



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA  
QUÍMICA**

**TESIS**

Para obtener el grado de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Desarrollo de un producto simbiótico a partir de probióticos y matrices prebióticas no convencionales mediante encapsulación iónica”

**PRESENTA**

LNCA Alejandra Lazcano Armenta

**DIRECTORA DE TESIS**

Dra. Paola Hernández Carranza

**CO-DIRECTOR DE TESIS**

Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco

Septiembre 2025



**BUAP**

Oficio: FIQ/SIEP/038/2025

**Mtro. Juan Manuel Rosas Tapia**  
Director de la Dirección de Administración Escolar  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
**PRESENTE**

Reciba un afectuoso saludo y al mismo tiempo me permito presentar a usted a los integrantes del jurado de examen que para obtener el grado de Maestro en Ingeniería Química sustentará:

**Alejandra Lazcano Armenta,**

perteneciente a la generación 2023 con número de matrícula 223470615 y cuyo tema de tesis es: "DESARROLLO DE UN PRODUCTO SIMBIÓTICO A PARTIR DE PROBIÓTICOS Y MÁTRICES PREBIÓTICAS NO CONVENCIONALES MEDIANTE ENCAPSULACIÓN IÓNICA".

Dicho jurado está integrado por:

**JURADO**

Presidente	Dr. Héctor Ruiz Espinosa
Secretario	Dr. Raúl Avila Sosa Sánchez
Vocal	Dra. Diana Mjlena Torres Cifuentes
Vocal	Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco

Asimismo, comunico a usted que el alumno cumple con todos los requisitos para poder llevar a cabo su examen de grado, y que los integrantes de este jurado están citados con anticipación para la fecha y lugar indicados a continuación.

FECHA DE EXAMEN: 17 de octubre de 2025  
HORA: 12:00 horas  
LUGAR: Edificio FIQ8/201  
DÍA: viernes

Sin otro particular, me es grato quedar de usted.

Atentamente,  
"Pensar bien, para vivir mejor"  
H. Puebla de Z. a 18 de septiembre de 2025

**Dra. Esmeralda Vidal Robles**  
Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado



c.c.p. Archivo

E-mail: [esmeralda.vidal@correo.buap.mx](mailto:esmeralda.vidal@correo.buap.mx)

Facultad  
de Ingeniería  
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San  
Manuel, Ciudad Universitaria,  
Puebla, Pue. C. P. 72590.  
(222) 229 55 00  
Exts. 7250 y 7251



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA



ACTA DE REVISIÓN, LIBERACIÓN E IMPRESIÓN DE TESIS

Nombre de la estudiante: LAZCANO ARMENTA ALEJANDRA

Matrícula: 223470615





Nombre del director: Dra. Paola Hernández Carranza

Nombre del codirector: Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco

**Título de la Tesis:**

"Desarrollo de un producto simbiótico a partir de probióticos y matrices prebióticas no convencionales mediante encapsulación iónica"

**Comisión Revisora:**

Presidente:	Dr. Héctor Ruíz Espinosa	Firma: 
Secretario :	Dr. Raúl Avila Sosa Sánchez	Firma: 
Vocal (1):	Dra. Diana Milena Torres Cifuentes	Firma: 
Vocal (2):	Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco	Firma: 

Los integrantes de la Comisión Revisora expresamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de maestría que presenta la estudiante arriba indicado, por lo que estamos de acuerdo en que se proceda con la impresión definitiva de la tesis y que la estudiante presente su defensa y examen de grado en la fecha, horario y lugar que se indican a continuación.

Fecha de examen: 17 de octubre de 2025

Hora: 12:00 h

Día de la semana: Viernes

Lugar: FIQ8 -201



Revisa y Autoriza: Sello de la Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado.- FIQ.- BUAP

## Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi compañero de vida, mi esposo, quien sin dudar apoyó mi decisión de comenzar esta maestría. Gracias por tu paciencia, por impulsarme a seguir adelante, por confiar en mí y motivarme todos los días.

A mi mejor amiga, Mariam, quien me presentó la opción de estudiar esta maestría. Gracias por orientarme, estar presente y por animarme siempre.

Y a mi abuela Mery, quien me enseñó el significado de la dedicación y esfuerzo.

## Agradecimientos

Agradezco la Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo económico otorgado durante el periodo de agosto 2023 a agosto 2025 para la realización de esta investigación.

Agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por abrirme sus puertas y brindarme un espacio para continuar con mi formación profesional.

Agradezco a mi directora de tesis, la Dra. Paola Hernández Carranza, por su acompañamiento a lo largo de este proceso, por guiar mi proyecto profesional y por sus palabras de aliento.

Extiendo también mi agradecimiento a mi co-director, el Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco, por su asesoría y guía durante esta investigación.

Finalmente, agradezco a mi familia por siempre estar presente, apoyando mis proyectos, pasiones y decisiones.

## ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	9
1. Introducción.....	11
2. Justificación.....	12
3. Antecedentes.....	13
3.1 Alimentos funcionales.....	13
3.1.1. Beneficios de los alimentos funcionales.....	14
3.2 Bacterias ácido-lácticas.....	16
3.2.1 Generalidades.....	16
3.2.2 BAL con función probiótica.....	17
3.3 Prebióticos.....	19
3.4 Compuestos fenólicos.....	21
3.4.1 Clasificación de compuestos fenólicos.....	22
3.4.2 Beneficios de los polifenoles.....	26
3.5 Té ( <i>Camellia sinensis</i> ).....	27
3.6 Encapsulación.....	29
3.6.1 Encapsulación iónica.....	31
4. Objetivos.....	33
4.1 Objetivo general.....	33
4.2 Objetivos específicos.....	33
5. Hipótesis.....	33
6. Diagrama de trabajo.....	34
7. Metodología.....	35
7.1 Propiedades fisicoquímicas y microbiológicas en té (blanco, verde y negro).....	35
7.2 Determinación de compuestos bioactivos y el efecto de la esterilización de té (blanco, verde y negro).....	36

7.3 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la población microbiana y compuestos antioxidantes en soluciones de té .....	37
7.4 Efecto prebiótico de la solución de té sobre el crecimiento de <i>Lactobacillus</i> .....	39
7.5 Encapsulación de <i>Lactobacillus</i> mediante gelación iónica y caracterización de los encapsulados.....	39
7.6 Evaluación de la viabilidad de <i>L. plantarum</i> en los encapsulados durante la simulación gastrointestinal .....	40
7.7 Evaluación de la viabilidad de <i>L. plantarum</i> en los fluidos gástrico e intestinal.....	41
7.8 Análisis estadístico.....	42
8. Resultados y Discusión.....	43
8.1 Propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y compuestos bioactivos de té (blanco, verde y negro) .....	43
8.2 Efecto de la esterilización sobre los compuestos antioxidantes de té (blanco, verde y negro) .....	46
8.3 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la población microbiana y compuestos antioxidantes de diferentes té (blanco, verde y negro). .....	49
8.4 Efecto prebiótico de la solución de té sobre el crecimiento de <i>L. plantarum</i> .....	54
8.5 Encapsulación de <i>L. plantarum</i> mediante gelación iónica y caracterización de cápsulas ..	56
8.6 Viabilidad de <i>L. plantarum</i> en los encapsulados durante la simulación gastrointestinal....	59
9. Conclusiones.....	65
10. Recomendaciones .....	66
11. Bibliografía.....	67

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Productos con ingredientes funcionales .....	15
<b>Tabla 2.</b> Prebióticos más utilizados en la industria alimentaria.....	21
<b>Tabla 3.</b> Composición de soluciones de té adicionadas con microorganismos probióticos y su condición de almacenamiento .....	38
<b>Tabla 4.</b> Caracterización fisicoquímica de soluciones acuosas de té (blanco, verde y negro) .....	44
<b>Tabla 5.</b> Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante de soluciones acuosas de té .....	46
<b>Tabla 6.</b> Crecimiento microbiano de <i>Lactocaseibacillus casei</i> y <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y flavonoides en soluciones de té (blanco, verde y negro) durante el almacenamiento a las 96 h.....	52
<b>Tabla 7.</b> Correlación de factores y sus interacciones sobre el crecimiento microbiano, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante .....	54
<b>Tabla 8.</b> Propiedades texturales de las cápsulas a diferentes concentraciones de alginato de sodio..	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura básica de los fenoles.....	22
<b>Figura 2.</b> Estructura básica de los ácidos fenólicos.....	23
<b>Figura 3.</b> Estructura general de los flavonoides.....	24
<b>Figura 4.</b> Estructura general de las cumarinas .....	24
<b>Figura 5.</b> Estructura de taninos hidrolizados .....	25
<b>Figura 6.</b> Metodología para el desarrollo del proyecto .....	34
<b>Figura 7.</b> Compuestos fenólicos totales en soluciones de té bajo tratamiento de extracción y esterilización .....	48
<b>Figura 8.</b> Flavonoides totales en soluciones de té aplicando tratamientos de extracción y esterilización .....	48
<b>Figura 9.</b> Capacidad antioxidante en soluciones de té aplicando tratamientos de extracción y esterilización .....	49
<b>Figura 10.</b> Curva de crecimiento de <i>L. plantarum</i> en té blanco a temperatura ambiente y temperatura de refrigeración .....	54
<b>Figura 11.</b> Población de <i>L. plantarum</i> en diferentes sustratos a temperatura ambiente .....	56
<b>Figura 12.</b> Comparación visual del tamaño de cápsulas de té blanco con <i>L. plantarum</i> y alginato al 0.75%, 1% y 3% (de izquierda a derecha), usando lentejas como referencia.....	57
<b>Figura 13.</b> Viabilidad de <i>L. plantarum</i> en té blanco (sin encapsular) y encapsulado durante la simulación gastrointestinal .....	60
<b>Figura 14.</b> Viabilidad de <i>L. plantarum</i> en los fluidos gástricos e intestinales .....	62
<b>Figura 15.</b> Supervivencia de <i>L. plantarum</i> durante la simulación gastrointestinal.....	63
<b>Figura 16.</b> Tinción de Gram de los fluidos durante la simulación gastrointestinal.....	64

## Resumen

Entre las diversas fuentes vegetales de compuestos fenólicos, el té (*Camellia sinensis*) ha sido recientemente propuesto como una matriz con potencial prebiótico, debido a su capacidad para favorecer la viabilidad de microorganismos probióticos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial prebiótico de los compuestos bioactivos presentes en tés a través de su efecto sobre la viabilidad de probióticos. Asimismo, se encapsuló tanto probióticos como prebióticos mediante gelación iónica y se evaluó la viabilidad de los probióticos durante el almacenamiento y bajo condiciones de simulación gastrointestinal.

Se evaluaron tres tés (blanco, verde y negro), se analizaron sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, contenido de compuestos bioactivos (fenoles y flavonoides) y capacidad antioxidante. Se aplicaron tres tratamientos de extracción para incrementar la concentración de compuestos bioactivos. Por otro lado, se prepararon soluciones de té y se inocularon con *Lactobacillus* spp., se almacenaron a 4°C y 20°C durante 96 h. Se evaluó la viabilidad de los probióticos, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante durante las condiciones de almacenamiento mencionadas. Posteriormente, se evaluó el efecto prebiótico, se utilizó como medio de crecimiento un tipo de té, caldo MRS e inulina. Por otro lado, se llevó a cabo la encapsulación de *Lactiplantibacillus plantarum*, mediante gelación iónica, se utilizó alginato de sodio a concentraciones de 0.75, 1 y 3%. Las cápsulas fueron caracterizadas mediante un análisis de textura. Finalmente, se evaluó la viabilidad de *L. plantarum* durante la simulación gastrointestinal; para ello, se elaboraron tres sistemas: sin encapsular, encapsulado y encapsulado con golpe (simulando la masticación). Se evaluó la población de probióticos en agar MRS y su viabilidad celular mediante el ensayo MTT.

Los resultados de la caracterización fisicoquímica mostraron que los tés presentan un pH ligeramente ácido (menor a 6), con una acidez menor al 1% y una humedad baja (9.0%). Respecto al análisis microbiológico, los tés no presentaron coliformes totales, ni hongos y levaduras, solo una población de bacterias mesófilas menor a 100 UFC/g.

En general, se observó un incremento en todos los compuestos bioactivos cuando se aplicó el tratamiento de extracción a 80°C durante 5 min con agitación 230-240 rpm; las muestras de té

presentaron un contenido de compuestos fenólicos que osciló entre 5.74 a 8.46 mg EAG/100 mL, mientras que en el contenido de flavonoides varió de 1.03 a 1.73 mg catequina/100 mL, con una capacidad antioxidante de 42.29 a 98.51 mg Trolox/100 mL. Sin embargo, se aplicó extra al tratamiento de extracción la esterilización, para garantizar la inocuidad de las soluciones.

El té blanco inoculado con *L. plantarum* y almacenado a 20°C generó que el microorganismo mantuviera una población de 6 ciclos logaritmos. Además, de incrementar sus compuestos fenólicos (8.46 mg EAG/100 mL), flavonoides (1.43 mg catequina/100 mL) y capacidad antioxidante (98.51 mg Trolox/100 mL).

En cuanto a la encapsulación, la formulación con 0.75% de alginato presentó ciertas características texturales (baja elasticidad, cohesividad y masticabilidad); al presentar estas características, se podría favorecer la liberación del probiótico encapsulado. Durante la simulación gastrointestinal se observó una disminución en la viabilidad durante la fase gástrica, mientras que, en la fase intestinal se observó una recuperación del probiótico, con población de 3.87 ciclos logarítmicos (superficie de la cápsula), 4.26 ciclos logarítmicos (fluido intestinal) y 5.66 ciclos logarítmicos (retenidos dentro de la cápsula). En la prueba de viabilidad celular mediante MTT, se observó que después de la simulación gastrointestinal, el probiótico se recupera en más de un 50% tras el proceso intestinal. Además de que no hay una influencia en la viabilidad del probiótico, cuando la cápsula se fractura o se coloca entera.

En conclusión, el té blanco presentó la mayor cantidad de compuestos bioactivos entre los téis analizados. Además, fue el té que generó mayor población de probióticos durante el periodo de almacenamiento, particularmente en *L. plantarum*. La formación de cápsulas a partir de té blanco, *L. plantarum* y 0.75% de alginato fue adecuada para el desarrollo de cápsulas simbióticas, además de permitir la liberación del probiótico, el cual se mantuvo viable en los fluidos gastrointestinales; esto podría permitir y facilitar su liberación, absorción en el sitio activo y brindar beneficios a la salud.

## 1. Introducción

El creciente interés de los consumidores hacia productos más saludables ha impulsado a la industria alimentaria a desarrollar productos con múltiples ingredientes funcionales, como los probióticos, ácidos grasos poliinsaturados, compuestos fenólicos, fibra dietética, prebióticos, vitaminas, minerales, etc. son altamente demandados por la población, debido a los beneficios que pueden producir.

Dentro de estos ingredientes, los compuestos fenólicos, son metabolitos secundarios provenientes de las plantas ampliamente reconocidos por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas. Su consumo habitual se ha asociado con la prevención de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y ciertos tipos de cáncer. Entre las fuentes naturales más ricas en compuestos fenólicos se encuentra el té (*Camellia sinensis*), sus variedades blanco, verde y negro provienen de la misma especie, pero difieren principalmente en el grado de oxidación enzimática y en las condiciones de procesamiento (fijación y secado), afectando su perfil bioactivo. Recientemente, se ha reportado que los compuestos fenólicos podrían tener potencial prebiótico, lo cual significa, que pueden ser utilizados por la microbiota intestinal para estimular selectivamente el crecimiento de bacterias benéficas en el colón, estimulando su crecimiento y viabilidad. Por lo cual, evaluar el efecto de estos metabolitos secundarios sobre bacterias ácido-lácticas con potencial probiótico, representa una alternativa para el desarrollo de alimentos simbióticos.

Por otro lado, para garantizar la viabilidad de los probióticos durante su paso por el tracto gastrointestinal, se utilizan estrategias como la encapsulación, particularmente mediante gelación iónica. Esta técnica permite incorporar microorganismos dentro de una matriz, como el alginato de sodio, utilizando cationes divalentes como el calcio para formar cápsulas. Esta barrera física ayuda a proteger a los probióticos frente a condiciones adversas, como el pH ácido del estómago o la acción de enzimas digestivas, y facilita su liberación controlada en el intestino.

Por lo tanto, el objetivo de este proyecto fue evaluar el potencial prebiótico de los compuestos bioactivos presentes en diferentes tés (blanco, verde y negro) sobre el crecimiento de bacterias probióticas, para posteriormente, encapsular estos elementos y evaluar la viabilidad de los probióticos durante la simulación gastrointestinal.

## 2. Justificación

Hoy en día, el creciente interés de los consumidores por un buen estado de salud y cambios en su alimentación ha impulsado a la industria de alimentos a desarrollar productos orientados a la prevención de enfermedades. Para lograrlo, utiliza ingredientes funcionales como probióticos, fibra dietética, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas, minerales o compuestos bioactivos. Estos últimos, son metabolitos secundarios producidos por las plantas que han ganado importancia debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, de manera particular los compuestos fenólicos son metabolitos, cuya ingesta se asocia con la disminución de enfermedades cardiovasculares o neurodegenerativas, así como ciertos tipos de cáncer. Además, se ha reportado que los compuestos fenólicos presentes en plantas como el té, poseen potencial prebiótico, los cuales son usados por la microbiota intestinal, promoviendo el crecimiento y viabilidad de probióticos. Por lo que, evaluar esta característica en bacterias con potencial probiótico podría contribuir a usar estas sustancias en el desarrollo de productos simbióticos.

Por otro lado, el uso de procedimientos de protección como la encapsulación por gelación iónica podrían brindar estabilidad a ingredientes funcionales (probióticos y compuestos bioactivos), sobre todo durante su paso en el sistema gastrointestinal, donde generalmente se considera que son liberados, sin embargo, los estudios se centran en cuantificar la viabilidad de los probióticos dentro de la cápsula, considerando que este material puede degradarse en los fluidos gastrointestinales. Por lo cual, es importante explorar como las cápsulas pueden degradarse o fragmentarse o incluso pasar intactas por el sistema digestivo.

Por lo tanto, este proyecto busca evaluar el potencial prebiótico de los compuestos bioactivos presentes en diferentes tipos de té (blanco, verde y negro) sobre cepas de *Lactobacillus* spp. con capacidad probiótica y utilizar la encapsulación para proteger los ingredientes funcionales (probióticos, compuestos bioactivos), además de evaluar la posible liberación de los probióticos en procesos *in vitro*.

### 3. Antecedentes

#### 3.1 Alimentos funcionales

Actualmente no hay una definición exacta sobre alimento funcional, sin embargo, expertos generalmente los definen como “alimentos naturales o procesados que; cuando se consumen regularmente dentro de una dieta y en niveles adecuados, tienen efectos potencialmente positivos en la salud, más allá de la nutrición básica” (Granato et al., 2020). Sin embargo, Temple (2022) menciona que no todos los alimentos, especialmente los naturales, pueden considerarse funcionales únicamente por contener algún ingrediente funcional. Para que un alimento sea clasificado como funcional, debe formularse intencionalmente con ingredientes bioactivos en concentraciones adecuadas, dependiendo del tipo de compuesto, que permita generar un beneficio real para la salud. Estos beneficios se atribuyen a ingredientes, como: probióticos, prebióticos, antioxidantes, ácidos grasos, fitoesteroles, vitaminas o minerales. Los alimentos funcionales pueden ser parte de la dieta de cualquier persona, pero se han desarrollado especialmente para aquellos grupos de la población con necesidades nutricionales especiales, como por ejemplo mujeres embarazadas, adultos mayores, pacientes pediátricos con deficiencias e intolerancias, pacientes con riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, gastrointestinales, etc. (Meléndez-Sosa et al., 2020; Fentie et al., 2024).

De acuerdo con Meléndez-Sosa et al. (2020) para que un alimento se pueda considerar funcional, debe de cumplir con algún criterio de los enlistados a continuación:

- Alimento natural o procesado, al que se le ha eliminado o reducido algún componente no deseado por sus posibles efectos adversos.
- Alimento que se le agrega una sustancia que ayuda a reemplazar parcialmente a otra no deseada, sin que altere su valor nutricional.
- Alimento al que se le incrementa el contenido de un ingrediente o componente benéfico para la salud.
- Adición de un nuevo ingrediente ausente en el alimento, presentando una ventaja para la salud del consumidor.

### 3.1.1. Beneficios de los alimentos funcionales

Los alimentos funcionales poseen el potencial de impactar positivamente en la salud del consumidor al prevenir enfermedades, entre las que destacan hipertensión arterial, diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, entre otras. Además, son capaces de mejorar el sistema inmunológico para prevenir y controlar infecciones por microorganismos patógenos, así como abordar patologías que provocan alteraciones en el organismo. Se ha descrito que los alimentos funcionales modifican los mecanismos fisiológicos a nivel del tracto gastrointestinal, al aumentar los parámetros bioquímicos y mejorar las funciones neuronales (Damián et al., 2022). Es importante mencionar que los efectos beneficiosos que ejercen los alimentos funcionales dependerán de la cantidad, además de su biodisponibilidad o bioaccesibilidad, la cual está sujeta a su absorción, distribución, degradación y excreción. La biodisponibilidad puede evaluarse mediante análisis *in vivo* con la finalidad de analizar los metabolitos en sangre y/o orina después de ingerir el alimento, mientras que la bioaccesibilidad se determina mediante métodos de digestión *in vitro*, los cuales proporcionan una visión profunda de su mecanismo de digestión (Wu y Dong, 2021).

Entre las principales limitaciones para evaluar el potencial de los alimentos funcionales está la dependencia de estudios *in vitro* y en modelos animales; los ensayos en humanos siguen siendo limitados, lo que dificulta extrapolar los resultados a la población general. Esta dificultad se explica, en parte, a que al ser probados previamente en animales como lo son los ratones o ratas, las diferencias estructurales en su tracto gastrointestinal en comparación con el humano puede influir en los resultados. Por ejemplo, el tracto gastrointestinal de los ratones es significativamente más pequeño, lo que reduce el tiempo de tránsito, además de la exposición del ingrediente funcional, incluso el proceso metabólico que puede llegar a presentar, esto afecta su homologación con el ser humano, además de que la microbiota de cada especie evaluada presenta diferencias, en este sentido los roedores comparten solo un 15% de similitud de su microbiota intestinal con la de los humanos, por lo que usar este tipo de especies para la evaluación de alimentos funcionales, no es suficiente (Osawa et al., 2024). A esto se suma que la microbiota intestinal puede verse modificada por diversos factores, como la dieta, el uso de antibióticos y la genética. Considerando que el tracto gastrointestinal es el principal sitio de interacción con los alimentos funcionales, estas variaciones adquieren una importancia significativa (Hugenholtz y De Vos, 2018). A continuación,

en la Tabla 1 se muestran productos que han sido considerados funcionales debido a los beneficios demostrados.

**Tabla 1.** Productos con ingredientes funcionales

<b>Producto</b>	<b>Ingrediente funcional</b>	<b>Beneficio</b>	<b>Referencia</b>
Producto lácteo fermentado	Probióticos ( <i>Bifidobacterium</i> )	Mejora función intestinal, previene la infección de diarrea infecciosa	De Souza et al., 2024
Avena	Fibra soluble	Disminuye la absorción intestinal del colesterol	Pérez-Martínez et al., 2023
Orujo de aceituna en productos de panificación	Polifenoles	Antiinflamatorio	Di Nunzio et al., 2020
Bebidas vegetales fermentadas	Probióticos ( <i>L. helveticus</i> )	Inmunorreguladora, antimicrobiana y antitumoral	Zhao et al., 2024
Kombucha	Epicatequina, epigallocatequina, galato de epicatequina y galato de epigallocatequina	Antioxidante, antimicrobiano, anticancerígeno	Coelho et al., 2020
Gomas vegetales	Prebiótico	Mejora la supervivencia de los probióticos	Al-Asmari et al., 2025
Kéfir	Probióticos ( <i>L. paracasei</i> , <i>L. nagelii</i> , <i>L. hilgardii</i> )	Antimicrobiana, antioxidante, antihipertensiva, antiinflamatoria, antitumoral	Matejčková y Valík, 2025

## 3.2 Bacterias ácido-lácticas

### 3.2.1 Generalidades

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) pertenecen al grupo de bacterias Gram-positivas; contienen un grupo hemina el cual les permite iniciar la cadena respiratoria con el oxígeno como aceptor de electrones; no son patógenas, ni toxigénicas o formadoras de esporas. Son cocos o bacilos de longitud variable; tienen la capacidad de producir ácido láctico a partir de carbohidratos, otorgándoles la capacidad de fermentar alimentos (Sánchez y Tromps, 2014); por consiguiente, esta actividad confiere a los alimentos características sensoriales y nutricionales, permitiendo mejorar su digestibilidad (Parra, 2010).

Las BAL obtienen energía principalmente a partir de la fermentación de carbohidratos como la glucosa, mediante procesos de fosforilación a nivel del sustrato. Dependiendo de la vía metabólica que sigan, pueden ser homofermentativas y heterofermentativas. Las BAL homofermentativas usan la ruta de la glucólisis, generando ácido láctico, mientras que las heterofermentativas utilizan la vía de las pentosas fosfato y se caracterizan por la producción de CO<sub>2</sub>, etanol, acetato, además de ácido láctico (Mora-Villalobos et al., 2020).

Las BAL son ampliamente usadas en distintos sectores industriales, entre los que destaca la alimentación, agricultura y medicina. Varias de las especies de BAL son usadas para el desarrollo de productos lácteos, donde mejoran las características sensoriales, además de conservar los alimentos (Drider y Rivera, 2016). Además, son útiles como cultivos iniciadores para la fermentación de alimentos, donde pueden ser consideradas como probióticos (Mora-Villalobos et al., 2020). Dentro de los géneros más utilizados para la obtención de alimentos fermentados se encuentran: *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Oenococcus* spp. y dentro del género *Streptococcus* la especie *S. thermophilus* (Sánchez y Tromps, 2014).

Por otro lado, algunas BAL se emplean como productoras de compuestos antimicrobianos debido a que son productoras de bacteriocinas; estos son péptidos que evitan el deterioro producido por microorganismos patógenos o deteriorativos (Mora-Villalobos et al., 2020).

### 3.2.2 BAL con función probiótica

Los probióticos son microorganismos vivos que, al ser administrados en cantidades elevadas ( $10^6 - 10^9$  UFC/g o mL) otorgan beneficios a la salud del consumidor (Damián et al., 2022). Para ser considerado probiótico, se deben cumplir algunos criterios, tales como: el microorganismo debe sobrevivir a la exposición de un ambiente ácido y a las sales biliares que se encuentran en el cuerpo humano, al mismo tiempo deben tener una buena capacidad de absorción en el intestino, no deben ser patógenos, y deben ser reconocidos como GRAS (Granato et al., 2020).

De los géneros más reconocidos como probióticos se encuentran: *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Damián et al., 2022). Mientras que las especies más usadas son: *Lacticaseibacillus casei*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* y *Lactiplantibacillus plantarum* (Sharma et al., 2022).

*Lacticaseibacillus casei* ha demostrado ser capaz de estimular la fermentación en productos con lactosa mediante la actividad de  $\beta$ -galactosidasa, promueve la liberación de péptidos bioactivos con potencial antioxidante y actúa como potencial antimicrobiano frente a patógenos como *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC), enterotoxigénica (ETEC) y/o enterohemorrágica (EHEC). Además, ha demostrado ser resistente al frío y a la acidez al no mostrar pérdidas significativas de su viabilidad en productos como queso Labneh (Elshagabee et al., 2022).

Por otro lado, *Lactiplantibacillus plantarum* ha demostrado una buena capacidad de adhesión al moco intestinal, lo que favorece su colonización y permanencia en el tracto gastrointestinal, una característica clave para que una cepa ejerza una acción probiótica efectiva (Kamber et al., 2024). Asimismo, se ha reportado que produce compuestos bioactivos proteicos con actividad antimicrobiana, sin generar toxicidad ni respuesta inflamatoria en células humanas, lo que le confiere un alto potencial como ingrediente funcional seguro para inhibir patógenos en alimentos (Arrijoa-Bretón et al., 2020)

Los principales beneficios reportados por parte de estos microorganismos son a nivel intestinal, mismos que incluyen la prevención de diarrea, reducción de síntomas relacionados con la enfermedad inflamatoria intestinal, prevención de cáncer gastrointestinal, mejoran la

intolerancia a la lactosa y la reducción de infecciones producidas por *Helicobacter pylori* (Küçükgöz y Trzaskowska, 2022).

Estos efectos beneficiosos son ejercidos a través de cuatro principales mecanismos: inhibir el crecimiento de patógenos, mejorar la función de la barrera intestinal, realizar la inmunomodulación del cuerpo y producir neurotransmisores (You et al., 2022). Esto gracias a que son capaces de competir con los patógenos por nutrientes y sitios de unión a los receptores, dificultando así su supervivencia en el intestino; además son considerados agentes antimicrobianos, debido a la producción de bacteriocinas. Por otro lado, contribuyen en los procesos de inflamación ya que pueden producir en presencia de prebióticos ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y estimular la liberación de IgA (Mazziotta et al., 2023). También se ha reportado que pueden reducir la presencia de microorganismos patógenos en el intestino debido a la generación de postbióticos como péptidos, enzimas, ácidos orgánicos, entre otros (Ahire et al., 2021; Tiwari et al., 2024). Asimismo, los probióticos logran mejorar la función de la barrera intestinal al estimular la producción de mucina, principal constituyente de la capa que cubre y protege el epitelio de patógenos, toxinas y sustancias endógenas (Chang et al., 2021). Además, los probióticos contribuyen a fortalecer el sistema inmunológico al mejorar la interacción con otras células del sistema inmune, como las células dendríticas, macrófagos y linfocitos B y T, así como estimulan la producción de sustancias antiinflamatorias, como la citocina, las cuales ayudan a atraer células inmunológicas para reforzar la protección intestinal (Petruzzello et al., 2023).

Por otro lado, algunas cepas probióticas han demostrado su capacidad para producir neurotransmisores, así como modular niveles de serotonina, ácido gamma-aminobutírico (GABA) y dopamina, lo que puede llegar a influir en el estado de ánimo, comportamiento, motilidad intestinal y las vías relacionadas con el estrés (Latif et al., 2023).

No obstante, estudios clínicos han informado que los probióticos ingeridos pueden no colonizar el intestino y, por lo tanto, no proporcionar beneficios al consumidor (Liang et al., 2024). Esto puede deberse a que los probióticos se inactivan por las condiciones del tracto gastrointestinal, como la acidez estomacal o la presencia de sales biliares en el intestino delgado, por lo que es importante que estén protegidos para que logren liberarse en el sitio específico y adherirse a las paredes gastrointestinales (Xu et al., 2024).

En este sentido, la supervivencia de los probióticos depende de dos factores claves. El primero es la capacidad de las cepas seleccionadas para resistir las condiciones del tracto gastrointestinal. El segundo es la viabilidad durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos en los que se incorporan. Dado que la mayoría de los probióticos comerciales han sido aislados de productos lácteos, estos han sido considerados la principal matriz de administración. Sin embargo, su baja tolerancia a las condiciones gástricas y a la presencia de sales biliares son factores determinantes en la selección de las cepas probióticas (Neffe-Skocińska et al., 2018). Además, la elección de la matriz alimentaria y las condiciones de procesamiento influyen directamente en su supervivencia. También es esencial garantizar que los alimentos con probióticos contengan el nivel mínimo recomendado de  $10^6 - 10^7$  UFC/mL en el producto final, ya que esta concentración debe mantenerse durante toda la vida útil del alimento para garantizar sus efectos en la salud (Palanivelu et al., 2022).

Hasta ahora, los productos lácteos han sido la matriz más utilizada para la administración de probióticos, pero durante el procesamiento o almacenamiento, la supervivencia de estas bacterias puede verse afectada. Por esta razón, existe un gran interés en encontrar nuevas matrices y métodos de procesamiento que mejoren la viabilidad de los probióticos, por lo cual, se utilizan sustancias como los prebióticos (Wang et al., 2022a).

### **3.3 Prebióticos**

Los prebióticos son sustancias utilizadas selectivamente por los microorganismos del huésped, los cuales, al no ser digeribles por las enzimas digestivas son fermentados por la microbiota, logrando estimular selectivamente bacterias presentes en el colón, mejorando su supervivencia, crecimiento, metabolismo y actividad beneficiosa (Granato et al., 2020). Además, confieren beneficios a la salud tales como: favorecer la multiplicación de bacterias benéficas, disminuir la población de microorganismos patógenos, regular la inmunidad, mejorar la función de la barrera intestinal, aumentar la absorción de minerales y reducir los niveles de lípidos en sangre (Bernal et al., 2017; You, 2022; Liu et al., 2020). Estos beneficios son gracias a que las bacterias probióticas fermentan a los prebióticos para producir múltiples metabolitos que pueden alterar la microbiota intestinal y así entrar en la circulación sistémica, beneficiando a otros sistemas orgánicos (Campos-Perez y Martinez-Lopez, 2021). Rau et al. (2024) mencionan que los

metabolitos más estudiados son los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como el acetato, propionato y butirato, los cuales ayudan a modular la transcripción génica, logrando alterar la motilidad colónica y el flujo sanguíneo, así como reducir el pH gástrico, lo que puede influir en la absorción de nutrientes. Por otro lado, los AGCC pueden liberar péptidos intestinales (como el GLP-1), los cuales participan en la función de la barrera intestinal y metabolismo energético (Wieërs et al., 2020).

Para que un compuesto sea considerado prebiótico debe de cumplir con tres criterios: a) ser capaz de resistir la digestión del huésped, b) ser fermentable por microorganismos intestinales, c) ser capaz de estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de bacterias intestinales asociadas a la salud (Liu et al., 2020). Algunos de los principales componentes prebióticos son: fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, inulina, fructanos, isomalto-oligosacáridos, povidex, lactulosa, almidón resistente, entre otros (Bernal et al., 2017).

Anteriormente se consideraban a los oligosacáridos como únicos prebióticos (Granato et al., 2020); sin embargo, estudios como los reportados por Zeng et al. (2018), Dávila et al. (2019) y De Borja et al. (2019) mencionan que los prebióticos incluyen otras sustancias diferentes a los carbohidratos, que cumplen con los criterios de los prebióticos (You, 2022). Estos incluyen compuestos como los polifenoles de las plantas, vegetales y frutas, así como los ácidos grasos poliinsaturados y polímeros polipeptídicos, ya que muchos llegan intactos al colon para ser utilizados por la microbiota (Cunningham et al., 2021).

A continuación, en la Tabla 2 se presentan los prebióticos más utilizados en la industria de alimentos.

**Tabla 2.** Prebióticos más utilizados en la industria alimentaria

<b>Prebiótico</b>	<b>Fuentes en alimentos</b>	<b>Beneficio</b>	<b>Referencia</b>
Fructooligosacáridos (FOS)	Verduras, legumbres, frutas, granos	Modulación de la microbiota intestinal, aumento en la producción de AGCC	Pham et al., 2021
Galactooligosacáridos (GOS)	Productos que contengan lactosa (leche)	Promueven el crecimiento de <i>Bifidobacterium</i> y <i>Lactobacillus</i> , producen AGCC	Bamigbade et al., 2022
Inulina	Ajo, cebolla, espárragos, plátano, trigo	Mejoran la función de la barrera intestinal, ayudan a disminuir los triglicéridos, aumentan la absorción de calcio	Hughes et al., 2022
Maltodextrina	Maíz, papa, arroz, trigo	Aumenta el crecimiento de <i>Bifidobacterium</i>	Nishimoto et al., 2022
Fibra dietética	Cereales, arroz, cebada, maíz, avena	Regulación de la saciedad, aumento en el peso de las heces, reducción del índice glucémico y resistencia a la insulina	Harris et al., 2020

### 3.4 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas (Liu et al., 2022), contienen un anillo aromático (fenol) unido a grupos hidroxilo (-OH), estos compuestos se pueden sintetizar por medio de varias rutas metabólicas como la del ácido shikímico, ácido malónico, ácido mevalónico o MEF (metileritrol 4- fosfato) (Alves-Santos et al., 2020).

Generalmente, los vegetales son capaces de sintetizar un elevado número de compuestos fenólicos, algunos de los cuales son necesarios para sus funciones fisiológicas y son utilizados como mecanismo de defensa ante situaciones de estrés, ocasionadas por animales o condiciones climáticas (Godoy Cancho, 2017). Los compuestos fenólicos tienen varias funciones, siendo de las más importantes la acción antioxidante, antiinflamatoria, y antiinfecciosa, al igual que, son

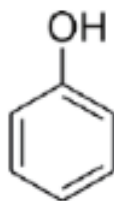
responsables del color y características sensoriales de alimentos y plantas (Peñarrieta et al., 2014). La principal fuente de compuestos fenólicos son alimentos de origen vegetal (frutas, verduras, semillas y flores), algunos ejemplos de alimentos son té negro y verde, vino, ajo, brócoli, tomate, zanahoria, arándanos, zarzamoras, uvas, cacao, betabel, etc. (Navarro et al., 2017).

Se han identificado más de 8,000 compuestos fenólicos, por esta razón su clasificación atiende a diferentes criterios (Godoy Cancho, 2017). Algunos autores, los clasifican en función del número de anillos fenólicos que contengan, dentro de esta clasificación podemos encontrar a los fenoles simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos (Rojas, 2021).

### 3.4.1 Clasificación de compuestos fenólicos

#### *Fenoles simples*

Este grupo de compuestos se caracteriza por tener en su estructura química un anillo aromático y dos o tres grupos hidroxilos. Estos ofrecen propiedades antioxidantes, antibióticas, antiparasitarias y citotóxicas, ayudan a reducir el estrés oxidativo, la neuroinflamación al promover la liberación de mediadores proinflamatorios potencialmente neurotóxicos (Nájera-Maldonado et al., 2024). Se pueden encontrar en la mayoría de las frutas, especialmente en las bayas, setas, canela y clavo, pero también pueden ser sintetizados químicamente (Rojas, 2021).

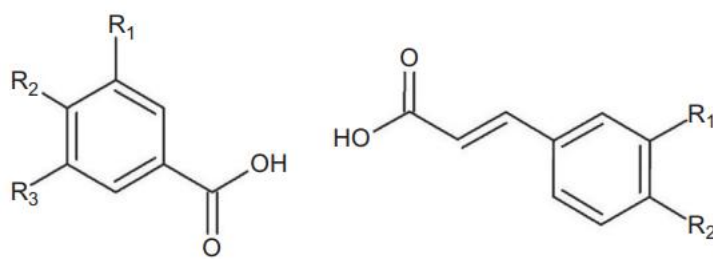


**Figura 1.** Estructura básica de los fenoles. Tomado de: Al Mamari, 2021.

#### *Ácidos fenólicos*

Los ácidos fenólicos funcionan como factores de resistencia o protección frente a diversos agentes patógenos. Constituyen aproximadamente un tercio de los fenoles dietéticos, que pueden estar presentes en las plantas tanto de forma libre como ligada (Godoy Cancho, 2017). Estos pueden derivar de los ácidos benzoicos o del ácido cinámico, ambos son sintetizados a partir del

aminoácido aromático L-fenilalanina por la ruta del ácido shikímico (Rojas, 2021). Los derivados del ácido benzoico son abundantes en la naturaleza principalmente en forma libre, como ácidos o aldehídos, generalmente se encuentran en pequeñas cantidades en alimentos como los frutos rojos, hierbas, rábanos, cebollas y en algunas bebidas alcohólicas como el vino y la cerveza (Gutiérrez-Escobar et al., 2021). Los derivados del ácido cinámico se encuentran en forma conjugada, incluyendo amidas, ésteres y glucósidos, su amplia distribución y alta concentración les proporciona un papel importante en la biosíntesis de sistemas fenólicos más complejos (Godoy Cancho, 2017). Su consumo se ha asociado con la reducción de enfermedades cardiovasculares, cáncer de piel, enfermedad de Alzheimer, obesidad y diabetes. Se encuentran principalmente en granos de café, papas, berenjenas y semillas de girasol (Coman y Vodnar, 2019).

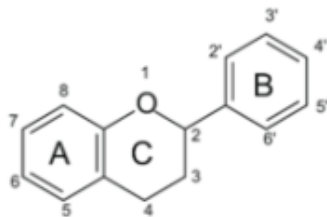


**Figura 2.** Estructura básica de los ácidos fenólicos. Tomado de: Luna-Guevara et al., 2019.

### *Flavonoides*

Los flavonoides son compuestos formados por quince átomos de carbono y presentan una estructura compuesta por dos anillos aromáticos unidos por un heterociclo oxigenado. Debido a la existencia de más de 4000 flavonoides identificados, se han clasificado en seis subclases principales: flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavanoles, antocianidinas y flavonoles (Rojas, 2021). Dentro de los flavonoles se han detectado formas monoméricas y poliméricas. El té, es uno de los alimentos con mayor contenido de flavonoides monoméricos (catequinas), que son responsables del sabor intenso y astringente (Ciupei et al., 2024). Los flavonoides también son los principales responsables del sabor y color de las frutas y verduras, como los frutos rojos (Liu et al., 2022). Además, presentan propiedades antiinflamatorias mediante la inhibición de enzimas proinflamatorias, y propiedades anticancerígenas, ya que promueven la acción de enzimas desintoxicantes que ayudan a eliminar a las células cancerígenas, inducen la apoptosis, suprimen

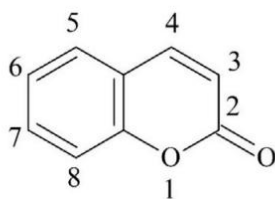
la invasividad, la autofagia y presentan efectos de antienvjecimiento, así como actividad antimicrobiana y antioxidante (Kopustinskiene et al., 2020).



**Figura 3.** Estructura general de los flavonoides: Tomado de: Liu et al., 2021.

### *Cumarinas*

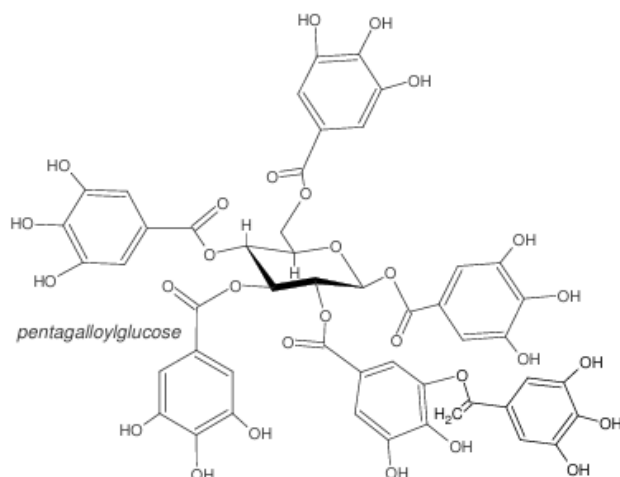
Las cumarinas están formadas por un anillo bencénico condensado con un anillo heterocíclico, se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo vegetal, principalmente en frutas y hortalizas, pero también en la canela y té de manzanilla. Tienen propiedades antioxidantes y antibacterianas (Peñarrieta et al., 2014), se utiliza en medicamentos anticoagulantes contra la embolia venosa y los infartos cardiacos, gracias a sus propiedades antitrombóticos y anticoagulantes (Olivo-Vidal y Núñez, 2020). Además, se utilizan en diversas aplicaciones farmacológicas, incluyendo antibacterianos, antioxidantes, agentes antiinflamatorios, tratamiento contra el VIH, terapias anticancerígenas, antivirales y agentes antituberculosos (Sharif y Jabeen, 2024). Por otro lado, los derivados de las cumarinas, los cuales se sintetizan naturalmente en varias plantas tienen excelentes efectos antiinflamatorios y antioxidantes (Ghosh et al., 2023).



**Figura 4.** Estructura general de las cumarinas. Tomado de: Carneiro et al., 2021.

## Taninos

Los taninos son polímeros formados por ácidos fenólicos, tienen la particularidad de unirse a proteínas y precipitarlas (Rojas, 2021), son solubles en agua y su sabor es áspero y amargo (Olivo-Vidal y Núñez, 2020). Estos se pueden dividir en taninos hidrolizables y condensados. Los taninos hidrolizables consisten en un núcleo de glucosa esterificado con ácido fenólicos como el ácido gálico, mientras que los condensados son polímeros de unidades de flavan-3-ol, unidas por enlaces carbono-carbono, lo que los hace resistentes a la hidrólisis (Godoy, 2017). El consumir alimentos o bebidas ricos en taninos como el té verde, arándanos, manzana, zarzamora, canela y granada, ha demostrado reducir el riesgo de ciertas enfermedades (Olivo-Vidal y Núñez, 2020). Contribuyen a la salud humana a través de efectos antiinflamatorios, inmunorreguladores, hipoglucémicos e hipolipidémicos, así como a la regulación metabólicas, reparación del ADN y propiedades anticancerígenas (Ma y Zhang, 2017), además de combatir úlceras gástricas, disminuir niveles de urea en sangre, inhibir la actividad de la enzima transformadora de angiotensina, poseen actividad antiviral e inhiben la peroxidación de lípidos (Godoy Cancho, 2017). Igualmente ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares al inhibir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), reducir la presión arterial y niveles de colesterol LDL (Afa, 2020). Sin embargo, el consumo excesivo de taninos puede inhibir la absorción de hierro, lo que podría poner en riesgo a las personas con anemia (Cosme et al., 2025).



**Figura 5.** Estructura de taninos hidrolizados. Tomado de: Luna-Guevara et al., 2019.

### 3.4.2 Beneficios de los polifenoles

La ingesta elevada de frutas y verduras ricos en polifenoles han demostrado un menor riesgo de padecer enfermedades, lo cual se atribuye a sus propiedades antioxidantes, mismas que dependen de la cantidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos (Navarro et al., 2017). La capacidad antioxidante provee al cuerpo efectos vasodilatadores y vasoprotectores favoreciendo la circulación sanguínea (Canale Vásquez y Michilot Soto, 2019); además ayuda a atenuar la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, mejorando el perfil lipídico y modulando procesos de apoptosis en el endotelio vascular (Rojas, 2021).

Por otro lado, los compuestos fenólicos tienen actividad antitumoral, favorecen la eliminación de células malignas de la masa tumoral (Tang et al., 2022); además, tienen la capacidad de contrarrestar la formación de radicales libres, que a largo plazo generan daño oxidativo, ayudando a prevenir daño a moléculas neuronales (Canale Vásquez y Michilot Soto, 2019).

Los compuestos fenólicos pueden influir en la microbiota intestinal principalmente mediante dos mecanismos: la estimulación selectiva del crecimiento de bacterias beneficiosas y la inhibición de microorganismos patógenos. Debido a su complejidad estructural, los polifenoles presentan una baja tasa de absorción en el intestino delgado (menos del 10%), lo que permite que lleguen al colon, donde son transformados por la microbiota intestinal en metabolitos bioactivos (Plamada y Vodnar, 2021). Esta transformación ocurre a través de diversas reacciones químicas, como hidroxilación, oxidación, descarboxilación, metilación, isomerización, hidratación, deshidrogenación y glicosilación, que convierte los polifenoles en compuestos fenólicos de menor peso molecular, más fácilmente aprovechables por las bacterias intestinales (Kasprzak-Drozd et al., 2021). Este proceso no solo limita el desarrollo de bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus*, sino que también favorece la diversificación y funcionalidad de la microbiota intestinal (Rojas, 2021).

Además, los polifenoles pueden inducir cambios en el ambiente intestinal que favorece la interacción entre distintas especies bacterianas, mediante relaciones sintróficas, las cuales fortalecen la estabilidad de la microbiota, como las bacterias *Akkermansia muciniphila*, *Lactobacillus* spp., y *Bifidobacterium* spp., las cuales son resistente a la acción antimicrobiana de

los polifenoles y logran aprovechar los compuestos liberados tras la inhibición de otras especies sensibles, favoreciendo así su persistencia en el intestino (Rodríguez-Daza et al., 2021). Asimismo, algunas bacterias intestinales como las antes mencionadas poseen enzimas conocidas como PAZymes por sus siglas en inglés (Polyphenol-Associated Enzyme) las cuales son capaces de metabolizar polifenoles en metabolitos intermedios, estos pueden ser utilizados por otras bacterias beneficiosas en cadenas de alimentación cruzada, ampliando la diversificación microbiana (Pulido-Mateos et al., 2022). En particular, *Lactiplantibacillus plantarum* ha demostrado tener la capacidad de transformar polifenoles complejos, en compuestos de menor peso molecular y con mayor biodisponibilidad y pueden ejercer efectos benéficos a nivel sistémico (Reverón et al., 2015). En conjunto, estos hallazgos refuerzan el papel potencial de ciertos polifenoles como agentes prebióticos, al promover tanto el crecimiento de bacterias beneficiosas como la generación de compuestos con efectos positivos sobre la salud (Sharma et al., 2022).

### **3.5 Té (*Camellia sinensis*)**

El té es la bebida no alcohólica más popular del mundo y se obtiene de la planta *Camellia sinensis*, perteneciente a la familia Theaceae (Noudoost et al., 2015). A partir de esta especie es posible obtener distintos tipos de té, cuya clasificación depende del grado de fermentación, definido como el proceso de oxidación enzimática en el que diversos compuestos del té se transforman, generando un perfil único de sabor, aroma y compuestos bioactivos con propiedades benéficas para la salud (Aloo et al., 2024). Esta fermentación puede ser de tipo microbiana, mediante la acción deliberada de microorganismos en condiciones controladas, o de tipo enzimática, también llamada oxidación, provocada por la actividad natural de las enzimas presentes en las hojas de té, principalmente la polifenol oxidasa y la peroxidasa, que actúan sobre los polifenoles del té, generando productos de oxidación (Masish et al., 2023).

En función del grado de oxidación, el té se clasifica de la siguiente manera: té verde este no es fermentado, debido a que las enzimas responsables de la oxidación se inactivan mediante calor en la etapa de fijación; té blanco y té amarillo presentan una fermentación ligera; el té Oolong experimenta una fermentación parcial; mientras que el té negro y el té oscuro se someten a un proceso de fermentación completa, mientras que el oscuro tiene una fermentación microbiana adicional (Xu et al., 2019).

El procesamiento del té comienza con el marchitamiento, donde las hojas frescas se dejan reposar para disminuir el contenido de humedad durante 36-48 h (Radeva-Ilieva et al., 2025). En el caso del té verde, se aplica previamente calor mediante vapor o tostado en sartén para inactivar las enzimas oxidantes en un proceso conocido como fijación (Wang et al., 2022f). Posteriormente, las hojas se enrollan utilizando máquinas de rodillo, alterando y rompiendo su estructura celular, facilitando la oxidación en las etapas siguientes (Tanaka y Marsuo, 2020). La oxidación se lleva a cabo en ambientes controlados, permitiendo que las enzimas actúen sobre los polifenoles, transformándolos en compuestos que determinan el color y sabor del té, esta oxidación va de 10-80% dependiendo la variedad. Finalmente, las hojas se hornean para detener la oxidación y preservar el producto (Wong et al., 2022).

Las hojas de té son ricas en compuestos fenólicos, representando aproximadamente el 30% del peso seco. Entre estos destacan los flavonoides, especialmente las catequinas como la epigallocatequina-3-galato, epicatequina-3-galato, epicatequina y epigallocatequina, que son las responsables del sabor amargo y astringente del té, así como de sus propiedades antioxidantes (Liu et al., 2022). Además, contiene antocianinas, otros flavonoides que, aunque en menor cantidad, contribuyen significativamente al perfil sensorial del té (Zhao et al., 2022).

El contenido de compuestos fenólicos varía según la especie, la etapa de desarrollo de la hoja, el método de cultivo y, especialmente el tipo de procesamiento y grado de oxidación (Nibir et al., 2017). Además de los compuestos fenólicos, el té contiene cafeína (2-5%), 26 aminoácidos, entre ellos aminoácidos proteicos y no proteicos, como el ácido glutámico, triptófano, glicina, serina, tirosina, valina, treonina, ácido aspártico, arginina, lisina y fenilalanina (Deb et al., 2019). Los carbohidratos representan entre el 5-7% del peso seco e incluyen componentes como celulosa, pectina, glucosa, fructosa, sacarosa, arabiosa, ramnosa y ribosa (Luo et al., 2024). También se han identificado pequeñas cantidades de lípidos, como los ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico, así como vitaminas y minerales esenciales como la B2, C, E, ácido fólico, potasio, calcio, fósforo, magnesio, manganeso, zinc y cobre (Ratnani y Malik, 2022).

El procesamiento del té impacta directamente en la composición de los metabolitos. Por ejemplo, durante la fijación térmica del té verde, disminuyen significativamente las concentraciones de clorofilas, proteínas y lípidos, mientras que aumentan los aminoácidos. En

contraste, la oxidación enzimática del té negro impulsa la formación de pigmentos como las teaflavinas y tearubiginas, que le confieren su color y sabor característico (Wang et al., 2022d). Durante el marchitamiento, común en la producción de té blanco y negro, ocurre una pérdida progresiva de agua, reduciendo el contenido de catequinas, flavonoides, glucósidos y almidón, mientras que aumentan las teaflavinas, los aminoácidos y las agliconas debido a la acción de enzimas endógenas y la deshidratación (Li et al., 2025). Finalmente, durante el secado, se reduce el contenido de humedad, alterando la composición de los metabolitos volátiles, especialmente aminoácidos y monosacáridos (Wang et al., 2022c).

El consumo regular de té se ha relacionado con múltiples beneficios para la salud, incluyendo la prevención de enfermedades cardiovasculares, obesidad, cáncer, enfermedad inflamatoria intestinal y diabetes mellitus tipo 2, atribuidos principalmente a los compuestos fenólicos (Yang et al., 2018). Las catequinas, en particular, actúan sobre el sistema cardiovascular al eliminar radicales libres, inhibir enzimas prooxidantes e inducir enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa, reduciendo el estrés oxidativo en modelos animales y mostrando efectos protectores celulares frente al daño oxidativo e inflamatorio (Wang et al., 2022b; Wang et al., 2022e). Además, los compuestos fenólicos del té pueden reducir la inflamación del colon, fortalecer la respuesta inmune, mejorar la integridad de la mucosa y disminuir la permeabilidad epitelial (Liu et al., 2022). También se ha demostrado que bloquean la absorción intestinal de colesterol y facilitan su eliminación, mejorando así los perfiles lipídicos en consumidores habituales de té (Ratnani y Malik, 2022). A esto se suma los beneficios prebióticos del té, ya que sus compuestos fenólicos promueven selectivamente el crecimiento de bacterias beneficiosas como *Bifidobacterium* spp., mientras inhiben el crecimiento de algunas especies patógenas de *Escherichia coli* (Aloo et al., 2024).

### **3.6 Encapsulación**

La tecnología de encapsulación implica el proceso por el que pequeñas partículas, en su mayoría ingredientes bioactivos, se rodean de una pared que consiste en un polímero formando un complejo de cubrimiento conocido como cápsula (Mosquera-Vivas et al., 2024). Esta ayuda a mejorar la estabilidad, biodisponibilidad y liberación controlada de los compuestos bioactivos. Algunos de los compuestos bioactivos que se pueden encapsular son las vitaminas, minerales,

antioxidantes y probióticos (Rodríguez et al., 2016). Esta técnica se ha utilizado en el desarrollo de alimentos funcionales, siendo una opción de barrera frente a condiciones ambientales (luz, calor y oxígeno), del alimento (pH, enzimas) y condiciones gastrointestinales (pH y enzimas) (Ortiz-Romero, 2021).

El material utilizado para encapsular debe ser de calidad alimentaria, biodegradable y con la capacidad de formar la barrera entre la fase interna y su entorno. Estos pueden ser a base de carbohidratos (almidones, quitosano, maltodextrina), celulosas (carboximetilcelulosa, metilcelulosa), gomas (goma acacia, carragenina), lípidos (fosfolípidos, lecitina, diglicéridos) y proteínas (gluten, caseína, péptidos, aislado proteico de soya, concentrado proteico de suero de leche). La eficacia de un material depende de su capacidad para formar cápsulas, su resistencia y su viabilidad mejorada, además de su bajo costo, disponibilidad y biocompatibilidad (Yang et al., 2024).

Existen diferentes técnicas de encapsulación, dentro de las más utilizadas en alimentos están la emulsión, extrusión, secado por atomización, coacervación, gelación iónica, liofilización entre otras (Mahdi et al., 2020). La categorización de estos métodos de encapsulación es según el mecanismo utilizado para formar las cápsulas. Estas técnicas se agrupan en tres categorías principales: las químicas (son procesos como la formación de complejos y la polimerización en la interfaz), las físicas (abarcen métodos como la extrusión, el secado por aspersión, liofilización) y las fisicoquímicas (incluyen procesos como la coacervación, emulsiones, separación de fases y formación de liposomas) (Emon et al., 2025). Por otro lado, el producto obtenido a partir de las diferentes tecnologías de encapsulación puede ser clasificado según el tamaño del producto final; se les llama cápsulas o macrocápsulas cuando éstas son más grandes a 5000  $\mu\text{m}$ , microcápsulas cuando el tamaño es entre 0.1 y 5000  $\mu\text{m}$  y nanocápsulas cuando son más pequeñas a 0.1  $\mu\text{m}$  (Murugesan y Orsat, 2012).

De acuerdo con Castañón-Rodríguez et al. (2020) y Rojas (2021), la encapsulación puede aportar beneficios al compuesto activo, lo cual se traduce en beneficios para el alimento. Por ejemplo:

- Protege al compuesto activo de la degradación y evaporación producida por el ambiente (temperatura, oxígeno, luz y humedad), que podrían limitar su eficiencia y reducir su vida útil.
- Permite una liberación controlada del compuesto activo desde la matriz encapsulante, bajo condiciones específicas de pH, temperatura, entre otros.
- Posibilita enmascarar sabores u olores desagradables o no aceptados, así como diferenciarlos.
- Permite separar componentes, evitando que interactúen, aumentando su biodisponibilidad.

Igualmente, la encapsulación tiene ciertos inconvenientes, como la liberación incompleta de los ingredientes bioactivos ya sea durante su almacenamiento o consumo, esto podría disminuir su efectividad, particularmente en aplicaciones que vayan enfocadas en la mejora sensorial o como beneficio nutricional, esto es importante sobre todo para los compuestos bioactivos, donde su eficacia depende de un mecanismo de liberación preciso y cantidad disponible para ejercer su acción (Rezagholidade-Shirvan et al., 2024).

### **3.6.1 Encapsulación iónica**

La encapsulación o gelación iónica consiste en producir pequeñas gotas de solución a partir de la mezcla del material de recubrimiento y el compuesto que se desea encapsular. Se basa en interacciones iónicas entre un polímero y un polianión de bajo peso molecular o polication que produce un gel insoluble dentro de una sustancia activa, de esta forma, la sustancia a encapsular queda atrapada en la matriz de un polisacárido, formando así una cápsula de gel (Miranda-Linares et al., 2020; Puscaselu et al., 2020). Los polímeros hidrófilos como el alginato de sodio, la gelatina y el quitosano se emplean comúnmente como materias primas en esta técnica de encapsulación (Su et al., 2023). Sin embargo, el componente de recubrimiento más utilizado es el alginato, esto debido a que es un polímero de fácil acceso, baja viscosidad y alta reactividad con los iones calcio (Castañón-Rodríguez et al., 2020). Factores como la viscosidad de la mezcla inicial, la tensión superficial, las interacciones dinámicas entre las gotas y el fluido de la matriz, la concentración del polímero y el peso molecular del polímero son factores importantes que influyen en la forma y tamaño de las cápsulas (Gadzinski et al., 2023).

La gelación iónica es un método que se puede realizar mediante procesos de atomización, extrusión y coextrusión, o pulverización electrostática (Mosquera-Vivas et al., 2024). Los mecanismos de gelación iónica se clasifican en cinco grupos: gelación interrumpida externa, interna, inversa, interfacial y de varios pasos (Alkhatib et al., 2022). La gelificación iónica externa es la más utilizada ya que, se obtienen geles heterogéneos, debido a que la gelificación en la superficie ocurre antes de la gelificación del núcleo, dando como resultado superficies rígidas y núcleo blando, los cuales se utilizan para encapsular aceites esenciales, compuestos bioactivos y extractos (Ortiz-Romero, 2021).

La gelación iónica presenta diversas ventajas: es un método simple, de bajo costo, sin necesidad de equipo especial, no utiliza altas temperaturas, agitación vigorosa o disolvente orgánico, lo que permite la encapsulación de sustancias que se degradarían en tales condiciones. Además, este proceso tiene facilidad de gelación, lo que conlleva a la formación de cápsulas y apropiado comportamiento en la desintegración dependiente del pH para la liberación de los compuestos (Kim et al., 2011), razón por la que es utilizada para encapsular probióticos.

Estudios recientes han demostrado que la incorporación de prebióticos en las matrices de gelación iónica puede potenciar los beneficios de la encapsulación, conformando sistemas simbióticos. Parsana et al. (2023) evaluaron la encapsulación de *L. salivarius* mediante gelación iónica utilizando una matriz alginato-inulina recubierta con quitosano, observando que, tras la exposición a condiciones de simulación gastrointestinal, el recuento viable de los probióticos fue mayor en comparación con las células libres. De forma similar, Kistaubayeva et al. (2023) demostraron que la encapsulación de *L. rhamnosus* en matrices de alginato-pullulano proporcionó una mayor protección a las bacterias probióticas, mejorando su supervivencia e incluso incrementando el número de células viables dentro de las cápsulas. Kumar y Mohideen (2025) encapsularon *L. fermentum* en un sistema de alginato recubierta con quitosano, encontrando que la estructura de doble capa no solo favoreció la liberación controlada en condiciones de pH variable, sino que también potenció la bioactividad del probiótico frente a estrés oxidativo.

## 4. Objetivos

### 4.1 Objetivo general

- Desarrollar un producto simbiótico a partir de probióticos y matrices prebióticas no convencionales mediante encapsulación iónica.

### 4.2 Objetivos específicos

- Evaluar las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y compuestos bioactivos (fenoles y flavonoides), así como capacidad antioxidante de diferentes téis (blanco, verde y negro).
- Analizar el efecto de la esterilización sobre los compuestos antioxidantes de diferentes téis (blanco, verde y negro).
- Determinar el efecto del tiempo de almacenamiento sobre la población de probióticos y compuestos antioxidantes de diferentes téis (blanco, verde y negro).
- Evaluar el efecto prebiótico del té con el mayor contenido de compuestos bioactivos.
- Encapsular *Lactiplantibacillus plantarum* mediante gelación iónica, caracterizar los encapsulados y evaluar la viabilidad del probiótico durante la simulación gastrointestinal.

## 5. Hipótesis

El uso de téis como fuente prebiótica no convencional podría permitir el crecimiento o viabilidad de probióticos, generando así productos simbióticos. Además, se busca que, la encapsulación iónica brinde protección a los probióticos y a su vez se favorezca su liberación durante el tracto gastrointestinal.

## 6. Diagrama de trabajo

En la Figura 6, se muestra el esquema de trabajo que se siguió.

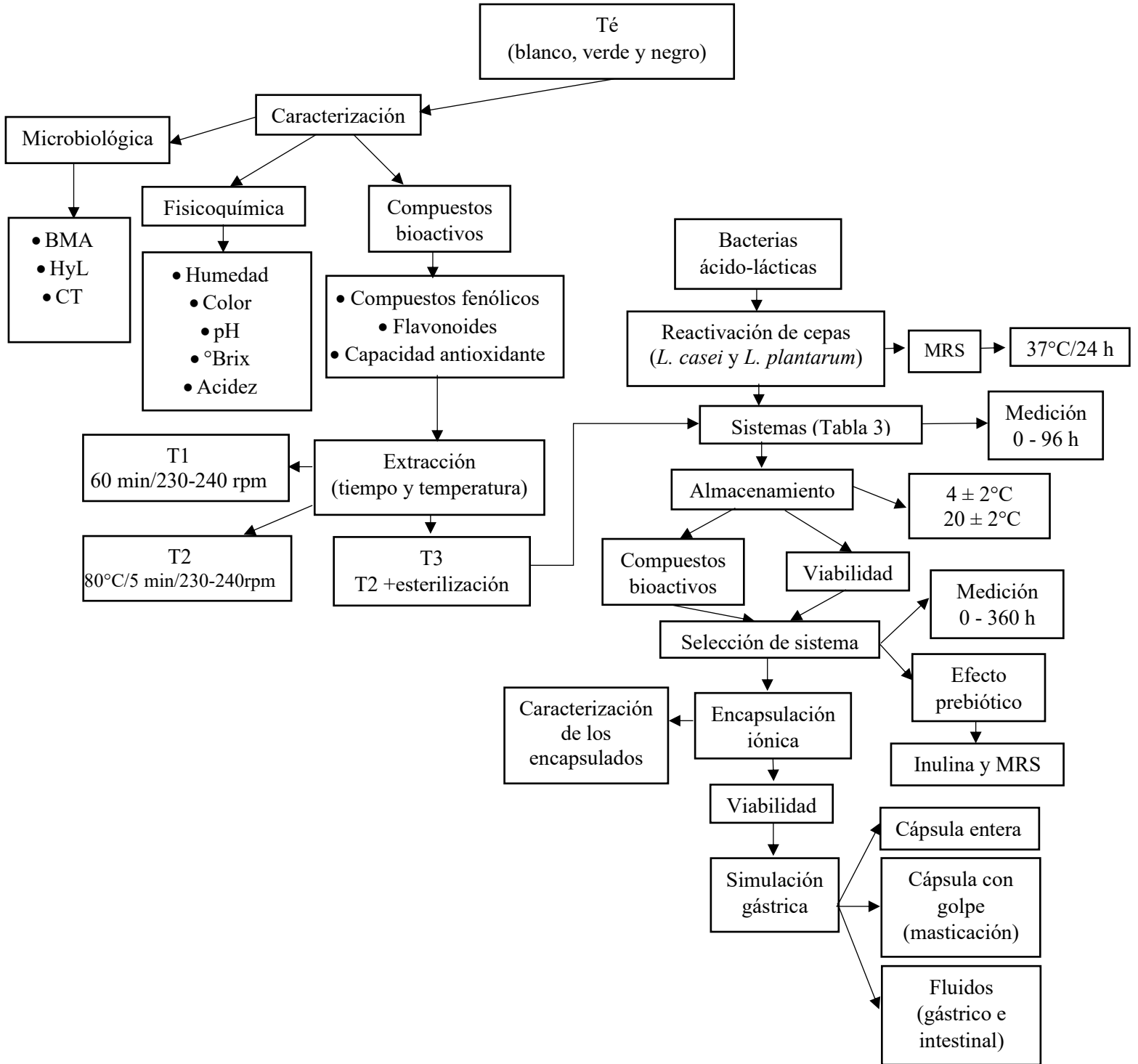


Figura 6. Metodología para el desarrollo del proyecto.

## 7. Metodología

A continuación, se describe la metodología de acuerdo con el esquema de trabajo.

### 7.1 Propiedades fisicoquímicas y microbiológicas en tés (blanco, verde y negro)

Se determinó la humedad de los tés (blanco, verde y negro) por el método de secado en estufa. Se utilizaron charolas a peso constante, posteriormente se colocaron 5 g de cada muestra y se secaron a  $100 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 4 h. La humedad se determinó mediante diferencia de peso.

Para la determinación de los parámetros fisicoquímicos, se prepararon soluciones acuosas de cada té (blanco, verde y negro) al 0.1%, las soluciones se colocaron en un recipiente oscuro sobre una parrilla con agitación (230 - 240 rpm) durante 60 min a temperatura ambiente, posteriormente, se filtraron y analizaron.

Para determinar el pH, se aplicó el método 981.12 reportado por la AOAC (2016), se introdujo el electrodo del potenciómetro en cada una de las soluciones, la lectura se tomó una vez que el equipo se mantuvo sin variación durante 5 s.

La acidez se determinó por titulación, se tomó una alícuota de cada muestra, se adicionó fenolftaleína como indicador y se tituló con NaOH 0.01 N. La acidez se expresó como porcentaje de ácido cítrico.

Para los sólidos solubles ( $^\circ$  Brix) se siguió el método 932.12 reportado por la AOAC (2016), se colocó muestra de las soluciones de cada té sobre un refractómetro y se tomó la lectura.

El color se determinó con un colorímetro, se colocaron 10 g de cada té en una caja Petri, se colocó el colorímetro sobre la base de la caja Petri y se determinaron los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de la escala CIELAB.

Se determinó la calidad microbiológica de los tés en polvo, se evaluó la población de microorganismos indicadores de la calidad, se determinaron bacterias mesofílicas aerobias, coliformes totales, así como hongos y levaduras. Para las bacterias mesofílicas aerobias, se siguió la metodología de la NOM-092-SSA-1994. Se preparó agar nutritivo siguiendo las instrucciones del proveedor, y las muestras se sembraron mediante la técnica de vertido en placa, realizando

previamente las diluciones necesarias en agua peptonada al 0.1%. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h. Se realizó el conteo y los resultados se expresaron como UFC/mL.

Para la determinación de coliformes totales, se aplicó lo establecido en la NOM-113-SSA1-1994, utilizando agar rojo violeta bilis. Las muestras se sembraron por el método de vertido en placa, realizando las diluciones necesarias en agua peptonada al 0.1%. La incubación se realizó a 37°C durante 24 h, y los resultados se expresaron en UFC/mL.

Finalmente, para hongos y levaduras se utilizó la metodología de la NOM-111-SSA1-1994. Se preparó agar papa dextrosa (PDA) acidificado con ácido tartárico al 10%, se sembraron las muestras mediante el método de vertido en placa. Las placas se incubaron a 25°C durante 72 a 120 h. Se realizó el conteo y los resultados se expresaron como UFC/mL.

## **7.2 Determinación de compuestos bioactivos y el efecto de la esterilización de té (blanco, verde y negro)**

Se determinaron los compuestos fenólicos, flavonoides y la capacidad antioxidante de los té (blanco, verde y negro). Posteriormente se aplicaron 3 tratamientos para determinar el efecto de la temperatura sobre los compuestos antioxidantes de los té siguiendo los tratamientos de extracción reportados por Ochoa-Velasco et al. (2019). A continuación, se describe el proceso de cada tratamiento:

- Tratamiento 1: agitación (230-240 rpm) a temperatura ambiente ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 60 min.
- Tratamiento 2: agitación (230-240 rpm) a 80°C durante 5 min.
- Tratamiento 3: agitación (230-240 rpm) a 80°C durante 5 min más el proceso de esterilización a 121°C, 15 min y 15 Psi.

Las soluciones acuosas de cada té (blanco, verde y negro) fueron preparadas al 0.1%, al finalizar los tratamientos previamente mencionados, se filtraron y analizaron.

Para la determinación de compuestos fenólicos, se aplicó la metodología descrita por Aparicio-Fernández et al. (2018). Se mezcló en un tubo oscuro 1 mL de cada solución (blanco, verde y negro), con 1 mL del reactivo Folin-Ciocalteu al 5%, 3 min después, se agregó 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 0.5%, se dejó reposar 30 min y se leyó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro.

Se utilizó ácido gálico como estándar. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG/100 mL).

Los flavonoides se determinaron siguiendo la metodología reportada por Julián-Loeza et al. (2011), se tomó una alícuota de cada solución de té (blanco, verde y negro) y se colocó en un tubo oscuro, se adicionó 0.5 mL de NaNO<sub>2</sub> al 1.5%, se dejó reposar durante 5 min y posteriormente se añadió 1 mL de AlCl<sub>3</sub> al 3%, se dejó reposar por 1 min y se agregó 1 mL de NaOH 1N, la absorbancia se leyó a 490 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó catequina como estándar. Los resultados fueron expresados como mg catequina/100 mL.

La capacidad antioxidante se evaluó con el reactivo DPPH, siguiendo la metodología reportada por Aparicio-Fernández et al. (2018). Se colocó 1 mL de las soluciones acuosas de té (blanco, verde y negro) en un tubo oscuro y se mezcló con 1 mL de DPPH al 0.004%. Se leyó absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó Trolox como estándar. Los resultados fueron expresados como mg Trolox/100 mL.

### **7.3 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la población microbiana y compuestos antioxidantes en soluciones de té**

Se prepararon 12 sistemas (4 de té blanco, 4 de té verde y 4 de té negro), cada uno con una concentración de té al 0.1 %, se les aplicó como método de extracción el tratamiento 3 previamente mencionado (80°C / 5min / 230-240 rpm, y esterilización a 121°C/15 min/15 Psi). Posteriormente, se inocularon con *Lacticaseibacillus casei* (NRRL B-1922) y *Lactiplantibacillus plantarum* (NRRL B-4496). Cada microorganismo fue previamente reactivado en caldo MRS con incubación a 37°C durante 24 h. En la Tabla 3 se muestra la composición de los sistemas.

**Tabla 3.** Composición de soluciones de té adicionadas con microorganismos probióticos y su condición de almacenamiento.

Sistemas	Tipo de té			Microorganismo		Temperatura de almacenamiento	
	Blanco	Verde	Negro	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>	Refrigeración (4±2°C)	Ambiente (20±2°C)
1	X			X		X	
2		X		X		X	
3			X	X		X	
4	X			X			X
5		X		X			X
6			X	X			X
7	X				X	X	
8		X			X	X	
9			X		X	X	
10	X				X		X
11		X			X		X
12			X		X		X

Los sistemas se almacenaron a temperatura de refrigeración ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) y ambiente ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ), se tomaron muestras a las 0, 24, 48 y 96 h. De cada sistema se analizó la población de probióticos y se cuantificó el contenido de compuestos bioactivos. A continuación, se describe la metodología empleada. Para la parte microbiológica se realizaron las diluciones necesarias en agua peptonada (0.1%). Para la siembra de cada microorganismo, se utilizó la técnica de vertido en placa con agar MRS reportada por ISO 15214 (1998). con modificaciones; las cajas Petri se incubaron en condiciones de anaerobiosis a  $37^\circ\text{C}$  durante 48 h y posteriormente, se realizó el conteo. Los resultados fueron expresados como Log (UFC/mL).

Por otro lado, se evaluaron los compuestos bioactivos (compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante) de cada sistema, siguiendo la metodología previamente descrita en el apartado 7.2.

Al concluir el análisis de todos los sistemas, se seleccionó el que presentó el mayor contenido de compuestos bioactivos y generó una mayor población microbiana. Este sistema fue evaluado hasta las 360 h.

#### **7.4 Efecto prebiótico de la solución de té sobre el crecimiento de *Lactobacillus***

Con la finalidad de comparar el efecto prebiótico del sistema seleccionado, se evaluó la población de *Lactobacillus* que presentó mayor población durante el almacenamiento de 96 h. Para ello, se prepararon 3 soluciones: té blanco al 0.1%, caldo MRS al 0.1% e inulina al 0.1%, todos fueron esterilizados (121°C/15 min/15 Psi) e inoculados con *L. plantarum* (1%). Las soluciones fueron incubadas a temperatura ambiente ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ), se tomó muestra de todos los sistemas a las 0, 24, 48, 96 y 192 h, se sembraron por la técnica de vertido en placa en agar MRS. Las placas fueron incubadas a 37°C durante 48 h, y los resultados se expresaron en Log (UFC/mL).

#### **7.5 Encapsulación de *Lactobacillus* mediante gelación iónica y caracterización de los encapsulados**

Se llevó a cabo la encapsulación de *L. plantarum* siguiendo la metodología reportada por Unal Turhan (2019) con modificaciones; se utilizó la solución de té blanco, debido a que fue el sistema que presentó mayor población del microorganismo. Se aplicó la técnica de gelación iónica con alginato de sodio. El alginato se probó a diferentes concentraciones (0.75, 1 y 3%). Para ello, se preparó una solución de té blanco (0.1%) mediante el método de extracción previamente descrito en el apartado 7.3, posteriormente se adicionó el alginato en las concentraciones ya mencionadas y se esterilizó (121°C/15 min/15 Psi), la solución se enfrió y se inoculó con *L. plantarum* al 1%, previamente reactivado en caldo MRS. Los sistemas inoculados se gotearon con una jeringa sobre una solución de  $\text{CaCl}_2$  0.1 M, previamente esterilizada. Al finalizar, las cápsulas fueron recuperadas mediante filtrado con papel filtro y enjuagadas con agua destilada estéril.

Se realizó una caracterización física de las cápsulas, se determinó el tamaño utilizando un vernier, para ellos se hicieron mediciones en sentido horizontal (diámetro) y vertical (longitud total). Se utilizaron semillas de lenteja para comparar su tamaño de manera visual.

Por otro lado, se evaluaron propiedades texturales de las cápsulas. Se evaluó la dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad, estas fueron mediante un análisis de perfil de textura

(TPA) utilizando un texturómetro TA.Xtplus (Stable Micro Systems, UK), siguiendo la Application Study del fabricante GCP1/P2 (2008). Las cápsulas fueron colocadas en un recipiente cilíndrico y sometidas a una prueba de compresión doble (cilindro de 2 mm), a una velocidad de 1 mm/s para simular la acción de masticación. Se seleccionó la concentración de alginato que presentó una consistencia suave, con la intención de permitir la posible liberación del microorganismo durante el proceso de simulación gastrointestinal.

## **7.6 Evaluación de la viabilidad de *L. plantarum* en los encapsulados durante la simulación gastrointestinal**

Se elaboraron tres sistemas constituidos por té blanco, *L. plantarum* y alginato de sodio. Los sistemas se describen a continuación.

- **Sistema A:** Té blanco con *L. plantarum* (sin encapsular).
- **Sistema B:** Cápsulas completas de alginato de sodio (0.75%) y té blanco, inoculado con *L. plantarum*.
- **Sistema C:** Cápsulas aplicando un golpe (para simular la masticación) de alginato de sodio (0.75%) y té blanco, inoculado con *L. plantarum*.

Se evaluó la viabilidad de *L. plantarum* durante la simulación gastrointestinal, para lo cual, se elaboraron dos soluciones: gástrica (SG) e intestinal (SI), empleando la metodología reportada por Macías-González et al. (2024).

- Solución gástrica (SG): Se disolvieron 2 g de NaCl en 1 L de agua destilada y se ajustó el pH a 2 con HCl. Posteriormente, se adicionó 3.2 g de pepsina.
- Solución intestinal (SI): Se disolvieron 6.8 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> en 1 L de agua destilada, ajustando el pH a 7 con NaOH. Se añadieron 10 g de pancreatina.

### **7.6.1 Viabilidad de *L. plantarum* en té sin encapsular (sistema A)**

Se inició la fase gástrica colocando 5 mL del sistema A con 5 mL de la SG. Las muestras fueron incubadas a 37°C/110 rpm durante 2 h. Al finalizar la incubación, se tomó 1 mL de esta solución y se colocó con 9 mL de la SI, se incubó nuevamente a 37°C/110 rpm durante 3 h.

La viabilidad del microorganismo se evaluó al finalizar la fase gástrica (2 h) e intestinal (3 h). Se prepararon las diluciones necesarias en agua peptonada (0.1%). Se utilizó la técnica de vertido en placa con agar MRS, las cajas Petri se incubaron en condiciones de anaerobiosis a 37°C durante 48 h. Los resultados fueron expresados como Log (UFC/mL).

#### **7.6.2 Viabilidad de *L. plantarum* encapsulado (sistema B y C)**

Para el sistema B y C se siguió la misma metodología que en el apartado 7.6.1, con la modificación en el sistema C, ya que se les aplicó a las cápsulas un golpe con una prensa antes de iniciar la simulación con la finalidad de representar la masticación.

Para la fase gástrica, se colocaron 5 g de cápsulas en un tubo estéril con 5 mL de la SG. Las muestras fueron incubadas a 37°C/110 rpm durante 2 h. Al finalizar la incubación, las cápsulas fueron filtradas para retirar el fluido gástrico e iniciar la fase intestinal. Las cápsulas se colocaron en un tubo con 5 mL de la SI. Se incubaron a 37°C/110 rpm durante 3 h.

La viabilidad de *L. plantarum* fue evaluada en las cápsulas al finalizar la fase gástrica e intestinal. Para ello, se molieron las cápsulas con un mortero, se prepararon las diluciones necesarias en agua peptonada (0.1%). Se utilizó la técnica de vertido en placa con agar MRS y se incubaron en condiciones de anaerobiosis a 37°C durante 48 h. Los resultados fueron expresados como Log (UFC/mL).

#### **7.7 Evaluación de la viabilidad de *L. plantarum* en los fluidos gástrico e intestinal**

Para conocer la posible liberación del microorganismo de las cápsulas enteras o con golpe, se realizó un muestreo en la solución intestinal. Se colocaron 5 g de cápsulas en un tubo estéril con 5 mL de SG, incubándose a 37°C/110 rpm/2 h. Al finalizar, se tomó 1 mL del fluido gástrico y se transfirieron a un tubo con 9 mL de SI, incubándose a 37°C/110 rpm/3 h. Durante este tiempo se evaluó la población de *L. plantarum* cada hora durante las 3 h que duro el proceso. Para la siembra y cuantificación del microorganismo, se siguió la metodología reportada en el apartado 7.6.2.

Adicionalmente, la viabilidad microbiana en las soluciones gástrica e intestinal fue determinada mediante la técnica colorimétrica de MTT, siguiendo la metodología descrita por Torres-Cifuentes et al. (2021) con modificaciones. Se utilizó una placa de 96 pozos, a cada pozo se adicionaron 100

$\mu\text{L}$  de cada solución (gástrica e intestinal) y se midió absorbancia a 597 nm para observar crecimiento, a continuación, se agregó 100  $\mu\text{L}$  de reactivo MTT a una concentración de 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , se incubó la placa a 37 °C durante 4 h. Posteriormente, los cristales de formazán fueron diluidos con SDS 10%/HCl 0.01N y se incubó a 37 °C durante 1 h. Se leyó a 540nm en un lector de microplacas. Los resultados fueron expresados como porcentaje de sobrevivencia, para lo cual se normalizó la absorbancia del control (Caldo MRS con *L. plantarum*) como el 100% de viabilidad celular (sobrevivencia bacteriana) y se calculó el porcentaje de sobrevivencia bacteriana con las absorbancias obtenidas en los fluidos gastrointestinales.

Finalmente, con el objetivo de observar la morfología de *L. plantarum* durante la simulación gastrointestinal, se realizó la tinción de Gram en las solución gástrica e intestinal siguiendo la metodología reportada por Casasola Bado (2022). Para ello, se tomaron 5  $\mu\text{L}$  del fluido gástrico (tras 2 h de incubación) y 5  $\mu\text{L}$  del fluido intestinal (tras 3 h de incubación), los cuales se fijaron en portaobjetos mediante flameado. Posteriormente, se aplicó 1 mL de cristal violeta durante 1 min, se enjuagó con agua destilada, se añadió Lugol por 1 min y se volvió a enjuagar. Se aplicó una solución de acetona-alcohol durante 30 s, seguida de un enjuague final. Las muestras se dejaron secar y se observaron bajo un microscopio óptico con aceite de inmersión y objetivo de 100x.

## 7.8 Análisis estadístico

Los resultados de la caracterización fisicoquímica, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  en el software Minitab 15, State College, USA. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado, cada una con sus respectivas réplicas, y los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar.

Para evaluar de manera conjunta el efecto de los factores tipo de té (blanco, verde, negro), temperatura de almacenamiento (4 °C, 20 °C) y microorganismo (*L. casei*, *L. plantarum*) sobre las respuestas (crecimiento microbiano, compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante), se empleó un diseño factorial completo 3x2x2, incluyendo todas las interacciones. Este análisis se realizó en Design-Expert. El nivel de significancia fue  $\alpha = 0.05$  en todos los casos.

## 8. Resultados y Discusión

### 8.1 Propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y compuestos bioactivos de tés (blanco, verde y negro)

Los resultados del % de humedad fueron para té blanco  $5.89 \pm 0.32$ , té verde  $8.69 \pm 0.56$ , y té negro  $7.70 \pm 0.39$  %, mostrando diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las muestras. Ocieczek et al. (2023) mencionan que, el % de humedad, es un parámetro determinante de la calidad microbiológica de alimentos, reportando que el valor óptimo para muestras de té debe ser entre 7 – 9 %, por lo que los resultados de la muestra de té negro y té verde se encuentran dentro del valor reportado. Por otro lado, la muestra de té blanco presentó el valor más bajo, lo cual puede deberse a que, durante el proceso de secado, la temperatura o condiciones de secado no se mantuvieron de forma constante generando una menor humedad (Álvarez, 2020).

En la Tabla 4 se muestran los resultados de la caracterización fisicoquímica de los tés. Los valores de pH de los tés fueron menores a 6, lo cual indica una tendencia a la acidez al tener valores inferiores a 7 (Mansilla Canela, 2013). Mex-Álvarez et al. (2022) reportan valores de pH para diferentes muestras de té verde en el rango de 5.19 a 5.75, mientras que Lorenzo (2023) reporta % de acidez para polvo de té verde de 0.39% (expresado como ácido cítrico). La muestra de té verde presentó el menor % de acidez, esta variación se puede deber a varios factores durante el procesamiento del té, es decir, el marchitamiento, el enrollamiento, la fermentación y el proceso de secado. Zhang et al. (2020), reportaron que las etapas antes mencionadas, pueden producir combinación de sustancias, promoviendo reacciones bioquímicas que modifican la cantidad de ácidos orgánicos presentes en té.

Respecto a los parámetros de color, se encontró que el parámetro  $L^*$  fue mayor en el té verde. En cuanto al parámetro  $a^*$ , el valor más alto corresponde al té negro, mientras que el parámetro  $b^*$  no tuvo una variación significativa entre los tés ( $p > 0.05$ ). Valores menores a los obtenidos en este trabajo fueron reportados por Atalay y Erge (2017) para té verde y blanco siendo para el parámetro  $L^* = 38.21$  y  $40.75$ ;  $a^* = -1.12$  y  $-0.78$ , respectivamente; sin embargo, el parámetro  $b^*$  fue mayor (10.07 y 6.35). Los datos obtenidos en la medición del color,  $L^*$  representan la luminosidad (0 = negro, 100 = blanco);  $a^*$  describe al ser negativo tonos de verde, mientras que los valores de  $b^*$  al ser positivos indican tendencia al amarillo (Bondini et al. 2023;

Bumsted et al. 2023). Las variaciones de color podrían deberse a la presencia o afectación de flavonoides, principalmente catequinas, que influyen en el color, sabor y aroma de los tés (Atalay y Erge, 2017).

Los valores obtenidos de °Brix en los tés, no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). Los valores obtenidos en este trabajo son menores a los reportados por Teixeira et al. (2023), quienes reportan 0.6 en té verde (10 g/L), lo que indica una baja concentración de sólidos solubles en los tés analizados. Esta diferencia es atribuible a la mayor relación sólido/líquido empleada en el estudio reportado, ya que una mayor cantidad de té, incrementa los °Brix del extracto.

**Tabla 4.** Caracterización fisicoquímica de soluciones acuosas de té (blanco, verde y negro)<sup>a</sup>

Tipo de té	pH	% Acidez ( ácido cítrico)	Color			° Brix
			<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	
<b>Blanco</b>	5.84 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.00 <sup>a</sup>	49.52 ± 0.33 <sup>b</sup>	-1.41 ± 0.81 <sup>b</sup>	3.75 ± 0.27 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.0 <sup>a</sup>
<b>Verde</b>	5.08 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.59 ± 0.03 <sup>b</sup>	51.37 ± 0.59 <sup>a</sup>	-0.28 ± 0.05 <sup>c</sup>	4.33 ± 1.39 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.00 <sup>a</sup>
<b>Negro</b>	5.89 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.00 <sup>a</sup>	46.44 ± 0.48 <sup>c</sup>	0.31 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.92 ± 0.53 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Promedio ± desviación estándar. Letras superíndices diferentes en columna indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

El análisis microbiológico mostró que el té blanco presentó la mayor cantidad de bacterias mesofílicas aerobias con una población de  $1 \times 10^2$  UFC/g, seguido por el té verde con  $< 10$  UFC/g y el té negro con  $< 10$  UFC/g. De acuerdo con la NOM-092-SSA1-1994, que establece el método para la estimación de microorganismos viables en alimentos mediante la cuenta de bacterias aerobias en placa. Los valores obtenidos se consideran dentro de los límites aceptables para productos secos como el té. Ossowski et al. (2019), mencionan que la microbiota presente en té se debe a una inadecuada elección de condiciones de secado, almacenamiento o transporte.

En cuanto al recuento de coliformes totales, no se observó crecimiento microbiano en ninguno de los tés. De acuerdo con la NOM-113-SSA1-1994, la ausencia de este grupo de microorganismos indica que el alimento es seguro para el consumo humano.

El análisis de hongos y levaduras mostró ausencia de estos microorganismos en las muestras de té. La no detección sugiere ausencia de contaminación fúngica y baja probabilidad de deterioro.

En la Tabla 5 se presentan los resultados de la determinación de los compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante de las soluciones de té (blanco, verde y negro).

El té se caracteriza por presentar compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos; estos fueron mayores en el té blanco, seguido del té verde y negro ( $p < 0.05$ ). Valores mayores a los obtenidos en este trabajo fueron reportados por Kim et al. (2011), quienes obtuvieron 597.5 mg EAG/100 mL para té verde, mientras que para té negro obtuvieron 375.26 mg EAG/100 mL. Esta diferencia se puede atribuir a varios factores, como son el origen de la muestra, la preparación de la muestra durante la cosecha y posibles cambios en la técnica de extracción; además de que la cantidad de compuestos fenólicos va disminuyendo gradualmente durante el proceso de producción del té, es decir que los compuestos fenólicos se pueden afectar durante el proceso de fermentación al que se someten dependiendo el tipo de té. En este sentido, el té negro es el que menor cantidad de compuestos fenólicos presentó siendo el que pasa por un mayor tiempo de fermentación durante su obtención (Atalay y Erge, 2017).

Los flavonoides son el grupo más abundante de compuestos fenólicos presentes en el té. En este trabajo el té blanco presentó el mayor contenido de flavonoides, seguido del negro y verde. Valores mayores fueron reportados por Atalay y Erge (2017), quienes obtuvieron para té blanco 1532 mg catequina/100 mL y 2052 mg catequina/100 mL para té verde. Por otro lado, Pereira et al. (2014) reportó valores de flavonoides en té blanco entre 731 y 958 mg quercetina/100 mL y para té negro reportó 611 y 875 mg quercetina/100 mL, estas variaciones pueden atribuirse al estándar utilizado, las condiciones de extracción y procedimiento del té, ubicación geográfica de las plantaciones y condiciones de cultivo.

Por otra parte, la capacidad antioxidante de las muestras de té fue mayor en el té blanco con 88.80 mg de Trolox/100 mL, seguido del té negro y verde. Zhao et al. (2019) analizaron diferentes infusiones de té y reportaron valores de 41.6 a 633.7 mg Trolox/100 mL, los té analizados en este trabajo son similares a los reportados, siendo para té verde de 55.63 mg Trolox/10 mL, té blanco 88.80 mg Trolox/100 mL y para té negro de 42.01 mg Trolox/100 mL. El té blanco presentó la mayor capacidad antioxidante, lo que podría estar relacionado con el grado de oxidación que sufren las hojas, debido a la inactivación enzimática durante el proceso de vaporización. Carloni et al. (2023) mencionó que el grado de oxidación de las hojas de té afecta el

contenido de polifenoles y flavonoides y, en consecuencia, la capacidad antioxidante. Observaron que los tés no oxidados (té verde y blanco) mantienen niveles más altos de flavonoides, que los que experimentan cualquier grado de oxidación (té negro).

**Tabla 5.** Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante de soluciones acuosas de tés<sup>a</sup>

Tipo de té	Compuestos fenólicos (mg EAG/100mL)	Flavonoides (mg catequina/100mL)	Capacidad antioxidante (mg Trolox/100mL)
Blanco	8.19 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.77 ± 0.10 <sup>a</sup>	88.80 ± 4.46 <sup>a</sup>
Verde	5.78 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.23 ± 0.08 <sup>b</sup>	55.63 ± 1.68 <sup>b</sup>
Negro	4.27 ± 0.18 <sup>c</sup>	1.31 ± 0.03 <sup>b</sup>	42.01 ± 1.16 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Promedio ± desviación estándar. Letras superíndices diferentes en columna indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

## 8.2 Efecto de la esterilización sobre los compuestos antioxidantes de tés (blanco, verde y negro)

Las Figuras 7, 8 y 9 muestran el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante de las soluciones de té (blanco, verde y negro), respectivamente. En general se observó un incremento de todos los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante después de la aplicación de temperatura. El té blanco presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos después de los tratamientos con temperatura, incrementado un 5.37% respecto a la solución de té sin temperatura (tratamiento 1). Zhang et al. (2019) reportaron valores más altos de compuestos fenólicos, en una solución de té negro al 1% aplicando 90°C durante 15 min, obteniendo valores en un rango de 6780 a 7100 mg EAG/mL, esta diferencia puede deberse principalmente por la concentración utilizada de té, ya que para este trabajo se utilizó 0.1%, y por las condiciones de extracción (temperatura/tiempo), ya que concentraciones y tratamientos térmicos elevados suelen favorecer la extracción de un mayor contenido de compuestos bioactivos.

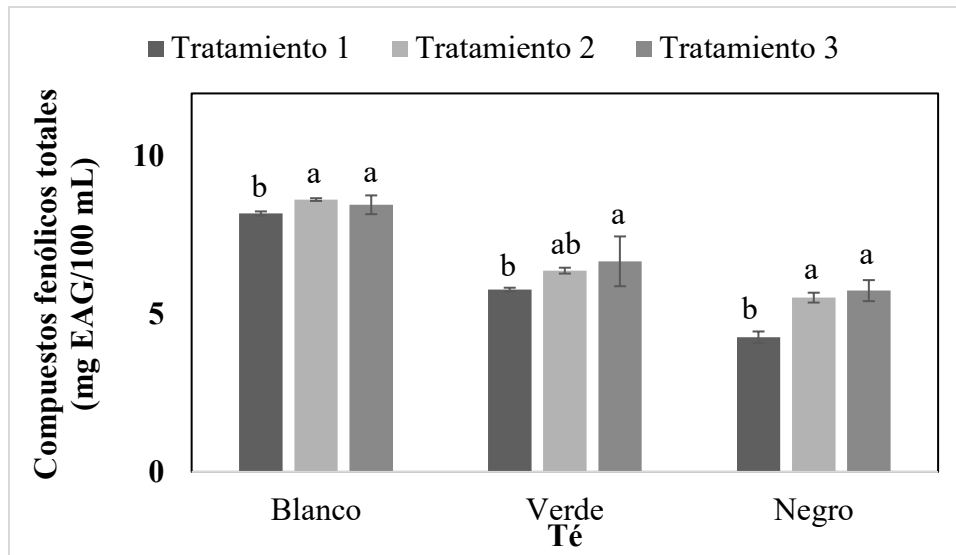
En la Figura 8 se muestra el contenido de flavonoides totales de las soluciones de té, el té blanco presentó el mayor contenido de flavonoides con 1.77 mg catequina/100 mL después del tratamiento 1, así mismo después de la extracción (tratamiento 2) el té blanco fue el que obtuvo el valor más alto de flavonoides con 2.30 mg catequina/100 mL, obteniendo un incremento del 29.89% en comparación de la solución sin temperatura; sin embargo, el té con mayor incremento después del método de extracción (80°C/ 5 min/ 230-240 rpm) fue el té negro con 55.46% en

comparación de la solución sin temperatura. Valores mayores de flavonoides para té verde durante los procesos de extracción fueron reportados por Hajiaghaalipour et al. (2016), quienes compararon dos métodos de extracción para evaluar la influencia del tiempo de extracción de flavonoides en una solución de té blanco al 2 %. En el primer método de extracción emplearon 100°C durante 5 min, obteniendo valores entre 1410 y 1690 mg catequina/100 mL, en el segundo método utilizaron 100°C durante 2 h, logrando valores más altos, entre 1530 y 2070 mg catequina/100 mL. Por lo que, el aumento en el contenido de flavonoides depende del tiempo de extracción y concentración del té.

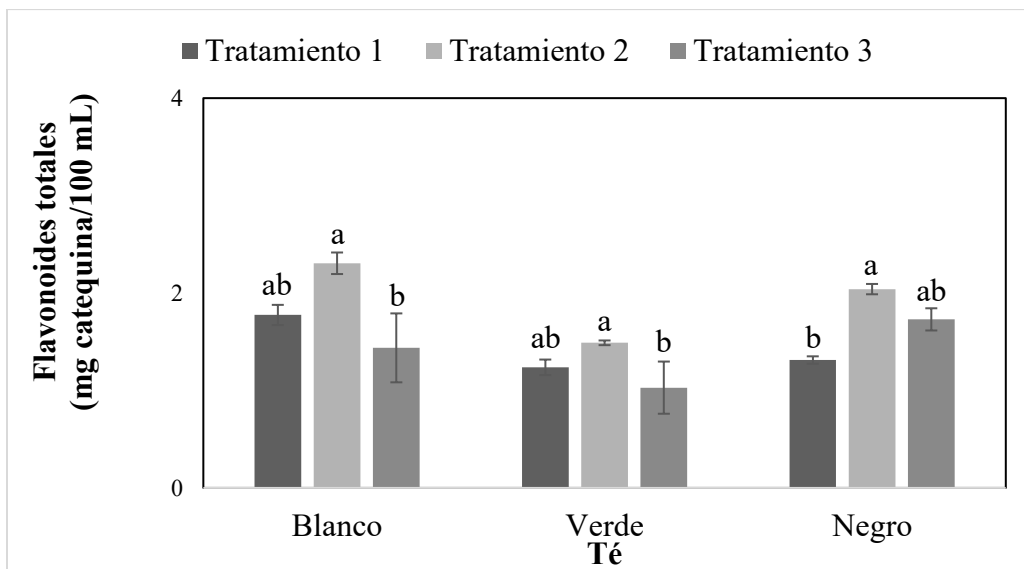
Por otro lado, la Figura 9 muestra la capacidad antioxidante de las soluciones de té, destacándose el té blanco como el que presentó la mayor capacidad antioxidante en los tres tratamientos evaluados, con una capacidad antioxidante de 108.97 mg Trolox/100 mL.

Muzolf-Panek et al. (2020) evaluaron la capacidad antioxidante de soluciones de té verde y negro al 2%, aplicando temperaturas de extracción entre 60-100 °C y tiempos de extracción entre 30s-60 min; ellos indicaron que a mayor temperatura de extracción y tiempos prolongados se obtienen mayor capacidad antioxidante. Por lo tanto, la capacidad antioxidante del té se puede ver influenciada por las condiciones de extracción, específicamente el tiempo y la temperatura.

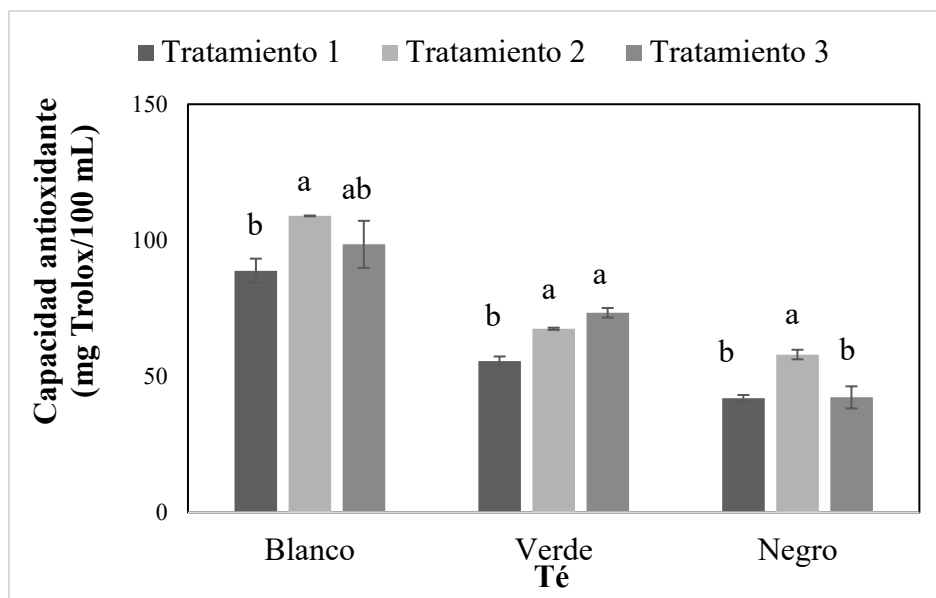
Los resultados mostraron que el tratamiento 2 (80°C / 5 min), favoreció la extracción de compuestos bioactivos; sin embargo, se eligió el tratamiento 3 para las determinaciones subsecuentes a fin de garantizar la inocuidad de los tés y permitir su posterior inoculación con *Lactobacillus*.



**Figura 7.** Compuestos fenólicos totales en soluciones de té bajo tratamiento de extracción y esterilización. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos aplicados.



**Figura 8.** Flavonoides totales en soluciones de té aplicando tratamientos de extracción y esterilización. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos aplicados.



**Figura 9.** Capacidad antioxidante en soluciones de té aplicando tratamientos de extracción y esterilización. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos aplicados.

### 8.3 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la población microbiana y compuestos antioxidantes de diferentes té (blanco, verde y negro).

El té obtenido de la hoja *Camellia sinensis* (té blanco, verde o negro), ha sido objeto de estudio para evaluar su capacidad de mantener o aumentar la viabilidad de bacterias ácido-lácticas. En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos de los compuestos bioactivos (compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante) y del crecimiento bacteriano de los 12 sistemas (previamente mostrado en la Tabla 3) durante el almacenamiento de 96 h. El sistema que presentó el mayor crecimiento bacteriano fue el té blanco inoculado con *Lactiplantibacillus plantarum* alcanzando 6.13 Log (UFC/mL) a una temperatura de 20°C (ambiente), en cambio el sistema con menor crecimiento bacteriano fue el té verde inoculado con *Lacticaseibacillus casei* (4.94 Log UFC/mL) a temperatura de 20°C.

Hasta el momento, la mayoría de las investigaciones sobre los efectos de los polifenoles del té en la microbiota intestinal se han llevado a cabo en modelos animales, estudios reportados por Guo et al. (2017), Zheng et al. (2018), y Yuan et al. (2018), reportan un aumento de bifidobacterias y lactobacilos en ratones al tener un consumo de polifenoles derivados del té verde

(Chen y Yang, 2019). Por lo que, aunque los microorganismos no mostraron un crecimiento significativo, la población microbiana se mantuvo estable durante un periodo de 96 h. Esto sugiere que las bebidas de té podrían considerarse un alimento funcional debido a la presencia de probióticos, aunque no en una cantidad elevada.

Por otro lado, Liu et al. (2020) reportan en consumidores que mediante la ingesta de compuestos fenólicos provenientes del té verde (5 mg/kg), incrementaron la población de bacterias benéficas como *Akkermansia muciniphila* y *Lactococcus lactis*. Por otra parte, Jin et al. (2012) demostraron que la ingesta de té verde, aumentó la cantidad de bifidobacterias en heces fecales de humanos, después de 10 días de consumo. Trabajos similares son reportados por Bond y Derbyshire (2019), quienes demostraron que las bacterias intestinales como las BAL, pueden modificar la estructura de los polifenoles y realizar reacciones de reducción, descarboxilación, desmetilación y dihidroxilación, dichas reacciones producen metabolitos que pueden absorberse *in situ*, mejorando y aumentando la proporción de bifidobacterias. Adicionalmente, Cvetković et al. (2019) reportaron que la viabilidad de las bacterias ácido-lácticas puede verse afectada por el tipo de cepa (especie), ya que al inocular diferentes tipos de *Lactobacillus* en bebidas como la kombucha de té negro, la cepa *L. hilgardii* mantuvo hasta el final de la fermentación su población inicial, mientras que *L. plantarum* disminuyó 5 ciclos logarítmicos. Por ende, los estudios y resultados obtenidos indican que los compuestos fenólicos podrían actuar como una fuente prebiótica y potencialmente favorecer la viabilidad de las bacterias ácido-lácticas bajo condiciones específicas de incubación, como el tiempo, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes. Por otra parte, los compuestos bioactivos durante la fermentación microbiana se ven modificados por la microbiota, generando una bioconversión de estos compuestos, lo que resulta en modificaciones en el contenido de polifenoles de los tés (Li et al., 2024).

En cuanto a los compuestos bioactivos, el sistema con mayor contenido de fenoles a las 96 h de almacenamiento fue el té blanco inoculado con *L. plantarum* a una temperatura de 20°C, alcanzando 8.57 mg EAG/100 mL, mientras que el sistema con menor cantidad fue el té negro inoculado con *L. plantarum* a 4°C (5.18 mg EAG/100 mL). En cuanto a los flavonoides totales, el sistema con menor contenido fue el té verde inoculado con *L. casei* a 20°C con 0.77 mg catequina/100 mL, mientras que el té blanco inoculado con *L. plantarum* a la misma temperatura presentó 2.19 mg catequina/100 mL, siendo el sistema con mayor concentración de flavonoides.

Para la capacidad antioxidante, el sistema con mayor capacidad fue el té blanco inoculado con *L. plantarum* a 20°C, con 92.37 mg Trolox/100 mL, en contraste con el té verde inoculado con *L. casei* a 4°C, que presentó la menor capacidad antioxidante (34.17 mg Trolox/100 mL).

Estos resultados ponen en evidencia el impacto significativo de la fermentación en el contenido de los compuestos bioactivos del té, particularmente los compuestos fenólicos y flavonoides, al respecto Mfopa et al. (2024), señalan que, durante la fermentación de la kombucha de té negro, los flavonoides, compuestos fenólicos y aminoácidos, sufren transformaciones mediadas por levaduras y bacterias. En particular, las bacterias ácido-lácticas desempeñan un papel importante en este proceso al producir enzimas como reductasas, descarboxilasas y glicosidasas, que contribuyen a la conversión continua de los compuestos bioactivos (Gaur y Gänzle, 2023). Estas enzimas degradan los compuestos fenólicos complejos en formas más simples, como los ácidos fenólicos, y pueden en algunos casos, aumentar el contenido de compuestos fenólicos. Li et al. (2024) reportan que las  $\beta$ -glucosidasas liberadas por microorganismos durante la fermentación del té negro promueven la degradación de los polifenoles y flavonoides, lo que inicialmente puede generar un aumento en su contenido total. Sin embargo, a medida que continuó el proceso de fermentación del té negro, los polifenoles fueron disminuyendo significativamente. De manera similar, Ziemlewska et al. (2021) reportaron que, en kombucha de té negro, la cantidad de compuestos fenólicos alcanza su punto máximo alrededor del día 21, pero disminuyó significativamente al día 35. Este patrón también se observa en el contenido total de flavonoides, lo que podría indicar que el tiempo de fermentación o almacenamiento es un factor que puede alterar la estabilidad y concentración de estos compuestos bioactivos. Además, la fermentación con probióticos puede convertir compuestos fenólicos en formas más biodisponibles. De acuerdo con Yang et al. (2023), durante este proceso de fermentación en otras bebidas como el jugo de uva, algunos compuestos bioactivos alcanzan su concentración máxima aproximadamente al día 30 de almacenamiento como la galocatequina, mientras que otros muestran una disminución desde el día 7. Estos resultados sugieren que la fermentación no afecta de manera uniforme a todos los compuestos bioactivos. La variabilidad observada podría explicarse por el tipo de microorganismo, las enzimas que producen ( $\beta$ -glucosidasas, esterasas, oxidoreductasas) y las condiciones específicas del proceso.

En el caso de los flavonoides, estos también pueden sufrir cambios durante la fermentación. De acuerdo con Hu et al. (2022), el contenido de flavonoides en la mayoría de los téis disminuye durante este proceso, posiblemente debido a la descomposición de las catequinas en sustancias como teaflavinas. De igual forma, Wang et al. (2022a) observaron una disminución significativa de flavonoides en té verde fermentado con *L. plantarum*, este efecto se atribuyó a la hidrólisis de los flavonoides presentes, así como a la formación de nuevos compuestos, lo que implica que algunas bacterias ácido-lácticas pueden influir en la disponibilidad de estos compuestos en los productos finales al hidrolizarlos.

Los resultados de este trabajo muestran que el té blanco inoculado con *L. plantarum* y almacenado a temperatura ambiente (20°C) fue el sistema que presentó la mayor estabilidad microbiana y el mayor contenido de compuestos bioactivos. En consecuencia, este sistema se seleccionó para las etapas posteriores del trabajo.

**Tabla 6.** Crecimiento microbiano de *Lactocaseibacillus casei* y *Lactiplantibacillus plantarum*, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y flavonoides en soluciones de téis (blanco, verde y negro) durante el almacenamiento a las 96 h.\*

Té	Temperatura (°C)	Microorganismo	Log (UFC/mL)	Compuestos fenólicos (mg EAG/100mL)	Flavonoides (mg catequina/100mL)	Capacidad antioxidante (mg Trolox/100mL)
Blanco	4	<i>L. casei</i>	5.35 ± 0.26 <sup>ab</sup>	8.24 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.38 <sup>b</sup>	73.20 ± 1.97 <sup>ab</sup>
Verde	4	<i>L. casei</i>	5.34 ± 0.27 <sup>ab</sup>	5.97 ± 0.26 <sup>b</sup>	1.35 ± 0.06 <sup>ab</sup>	34.17 ± 5.22 <sup>b</sup>
Negro	4	<i>L. casei</i>	5.23 ± 0.19 <sup>ab</sup>	5.24 ± 1.94 <sup>b</sup>	1.93 ± 0.32 <sup>a</sup>	41.23 ± 6.85 <sup>b</sup>
Blanco	20	<i>L. casei</i>	4.08 ± 0.85 <sup>b</sup>	8.31 ± 0.18 <sup>a</sup>	1.34 ± 0.05 <sup>ab</sup>	89.36 ± 13.01 <sup>a</sup>
Verde	20	<i>L. casei</i>	4.94 ± 0.25 <sup>ab</sup>	6.29 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.76 ± 0.49 <sup>b</sup>	35.15 ± 1.15 <sup>b</sup>
Negro	20	<i>L. casei</i>	4.38 ± 0.32 <sup>ab</sup>	5.24 ± 0.14 <sup>b</sup>	1.81 ± 0.15 <sup>ab</sup>	54.83 ± 1.68 <sup>b</sup>
Blanco	4	<i>L. plantarum</i>	4.93 ± 0.61 <sup>ab</sup>	8.06 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.45 ± 0.34 <sup>ab</sup>	77.98 ± 10.07 <sup>ab</sup>
Verde	4	<i>L. plantarum</i>	6.07 ± 0.47 <sup>a</sup>	6.29 ± 0.57 <sup>b</sup>	1.30 ± 0.07 <sup>b</sup>	47.31 ± 17.07 <sup>b</sup>
Negro	4	<i>L. plantarum</i>	5.96 ± 0.39 <sup>a</sup>	5.18 ± 0.09 <sup>b</sup>	1.72 ± 0.02 <sup>ab</sup>	44.80 ± 6.17 <sup>b</sup>
Blanco	20	<i>L. plantarum</i>	6.13 ± 0.32 <sup>a</sup>	8.56 ± 0.14 <sup>a</sup>	2.18 ± 0.17 <sup>a</sup>	92.37 ± 2.44 <sup>a</sup>
Verde	20	<i>L. plantarum</i>	6.12 ± 0.44 <sup>a</sup>	6.81 ± 0.87 <sup>b</sup>	1.87 ± 0.60 <sup>ab</sup>	66.62 ± 16.46 <sup>ab</sup>
Negro	20	<i>L. plantarum</i>	6.10 ± 0.43 <sup>a</sup>	5.43 ± 0.19 <sup>b</sup>	1.93 ± 0.11 <sup>a</sup>	71.41 ± 16.50 <sup>ab</sup>

\* Promedio ± desviación estándar. Letras superíndices diferentes en columna indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

En la Tabla 7 se muestran los resultados del análisis estadístico de los factores e interacciones que afectaron significativamente (p<0.05) el crecimiento microbiano, compuestos

fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante de los 12 sistemas evaluados (previamente mostrados en la Tabla 3). Se observa que los factores que afectan significativamente ( $p < 0.05$ ) el crecimiento microbiano son el tipo de microorganismo y la interacción temperatura-microorganismo. Cvetković et al. (2019) indican que las BAL, tienen un rango óptimo de temperatura de crecimiento que varía entre 20 y 45°C, dependiendo de la cepa. Por lo que una temperatura óptima puede promover su viabilidad y su actividad metabólica, mientras que una temperatura fuera de rango puede inhibir su crecimiento, ya sea por desaceleración del metabolismo o daño celular debido al estrés térmico. Este comportamiento se puede observar en la Figura 10, que muestra la curva de crecimiento de *L. plantarum* en té blanco bajo condiciones de almacenamiento a 4°C y 20°C. La condición de almacenamiento a 4°C afectó negativamente el crecimiento y viabilidad de *L. plantarum*, en el cual se observó una disminución significativa a las 96 h [4.93 Log (UFC/mL)], mientras que el té blanco almacenado a temperatura ambiente (20°C) permitió mantener una población de 6.25 Log (UFC/mL) hasta las 192 h, después de este tiempo la población disminuyó a 3.59 Log (UFC/mL).

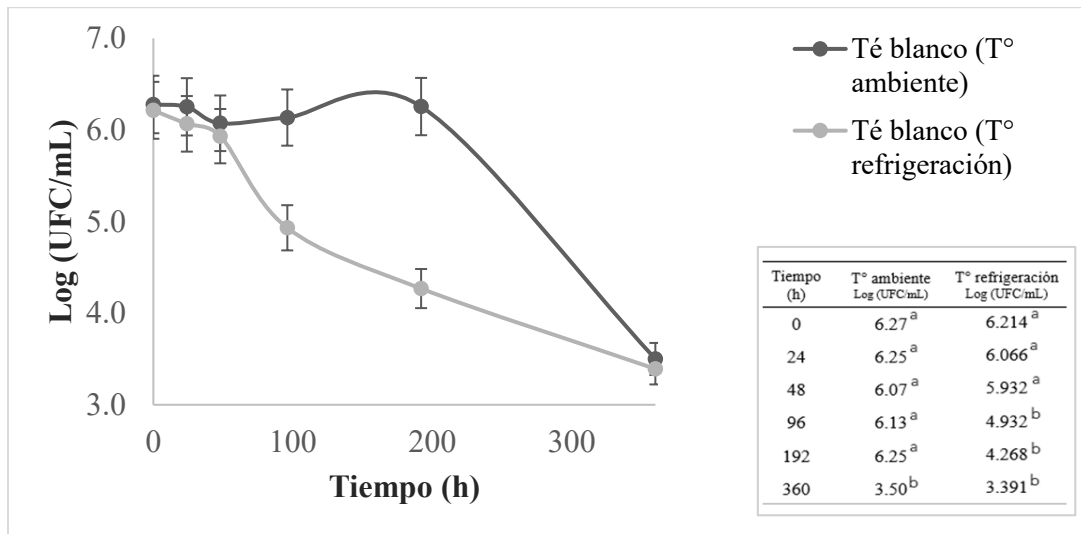
Feng y Wang (2020), mencionan que las BAL al estar expuestas a ambientes desfavorables como temperaturas extremas, pH bajo, y nutrición limitada, puede afectar su viabilidad y funcionalidad. Estos factores no solo limitan su capacidad de crecimiento, sino que también afectan su reproducción y supervivencia en el producto final, reduciendo el impacto benéfico de los probióticos en los consumidores.

Por otro lado, los compuestos fenólicos fueron significativamente afectados ( $p < 0.05$ ) por el tipo de microorganismo, el tipo de té y la temperatura de almacenamiento. Los flavonoides fueron significativamente afectados ( $p < 0.05$ ) por el tipo de té, mientras que la capacidad antioxidante estuvo afectada significativamente ( $p < 0.05$ ) por el tipo de té, el tipo de microorganismo y la interacción temperatura-microorganismo.

**Tabla 7.** Correlación de factores y sus interacciones sobre el crecimiento microbiano, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

Factores e interacciones	Crecimiento microbiano	Compuestos fenólicos	Flavonoides totales	Capacidad antioxidante
Tipo de té	0.1113	<0.0001*	<0.0001*	0.0108*
Temperatura	0.3059	0.0032*	0.0731	0.1224
Microorganismo	0.0001*	0.0127*	0.2458	0.0078*
Microorganismo-tipo de té	0.7600	0.6280	0.7125	0.1505
Microorganismo-temperatura	0.6448	0.2217	0.4911	0.0736
Tipo de té- temperatura	0.0033*	0.2561	0.3296	0.0270*
Microorganismo-tipo de té- temperatura	0.0953	0.6027	0.9355	0.3196

Valores con asterisco (\*) indican factores que afectan significativamente ( $p < 0.05$ ).



**Figura 10.** Curva de crecimiento de *L. plantarum* en té blanco a temperatura ambiente y temperatura de refrigeración.

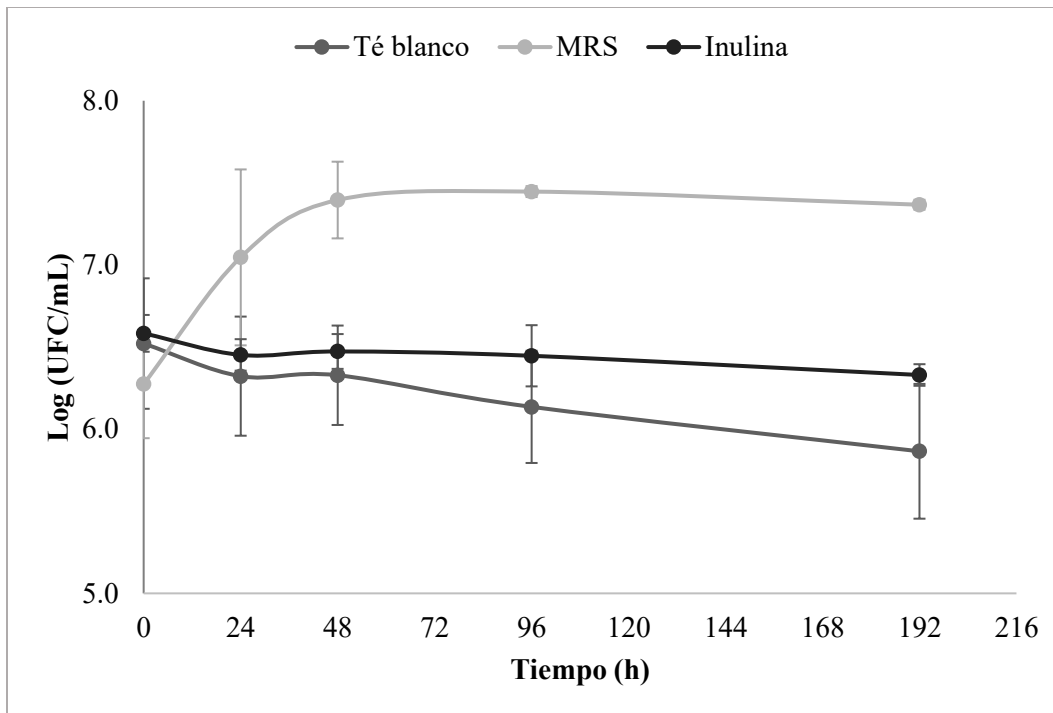
#### 8.4 Efecto prebiótico de la solución de té sobre el crecimiento de *L. plantarum*

En la Figura 11 se muestra la evaluación del efecto prebiótico de distintos sustratos sobre *L. plantarum* a temperatura ambiente. El microorganismo en caldo MRS presentó un rápido incremento en la población durante las primeras 48 h, lo cual se atribuye a que este medio está formulado específicamente para favorecer el crecimiento de bacterias ácido-lácticas (BAL) al tener una combinación óptima de nutrientes (carbono, nitrógeno, vitaminas y sales) (Zhang et al., 2020).

Posteriormente, la población se estabilizó después de 48 h, alcanzando 7.4 Log (UFC/mL), lo que indica un ambiente favorable para el crecimiento exponencial del microorganismo.

Por otro lado, los sistemas de té blanco e inulina no mostraron un crecimiento significativo, pero sí mantuvieron la población en 6.4 a 6.6 Log (UFC/mL) durante 192 h, sin presentar una reducción de la población. Esta estabilidad es relevante si se considera la definición actual de prebiótico. De acuerdo con la ISAPP (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics), los prebióticos no necesariamente deben promover un crecimiento acelerado, sino que el sustrato sea utilizado selectivamente por microorganismos del huésped (Salminen et al., 2021). En este sentido, aunque el té blanco no promovió un crecimiento como el caldo MRS, su capacidad para mantener la viabilidad de *L. plantarum* durante periodos prolongados indica una posible función prebiótica, debido a la presencia de compuestos fenólicos, como los flavonoides, que han demostrado modular la microbiota intestinal, inhibir microorganismos patógenos y favorecer la homeostasis microbiana (Tewari et al., 2018; Rajha et al., 2022).

Comparando el té blanco con la inulina, la cual es un prebiótico ampliamente reconocido (Teferra, 2021), se observa una tendencia similar al té, ya que no promovió el crecimiento, pero sí mantuvo la viabilidad. Por lo tanto, los resultados obtenidos respaldan el potencial del té blanco como agente prebiótico, al igual que la inulina, al contribuir al mantenimiento de la población microbiana durante el almacenamiento.



**Figura 11.** Población de *L. plantarum* en diferentes sustratos a temperatura ambiente.

### 8.5 Encapsulación de *L. plantarum* mediante gelación iónica y caracterización de cápsulas

En la Figura 12 se muestra la comparación del tamaño de las cápsulas de té blanco inoculadas con *L. plantarum* elaboradas con diferentes concentraciones de alginato. A la izquierda se colocaron lentejas como referencia visual para facilitar la apreciación del tamaño. La medición horizontal de las cápsulas mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en función del porcentaje de alginato. Las cápsulas elaboradas con 3% de alginato presentaron el mayor diámetro ( $5.10 \pm 0.44$  mm) siendo significativamente mayores que las del 1% ( $4.85 \pm 0.58$  mm) y 0.75% ( $4.55 \pm 0.51$  mm). En cuanto a la medición vertical también mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre porcentajes. Las cápsulas con 3% de alginato fueron las más largas ( $6.00 \pm 0.44$  mm), mientras que las de 0.75% mostraron la menor longitud ( $5.10 \pm 0.44$  mm). Estos resultados indican que las cápsulas no presentaron una forma completamente redonda, ya que sus medidas horizontales y verticales difirieron entre sí.



**Figura 12.** Comparación visual del tamaño de cápsulas de té blanco con *L. plantarum* y alginato al 0.75%, 1% y 3% (de izquierda a derecha), usando lentejas como referencia.

Dado que, el propósito de la encapsulación es proteger al microorganismo durante la digestión y permitir su liberación en el sitio correcto, se evaluaron las propiedades texturales de las cápsulas; los resultados se muestran en la Tabla 8. En el parámetro de dureza, no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los porcentajes de alginato. La dureza se define como la capacidad de un material sólido para resistir una deformación permanente al ser sometido a una fuerza de compresión (Li et al., 2024b). Resultados similares fueron reportados por Liu et al. (2022b) quienes observaron que, en ciertos hidrogeles, la dureza puede incrementarse ligeramente con la adición de compuestos funcionales, como las antocianinas, dependiendo del comportamiento de la red polimérica. Wu et al. (2024) reportaron que, al incrementar la proporción de alginato, se obtienen geles con mayor dureza.

En cuanto a la elasticidad, esta aumentó conforme se incrementó la concentración de alginato. Se observa diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a la concentración de 0.75% de alginato. Una alta elasticidad puede permitir que la cápsula recupere su forma tras la compresión, lo que podría dificultar la liberación del microorganismo durante la simulación gastrointestinal. Por el contrario, una baja elasticidad podría favorecer la ruptura o desintegración de la capsula durante la digestión. Valores similares fueron reportados por Sahin et al. (2023), ya que observaron valores de elasticidad más altos en cápsulas con 1% de alginato que con 0.5%; además mencionan que una elasticidad menor está asociada con una estructura de gel más frágil, lo cual podría favorecer la liberación de los probióticos.

En el parámetro de cohesividad, se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Una menor cohesividad indica una estructura de gel menos integrada, lo cual podría facilitar la desintegración de la cápsula en el entorno digestivo. Su et al. (2024) reportaron resultados similares, señalando

que al aumentar la concentración de alginato también se incrementaba la cohesividad, permitiendo que la estructura interna de la cápsula se mantenga durante la compresión.

Respecto a la masticabilidad, las cápsulas con 1% y 0.75% de alginato presentaron los valores más bajos. La masticabilidad se define como la cantidad de energía necesaria para comprimir un alimento o material, hasta el punto en que pueda ser deglutido, y está influida por la dureza, la cohesividad y la elasticidad (Li et al., 2024b). En este sentido, una masticabilidad menor sugiere una textura más blanda y menos resistente, lo cual podría facilitar la desintegración de la cápsula y favorecer la liberación del probiótico durante la simulación gastrointestinal. Qaziyani et al. (2019), mencionan que formulaciones con mayor contenido de alginato presentaban redes de gel más densas y resistentes, lo cual aumenta la capacidad de la cápsula para recuperar su forma tras la compresión y, por lo tanto, su resistencia a la ruptura. En contraste, formulaciones con menor concentración mostraron una textura más frágil, asociada con una menor masticabilidad y una posible eficiencia en la liberación del contenido encapsulado.

Por lo tanto, aunque las cápsulas con 3% de alginato mostraron menor dureza, sus valores elevados de elasticidad, cohesividad y masticabilidad indican una estructura más firme y resistente, que podría dificultar la liberación del microorganismo encapsulado, En contraste, las cápsulas elaboradas con 0.75% de alginato presentaron los valores más bajos en estos tres parámetros, lo que sugiere una estructura más frágil. Considerando estos resultados y el objetivo de favorecer la liberación de *L. plantarum* durante la simulación gastrointestinal, se seleccionó la concentración de 0.75% como la más adecuada.

**Tabla 8.** Propiedades texturales de las cápsulas a diferentes concentraciones de alginato de sodio.

<b>Concentraciones de alginato (%)</b>	<b>Dureza</b>	<b>Elasticidad</b>	<b>Cohesividad</b>	<b>Masticabilidad</b>
3	337.15 ± 6.87 <sup>a</sup>	1.100± 0.13 <sup>a</sup>	0.794± 0.01 <sup>a</sup>	327.15± 55.58 <sup>a</sup>
1	464.05 ± 82.00 <sup>a</sup>	0.866± 0.01 <sup>a</sup>	0.593± 0.01 <sup>b</sup>	208.47± 9.58 <sup>b</sup>
0.75	392.40 ± 35.93 <sup>a</sup>	0.686± 0.02 <sup>b</sup>	0.561± 0.01 <sup>b</sup>	150.97± 7.59 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Promedio ± desviación estándar. Letras superíndices diferentes en columna indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

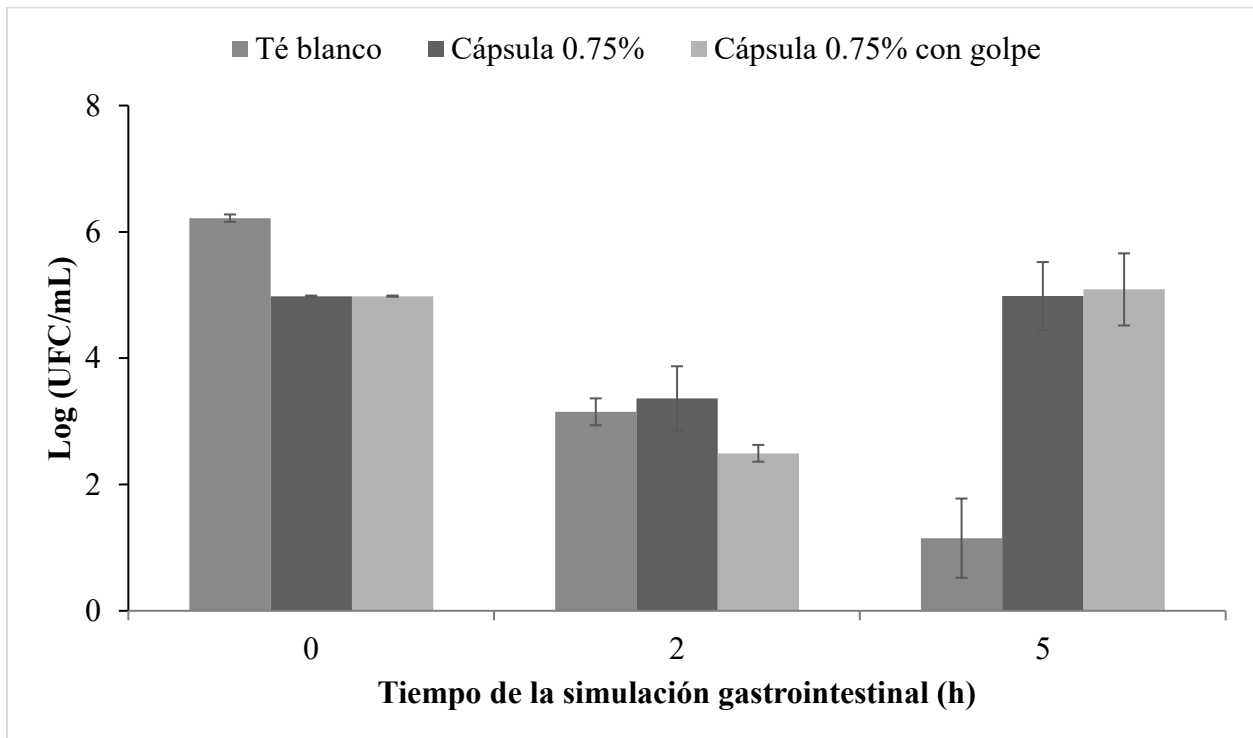
## 8.6 Viabilidad de *L. plantarum* en los encapsulados durante la simulación gastrointestinal

En la Figura 13 se presenta la viabilidad de *L. plantarum* en el té blanco sin encapsular (sistema A), encapsulado (sistema B) con 0.75% de alginato sin rompimiento de la cápsula y (sistema C) encapsulado con 0.75% de alginato con golpe de la cápsula antes de la simulación gastrointestinal. Inicialmente, el sistema A mostró una población inicial de 6.2 Log (UFC/mL), mientras que el sistema B y C comenzaron con 4.98 Log (UFC/mL). Resultados similares fueron reportados por González-Cuello et al. (2025), quienes observaron una eficacia de encapsulación de *L. plantarum* entre 53.3% y 86.30%. Esta variación puede atribuirse al estrés osmótico y mecánico generado durante el proceso de encapsulación, especialmente durante la formación de las cápsulas y la exposición a soluciones de reticulación como el cloruro de calcio, lo cual puede comprometer la integridad de la membrana celular y reducir la viabilidad de los microorganismos encapsulados. Por otro lado, después de 2 h de tratamiento gástrico (pH 2), se observó una disminución notable en la viabilidad en los tres sistemas. El sistema A presentó una reducción de la población de 3.06 Log (UFC/mL) equivalente al 50.72%, mientras que los sistemas B y C mostraron reducciones del 32.53% y 49.53%, respectivamente. Esta reducción era de esperarse debido al ambiente ácido por la solución gástrica, es importante descartar que la encapsulación con alginato proporcionó una protección significativa. Este efecto protector ha sido ampliamente documentado, Jumazhanova et al. (2023) demostraron que la encapsulación con alginato puede amortiguar el impacto del ácido gástrico, permitiendo que una fracción importante de bacterias probióticas sobreviva. Rojas-Muñoz et al. (2023) observaron que *L. fermentum* sin encapsular redujo su viabilidad un 67.2 % al terminar la fase gástrica, mientras que, al encapsularlo, la disminución fue de apenas 7.9 %. De forma similar, Mahmoud et al. (2020) reportaron que el alginato permitió que *L. plantarum* mantuviera su viabilidad dentro del rango recomendado después del tratamiento gástrico. Esto refuerza la idea de que el alginato actúa como una barrera que retrasa el contacto directo con el ácido y la pepsina, disminuyendo así la tasa de muerte celular.

Al finalizar la simulación gastrointestinal, el sistema A presentó una población de 1.1 Log (UFC/mL), es decir 5.1 Log menos que la población inicial, mientras que las cápsulas sin y con golpe (sistema B y C) obtuvieron una recuperación del microorganismo, el sistema B alcanzó una población de 4.98 Log (UFC/mL) y el sistema C, 5.09 Log (UFC/ mL). Esto representa una recuperación post-tratamiento gástrico del 148.24% para el sistema B y del 204.41% para el

sistema C durante la fase intestinal. Guo et al. (2024) reportaron resultados similares al observar una viabilidad del 46.9% al finalizar la fase gástrica y del 96% al finalizar la fase intestinal en cápsulas con *L. plantarum* y polisacáridos.

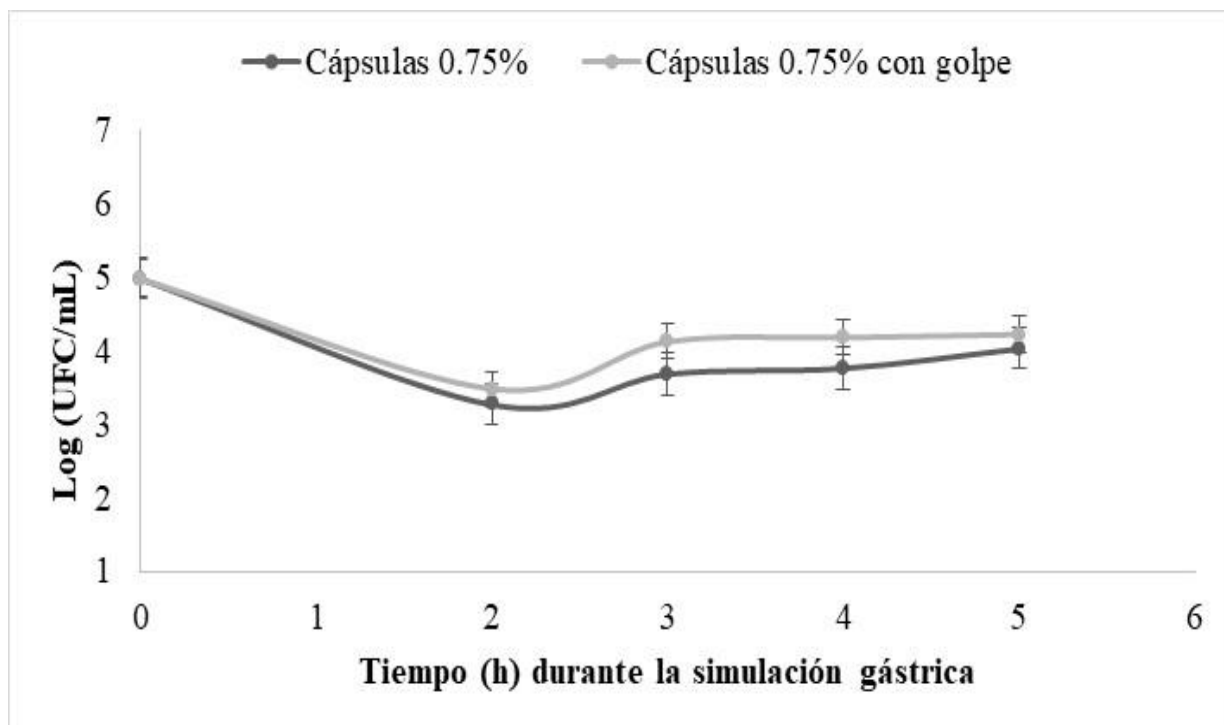
Chean et al. (2021) reportaron una mayor disminución de la viabilidad de *L. plantarum* en la fase gástrica, mientras que en la fase intestinal las bacterias encapsuladas con o sin inulina se mantienen más estables. Esto puede deberse por la activación de mecanismos de adaptación al estrés, mediante los cuales las bacterias se adaptan a condiciones de pH bajo antes de enfrentarse al medio intestinal, reduciendo el daño subsecuente. Lee et al. (2024) demostraron que, tras la exposición a pH bajo (pH 2.5), *L. plantarum* presenta mayor actividad de ATPasa y un incremento en el consumo de amoníaco, lo que contribuye a que su pH intracelular sea más alto, además, las células estresadas mostraron una proporción significativamente mayor de ácidos grasos insaturados en la membrana en comparación con las no estresadas. En conjunto, estos hallazgos indican que el estrés ácido induce cambios fisiológicos y metabólicos adaptativos que mejoran la tolerancia al ácido y la adhesión.



**Figura 13.** Viabilidad de *L. plantarum* en té blanco (sin encapsular) y encapsulado durante la simulación gastrointestinal.

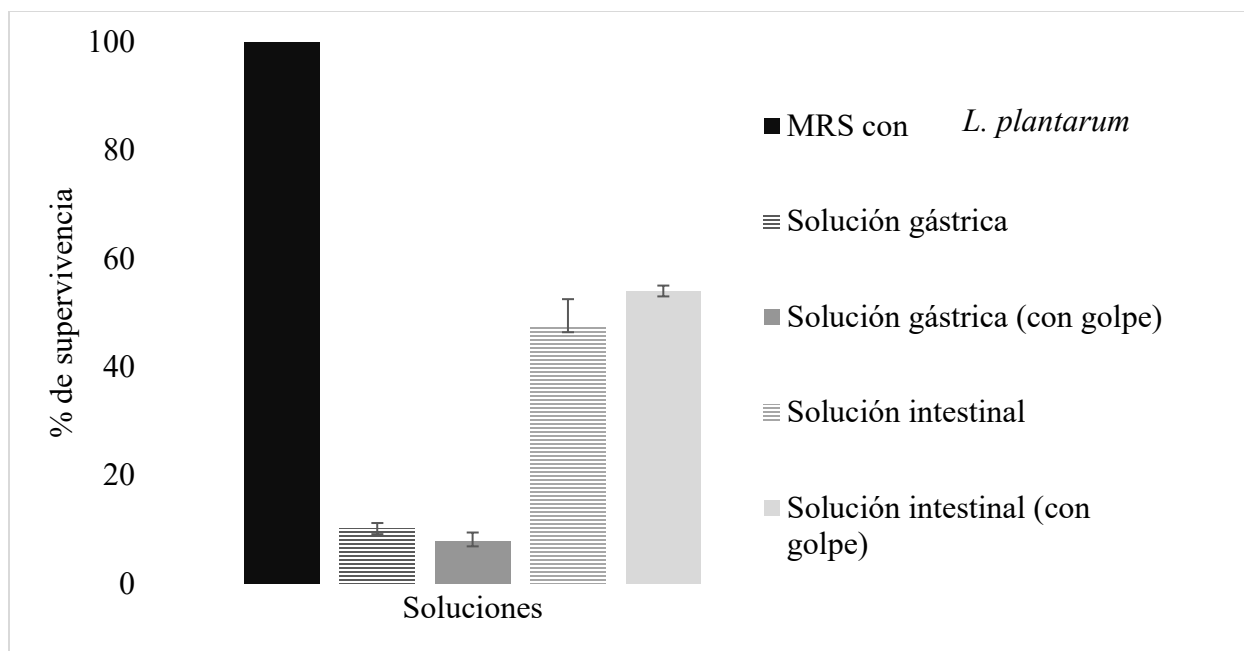
La Figura 14 muestra el comportamiento de *L. plantarum* en los fluidos gastrointestinales. Se observó un incremento de la población del 12.73% a la hora 3 y una recuperación total del 23.27% al finalizar el proceso de simulación, lo cual representa 4.1 Log (UFC/mL). Luca y Oroian (2021), mencionan que esta recuperación podría explicarse por el comportamiento físico de las cápsulas, ya que, en un entorno ácido como el estómago, las cápsulas tienden a comprimirse, mientras que, en un entorno neutro como el intestino, se expanden, lo que favorece una liberación gradual de las bacterias. Forssten y Ouwehand (2020), reportaron que muchos probióticos son capaces de reparar daños sufridos cuando se les traslada de un entorno ácido a uno menos agresivo, como es el intestinal. Sin embargo, también señalaron que esta recuperación depende en gran medida de la cepa y de la dosis inicial utilizada. Por su parte, Piekarska-Radzik y Klewicka (2021) mencionan que los mecanismos de resistencia al estrés en los probióticos pueden ser innatos o adaptativos, e incluyen desde la producción de polisacáridos extracelulares hasta la regulación del pH intracelular.

En este sentido, las BAL, como *L. plantarum*, han demostrado que tienen la capacidad de mantener un gradiente de pH constante mediante la modificación de la composición de su membrana celular, lo que les permite resistir condiciones ácidas (Bustos et al., 2025). Además, Yang et al. (2024) señalan que la coencapsulación de probióticos con compuestos bioactivos, como los polifenoles del té, puede generar un efecto sinérgico que podría mejorar su bioactividad y funcionalidad. Por lo tanto, estas adaptaciones celulares, en conjunto con el efecto protector del alginato y el potencial prebiótico del té blanco, podrían explicar la recuperación observada en la fase intestinal.



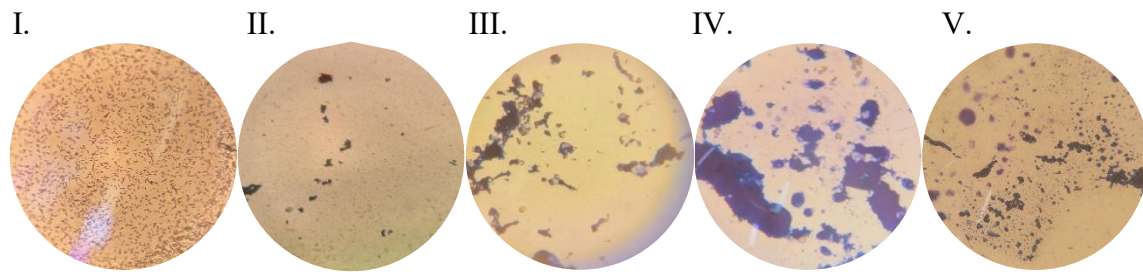
**Figura 14.** Viabilidad de *L. plantarum* en los fluidos gástrico e intestinal.

Adicionalmente a los hallazgos observados, en la Figura 15 se pueden observar los resultados de la prueba de MTT, mostrando una tendencia similar, tras la simulación gástrica, se observó una disminución en la viabilidad en el fluido gástrico de *L. plantarum* con reducciones del 89.86% en cápsulas enteras y 92.12% en cápsulas con golpe. No obstante, en el fluido intestinal, se observó una recuperación con un incremento del 37.28% y del 46.15%, respectivamente. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Shivani y Sathiavelu (2024), quienes demostraron que la exposición de bacterias probióticas a pH más básicos favorecía su porcentaje de supervivencia, alcanzando porcentajes de hasta 84.8%.



**Figura 15.** Supervivencia de *L. plantarum* durante la simulación gastrointestinal.

En la Figura 16 se presentan las imágenes de la tinción de Gram de las muestras obtenidas del fluido gástrico e intestinal (Sistema B y C); se observó el comportamiento de *L. plantarum* tras la simulación gastrointestinal, donde las bacterias se tiñeron de color azul-violeta, indicando la conservación de su pared celular y, por lo tanto, su viabilidad estructural. Asimismo, tras la simulación gastrointestinal, se aprecia la formación de agregados bacterianos, un fenómeno reportado por Vergalito et al. (2024) en la cepa probiótica *Akkermansia muciniphila*, mencionan que el estrés inducido por los bajos niveles de pH gástrico puede conducir a la formación de agregados celulares, posiblemente como un mecanismo de protección, lo que puede resultar en la formación de “una sola colonia”. Por el contrario, estas agregaciones tienden a disociarse a medida que el pH se neutraliza, lo que sugieren que dicho comportamiento podría favorecer la viabilidad bacteriana a lo largo del tránsito intestinal. Por lo tanto, la tinción de Gram no solo respalda los resultados obtenidos en las pruebas de viabilidad celular, sino que confirma visualmente que *L. plantarum* mantiene su integridad estructural durante la simulación gastrointestinal.



**Figura 16.** Tinción de Gram de los fluidos durante la simulación gastrointestinal.

I. *L. plantarum* antes de la simulación, II. Fluido gástrico (Sistema B), III. Fluido gástrico (Sistema C), IV. Fluido intestinal (Sistema B), V. Fluido intestinal (Sistema C).

En conjunto, los resultados sugieren que la encapsulación de *L. plantarum* con alginato y té blanco no solo proporciona protección durante la fase gástrica, sino que también favorece la recuperación bacteriana en la fase intestinal, lo cual representa una estrategia prometedora para su aplicación en alimentos.

## 9. Conclusiones

- Los téis evaluados presentaron un pH ácido, % de acidez menor a 1 % y bajo contenido de humedad (menor a 10 %), además contienen una carga microbiana de bacterias mesófilas menor a 100 UFC/g.
- El té blanco presentó la mayor cantidad de compuestos fenólicos (8.19 mg EAG/100 mL), flavonoides (1.77 mg catequina/100 mL) y capacidad antioxidante (88.80 mg Trolox/100 mL).
- El tratamiento de extracción (80°C/ 5 min/ 230-340 rpm), incrementó el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en todas las muestras de té; la esterilización posterior aseguró la inocuidad de las soluciones de té. Entre los tipos de té evaluados, el té blanco presentó los valores más altos de compuestos bioactivos.
- El té blanco inoculado con *L. plantarum* y almacenado a temperatura ambiente (20°C) mostró la mayor estabilidad microbiana, así como el contenido más elevado de compuestos bioactivos y la mayor capacidad antioxidante hasta las 192 h.
- El té blanco e inulina, evaluados como sustratos prebióticos para *L. plantarum*, no promovieron un incremento del crecimiento; sin embargo, mantuvieron la viabilidad de la población en 6 ciclos logarítmicos durante 96 h de almacenamiento a temperatura ambiente.
- La concentración de alginato al 0.75% generó cápsulas de menor tamaño, elasticidad, cohesividad y masticabilidad, lo que podría favorecer la liberación de probióticos.
- La encapsulación por gelación iónica protegió la viabilidad del probiótico durante la simulación gastrointestinal, frente a la solución de té blanco sin encapsular.
- *L. plantarum* en té blanco encapsulado con alginato al 0.75% tiene una disminución en la viabilidad durante el tratamiento gástrico, pero mostró una recuperación durante el tratamiento intestinal.
- En la prueba MTT, se observa una disminución del porcentaje de supervivencia de *L. plantarum* en el fluido gástrico y una recuperación con un incremento del 37-46% de supervivencia en el fluido intestinal.

## 10. Recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos, se sugiere las siguientes líneas de investigación y aplicación futura:

- Ampliar las matrices evaluadas: explorar el uso de otros tipos de té, con el objetivo de identificar diferencias en sus compuestos bioactivos y su interacción con probióticos.
- Evaluar distintas cepas probióticas: analizar el comportamiento de diferentes bacterias ácido-lácticas de manera individual, así como en mezclas, para determinar su viabilidad en distintos tipos de té.
- Probar encapsulantes alternativos: sustituir o complementar el alginato con otros polímeros naturales, que podrían favorecer una mejor desintegración, aumentar la liberación controlada y mejorar la estabilidad de los probióticos.
- Profundizar en la evaluación de los compuestos bioactivos durante la digestión: estudiar las variaciones de los compuestos bioactivos en los encapsulados, así como en los fluidos gastrointestinales, con la finalidad de validar sus beneficios funcionales.
- Explorar aplicaciones de los encapsulados: investigar la incorporación de estas cápsulas en matrices alimentarias, con el propósito de evaluar su comportamiento en sistemas complejos y determinar su aceptación sensorial por parte del consumidor.

## 11. Bibliografía

Afia, K. (2020). A review of *Pentaclethra macrophylla* (African oil bean) seed. *IDORS Journal of Experimental Sciences*. 5: 1-7.

Ahire, J.J., Jakkamsetty, C., Kashikar, M.S., Lakshmi, S.G., Madempudi, R.S. (2021). *In vitro* evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* UBLP40 isolated from traditional indigenous fermented food. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 13: 1413-1424.

Al-Asmari, F., Abdelshafy, A.M., Neetoo, H., Zhang, Y. (2025). Natural gums (gum arabic, guar gum and xanthan gum) as a promising source of prebiotics: a review on their functional roles and food applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 318: 1-15.

Al Mamari, H.H. (2021). Phenolic compounds: classification, chemistry, and updated techniques of analysis and synthesis. *IntechOpen*. 1: 1-21.

Alkhatib, H., Doolaanea, A.A., Assadpour, E., Sabere, A.S.M., Mohamed, F., Jafari, S.M. (2022). Optimizing the encapsulation of black seed oil into alginate beads by ionic gelation. *Journal of Food Engineering*. 328: 1-13.

Aloo, O.S., Kim, D., Vijayalakshmi, S., Aloo, D.O., Ochola, C.O., Oh, D. (2024). Polyphenol constituents and impacts of fermented teas (*Camellia sinensis*) in human wellness. *Food Bioscience*. 60: 1-17.

Álvarez, L. (2020). Evaluación del proceso de deshidratación de las hojas de ortiga verde *Urtica dioica* sobre su contenido de flavonoides, saponinas y triterpenos para la elaboración de tisanas. Universidad Técnica del Norte. Tesis de Maestría.

Alves-Santos, A.M., Sugizaki, C.S.A., Lima, G.C., Naves, M.M.V. (2020). Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review. *Journal of Functional Foods*. 74: 1-11.

Arrijoja-Bretón, D., Mani-López, E., Bach, H., López-Malo, A. (2020). Antimicrobial activity of protein-containing fractions isolated from *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496 culture. *Brazilian Journal of Microbiology*. 51: 811-820.

AOAC International. (2016). Official methods of analysis of association of official analytical chemists. 20th edition. AOAC International: Gaithersburg, MD.

Aparicio-Fernández, X., Vega-Ahuatzin, A., Ochoa-Velasco, C.E., Cid-Pérez, S., Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa, R. (2018). Physical and antioxidant characterization of edible films added with red prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) cv. San Martín peel and/or its aqueous extracts. *Food Bioprocess Technology*. 11: 368–379.

Atalay, D., Erge, H.S. (2017). Determination of some physical and chemical properties of white, green and black teas (*Camellia sinensis*). *Gida the Journal of Food*. 42: 495-504.

Bamigbade, G.B., Subhash, A.J., Kamal-Eldin, A., Nyström, L., Ayyash, M. (2022). An updated review on prebiotics: insights on potentials of food seeds waste as source of potential prebiotics. *Molecules*. 27:1-34.

Bernal, C.A., Díaz- Moreno, C., Gutiérrez-Cortés, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista Chilena de Nutrición*. 44: 383-392.

Bond, T., Derbyshire, E. (2019). Tea compounds and the gut microbiome: Findings from trials and mechanistic studies. *Nutrients*. 11: 1-13.

Bordini, F.W., Rosolen, M.D., de Quadros da Luz, G., Scherer Pohndorf, R., Diaz de Oliveira, P., Conceição, F.R., Fiorentini, Â.M., Padilha da Silva, W., Pieniz, S. (2023). Development of a microencapsulated probiotic delivery system with whey, xanthan, and pectin. *Brazilian Journal of Microbiology*. 54: 2183–2195.

Bumsted, J., Ford, E., Blair, A., Underwood, K., Zuelly, S.M.S. (2023). Instrumental color measurements have relationships to fat smearing in fresh sausage. *Foods*. 12: 1-7.

Bustos, A.Y., Taranto, M.P., Gerez, C.L., Agriopoulou, S., Smaoui, S., Varzakas, T., El-Enshasy, H.A. (2025). Recent advances in the understanding of stress resistance mechanisms in probiotics: Relevance for the design of functional food systems. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 17: 138-158.

Campos-Perez, W., Martinez-Lopez, E. (2021). Effects of short chain fatty acids on metabolic and inflammatory processes in human health. *Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1866: 1-8.

Canale Vásquez, A., Michilot Soto, T. (2019). Evaluación del efecto de la incorporación de *Camellia sinensis* (té verde) sobre el contenido de flavonoides, capacidad antioxidante y

aceptación sensorial de un yogurt probiótico. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Tesis de Maestría.

Carneiro, A., Matos, M.J., Uriarte, E., Santana, L. (2021). Trending topics on coumarin and its derivatives in 2020. *Molecules*. 26: 1-15.

Carloni, P., Girolametti, F., Giorgini, E., Bacchetti, T., Truzzi, C., Illuminati, S., Damiani, E. (2023). Insights on the nutraceutical properties of different specialty teas grown and processed in a German tea garden. *Antioxidants*. 12: 1-20.

Casasola Bado, M.J. (2022). La importancia de realizar una correcta tinción de Gram en la identificación bacteriana. *Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica*. 27: 89- 98.

Castañón-Rodríguez, J.F., Soto-Gómez, M.G., Uresti-Marín, R.M. (2020). Evaluación de la estabilidad de cápsulas de jugo de naranja obtenidas mediante gelificación iónica. *Ciencia UAT*. 14: 117-132.

Chang, Y.H., Jeong, C.H., Cheng, W.N., Choi, Y., Shin, D.M., Lee, S., Han, S.G. (2021). Quality characteristics of yogurts fermented with short-chain fatty acid-producing probiotics and their effects on mucin production and probiotic adhesion onto human colon epithelial cells. *American Dairy Science Association*. 104: 7415-7425.

Chean, S.X., Hoh, P.Y., How, Y.H., Nyam, K.L., Pui, L.P. (2021). Microencapsulation of *Lactiplantibacillus plantarum* with inulin and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and roselle juice. *Brazilian Journal of Food Technology*. 24: 1-13.

Chen, T., Yang, C. (2019). Biological fates of tea polyphenols and their interactions with microbiota in the gastrointestinal tract: implications on health effects. *Food Science and Nutrition*. 1:1-19.

Ciupei, D., Colisar, A., Leopold, L., Stanila, A., Diaconeasa, Z.M. (2024). Polyphenols: from classification to therapeutic potential and bioavailability. *Foods*. 13: 1-36.

Coelho, R.M.D., de Almeida, A.L., do Amaral, R.Q.G., da Mota, R.N., de Sousa, P.H.M. (2020). Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 22: 1-12.

Coman, V., Vodnar, D.C. (2019). Hydroxycinnamic acids and human health: recent advances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 100: 483-499.

Cosme, F., Aires, A., Pinto, T., Oliveira, I., Vilela, A., Gonçalves, B. (2025). A comprehensive review of bioactive tannins in foods and beverages: Functional properties, health benefits, and sensory qualities. *Molecules*. 30: 1-28.

Cunningham, M., Azcarate-Peril, M.A., Barnard, A., Benoit, V., Grimaldi, R., Guyonnet, D., Holscher, H.D., Hunter, K., Manurung, S., Obis, D., Petrova, M.I., Steinert, R.E., Swanson, K.S., Sindere, D.V., Vulevic, J., Gibson, G.R. (2021). Shaping the future of probiotics and prebiotics. *Trends in Microbiology*. 29: 667- 685.

Cvetković, D., Ranitović, A., Savić, D., Joković, N., Vidaković, A., Pezo, L., Markov, S. (2019). Survival of wild strains of lactobacilli during kombucha fermentation and their contribution to functional characteristics of beverage. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*.69: 407-415.

Damián, M.R., Cortes-Perez, N.G., Quintana, E.T., Ortiz-Moreno, A., Garfias Noguez, C., Cruceño-Casarrubias, C.E., Sánchez Pardo, M.E., Bermúdez-Humarán, L.G. (2022). Functional foods, nutraceuticals and probiotics: A focus on human health. *Microorganisms*. 10:1-13.

Dávila, I., Gullón, B., Alonso, J.L., Labidi, J., Gullón, P. (2019). Vine shoots as new source for the manufacture of prebiotic oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 207: 34-43.

De Borba, D., Cinelli, L.P., Simas, N.K., Pessoa, A., Sette, L.D. (2019). Marine prebiotics: polysaccharides and oligosaccharides obtained by using microbial enzymes. *Food Chemistry*. 280: 86-175.

De Souza, M., Drunkler, D.A., Colla, E. (2024). Probiotic functional yogurt: Challenges and opportunities. *Fermentation*. 10: 1-18.

Deb, S., Dutta, A., Chetia Phukan, B., Manivasagam, T., Thenmozhi, A.J., Bhattacharya, P., Paul, R., Borah, A. (2019). Neuroprotective attributes of L-theanine, a bioactive amino acid of tea, and its potential role in Parkinson's disease therapeutics. *Neurochemistry International*. 129: 1-9.

Di Nunzio, M., Picone, G., Pasini, F., Chiarello, E., Caboni, M.F., Capozzi, F., Gianotti, A., Bondoni, A. (2020). Olive oil by-product as functional ingredient in bakery products. Influence of processing and evaluation of biological effects. *Food Research International*. 131: 1-11.

Drider, D., Rivera, V.M. (2016). Bacterias ácido-lácticas. Fundamentos y Aplicaciones. Alfaomega Grupo Editor, S.A. 3-7

Elshaghabee, F.M.F., El-Hussein, A., Mohamed, M.S.M. (2022). Enhancement of labneh quality by laser-induced modulation of *Lactocaseibacillus casei* NRRL B-1922. *Fermentation*. 8: 1-13.

Emon, D.D., Islam, M.S., Mazumder, M.A.R., Aziz, M.G., Rahman, M.S. (2025). Recent applications of microencapsulation techniques for delivery of functional ingredient in food products: A comprehensive review. *Food Chemistry Advances*. 6: 1-24.

Feng, T., Wang, J. (2020). Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. *Gut Microbes*. 12: 1-25.

Fentie, E.G., Lim, K., Jeong, M., Shin, J.H. (2024). A comprehensive review of the characterization, host interactions, and stabilization advancements on probiotics: Addressing the challenges in functional food diversification. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 23: 1-41.

Forssten, S., Ouwehand, A.C. (2020). Dose-response recovery of prebiotics strains in simulated gastro-intestinal passage. *Microorganisms*. 8: 1-7.

Gadzinski, P., Froelich, A., Jadach, B., Wojtylko, M., Tatarek, A., Bialek, A., Krysztofiak, J., Gackowski, M., Otto, F., Osmalek, T. (2023). Ionotropic gelation and chemical crosslinking as methods for fabrication of modified-release gellan gum-based drug delivery systems. *Pharmaceutics*. 15: 1-34.

Gaur, G., Gänzle, M. (2023). Conversion of (poly)phenolic compounds in food fermentations by lactic acid bacteria: Novel insights into metabolic pathways and functional metabolites. *Current Research in Food Science*. 6: 1-11.

Ghosh, R., Singha, P.S., Das, L.K., Ghosh, D., Firdaus, S.B. (2023). Anti-inflammatory activity of natural coumarin compounds from plants of the Indo-Gangetic plain. *AIMS Molecular Science*. 10: 79-98.

Godoy Cancho, C.B. (2017). Composición bioactiva de materiales lignocelulósicos: Determinación de compuestos fenólicos y elagitaninos con propiedades antioxidantes y anticancerígenas mediante técnicas analíticas diversas. Universidad de Extremadura. Tesis de Doctorado.

González-Cuello, R., Hernández-Fernández, J., Ortega-Toro, R. (2025). Response surface methodology-based optimization for enhancing the viability of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in composite materials. *Journal of Composites Science*. 9: 1-15.

Granato, D., Barba, F., Bursác, D., Lorenzo, A., Cruz, A., Putnik, P. (2020). Functional Foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science Technology*. 11: 93-118.

Guo, X., Cheng, M., Zhang, X., Cao, J., Wu, Z., Weng, P. (2017). Green tea polyphenols reduce obesity in high-fat diet-induced mice by modulating intestinal microbiota composition. *International Journal of Food Science and Technology*. 52: 1-8.

Guo, H., Zhou, Y., Xie, Q., Chen, H., Zhang, M., Yu, L., Yan, G., Chen, Y., Lin, X., Zhang, Y., Hong, Z. (2024). Protective Effects of *Laminaria japonica* polysaccharide composite microcapsules on the survival of *Lactobacillus plantarum* during simulated gastrointestinal digestion and heat treatment. *Marine Drugs*. 22: 1-16.

Gutiérrez-Escobar., R., Aliaño-González, M.J., Cantos-Villar, E. (2021). Wine polyphenol content and its influence on wine quality and properties: A review. *Molecules*. 26: 1-54.

Harris, S., Power, S., Monteagudo-Mera, A., Kosik, O., Lovegrove, A., Shewry, P., Charalampopoulos, D. (2020). Determination of the prebiotic activity of wheat arabinogalactan peptide (AGP) using batch culture fermentation. *European Journal of Nutrition*. 59: 297-307.

Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., Kanthimathi, M.S. (2016). Temperature and time of stepping affect the antioxidant properties of white, green, and black tea infusions. *Journal of Food Science*. 81: 246-254.

Hu, T., Shi, S., Ma, Q. (2022) Modulation effects of microorganisms on tea in fermentation. *Frontiers in Nutrition*. 9: 1-13.

Hugenholtz, F., De Vos, W.M. (2018). Mouse models for human intestinal microbiota research: a critical evaluation. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 75: 149-160.

Hughes, R.L., Alvarado, D.A., Swanson, K.S., Holscher, H.D. (2022). The prebiotic potential of inulin-type fructans: A systematic review. *Advances in Nutrition*. 13: 492-529.

International Organization for Standardization. (1998). ISO 15214: Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria- colony-count technique at 30 °C. *Geneva*. 1-5.

Jumazhanova, M., Kakimova, Z., Zharykbasov, Y., Kassymov, S., Zhumadilova, G., Muratbayev, A., Tashybayeva, M., Suychinov, A. (2023). Effect of the encapsulation process on the viability of probiotics in a simulated gastrointestinal tract model medium. *Processes*. 11:1-15.

Jin, J.-S., Touyama, M., Hisada, T., Benno, Y. (2012). Effects of green tea consumption on human fecal microbiota with special reference to *Bifidobacterium* species. *Microbiology and Immunology*. 56: 729–739.

Julián-Loeza, A.P., Santos-Sánchez, N.F., Valadez-Blanco, R., Sánchez-Guzmán, B.S., Salas-Coronado, R. (2011). Chemical composition, color, and antioxidant activity of three varieties of *Annona diversifolia* Safford fruits. *Industrial Crops and Products*. 34: 1262-1268.

Kamber, A., Albayrak, C.B., Harsa, H.S. (2024). Studies on the probiotic, adhesion and induction properties of artisanal lactic acid bacteria: to customize a gastrointestinal niche to trigger anti-obesity functions. *Research Square*. 1: 1-24.

Kasprzak-Drozd, K., Oniszczyk, T., Stasiak, M., Oniszczyk, A. (2021). Beneficial effects of phenolic compounds on gut microbiota and metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*. 22. 1-24.

Kim, Y., Goodner, K.L., Park, J.D., Choi, J., Talcott, S.T. (2011). Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation. *Food Chemistry*. 129: 1331-1342.

Kistaubayeva, A., Abdulzhanova, M., Zhantlessova, S., Savitskaya, I., Karpenyuk, T., Goncharova, A., Sinyavskiy, Y. (2023). The effect of encapsulating a prebiotic-based biopolymer delivery system for enhanced probiotic survival. *Polymers*. 15: 1-15.

Kopustinskiene, D.M., Jakstas, V., Savickas, A., Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*. 12: 1-25.

Küçükgöz, K., Trzaskowska, M. (2022). Nondairy probiotic products: Functional foods that require more attention. *Nutrients*. 14: 1-10.

Kumar, S.S., Mohideen, S.S. (2025). Encapsulation of *L. fermentum* with chitosan-alginate enhances its bioactivity against acrylamide toxicity in *D.mel*. *Scientific Reports*. 15: 1-12.

Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahif, A., Ashraf, W., Iqbal, M.W., Rehman, A., Riaz, T., Aadil, R.M., Khan, I.M., Ozogul, F., Rocha, J.M., Esatbeyoglu, T., Korma, S.A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in Microbiology*. 14: 1-15.

Lee, M.G., Kang, M.J., Cha, S., Kim, T.R., Park, Y.S. (2024). Acid tolerance responses and their mechanisms in *Lactiplantibacillus plantarum* LM1001. *Food Science and Biotechnology*. 33: 2213-2222.

Liang, D., Wu, F., Zhou, D., Tan, B., Chen, T. (2024). Commercial probiotic products in public health: current status and potential limitations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 64: 6455-6476.

Li, Y., Fu, W., Du, H., Zhao, Z., Li, L., Dong, Z., Wang, J. (2024). Metabolic profile and antioxidant properties of grape juice subjected to long-fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* strain isolated from traditional pickled vegetables. *Food Bioscience*. 62: 1-13.

Li, Y., Zhang, H., Zhao, Y., Liu, K. (2024b). Encapsulation and characterization of proanthocyanidin microcapsules by sodium alginate and carboxymethyl cellulose. *Foods*. 13: 1-19.

Li, L., Wen, M, Hu, W., Huang, X., Li, W., Han, Z., Zhang, L. (2025). Non-volatile metabolite and *in vitro* bioactivity differences in green, white, and black teas. *Food Chemistry*. 477: 1-15.

Liu, Y., Luo, L., Luo, Y., Zhang, J., Wang, X., Sun, K., Zeng, L. (2020). Prebiotic properties of green and dark tea contribute to protective effects in chemical-induced colitis in mice: A fecal microbiota transplantation study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 68: 6368–6380.

Liu, Z., Vincken, J.P., de Bruijn, W.J.C. (2022). Tea phenolics as prebiotics. *Trends in Food Science & Technology*. 127: 156-168.

Liu, S., Xiao, J., Feng, Y., Zhang, M., Li, Y., Tu, J., Niu, L. (2022b). Anthocyanin-fortified konjac glucomannan/sodium alginate composite edible boba: characteristics of texture, microstructure, in vitro release behaviour and antioxidant capacity. *International Journal of Food Science and Technology*. 57. 1791-1803.

Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J., Yin, H. (2021). The flavonoid biosynthesis network in plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 22: 1-18.

Lorenzo, J. (2023). Desarrollo de una bebida funcional de jugo de piña-té verde matcha (*Camellia sinensis*) y *Lactobacillus acidophilus* encapsulado. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. Tesis de Maestría.

Luca, L., Oroian, M. (2021). Influence of different prebiotics on viability of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* encapsulated in alginate microcapsules. *Foods*. 10: 1-19.

Luna-Guevara, M.L., Luna-Guevara, J.J., Hernández-Carranza, P., Ruíz-Espinosa, H., Ochoa-Velasco, C.E. (2019). Phenolic compounds: a good choice against chronic degenerative diseases. *Studies in Natural Products Chemistry*. 59: 79-108.

Luo, Q., Luo, L., Zhao, J., Wang, Y., Luo, H. (2024). Biological potential and mechanisms of tea's bioactive compounds: An updated review. *Journal of Advanced Research*. 65: 345-363.

Ma, Z.F., Zhang, H. (2017). Phytochemical constituents, health benefits, and industrial applications of grape seeds: A mini-review. *Antioxidants*. 6: 1-11.

Macías-González, A., Hernández-Carranza, P., Ruiz-López, I.I., Ochoa-Velasco, C.E. (2024). Using LAB-fermented whey for developing bioactive edible films based on purple sweet potato flour/potato starch. *International Journal of Food Science and Technology*. 1: 1-15.

Mahdi, A.A., Mohammed, J.K., Al-Ansi, W., Ghaleb, A.D.S., Al-Maqtari, Q.A., Ma, M., Ahmed, M.I., Wang, H. (2020). Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules*.152: 1125-1134.

Mahmoud, M., Abdallah, N.A., El-Shafei, K., Tawfik, N.F., El-Sayed, H.S. (2020). Survivability of alginate-microencapsulated *Lactobacillus plantarum* during storage, simulated food processing and gastrointestinal conditions. *Heliyon*. 6: 1-14.

Mansilla Canela, G. (2013). Potencial de Hidrogeniones-pH. *Actualización Clínica*. 40: 2016–2082.

Masish, R., Mahendru, I., Yadav, S., Rana, A., Samtiya, M., Taneja, N.K., Dhewa, T. (2023). Effect of fermentation conditions on antioxidative, antimicrobial and techno-functional properties of *Camellia sinensis* leaves. *Biomedicine*. 43: 1870-1881.

Matejčková, Z y Valík, L. (2025). Kefir alternatives, an innovative source of probiotics: Microbiological, technological, and therapeutical properties. *Applied Food Research*. 5: 1-16.

Mazziotta, C., Tognon, M., Martini, F., Torreggiani, E., Rotondo, J.C. (2023). Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health. *Cells*. 12: 1-33.

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: 114-136.

Mex-Álvarez, R.M, Guillen-Morales, M.M., Ceh-Ac, C.A. (2022). Microtitulación para la determinación de la acidez titulable de tés (*Camellia sinensis*). *Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo*. 12: 1-12.

Mfopa, A., Kemzeu, R., Fokom, R., Yamthe, L., Dize, D., Boyom, F. (2024). Phenolic compounds, antioxidant and antileishmanial activities of kombucha as affected by fermentation time. *Heliyon*. 10: 1-10.

Miranda-Linares, V., Quintanar-Guerrero, D., Del Real, A., Zambrano-Zaragoza, M.L. (2020). Spray-drying method for the encapsulation of a functionalized ingredient in alginate-pectin

nano- and microparticles loaded with distinct natural actives: Stability and antioxidant effect. *Food Hydrocolloids*. 101: 1-14.

Mora-Villalobos, J.A., Montero-Zamora, J., Barboza-Rojas, G.C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Schoedter, L., Olszewska-Widdrat, A., López-Gómez, J.P. (2020). Multiproduct lactic acid bacteria fermentation: A review. *Fermentation*. 6: 1-21.

Mosquera-Vivas, E.S., Ayala-Aponte, A.A., Serna-Cock, L. (2024). Importancia de la encapsulación de probióticos: gelación iónica y coacervación compleja como técnicas prometedoras para uso alimentario. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 22: 105-123.

Murugesan, R., Orsat, V. (2012). Spray drying for the production of nutraceutical ingredients – a review. *Food and Bioprocess Technology*. 5: 3-14.

Muzolf-Panek, M., Kaczmarek, A., Gliszczynska-Świgło, A. (2020). A predictive approach to the antioxidant capacity assessment of green and black tea infusions. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 15: 1422-1436.

Nájera-Maldonado, J.M., Salazar, R., Alvarez-Fitz, P., Acevedo-Quiroz, M., Flores-Alfaro, E., Hernández-Sotelo, D., Espinoza-Rojo, M., Ramírez, M. (2024). Phenolic compounds of therapeutic interest in neuroprotection. *Xenobiotics*. 14: 227-246.

Navarro, I., Periago, M.J., García, F.J. (2017). Estimación de la ingesta diaria de compuestos fenólicos en la población española. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*. 21: 320-326.

Neffe-Skocińska, K., Rzepkowska, A., Szydłowska, A., Kołożyn-Krajewska, D. (2018). Trends and possibilities of the use of probiotics in food production. *Alternative and Replacement Foods*. 3: 65-94.

Nibir, Y.M., Sumit, A.F., Akhand, A.A., Ahsan, N., Hossain, M.S. (2017). Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7: 352-357.

Nishimoto, Y., Mizuguchi, Y., Mori, Y., Ito, M., Miyazato, S., Kishimoto, Y., Yamada, T., Fukuda, S. (2022). Resistant maltodextrin intake reduces virulent metabolites in the gut

environment: A randomized control study in a Japanese cohort. *Frontiers in Microbiology*. 13: 1-9.

Noudoost, B. Noori, N. Abedini G.H., Basti, A., Javan, A., Ghadami, F. (2015). Encapsulation of green tea extract in nanoliposomes and evaluation of its antibacterial, antioxidant and prebiotic properties. *Journal of Medicinal Plants*. 55: 66-78.

Ochoa-Velasco, C.E., Ruíz-Espinosa, H., Estévez-Sánchez, K. (2019). A sequential method to estimate equilibrium point and diffusion coefficients of bioactive compounds during solid-liquid extraction. *Food and Bioproducts Processing*. 116: 219-226.

Ocieczek, A., Pulksza, T., Żyłka, K., Kirieieva, N. (2023). The influence of storage conditions on the stability of selected health-promoting properties of tea. *LWT Food Science and Technology*. 184: 1-9.

Olivo-Vidal, Z.E., Núñez, M.J. (2020) Pequeños ingredientes, grandes resultados. *Ecofronteras*. 24: 6-9.

Ortiz-Romero, N., Ochoa-Martínez, L.A., González-Herrera, S.M., Rutiaga-Quiñones, O.M., Gallegos-Infante, J.A. (2021). Avances en las investigaciones sobre la encapsulación mediante gelación iónica: una revisión sistemática. *TecnoLógicas*. 24: 1-19.

Osawa, R., Fukuda, I., Shirai, Y. (2024). Evaluating functionalities of food components by a model simulating human intestinal microbiota constructed at Kobe University. *Current Opinion in Biotechnology*. 87: 1-7.

Ossowski, M., Nowakowicz-Debek, B., Wlazlo, L., Król, J., Kasela, M., Maksym, P., Malm, J. (2019). Evaluation of microbiological contamination of black and green teas. *Advance Journal of Food and Technology*. 17: 65-71.

Palanivelu, J., Thanigaivel, S., Vickram, S., Dey, N., Mihaylova, D. y Desseva, I. (2022). Probiotics in functional food: survival assessment and approaches for improved viability. *Applied Sciences*. 12: 1-13.

Parra, H.R. (2010). Bacterias ácido-lácticas: papel funcional en los alimentos. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. 8: 93-105.

Parsana, Y., Yadav, M., Kumar, S. (2023). Microencapsulation in the chitosan-coated alginate-inulin matrix of *Limosilactobacillus reuteri* SW23 and *Lactobacillus salivarius* RBL50 and their characterization. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. 5: 1-11.

Peñarrieta, J.M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J.L., Bravo, J.A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Boliviana de Química*. 31: 68-81.

Pereira, V., Knor, F., Velloso, F., Beltrame, F. (2014). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*, 16: 490-498.

Pérez-Martínez, P., Ros, E., Pedro-Botet, J., Civeira, F., Pascual, V., Garcés, C., Solá, R., Pérez-Jiménez, F., Mostaza, J.M. (2023). Functional foods and nutraceuticals in the treatment of hypercholesterolemia: Statement of the Spanish Society of Arteriosclerosis 2023. *Clinica e Investigación en Arteriosclerosis*. 35: 248-261.

Petruzzello, C., Saviano, A., Ojetti, V. (2023). Probiotics, the immune response and acute appendicitis: A review. *Vaccines*. 11: 1-10.

Pham, V.T., Calatayud, M., Rotsaert, C., Seifert, N., Richard, N., Van den Abbeele, P., Marzorati, M., Steinert, R.E. (2021). Antioxidant vitamins and prebiotic FOS and XOS differentially shift microbiota composition and function and improve intestinal epithelial barrier *in vitro*. *Nutrients*. 13: 1-20.

Piekarska-Radzik, L., Klewicka, E. (2021). Mutual influence of polyphenols and *Lactobacillus spp.* bacteria in food: a review. *European Food Research and Technology*. 247: 9-24.

Plamada, D y Vodnar, C. (2022). Polyphenols - gut microbiota interrelationship: A transition to a new generation of prebiotics. *Nutrients*. 14: 1-27.

Pulido-Mateos, E.C., Lessard-Lord, J., Guyonnet, D., Desjardins, Y., Roy, D. (2022) Comprehensive analysis of the metabolic and genomic features of tannin-transformin *Lactiplantibacillus plantarum* strains. *Scientific Reports*.12: 1-15.

Puscaselu, R.G., Lobiuc, A., Dimian, M., Covasa, M. (2020). Alginate: From food industry to biomedical applications and management of metabolic disorders. *Polymers*. 12: 1-28.

Qaziyani, S.D., Pourfarzad, A., Gheibi, S., Nasiraie, L.R. (2019). Effect of encapsulation and wall material on the probiotic survival and physicochemical properties of synbiotic chewing gum: study with univariate and multivariate analyses. *Heliyon*. 5: 1-9.

Radeva-Ilieva, M., Stoeva, S., Hvarchanova, N., Georgiev, K.D. (2025). Green tea: Current knowledge and issues. *Foods*. 14: 1-31.

Rajha, H.N., Paule, A., Aragonés, G., Barbosa, M., Caddeo, C., Debs, E., Dinkova, R., Eckert, G.P., Fontana, A., Gebrayel, P., Maroun, R.G., Napolitano, A., Panzella, L., Pasinetti, G.M., Stevens, J.F., Schieber, A., Edeas, M. (2022). Recent advances in research on polyphenols: effects on microbiota, metabolism, and health. *Molecular Nutrition & Food Research*: 66: 1-11.

Ratnani, S., Malik, S. (2022). Therapeutic properties of green tea: A review. *Journal of Multidisciplinary Applied Natural Science*. 2: 90-102.

Rau, S., Gregg, A., Yaceczko, S., Limketkai, B. (2024). Prebiotics and probiotics for gastrointestinal disorders. *Nutrients*. 16: 1-22.

Reverón, I., De las Rivas, B., Matesanz, R., Muñoz, R., López de Felipe, F. (2015). Molecular adaptation of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 to gallic acid revealed by genome-scale transcriptomic signature and physiological analysis. *Microbial Cell Factories*. 14: 1-12.

Rezagholidade-shirvan, A., Soltani, M., Shokri, S., Radfar, R., Arab, M., Shamloo, E. (2024). Bioactive compound encapsulation: Characteristics, applications in food systems, and implications for human health. *Food Chemistry*. 24: 1-21.

Rodríguez, Y.A., Rojas, A.F., Rodríguez, S. (2016). Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias. *Biosalud*. 15: 106-115.

Rodríguez-Daza, M.C., Pulido-Mateos, E.C., Lupien-Meilleur, J., Guyonnet, D., Desjardins, Y., Roy, D. (2021). Polyphenol-mediated gut microbiota modulation: Toward prebiotics and further. *Frontiers in Nutrition*. 8: 1-24.

Rojas, M.F. (2021). Revisión bibliográfica de compuestos fenólicos, su efecto en la salud, métodos de encapsulación y digestión simulada *in vitro*. Universidad de Chile. Tesis de Maestría.

Rojas-Muñoz, Y.V., Santagapita, P.R., Quintanilla-Carvajal, M.X. (2023). Probiotics encapsulation: bead design improves bacterial performance during *in vitro* digestion. *Polymers*. 15: 1-14.

Sahin, O.I., Uzuner, K., Dunda, A.N., Parlak, M.E., Gul, L.B., Dagdelen, A.F., Saricaoglu, F.T., Simsek, S. (2023). Functional properties and bioaccessibility of alginate based phycocyanin-honey hydrogels. *Food Science and Technology*. 184: 1-10.

Salminen, S., Collado, M.C., Endo, A., Hill, C., Lebeef, S., Quigley, E.M.M., Sanders, M.E., Shamir, R., Swan, J.R., Szajewska, H., Vinderola, G. (2021). The international scientific association of prebiotics and probiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews*. 18: 649- 667.

Sharif, N., Jabeen, A.H. (2024). Natural sources for coumarins and their derivatives with relevance to health-promoting properties: A systematic review. *Trends in Phytochemical Research*. 8: 149-162.

Sharma, R., Diwan, B., Singh, B.P., Kulshrestha, S. (2022). Probiotic fermentation of polyphenols: potential sources of novel functional foods. *Food Production, Processing and Nutrition*. 4: 1-16.

Sánchez, L., Tromps, J. (2014). Caracterización *in vitro* de bacterias ácido-lácticas con potencial probiótico. *Revista de Salud Animal*. 36: 124-129.

Secretaría de Salud. (1994). NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa vertida. *Diario Oficial de la Federación*.

Secretaría de Salud. (1994). NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. *Diario Oficial de la Federación*.

Secretaría de Salud. (1994). NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de mohos y levaduras en alimentos. *Diario Oficial de la Federación*.

Shivani, T.M y Sathiavelu, M. (2024). Probiotic evaluation, adherence capability and safety assessment of *Lactococcus lactis* strain isolated from an important herb “*Murraya koenigii*”. *Scientific reports*. 14: 1-14.

Stable Micro Systems. (2008). Application study for TA.XTplus/TA.HDplus/Ta.XTexpress : Gel capsules. GCP1/P2. Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK.

Su, L., Nian, Y., Li, C. (2023). Microencapsulation to improve the stability of natural pigments and their applications for meat products. *Food Materials Research*. 3: 1-14.

Su, T., Du, W., Zeng, J., Gao, H., Liu, B. (2024). Construction of sodium alginate/trehalose/wheat starch ternary complex and its effects on storage stability of frozen dough system. *Food Chemistry*. 23: 1-9.

Tanaka, T., Matsuo, Y. (2020). Production mechanisms of black tea polyphenols. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 68: 1131-1142.

Tang, S.R., Sun, Y.X., Gu, T.T., Cao, F.F., Shen, Y.B., He, J.P., Xie, Z.X., Li, C. (2022). Phenolic compounds from *Gomphrena globosa* L: phytochemical analysis, antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibitory activities *in vitro*. *Journal of Food*. 1: 218-227.

Teferra, T.F. (2021). Possible actions of inulin as prebiotic polysaccharide: A review. *Food Frontiers*. 2: 407-416.

Teixeira, J., Machado, F., Gonzalvez, S., Dotto, G., Santos, E., Quevedo, P., Andreatza, R., Cavalheiro, S., Pieniz, S. (2023). Green tea and kombucha characterization: Phenolic composition, antioxidant capacity and enzymatic inhibition potential. *Food Chemistry*. 408: 1-7.

Temple, N.J. (2022). A rational definition for functional food: A perspective. *Frontiers in Nutrition*. 9: 1-4.

Tewari, S., Dubey, K.K., Singhal, R.S. (2018). Evaluation and application of prebiotic and probiotic ingredients for development of ready to drink tea beverage. *Journal of Food Scientists and Technologists*. 55: 1525-1534.

Tiwari, S., Kavitate, D., Suryavanshi, M.V., Shah, I.A., Devi, P.B., Reddy, G.B., Shetty, P.H. (2024). An expanding frontier in prebiotic research and synbiotic functional food development through exopolysaccharides from probiotic bacteria. *Food and Humanity*. 3: 1-12.

Torres-Cifuentes, D.M., Espiritu-Gordillo, P., Baylón-Pacheco, L., Rosales-Encína, J.L. (2021). Low molecular weight protein tyrosine phosphatase (LMW-PTP2) protein can potentially

modulate virulence of the parasite *Entamoeba histolytica*. *Molecular & Biochemical Parasitology*. 242: 1-10.

Unal Turhan, E. (2019). Optimization of entrapment substances for microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* Shirota against gastric conditions. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 25: 531-537.

Vergalito, F., Bagnoli, D., Maiuro, L., Pannella, G., Palombo, V., Testa, B., Coppola, F., Di Marco, R.A., Tremonte, P., Lombardi, S.J., Iorizzo, M., Coppola, R., Succi, M. (2024). *Akkermansia muciniphila*: new insights into resistance to gastrointestinal stress, adhesion, and protein interaction with human mucins through optimised *in vitro* trials and bioinformatics tools. *Frontiers in Microbiology*. 15: 1-13.

Wang, R., Sun, J., Lassabliere, B., Yu, B., Liu, S.Q (2022a). UPLC-Q-TOF-MS based metabolomics and chemometric analyses for green tea fermented with *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Lactiplantibacillus plantarum* 299V. *Current Research in Food Science*. 5: 471-478.

Wang, R., Sun, J., Lassabliere, B., Yu, B., Liu, S.Q. (2022b). Green tea fermentation with *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Lactiplantibacillus plantarum* 299V. *LWT-Food Science and Technology*. 157: 113081.

Wang, B., Qu, F., Wang, P., Zhao, L., Wang, Z Han, Y., Zhang, X. (2022c). Characterization analysis as flavor compounds in green teas at different drying temperature. *Food Science and Technology*. 161: 1-11.

Wang, H., Shen, S., Wang, J., Jiang, Y., Li, J., Yang, Y., Hua, J., Yuan, H. (2022d). Novel insight into the effect of fermentation time on quality of Yunnan Congou black tea. *Food Science and Technology*. 155: 1-11.

Wang, C., Han, J., Pu, Y., Wang, X. (2022e). Tea (*Camellia sinensis*): A review of nutritional composition, potential applications, and omics research. *Applied sciences*. 12: 1-20.

Wang, J.Q., Fu, Y.Q., Chen, J.X., Wang, f., Feng, Z.H., Yin, J.F., Zeng, L., Xu, Y.Q. (2022f). Effects of baking treatment on the sensory quality and physicochemical properties of green tea with different processing methods. *Food Chemistry*. 380: 1-10.

Wieërs, G., Belkhir, L., Enaud, R., Leclercq, S., Philippart de Foy, J.M., Dequenne, I., De Timary, P., Cani, P.D. (2020). How probiotics affect the microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 9: 1-9.

Wong, M., Sirisena, S., Ng, K. (2022). Phytochemical profile of differently processed tea: A review. *Journal Food Science*. 87: 1925-1942.

Wu, P., Dong, X. (2021). Validation of *in vitro* bioaccessibility assays - a key aspect in the rational design of functional foods towards tailored bioavailability. *Current Opinion in Food Science*. 29: 160-170.

Wu, L., Schroën, K., Corstens, M. (2024). Structural stability and release properties of emulsion- alginate beads under gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*. 150: 1-7.

Xu, C., Gantumur, M.-A., Sun, J., Guo, J., Ma, J., Jiang, Z., Wang, W., Zhang, J., Ma, Y., Hou, J., McClements, D. (2024). Design of probiotic delivery systems for targeted release. *Food Hydrocolloids*. 149: 1-15.

Xu, L., Xia, G., Luo, Z., Liu, S. (2019). UHPLC analysis of major functional components in six types of Chinese teas: Constituent profile and origin consideration. *Food Science and Technology*. 102:52-57.

Yang, F., Chen, C., Ni, D., Yang, Y., Tian, J., Li, Y., Chen, S., Ye, X., Wang, Li. (2023). Effects of fermentation on bioactivity and the composition of polyphenols contained in polyphenol-rich foods: A Review. *Foods*. 12: 1-32.

Yang, K., Duley, M.L., Zhu, J. (2018). Metabolomics study reveals enhanced inhibition and metabolic dysregulation in *Escherichia coli* induced by *Lactobacillus acidophilus*-fermented black tea extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66: 1386-1393.

Yang, S., Wei, S., Wu, Y., Fang, Y., Deng, Z., Xu, J., Zhang, H. (2024). Encapsulation techniques, action mechanisms, and evaluation models of probiotics: Recent advances and future prospects. *Food Frontiers*. 5: 1212-1239.

You, S., Ma, Y., Yan, B., Pei, W., Wu, Q., Ding, C., Huang, C. (2022). The promotion mechanism of prebiotics for probiotics: A review. *Frontiers in Nutrition*. 9: 1-22.

Yuan, X., Long, Y., Ji, Z., Gao, J., Fu, T., Yan, M., Zhang, L., Su, H., Zhang, W., Wen, X., Zhongshu, P., Chen, H., Wang, Y., Gu, X., Yan, B., Kaliannan, K., Shao, Z. (2018). Green tea liquid consumption alters the human intestinal and oral microbiome. *Molecular Nutrition & Food*. 62: 1-48.

Zeng, Y., Zhang, J., Zhang, Y., Men, Y., Zhang, B., Sun, Y. (2018). Prebiotic, immunomodulating, and antifatigue effects of konjac oligosaccharide. *Journal of Food Science*. 83: 3110-3117.

Zhang, L., Sousa, J., Mendanha, T., Boscacci, M., Araújo, M., Azevedo, L., Wang, Y., Granato, D. (2019). Multivariate effects of Chinese keemun black tea grades (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) on the phenolic composition, antioxidant, antihemolytic and cytotoxic/cytoprotection activities. *Food Research International*. 125: 1-10.

Zhang J., Bu, Y., Zhang, C., Yi, H., Liu, D., Jiao, J. (2020). Development of a low-cost and high-efficiency culture medium for bacteriocin Lac-B23 production by *Lactobacillus plantarum* J23. *Biology*. 171: 1-11.

Zhao, C.-N., Tang, G.-Y., Cao, S.-Y., Xu, X.-Y., Gan, R.-Y., Liu, Q., Mao, Q.-Q., Shang, A., Li, H.-B. (2019). Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark teas. *Antioxidants*. 8:1-14.

Zhao, T., Li, C., Wang, S., Song, X. (2022). Green tea (*Camellia sinensis*): A review of its phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Molecules*. 27: 1-23.

Zhao, J., Zeng, X., Xi, Y., Li, J. (2024). Recent advances in the applications of *Lactobacillus helveticus* in the fermentation of plant-based beverages: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 147: 1-11.

Zheng, X., Zhu, J., Zhang, X., Cheng, M., Zhang, Z., Cao, Z. (2018). The modulatory effect of nanocomplexes loaded with EGCG3"Me on intestinal microbiota of high fat diet-induced obesity mice model. *Journal of Food Biochemistry*. 12501: 1-8.

Ziemlewska, A., Nizioł-Łukaszewska, Z., Bujak, T., Zagórska-Dziok, M., Wójciak, M., Sowa, I. (2021). Effect of fermentation time on the content of bioactive compounds with cosmetic and dermatological properties in kombucha yerba mate extracts. *Scientific Reports*. 11: 1-15.