brown, J. and Liu, R. H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *J. Agric. Food Chem.* 50:2926-2930.
24. Lobo, MG y Yahia, E. (2016). Biología y fisiología poscosecha de la piña. En *Manual de tecnología de la piña: ciencia, procesamiento y nutrición poscosecha* (págs. 39–61). 10.1002 / 9781118967355.
25. Marteau PR, de Vrese M, Cellier CJ, Schrezenmeir J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 2015;73: suppl 2):430S-6S.
26. Martín-Villena, M.J.; Morales-Hernández, M.E.; Gallardo-Lara, V. y RuízMartínez, M.S. 2009. Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS Pharmaceutica*. 50(1):43-50.
27. Marhamatizadeh, M. H., Ehsandoost, E., & Gholami, P. (2013). The influence of Green Tea (*Camellia sinensis L.*) Extract on characteristic of probiotic bacteria in milk and yoghurt during fermentation and refrigerated storage. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2, 599–606. <http://www.ijfas.com/wp-content/uploads/2013/09/599-606.pdf>
28. MPIB. (2020). *Jenis nanas-Lembaga Perindustrian Nanas Malaysia*. 10.1017 / CBO9781107415324.004.

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

29. Naveed, M.; Hejazi, V.; Abbas, M.; Kamboh, A.A.; Khan, G.J.; Shumzaid, M.; Ahmad, F.; Babazadeh, D.; Xia, F.F.; ModarresiGhazani, F.; et al. Chlorogenic Acid (CGA): A Pharmacological Review and Call for Further Research. *Biomed. Pharm.* 2018, 97, 67–74. [CrossRef]
30. Ortakci, F., Broadbent, J., McManus, W., & McMahon, D. (2012). Survival of microencapsulated probiotic *Lactobacillus paracasei* LBC-1e during manufacture of Mozzarella cheese and simulated gastric digestion. *American Dairy Science Association*, 95, 6274-6281.
31. Peterson, J. (2003). *Natural Products*. American Chemical Society. New Orleans, Estados Unidos.
32. Pérez-Leonard, Heidy, & Bueno-García, Gloria, & Brizuela-Herrada, María Antonieta, y Tortoló-Cabañas, Keyla, & Gastón-Peña, Cristina (2013). Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos favoritos. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 47(1), 14-25. [fecha de Consulta 8 de noviembre de 2020]. ISSN: 0138-6204. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=2231/223126409003>.
33. Pereira, A. L. F., Feitosa, W. S. C., Abreu, V. K. G., Lemos, T. de O., Gomes, W. F., Narain, N., & Rodrigues, S. (2017). Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 100(Pt 1), 603–611. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.055>.
34. Pedroza, R. Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para 22 la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. En: Cruz Suárez, L. E.; Ricque, D.; Tapia, M., Gaxiola, M. G.; Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de septiembre del 2009. Cancún, Quintana Roo, México.
35. Rodríguez-Pérez, K., Vivar-Vera, M., Rodríguez-Miranda, J., & Paz-Gamboa, E. (2016). Efecto de un multi-compuesto polimérico en la co-encapsulación de

Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de Tuxtepec

Lactobacillus reuteri expuesto a altas temperaturas. Avances y Perspectivas en Biotecnología y Ciencias Agropecuarias, 31-49.

36. Steingass, Christof Bjorn, Carle, R., & Schmarr, H. G. (2015). Ripening-dependent metabolic changes in the volatiles of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) fruit: I. Characterization of pineapple aroma compounds by comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407 (9), 2591–2608. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8474-z>.
37. Shamsudin, R., Zulkifli, NA y Kamarul Zaman, AA (2020). Atributos de calidad de fresco Mezcla de jugo de piña y mango durante el almacenamiento. *Revista Internacional de Investigación Alimentaria*, 27 (1), 141–149.
38. Secretaria de Desarrollo Agropecuario, Pesca y Acuicultura (SEDAPA, 2022)
39. Thakur, M. and Sharma, R. K., Development of Probiotic Pomegranate Beverage and Its Physico-Chemical and Microbial Characterization, *Int. J. Pure App. Biosci.* 5(1): 35-41 (2017). doi: <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.2488>.
40. Unno, K.; Furushima, D.; Hamamoto, S.; Iguchi, K.; Yamada, H.; Morita, A.; Pervin, M.; Nakamura, Y. Stress-Reducing Effect of Cookies Containing Matcha Green Tea: Essential Ratio among Theanine, Arginine, Caffeine and Epigallocatechin Gallate. *Heliyon* 2019, 5. [CrossRef]
41. Weiss, D. & Anderton, R. (2003). Determination of catechins in matcha green tea by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*. pp: 173-180.
42. WHO, 2003. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 916, i–viii-1-149-backcover. doi:ISBN 92 4 120916 X ISSN 0512-3054 (NLM classification: QU 145).
43. Yanina Maricel Caicedo Cipagauta. 2010. Estudio de la viabilidad de la incorporación de bacterias probióticas micro encapsuladas en helados.

**Maestría en Ciencias en Alimentos TecNM Instituto Tecnológico de
Tuxtepec**

44. Yamabe, N., Sung, K., Moon, J. & Yokozawa, T. (2009). Matcha, a Powdered Green Tea, Ameliorates the Progression of Renal and Hepatic Damage in Type 2 Diabetic OLETF Rats. *Journal of Medicinal Food*. pp: 714-721.
45. Zdrojewicz, Z., Chorbińska, J., Biezyński, B. y Krajewski, P. (2018). Promotora de la salud propiedades de la piña. *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*, 14 años (2), 133-142. <https://doi.org/10.15557/PiMR.2018.0013>.