

Instituto Tecnológico Superior de Abasolo

Organismo Público Descentralizado del Gobierno del Estado de Guanajuato.



Desarrollo y caracterización de una bebida instantánea tipo pulque deshidratado por secado por aspersión en función de la microbiota benéfica.

Tesis profesional para obtener el título de:
Ingeniero en industrias alimentarias

Presentan:

Carrillo Arias Marian Yaquelin
García Rivera Ana Jennifer

Director de Tesis:

Dr. Francisco Javier Espitia Orozco

Abasolo, Gto.

Julio de 2023.



Autorización de presentación de trabajo de titulación

Se autoriza a las estudiantes **Marian Yaquelin Carrillo Arias y Ana Jennifer García Rivera** inscritas en la carrera de Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, con número de control **AS18110444 y AS18110354**, a defender su proyecto de trabajo de titulación que tiene por nombre: **“Desarrollo y caracterización de una bebida instantánea tipo pulque deshidratado por secado por aspersion en función de la microbiota benéfica”** ante el comité sinodal asignado.

La presente se expide en Abasolo Guanajuato al 14 de julio del 2023.

Dr. Francisco Javier Espitia Orozco.
Presidente del sínodo

Ing. Verónica Gwendolyne
Ruiz Vázquez.
Secretario del sínodo

M. en B. María Rico Martínez
Vocal del sínodo

Dedicatorias

Dedico este trabajo a Dios por darme las fuerzas para seguir adelante siempre y ayudarme en los momentos difíciles e iluminarme a la hora de tomar decisiones.

A mi familia por ser el motor de mi vida y por creer en mí siempre, por dame su apoyo incondicional y animarme a seguir adelante y a las personas involucradas que durante mi estancia en la Universidad ayudaron con un grano de arena para que yo este ahora en este lugar.

Dedico este trabajo en especial a las generaciones siguientes, espero poder ser un ejemplo para seguir, que sepan que pese a los obstáculos se pueden cumplir los sueños.

Marian Yaquelin Carrillo Arias

Dedicatorias

El presente trabajo lo dedico a Dios, por darme la fuerza para seguir en el proceso de este trabajo que es uno de los trabajos más anhelados y deseados.

Dedico este trabajo a mi padre que desde el cielo me ilumina para seguir adelante con mis proyectos.

A mis abuelos paternos y maternos por formarme con buenos sentimientos y valores los cuales me han ayudado a seguir adelante a pesar de las circunstancias y momentos difíciles que se me han presentado y por apoyarme en momentos en los que necesitaba de un consejo para poder tomar la mejor decisión.

Dedico este trabajo a mi pareja que me apoyo dándome ánimos y comprensión para poder seguir en pie en este trabajo hasta la culminación de este.

Ana Jennifer García Rivera

Agradecimientos

Agradezco a Dios y a la vida que me han puesto a las personas adecuadas en mi camino y me han enseñado a tomar las decisiones correctas. A mis padres y mis hermanos, quienes me apoyan incondicionalmente.

A la Sra. Ma. De la Luz Martínez, quien ha sido mi tutora y al Dr. Cesar Álvarez un ejemplo para seguir, que me ha enseñado muchas lecciones de vida y ver que todavía existe gente buena que solo desea el bien y da ayuda de corazón.

A Ángel Rosales, quien me ha ayudado, apoyado y ha sido mi guía para mejor como persona y me ha escuchado cuando lo necesito.

A mis amigos, Julieta Castillo, María Rivera, Zaira Rodríguez, Noemí Carrera, y Guadalupe González quienes me han ayudado y dado apoyo moral.

A mis compañeros y maestros, quienes me han aportado su conocimiento.

Al profesor Francisco Javier Espitia Orozco, quien confió en mi para desarrollar el proyecto, agradezco la paciencia, el conocimiento, las exigencias y los consejos que me dio para poder culminar esta etapa.

A mi compañera de trabajo Ana Jennifer, gracias por la ayuda y hacer más ligera la carga de trabajo y más llevadero el proceso.

A la maestra Verónica Ruiz y al profesor Iván Ramos, quienes apoyaron con su conocimiento para poder desarrollar el proyecto.

A todas estas y otras personas que no mencione pero que me han ayudado y aconsejado y motivado para seguir adelante, muchas gracias.

Marian Yaquelin Carrillo Arias

Agradecimientos

La presente tesis está dedicada a Dios por permitirme llegar hasta este momento y haberme dado salud para lograr concluir este trabajo y concluido una meta más en mi vida.

Agradezco a mi abuelita tanto materna como paterna por siempre tenerme presente en sus oraciones para que tome la mejor decisión ante las circunstancias que se me presentan. A mis tíos, que siempre me han aconsejado y motivado para seguir luchando por mis sueños y no abandonarlos.

A mis amigos, María Rivera, Ana Valeria, Yesenia, y Victoria García que a lo largo de todos estos años de estudio universitario me han brindado apoyo incondicional para seguir adelante cumpliendo mis objetivos. A mis profesores Verónica e Iván por apoyarnos en las dificultades que íbamos teniendo en el proyecto y ayudarnos a resolverlas.

A mi profesor y asesor Francisco Javier Espitia Orozco por confiar en nosotros y apoyarnos en este proyecto, además de tenernos paciencia y comprensión para poder llevar a cabo la finalización de este proyecto.

A mi compañera Marian Yaquelin, por todo el apoyo y conocimiento brindado, además de brindarme una buena amistad y sobre todo por tenerme mucha paciencia al estar trabajando juntas en este proyecto.

Agradezco a todas las personas que me dieron el impulso para poder terminar la tesis, sin duda cada uno de sus aportes fue indispensable para lograr culminar este trabajo que será de utilidad a muchas generaciones.

Ana Jennifer García Rivera

Resumen

El pulque es una bebida alcohólica tradicional mexicana, se obtiene del aguamiel fermentado de *Agave salmiana* principalmente. En la actualidad el pulque se consume con poca frecuencia, comparado con otros productos alcohólicos fermentados como la cerveza, además de esto y su composición microbiológica, rica en probióticos como *Lactobacillus acidophilus* y *Leuconostoc* de los más relevantes, son puntos importantes que tomamos en cuenta para procesar el pulque. Para esta investigación se realizó la caracterización fisicoquímica y microbiológica del pulque para conocer la materia prima y tener un punto de referencia de nuestro producto. Para lograr conservar los probióticos vivos del pulque, se realizó la técnica de microencapsulación, como agente encapsulante se utilizó maltodextrina y para deshidratar la mezcla se utilizó un equipo de secado por aspersión.

Además, se realizó un diseño experimental de la superficie de respuesta con factores: porcentaje de maltodextrina, días de fermentación y temperatura de secado para obtener las condiciones que mantenían a mayor cantidad de bacterias vivas en el producto final. En la superficie de respuesta encontramos diferentes condiciones de crecimiento para BAL y LEV. También se caracterizó morfológicamente las microcápsulas obtenidas en los experimentos. De aquí tuvimos un punto de partida hacia la determinación de color, para lo cual se realizó un análisis de varianza, ya que no hubo percepción de cambio de color por el ojo humano en las muestras realizadas. Finalmente, se realizó un experimento de vida útil 45 días después de haber secado las muestras en el que comprobamos que las bacterias aún seguían vivas.

Palabras Clave: Pulque, probióticos, secado por aspersión, microencapsulación, maltodextrina, color.

Abstract

Pulque is a traditional Mexican alcoholic drink, obtained mainly from the fermented mead of *Agave salmiana*. At present, pulque is consumed infrequently, compared to other fermented alcoholic products such as beer, in addition to this and its microbiological composition, rich in probiotics such as *Lactobacillus acidophilus* and *Leuconostoc*, among the most relevant, are important points that we take into account for process the pulque. For this research, the physicochemical and microbiological characterization of pulque was carried out to know the raw material and have a point of reference for our product. In order to preserve the live probiotics of the pulque, the microencapsulation technique was performed, maltodextrin was used as the encapsulating agent, and spray-drying equipment was used to dehydrate the mixture.

In addition, an experimental design of the response surface was carried out with factors: percentage of maltodextrin, days of fermentation and drying temperature to obtain the conditions that maintained the greatest amount of bacteria alive in the final product. In the response surface we found different growth conditions for BAL and LEV. The microcapsules obtained in the experiments were also morphologically characterized. From here we had a starting point towards the determination of color, for which an analysis of variance was carried out, since there was no perception of color change by the human eye in the samples made. Finally, a shelf life experiment was carried out 45 days after having dried the samples in which we verified that the bacteria were still alive.

Key Words: Pulque, probiotics, spray-drying, microencapsulation, maltodextrin, color.

Índice

Dedicatorias	i
Agradecimientos	iii
Resumen	v
Abstract	vi
Símbolos y/o abreviaturas	xii
Introducción	1
Capítulo I	3
Generalidades del proyecto	3
1.1 Hipótesis	4
1.2 Objetivos	4
1.3 Justificación	5
Capítulo II	6
Marco teórico	6
2.1 Alimentos Funcionales	7
2.1.1 Generalidades	7
2.1.2 Clasificación	9
2.1.3 Propiedades nutraceuticas o beneficios del consumo	12
2.1.4 Ejemplos de alimentos funcionales	13
2.2 Pulque	14
2.2.1 Generalidades e historia	14
2.2.2 Taxonomía	15
2.2.3 Microbiota	18
2.2.4 Pulque curado	19
2.2.5 Producción de pulque	20

2.3 Microencapsulación por secado por aspersión	22
2.3.1 Generalidades.....	22
2.3.3 Microencapsulación	23
2.3.3.1 Maltodextrinas.....	24
2.3.2 Secado por aspersión	25
2.3.4 Secado por aspersión en productos.....	27
Capítulo III	29
Desarrollo o metodología	29
3.1 Acidez titulable.	30
3.2 Grados brix.	30
3.3 pH.....	31
3.4 Sólidos totales	31
3.5 Cenizas	31
3.6 Densidad y grado de alcohol	32
3.7 Azúcares reductores.....	33
3.8 Color.....	33
3.9 Proceso para análisis de superficie de respuesta	34
3.9.1 Selección de variables.	34
3.9.2 Diseño experimental.	34
3.9.3 Proceso de microencapsulación.....	35
3.9.4 Análisis microbiológico de bacterias ácido lácticas y levaduras.....	36
3.9.5 Evaluación de la tasa de supervivencia microbiana a los 45 días.	38
3.9.6 Análisis de varianza de color	38
Capítulo IV	39
Resultados y discusión	39

4.1 Resultados fisicoquímicos y microbiológicos del pulque fresco	40
4.2 Resultados de análisis microbiológicos del pulque deshidratado	42
4.3 Superficie de respuesta en relación entre los niveles de porcentaje de maltodextrina, temperatura y días de fermentación.	43
4.4 Análisis de Varianza de color.....	48
4.5 Muestra óptima.....	52
4.6 Resultados de Vida Útil	53
4.7 Caracterización de las microcápsulas.....	54
Capítulo V	57
Conclusión	57
Capítulo VI	59
Referencias bibliográficas	59

Índice de tablas

Tabla 2.1 Características de la planta de agave pulquero (Morales et al., 2009)	17
Tabla 2.2 Descripción taxonómica del agave pulquero (Morales et al., 2009) ..	18
Tabla 3.1 Densidades para la determinación de alcohol	33
Tabla 3.2 Condiciones de secado.....	35
Tabla 4.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del pulque fresco ...	40
Tabla 4.2 Resultados microbiológicos del pulque deshidratado.....	43
Tabla 4.3 Análisis de color con respecto a las condiciones de secado.....	48
Tabla 4.4 Análisis de varianza para Luminosidad	49
Tabla 4.5 Análisis de varianza para cromaticidad a	50
Tabla 4.6 Análisis de varianza para cromaticidad b	50
Tabla 4.7 Combinación de factores para muestra óptima.....	52

Índice de figuras

Figura 2.1 Variedades de agave (Cervantes & Pedroza, 2008)	16
Figura 2.2 Proceso de obtención de aguamiel y pulque (Núñez, 2016)	21
Figura 2.3 Secador por aspersion (García et al., 2004)	25
Figura 3.1 Diagrama de Hunter L, a y b (Núñez, 2016)	34
Gráfico 4.1 Superficie de respuesta estimada BAL	44
Gráfico 4.2 Superficie de respuesta estimada LEV	45
Gráfico 4.3 Efectos principales para BAL.....	45
Gráfico 4.4 Efectos principales para LEV	46
Gráfico 4.5 Interacción para BAL.....	47
Gráfico 4.6 Interacción para LEV	47
Gráfico 4.7 Análisis de vida útil para BAL	52
Gráfico 4.8 Análisis de vida útil para LEV	53
Gráfico 4.7 Muestra óptima de crecimiento de BAL y LEV.....	53
Figura 4.9 Microcápsula de pulque deshidratado	54
Figura 4.10 Microcápsula de pulque diámetro 10um.....	54
Figura 4.11 Pulque deshidratado	55
Figura 4.12 Morfología del pulque deshidratado	55

Símbolos y/o abreviaturas

BAL	Bacterias Acido Lácticas
LEV	Levaduras
Pg.	Página
°C	Grados Centígrados
min	Minutos
L	Litros
mL	Mililitros
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
L.	Lactobacillus
SA	Secador por aspersión
ED	Equivalentes de Dextrosa
FDA	Food and Drug Administration
ΔE	Diferencia de color
pH	Potencial de Hidrogeno
Um	Micrómetros
FOSHU	Food for Specified Health Uses (Alimentos para usos específicos de salud)

Introducción

El agave es uno de los nueve géneros de la familia *Agavaceae*. Se ha reconocido la existencia de más de 200 especies de agave, la gran mayoría endémicas del territorio mexicano, por lo que es considerado el centro de origen de este género. (Narváez et.al., 2016). El *Agave salmiana*, mejor conocido como Agave pulquero, conocido como el árbol de las maravillas cultivado desde la época prehispánica, es una de las variedades más destacadas (González, 2017).

El pulque es una bebida embriagante tradicional mexicana, que se obtiene a partir del aguamiel fermentado del agave, se caracteriza por ser de color blanco, de textura viscosa y sabor ácido (Cervantes, 2008; Ballesteros, 2021). El pulque funge como alimento funcional porque contiene microorganismos vivos (principalmente *Lactobacillus acidophilus* y *Leuconostoc*), por lo que posee propiedades probióticas, dichos productos contienen microorganismos definidos y viables en grado suficiente para modificar la flora de un comportamiento del huésped, ejerciendo así un efecto beneficioso sobre la salud de este. (Sanz & Collado, 2003; Sepulveda, 2020; Ballesteros, 2021).

El secado por aspersión ha sido usado como una técnica para encapsular alimentos, conservando sus propiedades nutricionales; esta técnica permite obtener un producto en polvo a partir de un líquido concentrado (García, 2004). La técnica de microencapsulación se considera que es una manera de empaquetar materiales sólidos, líquidos o gaseosos en pequeñas partículas o gotas recubiertas de una película de carbohidratos u otro material de polímero (Reyes & Navarrete, 2022).

El consumo del pulque ha disminuido cada vez más con el paso del tiempo y con el surgimiento de nuevas costumbres y productos en el mercado; por lo que una alternativa viable es procesar la bebida tradicional y conservando sus características nutricionales y ofrecer al consumidor como un alimento funcional (Nuñez, 2016).

En este trabajo se realizó la microencapsulación de los probióticos presentes en el pulque mediante un sistema de secado por aspersión, para lo cual fue de vital importancia realizar la caracterización fisicoquímica del pulque fresco para tener un punto de partida y conocer nuestra materia prima.

En el Software STATGRAPHICS se generó un diseño experimental con datos para observar la superficie de respuesta con 15 tratamientos en los cuales se tomarán en cuenta tres factores: porcentaje de maltodextrina, días de fermentación y temperatura de entrada de secado y ver entre los posibles resultados cuál combinación de los factores son óptimas para crecimiento de bacteria ácido lácticas y levaduras. El experimento se realizó haciendo uso de la técnica de microencapsulación utilizando un secador por aspersión y como agente encapsulante maltodextrina, para dar más estabilidad al pulque.

También se realizó un análisis de varianza de color para observar si había diferencias de color entre las muestras realizadas y análisis de vida útil 45 días después de haber realizado la bebida. Así como también la caracterización morfológica de las microcápsulas obtenidas, las cuales tenían formas redondas y con diámetros micrométricos.

Capítulo I

Generalidades del proyecto

1.1 Hipótesis

Es posible determinar que los probióticos del pulque permanecen vivos al ser micro encapsulados por un sistema de secado por aspersión.

1.2 Objetivos

1.2.1 General

Desarrollar y caracterizar una bebida instantánea tipo pulque deshidratado por secado por aspersión en función de la microbiota benéfica.

1.2.2 Específicos

1. Caracterización fisicoquímica como acidez titulable, grados brix, solidos totales, azúcares reductores, ceniza, alcohol y pH y determinar la riqueza microbiológica de bacterias ácido-lácticas y levaduras del pulque fresco.
2. Optimizar las condiciones de secado de temperatura, días de fermentación y % de maltodextrina en el proceso de secado en función de la tasa de supervivencia de propiedades probióticas mediante la metodología de superficie de respuesta.
3. Cuantificar la supervivencia de microorganismos probióticos en el pulque deshidratado después de 45 días de almacenamiento en condiciones ambientales, mediante un análisis de cuantificación de bacterias ácido lácticas y levaduras.
4. Caracterización morfológica de las microcápsulas obtenidas del proceso de microencapsulación del pulque.

1.3 Justificación

En la época actual con el consumo excesivo de alimentos dañinos para la salud se presenta nuevamente el auge de los alimentos orgánicos los cuales empiezan a gozar de una gran reputación como producto natural y bueno para la salud. La existencia de una relación directa entre los alimentos que se ingieren y la salud que posee una persona es una verdad conocida por siglos. Por lo cual es sumamente indispensable incrementar el consumo de productos naturales en pro de una vida saludable.

Particularmente el pulque es una bebida natural rica en microorganismos buenos (probióticos principalmente) que ayudan a la prevención y combate de diversas enfermedades gastrointestinales, por ejemplo, la reducción de la intolerancia a la lactosa, la reducción de los valores de colesterol e incluso la reducción del riesgo de cáncer de colon (Marquina, 2017).

Una alternativa que se adecua y que es eficiente para el procesamiento de productos naturales es el secado por aspersion, el cual permite obtener productos en polvo con alta calidad, no alterando sus propiedades fisicoquímicas y que podría ser aplicado al pulque para obtener un producto deshidratado el cual conserve todas sus propiedades nutritivas (Nuñez, 2016).

El propósito de este proyecto es encontrar la mejor estrategia para el manejo de las bacterias probióticas encontradas en el pulque, mediante el uso de la técnica de microencapsulación para protegerlas y preservar su viabilidad durante el procedimiento. La meta principal es determinar el método más favorable en términos de eficacia y resultados.

Capítulo II

Marco teórico

2.1 Alimentos Funcionales

2.1.1 Generalidades

Muchos productos desde la antigüedad han sido utilizados como alimentos y como medicina, alguno de estos son el jengibre, la menta, el ajo, el azafrán etc., dichos alimentos tienen características nutricionales que no solo nutren al cuerpo, sino que también lo ayudan a tratar algunas enfermedades. La filosofía del “alimento como medicina” es la que soporta el paradigma de los alimentos funcionales (Cortés & Chiralt, 2005).

A lo largo del tiempo se han utilizados muchos términos para identificar los alimentos funcionales, algunos son: alimentos de diseño, productos nutracéuticos, alimentos genéticamente diseñados, farmalimentos, vitalimentos, fito alimentos/ fitonutrientes, alimentos de alto rendimiento, alimentos inteligentes, alimentos terapéuticos, alimentos de valor añadido, alimentos genómicos, prebióticos, probióticos, alimentos superiores, alimentos nutritivos y alimentos reales (Araya & Lutz, 2003)

Según Silveira (2003), “un alimento funcional (AF) es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con la actividad selectiva relacionada con una o varias funciones del organismo, con efecto fisiológico añadido por encima de su valor nutricional y cuyas acciones positivas justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable”. Sin embargo, este no es un concepto del todo cierto, ya que, el término va más allá porque parte del seno de la nutrición óptima, además las fronteras son difusas, tanto en alimentos como en medicamentos, en todos los sentidos. Su objetivo es la calidad de vida y el bienestar integral del individuo.

Por otra parte, para la Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos, un alimento funcional es cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado, que pueda proporcionar un beneficio a la salud superior a la de los nutrientes tradicionales que contiene.

En general se define que los alimentos funcionales deben tener tres funciones:

- Nutricional: esencial para la supervivencia del individuo.
- Sensorial: su consumo produce sensación placentera a partir de sus características organolépticas (olor, sabor, color textura, etc.).
- Fisiológica: es decir, el alimento debe producir un efecto favorable en la nutrición, el biorritmo, el sistema nervioso, en la capacidad de defensa corporal, entre otras, de quien la consume (Durán & Valenzuela, 2010).

El poder funcional de los alimentos sobre la salud es de origen milenario, principalmente a lo largo de la historia de la cultura oriental, donde los alimentos y la medicina son considerados igualmente importantes en la prevención y curación de enfermedades (Marquina & Santos, 2017)

Los alimentos funcionales tuvieron un mayor impacto tras la llegada de las dos guerras mundiales, las cuales trajeron muchísimas consecuencias para el mundo en general, una de las más impactantes fue la hambruna en la población, a raíz de esto las personas sufrían problemas de salud y desnutrición, lo que motivó a los gobiernos a establecer verdaderos programas de enriquecimiento de los alimentos con toda clase de nutrientes esenciales, con la finalidad de corregir o prevenir deficiencias alimenticias, además se promovió la mejora del crecimiento en el conocimiento de la composición nutricional de los alimentos y el desarrollo de proyectos de restauración de nutrientes en aquellos alimentos que los habían perdido durante los procesos de manipulación y transformación industrial (Cortés et al., 2005)

El término “alimento funcional”, surgió por primera vez en Japón en la década de los 80’, cuando los padecimientos de enfermedades crónicas no transmisibles iban en aumento y a la par creció la demanda del servicio de la salud, esto los motivó a buscar fuentes saludables que ayudarán a reducir o a prevenir tales enfermedades. Así nacieron los “alimentos para usos específicos de la salud” identificados como FOSHU (Food For Specied Health Uses). En dicha década surgieron diversas investigaciones que tenían como propósito principal conocer otras funciones de los alimentos, además de la principal función nutritiva (Durán & Valenzuela, 2010)

El rápido desarrollo económico que surgió a la post guerra incrementó notablemente la calidad de vida de la población, situación que se reflejó en un aumento considerable en la expectativa de vida y en un menor envejecimiento de sus habitantes (Cortés et al., 2005).

Existe un interés muy especial de muchos países, comunidades académicas y científicas por explorar en el campo de los alimentos funcionales, dado que cada día la cultura hacia la alimentación sana y con mayores beneficios va en aumento. El éxito actual de la industria de alimentos depende de la capacidad de adaptación e innovación de productos de calidad que satisfagan las expectativas y además respondan a las necesidades sociales de los consumidores (Marquina & santos, 2017).

2.1.2 Clasificación

Los alimentos funcionales se clasifican en dos categorías. la primera consiste en alimentos funcionales que naturalmente contienen componentes que ofrecen beneficios al huésped, en esta categoría se encuentran los alimentos que contienen probióticos y prebióticos. La segunda categoría consiste en alimentos procesados

en el que el componente se añade al alimento para darle beneficios adicionales, en esta categoría podemos encontrar alimentos simbióticos (Alvídrez, 2002).

2.1.2.1 Probióticos

Los probióticos constituyen uno de los subgrupos más destacados dentro de los alimentos funcionales, son productos que contienen microorganismos definidos y viables en grado suficiente para modificar la flora de un comportamiento del huésped, ejerciendo así un efecto beneficioso sobre la salud de este y se caracteriza por contener microorganismos vivos (Sanz et al., 2003).

Aún no se conoce del todo su mecanismo de acción, aunque se postulan como los más relevantes la producción de lactosa, la modificación del pH intestinal, la producción de sustancias antimicrobianas, la competición con microorganismos patógenos por sus receptores, lugar de unión y nutrientes precisos para su desarrollo, el estímulo del sistema inmune y la generación de citocinas (Silviera et al., 2003)

Además, se reconoce su funcionalidad en: la prevención y tratamientos gastrointestinales; la reducción de la intolerancia a la lactosa; la modulación de la respuesta inmunitaria y; la reducción de los valores del colesterol (Sanz et al., 2003)

Se ha documentado que los probióticos proporcionan una gran cantidad de beneficios para la salud, afectando de manera positiva el microbiota intestinal, regulando la cantidad de estos y así puedan estimular los mecanismos inmunitarios y no inmunitarios de la mucosa (Cháve et al., 2021).

2.1.2.2 Prebióticos

Un prebiótico es el sustituto trófico del probiótico, son sustancias no digeribles por el hombre que forman parte de los alimentos. Beneficia al huésped estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias intestinales.

Al igual que pasa con los probióticos se sabe poco acerca de la forma en que actúan, es por eso por lo que los únicos datos relevantes se refieren a los fructanos tipo inulina (oligo polisacáridos no digeribles como hidrolizados enzimáticos de inulina, oligofruetosacáridos, fructo oligosacáridos, sintéticos de cadena larga). La mayoría procede de la achicoria, de forma natural está presente en la cebolla, trigo, ajo, plátano y puerros (Silviera et al., 2003).

Los prebióticos como alimentos funcionales son de gran interés por su potencial para modular el bioma intestinal, para reducir las enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios, ya que existe un desequilibrio en el bioma intestinal, que es descrita como un desequilibrio entre la cantidad y el tipo de microorganismo normales presentes en el microbiota, que puede resultar en afecciones patológicas y clínicas, a mediano y largo plazo (Chávez et al., 2021).

Aparte de los beneficios en la salud humana, los prebióticos tienen aplicaciones tecnológicas en la industria de alimentos como ingredientes funcionales, ya que pueden ser utilizados como edulcorantes de bajo índice glicémicos en el desarrollo de alimentos funcionales, también funcionan como sustitutos de grasa emulsionantes y texturizantes: en la industria alimentaria se han realizado la sustitución de grasa por inulina en varios productos afectando así las propiedades reológicas, además se puede ver alterada la percepción de sabor y la textura de alimento de la grasa al disolver el agua, lubricando y dando una sensación placentera en la boca.

2.1.2.3 Simbióticos

Los simbióticos consisten en la combinación de probióticos y prebióticos, que benefician al huésped mejorando la supervivencia e implantación de microbios vivos procedentes de la dieta en el tracto gastrointestinal.

Un alimento simbiótico puede contener en forma natural dentro de su formulación, un componente probiótico y prebiótico. Por otro lado, en el caso de alimentos cuya matriz está constituida principalmente por ingredientes de naturaleza prebiótica, pueden ser complementados con probióticos para obtener el mismo efecto de simbiosis. El prebiótico favorece la supervivencia del probiótico logrando que soportes nutricionales en los niveles de oxígeno, pH y temperatura del tracto gastrointestinal (Chávez et al., 2021).

Además, se ha demostrado que, en humanos, el consumo de simbióticos modifica de forma positiva la composición del microbiota en pacientes con patologías microbiotas gastrointestinales e infecciones.

Un ejemplo de productos con simbióticos son los preparados bacterianos ricos en fibra fermentados por bifidobacterias. Se supone que dicha asociación proporciona efectos sinérgicos (Silviera et al., 2003).

2.1.3 Propiedades nutraceuticas o beneficios del consumo

Como se pudo observar anteriormente, los alimentos funcionales tienen un campo muy amplio en nutrición del huésped o individuo que consume dichos alimentos, ya que además de proveerles beneficios de alimentación los proporciona para la salud al tratar con enfermedades crónicas no contagiosas como la intolerancia a la lactosa y colitis, así como también enfermedades graves como cáncer de colon.

Además, el microbiota intestinal ejerce un papel importante en el efecto barrera de la mucosa intestinal frente a infecciones (Pía & Médici, 2005).

Otros estudios han demostrado que los probióticos ayudan con la reducción del tránsito intestinal y la prevención de reacciones alérgicas (Olagnero et al., 2007).

2.1.4 Ejemplos de alimentos funcionales

Hoy en día, las personas se preocupan más por su salud y principalmente por su alimentación, que es parte importante para gozar de buena salud y calidad de vida sana; es por eso que buscan consumir alimentos que los nutran y al mismo tiempo los ayuden con la reducción y/o prevención de enfermedades, algunos de estos alimentos son los ya conocidos como alimentos funcionales de los cuales ya hay muchos en el mercado, ya sean de origen natural o compuestos; es decir, producidos por la industria alimentaria (Santillán et al., 2014).

Para que un alimento se considere funcional debe contener una cantidad mínima de probióticos de 10^6 UFC/g, los cuales se encuentran principalmente en productos lácteos fermentados y no fermentados y también en frutas vegetales y carne seca (Chávez et al., 2021).

Entre los más aceptados derivados lácteos se encuentran el yogurt y leches fermentadas, estos derivados se logran mediante la incorporación de cultivos iniciadores tradicionales (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*) (Sanz et al., 2003).

Algunos ejemplos de alimentos funcionales naturales son la cebolla, el ajo, el frijol y la semilla de linaza, así como también en las infusiones de té (Araya & Lutz, 2003)

2.2 Pulque

2.2.1 Generalidades e historia

El surgimiento de la agricultura fue clave para el desarrollo de la humanidad, pues esta actividad se practicaba junto con la pesca, caza y actividades ganaderas. En México la actividad agrícola se caracterizaba por tener como base el sistema de milpa, asociado con la cosecha de chile calabaza frijol y maíz, además se practicaba la rotación de los cultivos en la que también destacaba la cosecha de agave (Narváez et al., 2016).

El pulque es una bebida tradicional mexicana que se obtiene a partir de la fermentación de la savia azucarada conocida como aguamiel obtenido a partir de las distintas especies de maguey, principalmente del *Agave salmiana* var. (maguey verde pulquero), *Agave atrovirens* (maguey blanco), *Agave mapisaga* (maguey mexicano o manos largas) y *Agave americana* (maguey cenizo) **Figura 2.1** (Cervantes & Pedroza, 2008).

Se caracteriza principalmente por ser una bebida alcohólica de color blanco ligeramente acida y con olor fuerte y viscosa, además puede tener propiedades probióticas debido a que contiene bacterias ácido lácticas como el *Lactobacillus acidophilus* y *Leuconostoc mesenteroides* (Ballesteros & Sánchez, 2021).

Esta bebida es consumida por poblaciones indígenas y mestizas desde hace miles de años en el centro de México. No se sabe con certeza en dónde surgió esta bebida ni tampoco quiénes fueron los primeros en elaborarla, sin embargo, se

cuentan algunas leyendas de su origen; algunos creen que los Otomíes fueron los primeros en preparar pulque hacia el año 2000 a.C. heredando el proceso de elaboración a casi todas las culturas de la meseta central; otros atribuyen su origen a la civilización Tolteca y; algunos otros consideran que el maguey y el pulque son un regalo de la Diosa Mayahuel.

Para los Aztecas el pulque era una bebida divina, esta civilización lo incorporó a su dieta por sus beneficios nutricionales y propiedades curativas (Nuñez, 2016).

El pulque era una bebida embriagante que los antepasados usaban en ceremonias y rituales y sus efectos eran atribuidos a las deidades, sin embargo, el consumo no estaba permitido e incluso se castigaba a quienes lo hacían y fuera de las celebraciones solo a los ancianos se les permitía beberlo (Erlwein & Velazco, 2009; Matías et al., 2019).

2.2.2 Taxonomía

La palabra *Agave* proviene del griego y significa “*admirable*”. El género *Agave* es originario de América, especialmente de México de donde fue llevado a otros países. Taxonómicamente este género se ubica dentro de las Agaváceas y es el más importante de la familia, de las aproximadamente 273 especies de los ocho géneros de la familia *Agavaceae*, 205 (75%) crecen en México, siendo 151 (55%) endémicas (Morales et al., 2009).



Agave de salmiana
(maguey verde
pulquero)



Agave atrovirens
(maguey blanco)



Agave mapisaga
(maguey mexicano
o manos largas)



Agave americana
(maguey cenizo)

Figura 2.1 Variedades de agave (Cervantes & Pedroza, 2008).

La reproducción es tanto de forma asexual como sexual. En la reproducción sexual se lleva a cabo por la polinización, mediante agentes externos abióticos como el agua y el viento o bióticos como animales vertebrados y en menor grado insectos diurnos y nocturnos. La reproducción sexual del Agave es necesaria para mantener la estructura y la dinámica de las poblaciones, aumentando la variabilidad genética de estas. (Vázquez et al., 2017).

La reproducción asexual en agaves se realiza gracias a la capacidad de la planta para producir clones en diferentes partes de la roseta, conocidos como hijuelos, también se puede realizar su dispersión por esqueje, es decir un trozo de una de sus hojas puede ser separada y si cae en tierra apropiada puede enraizar y dar un nuevo individuo. La producción de clones es un mecanismo que permite a las plantas una mayor capacidad de ampliar su área de distribución (Vázquez et al., 2017).

Las distintas especies de magueyes que producen aguamiel, de donde se elabora el pulque, son plantas xerófitas. Son vegetales muy robustos, lampiños,

glaucos, plurianuales, con raíces fibrosas y extendidas que penetran a gran profundidad en el suelo (Ramírez, 2004). Sus hojas son anchas, fuertes, suculentas, de color verde con largos ápices acuminados y sigmoideos, de tallo corto y macizo, con forma de roseta y tamaños que van desde 1.50 m a 3.40 m de altura y hasta 5 m de diámetro. Tiene flores carnosas de tépalos dimorfos, estrechos, doblados hacia el interior. Se le encuentra en terrenos planos y montañosos, desde suelos profundos a superficiales (Carrasco,)

Tabla 2.1 Características de la planta de agave pulquero (Morales et al., 2009).

Parte de la planta	Características:
Raíz	Rizomas subterráneos
Tallo	Tallos cortos a grandes
Hojas	Angostas, gruesas y carnosas, que nacen del tallo y rematan en una espina fuerte y oscura
Flor	Inflorescencias paniculadas con flores hermafroditas
Frutos	Cápsulas o bayas que contiene numerosas semillas comprimidas

Las especies *A. salmiana*, son las principales productoras de aguamiel para la elaboración de pulque. Estas especies pertenecen al grupo *Salmianae*, su cultivo se desarrolla entre los 1,200 a 2,500 m de altitud con lluvias de 350 a 1,000 mm anuales (Morales et al., 2009). El Agave *Salmiana* es una especie endémica de México. El agave crece como planta silvestre en los estados del centro de México (Durango, Hidalgo, Puebla, Querétaro y San Luis Potosí) (Reynoso, 2012). En la **Tabla 2.1** podemos observar las características principales del Agave de salmiana o pulquero y en la **Tabla 2.2** observamos su taxonomía.

Tabla 2.2 Descripción taxonómica del agave pulquero (Morales et al., 2009).

Reino	Vegetal
División	Fanerógamas
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Monocotiledóneas
Familia	Agaváceae
Género	Agave
Especie	Salmiana

2.2.3 Microbiota

Estudios realizados sobre la microbiología del pulque han demostrado que es un alimento rico en bacterias y levaduras, que producen tres tipos de fermentaciones: ácida por bacterias ácido lácticas (BAL), homo y heterofermentativas identificadas como *Lactobacillus acidophilus*, *L. kefir*, *L. acetotolerans*, *L. hilgardii* y *L. plantarum*, alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae* y *Zymomonas mobilis* que producen etanol y viscosa por *Leuconostoc mesenteroides* y *dextranicun*, productor de dextrano, que confieren viscosidad al pulque (Sepulveda, 2020).

Los análisis de la diversidad bacteriana en muestras de pulque permiten afirmar que las bacterias acidolácticas, particularmente la relacionadas con *Lactobacillus acidophilus*, son el grupo más abundante de microorganismos presentes en el pulque, es por ello por lo que se considera al pulque como un producto probiótico (Ballesteros & Sánchez 2021).

Las bacterias son Gram positivas, teniendo como principales géneros a *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*, sus principales productos de fermentación es ácido láctico y otros ácidos orgánicos, contribuyen al sabor, la acidez y a la conservación del producto.

Las bacterias Gram negativas ubicuos de los géneros *acetobacter* y *gluconobacter*, son bacterias anaerobias estrictas que están adaptadas para vivir en ambientes ricos en azúcares y etanol, además convierten el alcohol etílico en ácido acético (Sepulveda, 2020).

También se han identificado especies de *Saccharomyces* y no *Saccharomyces* como levaduras fermentativas especiales responsables de la producción de etanol, aminoácidos, vitaminas y compuestos volátiles del sabor que participan en las propiedades sensoriales de la bebida (Matías et al., 2019).

2.2.4 Pulque curado

El beber pulque es una de las tradiciones que actualmente se han ido perdiendo en las grandes nuestro país, aunque todavía hay lugares rurales y semiurbanos donde aún se tiene la costumbre de beberlo, y es ahí donde actualmente una gran fama de variedad de pulque son los “curados” (Pérez, 2015)

Los curados comenzaron a elaborarse para satisfacer las necesidades del mercado. Los consumidores buscaban nuevas opciones de bebida y el sabor del pulque natural ya no era suficiente (México, 2019). Con el paso del tiempo fueron innovando diferentes tipos de combinaciones para satisfacer los paladares exquisitos que no les agradaba el sabor del pulque natural y surgieron nuevos sabores como el de mango, de huevo, de arroz, de camote, de piña, de tuna (Ballesteros & Sánchez, 2021).

El proceso de elaboración de pulque curado consiste en la extracción del aguamiel del maguey, se deja fermentar durante dos días, cuando el pulque se vuelve color blanco y tiene una consistencia viscosa; posteriormente se le agrega el zumo de frutas con el fin de darle un sabor específico. En caso de que vaya a envasarse, el producto debe pasar por un proceso de pasteurización con el fin de detener la fermentación (Guerrero et al., 2022).

2.2.5 Producción de pulque

Hace algunas décadas, un saber relevante entre la mayoría de los hombres Tequexquináhuac estaba relacionado con la producción de maguey y la elaboración de pulque (Baslev & Velazquez, 2019).

Probablemente el pulque sea la bebida alcohólica más antigua y tradicional mexicana, se produce por la fermentación de aguamiel (savia dulce) extraído de varias especies de agave (Matías et al., 2019)

La plantación de maguey inicia con la preparación de la tierra, en algunos casos se agrega abono de ganado; posteriormente, se debe esperar, dependiendo de las condiciones climáticas y del suelo, entre cinco, siete y hasta 10 años para extraer por primera vez el aguamiel, esto se hace según el adelgazamiento del “meyote” (cogollo o yema central).

El maguey se deja reposar hasta por seis meses, el cual es un periodo de envejecimiento, lo que permite la maduración de las hojas centrales y el aumento del contenido de azúcares (Nuñez, 2016). En la **Figura 2.1** podemos apreciar la obtención de aguamiel y el proceso para convertirse en pulque.

Para la extracción de aguamiel, que es la parte más importante del proceso, se corta la inflorescencia de la planta (quiote) antes de que se desarrolle, esta operación es conocida como “capar el maguey”, que consiste en cortar las hojas laterales de la planta hasta dejar solamente el corazón; esto con el fin de dejar libre

la zona de trabajo para facilitar picar la parte central de la planta (mezontete) y formar una cavidad cóncava (cajete) donde se junte la savia (Ballesteros & Sánchez, 2021).

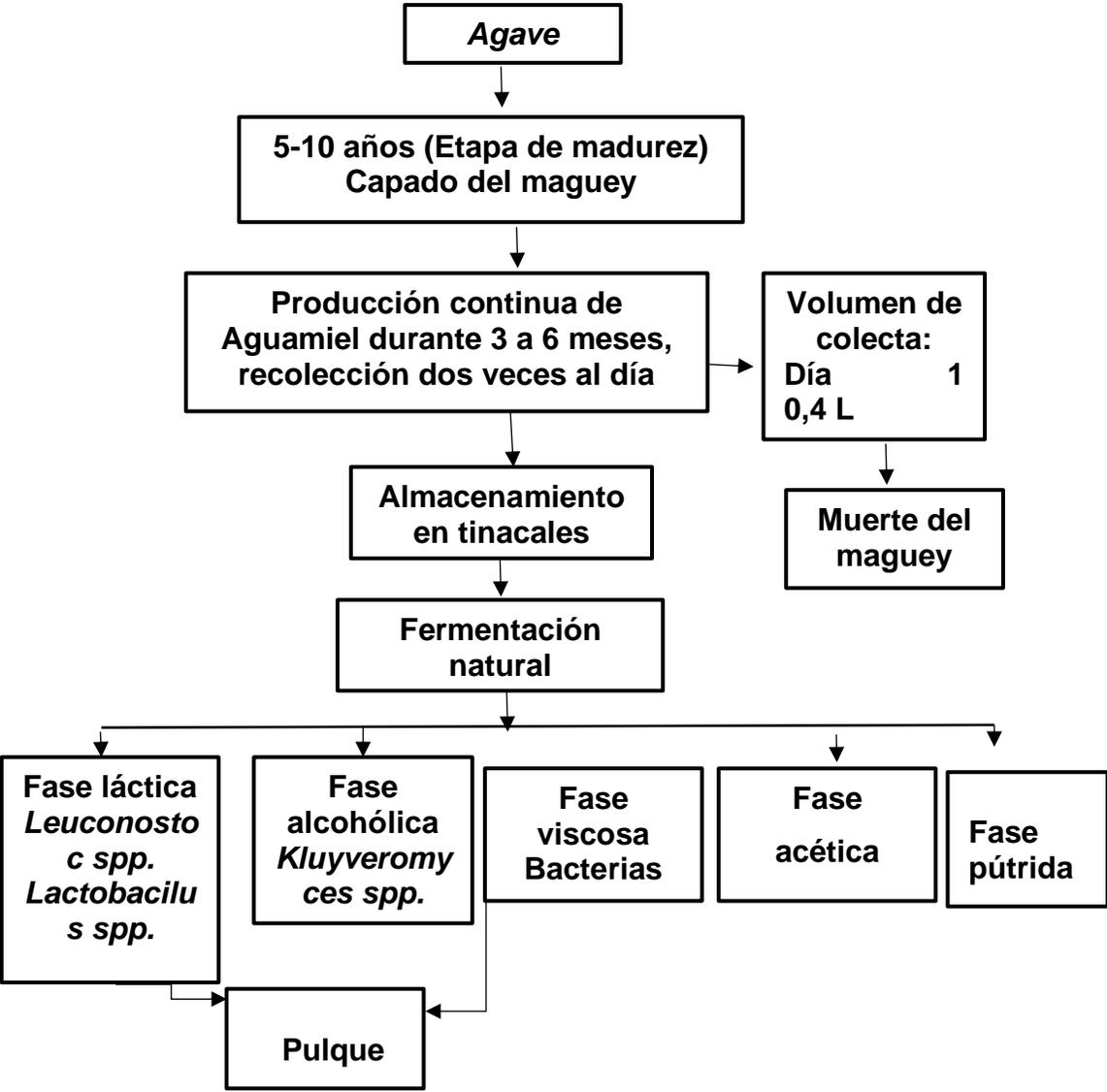


Figura 2.2 Proceso de obtención de aguamiel y pulque (Núñez, 2016).

La pared del cajete se raspa diariamente para mantener el flujo de aguamiel, el cual se va depositando en la misma cavidad, es obtenida por succión oral a través de una calabaza (Legendaria Sinceraría) seca llamada “acocote” (Sepulveda, 2020)

Un maguey puede producir de 3 a 4 litros de aguamiel, hasta dos veces al día, durante un periodo de seis meses.

Una vez recolectada el aguamiel en los contenedores, se realiza la fermentación, ya sea de forma espontánea o inducida, mediante la adición de la semilla (pulque curado). Cuando se elabora mediante la semilla, la fermentación se desarrolla durante varias horas, dependiendo de la calidad del aguamiel, los microorganismos presentes en la semilla y las condiciones del contenedor, cuyo propósito es mantener la temperatura y ventilación adecuadas para que el aguamiel fermente (Nuñez, 2016).

Finalmente, se obtiene el pulque (producto final), el grado de fermentación varía de acuerdo con el productor y se considera adecuado cuando alcanza un nivel de viscosidad, contenido de alcohol y olor característico (Sepulveda, 2020).

2.3 Microencapsulación por secado por aspersión

2.3.1 Generalidades

La microencapsulación de secado por aspersión ha sido objeto de estudio durante varias décadas y se ha encontrado en constante innovación convirtiéndose en tendencia en la industria, particularmente en la industria alimentaria se usa con el propósito de proteger ingredientes que son sensibles a la luz y el oxígeno y disminuir la formación de radicales libres (López, 2010; Ríos & Gil, 2021).

La microencapsulación es una alternativa viable que se puede aplicar a una amplia variedad de productos. Estudios recientes han demostrado un enorme potencial para proteger el material del núcleo, resultado en productos de calidad

superior para la industria alimentaria; sin embargo, el uso de esta tecnología en productos sensibles al calor, tales como microorganismos y aceites esenciales, puede ser limitado debido a que la alta temperatura requerida provoca la volatilización y/o la destrucción del producto (López, 2010).

En la industria alimentaria se utilizan diferentes materiales como agentes encapsulantes, tales como: carbohidratos, ésteres, gomas, lípidos proteínas y materiales inorgánicos; dentro de los carbohidratos las maltodextrinas son importantes por la preparación de jugos que van a ser secados por esta técnica, ya que contienen propiedades fisicoquímicas que no alteran la composición del producto inicial, pues son incoloras, inodoras y de baja viscosidad a altas concentraciones, además permiten la formación de polvos de libre flujo sin cambiar el sabor original (García et al., 2004).

2.3.3 Microencapsulación

La microencapsulación es el proceso que se usa para convertir alimentos líquidos en sólidos, se define como una técnica de empaque de materiales (sólidos, líquidos o gaseosos) en miniatura, es decir, cápsulas selladas que pueden liberar su contenido a velocidades controladas bajo condiciones específicas (Rutiaga et al., 2015)

El proceso de microencapsulación involucra el atrapamiento de material puro o una mezcla dentro de otro material, la incorporación de ingredientes alimentarios en pequeñas cápsulas, cuyo tamaño aprox. es de 5 a 300 micrones, favorecen la conservación de sabores, aromas y compuestos como acidulantes, antioxidantes y vitaminas, así como también aceites y microorganismos (López, 2010).

2.3.3.1 Maltodextrinas

La maltodextrina es un polisacárido que se obtiene mediante una hidrólisis parcial, ácida y/o enzimática de almidón de papa, arroz o maíz (López et al., 2009).

Como productos de la hidrólisis del almidón; las maltodextrinas están formadas por productos de la hidrólisis de la amilasa (componente lineal) y de la amilopectina (componente ramificado) por lo que son consideradas polímeros de D-glucosa unidos por los enlaces $\alpha(1,4)$ y $\alpha(1,6)$ (Mendoza & Corilla, 2015).

Las maltodextrinas son clasificadas por su ED, este se relaciona con el grado de polimerización (Gp) de la molécula de almidón, de acuerdo con $ED=100/Gp$. El grado de polimerización corresponde al número de unidades monoméricas o monosacáridas. A más alto ED mayor es el número de unidades monosacáridas y los polímeros son de cadena corta. (Orellano & Valverde, 2017).

Las maltodextrinas se caracterizan por ser carbohidratos nutritivos, no dulces, solubles en agua, poseen baja higroscopicidad y de bajo poder edulcorante; debido a sus características ha sido reconocida por la FDA como una sustancia GRAS (Generally recognized as safe) (Mendoza et al., 2022).

Son utilizadas en la industria alimentaria para proporcionar consistencia y textura, controlar el dulzor, reemplazar grasas, encapsular olores, formar películas, reducir la cristalización y controlar el punto de congelación.

Se ha determinado que para la microencapsulación son más efectivas las maltodextrinas con 10-20 equivalentes de dextrosa (DE). Su aplicación para el proceso de encapsulación está asociada a la baja viscosidad a altos contenidos de sólidos, buena solubilidad, capacidad para formar películas y bajo costo (Estrada et al, 2009).

2.3.2 Secado por aspersion

El secado por aspersion (SA) ha sido usado como una técnica para encapsular alimentos, conservando sus propiedades nutricionales; esta técnica permite obtener un producto en polvo a partir de un líquido concentrado (García et al., 2004). En la **Figura 2.2** observamos las partes que conforman un secador por aspersion

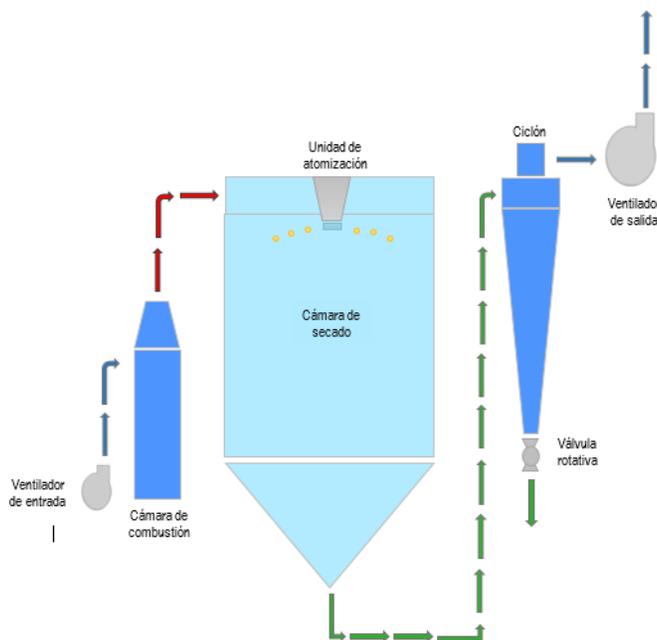


Figura 2.3 Secador por aspersion (García et al., 2004).

El secado por aspersion es una operación unitaria que convierte dispersiones líquidas a productos sólidos, con la finalidad de conservar, manipular, almacenar y trasladar de manera más sencilla. Si la dispersion se mezcla con un agente encapsulante, se formarán encapsulados que contendrán al compuesto bioactivo contenido en su interior (Esquivel et al., 2015).

Dentro de los parámetros más importantes a controlar durante el secado por aspersion se encuentran las temperaturas, tanto de entrada como de salida, del aire

del secado, el flujo de alimentación del producto a secar, el tiempo de residencia y el acondicionamiento de la materia prima (García et al., 2004).

2.3.2.1 Etapas del secado por aperción

El proceso de secado por aspersion se divide en 3 etapas: a) atomización, b) secado de sólidos y c) recolección de sólidos (Vera, 2012).

De acuerdo con *Cima industries*, la atomización se trata de generar microgotas las cuales al estar en contacto con una corriente de aire caliente (entre 150 y 300 °C) son pulverizadas. El objetivo de esta etapa es crear la máxima superficie de transferencia de calor entre el aire seco y el líquido para atomizar la transferencia de masa y calor.

La configuración del atomizador depende de la naturaleza y la viscosidad del líquido que se desea secar; además, el tamaño de las partículas del polvo dependerá de la energía suministrada. Sin embargo, el tamaño de las partículas aumenta cuando la viscosidad y la tensión superficial del líquido inicial son grandes. (Esquivel et al., 2015)

El secado de sólidos inicia cuando las gotas entran en contacto con el aire caliente, esta etapa se realiza en la cámara de secado, la cual tiene forma de cilindro generalmente, a esta etapa se le conoce como etapa de secado (Nuñez, 2016).

La etapa de recolección de sólidos inicia con la separación del producto seco y aire húmedo; la separación puede realizarse primero en la base de la cámara de secado, dicha separación se hace a través del ciclón, colocado fuera de la cámara de secado, su función es reducir las pérdidas del producto seco a través de la atmósfera: las partículas de mayor densidad se depositan en la base de la cámara de secado, mientras que las partículas finas pasan a través del ciclón para ser separadas del aire húmedo; estos ciclones tienen un vaso de recolección en la parte

inferior en donde se reciben las partículas secas, en la parte superior de este sale un flujo de aire limpio, el cual ya no contiene partículas de producto o las tiene en cantidades muy pequeñas (Vera, 2012; Esquivel et al., 2015).

2.3.4 Secado por aspersión en productos

La tecnología del secado por atomización es usada en una gran variedad de industrias, como la de alimentos, la farmacéutica y la de cosméticos. Actualmente se han desarrollado diversas aplicaciones en la mayoría de las industrias, incluyendo la producción de químicos, fármacos fragancias y pesticidas (Vera, 2012).

La microencapsulación es una solución tecnológica para optimizar la preservación de ingredientes activos en materia prima y alimentos durante el procesamiento y almacenamiento (Cardona et al., 2021).

La deshidratación mediante el secado por atomización se usa en una amplia gama de productos en la industria alimentaria para producir productos secos y aglomerados principalmente (Bringas et al., 2014).

Algunos por ejemplo son el uso en aceites esenciales como el aceite de olivas y almendras, por mencionar algunos; la microencapsulación de los principios activos surge como una innovadora alternativa para evitar la degradación de los ácidos grasos durante el almacenamiento y hasta que sean consumidos (Amaya y Salcedo, 2020).

Los jugos concentrados de fruta poseen un alto contenido de sólidos y se facilita su deshidratación por tener un bajo contenido en agua (Bringas et al., 2014).

Según Cardona et al. (2021), la microencapsulación se puede aplicar para alimentos ricos en vitaminas, minerales y antioxidantes, como las frutas; y en alimentos ricos en probióticos no lácteos tales como horneados cárnicos, leguminosas, mayonesa y productos elaborados a base de chocolate.

Capítulo III

Desarrollo o metodología

3.1 Acidez titulable.

Se tomó una muestra de 10ml de pulque para realizar la determinación de su pH por el método de acidez titulable, este método consiste en añadir de 5 a 6 gotas de fenolftaleína y posteriormente titular con NaOH, con ayuda de una bureta; cada 0,01 ml de NaOH usado para neutralizar 1 ml de pulque corresponde a 1 grado Dornic (°D). La aparición de un color rosa pálido indica el punto final de la reacción (Torres, 2019).

Para la determinación se utilizó la ecuación 3.1, que se muestra a continuación:

$$A.T. = \frac{V \times N \times 0.090}{M} \times 100 \quad \text{Ecuación 3.1}$$

donde:

A.T. = Acidez total expresada en gramos de ácido láctico por 100 ml de muestra;

V = Volumen gastado de hidróxido de sodio en la titulación de la muestra;

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio en la titulación;

0.090 = Miliequivalente de ácido láctico;

M = Volumen de muestra empleado en la determinación (Ortiz, 2022) ((NMX-V-042-1972.).

3.2 Grados brix.

Para determinación los grados brix del pulque se tomó una gota de pulque. Después se depositó en el lente del refractómetro digital (Atago mod. PAL-BX/RI). Dicha medición se basa en la propiedad de los líquidos para detener o refractar un rayo de luz proporcional a la concentración de la solución; los datos obtenidos se expresaron en °Bx (Martínez & González, 2017).

3.3 pH.

Para la determinación de pH se utilizó un potenciómetro de la marca HANNA, el cual se calibró con los buffers de pH 7 y 4, una vez que esto se logró, se puso la muestra a 26°C y se registraron los resultados, se realizó por triplicado (Nuñez, 2016).

3.4 Sólidos totales

Para la determinación de sólidos totales se utilizó el procedimiento descrito en la NMX-AA-034-SCFI-2015, primero se pusieron a peso constante los crisoles (masa 1), después se añadió 5 ml de pulque fresco (masa 2), después se metió a secar en la estufa de secado por 24, se pasaron al desecador y se registró el peso final (masa 3); para hacer los cálculos se utilizó la *Ecuación 2.1*.

$$ST = \frac{(m^3 - m^1)}{v} 100,000 \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde:

ST= Son los sólidos totales, en mg/L;

m3= es la masa de la cápsula con el residuo, después de la evaporación, en g;

m1= es la masa de la cápsula vacía a masa constante, en g, y

V= es el volumen de muestra, en mL.

3.5 Cenizas

Para la determinación de cenizas se utilizó la metodología presentada en Galindo (2016), para ello se tomaron las muestras de sólidos totales, se puso a

quemar las muestras hasta que dejaron de soltar vapores, hasta que se quemó toda la materia orgánica, con el uso de una parrilla de calentamiento a 40° por aproximadamente 2 hr. Después se metieron a la mufla a una temperatura de 550°C por 2 hr. para que se calcinarán por completo las muestras; para bajar la temperatura de los crisoles primero se pasaron a la estufa por 20 min, posteriormente se pasaron al desecador por 20 min y finalmente se pesó la muestra. Se registraron los resultados y se realizó el cálculo con la *Ecuación 3.3*.

$$\% \text{ cenizas} = \frac{m_3 - m_1}{m_2} \times 100 \quad \text{Ecuación 3.3}$$

Dónde:

m1 = Masa del crisol vacío (g).

m2 = Masa de la muestra (g).

m3 = Masa del crisol con cenizas (g).

3.6 Densidad y grado de alcohol

Para determinar la densidad y a su vez el grado de alcohol del pulque fresco se tomó en cuenta la metodología utilizada por el autor Mendoza, (2022)., el cual describe que se toma una muestra de 250 mL de pulque fresco después se introduce un densímetro girando para romper la tensión superficial del pulque. A partir de la densidad se determinó el grado de alcohol usando como referencia la **Tabla 3.1** (Medina et al., 2016).

Tabla 3.1 Densidades para la determinación de alcohol.

	1.030	1.035	1.040	1.045	1.050	1.055	1.060	1.065	1.070	1.075
0.998	4.1	4.8	5.4	6.1	6.8	7.4	8.1	8.7	9.4	10.1
1.000	3.9	4.5	5.2	5.8	6.5	7.1	7.8	8.5	9.1	9.8
1.002	3.6	4.2	4.9	5.6	6.2	6.9	7.5	8.2	8.9	9.3
1.004	3.3	4.0	4.6	5.3	5.9	6.6	7.3	7.9	8.6	9.3
1.006	3.1	3.7	4.4	5.0	5.7	6.3	7.0	7.7	8.3	9.0
1.008	2.8	3.5	4.1	4.8	5.4	6.1	6.7	7.4	8.1	8.7
1.010	2.6	3.2	3.8	4.5	5.1	5.8	6.5	7.1	7.8	8.4
1.012	2.3	2.9	3.6	4.2	4.9	5.5	6.2	6.8	7.5	8.2
1.014	2.1	2.7	3.3	4.0	4.6	5.3	5.9	6.6	7.2	7.9
1.016	1.8	2.4	3.1	3.7	4.4	5.0	5.7	6.3	7.0	7.6
1.018	1.5	2.2	2.8	3.4	4.1	4.7	5.4	6.0	6.7	7.3
1.020	1.3	1.9	2.5	3.2	3.8	4.5	5.1	5.8	6.4	7.1
1.022	1.0	1.6	2.3	2.9	3.6	4.2	4.9	5.5	6.2	6.8
1.024	1.8	1.4	2.0	2.7	3.3	4.0	4.6	5.2	5.9	6.5

3.7 Azúcares reductores

La determinación de azúcares reductores se realizó con reactivo fehling, se mezclaron 5 ml de cada reactivo, A y B, después de agregó en un tubo de ensaye 1 ml de pulque fresco y 2ml del reactivo fehling y se puso a calentar en una parrilla de calentamiento a 40°C, por 15 min. La prueba se considera positiva si la solución presenta un color rojo ladrillo o aparece un precipitado del mismo color (Granja, 2019).

3.8 Color

Se utilizó un colorímetro para determinar el color de las muestras, en el equipo se colocó la muestra seca de pulque y se realizó la adquisición de los parámetros de color correspondientes a luminosidad L, y cromaticidad a y b tomando como referencia la **Figura 3.1** (Nuñez, 2016).

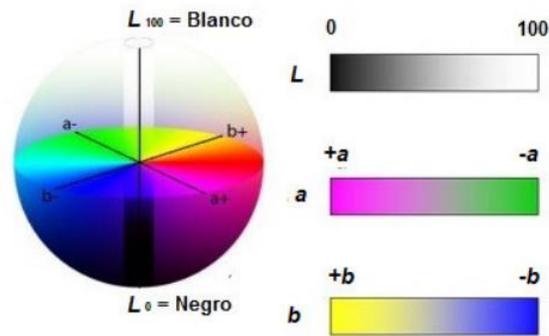


Figura 3.1 Diagrama de Hunter L, a y b (Núñez, 2016).

3.9 Proceso para análisis de superficie de respuesta

3.9.1 Selección de variables.

Se seleccionaron 3 variables para generar el diseño experimental los cuales fueron Días de fermentación, Porcentaje de maltodextrina y Temperatura. Las variables fueron elegidas para formar microcápsulas y encontrar las condiciones óptimas para obtener una tasa de supervivencia bacteriana mayor durante el proceso de microencapsulación.

3.9.2 Diseño experimental.

Para crear el diseño experimental se utilizó el Software STATGRAPHICS CENTURION XVI 16.1.11, en el cual se generó una tabla bajo el diseño factorial a tres niveles simple, es decir, utilizando solo tres niveles por cada factor, un nivel bajo (-), nivel central (0) y un nivel alto (+); formando corridas en combinación con los tres niveles, en base a esto se tomaron los siguientes rangos para cada variable, Días de fermentación (0, 5 y 10), Porcentaje de maltodextrina (15, 20 y 25%) y Temperatura (100, 110 y 120 °C).

Teniendo en cuenta dichos rangos en el programa, se obtuvo la tabla con 15 tratamientos de las diferentes variables combinadas.

Tabla 3.2 Condiciones de secado

Corrida	Días de fermentación (Días)	Temperatura (°C)	% maltodextrina (%)
1	5	110	20
2	0	120	20
3	5	120	25
4	10	120	20
5	0	100	20
6	0	110	25
7	0	110	15
8	5	110	20
9	10	110	25
10	5	100	15
11	10	110	15
12	10	100	20
13	5	100	25
14	5	120	15
15	5	110	20

3.9.3 Proceso de microencapsulación.

De acuerdo con la tabla, se realizó la preparación de las muestras tomando un orden aleatorio de acuerdo con los días de fermentación, es decir, se inició con las muestras del día 0 y se culminó con las del día 10.

El porcentaje de maltodextrina era definido de acuerdo con el tratamiento correspondiente, según la tabla.

Una vez realizada la muestra (mezcla de pulque con maltodextrina), esta era llevada a una parrilla de agitación donde era mezclada hasta que desaparecieran todos los grumos de maltodextrina.

Posteriormente la muestra fue secada en un equipo de secado por aspersión Spray Dryer marca Yamato, previamente preparado y regulado según los parámetros de velocidad, presión y temperatura. Al entrar en contacto con el equipo, la emulsión en estado sólido con las células probióticas ya entrelazadas se procesó para formar un producto sólido en polvo blanco.

Finalmente, la muestra se recolecta en bolsas de celofán, se identificaban y se guardaban envueltas en papel aluminio a temperatura ambiente, para posteriormente realizar análisis microbiológicos.

3.9.4 Análisis microbiológico de bacterias ácido lácticas y levaduras

Para realizar el análisis microbiológico de Bacterias Ácido-Lácticas, Mohos y levaduras se tomó como referencia la NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994.

Primero se preparó una solución concentrada con 3.4g de fosfato de potasio monobásico y se aforó con agua destilada en un matraz de 100ml; para hacer la solución de trabajo se tomaron 1.25ml de la solución concentrada y se llevó al aforo con agua destilada en un matraz de 1L.

Para la siembra de una muestra, de la solución de trabajo se tomaron 90 ml en un matraz de 250ml y por separado en 10 tubos de ensayo se pusieron 9 ml de solución de trabajo para cada uno.

También se preparó agar MRS Y PDA, de acuerdo con las indicaciones del fabricante, para el crecimiento de las bacterias ácido-lácticas y mohos y levaduras respectivamente.

Tanto el matraz, tubos con solución de trabajo y agares se metieron a esterilizar en la autoclave por 15 min con una temperatura de 121°C a 15 Psi, junto con espátulas, puntas para micropipeta, vasos de precipitado y vidrio de reloj, material extra que se utiliza para realizar las siembras.

Para realizar las siembras de las muestras se utilizó el método de vaciado en placa de acuerdo con la NOM-111-SSA1-1994 el cual consiste en hacer diluciones de -1, -2, -3,-4, -5, -6, -7, -8, -9 y-10 de la muestra y obtener resultados del conteo de bacterias en 1g de muestra.

Para lograrlo primero se pesó 10 g de muestra del pulque seco y fresco, este se disolvió en el matraz con los 90 ml de solución de trabajo (-1), después, con la micropipeta se tomó 1 ml y este se vertió en el primer tubo de ensaye (-2), dicho tubo se tapó y se agitó para que la muestra se diluyera, de este tubo se tomó 1 ml y se vació en el siguiente tubo (-3) y se hizo lo mismo con los siguientes tubos hasta llegar a la dilución requerida.

En este caso solo se realizaron hasta la dilución $X10^7$ y se sembraron muestras en placas de las diluciones $X10^5$, $X10^6$ y $X10^7$ por duplicado y para el pulque fresco se sembraron las diluciones $X10^6$, $X10^7$ y $X10^8$ por triplicado.

Una vez que se tenían las muestras en las placas se les vació de 20 a 25 ml del agar correspondiente, se agitaron con movimientos de izquierda-derecha, de arriba-abajo y círculos a la izquierda y círculos a la derecha, todos en 6 tiempos.

Se dejó que el agar se pusiera firme y se guardaron de forma invertida en un frasco para crear un ambiente anaerobio, en el caso de las BAL, y se incubaron a

35°C por 72 horas para obtener el crecimiento bacteriano. Finalmente se hizo el conteo de bacterias, con un crecimiento dentro del intervalo de 25 a 250 colonias; todo lo anterior tomando como referencia lo establecido en la NOM-092-SSA 01-1994.

3.9.5 Evaluación de la supervivencia microbiana de BAL y LEV a los 45 días.

Se realizó un análisis microbiológico después de 45 días de almacenamiento a temperatura ambiente, para determinar la vida útil del pulque deshidratado, de cada una de las muestras realizadas. Este análisis se realizó de acuerdo con la metodología de preparación y dilución de las muestras respecto a la NOM-110-SSA1-1994 y la técnica de vaciado en placa de acuerdo con la NOM-111-SSA1-1994.

3.9.6 Análisis de varianza de color

Se realizó un análisis de varianza de color a las 15 muestras para observar si había diferencia significativa entre ellas, para ello se tomó en cuenta la metodología de Núñez (2016), en la cual se establece el uso de un colorímetro, en el cual se depositó una pequeña cantidad de pulque deshidratado, después se obtuvieron los resultados de luminosidad (L) y cromaticidad (a y b).

Capítulo IV

Resultados y discusión

4.1 Resultados fisicoquímicos y microbiológicos del pulque fresco

En la siguiente tabla se muestran los resultados de las determinaciones realizadas al pulque fresco, que nos permite conocer nuestra materia prima.

Tabla 4.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica del pulque fresco.

Factor	Muestra de pulque fresco	Referencia	
Acidez titulable	0.41 g/100ml	0.4 a 0.7 g/100ml	Escalante et al. (2016)
Grados brix	6.63 °Bx	3.0 a 7.4 °Bx	Valadez (2012)
pH	3.61	3.5 a 4	NMX-V-037-1972
Azúcares reductores	+		Barrios (2014)
Sólidos totales	5.2%	1.13 a 7.73 %	Núñez (2016)
Ceniza	0.21%	0.36%	Medina et al., (2016)
Densidad	1.03 g/ml	1.011 g/ml	Medina et al., (2016)
Alcohol	3.3%	6 4 a 6%	León et al. (2012) & Escalante et al. (2016)
BAL ¹	1.23x10 ⁸ UFC/ mL	1x10 ⁶ UFC/mL 3.49x10 ⁴ UFC/mL 3.2x10 ⁸ UFC/mL	Chávez et al., (2021) Sepúlveda (2020) Escalante et al. (2008)
LEV ²	1.2x10 ⁸ UFC/mL	4.98x10 ³ UFC/mL 4x10 ⁷ UFC/mL	Sepúlveda (2020) Escalante et al. (2008)

¹ Muestra de pulque fresco, para bacterias ácido lácticas.

² Muestra de pulque fresco, para levaduras.

De acuerdo con el artículo publicado por Escalante (2016) los resultados de acidez total 0.4 a 0.7 g/100ml encontrada es similar a la encontrada en esta investigación siendo de 0.41 g/100ml. Los grados brix encontrados en esta investigación 6.63 °Bx se encuentran entre los parámetros realizados en

investigación realizada por Valadez (2012), quien encontró valores de entre 3.0 y 7.4 °B.

El pH se encuentra entre los límites establecidos en la NMX-V-037- 1972, la cual establece que el pH del pulque Tipo II (comercial) debe encontrarse en un rango de entre 3.5 a 4.

Se realizó una prueba cualitativa para determinar la presencia de azúcares reductores, el color rojo ladrillo al final del análisis representó que la prueba era positiva. De acuerdo con Barrios (2014), la fructosa y la glucosa son dos azúcares reductores presente en el pulque que son utilizados para obtener alcohol durante la fermentación.

Este pulque contiene un bajo contenido de Sólidos totales 5.2 %, de acuerdo con la investigación de Núñez (2016), quien encontró valores bajos de entre 1.13 a 7.73%, por lo que para realizar el secado por aspersion necesita que se le añada un material de pared, maltodextrina en este caso, para que el proceso de la bebida instantánea se lleve a cabo.

De acuerdo con Medina et al. (2016), quien encontró valores de 0.36 en porcentaje de ceniza, los niveles encontrados en esta investigación son más bajos siendo de 0.21%, lo que significa que nuestra muestra de pulque contiene menor cantidad de materia inorgánica. Además de que la densidad 1.030 g/ml representa un valor muy por encima del encontrado por el autor 1.011g/ml.

En cuanto al porcentaje de alcohol 3.3% se encuentra muy por debajo de los resultados obtenidos por León et al. (2012) y Escalante et al., (2016), quienes encontraron un valor del 4 a 6%, lo que puede significar que el pulque no contaba con azúcares suficientes para ser convertidas en alcohol.

Para los análisis microbiológicos del pulque fresco comprobamos que cumple como alimento funcional ya que, según Chávez (2021), para que un alimento se considere funcional debe contener una cantidad mínima de 10^6 UFC/g, quedando por encima del límite mínimo, ya que nuestro pulque fresco contenía al menos 1.2×10^8 UFC/mL para LEV y para BAL 1.23×10^8 UFC/ mL. Además de acuerdo con Sepúlveda (2020), encontramos resultados mayores con respecto al autor quien encontró cantidades de entre 3.49×10^4 UFC/mL para BAL y para LEV 4.98×10^3 UFC/mL. Mientras que con los resultados reportados por Escalante et al. (2008) son menores para BAL y menores para LEV, ya que ellos reportaron valores de 3.2×10^8 UFC y 1.4×10^7 UFC/mL respectivamente.

4.2 Resultados de análisis microbiológicos del pulque deshidratado

En el diseño experimental, generado en el Software de STATGRAPHICS, se colocaron los valores obtenidos en el conteo de colonias. Para estos resultados se utilizaron los datos obtenidos en la dilución $X10^5$ promediada, tanto para BAL como para LEV, obteniendo la siguiente tabla de resultados (Tabla 5).

Tabla 4.2 Resultados microbiológicos del pulque deshidratado.

Corrida	Días de fermentación (Días)	Temperatura (°C)	% maltodextrina (%)	Promedio ¹ BAL (UFC/gr)	Promedio ² LEV (UFC/gr)
1	5	110	20	5.10x10 ⁶	3.80x10 ⁶
2	0	120	20	3.50x10 ⁵	4.50x10 ⁵
3	5	120	25	1.00x10 ⁴	8.00x10 ⁴
4	10	120	20	2.70x10 ⁶	3.40x10 ⁶
5	0	100	20	7.00x10 ⁵	8.50x10 ⁵
6	0	110	25	5.50x10 ⁵	4.00x10 ⁵
7	0	110	15	1.70x10 ⁶	2.75x10 ⁶
8	5	110	20	4.80x10 ⁶	8.70x10 ⁶
9	10	110	25	1.31x10 ⁷	1.38x10 ⁷
10	5	100	15	8.00x10 ⁴	3.00x10 ⁵
11	10	110	15	5.15x10 ⁷	6.90x10 ⁶
12	10	100	20	4.95x10 ⁶	9.15x10 ⁶
13	5	100	25	7.45x10 ⁶	1.55x10 ⁷
14	5	120	15	7.00x10 ⁵	1.85x10 ⁶
15	5	110	20	1.80x10 ⁶	4.05x10 ⁶

¹ Muestra de pulque deshidratado, para bacterias ácido lácticas.

² Muestra de pulque deshidratado, para levaduras.

4.3 Superficie de respuesta en relación entre los niveles de porcentaje de maltodextrina, temperatura y días de fermentación.

En la **gráfica 4.1 y 4.2**, se muestra la superficie de respuesta estimada para los valores de BAL y LEV respectivamente, en estas gráficas obtuvimos una red tridimensional donde se observa una simulación de posibles resultados de la combinación de experimentos con las 3 variables establecidas: Días de fermentación, Temperatura y Porcentaje de maltodextrina teniendo como punto de partida los resultados obtenidos en los 15 experimentos que realizamos de manera práctica.

Se muestran cambios significativos entre el cambio de los valores de las variables, que se pueden apreciar más en el análisis de LEV. Por otro lado, en la

maya tridimensional de resultados en BAL forma una curvatura poco pronunciada que nos indica que valores intermedios son los ideales para obtener mayor tasa de supervivencia de estas bacterias.

Estos datos los que podremos observar más a detalle en las tablas que se muestran más adelante Combinación de factores óptimos de crecimiento 4.3 y 4.4 y en las gráficas de los efectos principales 4.5 y 4.6.

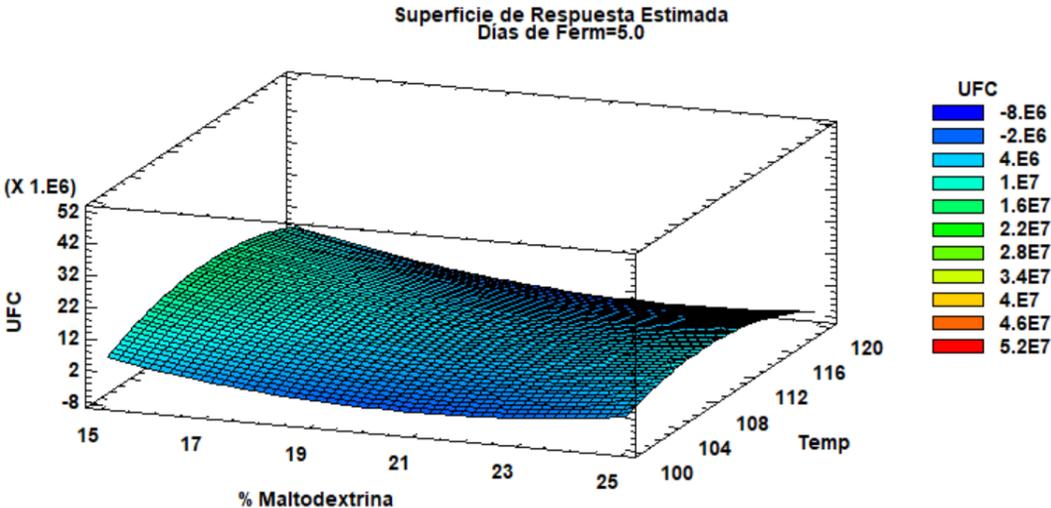


Gráfico 4.1 Superficie de respuesta estimada BAL.

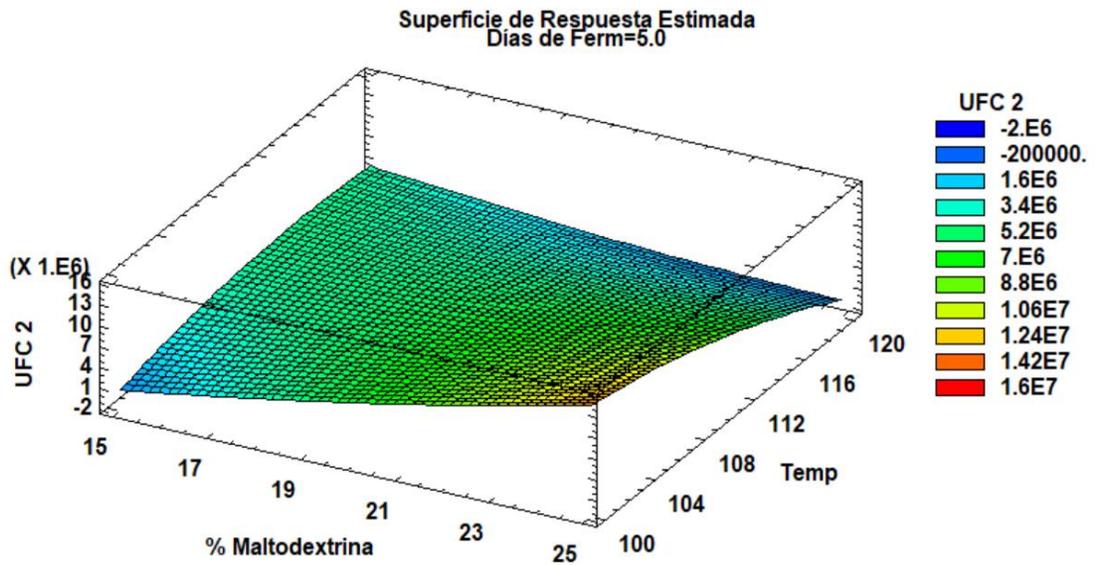


Gráfico 4.2 Superficie de respuesta estimada LEV.

En la gráfica 4.3 observamos cómo se comporta el crecimiento microbiano con respecto a los factores.

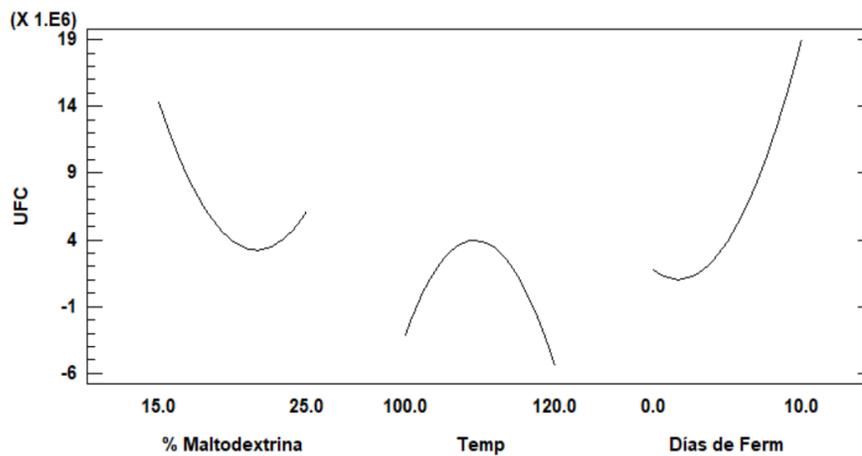


Gráfico 4.3 Efectos principales para BAL

En la gráfica 4.3 observamos el comportamiento con respecto a BAL que el factor de maltodextrina se tiene mayor supervivencia cuando hay mayor cantidad, mientras que el punto más alto de resistencia a la temperatura es de 110°C;

finalmente se requieren que el pulque tenga más días de fermentación para que haya más crecimiento de bacterias.

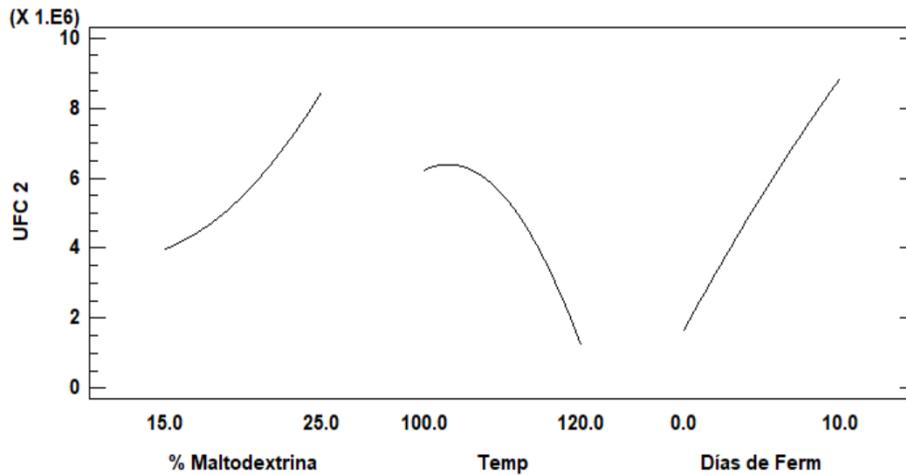


Gráfico 4.4 Efectos principales para LEV.

En esta gráfica 4.4 observamos que cuando aumenta el porcentaje de maltodextrina hay un incremento en la tasa de supervivencia de las bacterias, la temperatura de crecimiento es mayor cuando se tienen valores cercanos a 100°C y para los días de fermentación existe un ascenso de supervivencia cuando pasan más días.

En la gráfica, se observan las interacciones entre los diferentes factores, A: % de Maltodextrina, B: Temperatura y C: Días de fermentación.

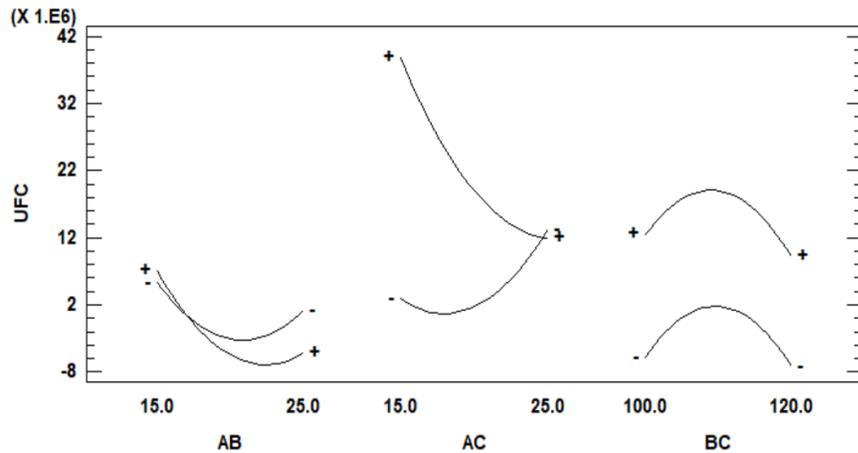


Gráfico 4.5 Interacción para BAL.

Esta gráfica nos indica que hay una interacción entre los factores A-B y A-C, es decir que depende una de la otra, mientras que en B-C, no lo hay, es decir que son independientes.

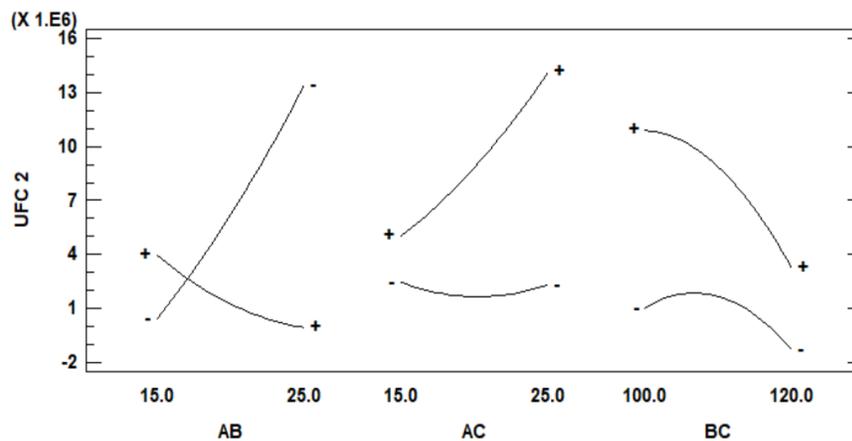


Gráfico 4.6 Interacción para LEV

Esta gráfica nos muestra que solo hay interacción entre los factores A-B, mientras que en los factores A-C y B-C no lo hay, ya que no se tocan en ningún punto.

4.4 Análisis de Varianza de color.

De acuerdo con Núñez (2016), el color tiene un papel importante en la elaboración de productos, ya que se asocia con el sabor y el aroma de los productos. Con base en el diagrama de Hunter, observamos que las muestras se encuentran en polos positivos tanto en L como en a y b, lo que indica que nuestras muestras se encuentran en tonalidades verdosas y amarillentas, que claramente no pueden ser percibidas por el ojo humano, para poder observar más a detalle la diferencia de color se realizó un análisis de varianza de color de los 15 experimentos con respecto a la muestra óptima.

Tabla 4.3 Análisis de color con respecto a las condiciones de secado.

Corrida	Días de fermentación (Días)	Temperatura (°C)	% maltodextrina (%)	¹ L	² a	³ b
1	5	110	20	60.05	0.65	1.81
2	0	120	20	78.46	0.55	4.00
3	5	120	25	60.10	0.67	1.64
4	10	120	20	81.37	0.54	3.84
5	0	100	20	76.54	0.50	3.66
6	0	110	25	85.10	0.47	3.31
7	0	110	15	74.54	0.65	3.57
8	5	110	20	65.40	0.58	2.22
9	10	110	25	75.59	0.50	3.27
10	5	100	15	63.68	0.47	3.34
11	10	110	15	77.48	0.47	5.23
12	10	100	20	85.71	0.49	4.17
13	5	100	25	74.51	0.80	2.95
14	5	120	15	62.74	0.79	3.90
15	5	110	20	58.56	0.61	2.14

¹ Luminosidad de la muestra de pulque deshidratado.

² Cromaticidad a, de la muestra de pulque deshidratado.

³ Cromaticidad b, de la muestra de pulque deshidratado.

Para observar si hay cambio significativo entre el color de las muestras realizamos un análisis de varianza con el 95% de confianza y poder determinar si hay diferencia significativa.

Tabla 4.4 Análisis de varianza para Luminosidad.

¹ Fuente	Suma de Cuadrados	² GI	Cuadrado Medio	³ Razón-F	⁴ Valor-P
A:%					
Maltodextrina	35.5324	1	35.5324	3.61	0.1157
B:Temp	74.1153	1	74.1153	7.54	0.0405
C:Días de Ferm	0.143113	1	0.143113	0.01	0.9087
AA	0.0041026	1	0.0041026	0	0.9845
AB	45.3602	1	45.3602	4.61	0.0845
AC	38.7506	1	38.7506	3.94	0.1039
BB	57.7308	1	57.7308	5.87	0.0599
BC	0.0256	1	0.0256	0	0.9613
CC	1051.34	1	1051.34	106.94	0.0001
Error total	49.1558	5	9.83116		
Total (corr.)	1329.26	14			

¹ Tratamientos de muestras de Pulque deshidratado.

² Grados de libertad.

³ F: Valor de F calculada

⁴ P: Probabilidad

En esta tabla podemos observar que cuando se analiza el factor B (Temperatura) y la combinación del factor C y C (Días de fermentación), observamos una diferencia significativa ya que son valores menores de -P (0.05) con el nivel de confianza del 95.0%. Es decir que la luminosidad es similar en casi todos los factores, a excepción de los anteriores.

Tabla 4.5 Análisis de varianza para cromaticidad a.

¹ Fuente	Suma de Cuadrados	² Gl	Cuadrado Medio	³ Razón-F	⁴ Valor-P
A:%					
Maltodextrina	0.00045	1	0.00045	0.05	0.8387
B:Temp	0.00045	1	0.00045	0.05	0.8387
C:Días de Ferm	0.0338	1	0.0338	3.45	0.1222
AA	0.0002314	1	0.0002314	0.02	0.8838
AB	0.050625	1	0.050625	5.17	0.072
AC	0.011025	1	0.011025	1.13	0.337
BB	0.0219391	1	0.0219391	2.24	0.1945
BC	0.030625	1	0.030625	3.13	0.1371
CC	0.0253853	1	0.0253853	2.59	0.1681
Error total	0.0489167	5	0.0097833		
Total (corr.)	0.22736	14			

¹ Tratamientos de muestras de Pulque deshidratado.

² Grados de libertad.

³ F: Valor de F calculada

⁴ P: Probabilidad

Para el análisis de varianza del factor de cromaticidad a (Rosa – Verde) observamos que 0 efectos tienen un valor -P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

Tabla 4.6 Análisis de varianza para cromaticidad b.

¹ Fuente	Suma de Cuadrados	² Gl	Cuadrado Medio	³ Razón-F	⁴ Valor-P
A:%					
Maltodextrina	2.96461	1	2.96461	38.63	0.0016
B:Temp	0.0561125	1	0.0561125	0.73	0.4315
C:Días de Ferm	0.5202	1	0.5202	6.78	0.048
AA	0.660401	1	0.660401	8.61	0.0325
AB	0.874225	1	0.874225	11.39	0.0198
AC	0.7225	1	0.7225	9.42	0.0278
BB	0.843339	1	0.843339	10.99	0.0211
BC	0.1369	1	0.1369	1.78	0.2392
CC	6.8838	1	6.8838	89.7	0.0002
Error total	0.383692	5	0.0767383		
Total (corr.)	13.3752	14			

¹ Tratamientos de muestras de Pulque deshidratado.

² Grados de libertad.

³ F: Valor de F calculada

⁴ P: Probabilidad

Para el caso del análisis de varianza del factor de cromaticidad b (Amarillo – Azul) observamos que 7 efectos tienen un valor -P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

De acuerdo con el análisis de varianza de color se concluye que no hay diferencia significativa en el color de las 15 muestra con el 95% de confianza para el análisis realizado con los resultados de Luminosidad y cromaticidad a, mientras que para el análisis realizado con los resultados de cromaticidad en b si la hay, es decir, que de acuerdo con el diagrama de Hunter las muestras son de color blanco con tonalidades verdosas, amarillentas y azules.

4.5 Muestra óptima.

La tabla siguiente (4.7), muestra la combinación de factores para una muestra óptima de pulque deshidratado para LEV, BAL y las condiciones óptimas obtenidas de la condición de ambas:

Tabla 4.7 Combinación de factores para muestra óptima.

Muestra óptima	¹ LEV	² BAL	¹ BAL Y ² LEV
Maltodextrina (%)	25	15	15
Temperatura (°C)	100.004	110.2	110
Días de Fermentación (Días)	9.98718	10	10

¹ Levaduras

² Bacterias ácido lácticas

Según los resultados de la superficie de respuesta obtenidos en STATGRAPHICS, que se muestran en la **Gráfica 4.7**, para obtener una tasa de supervivencia óptima para el crecimiento en BAL y LEV, se debe crear una muestra con 15% de maltodextrina, 10 días de fermentación y ser sometida a un proceso de secado con una temperatura de 110 °C.

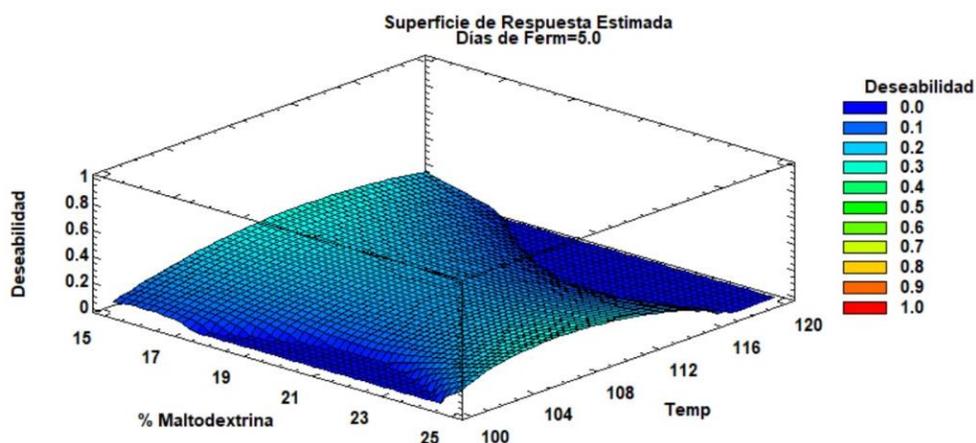
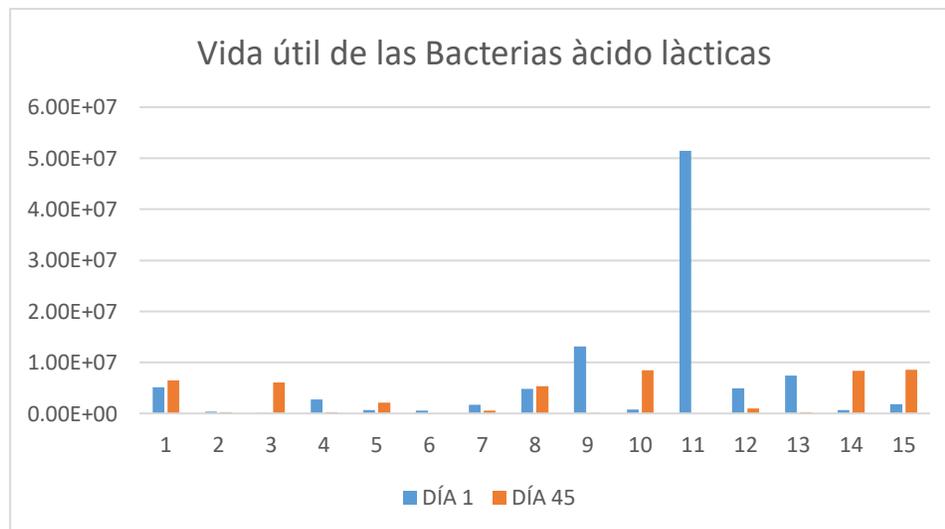


Gráfico 4.7 Muestra óptima de crecimiento de BAL y LEV

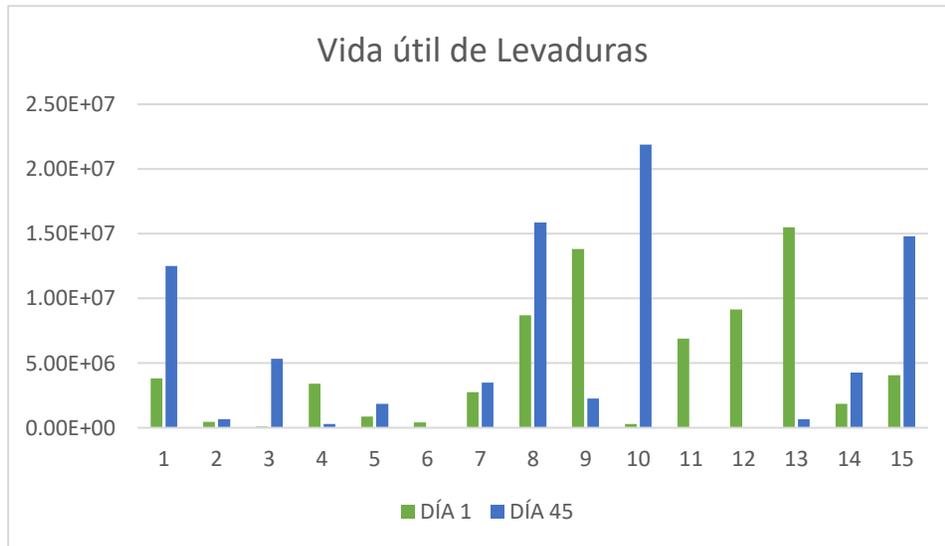
En el **Gráfico 4.7** observamos que la tasa de crecimiento de BAL y LEV, son similares en el factor de días de fermentación, pero son opuestas en los factores temperatura y % de maltodextrina, esto quiere decir que el crecimiento bacteriano crece a diferentes condiciones ya que tenemos valores bajos en deseabilidad desde 0.0 y cercanos a 0.4. Para una muestra optima ideal se buscan valores cercanos a 1 en la deseabilidad.

4.6 Resultados de Vida Útil

En las **gráficas 4.8 y 4.9**, podemos observar que si hay microorganismos vivos aún después de 45 días de que se elaboró el producto. Estos resultados no son concluyentes, pero nos dan una aproximación de lo que puede pasar con las bacterias con el paso del tiempo y las condiciones en que es almacenado.



Gráfica 4.8 Análisis de vida útil para BAL



Grafica 4.9 Análisis de vida útil para LEV

4.7 Caracterización microscópica del pulque deshidratado

Se analizó una muestra óptima, que presentaba mayor tasa de supervivencia de bacterias, en las fotografías tomadas a microscopio de las microcápsulas formadas del pulque deshidratado. Del secador por aspersión se formó polvo fino totalmente seco que evitaron que se formaran aglomerado de producto, que tiene forma microcápsula simple de esfera generalmente y van desde los 10.1 a 17.9 micrómetros de diámetro (**Figura 4.10 y 4.11**) de superficie lisa y suave como las presentadas por Rocha & Rojas (2009).

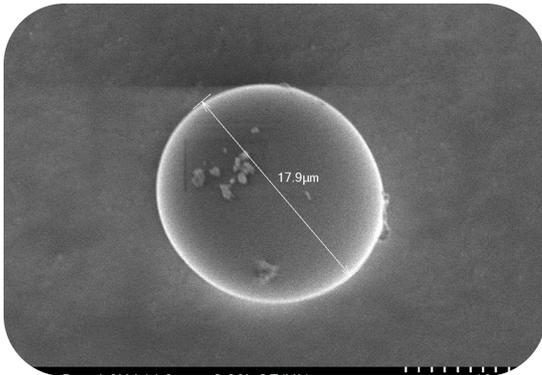


Figura 4.10 Microcápsula de pulque deshidratado.

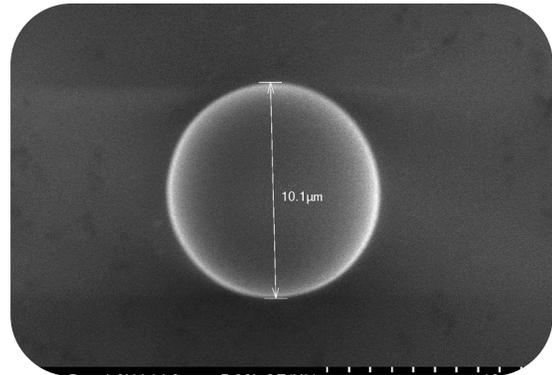


Figura 4.11 Microcápsula de pulque diámetro 10um.

En la microfotografía de la **Figura 4.11** se muestran resultados similares a los del autor Flores (2022), se muestra la formación de capsulas esféricas y de tamaños heterogéneos, algunos con deformaciones debido a la velocidad de encapsulación que existe en el secador por aspersión.

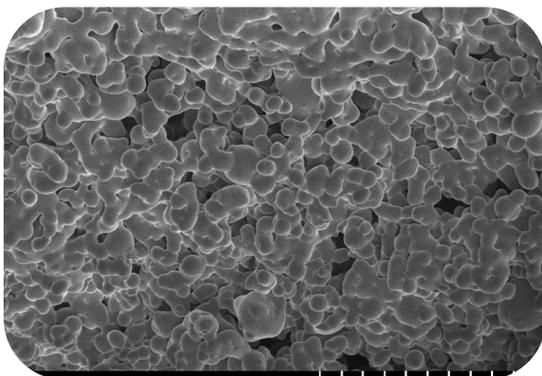


Figura 4.12 Pulque deshidratado

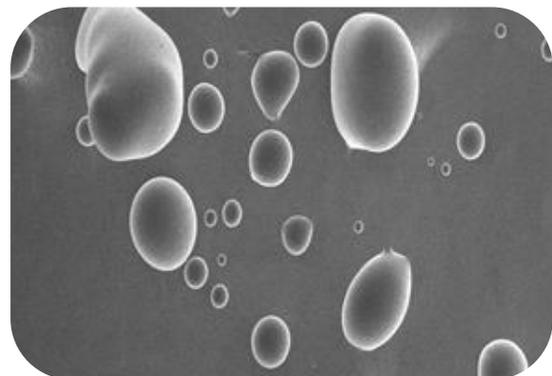


Figura 4.13 Morfología del pulque deshidratado

El polvo obtenido, presenta semejanzas en a la morfología de las microcápsulas obtenidas en la investigación de Paucar (2018), las cuales indican que hubo un correcto encapsulamiento.

En la fotografía de la **Figura 4.13**, se aprecia que algunas microcápsulas tienen abolladuras, como en las presentadas por Da Silva et al. (2013) quien indica que eso sucede a la evaporación rápida del líquido durante la atomización.

Capítulo V

Conclusión

En el presente trabajo se logró determinar las condiciones óptimas de secado para micro encapsular los probióticos presentes en el pulque *Agave salmiana*, primero se hicieron pruebas microbiológicas y fisicoquímicas del pulque para conocer la materia prima las cuales demostraron que el pulque estaba en condiciones de ser procesado como alimento funcional, posteriormente se realizó el secado por aspersion con los 15 experimentos de los cuales se obtuvo una muestra de polvo fino de color blanco.

De acuerdo con los resultados encontrados en el análisis de superficie de respuesta la combinación óptima de los factores era de 10 días de fermentación, 15% de maltodextrina y 110°C de temperatura de secado. De la muestra óptima se tomaron microfotografías para caracterizar morfológicamente las microcápsulas formadas durante el secado por aspersion, las cuales tenían en general forma de esfera con diámetros de entre 10.1 y 17.9 mm y de superficie lisa, algunas presentaban formas amorfas y abolladuras, lo cual se atribuyó consecuentemente a la velocidad de secado y a la rápida evaporación de la muestra.

También se realizó un análisis estadístico de color el cual nos sirvió para ver si había cambios significativos en el color de las muestras procesadas ya que a simple vista esto no podía ser observado, por lo que se concluye los parámetros de días de fermentación, % de maltodextrina y la temperatura de secado no afectaron significativamente el color del pulque con un nivel de confianza de 95 %. Finalmente se realizó un análisis de vida útil 45 días después del secado, en el cual se comprobó que los probióticos permanecían vivos.

Capítulo VI

Referencias bibliográficas

- Alvídrez, A. G.** (2002). TENDENCIAS EN LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS: ALIMENTOS FUNCIONALES. Facultad de Salud Pública y Nutrición. Universidad Autónoma de Nuevo León (México).
- Amaya, J. &** (2020). Microencapsulamiento de aceites con alto contenido de ácidos grasos mediante el método de secado por atomización. Scielo.
- Araya, H. &** (2003). ALIMENTOS FUNCIONALES Y SALUDABLES. Scielo.
- Ballesteros, E. &** (2021). El pulque. Don Juan López Cervantes. 28(121), 3.
- Barrios, R.** (2014). OBTENCION DE AZÚCARES REDUCTORES POR HIDROLISIS TERMICAA LA PIÑA DEL Agave americana L., A UTILIZARSE EN LA PRODUCCION DE UNA BEBIDA DESTILADA. Tesis.
- Baslev, H. &** (2019). La construcción social del pulque en México. Pistas para su revalorización: Turismo y Desarrollo Regional. In III simposio del Maguye y sus derivados.
- Bringas, M. P.** (2014). SECADO POR ATOMIZACIÓN DE JUGOS DE FRUTAS. Ciencia y Tecnología de Alimentos, pp.67-72.
- Cardona, D. P.** (2021). Aspectos tecnológicos de la microencapsulación de compuestos bioactivos en alimentos mediante secado por aspersión. Ciencia y tecnología agropecuaria.
- Carrasco, M. &** (s.f.). Cultura y saberes tradicionales: El caso del maguey y el pulque. Sociedad, permacultura y agricultura sustentable.

- Cervantes, M. &** (2008). Caracterización microbiológica del pulque y cuantificación de su contenido de etanol mediante espectroscopia Raman. Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales, 1-5.
- Chávez, S., Silva, S., Nery, S., Flores, A., & Ruelas, X. &** (2021). Consumo de alimentos funcionales: Una revisión sobre el efecto de prebióticos-probióticos en la salud humana. *CienciAcierta*, 94-117.
- Cortés, M., & Chiralt, A. &** (2005). ALIMENTOS FUNCIONALES: UNA HISTORIA CON MUCHO PRESENTE Y FUTURO. *Vitae*, 5-14.
- Da Silva, F. R.** (2013). Evaluación de la eficiencia de producción, las propiedades físicoquímicas y la estabilidad de almacenamiento del propóleo atomizado, un aditivo alimentario natural, utilizado en sistemas portadores a base de almidón de goma arábica y OSA. *Procesamiento de Alimentos y Bioproductos*, 28-36.
- Durán, R. &** (2010). LA EXPERIENCIA JAPONESA CON LOS ALIMENTOS. *Scielo*, 224-233.
- Erlwein, S. M.** (2009). Proceso de elaboración del pulque, su importancia económica y concepción social en Apan, Hidalgo. *EJERCICIOS ETNOGRÁFICOS. APRENDIENDO A INVESTIGAR*, 60-103.
- Escalante A,** (2016). Pulque, a Traditional Mexican Alcoholic Fermented Beverage: Historical, Microbiological, and Technical Aspects. *Front Microbiol.*
- Escalante, A. G.** (2008). Analysis of bacterial community during the fermentation of pulque, a traditional Mexican alcoholic beverage, using a polyphasic approach. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 126-127.

- Esquivel, B.** (2015). MICROENCAPSULACIÓN MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha.
- Estrada, A.** (2009). Producción enzimática de maltodextrinas a partir de almidón de malaga (colocasia esculenta). CyTA - Journal of food, 233-241.
- Flores, J.** (2022). Nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina. Tesis.
- García, C.** (2004). Microencapsulación de jugo de cebada verde mediante secado por aspersión. Journal of food, 262-266.
- González, J.** (2017). Pulque, la bebida de los dioses al alcance de todos. SAGARPA.
- Granja, C.** (2019). Síntesis de nanopartículas de plata utilizando como agente reductor los flavonoides, polifenoles y azúcares reductores presentes en el extracto acuoso de las hojas de Baccharis latifolia. . Tesis.
- Guerrero, R. A.** (2022). Memorias del 8° Congreso Nacional del maguey y el pulque. Memorias.
- Industries, C.** (s.f.). Secador por aspersión. Food and beverage Equipment.
- León, D. M.** (2012). Análisis bromatológico y aislamiento de microorganismos con potencial probiótico del pulque. Facultad de ciencia y tecnología.
- López, O.** (2010). Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión. Revista Cubana de Farmacia, 44(3), 381-389.

- López, O.** (2009). Características del aceite de semillas de Cucurbita pepo L. microencapsulado mediante secado por aspersión con maltodextrina y goma arábica. . Latin American Journal of Pharmacy, 628-632.
- Marquina, D.** (2017). Probióticos, prebióticos y salud. Madrid: Actualidad.
- Martínez, E.** (2017). Comparación de recubrimientos comestibles a base de mucilago de nopal y chia para la conservación de fresa. Tesis.
- Matías, G.** (2019). Valor nutricional y medicinal del pulque. Journal: Of negative & no positive results.
- Medina, C.** (2016). CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y ORGANOLÉPTICA DEL AGUAMIEL Y PULQUE DEL ALTO MEZQUITAL, HIDALGO . Agrucultura sociedad y desarrollo.
- Mendoza, C.** (2022). Caracterización fisicoquímica, microbiológica y organoléptica del aguamiel y pulque del Alto Mezquital, Hidalgo. Agricultura, Sociedad y Desarrollo. 19(4), 448-462.
- Mendoza, S.** (2015). Influencia de la temperatura del aire de entrada y concentración de maltodextrinas en el secado por atomización de las flores del Mastuerzo. Tropaeolum Majus L.
- México, G.** (16 de mayo de 2019). ¿Qué son los pulques curados y cómo se hacen? Obtenido de México, G. d. (Ed.): <https://gourmetdemexico.com.mx/gourmet/bebidas/los-pulques-curados/>
- Morales, A.** (2009). Morales, A. F., Hidalgo, C., Pérez, F. S., Aguilar, L. R., & Luna, J. R. Mecanismos de conservación y uso del maguey pulquero Agave salmiana en el Altiplano Mexicano. SOMAS AC.

Morán Jorquera, J. E. (2015). Elaboración de jugo de naranja (*Citrus sinnensis*), banano (*Musa paradisiaca*) y sábila (*Aloe vera*). Bachelor's thesis, Quito: USFQ.

Narváez, U., Martínez, T., & Jiménez, M. (2016). El cultivo de maguey pulquero: opción para el desarrollo de comunidades rurales del altiplano mexicano. *Revista de Geografía Agrícola*,, 33-44.

NMX-AA-034-SCFI. (2015). ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE SÓLIDOS Y SALES DISUELTAS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS – MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-034-SCFI-2001).

NMX-AA-034-SCFI-2015 ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE SÓLIDOS Y SALES DISUELTAS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS – MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-034-SCFI-2001). . (2015).

NMX-F-312-NORMEX. (2016). ALIMENTOS-DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN ALIMENTOS Y BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS-MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-F-312-1978).

NMX-V-042-1972. (s.f.). MÉTODO DE PRUEBA PARA LA DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL EN PULQUE. .

Norma Oficial Mexicana NMX-F-496-SCFI-2011 INDUSTRIA AZUCARERA Y ALCOHOLERA - DETERMINACIÓN DE REDUCTORES TOTALES EN AZÚCARES Y MATERIALES AZUCARADOS (CANCELA A LA NMX-F-496-1987). (2011).

Norma Oficial Mexicana. (s.f.). NOM-092-SSA1-1994. BIENES Y SERVICIOS, METODO PARA LA CUENTA DE MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS.

Norma Oficial Mexicana. (s.f.). NOM-110-SSA1-1994. BIENES Y SERVICIOS. PREPARACIÓN Y DILUCIÓN DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

Norma Oficial Mexicana. (s.f.). NOM-111-SSA1-1994. BIENES Y SERVICIOS, METODO PARA LA CUENTA DE MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS.

Nuñez, Y. (2016). Proceso de secado por aspersion del pulque proveniente de Agave de salmiana. Tesis.

Olagnero, G. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. Research Gate, 20-33.

Orellano, E. (2017). Propiedades físicas, antocianinas y capacidad antioxidante del atomizador de Mashua (*Tropaeolum Tuberosum*) Encapsulado con maltodextrina.

Ortiz, L. (2022). “AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE *Leuconostoc* spp RESPONSABLES DE LA VISCOSIDAD DEL PULQUE”. Tesis, pp. 39.

Pacheco, L. (2010). Determinación de las densidades de líquidos y sólidos y estimación de la incertidumbre asociada . Doctoral dissertation.

Paucar, A. (2018). Microencapsulación para la obtención de polvo a partir de un subproducto de mango (*Mangifera indica*). Tesis.

Pérez, J. (2015). El pulque como símbolo de identidad mexicana. Tesis, 1-20.

- Pía, M., & Médici, M. &.** (2005). Alimentos funcionales probióticos. *Química Viva*, 26-34.
- Ramírez, R.** (2004). El Maguey y el Pulque: Memoria y Tradición convertidas en Historia, 1884-1993. Benemèrita Universidad Autònoma de Puebla, 104.
- Reyes, L.** (2022). Desarrollo y optiización de un sistema de microencapsulación de bacterias probióticas (*Lactobacillus caseí*) por el método de secado por aspersión. Tesis.
- Reynoso, R.** (2012). Identificación taxonómica de agaves (*Agave ssp.*) utilizados para la elaboración del licor comiteco en Chiapas, México. *Agro Productividad*.
- Ríos, S.** (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión. Scielo.
- Rocha, M.** (2009). Caracterización del proceso de secado por aspersión del aguamiel. Tesis.
- Rodríguez E. & Sánchez, T.** (2021). El pulque: probiótico ancestral. México: *Elementos*, 28, 3-6.
- Rodríguez, S.** (2012). Microencapsulación de probióticos mediante secado por aspersión en presencia de prebióticos . *Vitae*, 186-188.
- Rutiaga, O.** (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. . *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 180-192.

- Santillán, E., Méndez, M., & Vélez, J. (2014).** Productos lácteos funcionales, fortificados y sus beneficios en la salud humana. ResearchGate, 5-14.
- Sanz, Y., & Collado, M. &. (2003).** Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Acta Pedriatica Española, 476-482.
- Sepulveda, L. (2020).** "EVALUACIÓN DEL EFECTO ESTACIONAL SOBRE EL MICROBIOMA INVOLUCRADO EN LA FERMENTACIÓN DEL AGUAMIEL Y SU INFLUENCIA EN LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DEL PULQUE". Tesis.
- Silviera, M., & Begoña, M. S. (2003).** ALIMENTOS FUNCIONALES Y NUTRICIÓN ÓPTIMA ¿CERCA O LEJOS? Revista Eapañola Salud Pública, 317-331.
- Torres, R. (2019).** Identificación Fenotípica y Genotípica de Bacterias ÁcidoLácticas aisladas de Aguamiel y Pulque con Actividad Antimicrobiana frente a Bacterias asociadas a Enfermedades Transmitidas por Alimentos. . Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Valadez, B. (2012).** The artisanal production of pulque, a traditional beverage of the Mexican Highlands. Probiotics Antimicrobial Proteins, 4, 140–144.
- Vázquez, B. (2017).** Embriogénesis somática: Una alternativa para el cultivo masivo del maguey pulquero Agave salmiana var. salmiana. Ciencias multidisciplinarias.
- Vera, M. (2012).** Metodología de Diseño Simultáneo de Proceso y Control aplicada a un secado por atomización multiproducto para sustancias químicas naturales. Universidad nacional de Colombia.