

## Conference Paper

# Aplicación Biotecnológica En La Obtención De Un Simbiótico Encapsulado A Base De Diferentes Niveles De Inulina Y (*Lactobacillus Casei*)

## Biotechnological Application in Obtaining a Symbiotic Encapsulated by Different Levels of (*Lactobacillus Casei*) and Inuline

Sandra Paola, Silva Puzma, Cesar Iván, Flores Mancheno, Iván Patricio, Salgado Tello, Luis Gerardo, and Flores Mancheno

Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, EC060155

### Resumen

En los Laboratorios de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y de la Universidad Técnica Particular de Loja, se evaluó la combinación de 6 tipos de simbióticos encapsulados mediante el método Spray Drying, aplicando para cada uno un diseño completamente al azar en arreglo bifactorial, con 10 repeticiones por tratamiento y un tamaño de unidad experimental de 200 ml, utilizando (50, 100 y 150) mg de (*Lactobacillus casei*) combinados con (40 y 80) mg de Inulina, determinándose estadísticamente la mejor combinación con 150 mg de (*Lactobacillus casei*) y 80 mg de Inulina ya que presentó una mayor cantidad de bacterias ácido lácticas  $2.99 \times 10^6$  UFC/g, en tanto que en el proceso de atomización se reportó una disminución de estas frente al conteo inicial debido a que la Inulina actúa como tampón frente a lo elevados °Brix de la biomasa resultado de la alta concentración de maltodextrina (1:3), mientras que por efecto del material encapsulante que es obtenido por hidrólisis de almidón la densidad se encuentra en una media de 0.66 g/ml que es relativamente bajo y un pH dentro de los rangos de neutralidad, además se observó que las variables de estudio no tuvieron una influencia frente a la adición cantidades inulina si no por otros factores antes mencionados, por lo que se recomienda realizar micrografía eléctrica de barrido (E-SEM) de los polvos para profundizar en el análisis y de igual manera la utilizar la micro encapsulación en distintas matrices alimentarias.

**Abstract:** In the Biotechnology Laboratories of the Faculty of Sciences of the Higher Polytechnic School of Chimborazo and of the Private Technical University of Loja, the combination of 6 types of symbiotic encapsulated by the Spray Drying method was evaluated, applying for each one a completely chance in a bifactorial arrangement, with 10 repetitions per treatment and an experimental unit size of 200 ml, using (50, 100 and 150) mg of (*Lactobacillus casei*) combined with (40 and 80) mg of Inulin, statistically determining the best combination with 150 mg of (*Lactobacillus casei*) and

Corresponding Author:

Sandra Paola  
ifloresm1@yahoo.es

Received: 10 January 2020  
Accepted: 17 January 2020  
Published: 26 January 2020

Publishing services provided by  
Knowledge E

© Flores Mancheno et al. This article is distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use and redistribution provided that the original author and source are credited.

Selection and Peer-review under the responsibility of the VI Congreso Internacional Sectei 2019 Conference Committee.

### OPEN ACCESS

80 mg of Inulin since it presented a greater quantity of lactic acid bacteria  $2.99 \times 10^6$  CFU / g, while in the atomization process a decrease of these compared to the initial count was reported due to that Inulin acts as a buffer against the high °Brix of the biomass resulting from the high concentration of maltodextrin (1: 3), while by effect of the encapsulant material that is obtained by hydrolysis of starch the density is found in an average of 0.66 g / ml that is relatively low and a pH within the ranges of neutrality, in addition it was observed that the study variables did not have an influence on the addition of inulin amounts if not by other factors mentioned above, so it is recommended to perform scanning electric micrography (E-SEM) of the powders to deepen the analysis and in the same way to use the micro encapsulation in different dietary matrices.

**Palabras claves:** Simbiótico, Encapsulamiento, *Lactobacillus casei*, Inulina.

**Keywords:** Symbiotic, Encapsulation, *Lactobacillus casei*, Inulin.

---

## 1. Introducción

Los prebióticos son ingredientes no digeribles de los alimentos que benefician al huésped estimulando selectivamente el crecimiento de la actividad de las especies de bacterias que están establecidas en el colon, mejorando así la salud del huésped, siendo una palabra relativamente nueva que significa "a favor de la vida" y actualmente se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales (1).

Cada día la industria alimentaria muestra un interés creciente en la implementación de los microorganismos probióticos para la elaboración de Alimentos Funcionales (AF). Ya que eficacia medicinal o terapéutica de estos alimentos depende del número de Unidades Formadoras de colonias por ml o gramo (UFC/ml o g) de microorganismos probióticos viables y activos en el producto al momento de consumirlo (2).

Dentro del grupo de los probióticos de mayor importancia encontramos los *Lactobacillus casei*, productora de ácido láctico, empleada en la industria láctea (por lo general) en la elaboración de alimentos probióticos, se ha comprobado que esta especie particular de *lactobacilo* es muy resistente a rangos muy amplios de pH y temperatura (3).

Un simbiótico es a la mezcla de uno o más organismos probióticos con uno o varios compuestos prebióticos, con el objetivo de favorecer la actividad de ambos

componentes para potenciar sus propiedades saludables gracias al efecto sinérgico que existe entre ellos. Esto implica que sólo puede ser simbiótico el producto que demuestra ejercer un efecto beneficioso superior a la suma de los generados por sus integrantes por separado (4).

De acuerdo a lo que establece (5), el recuento de un probiótico debe de ser mayor o igual a  $1 \times 10^6$  UFC/g en el producto terminado hasta el final de la vida útil.

Una de las desventajas del empleo de probióticos en el procesamiento de alimentos es la baja viabilidad de estos, la cual se puede ver afectada por condiciones ambientales como el la humedad y la temperatura. Una alternativa para mitigar estos efectos es mediante el desarrollo de condiciones protectoras que garanticen dicha viabilidad y actividad de estos microorganismos durante su uso y aplicación en alimentos, asegurando que sean liberados en el intestino donde se precisa su acción (2).

El género *Lactobacillus* está comprendido por bacterias en forma bacilar de  $0,5 -- 1,2 \times 1,0 -- 10,0 \mu\text{m}$ , comúnmente se asocian en cadenas cortas, son anaerobias facultativas ó microaerófilas, catalasa y citocromo negativos (6).

En la actualidad la encapsulación es un método frecuentemente utilizado para conservar o mejorar las propiedades en el manejo y producción de algunos ingredientes alimenticios como vitaminas, acidulantes, sabores, aromas, enzimas, células microbianas entre otras (7).

La inulina constituye una interesante alternativa para la elaboración de cubiertas de fármacos que deben liberar su principio activo en el colon (8).

La inulina debido a sus propiedades nutricionales y fisiológicas, se ha utilizado cada vez más como un ingrediente versátil en alimentos funcionales procesados como los reemplazos de grasas y azúcares o suplementos de fibra (9).

Las Bacterias ácido lácticas constituyen la microbiota mayoritaria de los embutidos fermentados curados, con recuentos finales superiores a  $10^7$  UFC/g (10).

Las Bacterias ácido lácticas son microorganismos fermentativos que pueden seguir dos rutas metabólicas para hidrolizar los hidratos de carbono: homofermentativa y heterofermentativa, la primera es la que, prácticamente de manera exclusiva, produce ácido láctico, responsable del descenso de pH durante la fermentación que implica diversos efectos beneficiosos, tales: - Inhibición del crecimiento de microorganismos causantes de alteraciones y patógenos, facilitando la conservación. - Modulación de las reacciones enzimáticas que contribuyen al desarrollo del aroma y flavor, entre otras. (11,12).

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Unidades Experimentales

Para la presente investigación se utilizó 12 litros de simbiótico (volumen de cultivo) partiendo de la preparación de muestras de 200ml (TUE), pues al ser un arreglo bifactorial tenemos tres niveles de probióticos (*Lactobacillus casei* 50 mg, 100 mg y 150 mg) que es el factor A, y, 2 niveles de prebiótico (Inulina de 40 mg y 80 mg) que es el factor B con 10 repeticiones que serán motivos de estudio.

### 2.2. Tratamientos y diseño experimental

En esta investigación se probó distintas mezclas de Inulina y *Lactobacillus casei* encapsulándolos por el método de Spray Drying. Haciendo dos soluciones de Inulina de (40 y 80) mg y con 3 concentraciones de microorganismos (50, 100 y 150) mg, trabajando con un Diseño Completamente al Azar en un arreglo Bifactorial, el mismo consta de 6 tratamientos y 10 repeticiones, como lo indica la tabla 1.

TABLE 1: Esquema del experimento.

Factor A	Factor B	Código	Repetición	TUE(ml)	TUE/Trat.
<i>Lactobacillus c.</i> 50mg	Inulina 40mg	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	10	200	2000
<i>Lactobacillus c.</i> 100mg	Inulina 80mg	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	10	200	2000
<i>Lactobacillus c.</i> 150mg	Inulina 40mg	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	10	200	2000
<i>Lactobacillus c.</i> 50mg	Inulina 80mg	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	10	200	2000
<i>Lactobacillus c.</i> 100mg	Inulina 40mg	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	10	200	2000
<i>Lactobacillus c.</i> 150mg	Inulina 80mg	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	10	200	2000
<b>TOTAL</b>					12000ml

### 2.3. Activación microbiana

Se realizó la activación de la los *Lactobacillus casei* considerando una gradiente de 50 con respecto al inóculo (50, 100 y 150) (13).

- Inoculación de la cepa liofilizada en el biorreactor (la cantidad correspondiente para cada tratamiento),
- Sellar con cinta parafilm los frascos (bioseguridad)

- Distribuirlos biorreactores en el agitador Shaker orbital a una temperatura de 37°C, durante 48 horas y con 50 rpm.
- Realizar pruebas de realizar pruebas de solidos totales (SST) de cada uno de los tratamientos.
- Colocar los biorreactores en un cooler con hielo ligeramente esparcido, para la conservación y bioseguridad de la biomasa que serán micro encapsulados después de 16 horas

#### **2.4. Siembra recuento y determinación de la cantidad de Bacterias Ácido Lácticas- BAL (UFC/g) de la biomasa (13, 14)**

- Plaquear utilizando agar MRS (70 g de medio en 1000 ml de agua purificada), esterilizar dentro de frascos termo resistentes y finalmente verter 15 ml en cajas Petri y codificar
- Realizar diluciones 10<sup>-3</sup> y por triplicado de los micro encapsulados, de cada uno de los tratamientos.
- Tomar 0,1 ml (100µl) de cada dilución y sembrar en las cajas Petri con el método de siembra por superficie, usando la Asa drigalsky vidrio, e incubar a 36°C por 48 horas.
- Realizar el recuento utilizando una cuenta colonias.
- Para colonias demasiado numerosas o incontables se realiza un conteo dividiendo la caja en 2 o 4 partes dependiendo el caso, se cuenta una parte, y éste se multiplica por las partes divididas.
- Calcular el valor de UFC/ml de las bacterias.

#### **2.5. Encapsulación**

Se basó de acuerdo a un estudio científico frente a las temperaturas óptimas para micro encapsular probióticos con agentes prebióticos (15).

- Realizar la relación 1:3 respecto al peso seco de la biomasa y al material encapsulante (malto dextrina).
- Agregar el prebiótico (Inulina) correspondiente a cada tratamiento y homogenizar.
- la mezcla es alimentada al secador y se atomiza por medio de una boquilla o disco.

- Atomizar la biomasa en el equipo Mini Spray Drying a una temperatura de entrada de  $100\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2$  y una temperatura de salida de  $50\pm 5$ , con una alimentación de 10. La biomasa cae en forma de pequeñas gotitas en un medio de secado (aire caliente); dando como resultado un material que queda incluido dentro de otro. el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (5 a 30 s)
- Se recoge el material micro encapsulado del recolector del equipo, se envasa, pesa y codifica.
- Siembra, recuento y determinación de la cantidad de Bacterias Ácido Lácticas-BAL (UFC/g) de los encapsulados (14).
- Determinación de la viabilidad de *Lactobacillus casei* (log UFC/g) de los encapsulados (13).

## 2.6. Análisis Físico Químico

Para el estudio de las características físico químicas del simbiótico encapsulado implicó tomar 1 gramo de muestra para la determinación de pH mediante el método INEN 526 1980-12,2012 (16) y para la densidad g/ml se utilizó 10 gramos de muestra (17).

## 2.7. Análisis Microbiológico

Para la evaluación de la cantidad de Bacterias Acido Lácticas (BAL). UFC/ml, se empleó el método determinado por las normas ISO, UNE 4833-1:2014 (14), mientras que (13) para determinar la viabilidad (Log UFC/g).

## 2.8. Análisis Estadístico y pruebas de significancia

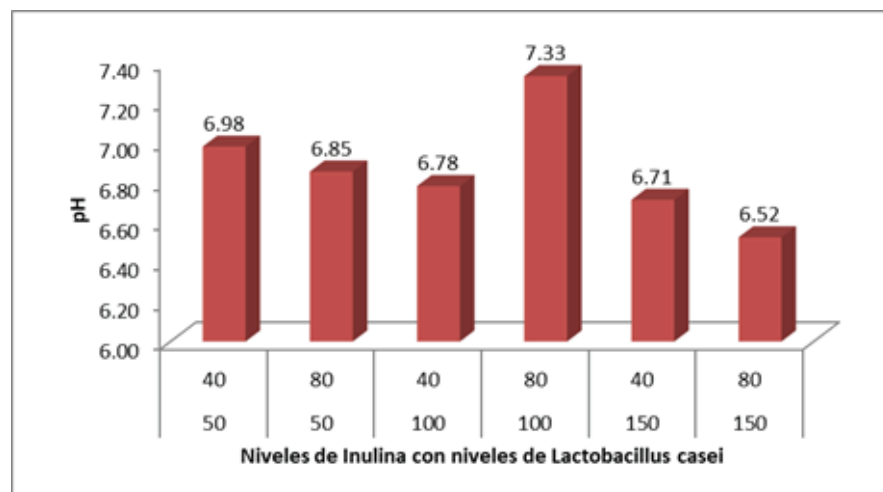
En la presente investigación las mediciones experimentales fueron modeladas bajo un Diseño Completamente al Azar con un arreglo combinatorio sometidos a los siguientes análisis estadísticos:

- Análisis de Varianza (ADEVA), para aceptar la hipótesis.
- Separación de medias ( $P < 0,05$ ) a través de la prueba de DUCAN, utilizando en programa infostat versión 1 (2016).

## 3. Resultados y Discusión

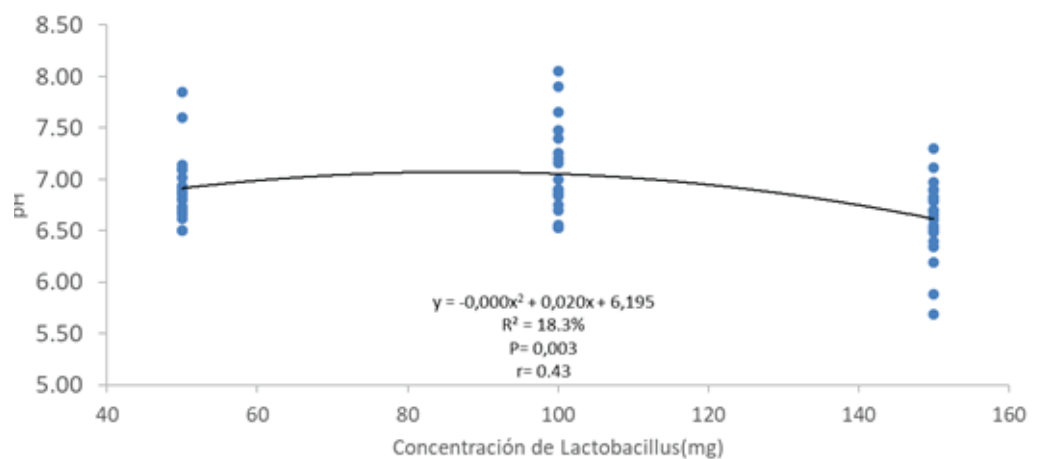
### 3.1. pH

Se realizó el análisis de la variable pH de todos los tratamientos, obteniendo el resultado de 7.33 para 100 mg de *Lactobacillus casei* y 80 mg de Inulina, mientras que de 6.52 en el encapsulado que contiene 150 mg de *Lactobacillus casei* y 80 mg de Inulina, siendo el mayor y menor respectivamente, valores que difieren significativamente ( $P < 0,01$ ) del resto de tratamientos, como se muestra en la figura 1. A comparación de un estudio sobre la evaluación de la capacidad probiótica "in vitro" de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae* que las bacterias ácido lácticas crecen en pH de 4,5 -- 6,4 donde los medios son ligeramente ácidos (18). El pH de los biorreactores cuando culminaron su proceso de activación oscilan entre 6 y 6.2, pero, al agregar la maltodextrina en una proporción 1:3 (biomasa y material encapsulante) debido a que la cantidad de SST de la biomasa es bajo (0,8-1,0 %), sube sustancialmente los °Brix por lo que al utilizar la INULINA (prebiótico), este actúa como una solución tampón de acuerdo a su ficha técnica, en el que indica que si se aplica en una solución que tiene 30 y 50 °Brix este tendrá un pH de 5 y 7 respectivamente. Es por ello que el pH de nuestros encapsulados llega a rangos de neutralidad. En concordancia con investigaciones que nos indican que la maltodextrina tiene un efecto significativo en los °Brix y la viscosidad del medio en donde se aplica por lo que es necesario encontrar un equilibrio entre el máximo de °Brix y una mínima viscosidad, pues una viscosidad baja permite una mejor fluidez de la mezcla en el sistema de atomización (disco o difusor), y una alta concentración de sólidos totales incrementa el rendimiento del producto final, siendo la maltodextrina es uno de las materias primas base en los procesos de secado por aspersión para productos con un bajo contenido de sólidos totales (19).



**Figure 1:** pH de los diferentes encapsulados combinados con diferentes niveles de inulina y *Lactobacillus casei*

A demás al hacer el análisis de varianza encontramos que mediante el coeficiente de determinación la función que más se ajusta es la cuadrática, expresada en el gráfico 2, por lo que se realizó la regresión, encontrándose diferencias altamente significativa ( $<0.01$ ), donde se infiere que partiendo de un intercepto de  $-0,000x^2$  la tensión se eleva  $0,020x$  y finaliza en el intercepto final de  $6,195$ , con un coeficiente de determinación de  $R^2 = 18.3\%$ ; mientras tanto que el  $81.17\%$  restantes dependió de otros factores ya que la fermentación homoláctica puede además dar lugar a una mezcla de ácidos cuando existe una concentración de glucosa limitante, cuando se incrementa el pH, se aumenta la temperatura o se fermentan azúcares diferentes a la glucosa; en estos casos, la diferencia radica en el metabolismo del piruvato, el cual además de producir ácido láctico produce además formiato y acetil CoA por la enzima piruvato formiato liasa (20).



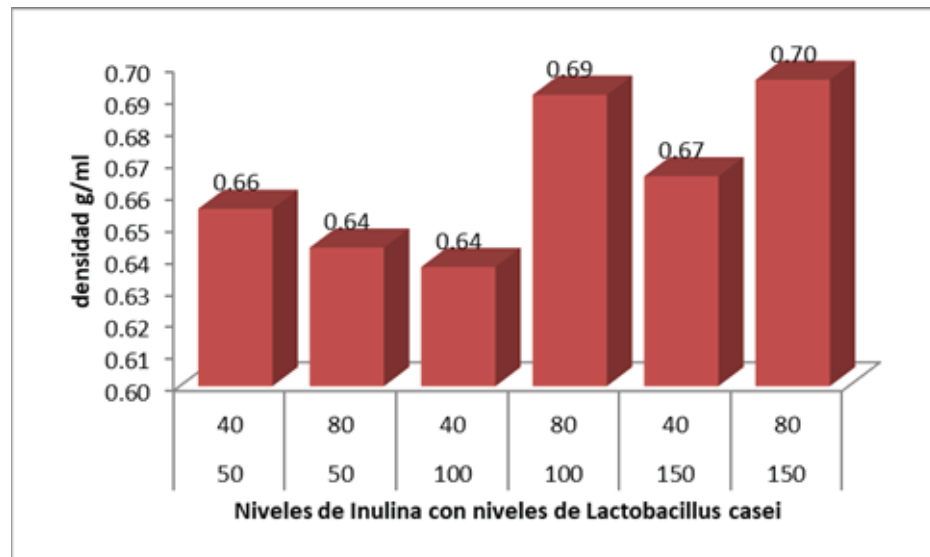
**Figure 2:** Regresión cuadrática de la variable pH del simbiótico encapsulado a base de diferentes niveles de Inulina 40 mg y 80 mg y *Lactobacillus casei* 50 mg, 100 mg y 150 mg.

### 3.2. Densidad

En lo que refiere a la densidad no se presentaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los tratamientos, siendo  $0.70$  g/ml la mayor densidad presente con  $150$  mg de *Lactobacillus casei* y  $80$  mg de Inulina, mientras que para  $50$  mg de *Lactobacillus casei* con  $80$  mg de Inulina se presenta una densidad menor de  $0,64$  g/ml, resultados que se encuentran en concordancia con otras investigaciones realizadas, que determinan la densidad de la microcapsulas de cacao con 2 materiales encapsulantes (maltodextrina y HI-CAP100) obteniendo  $0,605$  y  $0,622$  respectivamente (21), permitiendo deducir que la densidad del encapsulado dependerán de muchos factores uno de ellos es



el peso molecular del material encapsulante y otro la cantidad a utilizar, puesto que a mayor peso del mismo mayor será la densidad, atribuyéndose un peso mayor a HI-CAP100(almidón modificado) frente a las maltodextrinas.

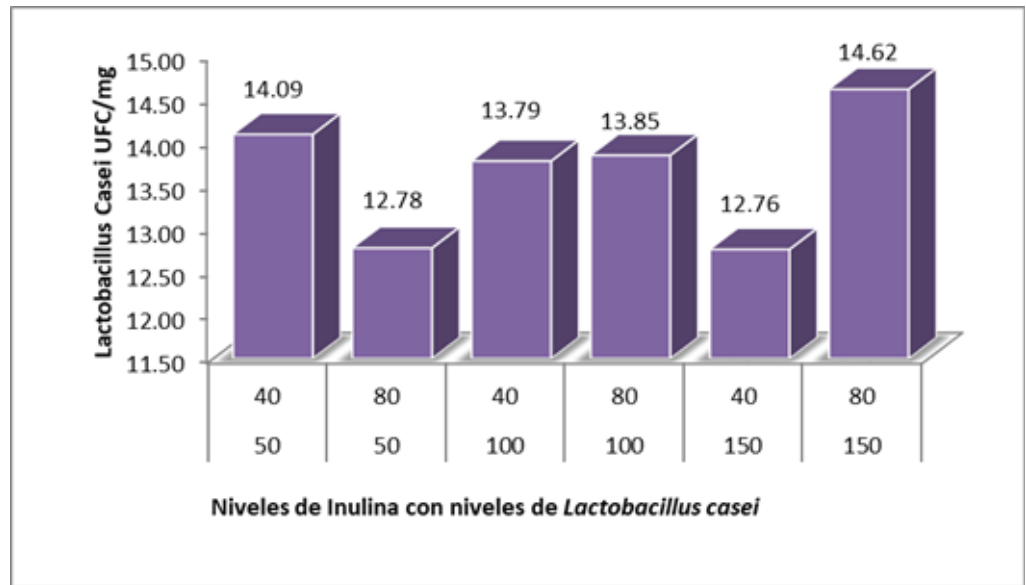


**Figure 3:** La densidad en g/ml de los diferentes encapsulados combinados con diferentes niveles de inulina y *Lactobacillus casei*.

Cómo se puede observar en la figura 3, la densidad de los micro encapsulados tiene una media de 0,66 g/ml. que es relativamente baja, debido a que el peso molecular del material encapsulante (Maltodextrina) es relativamente bajo y como lo indica (22) a mayor proporción de maltodextrina la densidad disminuirá.

### 3.3. Presencia de *Lactobacillus Casei* (BAL)

La utilización de 50 mg de *Lactobacillus casei* con 40 mg de Inulina y de 150 mg de *Lactobacillus casei* con 80 mg de Inulina permitieron registrar 14,09 y 14,62 UFC/g de *Lactobacillus casei* respectivamente, valores que difieren significativamente ( $P < 0,01$ ) del resto de tratamientos, principalmente de los tratamientos con 50 mg de *Lactobacillus casei* y 80 mg de Inulina al igual que 150 mg de *Lactobacillus casei* con 40 mg de Inulina, las cuales registraron 12,78 y 12,76 UFC/g de *Lactobacillus casei* respectivamente, como se puede expresar en la figura 4. Estos valores se deben a que los fructanos de tipo inulina cuando no son ramificados, se dividen en disacáridos o monosacáridos y son degradados extracelularmente, mientras los mixtos como la inulina de agave, son absorbidos intracelularmente, y sólo las bacterias probióticas podrán usarlos (23,24,25).



**Figure 4:** La densidad en g/ml de los diferentes encapsulados combinados con diferentes niveles de inulina y *Lactobacillus casei*.

Fig. 4. El recuento microbiano de la cantidad de bacterias ácido lácticas presentes en el simbiótico en los diferentes encapsulados combinados con diferentes niveles de inulina y *Lactobacillus casei*. Normas Ecuatorianas no indican que el alimento debe contener un número mayor o igual de bacterias viables de origen probiótico a  $1 \times 10^6$  UFC/g en el producto terminado hasta el final de la vida útil (26). Hallándose  $2.15E+06$ ,  $2.00E+06$ ,  $1.51E+06$  y  $2.99E+06$  en las combinaciones 50 mg *Lactobacillus casei* con 40 mg Inulina, 100 *Lactobacillus casei* con 40 mg Inulina, 100 mg *Lactobacillus casei* con 80 mg Inulina y 150 mg *Lactobacillus casei* con 80 mg Inulina, respectivamente, por lo que el resultado de investigación se la puede considerar un alimento probiótico, ya que cumple la norma, y se puede observar en la tabla 2.

**TABLE 2:** Recuento de bacterias ácido lácticas (BAL) de cada uno de las combinaciones de los simbióticos encapsulados.

<i>Lactobacillus casei</i> , mg	Inulina, mg	BAL, UFC/g
50	40	$2.15E+06$
50	80	$6.56E+05$
100	40	$2.00E+06$
100	80	$1.51E+06$
150	40	$9.49E+05$
150	80	$2.99E+06$

### 3.4. Viabilidad

Para determinar la viabilidad del *Lactobacillus casei* en la micro encapsulación se partió de un recuento inicial de 107 UFC/ml o 16.11 log UFC/ml, para posteriormente del proceso de atomización obtener 11.79 log UFC/ml, 10.48 log UFC/ml 11.48 log UFC/ml 11.55 log UFC/ml 10.46 log UFC/ml y 12.31 log UFC/ml en las encapsulados con las siguientes combinaciones: 50 mg *Lactobacillus casei* con 40 mg Inulina, 50 mg *Lactobacillus casei* con 80 mg Inulina, 100 mg *Lactobacillus casei* con 40 mg Inulina, 100 mg *Lactobacillus casei* con 80 mg Inulina, 150 mg *Lactobacillus casei* con 40 mg Inulina y 150 mg *Lactobacillus casei* con 80 mg Inulina, respectivamente, como se indica en la figura 5. Resultados coincidentes con los reportados por algunos autores que muestran que la co-encapsulación de probióticos con prebióticos incrementando la viabilidad del Microorganismo (27,28).

La viabilidad de la presente investigación es de 70.42%, debido a que, al agregar una concentración alta de maltodextrina (1:3) esta actúa como termo protector para los microorganismos, como lo indican ciertas investigaciones que ratifican que los prebióticos en combinación con el material pared, podrían actuar como agentes termo-protectores (28,29) teniendo en cuenta que en el proceso de secado por atomización los microorganismos sufren un alza de temperatura drásticamente de 100 °C, la cual se encuentra fuera del rango óptimo en el desarrollo de las bacterias *Lactobacillus casei*. El secado por aspersión es considerado un método adecuado para la estabilización de probióticos, pero las altas temperaturas aplicadas sugieren el uso de sustancias termo-protectoras para mantener la viabilidad (30).

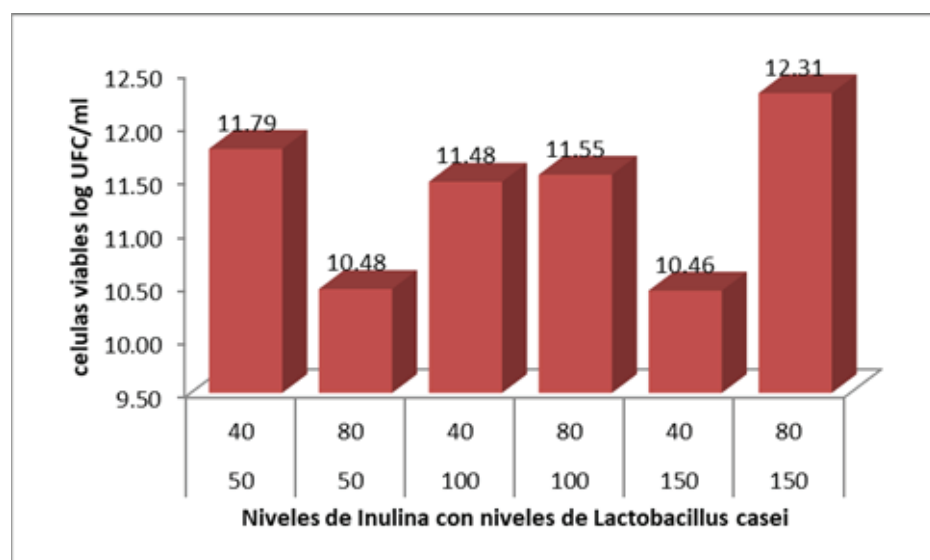


Figure 5: Viabilidad en los encapsulados combinados con diferentes niveles de inulina y *Lactobacillus casei*

## 4. Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo se pueden resumir en las siguientes conclusiones:

- El método Spray Drying es útil para los procesos de encapsulación de distintas matrices alimentarias, siendo una de ellas simbióticos, brindando de esta manera un diferente método de transferencia de materia.
- La cantidad presente de BAL en los micro encapsulados dan cuenta que son métodos efectivos para la supervivencia de los microorganismos, brindando condiciones físicas y químicas óptimas de conservación, sin que exista algún descenso en la flora que se necesite para futuros procesos.
- Las propiedades resultantes del presente proceso de encapsulación nos demuestran que pueden dar como resultado, diferentes características de calidad en cuanto a variables como la densidad y forma de las partículas.
- La automatización de los procesos de encapsulación, facilitan que las matrices alimentarias tengan un control para procesos preventivos de contaminación como para los de desnaturalización.

De acuerdo a los resultados obtenidos se pueden realizar las siguientes recomendaciones:

- Realizar el estudio respectivo para determinar el tiempo exacto de sinergismo en el estudio (0, 24 y 48) horas entre *Lactobacillus casei* y la Inulina en cada uno de micro encapsulados.
- Proceder con análisis de la vida útil, las técnicas de empaque y las condiciones de almacenamiento del producto.
- Para la continuidad de esta investigación se recomienda realizar pruebas físico-químicas una de ellas importante es la micrografía eléctrica de barrido (E-SEM) de los polvos encapsulados obtenidos, actividad de agua de los polvos y la humedad, rendimiento de producción, eficacia de la encapsulación, contenido en material activo y estudio de liberación del material activo.

Aplicación del micro encapsulado en distintas matrices alimentarias para obtener un alimento funcional.

## References

- [1] FAO/OMS [Página principal en Internet], New York: FAO/OMS; 2006 [actualizada en enero de 2018; acceso enero 2018]. [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf>
- [2] Araùjo et al., 2015. Técnicas para la micro encapsulación de probióticos y el impacto en su funcionalidad: una revisión. Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Vol 23. No 36. Revista Alimentos Hoy. Colombia. pp 112-114-126.
- [3] Luján, M. Bacteriofagos de lactobacillus casei/paracasei. caracterización y estudio de la fagorresistencia [Internet]. Primera Edición. Guayas Guayaqui: Universidad Nacional del Litoral; octubre 2015. [Citado 14 de enero 2018]. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/bitstream/handle/11185/128/tesis1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- [4] Agirre, M. Probióticos, prebióticos y simbióticos. El farmacéutico. [Internet]. 2016. [citado 20 de diciembre 2017]; 1: 10-11. Disponible: <http://elfarmacéutico.es/index.php/cursos/item/7600-probioticos-prebioticos-y-simbioticos#.Wm8En2nOXMx>
- [5] NTE INEN 1334-3:2011. [Página principal en Internet], Quito: INEN; 2015 [actualizada en abril de 2016; acceso febrero 2018]. [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: [http://www.controlsanitario.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2014/07/ec\\_nte\\_.1334.3.2011.pdf](http://www.controlsanitario.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2014/07/ec_nte_.1334.3.2011.pdf)
- [6] Foo et al. Estudio de probióticos. [Internet]. 1993 [citado 02 enero 2018]; 3: 14-18. Disponible en: <https://www.caister.com/backlist/horizonscientificpress/lab.html>
- [7] Guevara y Bretòn. Materiales utilizados en la encapsulación. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. [Internet]. (2016) [citado 05 febrero 2018]; 1: 20-21. Disponible en: <http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-1/TsIA-2{281}29-Guevara-Breton-et-al-2008b.pdf>
- [8] Lara Laura. 2011. Inulina: Polisacárido con interesantes beneficios a la salud humana y con aplicación en la industria farmacéutica, Ciencias de la Nutrición en la Universidad de las Américas Puebla. Vol 1. No. 15 INFARMATE. México. Pp 48-56.
- [9] Chaito, C., Judprasong, K., & Puwastien, P. Contenido de inulina de productos alimenticios fortificados [Internet]. 2014 [citado 28 enero 2018]; 2: 084-10. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614017142>
- [10] Lilleberg L, Suihko, M.. Flavour profiles of dry sausages fermented by selected novel meat starter cultures. 2001 Claridades Agropecuarias. Meat Science 58: 111-116
- [11] Rubio-Moreno R. Productos cárnicos fermentado-curados funcionales y seguros. Nueva vía de ingestión de probióticos. [tesis doctoral]. Gerona: Universitat de Girona;

2014. Girona: Universiti Girona; 2015
- [12] Geisen, et al. Ingredients in meat products. En: Rodrigo T, editores. Properties, Functionality and Applications. Vol 1. 2ª ed. Wisconsin: Springer; 2010. p. 203-245.
- [13] Yanez-Tisalema, GD. Uso de distintos sustratos para el desarrollo de la biomasa bacteriana. 2016. [Tesis de Licenciatura]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador
- [14] ISO 4833-1:2014 [Página principal en Internet], Panama: ISO; 2014 [actualizada en abril de 2016; acceso febrero 2018]. [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma/?c=N0052559>
- [15] Montes M. 2013. Efecto de la micro encapsulación con agentes prebióticos sobre la viabilidad de microorganismos probióticos (*Lactobacillus casei* ATCC 393 y *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9469) [Internet]. 2017 [citado 11 de febrero 2018]; Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/9473/1/01107466.2013.pdf>
- [16] NTE INEN 526 1980-12, 2012, [Página principal en Internet], Quito: INEN; 2012 [actualizada en abril de 2016; acceso febrero 2018]. [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/228282024/NTE-INEN-526-2012ph-de-Harina>
- [17] NTE INEN 856:2011, [Página principal en Internet], Quito: INEN; 2012 [actualizada en abril de 2016; acceso febrero 2018]. [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: <https://archive.org/details/ec.nte.0856.2010/page/n1>
- [18] Ortiz, A.; Reuto, J.; Fajardo, E.; Sarmiento, S.; Aguirre, A.; Arbeláez, G.; Gómez, D.; Quevedo, H.B. (2008). Evaluación de la capacidad probiótica "in vitro" de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae*. Claridad Agropecuaria BAL 10: 15-16
- [19] López et al., 2009. Establecimiento de condiciones de la mezcla de pulpa de banano (*Musa paradisiaca* L.) para someter a secado por aspersión [Internet]. 2017 [citado 26 de diciembre 2018]; 1: 10-20. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n3/v16n3a02.pdf>
- [20] Bolivar, F y Lopez, A. 1994. Producción de ácido láctico a partir de vinazas de destilería. [Tesis de posgrado]. Santiago de Cali: UCC; 2016
- [21] Sánchez Reinoso Zain 2016, Evaluación de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y sensoriales de micro encapsulados de cacao obtenidos por spray drying, [Tesis de posgrado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2016
- [22] Caparino, O., J. Tang, C. y J. Fellman (2012), Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine Carabao var.) powder. Journal of Food Engineering 111: 135--148

- [23] Mueller M, Reiner J, Fleischhacker L, Viernstein H, Loeppert R, Praznik W. Growth of selected probiotic strains with fructans from different sources relating to degree of polymerization and structure. *J Funct Foods* 2016; 24:264–275.
- [24] Takagi R, Tsujikawa Y, Nomoto R, Osawa R. Comparison of the growth of *Lactobacillus delbrueckii*, *L. paracasei* and *L. plantarum* on inulin in co-culture systems. *Biosci Microb Food Health* 2013;33(4):139–146.
- [25] Tsujikawa Y, Nomoto R, Osawa R. Difference in Degradation Patterns on Inulin-type Fructans among Strains of *Lactobacillus delbrueckii* and *Lactobacillus paracasei*. *Biosci Microb Food Health* 2013;32(4):157–165.
- [26] NTE INEN 1334-3:2011. [Página principal en Internet], Quito: INEN; 2011 [actualizada en abril de 2016; acceso febrero 2018]. [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: [http://www.controlsanitario.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2014/07/ec.nte\\_1334.3.2011.pdf](http://www.controlsanitario.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2014/07/ec.nte_1334.3.2011.pdf)
- [27] Semyonov D, Ramon O, Kaplun Z, Levin-Brener L, Gurevich N, Shimoni E. Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying. *Food Res Int.* 2010; 43: 193- 202.
- [28] Iyer C, Kailasapathy K. Effect of Co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt. *J of Food Sci.* 2005; 70 (1): 18-23.
- [29] Capela P, Hay TKC, Shah NP. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. *Food Res Int.* 2006 Mar; 39: 203–211.
- [30] Peighambardoust SH, Golshan AT, Hesari J. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. *Trends in Food Sci Tech.* 2011 Feb 15; 22 (5): 215-224.