



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

“Evaluación de la sobrevivencia de *Lactobacillus casei*
subespecie casei y de parámetros fisicoquímicos en un
yogurt adicionado de fibra de brócoli”.

TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:

LICENCIADO EN QUÍMICA INDUSTRIAL

P R E S E N T A:

BRYAN DANIEL MARTÍNEZ REDONDA

ASESORA: DRA. RAQUEL GÓMEZ PLIEGO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional.**

Evaluación de la sobrevivencia de Lactobacillus casei subespecie casei y de parámetros fisicoquímicos en un yogurth adicionado de fibra de brócoli.

Que presenta el pasante: **Bryan Daniel Martínez Redonda**
Con número de cuenta: **416008106** para obtener el título de: **Licenciado en Química Industrial.**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Abril de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

| | NOMBRE | FIRMA |
|----------------------|------------------------------------|-------|
| PRESIDENTE | I.B.Q. Leticia Figueroa Villarreal | |
| VOCAL | I.A. Miriam Alvarez Velasco | |
| SECRETARIO | Dra. Raquel Gómez Pliego | |
| 1er. SUPLENTE | M.C. Víctor Hugo Vázquez Valadez | |
| 2do. SUPLENTE | Dra. Dolores Molina Jasso | |

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de **Microbiología Industrial L-502Anexo**, de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Dra. Raquel Gómez Pliego.

La investigación fue financiada con fondos de la **UNAM-DGAPA** del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica **PAPIIT IA210420**.

AGRADECIMIENTOS.

Quiero comenzar dando gracias a la UNAM por haber sido la institución que me dio todas las herramientas y conocimientos para formarme como el profesional que soy hoy en día.

Asimismo, agradezco a mi alma máter la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán la cual se convirtió en mi hogar durante este arduo camino, me dio conocimientos, abrigo en sus instalaciones, experiencias, amigos y lecciones que llevaré durante toda mi vida.

Me gustaría expresar mi gratitud a la directora de esta tesis la Dra. Raquel Gómez Pliego quien me ofreció su apoyo, tiempo, espacio y materiales para culminar con este trabajo del cual me siento profundamente orgulloso.

A mi madre, quien fue mi sustento y apoyo durante toda mi carrera, procurando que tuviera todo lo necesario, una persona que admiro por esforzarse diariamente en superarse y no conformarse con lo mínimo. No obstante, toda mi familia siempre me brindo su atención y motivación para continuar con el camino que había escogido, un camino que hoy culmina de manera exitosa y me hace muy feliz poder compartirlo con todos ellos, a pesar de que no todos estén.

A mis amigos, que más que mis compañeros se volvieron una familia con la cual convivía cinco días a la semana, poco a poco nos fuimos empujando para llegar victoriosos a nuestra meta, me enorgullezco de ellos y sé que el sentimiento es mutuo.

DEDICATORIAS.

Durante 5 años estuve rodeado de personas nuevas y no tan nuevas, compañeros que se volvieron amigos cercanos, viví de cerca con personas que se volvieron como de mi familia, el apoyo emocional que te brinda una persona solo por estar junto a ti al final de día tomando la cena es algo que influyó mucho para mantenerme enfocado en porque estaba lejos de mi familia nuclear esforzándome por superarme, compartiendo el mismo objetivo con mis compañeros esta tesis está dedicada especialmente a Saúl, un gran amigo que desafortunadamente no pudo concluir con ese sueño que todos perseguíamos, hoy este trabajo y este esfuerzo te lo dedico a ti porque sé que lo hubieras logrado también. Q.E.P.D.

| CONTENIDO | PÁGINA |
|--|---------------|
| RESUMEN..... | 13 |
| INTRODUCCIÓN..... | 14 |
| 1. MARCO TEÓRICO..... | 15 |
| 1.1. ALIMENTOS NUTRACEÚTICOS..... | 16 |
| 1.2. MICROBIOTA INTESTINAL..... | 18 |
| 1.3. PROBIÓTICO..... | 22 |
| 1.3.1 Clasificación..... | 23 |
| 1.3.2 Beneficios a la salud..... | 24 |
| 1.3.3 Lactobacillus casei sbsp. casei..... | 26 |
| 1.3.4 Ejemplos de alimentos probioticos..... | 27 |
| 1.4. PREBIÓTICOS..... | 29 |
| 1.4.1 Clasificación..... | 30 |
| 1.5. FIBRAS DIETÉTICAS..... | 33 |
| 1.5.1 Clasificación de fibras dietéticas..... | 35 |
| 1.6. FIBRA DE BRÓCOLI..... | 38 |
| 1.6.1. Composición química del brócoli..... | 39 |
| 1.6.2 Composición química de la fibra de brócoli..... | 40 |
| 1.6.3. Beneficios a la salud..... | 41 |
| 1.6.4. Uso en alimentos..... | 43 |
| 1.7. YOGURT..... | 43 |
| 1.7.1. Factores que influyen en la vida útil del yogurt..... | 44 |
| JUSTIFICACIÓN..... | 49 |
| 2. OBJETIVOS..... | 50 |
| 2.1 OBJETIVO GENERAL..... | 50 |
| 2.2 OBJETIVOS PARTICULARES..... | 50 |
| 2.3 HIPÓTESIS..... | 51 |
| 3. METODOLOGÍA..... | 52 |
| 3.1. PREPARACIÓN DE BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS..... | 52 |
| 3.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO..... | 54 |
| 3.4. ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS..... | 56 |
| 3.4.1. Determinación de pH..... | 56 |
| 3.4.2. Determinación de acidez titulable expresada como porcentaje de ácido láctico..... | 57 |
| 3.3.3. Determinación de viscosidad..... | 57 |
| 3.4.4. Determinación de humedad por el método de termobalanza..... | 58 |
| 3.4.5. Determinación de sinéresis..... | 59 |
| 3.4.6. Análisis estadístico..... | 60 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 64 |
| CONCLUSIONES..... | 78 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 80 |

Lista de Abreviaturas.

| Abreviatura | Significado |
|--------------------|--|
| AACC | Por sus siglas en Inglés, American Association of Cereal Chemist. |
| ACL | Ácido Linoleico Conjugado. |
| AGCC | Ácidos Grasos de Cadena Corta. |
| ALC | Ácidos Linoleico Conjugado. |
| ATP | Adenosín Trifosfato. |
| BAL | Bacterias Ácido Lácticas. |
| DM T2 | Diabetes Mellitus Tipo 2. |
| ENSANUT | Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. |
| FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. |
| FD | Fibra Dietética. |
| FDI | Fibra Dietética Insoluble. |
| FDS | Fibra Dietética Soluble. |
| FOS | Fructooligosacaridos. |
| IMC | Índice de Masa Corporal. |
| MI | Microbiota Intestinal. |
| MTGI | Microbiota del Tracto Gastrointestinal. |
| MRS | Por sus siglas en inglés, Man, Rogosa y Sharpe. |
| N | Normalidad. |
| NT | Nutraceutico. |
| OCDE | Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos. |
| OMS | Organización Mundial de la Salud. |
| SSFE | Solución Salina Fisiológica Estéril. |
| USDA | Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. |

Índice de Figuras

| No. de Figura | Descripción | Página |
|------------------|---|--------|
| Figura 1 | Dietas hipercalóricas y sus consecuencias. | 15 |
| Figura 2 | Morfología de <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> y <i>Firmicutes</i> . | 20 |
| Figura 3 | Ruta metabólica de la fermentación homoláctica. | 23 |
| Figura 4 | Efecto benéfico en el intestino y el colon por el consumo regular de probióticos. | 25 |
| Figura 5 | <i>Lactobacillus casei sbsp casei</i> vista a 100x en microscopio óptico. | 27 |
| Figura 6 | Estructura molecular de 1-kestosa, nistosa e inulina. | 31 |
| Figura 7 | Proceso de degradación de la fibra dietética por la microbiota intestinal y producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). | 33 |
| Figura 8 | Fermentación bacteriana de polisacáridos colónicos. | 34 |
| Figura 9 | Clasificación de fibras. | 35 |
| Figura 10 | Cereales integrales que promueven una sana digestión y evacuación debido a sus propiedades fisicoquímicas. | 37 |
| Figura 11 | Alimentos ricos en FDS. | 37 |
| Figura 12 | Algunos beneficios del brócoli en la salud de los consumidores. | 39 |
| Figura 13 | Bebidas lácteas antes de llevar a cabo el proceso de fermentación. | 53 |
| Figura 14 | Bebidas lácteas fermentadas. | 53 |
| Figura 15 | Diagrama que ejemplifica las diluciones y sembrados realizados. | 54 |

| | | |
|------------------|---|----|
| Figura 16 | Jarras de anaerobiosis generadas con sobres GasPak™ EZ, y/o c GasPak™. | 55 |
| Figura 17 | Crecimiento de <i>Lactobacillus casei</i> spp. <i>casei</i> en agar MRS utilizando la técnica de sembrado masivo. | 55 |
| Figura 18 | Potenciómetro Hanna utilizado para la determinación de pH. | 56 |
| Figura 19 | Determinación de viscosidad utilizando el viscosímetro de Brookfield. | 58 |
| Figura 20 | Termobalanza en funcionamiento para la determinación de humedad. | 59 |
| Figura 21 | Muestra de yogurt sin centrifugar y centrifugadas. | 60 |

Índice de Tablas

| No. de Tabla | Descripción | Página |
|---------------------|---|---------------|
| Tabla 1 | Principales componentes nutraceuticos. | 17 |
| Tabla 2 | Bacterias benéficas y patógenas encontradas comúnmente en la microbiota intestinal. | 21 |
| Tabla 3 | Microorganismos más comunes considerados probióticos. | 25 |
| Tabla 4 | Metabolismo de <i>Lactobacillus casei spp casei</i> . | 26 |
| Tabla 5 | Alimentos con propiedades probióticas más comunes. | 28 |
| Tabla 6 | Propiedades químicas, físicas y fisiológicas de la fibra dietética. | 36 |
| Tabla 7 | Análisis del perfil nutricional de los principales macronutrientes que puede contener el brócoli crudo. | 39 |
| Tabla 8 | Análisis del perfil nutricional de los principales micronutrientes que puede contener el brócoli crudo. | 40 |
| Tabla 9 | Análisis del perfil nutricional de las principales vitaminas que puede contener el brócoli crudo. | 40 |
| Tabla 10 | Cantidad de fibra dietética en 100 g de muestra comestible de brócoli. | 41 |
| Tabla 11 | Contenido de polisacáridos en 100 g de muestra comestible de brócoli. | 41 |
| Tabla 12 | Comparación nutricional del brócoli con algunos otros vegetales comunes en dietas balanceadas por cada 100 g de alimento crudo. | 42 |
| Tabla 13 | Cambios en la sobrevivencia de <i>Lactobacillus casei</i> sbsp <i>casei</i> a lo largo del tiempo \pm su error estándar. | 64 |
| Tabla 14 | Cambios en el pH a lo largo del tiempo. | 67 |
| Tabla 15 | Cambios en la acidez a lo largo del tiempo. | 69 |

| | | |
|-----------------|---|----|
| Tabla 16 | Cambios en la humedad a lo largo del tiempo. | 71 |
| Tabla 17 | Cambios en la sinéresis a lo largo del tiempo. | 73 |
| Tabla 18 | Cambios en la viscosidad a lo largo del tiempo. | 76 |

Índice de Gráficas

| No. de Gráfica | Descripción | Página |
|------------------|--|--------|
| Gráfica 1 | Cambios en la sobrevivencia de <i>Lactobacillus casei</i> <i>sbsp casei</i> a lo largo del tiempo. | 64 |
| Grafica 2 | Cambios en el pH a lo largo del tiempo. | 67 |
| Grafica 3 | Cambios en la acidez a lo largo del tiempo. | 69 |
| Grafica 4 | Cambios en la humedad a lo largo del tiempo. | 72 |
| Grafica 5 | Cambios en la viscosidad a lo largo del tiempo. | 74 |
| Grafica 6 | Cambios en la sinéresis a lo largo del tiempo. | 76 |

Resumen.

México ocupa el segundo lugar en obesidad en adultos y primer lugar en obesidad infantil uno de los principales factores que favorecen esta enfermedad es el alto consumo de dietas hipercalóricas las cuales se caracterizan por su alto contenido de grasas y carbohidratos. Considerando que el yogurt es uno de los alimentos de mayor consumo a nivel mundial y dada la necesidad de contar con alimentos que posean un alto valor nutrimental, que se encuentren el alcance de los consumidores y además que conserven sus propiedades nutrimentales y funcionales al momento de su consumo y durante su vida de anaquel.

En el presente trabajo se elaboró un yogurt adicionado con probióticos (*Lactobacillus casei subsp. casei*) y prebióticos (fibra de brócoli) y un yogurt control, se evaluó el efecto de fibra de brócoli en la sobrevivencia *L.casei* y sobre variables fisicoquímicas (pH, porcentaje de ácido láctico, porcentaje de humedad, sinéresis y viscosidad) durante seis semanas en refrigeración a $4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Los resultados mostraron que el yogurt adicionado de fibra de brócoli favoreció la sobrevivencia y reproducción de *Lactobacillus casei* en refrigeración a 4°C comparado con el yogurt control, mientras que, a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento el pH disminuyó y el porcentaje de acidez titulable expresado como porcentaje de ácido láctico aumentó. El yogurt adicionado de fibra de brócoli mostró una mayor acidez que el yogurt control. Propiedades como la viscosidad y humedad no presentaron diferencias significativas ($p > 0.5$), al comparar los resultados de la sinéresis de los yogures control vs adicionado de fibra de brócoli, fueron significativamente diferentes ($P < 0.5$), el sistema con brócoli tuvo una sinéresis menor al de yogurt control lo que pudiera indicar que la fibra crea un sistema más estable por su mayor capacidad para retener agua.

Finalmente, mediante un análisis de varianza unifactorial (ANOVA) de medidas repetidas, seguida por una prueba Post Hoc de Tukey, se determinó si existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los dos yogures control y el adicionado de fibra de brócoli en los diferentes parámetros evaluados a lo largo del tiempo.

Introducción.

El estilo de vida actual promedio se ha modificado en los últimos años, siendo muy acelerado debido a que un alto porcentaje de la población trabaja jornadas laborales muy largas, sedentarias y muchas veces acompañadas de comida rápida ya que es la que está al alcance de su mano. Lo anterior conlleva a una mala alimentación ya que en su mayoría son dietas hipercalóricas, es decir, altas en grasa y carbohidratos.

La falta de ejercicio, tiempo y el consumo de alimentos altos en calorías han dado como resultado un incremento en el índice de masa corporal (IMC), sobrepeso, obesidad y enfermedades derivadas del síndrome metabólico, tales como hipertensión y diabetes (Contreras J. 2002).

En el 2018 el INEGI reportó que un alto porcentaje de la población mexicana consume dietas con un bajo contenido en frutas, verduras, y un alto consumo de bebidas endulzadas, botanas, postres y comida alta en grasa. Lo cual se ha visto reflejado en un incremento en el índice de enfermedades metabólicas, como las mencionadas anteriormente.

Debido a lo anterior, se hace necesario y urgente ofrecer opciones de alimentos que cumplan con los estándares nutricionales y que aporten el contenido energético que requiere el organismo con beneficios extras a la salud como lo son los alimentos nutraceuticos. Dentro de los componentes considerados como nutraceuticos podemos citar los adicionados de prebióticos y probióticos, los cuales desempeñan una función a nivel gastrointestinal, fortaleciendo la microbiota intestinal benéfica y creando una serie de reacciones metabólicas que favorecen la colonización de bacterias benéficas para el organismo, lo que culminan con una mejor digestión de los alimentos, prevención de enfermedades como el cáncer de colon, obesidad, mejora del sistema inmunológico, prologan la sensación de saciedad e incluso disminuyen los niveles de colesterol en el organismo (Schrezenmeir, 2001).

1. Marco Teórico.

El acelerado estilo de vida de la población, propio de finales del siglo XX e inicios del siglo XXI, ha generado importantes cambios en la alimentación, no solo a nivel nacional sino a nivel mundial. El consumo de alimentos de rápida y fácil preparación ha aumentado de manera considerable en los últimos años, prevaleciendo un incremento en el consumo de alimentos hipercalóricos, los cuáles se caracterizan por ser ricos en grasa, azúcares y sal, pero pobres en proteína, vitaminas, minerales, fibra y otros micronutrientes, **(Figura 1)**. El consumo de este tipo de dietas trae como consecuencia diversas enfermedades metabólicas tales como: sobrepeso, obesidad, hipertensión, dislipidemia, Diabetes mellitus tipo 2, (DM 2) por mencionar algunas.



Figura 1. Dietas hipercalóricas y sus consecuencias.
Imagen: laopinion.com.co/vida-y-salud

El consumo de dietas hipercalóricas, acompañado de una vida cada vez más sedentaria donde la población pasa la mayor parte de su tiempo sentado debido a la automatización de muchas actividades laborales, los métodos de transporte, el tipo de vivienda; casas más pequeñas (Contreras J. 2002), factores tales como genéticos, ambientales, sociales, económicos, por mencionar algunos ha traído como consecuencias el aumento de los índices de enfermedades metabólicas tales como las mencionadas anteriormente.

Considerando que dentro de los cambios que ha sufrido el mundo en los últimos años, es la modificación de los hábitos alimenticios ya que las dietas que prevalecen en el mercado son las de rápida preparación las cuales en la mayoría de los casos suelen ser más económicas y accesibles, pero también hipercalóricas. Por lo anterior, es importante la formulación y desarrollo de nuevos alimentos que se caractericen por poseer un alto valor nutrimental y libre de calorías vacías, tales como, los alimentos nutraceúticos.

1.1. Alimentos nutraceúticos.

El concepto “*nutraceúticos*” fue postulada por el endocrinólogo y farmacólogo Stephen De Felice (1990), el cual se refiere a ellos como un grupo de sustancias para el cuidado de la salud que han sido comprobados científicamente, en general se refiere a componentes y/o nutrientes de origen vegetal o animal. Cabe recalcar que no se refiere a nutrientes que deban ser parte de la dieta como los carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, sino que deben aportar algún tipo de beneficio extra nutricional, por ejemplo, que ayuden al tratamiento y/o prevención de algunas enfermedades, aunque también pueden presentarse como complemento de algunos fármacos y que al mismo tiempo puedan ser ingeridos en una comida convencional (Valenzuela A, 2014).

De acuerdo a esta definición podemos englobar una amplia gama de productos que pueden cumplir la función antes mencionada, cada uno con funciones distintas pero benéficas para la salud de los consumidores. En la **Tabla 1** se ejemplifican algunos componentes que son considerados nutraceúticos, así como los alimentos que los aportan y su función al ser consumidos. Entre los componentes más destacables se mencionan a los probióticos y prebióticos, los cuales al incorporarse dentro de la dieta (efecto simbiótico) presentan gran influencia en el intestino y colon ya que ayudan a mantener una microbiota saludable.

Tabla 1. Principales componentes nutraceuticos. (Alvidrez A, 2002).

| Clase/ Componente | Origen | Beneficio potencial |
|------------------------------|-------------------|--|
| Carotenoides | | |
| Beta caroteno | Zanahoria | Neutraliza radicales libres que podrían dañar a las células. |
| Luteína | Vegetales verdes | Contribuyen a una sana visión. |
| Licopeno | Tomate | Reducen el riesgo de cáncer de próstata. |
| Fibras dietéticas | | |
| Fibra insoluble | Cascara de trigo | Reduce el riesgo de cáncer de colon. |
| Beta glucano | Avena | Reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares. |
| Fructooligosacaridos | Achicoria | Podría mejorar la salud gastrointestinal. |
| Ácidos grasos | | |
| Omega 3, ácido graso DHA | Aceites de peces | Reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares. |
| Flavonoides | | |
| Catequinas | Té | Neutraliza radicales libres. |
| Flavonas | Cítricos | Podría reducir el riesgo de cáncer. |
| Esteroles vegetales | | |
| Ester estanol | Maíz, soya, trigo | Reduce los niveles de colesterol sanguíneo. |
| Probióticos | | |
| <i>Lactobacillus</i> | Yogurt | Benéfico para el intestino y colon. |
| <i>Bifidobacterium</i> | Yogurt | Trata la diarrea y el síndrome de colon irritable. |

La variedad de alimentos nutraceúticos, que podemos encontrar hoy en día en el mercado es muy amplia, debido a que muchos de estos son del agrado de los consumidores, es por eso que la industria alimenticia se empeñan en brindarlos en distintas presentaciones, siendo los derivados de cereales con fibra y granos enteros de los productos más utilizados: galletas, pan, bollos o incluirlos como un ingrediente más en yogures con el propósito de buscar un equilibrio en la dieta de aquellos que lo consumen.

1.2. Microbiota Intestinal

El intestino es de suma importancia cuando hablamos de nutrición, ya que en él se llevan a cabo dos procesos principales: la absorción de nutrientes mediante un complejo sistema compuesto de sensores, receptores, glándulas y secreciones que se dedica a reconocer analítica y bioquímicamente toda sustancia que transita por el tubo digestivo, y por otro lado una línea de defensa contra cualquier toxina o amenaza ya sea de origen exógeno o endógeno (Guarner, 2007). Para realizar estos procesos de forma correcta son indispensables dos elementos: hablamos de la mucosa intestinal y la microbiota del tracto gastrointestinal (MTGI), es importante recalcar que ambas son condicionadas por la alimentación (Gimeno, 2004).

El término microbiota se refiere al conjunto de microorganismos que viven y se reproducen en un nicho ecológico determinado. Al hablar de la microbiota intestinal (MI) se refiere a todos los microorganismos que se alojan permanentemente en el intestino delgado y colon, aunque algunas veces estos pueden tener una función transitoria, es decir no se adhieren a la pared intestinal, pero siguen cumpliendo la función de degradar aquellos carbohidratos que las enzimas del cuerpo no pueden asimilar para después ser excretados del cuerpo mediante las heces (Icaza-Chávez, 2013).

Un dato relevante es que la microbiota entre las personas es diferente ya que solo un tercio de la MI es común entre la población, los dos tercios restantes suelen ser específicos para cada individuo, esto puede explicar cierta diferencia en cuanto a

resistencia a patógenos, en la buena o mala digestión de algunos alimentos y en general el estado de salud entre miembros de una misma comunidad. La MI ha sido agrupada en tres tipos de especies dominantes denominadas enterotipos, las cuales se encuentran en distintas proporciones de acuerdo a la dieta y son:

1. *Bacteroides*, 2. *Prevotella* y 3. *Firmicutes* (Rhee, 2009).

La especie *Bacteroides*, (**Figura 2. A**) es la predominante en personas que ingieren dietas ricas en proteínas y grasas, además de ser la más común a nivel mundial, por otra parte, el consumo de dietas ricas en fibras y polisacáridos favorecen que predomine el género *Prevotella*, (**Figura 2. B**) mientras que el género *Firmicutes*, (**Figura 2. C**) se encuentra en mayor proporción en personas obesas las cuales consumen dietas altas en grasa, no obstante, el género *Lactobacillus* pertenece a este enterotipo, lo cual demuestra que no todas las *Firmicutes* son dañinas para el organismo, pero su concentración no debe ser mayor al filo *Bacteroides*, de lo contrario habrá un mayor riesgo de padecer obesidad (Estrada-Velasco, 2015). Además de estos enterotipos algunos autores incluyen el filo *Actinobacteria* el cual incluye a *Bifidobacterium* como el género más popular de este grupo de bacterias (Ochoa, 2013).

Si bien es cierto que la dieta juega un papel muy importante en la MI y directamente en la salud de los consumidores también lo es el hecho de que factores como el medio ambiente, la carga genética, estrés, consumo de antibióticos y edad influyen de manera contundente en el tipo de microbiota que posee cada individuo (Aceves, 2017).

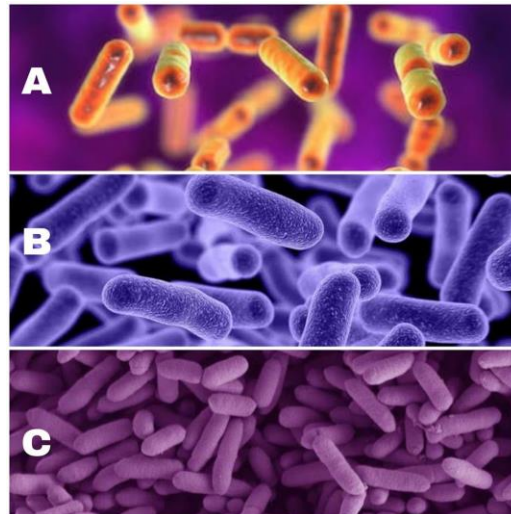


Figura 2. Morfología de **A. *Bacteroides***, **B. Firmicutes** y **C. *Prevotella***. Imágenes ilustrativas: shutterstock.com / floratil.mx / ecured.cu

La microbiota intestinal se compone por más de 100 billones de bacterias de aproximadamente 400 especies distintas, esto representa un 95% del total de bacterias que alberga nuestro cuerpo. La MI es un ecosistema muy delicado que se forma tras el nacimiento iniciando con bacterias aerobias, principalmente *E. coli* y otras bacterias del género *Lactobacillus*. Posteriormente por medio de la alimentación es cuando se fijan bacterias anaeróbicas, de las cuales los géneros más predominantes son *Bacteroides*, *Clostridium*, *Eubacterium* y *Bifidobacterium*. A pesar de esto, la microbiota no ha sido definida completamente puesto que un 50% de las especies que se encuentran en el intestino no crecen en medios de cultivo comunes, por lo que se ha optado hacer determinaciones por biología molecular donde se han identificado especies que eran desconocidas (Suau, 1999).

A pesar de estas limitaciones se han reportado géneros de bacterias que son benéficas para el ser humano, así como sus contra partes que suelen ser patógenas. En la **Tabla 2** se presentan los géneros más comunes tanto de bacterias benéficas como de patógenas.

Tabla 2. Bacterias benéficas y patógenas encontradas comúnmente en la microbiota intestinal. (Suau, 1999)

| Bacterias benéficas. | Bacterias patógenas |
|-----------------------------|--------------------------------|
| <i>Bifidobacterium</i> | <i>Veillonela</i> |
| <i>Lactobacillus</i> | <i>Clostridium perfringens</i> |
| <i>Eubacterium</i> | <i>Staphylococcus</i> |
| <i>Streptococcus</i> | <i>Proteus</i> |

Idealmente la proporción de bacterias benéficas debe ser mucho mayor a las patógenas para tener una microbiota saludable la cual actuará en forma positiva en la salud del huésped. Entre las múltiples funciones benéficas que conlleva a tener una microbiota saludable se encuentran principalmente tres:

1. Función de nutrición y metabolismo: Aquellos alimentos o sustratos que no se pueden degradar y asimilar por las enzimas que produce nuestro cuerpo pueden ser utilizados por la microbiota dando paso a una recuperación de energía a partir de “desechos” en forma de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), producción de vitaminas que el cuerpo no puede sintetizar y el aumento en la eficiencia de la absorción de cationes como el calcio y el hierro en el colon (Guarner, 2003).
2. Funciones de protección: Como se mencionó anteriormente existen dos tipos de bacterias en el intestino aquellas que son benéficas y las que son patógenas, se ha demostrado que algunas bacterias de la microbiota cuando se encuentra en un estado saludable puede inhibir el crecimiento de otras bacterias patógenas mediante la producción de bacteriocinas, creando un efecto barrera el cual mantiene saludable al huésped (Brook, 1999) (Zamudio-Vazquez, 2017).
3. Funciones tróficas: Las bacterias pueden controlar la proliferación y diferenciación de las células epiteliales. Se han hecho estudios donde se crían animales en condiciones de asepsia, es decir, completamente aislados

de un ecosistema, donde se observa una baja concentración de células linfoides en la mucosa del intestino delgado, la estructura de los folículos linfoides está atrofiada y la concentración de inmunoglobulinas circulantes es anormalmente baja. Inmediatamente después de la exposición a una microbiota convencional, aumenta el número de linfocitos de la mucosa, los centros germinales crecen en número y tamaño, apareciendo rápidamente en los folículos linfoides y en las células productoras de inmunoglobulinas (Yamanaka T, 2003).

La microbiota intestinal debe encontrarse en un estado de equilibrio para que el huésped se encuentre en buen estado de salud, ya que factores como la mala alimentación y consumo de antibióticos pueden ser dañinos y desembocar en enfermedades, por ejemplo, el cáncer. El cuidado correcto de la microbiota no es complicado, ya que una alimentación adecuada rica en fibra dietética (prebióticos) puede contribuir al crecimiento de bacterias benéficas (probióticos) e inhibir la reproducción de bacterias patógenas. Además, se puede optar por la administración de forma oral de bacterias benéficas de los géneros mencionados en cantidades considerables, tales como los probióticos.

1.3. Probiótico

Hoy en día el concepto de probióticos es muy utilizado en el área alimenticia e incluso farmacéutica, no obstante, es difícil que los consumidores sepan con precisión a lo que se refieren cuando hablan de probióticos lo cual puede ocasionar confusión al momento de hablar de ellos. La ONU en conjunto con la FAO definieron en el 2001 a los probióticos como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio en la salud del huésped". Es decir aquellas bacterias y en ocasiones levaduras y hongos que al ser consumidas de forma oral y con una concentración determinada pueden resistir el pH ácido del estómago y de esta manera llegar al intestino delgado y colon intactas donde se implantan y/o colonizan para posteriormente realizar un proceso conocido como fermentación en el cual degradan trazas de alimentos tales como

las fibras que las enzimas digestivas no pueden metabolizar y generan una diversidad de metabolitos benéficos para el consumidor (Schrezenmeir, 2001).

1.3.1 Clasificación

Hoy en día hay una gran cantidad de microorganismos que son considerados probióticos, es por eso que la clasificación se rige principalmente por los géneros de los mismos, los cuales son principalmente: *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*, *Bacillus spp* y *Saccharomyces spp*, aunque algunas especies de *Streptococcus* y *Enterococcus* también son considerados probióticos (Amirreza, 2015). Además cabe resaltar que los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* pertenecen a un grupo de bacterias llamadas bacterias ácido lácticas (BAL) nombre que se les da debido a su capacidad de producir ácido láctico, mediante una ruta metabólica conocida como fermentación láctica, la cual se divide en dos tipos: la fermentación heteroláctica y la fermentación homoláctica, las diferencias radican principalmente en los productos, puesto que en el primero caso además de producir ácido láctico también se produce CO₂ y etanol. A continuación, se presenta la ruta metabólica de la fermentación homoláctica la cual presenta una gran importancia a nivel industrial. (Oliveira, 2016)

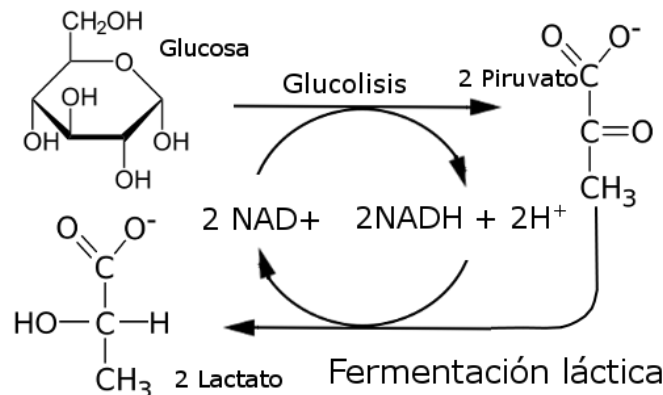


Figura 3. Ruta metabólica de la fermentación homoláctica. (Carbonero-Zalduegui, 1975)

Las bacterias en general deben presentar las siguientes características en cuanto a sus mecanismos de acción para ser consideradas probióticos. (Tormo, 2006)

- Sobrevivir al pH ácido del estómago para llegar vivas al intestino.
- Encontrarse en una cantidad mayor a 1×10^6 UFC/ml.
- Inducción de pH menor a 4.
- Inhibición del crecimiento de bacterias patógenas.
- Producción de ácido láctico.
- Disminución de la permeabilidad intestinal.
- Efecto competitivo en otras bacterias patógenas.
- Reducción en el tiempo de eliminación del rotavirus.
- Incremento en la producción de linfocitos *T helper*.
- Aumento de la inmunoglobulina.

1.3.2 Beneficios a la salud

En 1908, Elia Metchnikoff reportó la importancia del consumo de leche fermentada con la especie *Lactobacillus* debido a que inhibía el crecimiento de bacterias patógenas de la microbiota intestinal mejorando la salud de pastores de los Balcanes. El consumo de probióticos toma cada vez más importancia debido a los múltiples beneficios que se les han adjudicado, por lo que las industrias de alimentos e incluso farmacéuticas se han dado a la tarea de ofrecer productos que contengan bacterias probióticas con efectos benéficos en la salud de los consumidores.

El consumo de leches fermentadas tales como el yogur adicionado con probióticos provocan un efecto positivo en la digestibilidad de la lactosa, promueven la regulación intestinal, mejoran la respuesta inmune, ayudan a prevenir ciertos tipos de cáncer como el de colon, regulan los valores de colesterol plasmático, disminuyen la obesidad, debido a que se alojan principalmente en el intestino grueso y colon, (**Figura 4**).



Figura 4. Efecto benéfico en el intestino y el colon por el consumo regular de probióticos. Foto: euromundoglobal.com

La diversidad de probióticos que hay hoy en día es muy grande, a continuación, se presenta en la **Tabla 3** un listado de los probióticos más comunes en el mercado.

Tabla 3. Microorganismos más comunes considerados probióticos. (Amirreza, 2015)

| Genero | Especie |
|-----------------------------|--|
| <i>Lactobacillus spp.</i> | <i>acidophilus</i> <i>plantarum</i> <i>rhamnosus</i> <i>paracasei</i> <i>fermentum</i> <i>reuteri</i> <i>johnsonii</i> <i>brevis</i> <i>casei</i> <i>lactis</i> <i>delbrueckii gasseri</i> |
| <i>Bifidobacterium spp.</i> | <i>breve</i> <i>infantis</i> <i>longum</i> <i>bifidum</i> <i>thermophilum</i> <i>adolescentis</i> <i>animalis</i> <i>lactis</i> |
| <i>Bacillus spp.</i> | <i>coagulanos</i> |
| <i>Streptococcus spp.</i> | <i>thermophilus</i> |
| <i>Enterococcus spp.</i> | <i>feccio</i> |
| <i>Saccharomyces spp.</i> | <i>cerevisiae</i> |

Sin duda el género *Lactobacillus* tiene un impacto muy grande en el mundo de los probióticos debido a la gran cantidad de especies que son consideradas probióticos, además de presentar características únicas que lo hacen uno de los mejores candidatos para seleccionar un probiótico. Las bacterias del género *Lactobacillus* han sido estudiadas por sus efectos en el tracto gastrointestinal, se trata de bacterias Gram positivas, anaerobias facultativas o microaerófilas, baciliformes, no generadoras de esporas, inmóviles y productoras de ácido láctico.

Las características bioquímicas de *Lactobacillus* se reportan en la **Tabla 4**

Tabla 4. Metabolismo de *Lactobacillus* spp. (MacFaddin, 2003)

| Prueba | Resultado |
|--|-----------|
| Fermentación de glucosa en ácido láctico | + |
| Catalasa | - |
| Oxidasa | - |
| Reducción de nitratos | - |
| Indol | - |
| Ácido sulfhídrico | - |
| Aerobia facultativa | + |
| Licuefacción de gelatina | - |

1.3.3 *Lactobacillus casei* sbsp. *casei*

Lactobacillus casei es una cepa ampliamente usada debido a su resistencia a los jugos gástricos y a la digestión biliar, a su capacidad de implantarse en el colon humano, por no poseer plásmidos, lo que le confiere una resistencia estable a los antibióticos, porque solo produce ácido láctico (no el isómero D), en su membrana expresa factores adhesivos que permiten su interacción con los enterocitos humano (Hariom, 2007).

Perdigón en 1988, reportó que en ratas diabéticas (inducidas por fructosa), *Lactobacillus* disminuye la intolerancia a la glucosa, la hiperglucemia, la hiperinsulinemia, la dislipidemia y el estrés oxidativo, dando como resultado una disminución del riesgo de contraer diabetes y sus complicaciones. Así mismos estos

autores indicaron que existe aumento en la actividad fagocítica y linfocítica, dando como resultado un incremento en la respuesta inmune (Perdigón, 1988).

Debido a sus propiedades homolácticas y probióticas *Lactobacillus casei* es utilizado en el área alimenticia, por ejemplo, en la producción de quesos, leche refinada, bebidas a base de leche fermentada, etc. Ya que su producción únicamente de ácido láctico provee un efecto de conservador además de aportar todos los beneficios de un probióticos, tales como ayudar a la digestión de alimentos, evitar infecciones gastrointestinales, aumentar la tolerancia a la lactosa, entre otros.

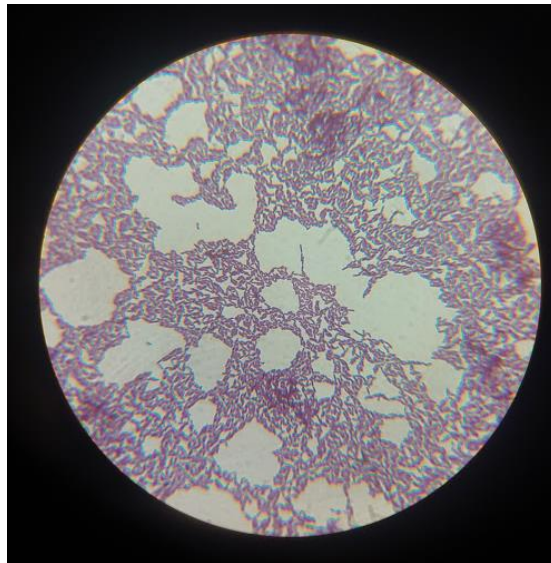


Figura 5. *Lactobacillus casei sbsp casei* vista a 100x en microscopio óptico. Fotografía tomada en el laboratorio de Microbiología Industrial de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

1.3.4 Ejemplos de alimentos probióticos

A lo largo del tiempo distintas culturas han creado alimentos con propiedades probióticas, hoy en día es sencillo acceder a una gran variedad de probióticos de muchos tipos, en la **Tabla 5** se presentan algunos ejemplos de alimentos considerados probióticos.

Tabla 5. Alimentos con propiedades probióticas más comunes. (Gimeno, 2004)

| Alimento | Descripción | Microorganismos utilizados |
|-----------------------------|--|--|
| Kéfir | Es un alimento originario de Rusia y Turquía, es muy similar al yogurt ya que se produce mediante la fermentación de leche con una mezcla de bacterias y levaduras. | <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> |
| Aceitunas y encurtidos | Cuando estos alimentos se ponen en salmuera, comienza un proceso de fermentación que da como producto un alimento rico en bacterias y levaduras probióticas. | <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> |
| Tempeh | Muy famoso en la cocina vegana, este alimento tiene su origen en indonesia y consiste en la fermentación de la soja. | <i>Rhizopus oligosporus</i> |
| Miso | Elaborada con semillas de soja, habas o arroz, las cuales se fermentan con la bacteria <i>Lactobacillus acidophilus</i> , es una pasta espesa de sabor salado y amargo. | <i>Aspergillus oryzae</i> |
| Kombucha | Es una bebida a base de té fermentado por un grupo de bacterias y levaduras llamado SCOBY, su origen se dio con la medicina tradicional china. Es una bebida muy alta en vitaminas, a la cual se le atribuyen propiedades antioxidantes y depurativas. | <i>Medusomyces gisevi</i> <i>Bacterium xylinum</i> <i>Saccharomyces ludwigii</i> <i>Gluconobacter oxydans</i> <i>Schizosaccharomyces pombe</i> |
| Quesos | Entre los quesos con propiedades probióticas se encuentra roquefort, camembert gouda, mozzarella, Edam, comté, algunos requesones. | <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Leuconostoc cremoris</i> <i>Penicillium camembert</i> <i>Penicillium roqueforti</i> |
| Bebidas lácteas fermentadas | El ejemplo más famoso es Yakult, una bebida láctea fermentada de origen japonés. | <i>Lactobacillus casei shirota</i> |

Así como hay alimentos adicionados de probióticos la industria farmacéutica se ha dado a la tarea de presentar en formas farmacéuticas probióticos, de manera que sean administrados de una forma más práctica. Entre las especies de bacterias más utilizadas en la industria farmacéutica se encuentran: *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbruekii*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus ramosus*,

Lactobacillus paracasei, *Sacharomyces. thermophilus*, *Sacharomyces faecium* y *Sacharomyces bouldardii* (Sanchez, 2015).

Hasta ahora, se ha visto que los probióticos al ser parte de la dieta proporcionan beneficios que van desde una mejor digestión hasta la prevención de enfermedades e infecciones, no obstante, los probióticos como cualquier ser vivo, necesitan una fuente de carbono para proliferar, esta fuente de carbono generalmente es fibra dietética no digerible y compuestos afines. Cuando consumimos un alimento para mantener saludable nuestra microbiota lo conoceremos como prebiótico.

1.4. Prebióticos

El concepto de prebiótico es relativamente nuevo, ya que fue presentado por Gibson y Roberfroid (1995), donde se refieren a ellos como “ingredientes alimenticios no digeribles que afectan benéficamente la salud del huésped al estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de especies bacterianas que residen en el colon”. Podemos decir entonces que los prebióticos son tan importantes como los probióticos en la dieta alimenticia ya que el consumo de ambos (simbiótica) es necesaria para generar el efecto deseado el cual consiste en brindar un buen estado de salud en el intestino y colon que eventualmente promoverá la salud general del huésped; es decir los probióticos presentes en la dieta proporcionan un 50% de beneficios a la microbiota del tracto gastrointestinal (MTGI), mientras que el otro 50% proviene de la fibra dietética no digerible, que en conjunto dan una mezcla simbiótica que ayuda a mantener la MTGI en un estado saludable.

En resumen, el consumo de prebióticos en la dieta es necesario, ya que actúan como fuente de carbono para la microbiota y permiten su proliferación, además de ser degradados en el colon para forman ácidos grasos de cadena corta (AGCC) metabolitos que el cuerpo puede aprovechar. Los prebióticos son moléculas de gran tamaño, las cuales al ser ingeridas no pueden ser hidrolizadas por las enzimas del tracto gastrointestinal alto, de esta forman llegan intactas al intestino grueso donde pueden ser asimiladas por la microbiota, como ya se explicó anteriormente, las

bacterias benéficas (principalmente del género *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*) son las encargadas de realizar este proceso, de esta manera se mantiene una biomasa bacteriana saludable y un pH óptimo (Schrezenmeir, 2001).

Cuando hablamos de prebióticos es obligatorio abordar el tema de fibras dietéticas ya que ambos conceptos son muy similares, la diferencia reside en que los prebióticos presentan selectividad sobre ciertos microorganismos en concreto, por ejemplo, el consumo de inulina y fructooligosacáridos favorece de manera selectiva el crecimiento de bifidobacterias (Ashwell, 2005).

Gibson (2002), establece los siguientes criterios para determinar si un alimento es prebiótico:

- No deben ser absorbidos o hidrolizados en la parte alta del tracto gastrointestinal.
- Debe ser fermentado selectivamente por una o un número limitado de bacterias potencialmente benéficas del colon, por ejemplo, bifidobacterias y lactobacilos.
- Debe ser capaz de alterar la micro flora colónica tornándola saludable, por ejemplo, reduciendo el número de organismos putrefactivos e incrementado las especies sacaríficas.

1.4.1 Clasificación

Los prebióticos pueden ser clasificados con base a distintos aspectos, por ejemplo, de acuerdo a su composición, solubilidad, viscosidad, velocidad de fermentación, etc. Siendo la composición el criterio más utilizado para diferenciarlos en los siguientes tipos:

- Inulina
- Oligosacáridos: Fructooligosacáridos (FOS), Galactooligosacáridos (GOS), Soyaoligosacáridos, Xylooligosacáridos e Isomaltooligosacáridos.
- Lactulosa
- Almidones resistentes
- Celulosa y hemicelulosa

No obstante, algunos autores mencionan también un grupo conocido como nuevos compuestos prebióticos, entre los cuales se destacan: los pecticoligosacáridos, lactosacarosa, azúcares-alcoholes, glucooligosacáridos y fructanos e incluso oligosacáridos de la leche materna.

Como se puede ver en la **Figura 6**, las estructuras de los prebióticos son muy parecidas, ya que se trata de polisacáridos de fructosa o glucosa, la diferencia varía en los enlaces entre cada monómero o en la cantidad de monosacáridos por molécula, sin embargo, comparten la característica de no poder ser degradados por las enzimas humanas.

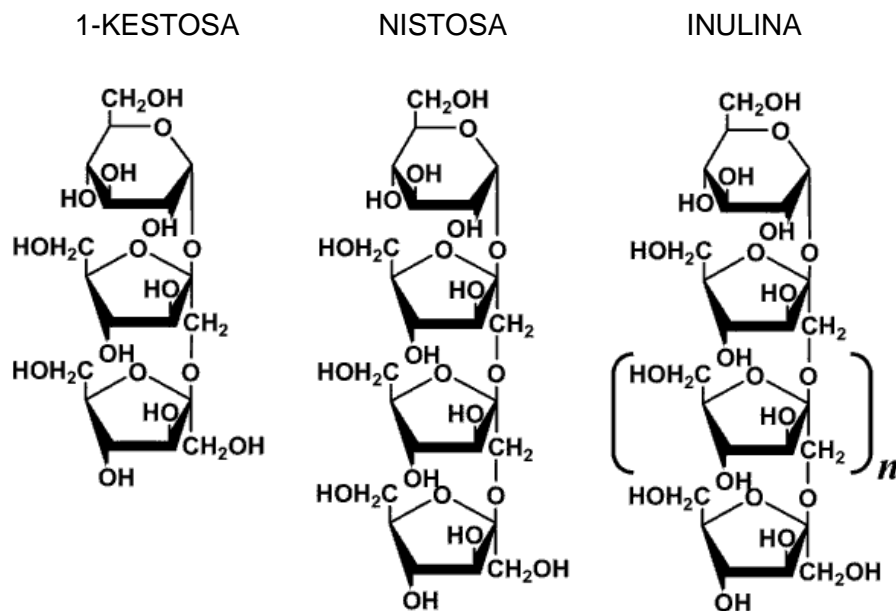


Figura 6. Estructura molecular de 1-kestosa, nistosa (ambos fructooligosacáridos) e inulina, son ejemplos de prebióticos. Se aprecia las cadenas de monómeros de glucosa y fructosa. Imange: mismumi.com/fructooligosacaridos

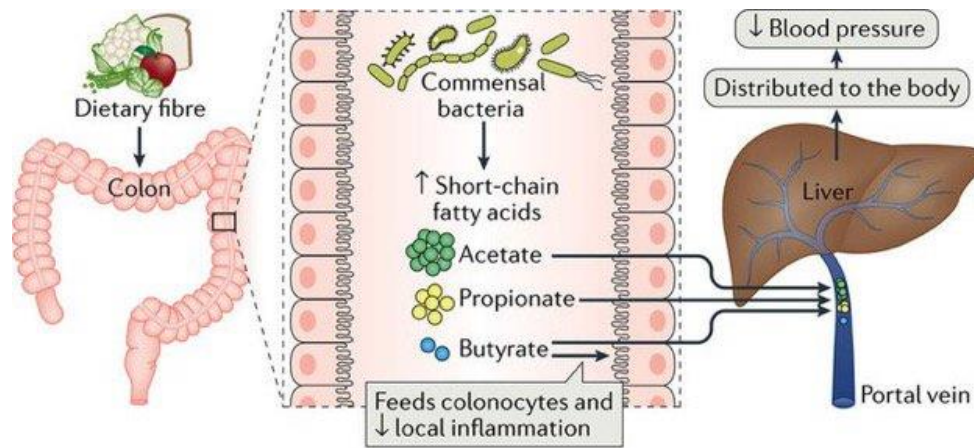
Actualmente el mayor atributo que se le da a los prebióticos es la capacidad de ser degradados en ácidos grasos de cadena corta los cuales tienen remarcadas propiedades en el individuo. Los AGCC principales son el acetato, el propionato y el butirato, los cuales representan el sustrato energético fundamental del coloncito (Nordgaard, 1995).

Estos compuestos son productos de una fermentación de tipo sacarolítica, donde las fibras juegan un papel importante, ya que, por el contrario, si la alimentación es mala (baja en fibra y alta en grasa) se llevará a cabo otro tipo de fermentación llamada proteolítica, en la cual se producen compuestos derivados del nitrógeno como aminas y amonio, además de fenoles, los cuales pueden llegar a tener efecto carcinogénico en el área donde se producen (Cummings, 1981). Cuando los AGCC son absorbidos se metabolizan en el epitelio colónico siendo el butirato el primero en ser absorbido, seguido del acetato y finalmente el propionato (Roediger, 1982).

Los efectos fisiológicos más importantes de los AGCC son disminuir el pH intraluminal, estimular la absorción de sodio y agua, principalmente en el colon ascendente y potenciar la absorción de cationes divalentes en el colón. A pesar de esto, cada ácido tiene una función específica. El butirato, el cual es metabolizado en la mucosa colónica, posee el mayor efecto trófico sobre esta área donde representa la fuente de energía fundamental (Velázquez, 1996). Otro aspecto a destacar es cómo el butirato también puede actuar como regulador de la expresión de genes implicados en la proliferación y diferenciación del colonocito. En este sentido se ha propuesto que el butirato podría actuar como mecanismo de defensa frente al cáncer de colon (Medina, 1998) (Corte-Osorio L, 2011).

Por otra parte el acetato y el propionato alcanzan el hígado. El acetato es metabolizado a nivel sistémico, principalmente en el músculo. El propionato es mayoritariamente transportado al hígado, donde es metabolizado e interviene en la síntesis de glucosa y genera energía (ATP) además se ha demostrado que disminuye la síntesis hepática de colesterol, por inhibición de la actividad de la hidroximetilglutaril coenzima A₄₀ (Rombeau, 1990) (Huazano-García AG, 2013).

El propionato es utilizado como sustrato para la gluconeogénesis y el acetato será metabolizado, dando lugar a glutamina y cuerpos cetónicos acetoacetato y β hidroxibutirato. Estos alcanzarán el intestino delgado, siendo los principales sustratos energéticos del enterocito, fundamentalmente, la glutamina (Windmueller, 1978) (Corte-Osorio L, 2011).



Nature Reviews | Cardiology

Figura 7. Proceso de degradación de la fibra dietética por la microbiota intestinal y producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Imagen: Nature Revies Cardiology Vol 15

Existe cierta confusión entre qué es un prebiótico y qué es una fibra dietética, puesto que ambos conceptos tienen significados muy parecidos, sin embargo las fibras dietéticas abarcan un campo más amplio, ya que **todos los prebióticos son fibras dietéticas**, pero **no todas las fibras dietéticas son prebióticos**, esto se debe a que existen fibras que los microorganismos degradan con dificultad o incluso son incapaces de hacerlo, es por eso que hay fibras que suelen tener funciones distintas a los prebióticos.

1.5. Fibras dietéticas

El concepto de fibra hoy en día es muy repetido si se habla de una correcta alimentación para una nutrición sana, sin embargo, dar una definición específica es complicado debido a que esta puede explicarse desde el punto de vista químico, biológico, botánico, nutriólogo y fisiológico. Según Rojas Hidalgo (1994), “la fibra no es una sustancia, sino un concepto, más aún, una serie de conceptos diferentes en la mente del botánico, químico, fisiólogo, nutriólogo o gastroenterólogo”. Desde el punto de vista químico se puede definir a la fibra como la suma de lignina y polisacáridos del tipo no almidón. Si se habla de un término biológico, Trowell (1994) define a las fibras dietéticas (FD) como el conjunto de polisacáridos y lignina de los vegetales resistentes a la hidrólisis de las enzimas digestivas humanas. Mientras

que Roberfroid (1993) da un paso más en la búsqueda de una definición meramente fisiológica y que se adapte mejor a los conocimientos actuales, él define a la FD, como diversos carbohidratos con lignina, que resisten la hidrólisis de las enzimas digestivas humanas, pero que pueden ser fermentadas por la microflora del colon dando lugar a H₂, CH₄, CO₂, H₂O y ácidos grasos de cadena corta, (**Figura 8**).

Sin embargo, una de las definiciones más completas la da la American Association of Cereal Chemist (AACC) en el 2001, donde la define como “la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos fisiológicos ya que actúan como laxante, atenúan los niveles de colesterol en sangre y reducen la concentración de la glucosa en sangre”.

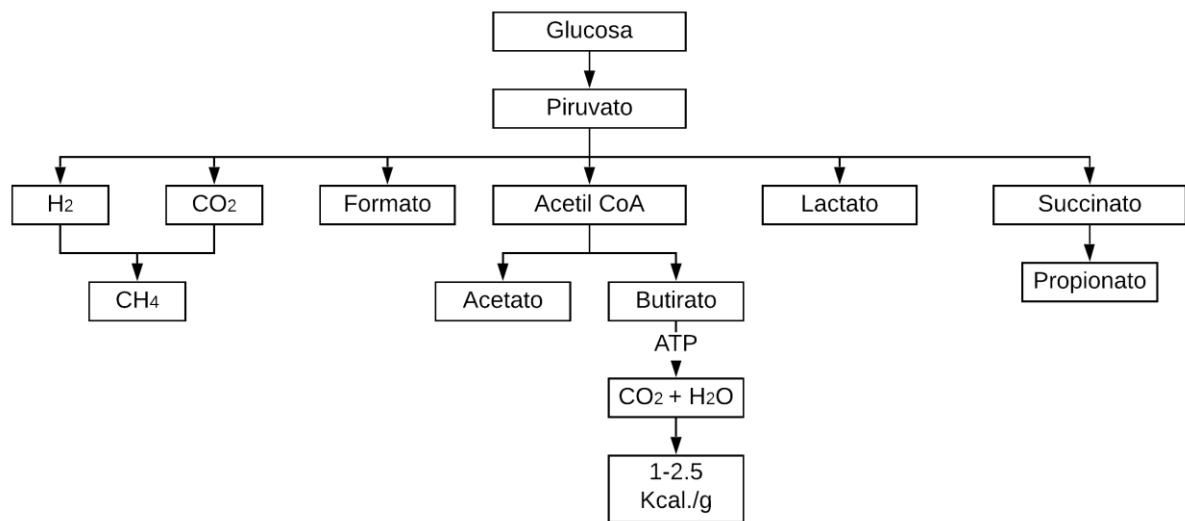


Figura 8. Fermentación bacteriana de polisacáridos colónicos. Fuente: Roberfroid (1993)

En la **Figura 8**, se presentan los compuestos producidos por la microbiota intestinal en la fermentación de los polisacáridos que no son digeridos en el tracto gastrointestinal alto, como resultado de esta fermentación se produce hidrogeno,

dióxido de carbono, gas metano y AGCC (acetato, propionato y butirato) en una proporción molar casi constante 60:25:20 (Cummings, 2001). Los AGCC se generan en el metabolismo del piruvato producido por la oxidación de la glucosa a través de la vía glucolítica de Embed-Meyerhof (Wolin, 1983).

1.5.1 Clasificación de fibras dietéticas

En cuanto a la clasificación de fibras respecta, se ha propuesto una forma de ordenarlas de forma conceptual, en la **Figura 9** se muestran los principales componentes que denotan la clasificación de las fibras dietéticas.

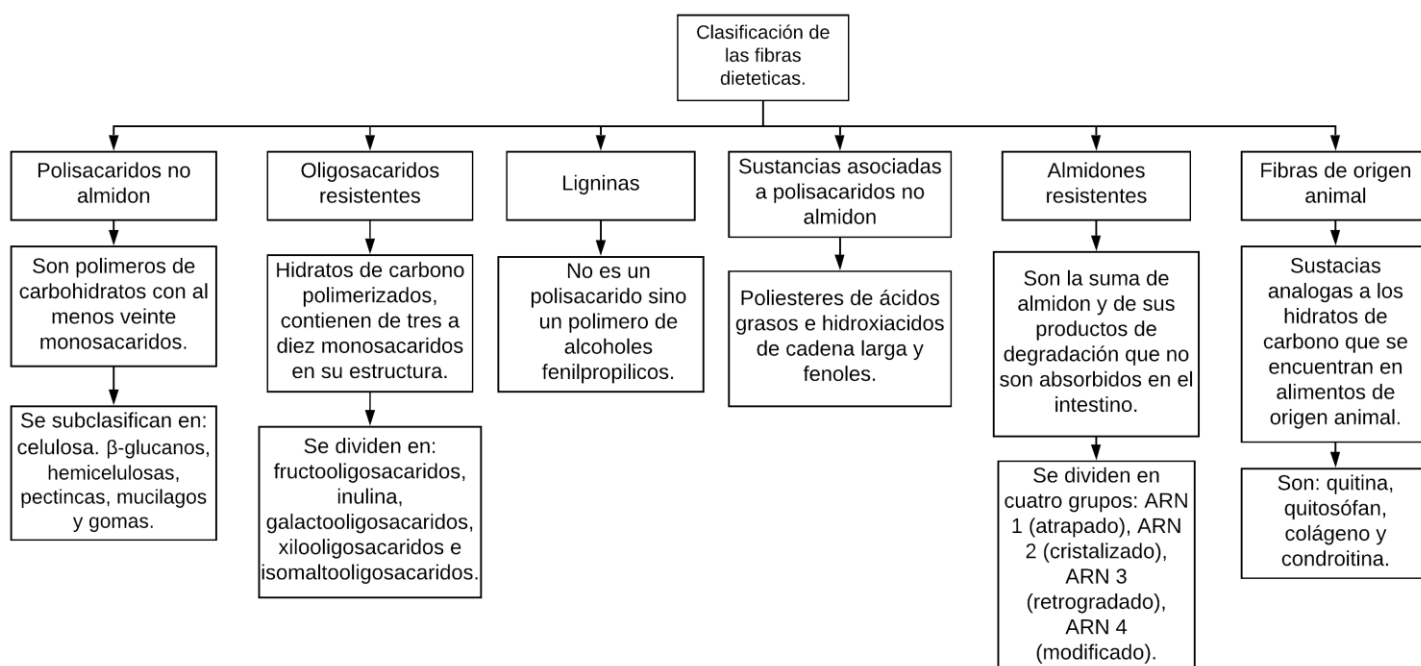


Figura 9. Clasificación de la Fibra dietética. Fuente: Nutr. Hosp. (2006).

Algunas sustancias que podrían ser consideradas fibras dietéticas pero que aún están sujetas a controversia son: polioles no absorbibles (manitol y sorbitol), algunos disacáridos y análogos no absorbibles, y algunas sustancias vegetales (taninos, ácido fítico y saponinas).

Las fibras llegan intactas al intestino y colon, ahí la microbiota se encargará de degradarlas para formar compuestos benéficos y una parte de energía, no obstante no todas las fibras que llegan al intestino y al colon pueden ser degradadas ya que como se ha mencionado las propiedades químicas y físicas pueden variar

dependiendo del tipo de fibra, a continuación en la **Tabla 6** se presentan las principales propiedades físicas, químicas y fisiológicas de Fibras Dietéticas Insolubles y de las Fibras Dietéticas solubles.

Tabla 6. Propiedades físicas, químicas y fisiológicas de la fibra dietética. (Cummings JH, 1981)

| Propiedad. | Fibras Dietéticas Insolubles (FDI) | Fibras Dietéticas Solubles. (FDS) |
|---------------------------------------|---|--|
| Composición. | Su esqueleto hidrocarbonado se compone de celulosa combinado con lignina y en ocasiones hemicelulosas. | Son ricas en hemicelulosa (goma guar, glucomanano y mucilagos) y/o ácidos glucorónicos (sustancias pécticas y algunas gomas), aunque actualmente también se consideran a los almidones resistentes, la inulina, los fructooligosacáridos y los galactooligosacáridos. |
| Solubilidad en agua. | Prácticamente insolubles | Solubles. |
| Viscosidad | Se les considera fibras no viscosas. | Se les considera fibras viscosas. |
| Grado de degradación en el organismo. | Del 10% al 70% | Del 70% al 100% |
| Propiedades fisiológicas. | Retención de agua en su matriz, esto le confiere propiedades laxantes además de apoyar la motilidad gastrointestinal. | Entre las propiedades de este tipo de fibras se destaca la formación de geles, lo que provoca que al consumirlas se retrasa el vaciamiento gástrico y se ralentiza el tránsito intestinal por lo que la sensación de saciedad durará más tiempo. La propiedad más destacable de este tipo de fibras son los productos que se obtienen de la fermentación, los ácidos grasos de cadena corta (AGCC). |
| Contraindicaciones. | Si el consumo se realiza en exceso la capacidad de absorción de cationes divalentes como el Zn ⁺⁺ , Fe ⁺⁺ y el Ca ⁺⁺ se verá reducida. | Un consumo excesivo puede llevar al estreñimiento del consumidor. |

La **Figura 10** muestra algunas fuentes de FDI son los cereales integrales, centeno y productos derivados del arroz, los cuales como ya se mencionó tienen mayor

efecto en la digestión y poco en la microbiota. Por otro lado, la **Figura 11**, muestra alimentos con mayor contenido de FDS los cuales impactan directamente en la microbiota intestinal



Figura 10. Cereales integrales que promueven una sana digestión y evacuación debido a sus propiedades fisicoquímicas. Foto: vivosano.org



Figura 11. Alimentos ricos en FDS. Foto: Institute of Food Technologists

Por lo tanto, el consumo de fibra dietética es indispensable ya que aporta múltiples beneficios a la salud gastrointestinal. La Asociación Americana de Diabetes recomienda una ingesta de entre 20 y 30 g/día de fibra dietética para adultos y para los niños (de 2 a 18 años) 5 g/día más la suma de su edad en g, por ejemplo, un niño de 9 años, debe ingerir 14 g/día de fibra dietética. La proporción recomendada de fibras es de 3 partes de FDI por 1 parte de FDS (Escudero, 2006).

A nivel industrial la producción de fibras es muy extensa, actualmente el mercado abarca fibras derivadas de frutas, legumbres, granos enteros y vegetales, siendo estos últimos muy demandado debido a que además cuentan con una gran cantidad de vitaminas y minerales que las vuelve un alimento atractivo nutricionalmente. Un ejemplo de este tipo de fibras es la de brócoli.

1.6. Fibra de brócoli

El brócoli (*Brassica oleracea var italica*) o también conocido como brécol, es una hortaliza de la familia de las *Brassicaceas*, es una planta herbácea de especie monoica del ciclo de vida anual, dicotiledónea de reacción neutra al fotoperiodo y de polinización por insectos, su especie tiene distintas variantes entre ellas la coliflor (*B. o. botritis*), el repollo (*B. o. capitata*) y las coles de Bruselas (*B. o. gemmifera*). Sus características son similares a las de la coliflor, el tallo es grueso con pocas ramificaciones, posee hojas festoneadas y con los limbos hendidos, las hojas son más pecioladas que las de la coliflor, además, al final del tallo se encuentran una masa carnosa de yemas florales las cuales pueden regenerarse si se cortan, la planta es completamente verde oscura y únicamente las inflorescencias son comestibles. El brócoli es considerado como uno de los alimentos con mayor valor nutricional, en la **Figura 12** se muestran algunos beneficios que aporta.

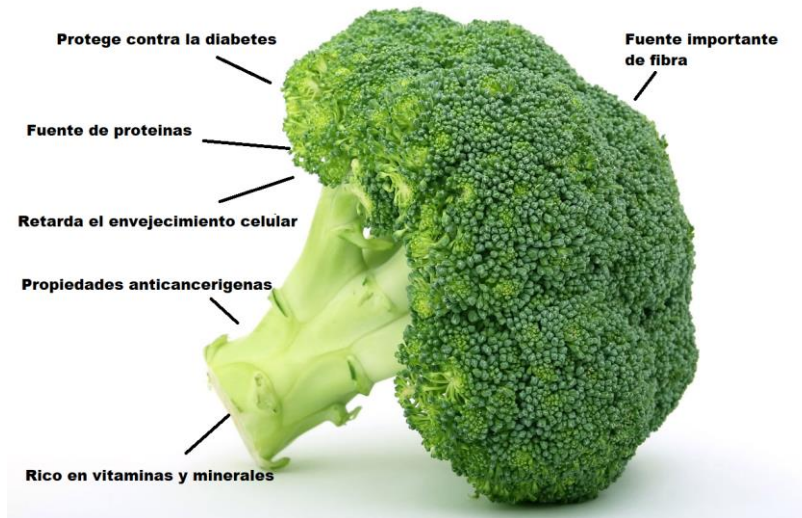


Figura 12. Algunos beneficios del brócoli en la salud de los consumidores.

1.6.1. Composición química del brócoli

La composición del brócoli crudo es reportada por el Servicio de Investigación Agrícola, el cual pertenece al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). En las **Tabla 7, 8 y 9** se presenta un análisis del perfil nutricional para macronutrientes, micronutrientes y vitaminas/minerales procedentes de *Brassica oleracea var. Itálica* y su cantidad por cada 100 g de brócoli crudo.

Tabla 7. Análisis del perfil nutricional de los principales macronutrientes que puede contener el brócoli crudo. Department of Agriculture, Agriculture Research Service, 2020.

| Composición nutricional (macronutrientes) | Cantidad | Unidad |
|--|-----------------|---------------|
| Agua | 89.3 | g |
| Energía | 34.0 | Kcal |
| Proteínas | 2.82 | g |
| Lípidos totales (grasas) | 0.37 | g |
| Azúcares | 1.70 | g |
| Cenizas | 0.87 | g |
| Ácidos grasos saturados | 0.11 | g |
| Fibra dietética | 2.60 | g |

Tabla 8. Análisis del perfil nutricional de los principales micronutrientes contenidas en el brócoli crudo. Department of Agriculture, Agriculture Research Service, 2020.

| Composición nutricional (micronutrientes) | Cantidad | Unidad |
|--|-----------------|---------------|
| Calcio | 47.00 | mg |
| Hierro | 0.73 | mg |
| Yodo | 2.00 | µg |
| Magnesio | 21.00 | mg |
| Zinc | 0.41 | mg |
| Sodio | 33.00 | mg |
| Potasio | 316.00 | mg |
| Fósforo | 66.00 | mg |
| Selenio | 2.50 | µg |
| Cobre | 0.05 | mg |

Tabla 9. Análisis del perfil nutricional de las principales vitaminas contenidas en el brócoli crudo. Department of Agriculture, Agriculture Research Service, 2020.

| Composición nutricional (Vitaminas) | Cantidad | Unidad |
|--|-----------------|---------------|
| Tiamina | 0.071 | mg |
| Riboflavina | 0.117 | mg |
| Equivalentes niacina | 0.639 | mg |
| Vitamina B ₆ | 0.175 | mg |
| Folatos | 63.000 | µg |
| Vitamina B ₁₂ | 0.000 | - |
| Vitamina C | 82.900 | mg |
| Vitamina A: Eq a retinol | 31.000 | µg |
| Vitamina D | 0.000 | - |
| Vitamina E | 0.780 | mg |

1.6.2 Composición química de la fibra de brócoli

El brócoli una vez que es procesado, se obtienen dos tipos de fibra: la fibra dietética soluble (FDS) y fibra dietética insoluble (FDI). A continuación, en la **Tabla 10** se muestra el porcentaje de FDS y FDI en 100 g de muestra comestible de brócoli.

Tabla 10. Cantidad de fibra dietética en 100 g de muestra comestible de brócoli. Rosado (1992)

| Fibra dietética soluble (FDS) | Fibra dietética insoluble (FDI) | Fibra dietética total (FDT) |
|--------------------------------------|--|------------------------------------|
| 0.80 | 2.21 | 3.01 |

En la **Tabla 11** se muestran los tipos de polisacáridos (hemicelulosa α , hemicelulosa β , pectinas, galactanos y celulosa) que componen las fibras dietéticas totales del brócoli. (Hernández y Gallardo, 2002).

Tabla 11. Contenido de polisacáridos en 100 g de muestra comestible de brócoli. Hernández y Gallardo (2002)

| Polisacárido | Porcentaje |
|-----------------------|-------------------|
| Hemicelulosa α | 0.55% |
| Hemicelulosa β | 0.29% |
| Pectinas | 0.40% |
| Galactanos | 0.06% |
| Celulosa | 3.49% |

Cada uno de los polisacáridos mencionados anteriormente proporcionan un efecto prebiótico a la fibra de brócoli, por una parte, la celulosa y hemicelulosa suelen ser fermentadas con mayor dificultad, no obstante, una fracción de AGCC provienen de estos polisacáridos, mientras que en el caso de las pectinas y galactanos son fibras totalmente fermentables, por lo tanto, se les puede considerar prebióticos.

1.6.3. Beneficios a la salud

Si se comparan los valores nutricionales del brócoli con algunos otros vegetales puede percibirse que en algunos casos las diferencias son muy grandes haciendo al brócoli uno de los vegetales más completos nutricionalmente hablando. Es por eso que esta hortaliza es muy consumida en dietas saludables, ya que aporta una gran cantidad de vitaminas, minerales y principalmente fibra que ayuda a la microbiota a mantenerse en buen estado.

Tabla 12. Comparación nutricional del brócoli con algunos otros vegetales comunes en las dietas balanceadas por cada 100 g de alimento crudo. Department of Agriculture, Agriculture Research Service, 2020

| Composición nutricional | Brócoli | Espinacas | Zanahoria | Tomate |
|--------------------------------|----------------|------------------|------------------|---------------|
| Energía (Kcal) | 34 | 23 | 41 | 22 |
| Proteínas (g) | 2.82 | 2.97 | 0.9 | 1 |
| Calcio (mg) | 82.9 | 99 | 33 | 11 |
| Hierro (mg) | 0.73 | 2.71 | 0.47 | 0.6 |
| Vitamina C (mg) | 82.9 | 28.1 | 5.9 | 26 |
| Folatos (µg) | 63 | 194 | 10 | 28 |
| Fibra dietética (g) | 2.6 | 2.9 | 1.5 | 0.5 |

El contenido nutrimental presentado para el brócoli crudo, si este se consume cocido su valor nutricional cambiará debido a que una gran parte de vitaminas, minerales y demás compuestos nutritivos pueden ser alterados, o solubilizados en el medio en el que se lleva a cabo la cocción del alimento restándole valor nutricional. Así mismo al aplicar calor sobre cualquier vegetal o fruta se eliminarán microorganismos patógenos asegurando su inocuidad. Al mismo tiempo se inactivan enzimas responsables de la degradación de ciertos compuestos lo que permite que lleguen íntegros al tracto gastrointestinal y puedan ser absorbidos, también se llevan a cabo procesos de desnaturalización de proteínas alterando sus propiedades (Miglio, 2008).

La mayoría de estudios que se han realizado se concentran en conocer la pérdida de compuestos fenólicos y polifenólicos al cocer verduras, ya que estos fungen como antioxidantes en el cuerpo humano. Dependiendo del tipo de cocción se pueden perder ciertas cantidades de antioxidantes, demostrando que el método menos agresivo para cocinarlo es mediante vapor.

No solo los fenoles y polifenoles reducen su concentración en los vegetales cuando estos se cocinan, compuestos como flavonoles, la quercetina, el kaempferol y el ácido ascórbico (vitamina C) también disminuyen considerablemente. Otros compuestos bioactivos que tienden a reducir su concentración son los

glucosinolatos, estos tienen una relevancia importante puesto que se ha demostrado que tienen efectos protectores contra el cáncer. Los más comunes en el brócoli son los glucosinolatos de 4-metilsulfinilbutilo (glucorafanina) y glucosinolato de 3-indolilmetilo (glucobrassicina). Otros glucosinolatos como la 4-OH-glucobrassicina y la N- metoxiglucobrassicina se detectaron en cantidades más bajas (Vallejo, 2002).

Sin embargo, dependiendo el tipo de cocción se ha demostrado que pueden aumentar o disminuir su concentración, como reporta Miglio (2008), el cocinar con vapor aumenta incluso la concentración de glucosinolatos, mientras que técnicas como la fritura disminuyen muy notablemente su valor nutricional en general.

Otra gran ventaja de cocinar con vapor es que se aumentará el nivel de glucosinolatos debido a que estos no sufrirán degradación por el calor y tampoco por entrar en contacto con la enzima mirosinasa, esta enzima se encarga de alejar insectos y rumiantes de la planta puesto que al entrar en contacto con los glucosinolatos produce ácido sulfúrico, glucosa y compuestos volátiles (Nitrilos, isotiocianatos y tiocianatos) generando disgusto en el depredador. Por lo tanto, al desactivar por calor esta enzima los glucosinolatos pueden permanecer en la misma o incluso mayor concentración.

1.6.4. Uso en alimentos

El brócoli es un alimento con un valor nutrimental muy alto, el cual contiene numerosos compuestos que son benéficos para la salud del consumidor además su alto contenido de fibra le confiere propiedades aún más nutritivas el cual combinado con una dieta sana y el uso de probióticos puede ser un alimento sumamente funcional y atractivo para el consumidor. No obstante, el consumo de brócoli actualmente se reduce a la verdura cocida por lo que el mercado está abierto a aceptar otras formas alimenticias para consumir este vegetal.

1.7. Yogurt

La NORMA Oficial Mexicana NOM-181-SCFI/SAGARPA-2018, establece que la definición de yogurt es “el producto obtenido de la fermentación de leche,

estandarizada o no, por medio de la acción de microorganismos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subespecie bulgaricus*, y teniendo como resultado la reducción del pH.” No obstante, no cualquier bebida láctea fermentada puede considerarse un yogurt, ya que se deben considerar ciertos parámetros, comenzando por el tipo de bacterias que se utilizan, siendo permitidos otros cultivos alternativos, siempre y cuando sean del género *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, es decir algún otro tipo de bacteria ácido láctica (BAL) que cuente con propiedades probióticas. Además de esto debe contar con las siguientes características para denominarse yogurt:

1. Debe contener como mínimo un 29% de proteína láctea (% m/m).
2. La grasa butírica no debe exceder el 15% (%m/m).
3. Su acidez titulable expresada como porcentaje de ácido láctico debe ser mayor o igual a 0.5% (%m/m).
4. Los sólidos lácteos no grasos deben ser iguales o superiores al 8.25%.
5. Su contenido de bacterias lácticas vivas, debe ser mayor a 10^7 UFC/g. Su clasificación se basa en los complementos que se le agregan, dando dos tipos de yogurt, el natural (el cual no tiene ningún aditivo) y el yogurt con sabor o fruta, no obstante, los aditivos no deben sobrepasar el 50% del peso total del yogurt. A pesar de esto también se puede optar por agregar fibra dietética, semillas, mermelada, etc.

1.7.1. Factores que influyen en la vida útil del yogurt

El yogurt es un alimento muy característico por su alto grado nutricional, sin embargo, hay más propiedades que hacen especial a este alimento, por ejemplo, usualmente no se le añaden conservadores debido a su pH ácido que se encuentra debajo de 4. Es por eso que el yogurt puede tener una vida útil relativamente larga si se almacena correctamente (a una temperatura menor a 5 °C, libre de una exposición a energía cinética, en un ambiente fresco, etc.) Sin embargo, sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales pueden verse alteradas, esto se puede compensar mediante la adición de componentes que eviten estos cambios. Entre los principales cambios fisicoquímicos que pueden existir en la vida útil de un yogurt se encuentran:

- pH
- Acidez titulable (representada en % de ácido láctico)
- Sinéresis
- Humedad
- Viscosidad

De los cuales los dos primeros dependen directamente del cultivo utilizado, el tiempo de fermentación, la temperatura de almacenamiento, así como los aditamentos como sacarosa y/o fibras prebióticas ya que estos influyen directamente en la cantidad de ácido láctico que las bacterias producen lo que a su vez causa una disminución del pH y aun aumento en la acidez. La parte importante de controlar estos dos factores radica en el sabor que tendrá el producto al final, ya que si hay una producción de ácido láctico mayor al 1.5% el producto tendrá un sabor no agradable y puede resultar inclusive repelente (Zapata, 2015).

En el caso de la sinéresis, la cual se representan como el porcentaje de lacto suero que se puede separar de la matriz puede ser alterada fácilmente mediante la adición de proteína o fibra dietética, esta propiedad depende también de la temperatura de almacenamiento y sobre todo del grado de acidez del producto ya que a pH bajo se lleva a cabo una contracción de la matriz de la micela de caseína provocando una separación mayor de suero. Un producto con un porcentaje de sinéresis alto causa disgusto visual y generalmente no tiene una textura que pueda ser aceptada (Parra, 2014)

Por otro lado, propiedades como la humedad se pueden ver afectadas a lo largo del tiempo nuevamente por la temperatura, e incluso por la propia formulación, debido a que el añadir una mayor cantidad de aditamentos, la humedad tenderá a disminuir. La viscosidad si bien se puede controlar al inicio mediante el estabilizador que creará al efecto de malla en la red tridimensional del gel formado en el yogurt, se puede ver afectada por la temperatura, la energía cinética a la que es expuesta, el pH y los aditamentos que tengan la capacidad de formar geles, por ejemplo, la goma

arábica, maltodextrinas y fibras dietéticas pueden causar un aumento en la viscosidad del producto. Esta propiedad toma importancia al momento de consumir el producto, ya que el yogurt debe poseer cuerpo sin llegar a ser una mezcla totalmente espesa (Reyes, 2015).

A lo largo de la historia al yogurt se le han atribuido efectos benéficos de todo tipo, desde un tratamiento para la piel hasta la prevención del cáncer de colon cuando es consumido regularmente. Estas propiedades se deben a distintos cambios por los que pasan los macro y micronutrientes al momento de la fermentación, dando lugar a productos que tienen actividad bioquímica, a continuación, se presentan los cambios que sufren los componentes de la leche y como benefician al consumidor:

Lactosa.

Uno de los principales beneficios al consumir yogurt es que la concentración de lactosa con respecto a la leche es menor, lo que permite que personas que tienen intolerancia a la lactosa lo pueda consumir, esto debido a que cuando se realiza la fermentación las BAL degradan la lactosa en sus respectivos monosacáridos, la glucosa y la galactosa, los cuales a su vez son fermentados hasta obtener ácido láctico, esto quiere decir que las personas que no cuentan con la enzima lactasa (enzima para degradar lactosa) pueden optar por utilizar los probióticos como una herramienta para consumir lácteos, ya que se ha demostrado que las personas intolerantes a la lactosa que tienen una dieta regular de yogurt con probióticos poseen una resistencia mayor a los lácteos cuando los consumen que aquellos que no consumen yogurt (Moreno, 2013).

Proteínas.

Iniciando por el tipo de tratamiento que recibe el yogurt en su elaboración suele tener una concentración mayor de proteínas, debido a la adición de sólidos lácteos que la leche. Además, la digestión de estas proteínas se lleva a cabo de una forma más eficiente puesto que nuevamente las bacterias actúan sobre las proteínas liberando péptidos y aminoácidos que el cuerpo puede absorber con mayor

facilidad, de la misma forma la caseína, proteína encontrada comúnmente en la leche y que es de excelente calidad biológica, presenta una coagulación más fina debido al pH ácido lo cual provoca una mayor digestibilidad (Aznar, 2013)

Lípidos.

Debido a que las grasas son los componentes que se pueden modificar con mayor facilidad al momento de producir el yogurt, el porcentaje de yogurts bajos en grasa o sin grasa es muy elevado, no obstante, la grasa láctea se compone principalmente por ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que como se ha mencionado anteriormente tienen diversas propiedades benéficas en el organismo. Es por eso que al yogurt también se le han asociado propiedades hipocolesterolémicas, reduciendo los niveles de colesterol sérico hasta en un 10%. Por otra parte, durante la fermentación se produce ácido linoleico conjugado (ALC), el cual posee propiedades inmunoestimuladoras y anticancerígenas. Se han reportado estudios con células de cáncer de mama y cáncer de colon, donde se ha visto la capacidad de algunos isómeros de ALC de inhibir ciclinas, y por lo tanto detener la progresión del ciclo celular (Moreno, 2013).

Minerales.

Los lácteos tienen mucha fama debido a su alto contenido de calcio y otros minerales como fósforo, magnesio, cinc, sodio y potasio. Estos minerales son de vital importancia ya que aportan un alto valor nutricional, al mismo tiempo que estabilizan el producto al estar asociados en las micelas de la caseína y en la disolución. Cuando el pH disminuye, estos minerales pasan a su forma iónica, de esta manera pueden formar sales o complejos con péptidos y aminoácidos, lo que facilita su absorción en el intestino, por otra parte, la lactosa también aumenta la biodisponibilidad, lo cual establece un equilibrio con la fibra dietética, ya que ésta disminuye la absorción del calcio. El calcio es vital en la formación y mineralización de los huesos.

Además de estos efectos, se ha reportado efectos de prevención en enfermedades urogenitales, protección y prevención contra la diarrea, reducción de la presión arterial y tratamiento de las úlceras gástricas ocasionadas por *Helicobacter pylori*⁶⁸ Es por eso que el yogurt se considera un alimento fundamental en la dieta occidental, debido a sus beneficios a la salud gástrica

Justificación

La combinación de probióticos y fibras dietéticas no digeribles para crear un efecto simbiótico cada día cobra mayor relevancia, al consumir ambos se puede mejorar considerablemente la digestión y la salud intestinal, lo que conlleva a una mejora en el estado general de la salud de los consumidores. Actualmente no existen reportes que indiquen si la fibra de brócoli de los alimentos que la contienen afecta la sobrevivencia de *Lactobacillus casei subespecie casei* durante su vida de anaquel, así como, tampoco existe evidencia experimental que indique si durante su vida de anaquel en refrigeración (4 °C) se presentan cambios fisicoquímicos que alteren variables como la acidez, el pH, la viscosidad, humedad y sinéresis.

La importancia de realizar este tipo de experimentos aportará evidencia experimental acerca de los cambios microbiológicos y fisicoquímicos que se producen en los alimentos fermentados tales como el yogurt adicionado de fibra de brócoli, estos datos permitirán el desarrollo de nuevos alimentos fermentados nutracéuticos adicionados de probióticos y prebiótico con un alto poder nutrimental y con los beneficios que se sabe confiere a las personas que padecen enfermedades metabólicas, tales como obesidad y diabetes mellitus.

2. Objetivos.

2.1 Objetivo general.

Elaborar un yogurt adicionado de fibra de brócoli y evaluar los cambios ocurridos durante la sobrevivencia y conservación de la actividad probiótica de *Lactobacillus casei subsp. casei* y sobre variables fisicoquímicos durante su vida de anaquel en refrigeración.

2.2 Objetivos particulares.

1. Evaluar la sobrevivencia de *Lactobacillus casei subsp. casei* por la técnica de recuento en placa, durante su vida de anaquel, 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 semanas de almacenamiento, en yogurt control y en el adicionado de fibra de brócoli para así determinar si conservan su actividad probiótica.
2. Determinar los cambios producidos sobre parámetros fisicoquímicos: pH, acidez titulable, sinéresis, humedad y viscosidad, en el yogurt control y el adicionado de fibra durante su vida de anaquel a diferentes tiempos (0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 semanas) de almacenamiento a $4\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.
3. Comparar los resultados obtenidos y establecer la estabilidad de los yogures control y el adicionado de fibra de brócoli con base a los cambios ocurridos en la sobrevivencia de las bacterias lácticas y en los cambios en sus propiedades fisicoquímicas durante su almacenamiento en refrigeración a $4\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

2.3 Hipótesis.

- Si se añade fibra de brócoli a una bebida láctea fermentada con *Lactobacillus casei sbpp casei*, ésta favorecerá la sobrevivencia de *Lactobacillus* y se conservarán o modificarán de forma positiva sus propiedades fisicoquímicas, tales como: acidez, pH, sinéresis, humedad y la viscosidad prolongando la estabilidad y la vida de anaquel del producto en refrigeración.

3. Metodología.

Para la realización de este proyecto se utilizaron reactivos marca Sigma Aldrich, medio de cultivo marca Becton Dickinson, leche pasteurizada marca Alpura y azúcar marca Zulka. Para cumplir con los objetivos planteados se realizaron las siguientes actividades:

3.1. Preparación de bebidas lácteas fermentadas.

Se pesaron los ingredientes: leche, azúcar, estabilizador (agar-agar) y fibra de brócoli para cada una de las diferentes bebidas, en un recipiente metálico se calentó la leche hasta alcanzar una temperatura de 45 ± 1 °C, posteriormente se adicionó azúcar, estabilizador y fibra. La mezcla se movió hasta homogeneizar con un Braun marca Oster.

Se continuó calentando hasta alcanzar una temperatura de 85°C, agitando con movimientos suaves y pausados, la temperatura se sostuvo durante 15 min (pasteurización), transcurrido el tiempo la mezcla se enfrió hasta alcanzar una temperatura de 37°C.

3.2. Preparación del preinoculo. Tubos con 10 mL caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS) estéril fueron inoculados con una asada *Lactobacillus casei spp. casei*. e incubados a 37 ± 0.5 °C durante 48 h, transcurrido el tiempo se separó el paquete celular por centrifugación a 1500 rpm por 10 minutos y se resuspendió en SSFE (Solución salina fisiológica estéril), hasta alcanzar la turbidez del tubo número 10 del nefelómetro de McFarland el cual representa una concentración de 3×10^9 UFC/ml de *Lactobacillus casei spp. casei*.

La mezcla de leche, azúcar, estabilizador, etc., fue inoculada con un volumen de 30 ml de solución de preinóculo, se agitó hasta tener una mezcla homogénea. La mezcla se transfirió a envases de vidrio con tapa hermética y fueron incubados a 37 ± 0.5 °C hasta que se alcanzó un porcentaje de acidez titulable igual a 0.8%. Una

vez alcanzado el porcentaje de acidez, se detuvo la fermentación y el producto fue almacenado en refrigeración a $4 \pm 1^\circ\text{C}$.



Figura 13. Bebidas lácteas antes de llevar a cabo el proceso de fermentación. Foto tomada en el laboratorio de Microbiología Industrial de la FESC.

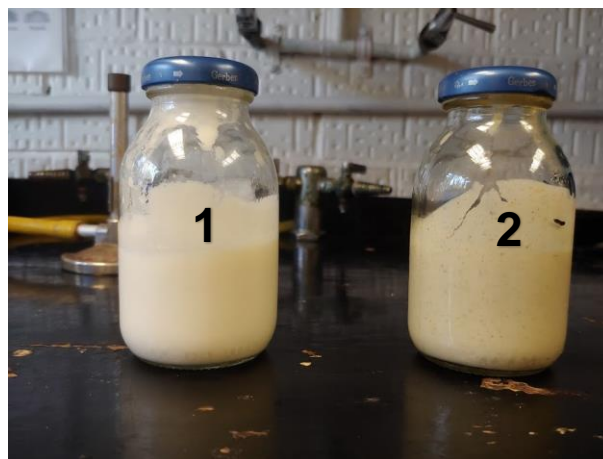


Figura 14. Bebidas lácteas, fermentadas y refrigeradas. Yogurt control (1) y yogurt adicionado con fibra de brócoli (2). Foto tomada en el laboratorio de Microbiología Industrial de la FESC.

3.3. Análisis microbiológico.

Cuantificación de *Lactobacillus casei* por el método de recuento en placa. La cuantificación de las bacterias lácticas se realizó por la técnica de recuento en placa en medio agar Man, Rogosa and Sharpe (MRS), los resultados fueron expresados en unidades formadoras de colonia/mL (UFC/mL), este procedimiento permitió evaluar si las muestras de yogurt almacenadas durante seis semanas en refrigeración a 4 °C, conservan su característica probiótica.

Diluir 10 ml de muestra en 90 ml de solución salina fisiológica estéril (SSFE) posteriormente realizar diluciones seriadas (10^{-1} hasta 10^{-10}), sembrar 1 ml en placas de agar de MRS, las diluciones de 10^{-6} , 10^{-8} y 10^{-10} como se ejemplifica en la **Figura 11** posteriormente, incubar a $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 72 h en jarras de anaerobiosis herméticamente selladas, antes de cerrar la jarra colocar un sobre de GasPak™ EZ, con GasPak™ EZ (**Figuras 12 A y B**). Transcurrido el tiempo se realizó el recuento de UFC/ml de muestra de cada caja, (**Figura 13**).

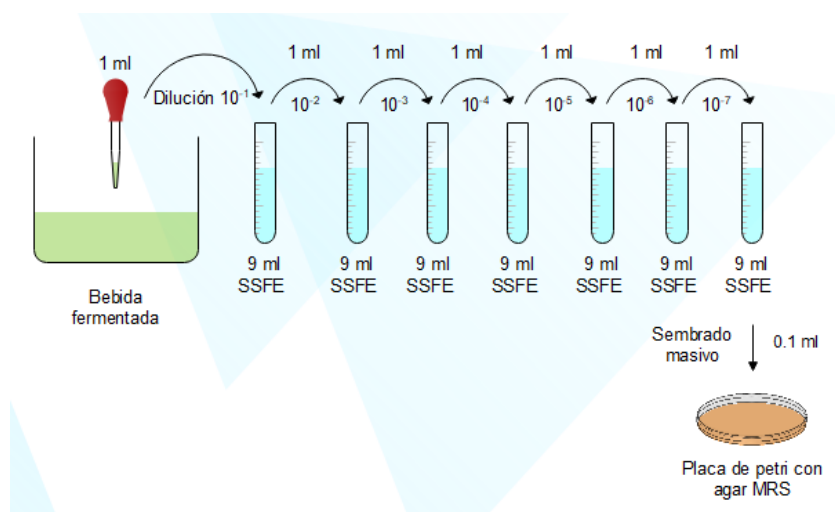


Figura 15. Diluciones realizadas de 10^{-1} a 10^{-7} .



A



B

Figura 16. A. Jarra de anaerobiosis, generada con sobre GasPak™ EZ, y/o c GasPak™, **B.** Jarra de anaerobiosis incubada a 37±0.5°C.

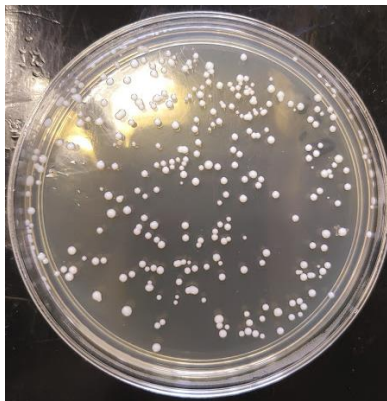


Figura 17. Crecimiento de *Lactobacillus casei* spp. *casei* en agar MRS utilizando la técnica de sembrado masivo. Foto tomada en el laboratorio de Microbiología Industrial de la FESC.

3.4. Análisis fisicoquímicos.

3.4.1. Determinación de pH.

En la **Figura 18** se muestra el equipo usado para la medición de pH, se utilizó un pH-metro marca HANNA instruments modelo PH213, el cual fue calibrado con las soluciones estándares de pH=4 y pH= 7. La determinación de pH se llevó a cabo con 50 mL muestra de yogurt, colocados en un vaso de precipitado (asegurándose de agitar perfectamente hasta tener una mezcla homogénea), se ajustó la temperatura a $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, y se sumergió el electrodo hasta que quedara cubierto por el yogurt (cuidando de no tocar las paredes del recipiente que la contiene). El valor del pH de la muestra se leyó directamente en la escala del potenciómetro. Una vez hecha la medición se sacó el electrodo y se lavó con agua destilada.

La diferencia máxima permisible en el resultado de pruebas efectuadas por duplicado no debe exceder de 0.1 unidades de pH, en caso contrario la determinación debe ser repetida.



Figura 18. Potenciómetro Hanna utilizado para la determinación de pH.

3.4.2. Determinación de acidez titulable expresada como porcentaje de ácido láctico.

La acidez se determinó con base a una titulación alcalimétrica con NaOH 0.1 N, se pesaron 9 g de bebida en un matraz Erlenmeyer, se adicionaron 20 mL de agua destilada y tres gotas de fenolftaleína como indicador (1% P/V), la muestra se tituló utilizando hidróxido de sodio 0.1N hasta obtener un color rosa persistente (NOM-185-SSA1-2002). El resultado se expresó como porcentaje de ácido láctico y fue calculado como se indica.

$$\text{Porcentaje de ácido láctico (\%)} = \frac{\text{mL de NaOH}_{\text{gastados}} * N_{\text{NaOH}} * 0.09\text{meq}}{g_{\text{muestra}}} * 100$$

En donde:

N= Normalidad de la solución de NaOH (0.1)

0.09 q= Miliequivalentes de ácido láctico.

3.3.3. Determinación de viscosidad.

Para determinar la viscosidad de los yogurts producidos (control y fibra de brócoli) se utilizó el viscosímetro de Brookfield modelo RVT, utilizando los husillos número 6 y a una velocidad de 10 rpm, **Figura 19**.

Las muestras se colocaron en tubos Falcón de 45 ml, el volumen de muestra utilizado fue de 30 ml, la temperatura es un factor que influye considerablemente en la determinación de la viscosidad es por eso que los tubos fueron refrigerados un día antes de la determinación (evitar el contacto directo de las manos con la muestra para no elevar su temperatura) por lo que todas las determinaciones se llevaron a cabo a 6 ± 1 °C. El tubo que contiene la muestra se suspende con una pinza de tres dedos, introducir el husillo hasta que el menisco del mismo toque la superficie de la muestra, encender el equipo y se esperó a que el valor fuera constante. El valor obtenido se multiplicó por 1000, como lo indica la tabla de valores de viscosidad a distintos rpm y con distintos husillos. Los resultados fueron expresados en centipoises (cP).

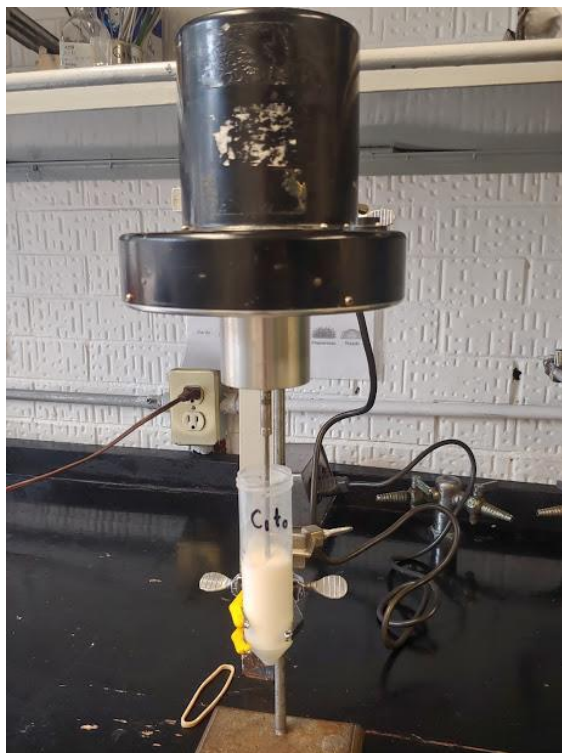


Figura 19. Determinación de viscosidad utilizando el viscosímetro de Brookfield modelo RVT. Foto tomada en el laboratorio de Microbiología Industrial de la FESC.

3.4.4. Determinación de humedad por el método de termobalanza.

El análisis se realizó en un equipo marca OHAUS, modelo MB45, **Figura 20**. El método de termo balanza se basa en evaporar de manera continua la humedad de la muestra y el registro continuo de la pérdida de peso, hasta que la muestra se sitúe en un peso constante (Jung-Su Yang 2015).

Se pesaron 5 ± 1 g muestra dentro de la charola de la termobalanza, distribuyendo de forma homogénea, se ajustó el grado de calentamiento de la lámpara adecuado al tipo de muestra (antes de llegar a la incineración) en este caso a una temperatura de 90 ± 5 °C. Posteriormente se esperó de 40 a 45 minutos hasta que el peso del alimento fuera estable durante 2 minutos. Se anotó el porcentaje de humedad (pérdida de peso durante al secado).



Figura 20. Termobalanza (marca OHAUS, modelo MB45) en funcionamiento Foto tomada en la FESC.

3.4.5. Determinación de sinéresis.

La sinéresis se define como la salida del líquido de un gel que se puede formar a través de oscilaciones de temperatura o envejecimiento (Tamime y Robinson 2000). Los materiales que se expulsan durante la sinéresis son la fase acuosa de la leche fermentada, el agua atrapada dentro de las estructuras, el agua ligada a las proteínas y el agua libre (Vázquez, 2008). La sinéresis expresada como el volumen de suero desprendido durante el almacenamiento, se determinó utilizando el método de Rincón 2005.

Se pesaron 10 g de muestra en una balanza analítica marca DENVER INSTRUMENT modelo APX-153 y se centrifugaron a 2500 rpm durante 20 minutos a $4 \pm 1^\circ\text{C}$, en una centrifuga Solbat J12. Para determinar el porcentaje de sinéresis las muestras fueron pesadas antes y después de decantar el suero.

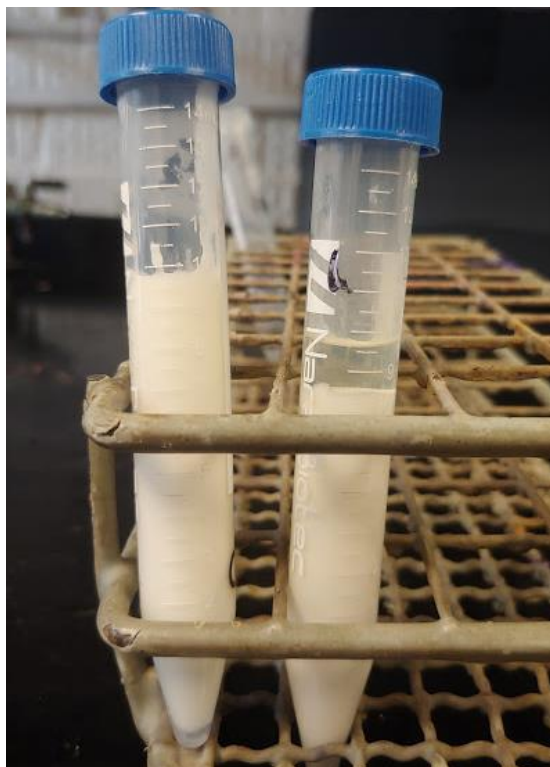


Figura 21. Determinación de sinéresis en una muestra almacenada durante seis semanas en refrigeración a 4°C. A la izquierda muestra antes de ser centrifugada, a la derecha muestra centrifugada donde se aprecia el desprendimiento de suero. Foto tomada en el laboratorio de Microbiología Industrial de la FESC.

3.4.6. Análisis estadístico

Se utilizó un tamaño de muestra de $n=3$, los datos se presentan como la media \pm del error estándar. Se utilizó un análisis de varianza unifactorial (ANOVA) de medidas repetidas, seguida por una prueba Post Hoc de *Shapiro Wilk*, las diferencias fueron consideradas significativas cuando ($p < 0.05$). Las pruebas estadísticas se realizaron utilizando el programa Sigma Plot 14.0 (Jandel Corp. SPSS Inc. San Rafael, CA., U.S.A.).

Diagrama de Proceso de Elaboración de Bebidas Lácteas

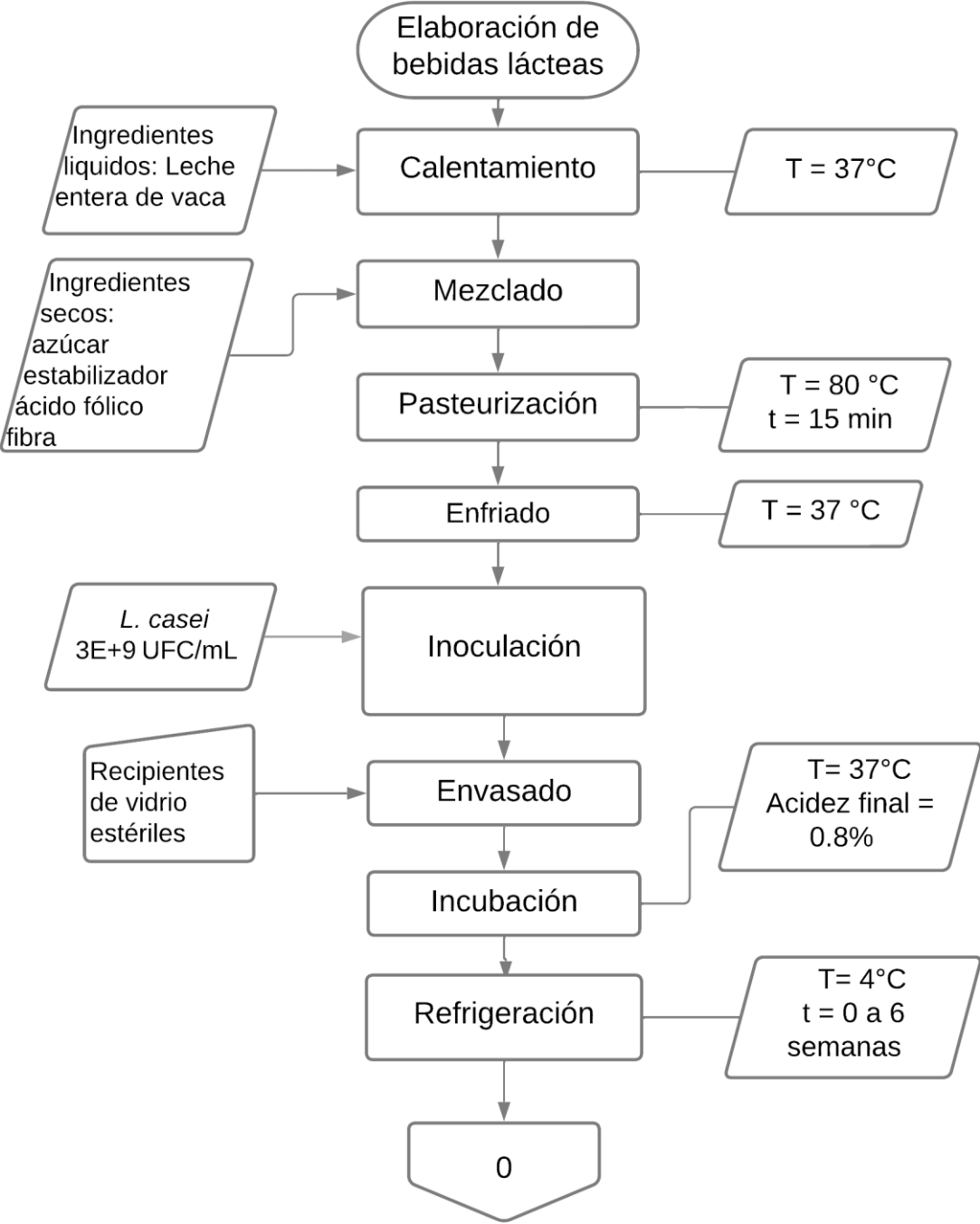


Diagrama Metodológico de Análisis Microbiológico

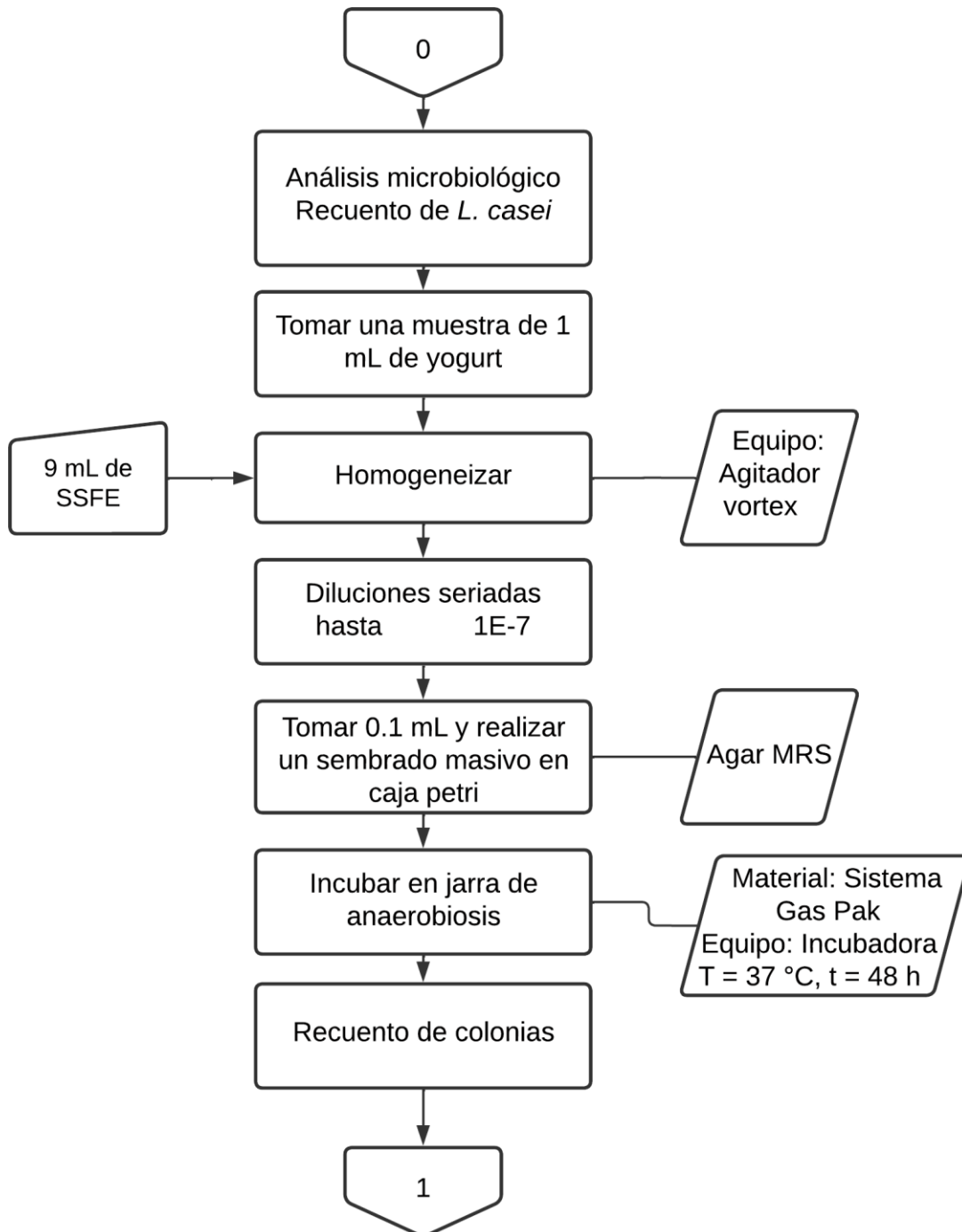
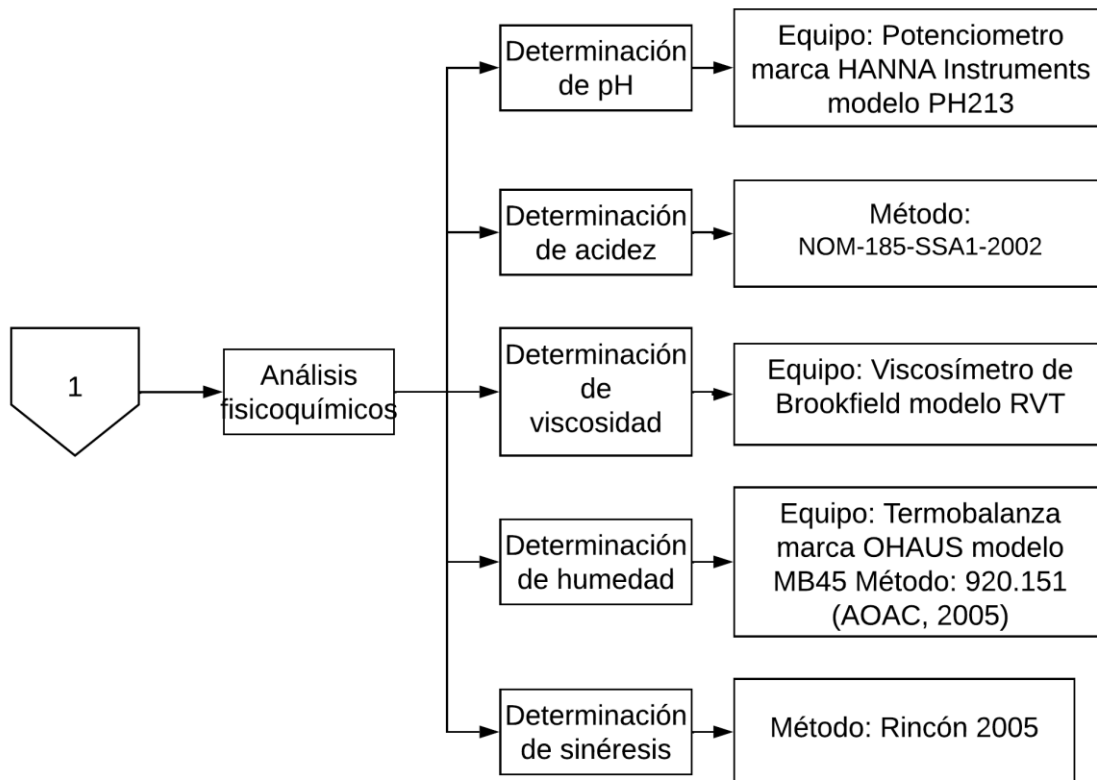


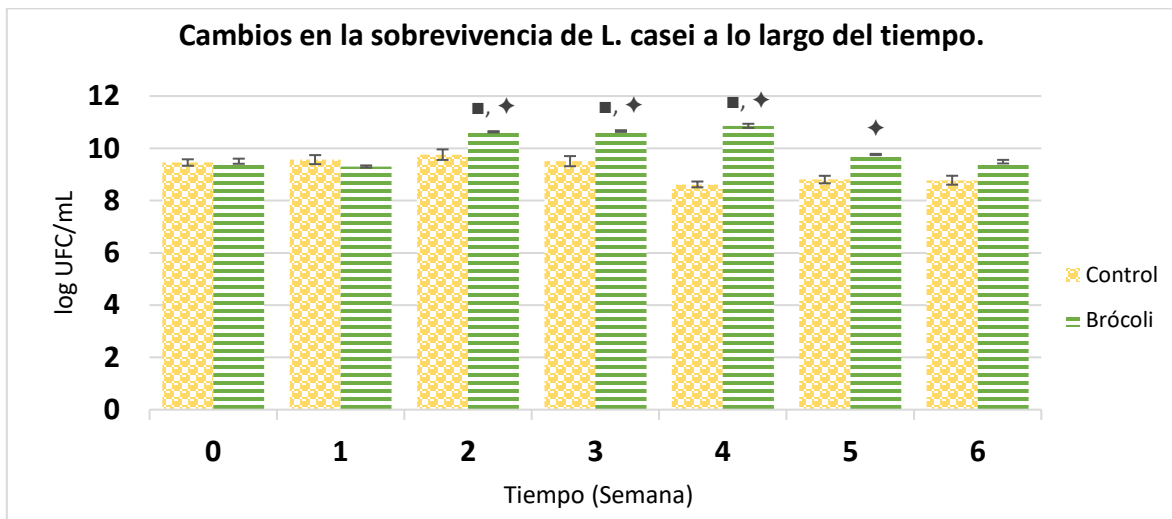
Diagrama Metodológico de Técnicas de Análisis.



4. Resultados y Discusión.

Tabla 13. Cambios en la sobrevivencia de *Lactobacillus casei sbsp casei* a lo largo del tiempo \pm su error estándar.

| Tiempo. | UFC/ml | |
|---------|--------------------|---------------------|
| | Control | Brócoli |
| 0 | 3E+9 \pm 5.3E+9 | 4E+9 \pm 1.1E+10 |
| 1 | 4E+9 \pm 4.2E+9 | 2.E+9 \pm 1.7E+9 |
| 2 | 6E+9 \pm 3E+10 | 4E+10 \pm 2.5E+10 |
| 3 | 3E+9 \pm 1.1E+10 | 4E+10 \pm 3.2E+10 |
| 4 | 4E+8 \pm 9.1E+8 | 8E+10 \pm 1.7E+11 |
| 5 | 6E+8 \pm 1.5E+9 | 5E+9 \pm 2.9E+9 |
| 6 | 6E+8 \pm 1.4E+9 | 3E+9 \pm 5.8E+9 |



Gráfica 1. Cambios en la sobrevivencia de *Lactobacillus casei sbsp casei* a lo largo del tiempo. \blacksquare $p < 0.05$ brócoli semana 0 vs tiempo, \star $p < 0.05$ brócoli vs control.

En la **Gráfica 1** se presentan los cambios en la sobrevivencia de *Lactobacillus casei sbsp. casei* (UFC/mL) en función del tiempo de almacenamiento: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 semanas en refrigeración a 4.0 ± 0.5 °C, para los yogures control y los adicionados con fibra de brócoli \pm la media del error estándar. Como se mencionó anteriormente la semana 0 corresponde al yogurt recién elaborado y las UFC/mL, fueron expresadas como el logaritmo base diez del valor original.

El análisis estadístico indicó que para el yogurt control no hubo cambios significativos respecto al número de UFC/ml a lo largo del tiempo de almacenamiento.

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre las semanas 0, 5, y 6 vs semanas 2, 3, y 4, ($p < 0.05$), mientras que 0, 5, 6 no fueron estadísticamente diferentes ($p > 0.05$),

Al comparar los cambios ocurridos en la sobrevivencia de *Lactobacillus casei* entre los yogures control y los adicionados de fibra de brócoli a lo largo del tiempo (1-6 semanas) en refrigeración (4.0 ± 0.5 °C,) las pruebas estadísticas mostraron diferencias significativas entre el yogurt control vs yogurt adicionado de fibra en las semanas 2, 3, 4 y 5 ($p < 0.05$), mientras que a pesar de que el crecimiento de *Lactobacillus casei* en las semana 1 el yogurt control mostró una diferencia 1.780, mayor que el adicionado de fibra de brócoli ($p > 0.05$); mientras que en la semana 6 el yogurt adicionado de fibra brócoli a pesar de presentar una sobrevivencia de *L casei* 1.080 veces mayor comparado con el yogurt control las pruebas estadísticas no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$).

En relación al yogurt control, el descenso en el crecimiento (UFC/mL), a través del tiempo (4, 5 y 6 semanas) pudiera ser debido: al agotamiento de la fuente de carbono (lactosa y sacarosa) o algún otro nutriente presente en el medio de cultivo, ya que a pesar de encontrarse almacenados en refrigeración *L. casei* continua creciendo lentamente agotando el sustratos y otros nutrientes creando una escases de los mismos, otro de los factores que afecta el crecimiento de *L casei* es el descenso del pH, derivado de la fermentación de lactosa y sacarosa y a la transformación en ácido láctico el cual acidifica el medio y al mismo tiempo afecta el crecimiento de las bacteria (Corrales 2007). Leyva en 1980, reportó que otro de los factores que pudieran ser considerados es el potencial redox, el cual debe ser negativo puesto que las bacterias son anaerobias facultativas, la actividad de agua, la temperatura y el estrés producido por los componentes presentes en la matriz del yogurt.

Los resultados en el sistema adicionado con brócoli mostraron un crecimiento constante en la población de bacterias en yogurt recién elaborado y a la semana (0 y 1), mientras que en la semana 2, 3, y 4 se puede observar un incremento en el crecimiento de *L. casei*, y a la semana 5 y 6 descenso en el crecimiento; sin llegar a ser menor que los registrados en la semana 0 y 1, estos resultados son lógicos ya que el yogurt además de contener lactosa y sacarosa la fibra brócoli es rica en hemicelulosa α , hemicelulosa β , pectinas y galactanos, todos ellos considerados prebióticos (fibra soluble), los cuales son degradados por *L. casei* en ácidos grasos de cadena corta (AGCC), tales como el acetato, propionato y butirato, en donde el propionato junto con la lactosa (presente en la leche) y la sacarosa (adicionada como endulzante) actúa como fuente de carbono favoreciendo su crecimiento (Perèz-Conesa 2004). Así mismo, los AGCC favorecen un mejor aprovechamiento de los “desechos” para convertirlos en energía además de aportar otros beneficios como la disminución del pH intraluminal, estimulación de la absorción de sodio y agua, prevención del cáncer de colon e incluso una disminución en la síntesis hepática de colesterol, El sistema adicionado con fibra de brócoli puede tener efectos positivos en el tracto intestinal bajo debido a sus múltiples propiedades probióticas y prebióticas, convirtiéndolo en un alimento nutracéutico que podría ayudar a prevenir enfermedades metabólicas.

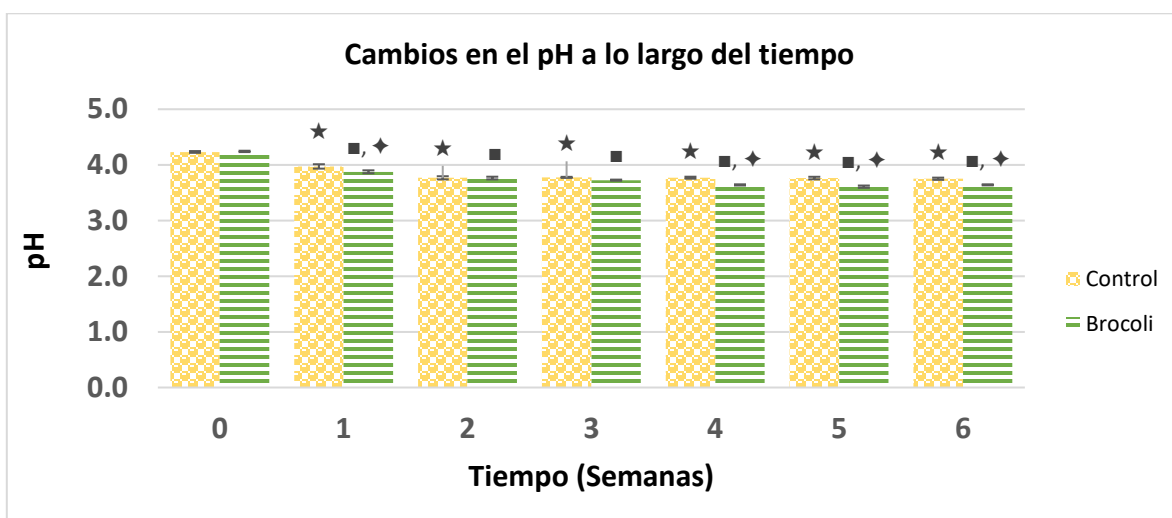
Los resultados a nivel gráfico muestran una tendencia de disminución en la población de bacterias lácticas para el yogurt control, sin embargo, para el sistema adicionado con fibra de brócoli se mostró un efecto contrario, es decir, la población de bacterias lácticas aumentó, esto desde luego era esperado ya que al añadir una fuente de carbono extra como lo es la fibra de brócoli (rica en hemicelulosa y galactanos) se puede prolongar la viabilidad de *Lactobacillus casei* en el yogurt (Schrezenmeir, 2001).

Nótese que a las seis semanas de almacenamiento el yogurt control presentó una sobrevivencia de *L. casei* de 6×10^8 UFC/mL y mientras que el yogurt adicionado de

fibra de brócoli fue de 3.42×10^9 UFC/mL que, de acuerdo con lo reportado por Tormo, 2006, ambos sistemas al presentar una viabilidad superior 1×10^6 UFC/mL por lo que ambos yogures pueden ser considerados alimentos probióticos.

Tabla 14. Cambios en el pH a lo largo del tiempo

| Tiempo. | pH | |
|---------|-----------------|-----------------|
| | Control | Brócoli |
| 0 | 4.23 ± 0.02 | 4.24 ± 0.02 |
| 1 | $3.97 \pm .04$ | 3.87 ± 0.03 |
| 2 | 3.76 ± 0.02 | 3.76 ± 0.02 |
| 3 | 3.77 ± 0.00 | 3.72 ± 0.01 |
| 4 | 3.77 ± 0.01 | 3.64 ± 0.02 |
| 5 | 3.76 ± 0.03 | 3.60 ± 0.03 |
| 6 | 3.75 ± 0.02 | 3.64 ± 0.01 |



Grafica 2. Cambios en el pH a lo largo del tiempo, * $p < 0.05$ control semana 0 vs tiempo, # $p < 0.05$ brócoli semana 0 vs tiempo, * $p < 0.05$ brócoli vs control.

En la **Gráfica 2** se presentan los cambios en el pH en función del tiempo de almacenamiento: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 semanas en refrigeración a 4 ± 0.5 °C, para los yogures control y los adicionados con fibra de brócoli \pm la media del error estándar. Como se mencionó anteriormente el yogurt etiquetado como semana 0 corresponde al yogurt recién elaborado.

Los resultados estadísticos indicaron que el pH para el yogurt control a la semana 0 y 1 fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) vs semanas 2, 3, 4, 5 y 6, mientras que al comparar el tiempo 2 con las semanas 3, 4, 5 y 6 no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

El yogurt adicionado con fibra de brócoli mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) durante las semanas 0, 1, 2 y 3 vs las semanas 4, 5 y 6, mientras que entre los tiempos 1 vs 2 y 2 vs 3 no se registraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tiempos 1 y 2, 2 y 3. Es decir los cambios en el pH del sistema adicionado con fibra de brócoli fueron estadísticamente significativos durante la primera mitad de vida de anaquel (3 semanas).

Al comparar los resultados de cambios en el pH en función del tiempo del yogurt control contra el yogurt adicionado con fibra de brócoli almacenados por 6 semanas a 4 ± 0.5 °C, se encontraron diferencias significativas en los tiempos ($p < 0.05$) 1, 4, 5 y 6, mientras que los tiempos 0, 2 y 3 no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$), cabe recalcar que el pH del sistema con fibra de brócoli mantuvo un pH más bajo que el yogurt control desde la semana 1 hasta la semana 6.

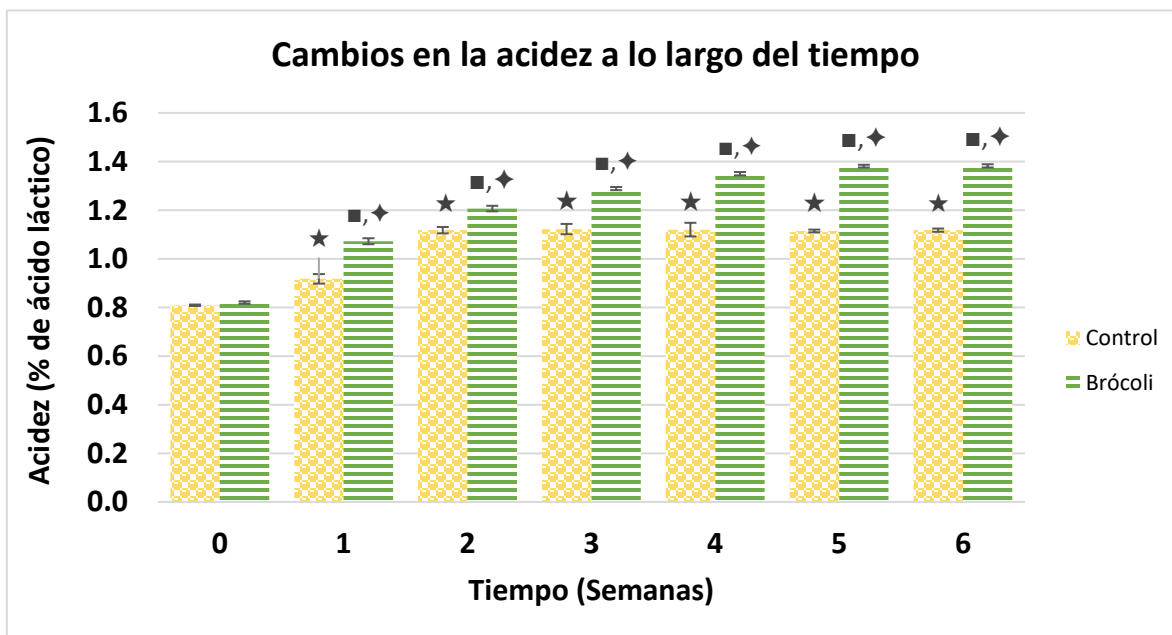
El descenso del pH a lo largo del tiempo para ambos sistemas es ocasionado por la producción de ácido láctico debido a la fermentación de la lactosa proveniente de la leche, como se ha mencionado anteriormente *Lactobacillus casei* es una bacteria homofermentativa, es decir que produce únicamente ácido láctico, en específico el isómero levógiro (+) el cual es bioactivo puesto que este confiere propiedades benéficas a la digestión y además ayuda a mantener la microbiota intestinal sana. (Hariom, 2007).

Los cambios en el pH para ambos sistemas son esperados por lo anteriormente mencionado, sin embargo, el sistema adicionado con fibra de brócoli presentó valores de pH más bajos que el sistema control en todo momento, además de mostrar una tendencia a disminuir gradualmente, mientras que el yogurt control

mantuvo valores casi constantes a partir de la semana 2. Puesto que el descenso del pH depende de la producción de ácido láctico, la discusión de estos resultados continuará en el apartado de cambios en la acidez en función del tiempo. Si bien existe la posibilidad de que el descenso del pH se deba a componentes ácidos provenientes del brócoli por ejemplo trazas de ácido cítrico los cuales suelen tener valores de acidez titulable prácticamente despreciables (Esteban-Cano, 2016), o acidez proveniente de componentes como las pectinas, sin embargo, esto no explicaría el aumento en el número de UFC/mL, por lo que esta posibilidad quedaría rechazada.

Tabla 15. Cambios en la acidez a lo largo del tiempo.

| Tiempo. | Acidez | |
|---------|-------------|-------------|
| | Control | Brócoli |
| 0 | 0.80 ± 0.01 | 0.82 ± 0.01 |
| 1 | 0.91 ± 0.02 | 1.07 ± 0.02 |
| 2 | 1.11 ± 0.02 | 1.12 ± 0.02 |
| 3 | 1.12 ± 0.02 | 1.28 ± 0.01 |
| 4 | 1.12 ± 0.01 | 1.35 ± 0.01 |
| 5 | 1.11 ± 0.00 | 1.38 ± 0.00 |
| 6 | 1.11 ± 0.00 | 1.38 ± 0.00 |



Gráfica 3. Cambios en la acidez a lo largo del tiempo, * $p < 0.05$ control semana 0 vs tiempo, \blacksquare $p < 0.05$ brócoli semana 0 vs tiempo, \blacklozenge $p < 0.05$ brócoli vs control.

En la **Gráfica 3** se presentan los cambios en la acidez titulable expresada como el porcentaje de ácido láctico en función del tiempo de almacenamiento: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 semanas en refrigeración a 4.0 ± 0.5 °C, para los yogures control y los adicionados con fibra de brócoli \pm la media del error estándar. Nótese que a medida que el pH disminuye (**Gráfica 2**), la acidez titulable expresada como ácido láctico aumenta (**Gráfica 3**).

Los resultados estadísticos para el sistema control mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los tiempos 0 y 1 vs los tiempos 2, 3, 4, 5 y 6 (0.8089 ± 0.0031 , 0.9175 ± 0.0195 vs 1.1178 ± 0.0131 , 1.1222 ± 0.0213 , 1.1200 ± 0.0176 , 1.1144 ± 0.0056 y 1.1178 ± 0.0066), mientras que entre las semanas 2, 3, 4, 5, 6, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$).

Como se puede observar los únicos resultados que no mostraron diferencias significativas fueron los registrados a las semanas 5 y 6 vs 0, 1, 2, 3, 4 ($p > 0.05$).

Así mismos, como se puede observar los resultados de los yogures adicionados de fibra de brócoli presentaron un porcentaje de ácido láctico mayor al del yogurt control, esto pudiera ser debido a que el yogurt adicionado de fibra de brócoli posee otras fuentes de carbono además de la lactosa (azúcar de la leche), tales como: hemicelulosa α , hemicelulosa β , pectinas, galactanos y celulosa, los cuales de acuerdo a reportes emitidos por Gonzales, 2008, *L casei* tiene la capacidad de degradar carbohidratos provenientes de vegetales, hecho que pudiera ocurrir durante el almacenamiento del yogurt, es decir que *L casei* utiliza los polisacáridos mencionados presentes en el brócoli para promover su sobrevivencia y reproducción.

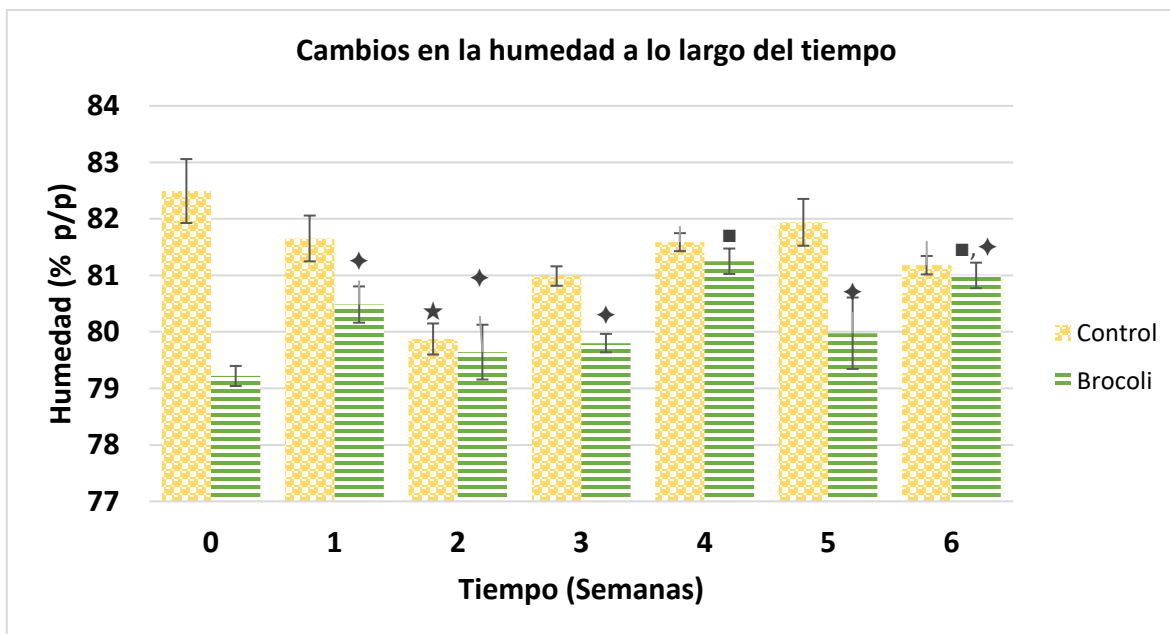
Al realizar un análisis de los resultados presentados hasta este momento para ambos sistemas (yogurt control y adicionado de fibra de brócoli) se puede observar que para el yogurt control las UFC/mL tienden a disminuir, mientras que en el yogurt

adicionado de fibra de brócoli UFC/mL a medida que transcurre el tiempo se presenta un incremento seguido de un ligero descenso sin llegar al valor inicial (yogurt recién elaborado), la fibra de brócoli parece tener efectos benéficos en la sobrevivencia y viabilidad de *Lactobacillus casei*, esto se demuestra por el aumento en la población de BAL a lo largo del tiempo de almacenamiento y por la producción continua de ácido láctico, lo que ocasiona un descenso en el pH del yogurt. Este tipo de investigaciones resultan interesantes ya que al momento no existen evidencias que indiquen si *L. casei* tiene la capacidad de incrementar su sobrevivencia durante su almacenamiento en alimentos que contienen fibra de brócoli como prebiótico, y ejercer un efecto simbiótico, que aunado a la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como el acetato, butirato y propionato los cuales podrían influir directamente en la salud de los consumidores (Nordgaard, 1995 and Cumming, 2001).

Sin embargo, para asegurar que lo comentado es cierto se requiere realizar un análisis espectroscópico que permitan determinar los ácidos orgánicos presente en la matriz del yogurt.

Tabla 16. Cambios en la humedad a lo largo del tiempo.

| Tiempo. | Humedad | |
|---------|--------------|--------------|
| | Control | Brócoli |
| 0 | 82.49 ± 0.57 | 79.21 ± 0.18 |
| 1 | 81.65 ± 0.05 | 80.48 ± 0.33 |
| 2 | 79.87 ± 0.28 | 79.64 ± 0.49 |
| 3 | 80.98 ± 0.18 | 79.80 ± 0.17 |
| 4 | 81.58 ± 0.16 | 81.25 ± 0.23 |
| 5 | 81.93 ± 0.42 | 79.97 ± 0.64 |
| 6 | 81.18 ± 0.17 | 80.99 ± 0.23 |



Gráfica 4. Cambios en la humedad a lo largo del tiempo, * $p < 0.05$ control semana 0 vs tiempo, # $p < 0.05$ brócoli semana 0 vs tiempo, * $p < 0.05$ brócoli vs control.

En la **Gráfica 4** se presentan los cambios en la humedad en función del tiempo de almacenamiento: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 semanas en refrigeración a 4.0 ± 0.5 °C, para los yogures control y los adicionados con fibra de brócoli \pm la media del error estándar.

El análisis estadístico demostró que el tiempo 2 presentó diferencias significativas vs 0, 1 y 5 ($t=2$: 79.8733 ± 0.2750 vs $t=0$: 82.4922 ± 0.5660 ; $t=1$: 81.6533 ± 0.4050 ; $t=5$: 81.9389 ± 0.4140), mientras que los tiempos 0, 1, 3, 4, 5 y 6 no fueron significativamente diferentes entre sí ($p > 0.05$).

Los resultados estadísticos indicaron diferencias significativas ($p < 0.05$) del tiempo 0 vs 4 y 6 ($t=0$: 79.2189 ± 0.1780 vs $t=4$: 81.2500 ± 0.2250 , $t=6$: 80.9989 ± 0.2260). Por otra parte, los tiempos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 no presentaron diferencias significativas entre ellos ($p > 0.05$).

Al comparar los resultados estadísticos de humedad para el sistema control vs el sistema adicionado con fibra de brócoli en función del tiempo se encontraron

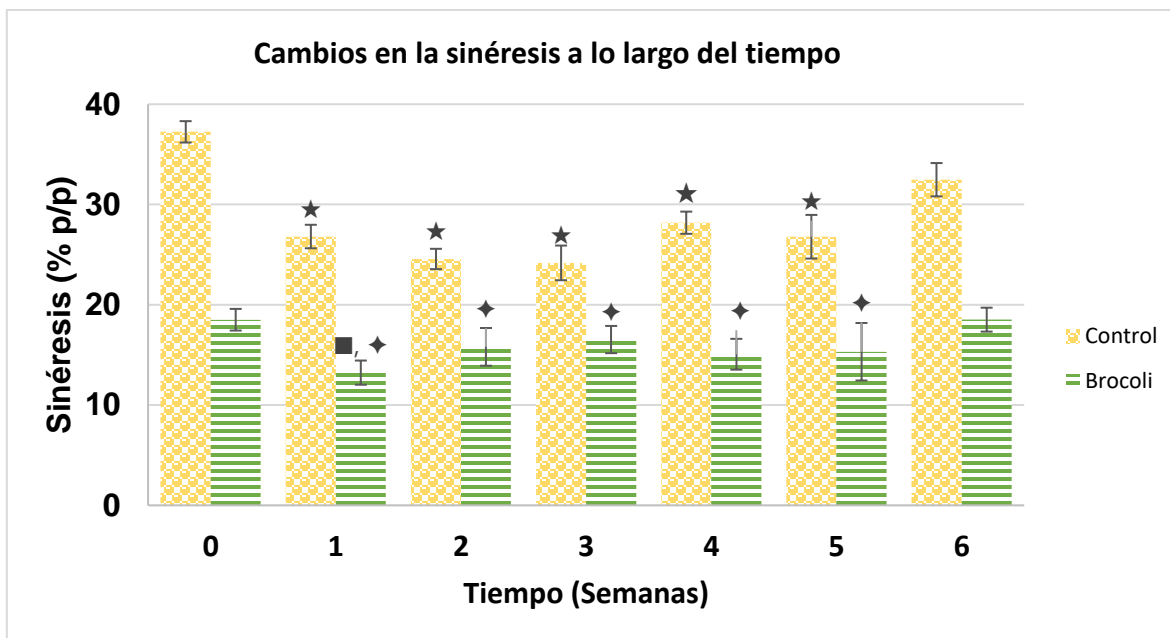
diferencias significativas ($p < 0.05$) en los tiempos 0, 1, 3, 5 y 6, por otra parte, en los tiempos 2 y 4 los resultados no fueron estadísticamente significativos ($p > 0.05$).

El hecho de que existan diferencias significativas entre el yogurt control y el adicionado con brócoli pudiera deberse a dos razones, la primera es que porcentualmente el yogurt adicionado con fibra de brócoli presentó un contenido agua menor.

Esto pudiera deberse a que las fibras dietéticas, tienen la capacidad de retener agua dentro de la matriz de la fibra, la cual, hace que las fibras tengan efecto benéfico sobre la digestión, puesto que retrasan el vaciamiento gástrico y aumentan el volumen de las heces mediante la formación de geles, esto dependiendo el tipo de fibra, ya sea soluble o insoluble (Paez-Huerta, 2009).

Tabla 17. Cambios en la sinéresis a lo largo del tiempo.

| Tiempo. | Sinéresis | |
|---------|--------------|--------------|
| | Control | Brócoli |
| 0 | 37.24 ± 1.06 | 18.51 ± 1.08 |
| 1 | 26.80 ± 1.17 | 13.23 ± 1.20 |
| 2 | 24.56 ± 1.01 | 15.80 ± 1.88 |
| 3 | 24.17 ± 1.72 | 16.53 ± 1.35 |
| 4 | 28.18 ± 1.10 | 15.06 ± 1.53 |
| 5 | 26.78 ± 2.17 | 15.31 ± 2.86 |
| 6 | 32.47 ± 1.66 | 18.51 ± 1.19 |



Gráfica 5. Cambios en la humedad a lo largo del tiempo, * $p < 0.05$ control semana 0 vs tiempo, $\blacklozenge p < 0.05$ brócoli semana 0 vs tiempo, * $p < 0.05$ brócoli vs control.

En la **Gráfica 5** se presentan los cambios en la sinéresis en función del tiempo de almacenamiento: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 semanas en refrigeración a 4.0 ± 0.5 °C, para los yogures control y los adicionados con fibra de brócoli \pm la media del error estándar.

El análisis estadístico muestra diferencias significativas en los tiempos 0 vs 1, 2, 3, 4 y 5, (37.2456 ± 1.0650 vs 26.8056 ± 1.1720 ; 24.5683 ± 1.0130 ; 24.1755 ± 1.7290 ; 28.1836 ± 1.1080 ; 26.7846 ± 2.1760) y la semana 6 vs semanas 1, 2, 3 y 5 (32.4713 ± 1.6610 vs 26.8056 ± 1.1720 ; 24.5683 ± 1.0130 ; 24.1755 ± 1.7290 ; 26.7846 ± 2.1760). Los tiempos 1, 2, 3, 4 y 5 no significativamente diferentes entre ellos ($p > 0.05$).

Al realizar el análisis estadístico se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tiempos 0 vs 1 y 1 vs 6 (18.5100 ± 1.0800 vs 13.2342 ± 1.2060 y 13.2342 ± 1.2060 vs 18.5174 ± 1.1920), por otro lado, el resto de tiempos, es decir, 2, 3, 4 y 5 no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellos.

Al comparar los resultados estadísticos en los cambios de sinéresis del yogurt control vs el yogurt adicionado con fibra de brócoli en función del tiempo se encontraron diferencias significativas entre todos los tiempos, es decir desde la semana 0 hasta las 6 en ambos sistemas, los resultados fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Entre los principales factores que favorecen la sinéresis en el yogurt se encuentra la rápida acidificación, el pH, temperaturas de incubación elevadas, excesivo tratamiento térmico (durante la pasteurización o preparación) y bajo contenido de sólidos (Lucey, 1998). Sin embargo, el principal factor que afectaría la sinéresis en este experimento es la disminución de pH puesto que ambos sistemas continúan fermentándose y produciendo ácido láctico, el cual puede tener efecto de contracción en la matriz de la micela de caseína, causando una mayor eliminación de lactosuero, por lo que es lógico que la sinéresis comience a aumentar después de cierto periodo de almacenamiento (Achanta, 2007). Cabe recalcar que los valores de acidez del yogurt con fibra de brócoli fueron mayores que los del yogurt control por lo que se esperaría un porcentaje mayor de sinéresis en el sistema con fibra de brócoli, sin embargo, esto no fue así.

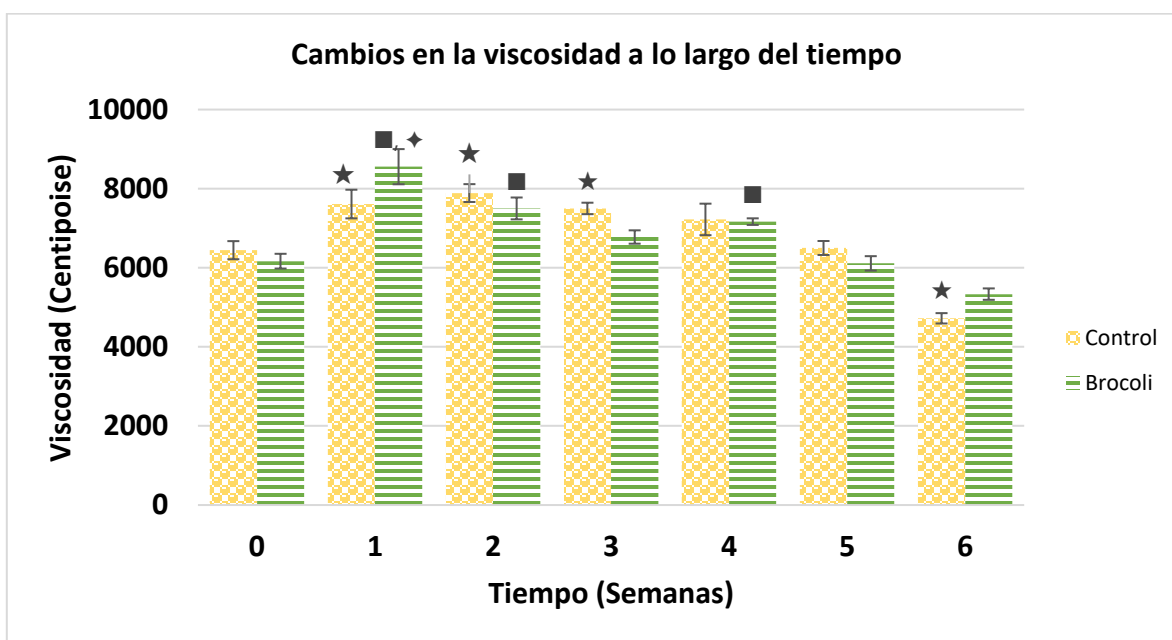
Cabe destacar que los valores de sinéresis de ambos productos demostraron ser más bajos a los reportados para un yogurt control como el de Díaz (2004), quien arrojó valores entre el 45% y 60%, mientras que en este experimento rondaron entre el 24% y 32% para el yogurt control y entre el 15% y 18% para el yogurt adicionado con fibra de brócoli, lo cual indica que puede tratarse de sistemas más estables.

El aumento en la sinéresis es un factor que tiende a ocurrir debido a la pérdida de la estabilidad y retención de agua de los componentes del yogurt (Díaz, 2004), no obstante la diferencia entre el sistema control y el sistema adicionado con fibra de brócoli es muy notoria cuando se determinó esta propiedad, el sistema adicionado con fibra de brócoli se mantuvo más estable, es decir el desprendimiento de suero fue mucho más bajo que el de control, lo cual indica que la fibra de brócoli puede

influir en la retención de agua (o en este caso el lactosuero) debido a sus propiedades fisicoquímicas, lo cual le confiere al yogurt adicionado con fibra de brócoli mayor estabilidad, esto es muy importante puesto que el desprendimiento de suero debe ser mínimo, ya que de lo contrario puede causar rechazo por parte del consumidor.

Tabla 18. Cambios en la viscosidad a lo largo del tiempo.

| Tiempo. | Viscosidad | |
|---------|------------------|------------------|
| | Control | Brócoli |
| 0 | 6444.44 ± 229.16 | 6166.66 ± 186.33 |
| 1 | 7611.11 ± 362.11 | 8555.55 ± 444.44 |
| 2 | 7888.88 ± 225.56 | 7500.00 ± 276.38 |
| 3 | 7500.00 ± 144.65 | 6777.77 ± 168.96 |
| 4 | 7222.22 ± 398.77 | 7166.66 ± 83.33 |
| 5 | 6500.00 ± 176.84 | 6111.11 ± 182.15 |
| 6 | 4722.22 ± 130.81 | 5333.33 ± 144.33 |



Gráfica 6. Cambios en la viscosidad a lo largo del tiempo de almacenamiento. * $p < 0.05$ control semana 0 vs tiempo, $\square p < 0.05$ brócoli semana 0 vs tiempo, $\star p < 0.05$ brócoli vs control.

En la **Gráfica 6** se presentan los cambios en la viscosidad de ambos sistemas en función del tiempo de almacenamiento: 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 semanas en refrigeración

a 4.0 ± 0.5 °C, para los yogures control y los adicionados con fibra de brócoli \pm la media del error estándar.

Los resultados estadísticos para el yogurt control demostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el tiempo 0 vs 1, 2, 3 y 6, por otro lado, la semana 1, 2 y 3 tuvieron diferencias significativas con los tiempos 5 y 6, finalmente las semanas 4 y 5 fue diferente significativamente con la semana 6.

Los resultados estadísticos para el yogurt adicionado con fibra de brócoli mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el tiempo 0 vs 1, 2 y 4; 1 vs 2, 3, 4, 5 y 6 semanas, 2 vs 5 y 6; 3 vs 6; 4 vs 5 y 6; y 5 vs 6 no fueron significativas diferentes. ($p > 0.05$).

Al comparar estadísticamente los resultados entre el sistema control y el sistema adicionado con fibra de brócoli en función del tiempo no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en los tiempos 0, 2, 3, 4, 5 y 6, pero si se encontraron diferencias significativas al tiempo 1, lo que quiere decir que la viscosidad fue diferente estadísticamente únicamente una semana después de elaborar ambos sistemas.

El hecho de que no haya diferencias significativas entre ambos sistemas influye de manera positiva para el sistema adicionado con fibra de brócoli, ya que normalmente el hecho de añadir una cierta cantidad de sólidos o componente que alteren la red tridimensional del gel afectarían directamente a la viscosidad, aunque también existen factores como la temperatura, la energía cinética que recibe y el pH que pueden afectar esta propiedad. (Reyes, 2015)

Sin embargo, ambos sistemas se comportaron de forma similar, con una tendencia a aumentar su viscosidad en los primeros días de almacenamiento debido a la solidificación y estabilización del gel, no obstante, posteriormente hubo una tendencia a disminuir su viscosidad, lo cual es lógico debido a que el pH e incluso

el tiempo de almacenamiento pueden influir de manera directa sobre el arreglo tridimensional, este tipo de cambio ha sido reportado también por Rasic y Kurman (1978) conociendo a este fenómeno como tixotropía, mencionado también por Díaz en el 2004.

Paseephol (2008) menciona que la adición de inulina (una fibra dietética) causa una disminución en la viscosidad aparente comparada con un yogurt control, por lo que sería normal reportar viscosidades ligeramente menores para el yogurt adicionado con fibra de brócoli, no obstante ya se ha mencionado que no serían estadísticamente significativas, por lo que añadir la fibra de brócoli no influye de manera considerable en las propiedades fisicoquímicas relacionadas a la retención de agua, lo cual hace viable seguir esta fórmula sin afectar el producto original pero dando a cambio un valor agregado que puede proporcionar propiedades nutraceuticas.

Conclusiones.

- La evaluación de la sobrevivencia de *Lactobacillus casei ssp casei* en el yogurt adicionado con fibra de brócoli se vio favorecida puesto que la concentración de UFC/ml en este sistema se mantuvo por arriba del yogurt control. Esto confirma la hipótesis de que al añadir fibra dietética de brócoli la población de *L. casei* creará un efecto sinérgico potencializando las propiedades de ambos componentes. De igual forma cabe mencionar los efectos benéficos que podrían generar dentro del organismo del consumidor (aporte de nutrientes, sensación de saciedad, fortalecimiento de la microbiota intestinal, prevención de enfermedades metabólicas y/o digestivas, etc).
- Durante el proceso de fermentación las propiedades fisicoquímicas presentaron algunos cambios: El pH en ambos sistemas disminuyó durante las seis semanas de almacenamiento y la acidez aumentó, en el caso del

yogurt adicionado con fibra de brócoli a pesar de registrar una mayor acidez comparada con el control, el crecimiento de las bacterias y la estabilidad fisicoquímica del sistema no se vio afectada (sinéresis).

- La sinéresis del yogurt adicionado de fibra de brócoli fue menor que la del control durante las seis semanas, la capacidad de retención de agua fue mayor incluso a pH más bajo que el control.

Perspectivas:

Finalmente, sería interesante conocer en otro proyecto de investigación los efectos del consumo de las bebidas lácteas fermentadas mediante la utilización de sujetos de prueba con el fin de entender aún más los procesos metabólicos donde influyen los probióticos y prebióticos. Así como, analizar mediante técnicas espectroscópicas que tipos de metabolitos se prevalecen en el tracto gastrointestinal.

Referencias bibliográficas.

1. A.O.A.C Internacional (2005) Official Methods of Analysis, 18th edition. United States.
2. Aceves RJM, Izeta-Gutierrez AC, Alarcon G, Izeta ACMM (2017). La microbiota y el microbioma intestinal humano. (Entre las llaves del reino y una nueva caja de Pandora), *Rev Sanidad militar*. 71(5):443-448.
3. Alvidrez A, Gonzales B, Jiménez Z (2002). Tendencia en la producción de alimentos funcionales. *Rev Salud Publica y Nutrición*. 3:1-6.
4. Amirreza K, Reza B, Shabnam K (2015)- Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition. *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*. Edited by Venketeshwer Rao. Intech Open.
5. Ashwell M (2005). Conceptos sobre Alimentos Funcionales. ILSI Europe Concise Monograph Series, ILSI Press.
6. Brook I (1999). Bacterial interference. *Crit Revista Microbiologia*. 25:155-172.
7. Carbonero Zalduegui, Pilar (1975). Enzimas. E.T.S.I. Agrónomos, Madrid.
8. Chávez M. (2013). Gut microbiota in health and disease, *Rev gastroenterol de Méx*. 78(4):240-248.
9. Contreras J (2002). La obesidad: una perspectiva sociocultural. *Nutrición y obesidad; BIBLID* 11(8):997-1001.
10. Corrales A, HendersonM, Morales I (2007). Sobrevivencia de microorganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis* en helado batido. *Rev Chilena de Nutrición*, 34(2):157-163.
11. Corte Osorio LY, Martínez Flores HE, Ortiz Alvarado R (2011). Efecto del consumo de la fibra dietética en la expresión cuantitativa del receptor de butirato GPR43 en colon de ratas. *Nutrición Hospitalaria*, 26(5), 1052-1058
12. Cummings JH (1981) Dietary fibre. *Br Med Bull*. 37:65-70.
13. Cummings JH, Macfarlane G y Englyst H (2001). Prebiotic digestion and fermentation. *Am J Clin Nutr* 73:415-420.
14. Díaz Jimenez B. (2004) Efecto de la adición de fibra y la disminución de grasa en las propiedades fisicoquímicas del yogur. *Revista mexicana de Ingeniería Química*. 3(3): 287-305.
15. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Obesidad. Recuperado el 7 de noviembre del 2019 de <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2012/descargas.php>.

16. Escudero Álvarez, E., & González Sánchez, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21(Supl. 2), 61-72
17. FAO (2001). Probiotics in food. *Food nutr pap*, 85:71.
18. Federación Mexicana de Diabetes, A.C. Recuperado el 7 de noviembre del 2019 de <http://fmdiabetes.org/principales-causas-mortalidad-mexico-2/>.
19. Gibson GR, Roberfroid MB (1995)., Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics, *The J. Nutr.* 125(6):1401–1412.
20. Gimeno E (2004). Alimentos prebióticos y probióticos. *Rev Offarm.*23(5):90-98.
21. Guarner F (2003). Flora intestinal en la salud y la enfermedad. *The Lancet.* 36:512-519.
22. Guarner F (2007). Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutr Hospi.* 22(2):14-19.
23. Hariom-Yadav M (2007). Efecto antidiabético de los dahi probióticos que contienen *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* en ratas alimentadas con alto contenido de fructosa. *Nutr.* 23(1): 62-68.
24. Helgeland L, Dissen E, Dai KZ, Midtvedt T, Brandtzaeg P, Vaage JT (2004). Microbial colonization induces oligoclonal expansions of intraepithelial CD8 T cells in the gut. *Eur J Immunol.* 34:3389-3400.
25. Hernandez AG (2010). Tratado de nutrición: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. *Ed. Médica. Panamericana.* Pag 240.
26. Hofvendahl, K. y Hägerdal, B. (2000). Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology* 26(2-4): 87-107.
27. Huazano-García, A., & López, M. G. (2013). Metabolism of Short Chain Fatty Acids in the Colon and Faeces of Mice After a Supplementation of Diets with Agave Fructans. In (Ed.), *Lipid Metabolism.* IntechOpen.
28. Institute of Food Technologists (IFT) (2013) “What are fructooligosaccharides and how do they provide digestive, immunity and bonehealth benefits?”. *ScienceDaily.*
29. Jean MacFaddin. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Estados Unidos: Editorial Medica Panamericana.
30. Jung-Su Y (2015), Hyun-Ah K, Chung-Rak S (2015). Sensory Characteristics of Dressing made with guggija (*Lycium chinense*), *Culinary science and hospitality research* 21(5):59-71.
31. Kolida S, Tuohy K, Gibson G (2002). Prebiotic effects of Inulin and Oligofructosa. *Br J Nutr.* 87(2):193-197.

32. Lairon D (1996). Dietary Fibres: effects on lipid metabolism and mechanisms of action. *Eur J Clin Nutr.* 50:125-133.
33. Lucey J. (1998). A comparison of the formation, rheological properties and microstructure of acid skim milk gels made with a bacterial culture or gluconolactone. *Food Res. Int.* (Gran Bretaña). 31:147-155.
34. Medina V, Afonso JJ, Alvarez-Arguelles H, Hernández C, González F. Sodium butyrate inhibits carcinoma development in a 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon cancer. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1998 Jan-Feb;22(1):14-7
35. Moreno L, Cervera RP, Ortega RM, Díaz JJ, Baladia E, Basulto J, Bel S, Iglesia I, López-Sobaler A., Manera M, Rodríguez Rodríguez E, Santaliestra AM, Babio N, Salas-Salvadó, J. (2013). Evidencia científica sobre el papel del yogur y otras leches fermentadas en la alimentación saludable de la población española. *Nutr Hospit*, 28(6):2039-2089.
36. Moreno-Aznar LA, Cervera-Ral P, Ortega-Anta R, Díaz-Martín J, Baladia, E, Basulto J, Bel-Serrat S, Iglesia-Altaba I, López-Sobaler A, Manera M, Rodríguez E, Santaliestra-Pasías A, Babio N, Salas-Salvadó J (2013). Evidencia científica sobre el papel del yogur y otras leches fermentadas en la alimentación saludable de la población española. *Nutrición Hospitalaria*, 28(6), 2039-2089.
37. Nordgaard I y Mortensen PB (1995). Digestive processes in the human colon. *Nutr.* 11:37-45.
38. Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI/SAGARPA-2018, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. Diario oficial de la Federación. México. 31 de enero del 2019.
39. Norma Oficial Mexicana NOM-185-SSA1-2002. Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación México. 31 de enero del 2019.
40. OCDE (2017), Health at a Glance 2017: OECD Indicators, OECD Publishing, París, https://doi.org/10.1787/health_glance-2017-en.
41. Ochoa C (2013). La biota intestinal, el metabolismo energético, y la diabetes mellitus. *Rev cub alim nutr.* 23(1):113-119.
42. Oliveira G, Gonzales I (2016). Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica, *Endocrinología y nutrición.* 63(9):482-494.

43. Organización Mundial de la Salud: Diabetes. Consultado el 8 de noviembre de 2019 de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
44. Organización Mundial de la Salud: Obesidad <https://www.who.int/topics/obesity/es/> (Consultado el 5 de noviembre del 2019).
45. Páez H G. (2009). *Beneficios de la fibra dietética en enfermedades crónico degenerativas. Revista Médica de la Universidad Veracruzana.* 9(1):31-35.
46. Parra R, Huertas A (2012). Yogur en la salud humana. *Revista Lasallista de Investigación,* 9(2):162-177.
47. Parra RA (2014). Physicochemical, sensory, proximal and microbiological characteristics of yoghurt with chocolate in refrigeration. *temas agrarios,* 19:146-158.
48. Paseephol T (2008). Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. *Journal of Texture Studies.* 39(6): 617-634.
49. Perdigón ME, Alvarez GO, Ruiz AP (1988). Systemic augmentation of the immune response in mice by feeding fermented milks with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Inmunology,* 63(1):17–23.
50. Rasic, J.L. and Kurman, J.A. (1978) Yoghurt. Volume I, Technical *Dairy Publishing House.* Copenhagen, Denmark.
51. Reyes C, Ramírez M (2015). Propiedades Físicoquímicas y de Flujo de un Yogur Asentado Enriquecido con Microcápsulas que Contienen Ácidos Grasos Omega 3. *Inf Tecn.* 26:87-96.
52. Rhee SH, Pothoulakis C, Mayer EA (2009). The effects of gut microbiota on CNS function in humans. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature Review Gastroenterology & Hepatology.* 6:306-314.
53. Rincon F, Oberto A, Leon de Pinto G (2005). Funcionalidad de la goma de *Enterolobium cyclocarpum* en la preparación de yogurt líquido semi-descremado. *Revista Científica* 9(1):83-87.
54. Roberfroid M (1993) Dietary fibre, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 33(2):103-148.
55. Roediger WE (1982). The effect of bacterial metabolites on nutrition and function of the colonic mucosa. Symbiosis between man and bacteria. Falk Symposium 32. Kaspes H, Goebell H eds. Colon and Nutrition. MTP Press limited, *Lancaster.* 11-24.
56. Rombeau JL, Kriple SA (1990) *Metabolic and intestinal effects of short-chain fatty acids. JPEN J Parenter Enteral Nutrition.* 1990 Sep-Oct;14 (5 Suppl):181S-185S

57. Sánchez MT, Ruiz, Adolfin M, Morales ME (2015). Microorganismos probióticos y salud. *Ars Pharmaceutica*, 56(1):45-59.
58. Schrezenmeir J, De Vrese M (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition. *Am J Clin Nutr*. 73(Supl. 2):361-364.
59. Suárez M, Bolet M, Licea M, (2002). Obesidad: Tratamiento no farmacológico y prevención. *Rev Cub de Endocrinol*, 13(1):35-42.
60. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson G, Collins MD, Dore J (1999). Direct rDNA community analysis reveals a myriad of novel bacterial lineages within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 65(4):799-807.
61. Tamime y Robinson (2007) Tamime's and Robinson's Yogurt. Woodhead Publishing. Tercera edición. UK.
62. Tormo-Carnicé R. (2006). Probióticos. Concepto y mecanismos de acción. *Aso Esp Ped*. 4:30-41.
63. Trowell H, Southgate DA, Wolever TMS, Lead SAR, Gassul MA, Jenkins DJA (1976). Dietary fibre redefined. *Lancet*. 1(7):966-967.
64. U.S. Department of Agriculture (2020) Agriculture Research Service. United States of America.
65. Valenzuela A, Valenzuela R, Sanhueza J(2014). Functional foods, nutraceuticals and foshu: are we going to a novel food concept?. *Rev Chil Nutr*, 41(2): 198-204.
66. Vallejo F, Tomás-Barberán F, García- Viguera C (2002). Compuestos bioactivos potenciales en la promoción de la salud de los cultivares de brócoli cultivados en España. *J. Sci. Food Agric*. 82:1293-1297.
67. Vásquez M (2008). Viabilidad y propiedades fisicoquímicas de leche fermentada probiótica: Tesis de Maestría. Ciencia de alimentos. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas: Puebla. México.
68. Velasco P, Martínez F (Mayo, 2007). Significado clínico de la obesidad abdominal. *Endocrinología y Nutrición*, 54: 265-271.
69. Velázquez OC, Lederer HM, Rombeau JL (1996). Butyrate and the colonocyte. Implications for neoplasia. *Dig Dis Sci*. 41(4):727-739.
70. Windmueller HG, Spaeth AE (1978). Identification of Ketone bodies and glutamine as the major respiratory fuels in vivo for postabsorptive rat small intestine. *J Biol Chem*. 253:69.
71. Wolin MJ y Miller TL (1983). Interactions of microbial populations in cellulose fermentations. *Fed Proc*, 42:109-113.

72. Yamanaka T, Helgeland L, Farstad IN, Fukushima H, Midtvedt T, Brandtzaeg P (2003). Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. *J Immunol* 170:816-822.
73. Zamudio-Vazquez VP (2017). Importancia de la microbiota gastrointestinal en pediatría. *Acta pediatr. Méx* 38(1):49-62
74. Zapata IC, Sepúlveda-Valencia U, Rojano BA, (2015). Efecto del Tiempo de Almacenamiento sobre las Propiedades Fisicoquímicas, Probióticas y Antioxidantes de Yogurt Saborizado con Mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw). *Información tecnológica*, 26(2):17-28