



# BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA ALIMENTOS

**“Desarrollo de un alimento “funcional” tipo  
betún bajo en azúcares y grasa”**

## **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**LICENCIADA EN  
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA

**MELISSA SÁNCHEZ SÁNCHEZ**

DIRECTOR DE TESIS

**DR. CARLOS ENRIQUE OCHOA VELASCO**

CODIRECTOR DE TESIS

**DRA. PAOLA HERNÁNDEZ CARRANZA**

**ABRIL 2025**



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



OFICIO C.Q./CT 078CR/2024

**OFICIO DE REGISTRO Y NOMBRAMIENTO DE COMISION REVISORA**

Nombre del(la) estudiante: **Melissa Sanchez Sanchez**

Matrícula: **201806937**

Nombre del director: **Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco**

Nombre del codirector o asesor: **Dra. Paola Hernández Carranza**

Título de la Tesis:

**“Desarrollo de un alimento “funcional” tipo betún bajo en azúcares y grasa”**

**Comisión Revisora:**

Presidente: D.C. Raúl Ávila Sosa

Firma: 

Secretario: M.E.C. Obdulia Vera López

Firma: 

Vocal: D.C. Mariana Aguirre García

Firma: 

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. PuebladeZ., 28 de octubre de 2024



Dr. Henoc Flores Segura

Director Facultad de Ciencias Químicas

c.c.p. Archivo





**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

OFICIO C.Q./CT 058 A/2024

Dr. Henoc Flores Segura  
Director Facultad de Ciencias Químicas  
Presente.

**OFICIO DE REVISIÓN, LIBERACIÓN E IMPRESIÓN DE TESIS**

**Título de la Tesis:**

**“Desarrollo de un alimento “funcional” tipo betún bajo en azúcares y grasa”**

**Comisión Revisora:**

Presidente: D.C. Raúl Ávila Sosa

Firma: 

Secretario: M.E.C. Obdulia Vera López

Firma: 

Vocal: D.C. Mariana Aguirre García

Firma: 

Los integrantes de la Comisión Revisora comunicamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de licenciatura de **Químico Farmacobiólogo** que presenta el estudiante **Melissa Sanchez Sanchez**, bajo la dirección del **Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco** y codirección de **Dra. Paola Hernández Carranza** por lo que estamos de acuerdo en que se proceda con la impresión definitiva de la tesis y que el estudiante presente su defensa y examen, con número de matrícula **201806937**.

Atentamente

Comisión revisora

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. PuebladeZ., 20 de noviembre de 2024



c.c.p. Archivo

Facultad de Ciencias Químicas  
Av. San Claudio No. 1 Edificio FCQ 9  
Ciudad Universitaria Col. San  
Manuel (222)2295500 ext. 7390

## **Agradecimiento**

En primer lugar, agradezco profundamente a mi asesor de tesis, el Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco, por haber creído en mí y brindado la oportunidad de trabajar con él, así como por su guía constante, sus valiosos consejos y la paciencia que me ofreció a lo largo de este camino. Admiro profundamente su trabajo, disciplina, por lo que trabajar bajo su tutela ha sido una oportunidad invaluable, por la cual me siento inmensamente agradecida.

De igual manera, mi más sincero agradecimiento a la Dra. Paola Hernández Carranza, quien me acompañó y brindó su valiosa ayuda durante mi proceso en el laboratorio. Su disposición, conocimientos y motivación fueron piezas clave para avanzar en esta investigación.

Quiero también expresar mi gratitud a los miembros de mi jurado sinodal, quienes dedicaron su tiempo y esfuerzo en la revisión y evaluación de este trabajo. Aprecio su compromiso y sus aportaciones, que enriquecieron mi formación académica.

A mis padres, mamá y papá, gracias por ser mi pilar más fuerte, por apoyarme incondicionalmente en cada momento de esta travesía, por sus palabras de aliento y amor inagotable. Sin ustedes, nada de esto hubiera sido posible.

A mi hermana, gracias por estar siempre a mi lado, por ser mi mejor amiga y por ser una de las razones más importantes por las que nunca me rindo. Tu apoyo y amor me han dado la fuerza para seguir adelante.

A Dios, por darme la fortaleza, la paciencia y las oportunidades necesarias para llegar hasta aquí. Sin su guía, este camino habría sido mucho más difícil.

Finalmente, quiero agradecerme a mí misma. Agradezco a esa versión de mí que nunca se dio por vencida, que supo levantarse en cada caída y que aprendió a confiar en el proceso.



2.3.4.5.	Mucílago de linaza .....	24
2.3.4.6.	Características fisicoquímicas .....	25
2.3.4.7.	Mucílago de linaza como prebiótico .....	25
2.3.4.8.	La aplicación de mucílago de linaza en alimentos .....	26
2.3.4.9.	Mucílago de linaza como sustituto de grasa .....	27
2.4.	Alimentos funcionales .....	27
2.4.1.	Origen de los “alimentos funcionales “ .....	27
2.4.2.	Alimentos funcionales en México .....	29
2.4.3.	Situación actual de los alimentos funcionales .....	29
2.4.4.	Importancia de los alimentos funcionales .....	30
2.5.	Alimentación Saludable .....	30
2.5.1.	Características de una alimentación saludable .....	31
2.5.2.	Recomendaciones para mantener una alimentación según la OMS: .....	31
2.5.3.	Importancia de una alimentación saludable .....	31
2.6.	Betún .....	32
2.6.1.	Características del betún .....	32
3.	JUSTIFICACIÓN.....	34
4.	OBJETIVOS.....	35
4.1	Objetivo general.....	35
4.2	Objetivos específicos .....	35
5.	DIAGRAMA DE TRABAJO .....	36
6.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	37
7.	METODOLOGÍA.....	38
7.1.	Extracción de mucilago de linaza.....	38
7.4.	Pruebas preliminares .....	39
7.5.	Formulación de betún .....	39
7.6.	Análisis microbiológico comparativo de cuatro sistemas de betún .....	41
7.7.	Prueba sensorial .....	42
7.8.	Caracterización bromatológica .....	43
7.9.	Análisis estadístico .....	44
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	44
8.1.	Pruebas preliminares: Viabilidad de microorganismos probióticos en el betún durante el almacenamiento .....	44
	.....	46

<b>8.2. Formulación y composición químico-proximal sistemas de betún funcional.....</b>	<b>46</b>
<b>8.3. Viabilidad de microorganismos probióticos en los sistemas de betún funcional.....</b>	<b>49</b>
<b>8.4. Evaluación sensorial del betún funcional.....</b>	<b>52</b>
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>56</b>
<b>10. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>57</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>58</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Métodos y referencias utilizados en la presente investigación.....	37
<b>Tabla 2.</b> Equipos que se utilizados en esta investigación.....	37
<b>Tabla 3.</b> Formulación de cada uno de los sistemas con los que se trabajo. ....	40
<b>Tabla 4.</b> Componentes y proporciones de la formulación de los sistemas de betún funcional desarrollados. ....	46
<b>Tabla 5.</b> Composición química-proximal de los cuatro sistemas de betún funcional desarrollados. ....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema de la metodología a seguir.....	36
<b>Figura 2.</b> Elaboración de betún funcional.....	41
<b>Figura 3.</b> Lotes de betún funcional correspondientes a los cuatro sistemas formulados para pruebas de almacenamiento.....	42
<b>Figura 4.</b> Viabilidad de microorganismos probióticos ( <i>L. casei</i> , <i>L. ácidophilus</i> y <i>L. rhamnosus</i> ) en un betún compuesto por 30 g de crema para batir, 5 g de cocoa, 0.2 g de mucílago de linaza y 5 g de mantequilla, durante 10 días de almacenamiento a 4 °C. ....	46
<b>Figura 5.</b> Viabilidad de <i>L. casei</i> en los distintos sistemas de betún durante 14 días de almacenamiento a 4 °C.....	51
<b>Figura 6.</b> Viabilidad de <i>L. acidophilus</i> en los distintos sistemas de betún durante 14 días de almacenamiento a 4 °C.....	51
<b>Figura 7.</b> Evaluación sensorial de un betún funcional ( <i>L. casei</i> y <i>L. ácidophilus</i> ) comparado con un betún comercial (BC).....	53
<b>Figura 8.</b> Comparación de las características sensoriales del betún comercial evaluado al inicio (0 días) y tras 14 días de almacenamiento. ....	54
<b>Figura 9.</b> Comparación de las características sensoriales del betún funcional inoculado con <i>L. casei</i> evaluado al inicio (0 días) y tras 14 días de almacenamiento. ....	55

## RESUMEN

El sobrepeso y la obesidad son problemas de salud pública de creciente preocupación a nivel mundial, afectando a un porcentaje importante de la población infantil, adolescente y adulta. Estas condiciones elevan el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares hipertensión y algunos tipos de cáncer. La obesidad es una enfermedad multifactorial en la cual influyen varios factores, entre los que se incluyen la genética, el estilo de vida y de manera predominante la alimentación. Esta alimentación crea un desequilibrio energético, en el que las calorías consumidas exceden a las gastadas, asociado con el consumo elevado de productos ricos en azúcar y grasa, como los betunes ampliamente utilizados en productos de repostería.

Con el fin de ofrecer una alternativa más saludable, se desarrolló un betún funcional bajo en azúcar y grasa, incorporando ingredientes naturales como el mucílago de linaza que actúa como prebiótico, favoreciendo el crecimiento de las bacterias beneficiosas y añadiendo cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* con propiedades probióticas contribuyendo al equilibrio del microbiota. Para evaluar su efectividad se llevaron a cabo análisis microbiológicos, composición nutricional y la aceptación sensorial.

Los resultados sugieren que el betún funcional contiene menos azúcar y grasa, pero sin comprometer su sabor o textura, además al contener probiótico, se podría mejorar la salud digestiva, lo que proporciona una alternativa viable para la industria de la repostería adaptándose con la tendencia de alimentos más saludables.

## 1. INTRODUCCIÓN

La prevalencia de la obesidad y el sobrepeso se han convertido en uno de los mayores desafíos de salud pública a nivel global. En México, más de 50 millones de personas padecen de obesidad, lo que coloca al país en el quinto lugar a nivel mundial según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (Instituto Nacional de Salud Pública [INSP], 2023). De acuerdo con Forbes México (2024), el 36.9% de los adultos mexicanos viven con esta condición. El sobrepeso se caracteriza por la acumulación excesiva de grasa en el cuerpo, esta es una condición precursora de la obesidad que, de no ser controlada, puede progresar hacia esta enfermedad crónica. La obesidad está fuertemente asociada a enfermedades crónicas tales como la diabetes, hipertensión arterial, enfermedades cardiovasculares, así como algunos tipos de cáncer, lo que resulta en la disminución en la calidad de vida. Tanto el sobrepeso y la obesidad están relacionados a factores genéticos, ambientales y estilo de vida. Entre los factores más influyentes se encuentra la alimentación la cual se caracteriza por el consumo excesivo de productos ricos en azúcar y grasas, lo cual es un contribuyente clave en el aumento del sobrepeso y obesidad.

En este escenario, los alimentos funcionales han surgido como una innovadora herramienta en la promoción de la salud. Estos alimentos se caracterizan por contener componentes bioactivos, como los probióticos y prebióticos, ofreciendo un beneficio adicional más allá de los nutrientes convencionales. Los probióticos, como los son los lactobacilos, al ser consumidos en las cantidades adecuadas promueven el equilibrio del microbiota intestinal, modulando el sistema inmunológico y mejorando la digestión. Por otro lado, los prebióticos fomentan el crecimiento y actividad de los probióticos, por lo que la combinación crea una sinergia que apoyan a la salud digestiva y el bienestar general. En este contexto, el betún comúnmente utilizado en la repostería por su versatilidad para mejorar el sabor y la apariencia representa una oportunidad para la

innovación. Si se reformula para incluir ingredientes funcionales como los mencionados anteriormente, se puede lograr mejorar su composición nutricional.

Por lo que el diseño de productos como un betún funcional bajo en azúcar y grasa, enriquecido con probióticos y prebióticos representa una opción atractiva, al ser una opción más saludable frente a un betún tradicional y sin comprometer el sabor ni la experiencia sensorial del consumidor.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Sobrepeso y obesidad**

El sobrepeso se caracteriza por una acumulación excesiva de grasa en el cuerpo, es una condición precursora de la obesidad que al no ser contralada puede progresar y resulta en obesidad. Esta condición resulta en el aumento de riesgo a la salud y de desarrollar enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, hipertensión y algunos tipos de cáncer, así como influye en aspectos de la calidad de vida como el sueño y movilidad. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el diagnóstico se efectúa midiendo el peso y la estatura calculando el índice de masa corporal (IMC), en la población adulta un IMC igual o superior a 25 indica sobrepeso. En niños menores de 5 años, el sobrepeso se define como un peso para la estatura superior a dos desviaciones típicas por encima de la mediana de los patrones de crecimiento infantil de la OMS. Para las edades de 5 a 19 años, el sobrepeso se define como un IMC para la edad superior a una desviación típica por encima de la mediana de la referencia de crecimiento de la OMS. De acuerdo con cifras reportadas por la OMS en el 2020 2500 millón de adultos de 18 años o más tenían sobrepeso, cifra que representa el 43% de la población y así como 37 millones de niños menores de 5 años también presentaba esta condición (World Health Organization, n.d.).

De acuerdo con datos de La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENASUT) 2022 se observó un aumento significativo del sobrepeso en la población mexicana. Entre los niños de 5 a 11 años, la prevalencia de sobrepeso aumentó un 7% entre 2006 y 2022, alcanzando así un 37.3% en 2022, con una mayor incidencia en niños que en niñas. En los adolescentes de 12 a 19 años, la prevalencia fue de 41.1% en 2022, lo que representa un aumento del 24% en el mismo período. En cuanto a los adultos mayores de 20 años, el 75.2% presenta sobrepeso y obesidad, siendo más común en mujeres (76.8%) que en hombres (73.5%). El grupo de adultos entre 40 y 60 años registró las prevalencias más altas, alcanzando el 85% (Instituto Nacional de Salud Pública [INSP], 2023).

### **2.1.1. Obesidad**

La obesidad se define como una enfermedad crónica multifactorial caracterizada por la acumulación excesiva de grasa en el cuerpo. Esta condición se produce cuando la energía almacenada es significativamente mayor que la energía utilizada por el cuerpo, lo que lleva a un exceso de energía que se almacena en las células grasas, desarrollando así la patología característica de la obesidad como son el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria, accidente cerebrovascular, enfermedades vasculares periféricas, diabetes mellitus tipo 2 y algunos tipos de cáncer (Lin & Li, 2021). De acuerdo con los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se puede definir y diagnosticar la obesidad con el Índice de Masa Corporal (IMC). Para adultos,  $IMC \geq 30,0$ . La obesidad se clasifica además en tres niveles de gravedad: clase I (IMC 30,0-34,9), clase II (IMC 35,0-39,9) y clase III (IMC  $\geq 40,0$ ) (World Health Organization, n.d.).

### **2.1.2. Aspectos multifactoriales de la obesidad**

#### **2.1.2.1. Alimentación**

La dieta y diversos factores sociales, económicos y ambientales relacionados con el suministro de alimentos tienen un efecto significativo en la capacidad de una persona para lograr el equilibrio energético. En la obesidad, el desequilibrio energético refleja un estado de equilibrio energético positivo hay un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y gastadas. Las personas con obesidad manifiestan una preferencia por sabores provenientes de grasa y una mayor ingesta de grasas en la dieta puede inducir mayor ganancia de peso, porque estos macronutrientes tienen mayor densidad calórica (9 kcal/g), se incorporan en alimentos más apetecibles, producen menos saciedad e inducen menor termogénesis postprandial. Sin embargo, no es indispensable una sobre ingesta de grasas para inducir obesidad, ya que esta puede aparecer por exceso de ingesta de otros aportadores de energía, como los carbohidratos y alcohol, cuya oxidación es proporcional a la ingesta y su capacidad almacenamiento es limitada (Carrasco & Galgani, 2012).

#### **2.1.2.2. Genética**

La genética de la obesidad se puede presentar de dos formas: sindrómica y no sindrómica, ambas asociadas a diversos genes, consecuencias genéticas y clínicas. Los síndromes genéticos relacionados a la obesidad sin retraso del desarrollo son: el síndrome de Alström la deficiencia congénita de leptina, la deficiencia del receptor de leptina, la deficiencia de POMC, la deficiencia de PC1, la deficiencia de MC4R y la deficiencia de SH2B1. En cuanto a los síndromes que asociados con la obesidad con retraso del desarrollo son: el síndrome de Prader-Willi, el síndrome del cromosoma X frágil, la deficiencia de SIM1, el síndrome de Bardet-Biedl, el síndrome de Cohen y el síndrome de osteodistrofia hereditaria de Albright (Singh et al., 2017).

La obesidad no sindrómica se puede clasificar en monogénica la cual es causada por variantes de genes individuales, mientras que la poligénica incluye varios genes. Entre los genes que están asociados como causa de la obesidad está la leptina (LEP), el receptor de leptina (LEPR), la proopiomelanocortina (POMC), la prohormona convertasa 1 (PCSK1), el receptor de melanocortina 4 (MC4R), el homólogo monoparental 1 (SIM1), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el gen del receptor de tirosina quinasa neurotrófica tipo 2 (NTRK2) (Mahmoud et al., 2022).

#### **2.1.2.3. Microbiota intestinal**

La disbiosis, el cual se refiere a un desequilibrio del microbiota intestinal se asocia con la obesidad. Esta disbiosis puede aumentar la absorción de energía a través de cambios en la expresión genética y en la acumulación excesiva de ácidos grasos de cadena corta (AGCC); aumenta el apetito central a través del eje intestino-cerebro, las hormonas intestinales y los neuromoduladores; regula el almacenamiento de grasa a través de factores de transcripción y lipoproteína lipasa; causa inflamación crónica a través de la regulación de la expresión genética inflamatoria y lipopolisacárido; y alterar el ritmo circadiano al afectar los factores de transcripción

circadianos, las modificaciones epigenéticas y la síntesis de bilis y AGCC. Estos factores están relacionados a una mayor susceptibilidad a la obesidad (Liu et al., 2021).

#### **2.1.2.4. Estilo de vida**

La falta de actividad física y hábitos sedentarios se han identificado como factores que contribuyen a la prevalencia de la obesidad. Así como se ha demostrado que el realizar actividad física de forma regular con una duración e intensidad suficiente puede ayudar a prevenir el sobrepeso y obesidad, así como efectos positivos en la salud mental, lo que ayuda en el mantenimiento del peso saludable. El comportamiento sedentario se define como el tiempo excesivo frente a una pantalla, de dos o más horas diarias, este tiempo no debe estar relacionado con el trabajo, como es el uso de pantallas lo que engloba todo tipo de interacción con dispositivos electrónicos en los que se incluye televisión, celulares, tabletas o computadoras (Forero et al., 2023). Por lo anterior incrementar la actividad física es crucial para controlar el exceso de peso, las guías clínicas sugieren una dieta baja en calorías, mayor ejercicio físico y cambios en la conducta (Apovian, 2016).

## **2.2. Obesidad en México: Panorama actual**

Según Forbes México (2024), "México ocupa el quinto lugar a nivel mundial en cuanto a esta enfermedad, la cual afecta a más de 50 millones de personas, según datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2022" (Forbes México, 2024).

En México el 36.9 % de personas adultas sufren de obesidad, y para el año 2030 podría incrementar al 40%. Esto siendo alarmante ya que la incidencia de la obesidad es el doble en comparación con los años 80, esto de acuerdo con el Centro de Investigación en Nutrición y Salud del Instituto Nacional de Salud Pública (Instituto Nacional de Salud Pública, 2024).

En México el grupo más afectado por IMC elevado es el de 70 años y más, proporcionalmente más mujeres que hombres están expuestas a tener un IMC elevado, aunque más hombres mueren por los efectos del sobrepeso y obesidad (Arreola-Ornelas et al., 2023).

### **2.3. Agentes promotores de la salud**

#### **2.3.1. Probióticos**

La definición propuesta por la FAO/OMS describe a los probióticos como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped" (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO] & Organización Mundial de la Salud [OMS], 2001). El término probiótico fue utilizado por primera vez en la década de 1960, hoy en día los microorganismos probióticos más utilizados y ampliamente estudiados son bacterias ácido-lácticas, como las especies *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, así como la levadura *Saccharomyces boulardii*, las cuales están regulados como suplementos dietéticos y alimentos, estos están disponibles en capsulas, comprimidos, polvos, soluciones, también están disponibles en diversos alimentos fermentados, como lo son yogurts o bebidas lácteas, estos productos pueden contener un solo microorganismo o una mezcla de varias especies (Williams, 2010).

##### **2.3.1.1. Beneficios de los probióticos**

Los beneficios de los probióticos han sido extensamente estudiados por científicos, por la industria alimentaria y farmacéutica, lo que ha dado lugar a múltiples afirmaciones profilácticas y terapéuticas, en las que se incluye prevención y tratamiento de la diarrea aguda causada por antibióticos o *Clostridium difficile*, la mejora de la enfermedad inflamatoria intestinal, en el síndrome del intestino irritable, esto por nombrar algunas (Suez et al., 2019).

Los probióticos ayudan a mantener el equilibrio nutricional y microbiológicos del tracto gastrointestinal, funcionan como vehículos al transportar componentes activos a varios sitios

diana del tracto gastrointestinal. Estos beneficios se deben a la capacidad de normalizar la permeabilidad intestinal, restaurar el microbioma mejora la función inmunológica de la barrera intestinal y reducir la respuesta inmune proinflamatoria. Para que un probiótico sea verdaderamente efectivo, debe ser capaz de sobrevivir al ambiente ácido del estómago y transitar a través del intestino, esto varía ampliamente por género, especie, cepas y dosis ingerida, así como factores relacionados al huésped (Domingo, 2017).

### **2.3.1.2. Mecanismo de acción de los probióticos**

El primer mecanismo llamado efecto barrera, se refiere a su capacidad para resistir la colonización por bacterias patógenas mediante la producción de bacteriocinas de amplio espectro inhibitorio y biosurfactantes con actividad antimicrobiana, lo que les permite prevenir la adhesión en la mucosa intestinal.

El segundo mecanismo es mediante la mejora de la barrera intestinal, los probióticos pueden actuar a nivel de las vías de señalización que conducen al aumento de la capa de moco o en la producción de defensinas, proteínas de las uniones estrechas entre las células epiteliales, así como con las células de Paneth que ayudan a mejorar la función de la barrera fisiológica.

El tercer mecanismo de acción es mediante la modulación del sistema inmunitario, que el 70% se encuentra en el intestino delgado, constituyendo el tejido linfoide asociado al intestino. Las placas de Peyer las cuales están recubiertas de células M, son puntos clave para la entrada de antígenos desencadenando respuestas inmunitarias. Para que se active la respuesta inmunitaria se requiere el reconocimiento de receptores específicos de las células de la inmunidad innata, estos receptores conocidos como receptores de reconocimiento de patrones (PRR) reconocen patrones moleculares asociados a microbios (MAMP), los que se encuentran en la superficie de los microorganismos. Los MAMP interactúan con el epitelio intestinal lo que estimula las células del sistema inmunitario en la lámina propia (capa del intestino), dando como resultado la activación de células T reguladoras y la diferenciación de linfocitos T colaboradores (Th), estos

linfocitos pueden inducir la producción de citocinas que pueden ser moléculas proinflamatorias o antiinflamatorias. Las bacterias probióticas, especialmente las bacterias lácticas pueden estimular esta respuesta inmunitaria mediante la producción de IgA secretora, o bien alterar el perfil de citocinas producido.

Hablando específicamente de las bacterias probióticas estas pueden actuar principalmente a través de:

- Su estructura como el ADN, peptidoglicano, flagelina.
- Sus metabolitos un claro ejemplo son los ácidos grasos de cadena corta (Butel, 2014).

### **2.3.2. Bacterias ácido-lácticas**

Las bacterias ácido-lácticas son ampliamente utilizadas como probióticos gracias a sus beneficios a la salud. Las bacterias ácido-lácticas engloba a un grupo heterogéneo de microorganismo que tiene como principal característica la producción de ácido láctico a partir de la fermentación de carbohidratos, pueden ser cocos o bacilos Gram positivas, anaerobias, no formadoras de esporas, catalasa negativos, con alta tolerancia al pH bajo, producen ácido láctico mediante la fermentación de carbohidratos, su crecimiento óptimo es a pH 5.5 - 5.8, son nutricionalmente exigentes debido a su limitada habilidad para sintetizar aminoácidos y vitamina B. Las bacterias ácido-lácticas son ampliamente distribuidas en la naturaleza, se pueden encontrar en material vegetal en descomposición, en frutas, productos lácteos, carne y pescado fermentado, cereales, así como también habitan los humanos por ejemplos en la cavidad oral, el íleon, el colon y vagina (Mokoena, 2017).

#### **2.3.2.1. Metabolismo**

Las bacterias ácido-lácticas no tienen la capacidad de sintetizar citocromo y porfirinas, componentes de la cadena de respiración lo que significa que no generan ATP mediante la creación de una gradiente de protones, generan ATP mediante la fermentación de carbohidratos.

Se pueden distinguir dos vías por las cuales se lleva a cabo la fermentación, una es por glucólisis (vía de Embden-Meyerhof) y la vía la 6-fosfogluconato/fosfocetolasa (Khalid, 2011).

De acuerdo con la vía de fermentación, las bacterias ácido-lácticas se clasifican en homofermentativas y heterofermentativas.

Dentro del grupo de homofermentativas están géneros como *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, su principal producto es el ácido láctico, se produce más del 85% a partir de glucosa, al convertir 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico. Las bacterias que llevan a cabo esta vía de fermentación poseen las enzimas aldosa y hexosa isomerasa mientras que carecen de la fosfocetolasa.

Las bacterias ácido-lácticas heterofermentativas generan como producto final cantidades equimolares de lactato, dióxido de carbono y etanol, todo a partir de un mol de glucosa, poseen la enzima fosfocetolasa, pero carece de aldolasa y hexosa isomerasa. En este grupo se incluyen géneros como *Lactococcus*, *Lactobacillos*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus* (Parra Huertas, 2010).

#### **2.3.2.2. Beneficios**

Las bacterias ácido-lácticas ampliamente reconocidas por su papel en la fermentación de alimentos ofrecen una variedad de beneficios al ser un recurso esencial en la industria alimentaria como iniciadores de la fermentación. La fermentación es método más antiguo de conservación de alimentos y bebidas que existe por lo que las bacterias ácido-lácticas son un recurso esencial en la industria alimentaria como iniciadores de la fermentación, también contribuyen en la biopreservación debido a la producción de bacteriocinas y otras sustancias con acción antibacteriana, inhiben la microflora competitiva mediante la reducción de pH del medio, mejoran las características sensoriales y aumentan la calidad nutritiva de los productos que pasan por este proceso (Drider & Arredondo, 2016).

Durante el proceso de fermentación por bacterias ácido-lácticas se obtienen una variedad de compuestos bioactivos en los que incluye inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). A partir de la leche fermentada se obtiene péptidos como la valil-prolil-prolina (VPP) y isoleucil-propil-prolina (IPP), las cuales tienen propiedades antihipertensivas que se aprovechan como una nueva opción para terapia alternativa para controlar la hipertensión. Otro componente bioactivo resultado de la fermentación de algunas cepas son los exopolisacaridos (ESP), estos han demostrado efectos antidiabéticos, antioxidantes, inmunomoduladores, reductores del colesterol al disminuir la absorción del colesterol en el intestino estimulando la liberación de ácidos biliares uniéndose al colesterol. Otros beneficios asociados a lo componentes bioactivos de la fermentación de las bacterias ácido-lácticas es la mejora en la absorción de nutrientes como los minerales, pueden también producir enzimas, como amilasa, proteasa, lipasa y glucoamilasa y, por lo tanto, ayudar a descomponer sustratos no comestibles complejos, facilitando así una mayor absorción de nutrientes como en el caso de minerales (Mathur et al., 2020).

### **2.3.3. *Lactobacillus* spp.**

El género *Lactobacillus* comprende 261 especies (a marzo de 2020) que son extremadamente diversas a nivel fenotípico, ecológico y genotípico. El género fue propuesto por primera vez en 1901 por Beijerinck, este género incluye a aquellas bacterias Gram positivas, fermentativas, anaeróbicos facultativos y no formadores de esporas, está clasificado en el filo Firmicutes, clase *Bacilli*, orden *Lactobacillales*, familia *Lactobacillaceae*, que contiene los géneros *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* y *Pediococcus*. Este género comprende de especies que emplean el metabolismo homoláctico el cual es a treves de la glucólisis, así como especies que emplean el metabolismo heteroláctico el cual se da por la vía de la fosfocetolasa (Zheng et al., 2020).

Los productos que contienen lactobacilos son lideres en el mercado de probióticos esto por sus propiedades en la fermentación y conservación de alimentos. Son capaces de mejorar la textura

de los productos alimenticios y favorecen la supervivencia de las especies probióticas en el tracto intestinal (Sun et al., 2015).

### **2.3.3.1. *Lactobacillus acidophilus***

*Lactobacillus acidophilus* fue aislado por Moro en 1900 a partir de heces fecales infantiles, Moro describió esta especie como "*Bacillus acidophilus*", en 1929 Holland incluye esta especie al género *Lactobacillus*, gracias al trabajo taxonómico de Rogosa y Sharpe en 1970 Hansen y Mocquot describieron adecuadamente esta especie (Johnson et al., 1980).

### **2.3.3.2. Características de *Lactobacillus acidophilus***

Es un microorganismo Gram positivo con morfología de bastón, mide aproximadamente 2-10  $\mu\text{m}$  de tamaño, anaeróbico, homofermentativo, termófilo que muestra un crecimiento a una temperatura de 30-45 °C y a un pH de 4-5. Su estructura celular está formada por la membrana citoplasmática, la pared celular que recubre la célula, protegiéndola del medio ambiente además de ayudar a anclar apéndices como pili y flagelos. Estos apéndices ayudan a su movilidad y adherencia a sustratos específicos. La pared celular consta de cuatro componentes: peptidoglicano, ácidos teicoicos, capa S y polisacáridos (Jafarei & Ebrahimi, 2011).

Utiliza la vía de la glucólisis o Embden-Meyerhof-Parnas para fermentar hexosas y pentosas obteniendo D y L- ácido láctico como producto final. *L. acidophilus* es capaz de producir bacteriocinas las cuales son péptidos termoestables y tienen masa molecular baja. El grupo de *L. acidophilus* es capaz de producir bacteriocinas que tienen efectos probióticos, al colonizar el tracto gastrointestinal del huésped brindan protección contra patógenos gastrointestinales. La producción de bacteriocinas fue estudiada por primera vez en 1983 por Barefoot y Klaenhammer, quienes descubrieron que *L. acidophilus* producía lactacina B, una bacteriocina contra *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. helveticus* y *L. leichmani*. La cepa *L. acidophilus* DSM 20079 produce acidocina D20079 la cual es estable al calor y tiene un espectro inhibitorio estrecho restringido al género *Lactobacillus*, *L. acidophilus* TSI es capaz de inhibir *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus* y *S.*

*typhi* al producir una bacteriocina con un peso molecular de 7.5 kDa con termo estabilidad de 72-110 °C durante 15 min, con una actividad antimicrobiana en un rango de pH de 3.0 a 10. Otra de gran importancia es la acidocina B, es activa contra *L. monocytogenes*, *C. sporegenes*, *L. fermentum* y *L. bulgaricus* (Anjum et al., 2014).

### **2.3.3.3. Aplicación en la industria alimentaria de *Lactobacillus acidophilus***

Es una especie que con frecuencia se añade a productos lácteos fermentados, comúnmente a yogurt, su disponibilidad comercial en Estados Unidos data desde mediados de la década de 1970. Aproximadamente el 80% de los yogures producidos en ese país contiene *L. acidophilus* debido a su seguridad, su facilidad de manipulación comercial, así como sus atributos como probiótico (Bull et al., 2013). La leche acidófila dulce es otro producto que se elabora inoculando *L. acidophilus* en la leche. Este tipo de leche es comúnmente consumida por personas que tienen mala digestión e intolerancia a la lactosa, una condición que afecta aproximadamente al 75% de la población mundial. *L. acidophilus* también es ampliamente utilizado en la elaboración de diferentes tipos de queso, algunos quesos son el cheddar, queso fresco Minas, queso blanco y queso Gouda por mencionar algunos. En 1933 en Estados Unidos se hizo comercialmente popular la leche de soja con *L. acidophilus* gracias al Dr. John Harvey Kellogg, se utilizó contra la colitis y trastornos intestinales. Se han realizado microcápsulas de este microorganismo ya que la microencapsulación demostró proteger contra el tratamiento térmico y ácido manteniendo su viabilidad durante su administración, favoreciendo su crecimiento. Actualmente, las investigaciones están enfocadas en el uso de *L. acidophilus* en suplementos (Anjum et al., 2014).

### **2.3.3.4. Beneficios a la salud**

*L. acidophilus* reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares principalmente al reducir el colesterol en suero esto fue observado por primera vez en la década de 1970 por Mann y

Sharper, al descubrir que tribus en África donde una parte importante de su dieta era el consumo de yogurt fermentado por *L. acidophilus*, presentaban una reducción en los niveles de colesterol sérico. Posteriormente Harrison y Paet en un estudio en donde se añadió *L. acidophilus* a la dieta de lactantes se observó cómo sus niveles de colesterol sérico redujeron significativamente de 147 mg/100 mL a 119 mg/100 mL en el octavo día de intervención.

*L. acidophilus* es capaz de metabolizar el colesterol en presencia de bilis y ausencia de oxígeno. Además, en estudios en ratas, se mostró que *L. acidophilus* reduce el colesterol LDL-C (colesterol de lipoproteínas de baja densidad) aumentar la expresión de receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR) y proteína de unión al elemento regulador de esterol 2 (SREBP2) en el hígado. Cepas como es la de *L. acidophilus* ATCC 4356 mostró en un estudio con ratas alimentadas con una dieta alta en colesterol, la reducción del colesterol al inhibir la expresión de NPC1L1 en el intestino delgado, así como se asoció con la reducción de lesiones ateroscleróticas en ratones ApoE<sup>-/-</sup> y la inhibición del estrés oxidativo (Gao et al., 2022).

*L. acidophilus* ayuda con la intolerancia de la lactosa, conocida como indigestión por lactosa o mala absorción de la lactosa, que ocurre cuando el cuerpo humano no produce la enzima lactasa, lo que resulta en diarrea y otros síntomas de malestar intestinal tras la ingesta de lácteos. Esta mejora en la digestión de la lactosa se debe a que *L. acidophilus* puede proporcionar lactasa en el tracto intestinal y es capaz de metabolizar la lactosa durante la digestión, reduciendo la cantidad de lactosa que llega al intestino grueso de esta manera disminuye la formación de gases como el hidrogeno, que se produce durante la malabsorción de lactosa. Además, *L. acidophilus* ejerce un efecto antagonista sobre bacterias productoras de gas en el intestino esto mediante la producción de bacteriocinas, ácidos y peróxido de hidrogeno (Kim & Gilliland, 1983).

*L. acidophilus* posee efectos anticancerígenos, en específico en células de cáncer colorrectal al inducir apoptosis. Esto incluye la regulación a la baja de genes anti apoptóticos como SURVIVIN y la regulación al alza de genes pro apoptóticos como SMAC, BAX, y Caspasa-3 y Caspasa-9. Así como *L. acidophilus* interactúa directamente con las células cancerosas e inhibe

indirectamente la proliferación celular mediante la liberación de varios metabolitos (Isazadeh et al., 2020).

Además, *L. acidophilus* participa en la modulación del sistema inmunológico, al estimular los receptores tipo Toll (TLR), lo que lleva a la producción de mediadores de estos receptores, como la interleucina-6 (IL-6). Estos mediadores desempeñan un papel crucial en la respuesta inmune innata. Induce la diferenciación de las células B nativas en células plasmáticas que producen IgA, lo que fortalece la inmunidad mucosa. Reduce la permeabilidad de los antígenos a lo largo del cuerpo y aumentar la producción de IgA secretora, contribuyendo así a la tolerancia a la inflamación local. Así como tiene efectos en la inmunidad específica al estimular la liberación de factores proinflamatorios como el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y la IL-6, promoviendo la producción de macrófagos y aumentando la actividad fagocítica. Y tiene la capacidad de incrementar los niveles de células CD4+ e IgA, mientras reduce significativamente los niveles de TNF- $\alpha$  e IL-6. Esto fortalece la inmunidad humoral, que es crucial para la defensa contra patógenos específicos (Zhao et al., 2020).

#### **2.3.3.5. *Lactobacillus casei***

*Lactobacillus casei* descrita por primera vez por Von Freudenreich en sus trabajos realizados entre 1889 y 1891. En ese momento, designó esta bacteria bajo el nombre *Bacillus Gt*, en 1919, Orla-Jensen reclasificó esta bacteria y la renombró como *Streptobacterium casei*. Sin embargo, el nombre *Lactobacillus casei* tal como lo conocemos hoy fue formalmente propuesto y validado posteriormente para mantener la estabilidad de la nomenclatura científica (Cogan & Morgan, 1971). Sin embargo, debido a estudios filogenómicos recientes, se realizó una reclasificación de la familia *Lactobacillaceae*, lo que llevó a que *Lactobacillus casei* fuera trasladada a un nuevo género. Actualmente, la especie *Lactobacillus casei* ha sido renombrada como *Lacticaseibacillus casei* (Zheng et al., 2020). *L. casei* se describe como una especie con cinco subespecies basadas en sus características fenotípicas: *L. casei subsp. casei*, *L. casei subsp. alactosus*, *L. casei*

*subsp. pseudopiantarum*, *L. casei subsp. tolerans* y *L. casei subsp. rhamnosus*. Otra clasificación es mediante homologías ADN-ADN y la secuenciación del ARNr 16S, las especies del grupo *Lb. casei* se reclasificaron en tres especies: (1) *Lb. casei* (anteriormente *Lb. casei subsp. casei*); (2) *Lb. paracasei* con dos subespecies *paracasei* (incluidas las anteriores *Lb. casei subsp. alactosus* y *subsp. pseudopiantarum*) y *tolerans* (incluida la anterior *Lb. casei subsp. tolerans*); (3) *Lb. rhamnosus* (anteriormente *Lb. casei subsp. rhamnosus*) (Huang et al., 2018).

#### **2.3.3.6. Características de *Lactobacillus casei***

*L. casei* es bacilo Gram positivo, no móvil, no formador de esporas, catalasa negativa, generalmente mide entre 0.70 µm por 2.0 µm, presentan forma de bacilo. En cuanto a su estructura, el peptidoglucano de su pared celular es del tipo Lys-D-Asp, sin ácido teicoico. No produce la enzima ureasa, no produce amoníaco. Para su crecimiento la riboflavina, el ácido fólico, el calcio, el pantotenato y el niacina son esencial, así como algunas cepas también requieren piridoxal o piridoxamina para el crecimiento. Todas las especies pertenecientes a este grupo heterofermentativos facultativos, producen ácido láctico como producto final de la fermentación y no producen gas a partir de la glucosa. En condiciones de limitación de carbohidratos, se producen principalmente ácido acético, etanol y en menor cantidad ácido butírico, diacetilo y ácido fórmico, sin dejar de producir ácido láctico (Minervini, 2011).

#### **2.3.3.7. Aplicación de *L. casei* en la industria alimentaria**

*L. casei* es ampliamente utilizado en la fermentación de productos lácteos como yogur y kéfir. Se le asocia con beneficios probióticos que mejoran la salud intestinal y ayudan en la digestión. Mejora la conservación de productos fermentados y mejora la vida útil de los productos al inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos (De Vrese & Schrezenmeir, 2008). Por lo que *L. casei* tiene varias aplicaciones en la industria alimentaria, especialmente en productos lácteos se utiliza comúnmente en su forma liofilizada, agregándose después de la pasteurización o como

suplemento en algunos casos. *L. casei* no afecta la composición química de los productos lácteos, pero puede influir en la acidez y proteólisis, lo que mejora la digestibilidad y forma compuestos bioactivos. En yogures, su adición ayuda a reducir la sinéresis y aumentar la consistencia, lo cual es preferido por los consumidores. Además, *L. casei* puede extender la vida útil de productos frescos como quesos, y actúa como un cultivo protector, inhibiendo el crecimiento de patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. En productos no lácteos, también se ha investigado su potencial para mejorar ciertas características tecnológicas (Pimentel et al., 2021). También se utiliza en la elaboración de suplementos probióticos debido a sus propiedades para mejorar la salud digestiva y el sistema inmunológico siendo aplicado en tratamientos coadyuvantes para enfermedades inflamatorias del intestino, como el síndrome del intestino irritable (IBS) y la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) (Pot et al., 2014).

#### **2.3.3.8. Beneficios a la salud**

*L. casei* es una bacteria probiótica ampliamente utilizada, este probiótico ha demostrado su capacidad para modular el microbiota intestinal al aumentar la producción de metabolitos beneficiosos como el ácido propiónico, butírico, láctico y acético, y estimular el crecimiento de microorganismos como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, mientras inhibe patógenos como *Megamonas*, *Prevotella* y *Succinivibrio*. Existen cepas específicas de *L. casei* las cuales se le ha observado una actividad antimicrobiana significativa contra bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*, lo que podría deberse a la producción de sustancias antibacterianas, incluidos ácidos orgánicos, ácidos grasos y peróxido de hidrógeno, así como bacteriocinas. También se le atribuyen propiedades antihipertensivas, ya que su inclusión en productos como helados y quesos ha resultado en una mayor inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), asociada a la formación de péptidos bioactivos. Un estudio clínico en mujeres con sobrepeso e hipertensión demostró que el consumo de queso

Minas Frescal enriquecido con *L. casei* mejoró el perfil lipídico al reducir el colesterol total, LDL y triglicéridos, y disminuyó la presión arterial sistólica y diastólica, además de mejorar los parámetros hematológicos. En cuanto a su efecto antioxidante se observó en un estudio en ratones que el consumo de queso con *L. casei* redujo el estrés oxidativo y los daños inflamatorios, especialmente en aquellos expuestos al humo de cigarrillo. Se ha reportado que el consumo de queso con *L. casei* en modelos animales ayuda a reducir el tamaño de los cálculos renales y promueve la excreción de minerales como potasio, calcio y magnesio, lo que sugiere un potencial para prevenir el desarrollo de cálculos renales. Otro de los beneficios observados fue la reducción de la glucemia postprandial en individuos sanos, especialmente con el consumo de queso Prato, que mostró un mejor control de los niveles de glucosa en sangre después de las comidas. Estos efectos parecen estar relacionados con la modulación del microbiota intestinal, la producción de metabolitos beneficiosos y la formación de péptidos bioactivos (Pimentel et al., 2021).

#### **2.3.4. Prebiótico**

El concepto de prebiótico fue utilizado por primera vez en 1995 como un “ingrediente alimentario no digerible que afecta de forma beneficiosa al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o un número limitado de bacterias que ya residen en el colon” por Glenn Gibson y Marcel Roberfroid. Esta definición fue aceptada por más de 15 años, hasta que en el 2004, la definición se modificó a "ingredientes fermentados selectivamente que permiten cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal, lo que beneficia la salud del huésped", Sin embargo, a medida que evolucionaron los conceptos prebióticos, también lo hizo su aplicación a sitios extraintestinales por lo que La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) organizó una Reunión Técnica para actualizar la definición de prebióticos en 2008 a “un componente alimentario no viable que confiere un beneficio para la salud del huésped asociado con la modulación de la microbiota”, fue así como esta definición fue criticada por no excluir a los antibióticos. Posteriormente en el 2010, Gibson y colaboradores propusieron una definición más específica para la categoría de

prebióticos, describiéndolos como "ingredientes fermentados selectivamente que generan cambios específicos en la composición y/o actividad del microbiota gastrointestinal, lo que proporciona beneficios para la salud del huésped". En 2015, investigadores como Bindels y otros sugirieron eliminar el requisito de especificidad en la fermentación microbiana. Ellos propusieron definir a los prebióticos como "compuestos no digeribles que, a través de su metabolización por los microorganismos en el intestino, modulan la composición y/o actividad del microbiota intestinal, lo que lleva a efectos fisiológicos beneficiosos para el huésped" (Gibson et al., 2017). La definición más actualizada y aceptada es la que nos proporciona The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP). Según este consenso, un prebiótico se define como "un sustrato que es utilizado selectivamente por los microorganismos del huésped y confiere un beneficio para la salud" (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics, n.d.).

Los prebióticos son sustratos fermentables, existen muchos tipos de prebióticos la mayoría suelen ser polisacáridos no amiláceos y oligosacáridos no digeribles, como los fructanos y galactanos. Si bien todos los prebióticos son fibras, no todas las fibras dietéticas tienen efectos prebióticos. A continuación, se indican los principales prebióticos.

### **Fructanos**

Incluye la inulina y los fructo-oligosacáridos (FOS), su estructura consta de cadenas de fructosa unidas por enlaces  $\beta$  (2→1). El grado de polimerización de la inulina es de 60, mientras que de FOS es menor a 10. La cadena de fructanos es un criterio importante para determinar qué bacterias pueden fermentarlos.

### **Galacto-oligosacáridos (GOS)**

Derivados de la lactosa, pueden estimular significativamente el crecimiento de bifidobacterias y los lactobacilos. Los GOS se clasifican en dos subgrupos: los GOS con excesos de galactosa n C3, C4 o C6 y los GOS fabricados a partir de la lactosa mediante trans-glicosilación enzimática.

Existen otros tipos de GOS derivados de lactulosa (isómero de la lactosa), que también son considerados prebióticos.

### **Oligosacáridos derivados del almidón y glucosa**

El almidón resistente es un tipo de almidón que no es digerible por el intestino superior, se considera un prebiótico al producir un alto nivel de butirato. La povidexosa un oligosacárido derivado de la glucosa, este consiste en glucano con ramificaciones y enlaces glucosídicos, estos son capaces de estimular el crecimiento de las bifidobacterias.

### **Otros oligosacáridos**

Estos oligosacáridos provienen de la pectina, por lo que reciben el nombre de oligosacárido péctico, formados por ácido galacturónico o ramnosa, esta estructura puede variar según la fuente y puede tener otro azúcar o ácido como parte de su cadena lateral (Davani-Davari et al., 2019).

#### **2.3.4.1. Mecanismos de acción**

El principal mecanismo mediante el cual un prebiótico influye en la composición del microbiota intestinal es actuando como fuente de energía que solo puede ser utilizada por algunas bacterias en específico. En el sistema gastrointestinal, los prebióticos al ser carbohidratos no digeribles pueden modular la composición y la actividad del microbiota intestinal, esto es posible a la falta de enzimas que hidrolicen los enlaces poliméricos de estos prebióticos, por lo que resisten la digestión del intestino delgado y llegan intactos al colon, ahí las bacterias beneficiosas como lactobacilli y bifidobacteria pueden fermentarlos. A través de esta fermentación, los prebióticos ayudan en la producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) como el acetato, butirato y propionato los cuales desempeñan propiedades inmunomoduladoras influyendo en la señalización del receptor tipo Toll-4 y la producción de citocinas proinflamatorias de esta manera influyen en la reducción de la inflamación. Se ha demostrado que prebióticos como la inulina, los fructo-oligosacáridos (FOS) y los galacto-oligosacáridos (GOS) pueden ofrecer protección contra el estrés oxidativo al evitar la peroxidación de lípidos en el estómago, un proceso que es el

resultado de la secreción del ácido gástrico, al reducir el estrés oxidativo se previene las reacciones inflamatorias. Además, se puede observar un fenómeno llamado "cross-feeding" o alimentación cruzada, en el metabolismo de los prebióticos de algunas bacterias se convierte en nutrientes para otras (Guarino et al., 2020).

El mecanismo exacto por el cual los prebióticos influyen de manera beneficiosa en las funciones inmunológicas no se han determinado completamente. Sin embargo, hay varios modelos que podrían explicar su acción. En primero lugar, los prebióticos pueden regular la acción de las enzimas lipogénicas hepáticas al aumentar la producción de ácidos grasos de cadena corta, como el ácido propiónico el cual está involucrado en la modulación del metabolismo hepático. Se ha demostrado que los fructooligosacáridos (FOS) y otros prebióticos, promueven un aumento en el recuento de linfocitos y leucocitos en los tejidos linfoides asociados al intestino y en la sangre periférica. Son capaces de aumentar la secreción de inmunoglobulina A (IgA) por el tejido linfoide asociado al intestino lo estimula la función fagocítica de los macrófagos (Markowiak & Śliżewska, 2017).

#### **2.3.4.2. Mucílago**

El mucílago es una sustancia viscosa producida por diversas plantas y su amplia gama de órganos como las hojas, tallos, raíces y semilla, así como algunos microorganismos. Las semillas pertenecientes a especies mixospermas extruyen un gel rico en polisacáridos en su superficie al exponerse a un ambiente acuoso, este mucílago también es denominado mucopolisacárido (Phan et al., 2020).

La mixodiasporia es la capacidad que tienen las semillas de liberar mucílago cuando absorben agua, esta habilidad cumple varias funciones, como la protección y dispersión de semillas. La composición exacta de los mucílagos varía entre especies y entre el tipo de tejido, es importante distinguir entre los diferentes mucílagos de semillas, algunos se encuentran en las células de la

cubierta de las semillas, otros en los tejidos del embrión y los mucílagos de semillas extruidas, que son los que expulsan de la cubierta de las semillas (Parra-Rojas et al., 2019).

Los mucílagos al ser polisacáridos complejos con alto peso molecular, su estructura polimérica ramificadas están compuestas por diferentes azúcares y ácido urónico, son altamente hidrófilos y forman geles (Waghmare et al., 2022). Los mucílagos vegetales pueden clasificarse en dos grandes grupos: mucílagos neutros y mucílagos ácido. Los mucílagos neutros reciben su nombre debido a su estructura química, está formada por polímeros heterogéneos de manosa como lo es los galactomananos, que son polímeros de D-manosa, estos mucílagos se localizan en las semillas de varias familias de plantas, como las *Fabaceae*, *Cesalpiniaceae*, *Palmeae*, *Annonaceae* y *Convolvulaceae*. También están las galactoglucomananas formado por cadenas de glucosa y manosa, este tipo de mucílagos se acumulan en semillas de plantas como *Cercis siliquastrum* (*Cesalpiniaceae*).

Los mucílagos ácidos se caracterizan por contener derivados ácidos de osas en su estructura. Estos mucílagos están presentes en plantas de diversas familias como Plantaginaceae (por ejemplo, *Plantago afra*, *P. psyllium*, *P. ovata*), Malvaceae (como *Malva sylvestris* y *Althaea officinalis*), y Linaceae (como *Linum usitatissimum*). Muchas de estas especies son comúnmente utilizadas como laxantes mecánicos ya que los mucílagos que contienen al absorber una gran cantidad de agua a nivel del colon aumentan el volumen, grado de humedad y la acidez del bolo fecal, lo que incrementa de esta manera el peristaltismo intestinal facilitando la evacuación (Villa-Uvidia et al., 2020).

#### **2.3.4.3. Aplicación del mucílago**

Gracias a su estructura, el mucílago otorga propiedades tecnológicas con un gran potencial de uso en la industria alimentaria, farmacéutica y biomédica. Su capacidad espesante y gelificante se debe a sus interacciones intermoleculares como puentes de hidrógeno o interacciones hidrofóbicas lo que permite formar geles al mezclarse con agua, lo que hace al mucílago

especialmente atractivo para su uso como estabilizador mejorando la textura de los alimentos. Además, sus grupos hidroxilo y proteínas le otorgan la capacidad de retención de agua, mientras que la presencia de moléculas no polares favorece su capacidad de retener aceites por lo que es favorable para aplicaciones alimentarias. Su carácter anfifílico, derivado a la presencia simultánea de grupos hidrofóbico e hidrofílico, lo convierte en un buen estabilizador en emulsiones. Actualmente hay un gran interés en biopolímeros vegetales como ingredientes en productos sostenibles, ecológicos y saludables destacando al mucílago al ser no tóxico y gracias a sus propiedades que lo hacen ideal para su uso en productos bajo en grasa, sin gluten y prebióticos (Goksen et al., 2023).

#### **2.3.4.4. Beneficios nutracéuticos del mucílago**

Además de los beneficios ya mencionado el mucílago ofrece grandes beneficios nutracéuticos lo que lo convierte en un compuesto valioso para salud. Entre los efectos se encuentra su acción laxante, facilitando el tránsito intestinal, también tiene propiedades hipolipemiantes ayudando a reducir los niveles de lípidos en sangre y mejorando la salud cardiovascular al disminuir la absorción de colesterol. Así como se le atribuye un efecto anti hiperglucémico al retrasar la absorción de glucosa y contribuye a estabilizar los niveles de azúcar en sangre. A su vez, su capacidad antioxidante lo hace útil para prevenir el daño celular causado por radicales libres reduciendo el riesgo de enfermedades como el cáncer de colon (Kassem et al., 2021).

#### **2.3.4.5. Mucílago de linaza**

La linaza (*Linum usitatissimum*) se compone de tres capas principales: espermodermo, el endospermo y el cotiledón. Aproximadamente el 6% de la linaza está constituida por mucílago el cual se encuentra principalmente en la capa del espermodermo. El mucílago es una fibra soluble compuesta por un 80% de polisacáridos neutros y ácidos y un 9% de proteína. Los polisacáridos neutros incluyen xilosa, glucosa, arabinosa y galactosa, mientras que los ácidos incluyen

ramnosa, galactosa, fucosa y ácido galacturónico. La proteína principal es la conlinina (Puligundla & Lim, 2022; Hu et al., 2020).

#### **2.3.4.6. Características fisicoquímicas**

El mucílago de linaza, conocido comercialmente como un hidrocoloide, destaca por su capacidad de formar espuma y confiere estabilidad estructural, así como las gomas. Estas propiedades aumentan con la concentración, alcanzando su máximo rendimiento con 1% (p/v). El mucílago de linaza también mejora las propiedades de los sistemas dispersos debido a sus propiedades interfaciales. Las emulsiones son sistemas multifásicos inestables, pero la adición del emulsionante puede aumentar significativamente, el mucílago de linaza al tener un alto contenido de polisacáridos, alto peso molecular y proteína aumenta la viscosidad de la fase de solución continua, inhibiendo la colisión y migración de partículas dispersas. Las emulsiones preparadas con mucílago de linaza presentan una mayor estabilidad en comparación con otras emulsionantes, como la carragenina y permite una amplia gama de proporciones de fase agua-aceite. Debido a sus propiedades anfifílicas y su capacidad para retener agua, el mucílago de linaza se utiliza como aditivo en productos cárnicos, lácteos, geles bebidos, harinas, donde actúa como agente que espesa, emulsiona, estabiliza y forma geles (Hu et al., 2020).

#### **2.3.4.7. Mucílago de linaza como prebiótico**

El mucílago de linaza es considerado un prebiótico, al actuar como un alimento funcional que beneficia el microbiota intestinal, esto debido a su rica composición de polisacáridos, particularmente heteropolisacáridos solubles que son una fuente principal de ácidos grasos de cadenas corta. Estos ácidos grasos de cadenas corta resultan de la fermentación por bacterias probióticas (Chand et al., 2024). Ácidos grasos de cadena corta como los ácidos butírico o propiónico resultan ser una fuente de energía y acción antiinflamatoria para el tracto digestivo, además que son absorbidos rápidamente por las células epiteliales intestinales. El mucílago de

linaza contribuye a mejorar los procesos metabólicos debido a su interacción con el microbiota intestinal y su influencia en la digestión, así como con el metabolismo de los lípidos. Los ácidos grasos producidos por las bacterias intestinales, como lo son los ácidos grasos poliinsaturados derivados del ácido alfa-linolénico un componente esencial en la linaza no puede ser hidrolizado en organismos vivos directamente, sin embargo, las bacterias intestinales facilitan la conversión de ácido alfa-linolénico en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, como el omega-3. Este proceso mejora el metabolismo de las grasas y favorece una mejor salud cardiovascular y metabólica. También juega un papel importante en la prevención de la obesidad al mantener un equilibrio entre las bacterias *Firmicutes* y *Bacteroidetes* en el intestino. El mucílago de linaza promueve la abundancia de *Firmicutes* junto con la regulación de los niveles de azúcar en sangre, reduce el almacenamiento de grasa al suprimir la producción de factores adiposos y contribuyendo a la sociedad a través de su mayor contenido de fibra dietética lo que contribuye a la pérdida de peso, así como favorece el crecimiento de bacterias como *Bifidobacterium* y *Akkermansia muciniphila*, las cuales están implicadas en la degradación de la mucina y previene la degradación de grasa en el hígado y en el tejido adiposo lo que mejora el catabolismo de la grasa (Mueed et al., 2022).

#### **2.3.4.8. La aplicación de mucílago de linaza en alimentos**

El mucílago de linaza tiene diversas aplicaciones en la industria alimentaria, actuando como agente gelificante, al combinarse con otros hidrocoloides forman geles con mayor elasticidad, mejor retención de agua y mayor resistencia estructural, estos geles mejorados son útiles en productos como carnes procesados, donde el mucílago de linaza ayuda a mitigar los efectos negativos de los antioxidantes fenólicos en la capacidad de formación de gel de las proteínas musculares mejorando la calidad del producto. En productos sin gluten, el mucílago de linaza ha sido eficaz como remplazo de goma guar y pectina, manteniendo propiedades reológicas comparables y mejorando la aceptación sensorial del pan. El mucílago de linaza al ser similar a

la goma arábiga puede utilizarse como sustituto. Gracias a sus propiedades de solubilidad y estabilización de espuma se ha utilizado para la mejora las características físicas y sensoriales de productos como helados y yogures, aumentando la viscosidad y reduciendo la sinéresis. Estudios han demostrado que la adición de mucílago de linaza actúa como un agente anti-retrogradación en alimentos con almidón de maíz, esto se debe que el mucílago forma enlaces de hidrógeno con las moléculas de almidón, como la amilosa y la amilopectina, lo que impide su reorganización, procesos responsables de la retrogradación, mejorando la calidad de los alimentos (Puligundla & Lim, 2022).

#### **2.3.4.9. Mucílago de linaza como sustituto de grasa**

El mucílago de linaza puede ser un sustituto de grasa. Los sustitutos de grasa se pueden clasificar en dos grupos: los que mejoran las propiedades de lubricación y aquellos que controlan la reología en masa. El mucílago al ser un biopolímero mejora la lubricación y controla la reología del producto lo que es esencial ya que la sensación de cremosidad, grosor y firmeza (Yang et al., 2022). En termino de estructura el mucílago de linaza tiene la capacidad de formar una red tridimensional al ser incluido en una emulsión alimentaria, como la mayonesa o productos lácteos, lo que imita la función estructural de la grasa de los alimentos. También tiene un comportamiento interesante frente a la oxidación en productos como la mayonesa, se ha demostrado que el mucílago de linaza mejora la estabilidad oxidativa en las emulsiones es comparable a las grasas tradicionales (Puligundla & Lim, 2022).

## **2.4. Alimentos funcionales**

### **2.4.1. Origen de los “alimentos funcionales “**

El término “alimento funcional” fue introducido en Japón en 1984, el gobierno destino recursos para investigar productos alimenticios que ofrecieran beneficios fisiológicos específicos para la salud, que denominaron Alimentos para Usos Específicos de Salud o “FOSHU” (Foods for

Specific Health Uses). Estos alimentos se les ha dado una categoría legislativa formal en Japón, por lo que deben satisfacer tres requisitos nutricionales: demostrar eficacia en estudios clínicos, seguridad en estudios clínicos y no clínicos y por último contener componentes activos/ efectivos identificados. Para obtener la designación FOSHU, los fabricantes deben completar una solicitud respaldada por evidencia científica comprobando los beneficios médicos o nutricionales propuestos, así como la seguridad alimentaria y la descripción de las cualidades físicas y químicas incluyendo los métodos experimentales del alimento. Esta solicitud requiere un año para obtenerse y es revisada por el Ministerio de Salud y Bienestar. Esta etiqueta una vez obtenida no caduca e incluye información sobre las propiedades saludables, ingesta recomendada y advertencias sobre el consumo (Martirosyan & Singh, 2015).

Los alimentos funcionales han sido adoptados en varias regiones del mundo, cada uno tiene un enfoque diferente sobre la definición y regulación.

En Europa los alimentos funcionales se definen de acuerdo con la siguiente afirmación “Los productos alimenticios solo pueden considerarse funcionales si, junto con el impacto nutricional básico, tienen efectos beneficiosos sobre una o más funciones del organismo humano, mejorando así las condiciones generales y físicas y/o disminuyendo el riesgo de evolución de enfermedades”. En la Unión Europea no existe una legislación formal que regule los alimentos funcionales y aquellos fabricantes de alimentos pueden hacer dos tipos de afirmaciones: nutricionales (sobre el contenido básico de nutrientes) y de salud (sobre la capacidad del alimento para prevenir o tratar enfermedades). Estas declaraciones deben estar respaldada por evidencia científica donde se identifique el componente activo, se debe incluir estudios clínicos, metaanálisis y biomarcadores efectivos (Martirosyan & Singh, 2015).

En Estados Unidos, la FDA (Food and Drug Administration) reconoce suplementos dietéticos y alimentos médicos, pero no tienen una definición formal para los alimentos funcionales. Por lo que se han creado directrices para evaluar las declaraciones de salud mediante un sistema de revisión basado en evidencia, que permite tres tipos de afirmaciones: contenido nutricional,

declaración de salud y declaración de estructura o función. Así como la FDA permite “afirmaciones de salud calificada” en productos alimenticios cuyos efectos han sido sugeridos, pero no están verificados (Martirosyan & Singh, 2015).

#### **2.4.2. Alimentos funcionales en México**

Actualmente en México no existe una legislación específica para los alimentos funcionales, por lo que son competencia de la secretaria de Salud la cual lo hace a través de diversas Normas Oficiales Mexicanas (NOM). Aunque los alimentos funcionales no están formalmente definidos en el marco normativo se mencionan como en la NOM-086-SSA1-1994, esta regula los alimentos modificados en su composición y define términos como “adicionado” (cuando se añaden vitaminas, minerales o proteínas en concentraciones mayores que las naturales), y “fortificado” (cuando se incorporan componentes que el producto no contiene de forma natural). La NOM-051-SCFI/SSA1-2010 la cual establece que cualquier declaración de propiedades en la etiqueta del producto alimenticios debe ser veraz y comprobable, prohibiendo afirmaciones engañosas como la cura de alguna enfermedad. Y por último la NOM-131-SSA1-2012 encargada de regular los productos destinada a necesidades especiales de nutrición (Meléndez-Sosa et al., 2020).

#### **2.4.3. Situación actual de los alimentos funcionales**

La definición de alimentos funcionales no está regulada, lo que ha llevado a varias instituciones a tener sus propias interpretaciones. Pero en general los alimentos funcionales se describen como aquellos alimentos que mejoran la salud y pueden ayudar a tratar enfermedades. Por lo que la definición más actual y aceptada por el Centro de Alimentos Funcionales es la que describe que los alimentos funcionales son “alimentos naturales o procesados que contienen compuestos biológicamente activos que, en cantidades definidas, efectivas y no tóxicas, brindan un beneficio para la salud clínicamente probado y documentado utilizando biomarcadores

específicos para la prevención, el manejo o el tratamiento de enfermedades crónicas o sus síntomas” (Martirosyan & Miller, 2018).

#### **2.4.4. Importancia de los alimentos funcionales**

Los alimentos funcionales se destacan por su capacidad para promover la salud y prevenir enfermedades como la diabetes tipo 2, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. Lo cual ha impulsado el aumento de la inversión en su investigación y desarrollo, de acuerdo con la literatura desde 1990 hasta junio de 2018 los alimentos e ingredientes más utilizado y estudiados fueron probióticos, prebióticos y los antioxidantes (Intrasook et al., 2024). Este tipo de alimentos se proyecta alcanzar los 228.79 mil millones de dólares para 2025, ya que han captado un interés creciente entre los consumidores, especialmente los que buscan alternativas para mejorar su bienestar por lo que hoy en día demandan alimentos más seguros, frescos, naturales y producidos de manera sostenible (Granato et al., 2020).

#### **2.5. Alimentación saludable**

Alimentación saludable es aquella que permite mantener y alcanzar un óptimo funcionamiento del organismo, conservar o restablecer la salud al disminuir el riesgo de padecer enfermedades, favoreciendo procesos biológicos como la reproducción, gestación y la lactancia. Además, fomenta un crecimiento. Para ser considerada saludable la dieta debe ser satisfactoria, suficiente, completa, equilibrada, armónica, segura, adaptada, sostenible y asequible (Basulto et al., 2013). La alimentación saludable proporciona los macronutrientes y micronutrientes en porciones adecuadas para satisfacer necesidades energéticas y fisiológicas. Los macronutrientes como los son los carbohidratos, proteínas y grasas aportan necesaria para procesos culares para un óptimo funcionamiento del organismo en cambio los micronutrientes es decir vitaminas y minerales se requieren en cantidades pequeñas en comparación con los macronutrientes (Cena & Calder, 2020).

### **2.5.1. Características de una alimentación saludable**

La alimentación saludable debe ser variada, ya que ningún alimento contiene todos los nutrientes, por lo que es importante incluir una amplia gama de grupos de alimentos en proporciones adecuadas. Esto ayuda a compensar deficiencias, además de mitigar los efectos de ciertos compuestos potencialmente tóxicos que pueden estar presentes de forma natural o artificial. Está demostrado que una mayor diversidad alimentaria está vinculada a un mejor estado nutricional mejorando la calidad de la dieta. Además, debe ser equilibrada y adecuada ajustándose a las necesidades nutricionales particulares de cada individuo. Por último, debe ser saludable, implicando variedad, equilibrio y adecuación, promoviendo un estilo de vida que favorezca la salud general, reduciendo riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles relacionadas con la alimentación (Calañas-Continente & Bellido, 2006).

### **2.5.2. Recomendaciones para mantener una alimentación según la OMS**

Incorporar al menos 400 g o su equivalente a cinco porciones diarias de frutas y verduras, esto asegura una ingesta adecuada de fibra dietética. Se debe limitar la ingesta total de grasa a menos del 30% de las calorías diarias, en cuanto al sodio y potasio se recomienda disminuir la ingesta de sodio y lograr la ingesta adecuada de potasio de 3.5 g diarios. Al consumir un exceso de sal combinada con una ingesta insuficiente de potasio puede contribuir a la hipertensión, en consecuencia, aumenta el riesgo de enfermedades coronarias y accidentes cerebrovasculares. Asimismo, se aconseja que tanto niños y adultos reduzcan el consumo de azúcares libres a menos del 10% de su ingesta calórica total, al bajar la ingesta a de azúcares al 5% puede beneficiar la salud (World Health Organization, 2024).

### **2.5.3. Importancia de una alimentación saludable**

La calidad de la dieta está fuertemente asociada con los resultados de salud. La alimentación saludable constituye a la prevención de la malnutrición en todas sus formas, así como de las

enfermedades crónicas no transmisibles, entre ellas la diabetes, enfermedades cardíacas, los accidentes cerebrovasculares y el cáncer. Los buenos hábitos de alimentación deben ser desarrollados para así poder reducir el riesgo de sobrepeso y obesidad (World Health Organization, 2024). El implementar una alimentación saludable ofrece numerosos beneficios para los adultos, los cuales van más allá de la apariencia física y control de peso, mejora la calidad de vida, fortalece los huesos, ayuda al funcionamiento del sistema digestivo y mejora la inmunidad (Centers for Disease Control and Prevention, 2024).

## **2.6. Betún**

Elemento cremoso, consistente, pero no espeso, su consistencia firme se debe a los ingredientes. El betún suele contener: mantequilla, azúcar, a menudo se le agrega queso crema, cacao o vainilla, se utiliza ampliamente en la repostería para cubrir y decorar pasteles y panecillos (Galván, 2023).

El betún, glaseado, frosting o buttercream son términos que se utilizan para describir una cobertura dulce aplicable a productos horneados, especialmente postres, su función principal es mejorar el sabor, apariencia y capa protectora. La primera receta publicada de glaseado se encontró en *The Experienced English Housekeeper* en 1769 y se le atribuyó a Elizabeth Raffald, sin embargo, se cree que el glaseado existía al menos 200 años antes de la publicación (Bakerpedia, n.d.).

### **2.6.1. Características del betún**

El betún puede considerarse un sistema multifase con una emulsión de grasa, sólidos dispersos. La crema para batir actúa como la fase continua, al ser una emulsión grasa que proporciona estabilidad, el cacao en polvo es una fase sólida dispersa, durante el batido del betún si incorpora aire, creando una estructura espumosa y suave (Fernandes et al., 2024).

La relación que existe entre la flotación y microestructuras se refleja cuando el aire incorporado durante el batido tiende a subir a través de la mezcla debido a la fuerza de flotación, pero esto

se podría ver afectado con el paso del tiempo, lo que puede resultar en pérdida de volumen o esponjosidad, lo que se puede solucionar mediante la adición de emulsionante o surfactantes, este modo se estabiliza la fase dispersa. Las características de su comportamiento viscoelástico conferidas por el contenido de grasa de la crema para batida y la incorporación de aire, lo hacen similar a los líquidos con burbujas y sistemas coloidales multifásicos. La medición precisa del comportamiento reológico de sistemas como el betún puede ser compleja, ya que pueden ser susceptibles a fenómenos como el deslizamiento en las paredes o la fractura en pruebas convencionales de reometría. Existen técnicas alternativas como el flujo de compresión que han sido utilizados para describir alimentos como la mantequilla y suspensiones densas (Fernandes et al., 2024; Meza et al., 2021).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

La industria alimentaria se enfrenta al reto de reformular productos tradicionales por alimentos funcionales que pueden aportar un beneficio a la salud, de manera que estos productos sean más saludables, pero sin perder ciertas características sensoriales. El betún ampliamente demandado; sin embargo, su exceso contenido calórico hace que su consumo sea mensurado. El realizar una formulación de betún bajo en calorías y de azúcar, además de la incorporación de lactobacilos extendiendo sus beneficios sabiendo que los probióticos mantienen el equilibrio del microbiota intestinal. Al crear un betún funcional enriquecido con lactobacilos, bajo en azúcar y grasa responde a la necesidad de una población que busca opciones más saludables sin el sacrificar el placer de consumir alimentos deliciosos, además que este tipo de alimentos también promueven una alimentación más sana.

Por lo que este proyecto tiene como objetivo desarrollar alimento “funcional” tipo betún bajo en azúcares y grasa con propiedades probióticas mediante la incorporación de bacterias ácido-lácticas.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general**

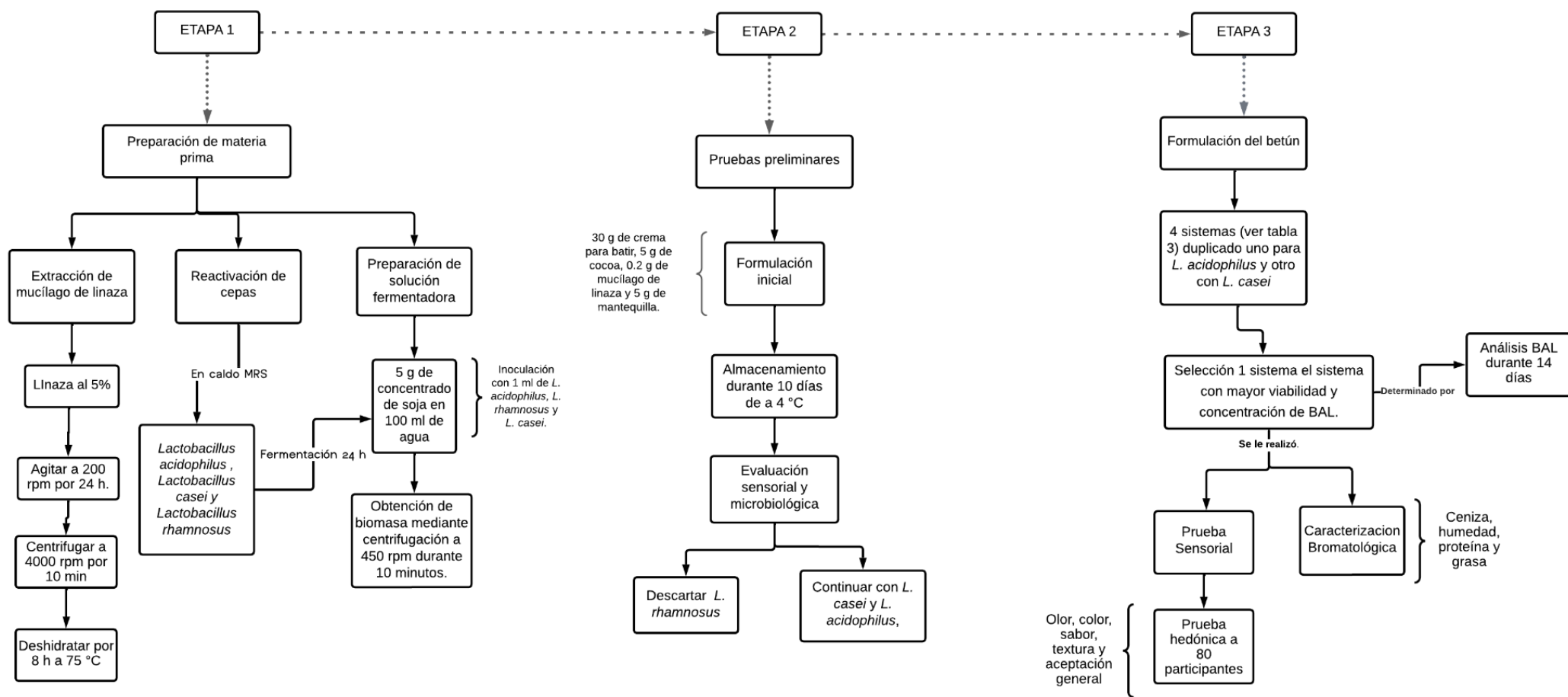
Desarrollar un alimento “funcional” tipo betún bajo en azúcares y grasa con propiedades probióticas mediante la incorporación de bacterias ácido-lácticas.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Seleccionar las bacterias ácido-lácticas adecuadas para la funcionalización del betún, asegurando su viabilidad y beneficios para la salud, siguiendo una formulación comercial.
- Diseñar y formular diferentes sistemas de “betún” optimizando las condiciones para la incorporación de bacterias ácido-lácticas para la evaluación microbiana durante el almacenamiento.
- Evaluar de manera sensorial, microbiológica y químico-proximal el betún seleccionado, asegurando cumplir los estándares de calidad y aceptabilidad del consumidor.

## 5 DIAGRAMA DE TRABAJO

Figura 1. Esquema de metodología a seguir.



## 6 MATERIALES Y MÉTODOS

Material de vidrio: El necesario para cada determinación.

Material biológico: Mucílago de linaza, concentrado de soja, cultivo de *L. acidophilus* y *L. casei*, *L. rhamnosus*, crema para batir, leche, cacao, mantequilla, edulcorante.

Reactivos: los necesarios para cada determinación.

A continuación, la Tabla 1 presenta las técnicas que se utilizarán y los equipos que se emplearán en la Tabla 2.

**Tabla 1.** Métodos y referencias.

Determinación	Técnica	Referencia
Bacterias ácido-lácticas	Vertido en placa	NOM-092-SSA1-1994
Ceniza	Calcinación en mufla	AOAC, 2000
Humedad	Secado en estufa	AOAC, 2000
Proteína	Método de Kjeldahl	AOAC, 2000
Grasa	Método de Soxhelt	AOAC, 2000

**Tabla 2.** Equipos que se utilizaron.

Equipo	Marca	Modelo
Autoclave	EVAR	EV-24
Balanza analítica	Ohaus – Serie Pioneer	PA 224C
Baño de agua	Thermo Scientific AquaBath	ELED 18000AQ
Centrifuga	Serie centrifuge	XC-2450
Contador de colonias	QUEBEC	Q-20
Deshidratador de alimentos	Excalibur	Parallex
Destilador Kjeldahl	SEV	DEK
Estufa de secado	Felisa Horno	FE-291 AD
Incubadora	LUZEREN	DHP-9032
Mufla	Linderberg	51844
Parrilla digital	Fisher Scientific	Isotemp
Refrigerador	MABE	RMT510

## **7 METODOLOGÍA**

### **7.1. Extracción de mucilago de linaza**

La extracción del mucílago al 5 % se realizó pesando 5 g de linaza en 100 mL de agua destilada a temperatura ambiente. Se mantuvo en agitación en una parrilla de agitación de manera continua con la ayuda de un agitador magnético durante un periodo de 24 h a 200 rpm, asegurando que el mucílago se libera completamente. Una vez transcurrido el tiempo de agitación, la mezcla se centrifugó a 4,000 rpm durante 10 min para eliminar cualquier sobrenadante no deseado. Posteriormente, se vertió sobre charolas elaboradas de papel encerado para evitar la adherencia del mucílago durante el proceso de secado. Las charolas se introdujeron en un deshidratador programado a 74 °C por 6 h logrando la formación de una película de mucílago. Las películas fueron pulverizadas en un molino eléctrico, resultando en un polvo fino de mucílago de linaza, el cual se almacenó en un frasco de vidrio hermético.

### **7.2. Reactivación de cepas**

Se llevo a cabo la reactivación de cepas de *L. acidophilus*, *L. casei* y *L. rhamnosus* en caldo MRS previamente esterilizado en autoclave a 121 °C durante 15 min. Se inoculo 1 mL de *L. acidophilus* en 9 mL de caldo MRS e incubaron a 35 °C durante 24 h, se realizó el mismo procedimiento con *L. casei* y *L. rhamnosus*.

### **7.3. Obtención de solución fermentadora**

Se preparó la solución fermentadora disolviendo 5 g de concentrado de soja en 100 mL de agua destilada. La mezcla se distribuyó en alícuotas de 9 mL en tubos microbiológicos, los cuales se esterilizaron en autoclave a 121 °C y 15 psi durante 15 min, posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de proceder a la inoculación. Se añadió 1 mL de *L. acidophilus* a cada tubo, y la muestra se incubaron a 35 °C durante 24 h, permitiendo la

fermentación. El procedimiento se llevó a cabo para *L. casei*, utilizando las mismas condiciones.

Después del periodo de incubación, se procedió a la obtención de la biomasa resultante de la fermentación. Por ello, las muestras fermentadas se centrifugaron a 4,000 rpm durante 10 min, lo que permitió separar la biomasa del sobrenadante.

#### **7.4. Pruebas preliminares**

Antes de definir la metodología final para la elaboración del betún funcional con *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*, se llevó a cabo una prueba preliminar utilizando *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*. En esta etapa, se utilizó una formulación inicial compuesta por 30 g de crema para batir, 5 g de cocoa, 0.2 g de mucílago de linaza y 5 g de mantequilla. Para evaluar las características sensoriales y microbiológicas de cada sistema se almacenó durante 10 días de a 4 °C. Como resultado, se descartó el uso de *L. rhamnosus* debido a un sabor ácido y un olor desagradable identificado en las pruebas sensoriales realizadas con personal del laboratorio.

#### **7.5. Formulación de betún**

Se llevó a cabo la formulación de cuatro sistemas de betún, considerando dos series experimentales diferenciadas, una de las series fue inoculada con la biomasa resultante de la fermentación de *L. acidophilus* y la otra con *L. casei*. En la Tabla 3 se muestra la formulación de cada sistema. Ambos sistemas, fueron almacenados a una temperatura de 4°C para evaluar su estabilidad microbiológica, así como sus características sensoriales durante el periodo de análisis.

**Tabla 3.** Formulación de cada uno de los sistemas con los que se trabajó.

<b>Sistema</b>	<b>Formulación</b>
<b>1</b>	Crema 31.84 g Leche 8.06 g Mucílago 0.403 Cacao 3 g Edulcorante 1g
<b>2</b>	Crema 32.24 g Leche 8.06 g Cacao 3 g Edulcorante 1 g
<b>3</b>	Crema 39.9 g Mucílago 0.403 g Cacao 3 g Edulcorante 1 g
<b>4</b>	Crema 31.84 g Mantequilla 3 g Cacao 3 g Edulcorante 1 g



**Figura 2.** Elaboración de betún funcional.

#### **7.6. Análisis microbiológico comparativo de cuatro sistemas de betún**

Se realizó un recuento de las bacterias ácido-lácticas en los cuatro sistemas de betún formulados, uno con *L. acidophilus* y el otro con *L. casei*. De acuerdo con los resultados obtenidos, se seleccionó el sistema que presentó la mayor viabilidad y concentración de bacterias ácido-lácticas (BAL).

Para el análisis, se realizó una siembra en el tiempo cero y, a partir de ese momento, se llevó a cabo una siembra semanal durante cuatro semanas. Se utilizó el método de vertido en placa, conforme a lo establecido en la norma NOM-092-SSA1-1994. Se utilizó agar MRS, las cajas Petri se incubaron a 35 °C durante 24 a 48 h en condiciones de anaerobiosis.

Las colonias formadas se contaron, registraron y analizaron estadísticamente para evaluar la viabilidad de las bacterias. Este análisis permitió determinar la estabilidad microbiológica de los betunes durante el período de almacenamiento y la eficacia de cada sistema en la conservación de las propiedades funcionales de las bacterias ácido-lácticas.



**Figura 3.** Lotes de betún funcional correspondientes a los cuatro sistemas formulados para pruebas de almacenamiento.

### 7.7. Prueba sensorial

Se llevó a cabo una prueba sensorial hedónica de 7 puntos con la participación de 80 individuos de la comunidad universitaria, con el objetivo de evaluar diversas características sensoriales de los sistemas inoculados con *L. acidophilus* y *L. casei*. Se evaluó el olor, el color, el sabor, la textura y la aceptación general de ambos sistemas en comparación con un betún comercial conocido como “Ganashe Chantilly”. Para la realización de la prueba sensorial, se utilizó pan tostado como vehículo de degustación, lo que permitió a los participantes experimentar las propiedades de los betunes de manera adecuada.

Esta evaluación se llevó a cabo en dos momentos: en el tiempo cero, al finalizar la formulación de los betunes, y a las dos semanas de almacenamiento. Esta metodología permitió observar cualquier cambio en la percepción sensorial de los productos a lo largo del tiempo.

## 7.8. Caracterización bromatológica

Se realizó la caracterización bromatológica del betún del sistema inoculado con *L. acidophilus* y del sistema inoculado con *L. casei*, utilizando los métodos establecidos por la AOAC (2000). En primer lugar, se evaluó el contenido de humedad mediante el secado en estufa a 105 °C, donde se colocaron muestras del betún en charolas de aluminio que habían sido previamente pesadas a un peso constante. Este proceso permitió determinar la cantidad de agua presente en la muestra.

A continuación, se determinó el contenido de ceniza a través de la calcinación a 550 °C en una mufla. Para esto, se pesaron cantidades precisas de betún, que se habían puesto a peso constante, y se colocaron en un crisol. Estas muestras fueron sometidas a altas temperaturas para eliminar la materia orgánica y posteriormente se calcinaron, eliminando así los componentes orgánicos y permitiendo cuantificar la cantidad de minerales presentes en la muestra.

La evaluación del contenido de proteína se llevó a cabo mediante la determinación de nitrógeno utilizando el método de Kjeldahl. Se llevó a cabo la digestión con una mezcla digestora y ácido sulfúrico. Para la digestión, se utilizó una cantidad de la muestra, lo que resultó en la conversión de nitrógeno en amoníaco. Posteriormente, se realizó una destilación en un destilador Kjeldahl, donde el vaso receptor para el destilado se llenó con una solución absorbente (ácido bórico) para capturar el gas amoníaco disuelto. Se llevó a cabo una valoración ácido-base utilizando una solución estandarizada de ácido clorhídrico 0.1 N y se utilizó el indicador de Wesslow.

Finalmente, se determinó el contenido de grasa utilizando el método de Soxhlet, empleando hexano como solvente. De igual forma, la muestra había sido procesada previamente en la estufa a 105 °C. Se colocaron muestras del betún en un extractor de Soxhlet, donde el hexano se utilizó para extraer las fracciones lipídicas. Después de un periodo de extracción, se recuperó el hexano mediante evaporación, lo que permitió calcular el contenido de grasa en la muestra.

## 7.9. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante una comparación de medias (ANOVA), usando el software de Minitab v15, empleando la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ .

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1. Pruebas preliminares: Viabilidad de microorganismos probióticos en el betún durante el almacenamiento

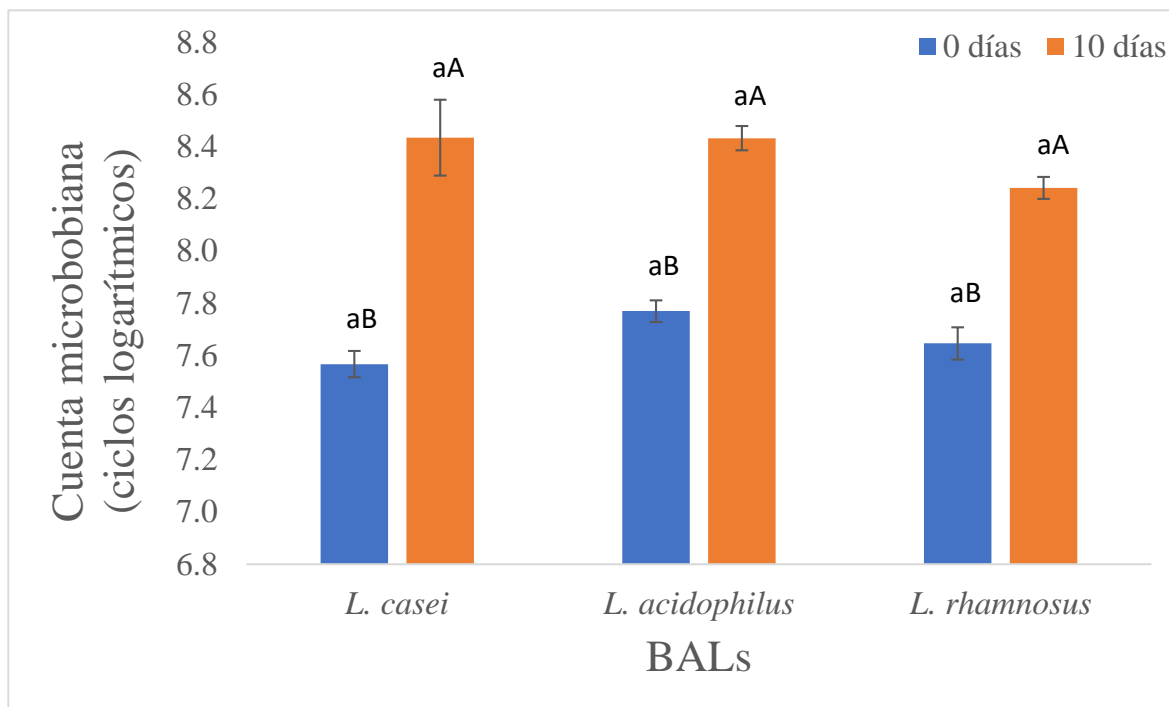
En la Figura 4 se presenta la viabilidad de microorganismos probióticos (*L. casei*, *L. acidophilus* y *L. rhamnosus*) en un betún durante 10 días de almacenamiento a 4°C. Al inicio del almacenamiento, el betún presentó una carga microbiana alta ( $3.70-5.90 \times 10^7$  UFC/g de betún), correspondiendo a un promedio de 7.66 ciclos logarítmicos de los microorganismos inoculados, sin observar efectos significativos debido al tipo de microorganismo ( $p > 0.05$ ). Se observa que después de 10 días de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración, el crecimiento de los microorganismos probióticos en el betún se incrementó, las poblaciones alcanzaron niveles finales de 8.44 ciclos logarítmicos para *L. casei*, 8.43 para *L. acidophilus* y 8.24 para *L. rhamnosus*. A lo largo del período de almacenamiento, los resultados sugieren un incremento en la viabilidad de las cepas probióticas en la matriz de betún, evidenciando la capacidad de esta matriz para permitir la supervivencia de los probióticos.

De acuerdo con las investigaciones de Homayouni et al. (2016), el chocolate puede proteger la viabilidad de especies de *Lactobacillus*, actuando como un medio protector eficaz para los probióticos debido a su estructura, composición y baja actividad de agua. Además, los componentes antioxidantes del chocolate, como los flavonoides y los ácidos fenólicos, pueden tener un efecto protector sobre los probióticos ya que reducen el estrés oxidativo, lo cual ayuda a mantener la estabilidad de los microorganismos probióticos. Por ello, la incorporación de probióticos, tanto en forma libre como encapsulada, en chocolate y productos a base de

chocolate como portadores ofrece una excelente alternativa a los populares y principales productos lácteos fermentados que contienen probióticos (Hossain et al., 2020). Estudios *in vitro*, en condiciones que simulan el estómago y el intestino delgado demuestran que el chocolate actúa como un medio protector frente a ácidos del estómago y la exposición a las sales biliares, logrando tasas de supervivencia de hasta 91 % para ciertas especies probióticas (Possemiers et al., 2010).

Los resultados obtenidos en el crecimiento de *L. casei* en el betún son comparables con los datos de estudios en otras matrices alimenticias, como el postre a base de leche de vaca y camello, polvo de cocoa y azúcar, el que se demostró que la tasa de supervivencia de *L. casei* en condiciones de refrigeración (4 °C) muestra un comportamiento similar al observado en el betún, manteniendo una estabilidad significativa durante un periodo de almacenamiento prolongado. En postres de chocolate, *L. casei* alcanzó una tasa de 8.45 log UFC/g en el primer día, incrementando a 9.01 log UFC/g al día 21 (Khosravi-Darani et al., 2022).

Durante la experimentación, *L. rhamnosus* mostró un crecimiento adecuado en el betún, sin diferencias significativas en comparación con otras especies probióticas. Sin embargo, se excluyó de la formulación debido a una evaluación sensorial realizada con el personal de laboratorio, en la cual se determinó que producía un perfil sensorial inadecuado, con sabor ácido y olor desagradable, lo que afectaría la aceptabilidad del producto final.



**Figura 4.** Viabilidad de microorganismos probióticos (*L. casei*, *L. acidophilus* y *L. rhamnosus*) en un betún compuesto por 30 g de crema para batir, 5 g de cocoa, 0.2 g de mucílago de linaza y 5 g de mantequilla, durante 10 días de almacenamiento a 4 °C.

## 8.2. Formulación y composición químico-proximal sistemas de betún funcional

La Tabla 4 muestra la composición de cuatro sistemas de betún. En S1, S2 y S3 se utilizó mucílago de linaza en un 0.93% como agente estabilizante en lugar de mantequilla, mientras que S4, el sistema de control fue adicionado mantequilla en una proporción de 18.61% manteniendo la composición tradicional de un betún. Los sistemas S1, S2 y S4 tienen porcentajes de crema similares, alrededor del 73-74%, mientras que en S3 este valor se incrementa a 92.14%. Todos los sistemas incluyen un 6.93% de cacao, asegurando uniformidad en sabor y color. La leche se adicionó en un 18.61% en S1 y S2, pero fue no adicionada en S3 y S4. Estas combinaciones

fueron seleccionadas debido a su capacidad para formar un betún estable, esencial en términos de viabilidad sensorial y funcional del producto.

El uso del mucílago como sustituto de grasa ha demostrado ser eficaz. En productos como el queso crema fortificado con probióticos, la adición de mucílago redujo la humedad y el pH, incrementó los sólidos totales, la viscosidad, la proteína y la ceniza. En una formulación de mayonesa vegana reducida en grasa, actuó como emulsionante y reemplazo de grasa, lo cual resultó en una estabilidad microestructural y reológica adecuada. El mucílago de linaza en la sustitución de grasa en pasteles mostró resultados notables; una sustitución de grasa al 100% permitió una reducción del 21.11% en el contenido calórico de los pasteles, y niveles de hasta 75% de reemplazo mejoraron la resiliencia y suavidad del producto (Puligundla & Lim, 2022).

El mucílago de linaza, a diferencia de la mantequilla, exhibe un comportamiento newtoniano con viscosidad constante al aumentar la tasa de cizallamiento, mientras que la mantequilla presenta un comportamiento pseudoplástico, en el que su viscosidad disminuye rápidamente debido a la ruptura de enlaces intermoleculares. Esto sugiere que el mucílago puede ofrecer mayor estabilidad en la textura sin los cambios de viscosidad que sufre la mantequilla bajo cizallamiento (Ahmadinia et al., 2022).

**Tabla 4.** Componentes y proporciones de la formulación de los sistemas de betún funcional desarrollados.

<b>Componentes</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>
<b>Crema (%)</b>	73.53	74.46	92.14	74.46
<b>Cacao (%)</b>	6.93	6.93	6.93	6.93
<b>Leche (%)</b>	18.61	18.61	0.00	0.00
<b>Mucílago (%)</b>	0.93	0.00	0.93	0
<b>Mantequilla (%)</b>	0	0	0	18.61
<b>Total (%)</b>	100.00	100.00	100.00	100.00

En la Tabla 5 se presenta la composición químico-proximal de los cuatro sistemas experimentales de betún funcional, formulados para evaluar tanto sus propiedades nutricionales en comparación con un betún comercial (BC), así como su capacidad de ser una matriz viable para probióticos.

Los datos reflejan diferencias entre los sistemas y el betún comercial BC. El BC presenta contenido energético 455Kcal (por cada 100 g), proteínas 3 g, grasas totales 31g, hidratos de carbono disponible 41g, azúcar 33 g, azúcares añadidas 30 g. Mientras que S4 mostró el mayor valor calórico (162.39 Kcal), seguido de S3 (127.78 Kcal), mientras que S1 y S2 presentaron valores similares y más bajos (108.60 Kcal y 108.19 Kcal, respectivamente), los valores de grasa oscilaron entre 10.16 g (S1) y 16.48 g (S4), destacándose una tendencia al incremento conforme cambian las formulaciones. Los carbohidratos, aunque bajos en todos los sistemas, S1 presentó la mayor cantidad (2.43 g) y S4 la menor (1.82 g), los valores de proteína presentaron valores similares (entre 1.69 g y 1.86 g), siendo S2 el más alto. Por ultimo los sistemas S1 y S2 presentaron más agua (27.28 g y 27.71 g, respectivamente), mientras que S4 tuvo un contenido reducido de agua y un ligero aumento en minerales. Esto deja en evidencia como el BC tiene 455 Kcal, más del doble del S4, el sistema más calórico, además, todos los sistemas funcionales presentan menos carbohidratos que el BC.

**Tabla 5.** Composición química-proximal de los cuatro sistemas de betún funcional desarrollados.

<b>Componentes</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>BC</b>
<b>Energía (Kcal)</b>	108.60	108.19	127.78	162.39	455
<b>Grasa (g)</b>	10.16	10.29	12.32	16.48	31
<b>Carbohidratos (g)</b>	2.43	2.04	2.38	1.82	41
<b>Proteína (g)</b>	1.85	1.86	1.83	1.69	3
<b>Minerales (g)</b>	1.56	1.56	1.56	1.56	-
<b>Agua (g)</b>	27.28	27.71	25.12	21.65	-

### **8.3. Viabilidad de microorganismos probióticos en los sistemas de betún funcional**

Las Figuras muestran la viabilidad en ciclos logarítmicos de *L. casei* (Figura 5) y *L. acidophilus* (Figura 6) en cuatro sistemas de betún (S1, S2, S3 y S4) almacenados a 4 °C, con conteos en los días 0,7 y 14. Para *L. casei*, los valores iniciales en los sistemas S1, S2, S3 y S4 fueron de 6.72 ciclos logarítmicos, 6.65 ciclos logarítmicos, 6.36 ciclos logarítmicos y 6.74 ciclos logarítmicos, respectivamente. Al día 14, los valores mostraron estabilidad, registrando 7.32 ciclos logarítmicos en S1, 7.28 ciclos logarítmicos en S2, 7.13 ciclos logarítmicos en S3 y 7.12 ciclos logarítmicos en S4.

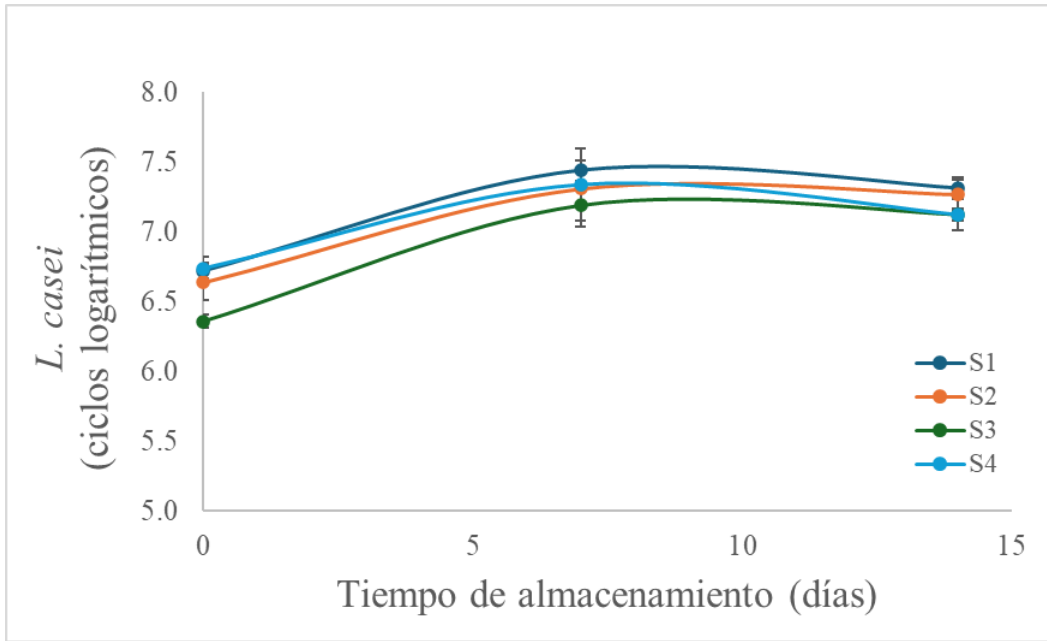
En cuanto a *L. acidophilus*, los valores iniciales en los sistemas fueron de 6.26 en S1, 6.56 en S2, 6.59 en S3 y 6.90 en S4. Para el día 14, los sistemas mantuvieron niveles de viabilidad, con S1 en 7.79 ciclos logarítmicos, S2 en 7.86 ciclos logarítmicos, S3 en 7.65 ciclos logarítmicos y S4 en 7.66 ciclos logarítmicos.

La viabilidad de *L. casei* y *L. acidophilus* en los cuatro sistemas de betún evaluados (S1, S2, S3 y S4) durante 14 días de almacenamiento a 4 °C no mostró diferencias significativas entre los

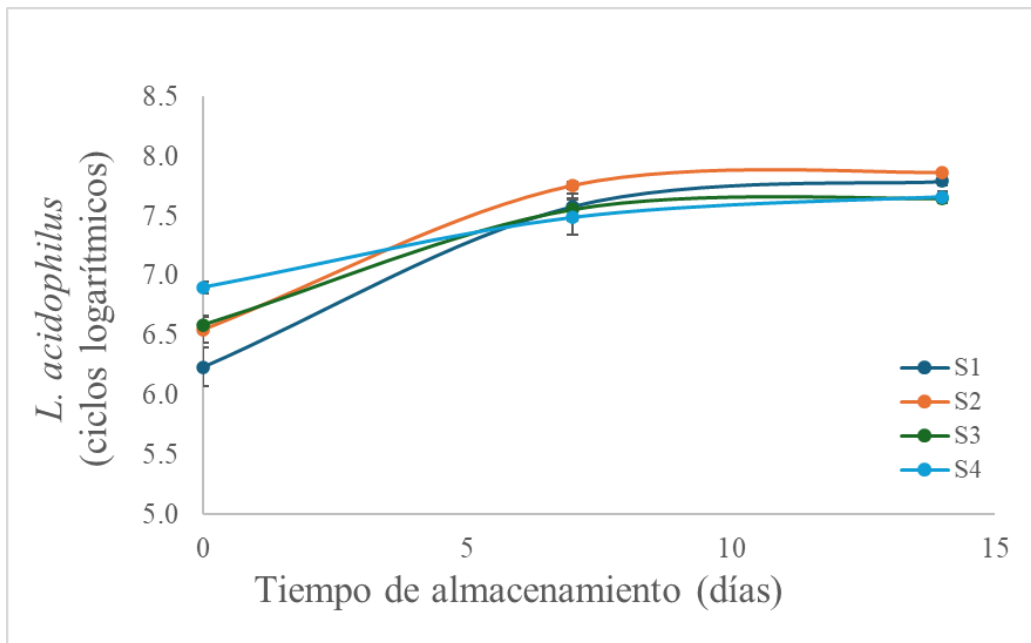
sistemas, lo que sugiere que los sistemas proporcionan condiciones similares para el mantenimiento y crecimiento de estas bacterias probióticas.

Sin embargo, aunque los datos microbiológicos no muestran variaciones importantes y la composición química-proximal del S3 no comprometió las características sensoriales. Por lo que la elección del S3 logró un balance entre viabilidad probiótica y atributos sensoriales, lo que lo posiciona como la opción más prometedora para el desarrollo de un betún funcional.

Los productos lácteos, incluyendo el betún, ofrecen una matriz para la incorporación de probióticos, lo que podría permitir sus estabilidad y viabilidad bajo condiciones de almacenamiento en refrigeración, de forma similar a lo observado en productos como el yogurt o el queso, donde los lípidos actúan como elementos de estabilización. En un estudio, la incorporación de mucílago de *Plantago ovata* y otras fibras en yogures almacenados a 4 °C incrementó la viabilidad de *L. acidophilus*. Las muestras con 2% de mucílago presentaron una cuenta inicial de 6.68 log CFU/g, frente a 6.31 log CFU/g en las muestras control. Además, durante el almacenamiento, la reducción en viabilidad fue menor en las muestras con mucílago (0.2 log) en comparación con el control (0.41 log) después de 21 días (Mehrinejad Choobari et al., 2021).



**Figura 5.** Viabilidad de *L. casei* en los distintos sistemas de betún durante 14 días de almacenamiento a 4 °C.



**Figura 6.** Viabilidad de *L. acidophilus* en los distintos sistemas de betún durante 14 días de almacenamiento a 4 °C.

#### 8.4. Evaluación sensorial del betún funcional

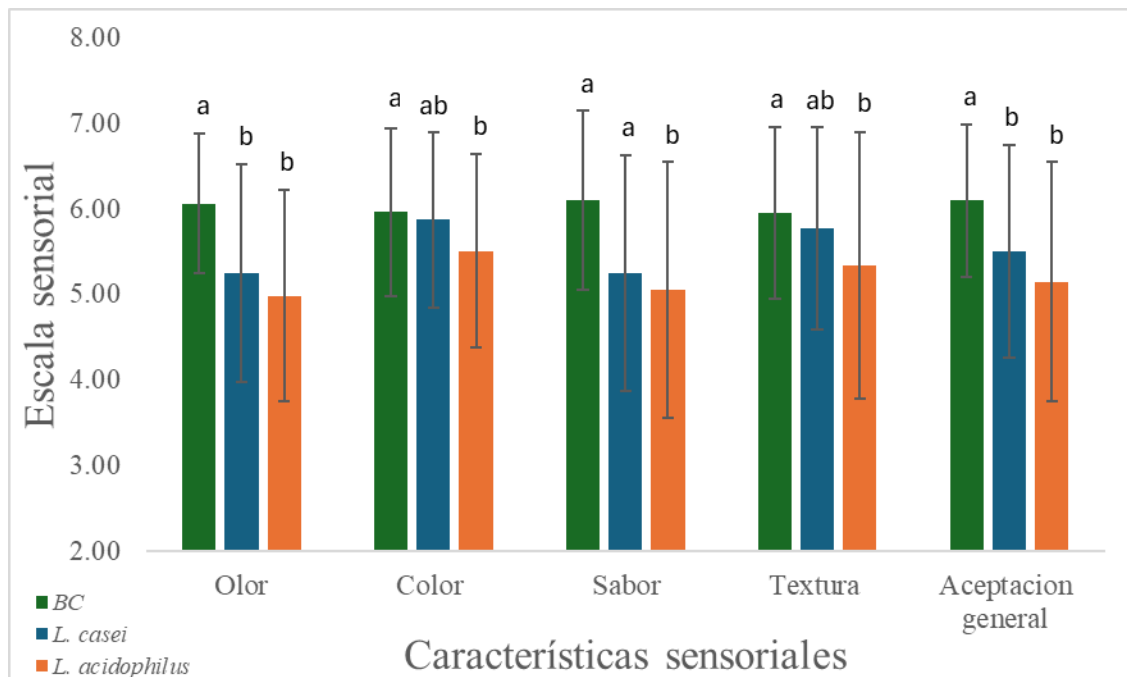
La Figura 7 muestra los resultados de la prueba sensorial realizada al betún funcional inoculado individualmente con *L. casei* y *L. acidophilus*, comparado con un betún comercial (BC). La evaluación hedónica de 7 puntos incluyó cinco atributos sensoriales: olor, color, sabor, textura y aceptación general. Esta prueba fue realizada por 80 panelista de la comunidad universitaria de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Los resultados reflejan una mayor aceptación del BC, obteniendo las calificaciones más altas en todos los atributos sensoriales, destacando el sabor. El betún con *L. casei* tuvo una aceptación intermedia. Con valores similares al BC en los atributos de textura y aceptación general. Mientras que el betún con *L. acidophilus* presentó las calificaciones más bajas en comparación al BC.

La preferencia sensorial hacia el BC puede atribuirse en gran parte a su perfil de sabor más dulce, al contener 30 g de azúcar añadida por cada 100 g, en contraste con el betún funcional, que contiene solo 1 g de azúcar añadida. Este contraste en los niveles de azúcar influye significativamente en la percepción sensorial. De hecho, las sustancias dulces son extremadamente gratificantes para los humanos. Esta recompensa antinatural por consumir azúcar (que supera a la de las drogas de abuso) anula nuestros mecanismos de autocontrol que nos predisponen a la adicción al azúcar (DiNicolantonio et al., 2018). Por otro lado, el betún funcional, con solo 1 g de azúcar añadida, no ofrece la misma “recompensa” sensorial, lo que puede haber influido en la menor preferencia en la evaluación. Pero en cuanto a ingredientes, el BC utiliza exclusivamente manteca vegetal como base grasa y saborizante artificial para generar un sabor similar al chocolate, mientras que el betún funcional emplea polvo de cocoa real y crema para batir lo que mejora su calidad e incluso menor adición de grasa.

En cuanto a la incorporación de *L. casei* y *L. acidophilus* esto afectó las propiedades sensoriales del betún. En particular, *L. acidophilus* mostró la menor aceptación sensorial, lo cual podría estar relacionado con la mayor producción de compuestos ácidos como se ha reportado en productos lácteos como en el yogurt, en donde se ha reportado una correlación positiva alta (0.988) entre

la acidez titulable y el atributo sensorial de acidez en yogures con *L. acidophilus* (Estrada, 2007). Sin embargo, estas características al extenderse a otras matrices alimenticias como el betún, la acidez elevada puede ser percibida negativamente, lo que explica la baja aceptación de los sistemas formulados con *L. acidophilus*. Además, después de una semana de almacenamiento, el betún elaborado con *L. acidophilus* presentó un deterioro sensorial significativo, lo que lo hizo no apto para realizar una segunda evaluación sensorial. Por tanto, el análisis sensorial comparativo se realizó únicamente entre el betún formulado con *L. casei* y el betún comercial (BC).

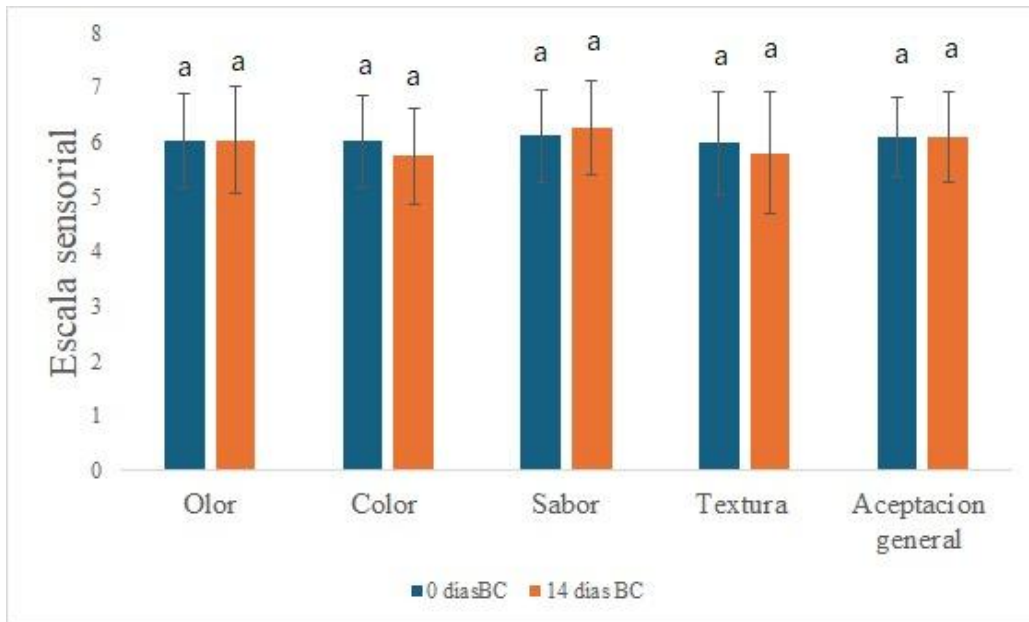


**Figura 7.** Evaluación sensorial de un betún funcional (*L. casei* y *L. acidophilus*) comparado con un betún comercial (BC).

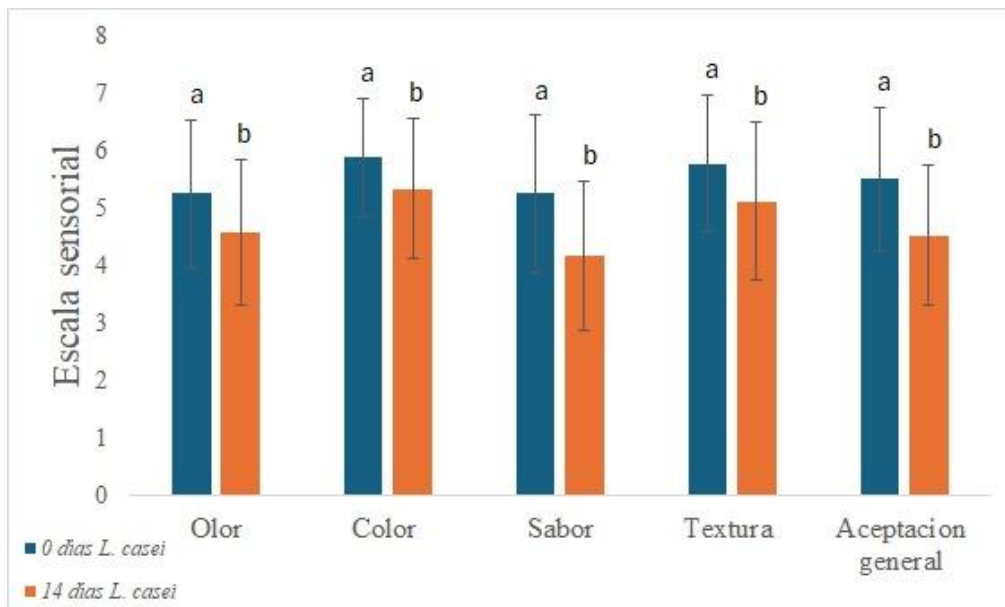
La Figura 8 representa la comparación de características sensoriales evaluados mediante una prueba hedónica al betún comercial (BC), lo cual se evidencia que en ambos tiempos de evaluación (0 y 14 días), los atributos sensoriales del BC mantienen puntuaciones altas, reflejando una estabilidad sensorial durante el período de almacenamiento.

La Figura 9 presenta la aceptación sensorial del betún funcional inoculado con *L. casei*. Evaluada mediante una prueba hedónica al tiempo 0 y después de 14 días de almacenamiento. Los resultados revelan un descenso en la aceptabilidad general, destacando que el atributo de sabor obtuvo la menor calificación tras el periodo de almacenamiento.

Al analizar las características sensoriales del BC (Figura 8) y el betún funcional inoculado con *L. casei* (Figura 9), se identifican diferencias significativas en términos de estabilidad sensorial tras 14 días de almacenamiento donde el betún con *L. casei* presentó una disminución, sin embargo, este comportamiento no es atípico en matrices alimenticias con probióticos, esto debido a la actividad metabólica de los microorganismos que generan compuestos como ácidos orgánicos que impactan las propiedades sensoriales (Ramírez Ramírez et al., 2011). En general, un betún artesanal tiene una vida útil aproximada de 7 días, lo que limita su estabilidad debido a factores como la composición y la ausencia de conservadores. En productos con probióticos, estos desafíos se intensifican por la actividad metabólica de los microorganismos, que pueden generar compuestos responsables de sabores indeseables durante el almacenamiento, impactando la aceptación sensorial del consumidor (Araujo et al., 2024). Sin embargo, según la clasificación basada en el contenido microbiano vivo, los alimentos se agrupan en categorías de baja ( $<10^4$  UFC/g), media ( $10^4$ – $10^7$  UFC/g) y alta ( $>10^7$  UFC/g). El betún funcional desarrollado se posiciona en la categoría media ( $10^7$  UFC/g), cumpliendo los niveles establecidos para ofrecer beneficios a la salud (Gahche et al., 2023).



**Figura 8.** Comparación de las características sensoriales del betún comercial evaluado al inicio (0 días) y tras 14 días de almacenamiento.



**Figura 9.** Comparación de las características sensoriales del betún funcional inoculado con *L. casei* evaluado al inicio (0 días) y tras 14 días de almacenamiento.

## 9. CONCLUSIONES

- Se seleccionaron las bacterias ácido-lácticas, *L. casei* y *L. acidophilus*, al ser las más compatibles con la matriz del betún funcional.
- Se desarrolló un alimento funcional tipo betún, bajo en azúcar y grasa con microorganismos probióticos, destacando la viabilidad de *L. casei* y *L. acidophilus*.
- Se formularon 4 sistemas, dentro de los cuales el sistema 3 formulado con 39.9 g de crema para batir, 3 g de cacao en polvo, 0.403 g de mucílago de linaza y 1 g de edulcorante, se destacó como el mejor, ya que permitió mantener una concentración promedio de  $10^7$  UFC/g durante 14 días de almacenamiento.
- El análisis sensorial mostró que, durante los primeros 7 días de almacenamiento, tanto el betún funcional (S3) como el betún comercial (BC) presentaron una buena aceptabilidad general, con puntuaciones de 5.5 y 6.1, respectivamente.
- Los análisis microbiológicos confirmaron la viabilidad de las bacterias probióticas en condiciones de refrigeración, mientras que los análisis proximales evidenciaron una reducción en los contenidos de azúcar y grasa en el betún funcional en comparación con el comercial.

## 10. RECOMENDACIONES

- Medir el pH durante el almacenamiento del betún funcional para comprobar si existe una acidificación por los productos metabólicos generados por las bacterias ácido-lácticas.
- Realizar una simulación gástrica para determinar la viabilidad de las bacterias ácido-lácticas tras su consumo.
- Explorar técnicas de encapsulación de las bacterias probióticas para comprobar si mejora su viabilidad durante el almacenamiento.

## REFERENCIAS

- Ahmadinia, F., Mohtarami, F., Esmaili, M., & Pirsa, S. (2022). Production of low-calorie cake by partial replacement of flaxseed mucilage and flaxseed flour and investigation of its physicochemical, textural and sensory characteristics. *Food Science & Nutrition*, 10(10), 3210–3222.
- Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., & Momin, A. (2014). *Lactobacillus acidophilus*: Characterization of the species and application in food production. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(9), 1241–1251.
- AOAC. (2000). *Official methods of analysis* (14<sup>a</sup> ed.). Association of Official Analytical Chemists, Inc.
- Apovian, C. M. (2016). Obesity: Definition, comorbidities, causes, and burden. *The American Journal of Managed Care*, 22(7 Suppl), S176–S185.
- Araujo, H. C. S., de Jesus, M. S., Sandes, R. D. D., Leite Neta, M. T. S., & Narain, N. (2024). Functional cheeses: Updates on probiotic preservation methods. *Fermentation*, 10(1), 1–12.
- Arreola-Ornelas, H., Merino-Juárez, G. A., Contreras-Loya, D., Méndez-Carniado, O., Morales-Juárez, L., Bernal-Serrano, D., Arizmendi-Barrera, K. A., Vargas-Martínez, C., Razo, C., Knaul, F. M., Gakidou, E., Dai, X., Cogen, R., & Ahmad, N. S. (2023). Burden of overweight and obesity in Mexico from 1990 to 2021. *Gaceta Médica de México*, 159(6), 543–556.
- Bakerpedia. (s.f.). Frosting. Bakerpedia. <https://bakerpedia.com/ingredients/frosting/>
- Basulto, J., Manera, M., Baladia, E., Miserachs, M., Pérez, R., Ferrando, C., Amigó, P., Rodríguez, V. M., Babio, N., Mielgo-Ayuso, J., Roca, A., San Mauro, I., Martínez, R., Sotos, M., Blanquer, M., & Revenga, J. (2013). Postura del GREP-AEDN: Definición y características de una alimentación saludable. *GREP-AEDN*. <https://www.aedn.es/wp-content/uploads/2013/09/Documento-consenso-GREP-AEDN.pdf>
- Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., & Mahenthiralingam, E. (2013). The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: A tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS Microbiology Letters*, 349(2), 77–87.

- Butel, M. J. (2014). Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et Maladies Infectieuses*, *44*(1), 1–8.
- Calañas-Continente, A. J., & Bellido, D. (2006). Bases científicas de una alimentación saludable. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*, *50*(4), 7–14.
- Carrasco, N. F., & Galgani, J. F. (2012). Etiopatogenia de la obesidad. *Revista Médica Clínica Las Condes*, *23*(2), 129–135.
- Cena, H., & Calder, P. C. (2020). Defining a healthy diet: Evidence for the role of contemporary dietary patterns in health and disease. *Nutrients*, *12*(2), 334.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2024). Healthy eating: Benefits for adults. CDC. <https://www.cdc.gov/nutrition/php/resources/healthy-eating-benefits-for-adults.html>
- Chand, M., Chopra, R., Talwar, B., Homroy, S., Singh, P. K., Dhiman, A., & Payyuni, A. W. (2024). Unveiling the potential of linseed mucilage, its health benefits, and applications in food packaging. *Frontiers in Nutrition*, *11*, 1334247.
- Cogan, T. M., & Morgan, M. E. (1971). *Lactobacillus casei* (Orla-Jensen) comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *21*(1), 69–71.
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian, A., & Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*, *8*(3), 92.
- De Vrese, M., & Schrezenmeir, J. (2008). Probiotics, prebiotics, and synbiotics. En *Food Biotechnology* (pp. 1–66). Springer.
- DiNicolantonio, J., O’Keefe, J., & Wilson, W. (2017). Sugar addiction: Is it real? A narrative review. *British Journal of Sports Medicine*, *52*(14), 910–913.
- Domingo, J. J. S. (2017). Review of the role of probiotics in gastrointestinal diseases in adults. *Gastroenterología y Hepatología*, *40*(6), 417–429.
- Drider, D., & Arredondo, V. M. R. (2016). Bacterias ácido-lácticas. Alpha Editorial.

- Estrada, J. (2007). Efecto de los probióticos *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* en las características fisicoquímicas y sensoriales del yogur de fresa Zamorano [Tesis doctoral, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano].
- Fernandes, R. R., Calver, K. E., Hayes, D., Murphy, A. E., Meza, B. E., Oroná, J. D., & Peralta, J. M. (2024). Aeration and rheology of buttercream icings. *Journal of Food Engineering*, 364, 111775.
- Forbes México. (2024). México enfrentará crisis de obesidad con casi el 40% de la población afectada para 2030. <https://www.forbes.com.mx/mexico-enfrentara-crisis-de-obesidad-con-casi-el-40-de-la-poblacion-afectada-para-2030/>
- Forero, A. Y., Morales, G. E., & Forero, L. C. (2023). Relationship between physical activity, sedentarism and obesity in adults, Colombia, 2015. *Biomedica: Revista del Instituto Nacional de Salud*, 43(Sp. 3), 99–109.
- Gahche, J., Marco, M. L., Hutkins, R., Fulgoni, V. L. III, Merenstein, D., & Sanders, M. E. (2023). Positive health outcomes associated with live microbe intake from foods, including fermented foods, assessed using the NHANES database. *The Journal of Nutrition*, 153(4), 1143–1149.
- Galván, N. (2023). Cómo hacer betún para pastel de chocolate. *Directo al Paladar México*. <https://www.directoalpaladar.com.mx/postres/como-hacer-betun-para-pastel-chocolate>
- Gao, H., Li, X., Chen, X., Hai, D., Wei, C., Zhang, L., & Li, P. (2022). The functional roles of *Lactobacillus acidophilus* in different physiological and pathological processes. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(10), 1226–1233.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP)

consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491–502.

Goksen, G., Demir, D., Dhama, K., Kumar, M., Shao, P., Xie, F., Echegaray, N., & Lorenzo, J. M. (2023). Mucilage polysaccharide as a plant secretion: Potential trends in food and biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 230, 123146.

Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020). Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11, 93–118.

Guarino, M. P. L., Altomare, A., Emerenziani, S., Di Rosa, C., Ribolsi, M., Balestrieri, P., Iovino, P., Rocchi, G., & Cicala, M. (2020). Mechanisms of action of prebiotics and their effects on gastrointestinal disorders in adults. *Nutrients*, 12(4), 1037.

Homayouni, A., Roudbaneh, M., Tabrizian, V., Javadi, M., Harati, N., Rad, H., & Kasaie, Z. (2016). Chocolate as a probiotic carrier food: A review. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 11, 37–42.

Hossain, M. N., Ranadheera, C. S., Fang, Z., & Ajlouni, S. (2020). Healthy chocolate enriched with probiotics: A review. *Food Science and Technology*, 41(3), 531-543.

Hu, Y., Shim, Y. Y., & Reaney, M. J. T. (2020). Flaxseed gum solution functional properties. *Foods*, 9(5), 681.

Huang, C. H., Li, S. W., Huang, L., & Watanabe, K. (2018). Identification and classification for the *Lactobacillus casei* group. *Frontiers in Microbiology*, 9, Article 1974.

Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). (2023). La salud de los mexicanos en cifras: Resultados de la Ensanut 2022. <https://www.insp.mx/informacion-relevante/la-salud-de-los-mexicanos-en-cifras-resultados-de-la-ensanut-2022>

- Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). (2023). La salud de los mexicanos en cifras: Resultados de la Ensanut 2022. <https://www.insp.mx/informacion-relevante/la-salud-de-los-mexicanos-en-cifras-resultados-de-la-ensanut-2022>
- Instituto Nacional de Salud Pública. (2024). Obesidad: Principal problema de salud en México. <https://www.insp.mx/avisos/obesidad-principal-problema-de-salud-en-mexico>
- International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics. (n.d.). Prebiotics. ISAPP. <https://isappscience.org/forscientists/resources/prebiotics/#:~:text=This%20current%20consensus%20definition%20is,microorganisms%20conferring%20a%20health%20benefit%E2%80%9D>
- Intrasook, J., Tsusaka, T. W., & Anal, A. K. (2024). Trends and current food safety regulations and policies for functional foods and beverages containing botanicals. *Journal of Food and Drug Analysis*, 32(2), 112–139.
- Isazadeh, A., Hajazimian, S., Shadman, B., Safaei, S., Bedoustani, A. B., Chavoshi, R., ... & Baradaran, B. (2020). Anti-cancer effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* for colorectal cancer cell line Caco-2 through apoptosis induction. *Pharmaceutical Sciences*, 27(2), 262-267.
- Jafarei, P., & Ebrahimi, M. T. (2011). *Lactobacillus acidophilus* cell structure and application. *African Journal of Microbiology Research*, 5(24), 4033–4042.
- Johnson, J. L., Phelps, C. F., Cummins, C. S., London, J., & Gasser, F. (1980). Taxonomy of the *Lactobacillus acidophilus* group. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30(1), 50-68.
- Kassem, I. A. A., Ashaolu, T. J., Kamel, R., Elkasabgy, N. A., Afifi, S. M., & Farag, M. A. (2021). Mucilage as a functional food hydrocolloid: Ongoing and potential applications in prebiotics and nutraceuticals. *Food & Function*, 12(11), 4738–4748.
- Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*, 1(1), 1–13.

- Khosravi-Darani, K., Jahadi, M., Abbasi, H., Asgari, M., & Tarlak, F. (2022). Production of chocolate probiotic dessert based on camel milk using *Lactocaseibacillus casei*. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 14(2), 189-206.
- Kim, H. S., & Gilliland, S. E. (1983). *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *Journal of Dairy Science*, 66(5), 959–966.
- Lin, X., & Li, H. (2021). Obesity: Epidemiology, pathophysiology, and therapeutics. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 706978.
- Liu, B. N., Liu, X. T., Liang, Z. H., & Wang, J. H. (2021). Gut microbiota in obesity. *World Journal of Gastroenterology*, 27(25), 3837–3850.
- Mahmoud, R., Kimonis, V., & Butler, M. G. (2022). Genetics of obesity in humans: A clinical review. *International journal of molecular sciences*, 23(19), 11005.
- Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), Article 1021.
- Martirosyan, D. M., & Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6), 209-223.
- Martirosyan, D., & Miller, E. (2018). Bioactive compounds: The key to functional foods. *Bioactive Compounds in Health and Disease*, 1(3), 36-39.
- Mathur, H., Beresford, T. P., & Cotter, P. D. (2020). Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. *Nutrients*, 12(6), 1679.
- Mehrinejad Choobari, S. Z., Sari, A. A., & Daraei Garmakhany, A. (2021). Effect of *Plantago ovata* Forsk seed mucilage on survivability of *Lactobacillus acidophilus*, physicochemical and sensory attributes of produced low-fat set yoghurt. *Food Science & Nutrition*, 9(2), 1040-1049.

- Meléndez-Sosa, M. F., García-Barrales, A. M., & Ventura-García, N. A. (2020). Perspectivas e impacto en la salud del consumo de los alimentos funcionales y nutraceuticos en México. *RD-ICUAP*, 6(1), 114-136.
- Meza, B. E., Fernandes, R. R., Zorrilla, S. E., Wilson, D. I., & Peralta, J. M. (2021). Rheological characterisation of full-fat and reduced-fat aerated icings. *LWT - Food Science and Technology*, 142, 111014.
- Minervini, F. (2011). Lactic acid bacteria *Lactobacillus spp.*: *Lactobacillus casei* group. In *Encyclopedia of dairy sciences* (pp. 96-104). Elsevier.
- Mokoena, M. P. (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(8), 1255.
- Mueed, A., Shibli, S., Korma, S. A., Madjirebaye, P., Esatbeyoglu, T., & Deng, Z. (2022). Flaxseed bioactive compounds: Chemical composition, functional properties, food applications and health benefits-related gut microbes. *Foods*, 11(20), 3307.
- NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. *Diario Oficial de la Federación*. Recuperado el 19 de junio de 2024, de [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995)
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], & Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>
- Parra Huertas, R. A. (2010). Review: Lactic acid bacteria: Functional role in foods. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93–105.
- Parra-Rojas, J. P., Largo-Gosens, A., Carrasco, T., Celiz-Balboa, J., Arenas-Morales, V., Sepúlveda-Orellana, P., Temple, H., Sanhueza, D., Reyes, F. C., Meneses, C., Saez-Aguayo, S., & Orellana,

- A. (2019). New steps in mucilage biosynthesis revealed by analysis of the transcriptome of the UDP-rhamnose/UDP-galactose transporter 2 mutant. *Journal of Experimental Botany*, 70(19), 5071–5088.
- Phan, J. L., Cowley, J. M., Neumann, K. A., Herliana, L., O'Donovan, L. A., & Burton, R. A. (2020). The novel features of *Plantago ovata* seed mucilage accumulation, storage, and release. *Scientific Reports*, 10(1), 11766.
- Pimentel, T. C., Brandão, L. R., de Oliveira, M. P., & da Costa, W. K. A. (2021). Health benefits and technological effects of *Lactocaseibacillus casei-01*: An overview of the scientific literature. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 608-619.
- Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., & Van de Wiele, T. (2010). Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1-2), 97-103.
- Pot, B., Felis, G. E., Bruyne, K. D., Tsakalidou, E., Papadimitriou, K., Leisner, J., & Vandamme, P. (2014). The genus *Lactobacillus*. En *Lactic acid bacteria: Biodiversity and taxonomy* (pp. 249-353).
- Puligundla, P., & Lim, S. (2022). A review of extraction techniques and food applications of flaxseed mucilage. *Foods*, 11(12), 1677.
- Ramírez Ramírez, J. C., Rosas Ulloa, P., Velázquez González, M. Y., Ulloa, J. A., & Arce Romero, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. CONACYT.
- Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *Comptes Rendus Biologies*, 340(2), 87–108.
- Suez, J., Zmora, N., Segal, E., & Elinav, E. (2019). The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nature Medicine*, 25(5), 716–729.

- Sun, Z., Harris, H. M., McCann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., Yang, X., Jeffery, I. B., Cooney, J. C., Kagawa, T. F., Liu, W., Song, Y., Salvetti, E., Wrobel, A., Rasinkangas, P., Parkhill, J., Rea, M. C., O'Sullivan, O., Ritari, J., Douillard, F. P., ... O'Toole, P. W. (2015). Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nature Communications*, 6, 8322.
- Villa-Uvidia, D. N., Osorio-Rivera, M. Á., & Villacis-Venegas, N. Y. (2020). Extracción, propiedades y beneficios de los mucílagos. *Dominio de las Ciencias*, 6(2), 503-524.
- Waghmare, R., Padmanabhan, R., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2022). Mucilages: Sources, extraction methods, and characteristics for their use as encapsulation agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(15), 4186–4207.
- Williams, N. T. (2010). Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67(6), 449–458.
- World Health Organization. (n.d.). Healthy diet. *World Health Organization*. Recuperado el 3 de octubre de 2024, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
- World Health Organization. (n.d.). Obesity and overweight. *World Health Organization*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Yang, K., Xu, R., Xu, X., & Guo, Q. (2022). Role of flaxseed gum and whey protein microparticles in formulating low-fat model mayonnaises. *Foods*, 11(3), 282.
- Zhao, W., Liu, Y., Kwok, L. Y., Cai, T., & Zhang, W. (2020). The immune regulatory role of *Lactobacillus acidophilus*: An updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Bioscience*, 36, 100656.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended

description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858.