

PROBIÓTICOS EN MATRICES DE ORIGEN VEGETAL: TERMINOLOGÍA, CEPAS, TÉCNICAS DE VEHICULIZACIÓN Y SALUD.

JARDO, María Belén; PEREZ, Lucía Daniela; SPADARO, Andrea Martha;
SPOSATO, Mariel Emilia; COLOMBO, María Elena.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Escuela de Nutrición,
Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Probiótico se definió como “microorganismos vivos, que al administrarse en cantidades adecuadas, confieren beneficios para la salud al huésped” (1). Sin embargo, esto fue erróneamente atribuido a otros alimentos funcionales, como los alimentos fermentados (no controlados).

Se realizó una revisión bibliográfica de artículos originales y revisiones sistemáticas sobre diferencias terminológicas, avances biotecnológicos en el desarrollo de productos alimenticios probióticos en matrices de origen vegetal (frutas y verduras), y su potencial impacto en la salud, con el fin de aportar información científica actualizada para el adecuado uso por parte de las/los divulgadores científicos y profesionales de la salud.

Para determinar una cepa como probiótica, o desarrollar un producto con esta funcionalidad, se deben cumplir como mínimo la determinación específica de la/s

misma/s y la dosis terapéutica cepa-específica, que oscila entre 10^6 y 10^{11} unidades formadoras de colonia por dosis (UFC/dosis).

Las últimas investigaciones que demostraron una viabilidad positiva de cepas inoculadas se encontraron en matrices como: jugo de manzana, láminas de mora, jugo en polvo de grosella negra, mermelada de duraznos y snack de calabaza. Las técnicas que favorecieron a una mayor viabilidad se obtuvieron por microencapsulación (atomización y liofilización) e impregnación al vacío. Se debe destacar que los resultados variaron según las características de la cepa, material encapsulante utilizado y matriz a inocular.

Los potenciales efectos fisiológicos se atribuyeron a los productos resultantes específicos de cada cepa probiótica tras la fermentación de sustancias ingeridas, ocasionando un impacto positivo a nivel intestinal, inmune, cardiovascular y neuronal.

Palabras claves: *alimentos funcionales, probiótico, viabilidad, microencapsulación, microbiota, fermentados.*

ABSTRACT

The probiotic was defined as "live microorganisms that, when administered in adequate amounts, they confer benefits for the health of the host." (1) However,

this was wrongly attributed to other functional foods, such as fermented (uncontrolled) foods.

A bibliographic review of original articles and systematic reviews on terminological differences, biotechnological advances in the development of probiotic food products in matrices of plant origin (fruits and vegetables), and their potential impact on health was carried out in order to provide updated scientific information for proper use by scientific disseminators and health professionals.

To determine a strain as probiotic, or to develop a product with this functionality, the specific determination of it / them and the strain-specific therapeutic dose must be met at least, which ranges between 10^6 and 10^{11} colony-forming units per dose (CFU / dose).

The latest investigations that demonstrated a positive viability of inoculated strains were found in matrices such as: apple juice, blackberry slices, blackcurrant powder juice, peach jam and pumpkin snack. The techniques that favored greater viability were obtained by microencapsulation (atomization and lyophilization) and vacuum impregnation. It should be noted that the results varied according to the characteristics of the strain, the encapsulating material used and the matrix to be inoculated.

The potential physiological effects were attributed to the specific resulting products of each probiotic strain after the fermentation of ingested substances, causing a positive impact at the intestinal, immune, cardiovascular and neuronal levels.

Keywords: *functional foods, probiotic, viability, microencapsulation, microbiota, fermented.*

I. INTRODUCCIÓN

Dentro de los alimentos funcionales, los probióticos, microorganismos vivos que, administrados en concentraciones adecuadas, confieren beneficios para la salud del consumidor, (1)(Anexo: tabla 1) han sido utilizados como sinónimo de alimentos fermentados (2)(3) (Anexo, tabla 2) al asociarlos únicamente a la existencia de microorganismos vivos. En los últimos años, asociaciones de expertos como la International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) ha publicado consensos sobre el alcance y el uso adecuado de cada término. (Anexo: tabla 3, gráfico 1)

Los probióticos de origen lácteo son tradicionalmente los de mayor consumo y difusión por la industria de los alimentos, pero, en los últimos años se incrementó la demanda de productos con funcionalidad probiótica de origen no lácteo (4) ante la necesidad creciente de la población no consumidora de alimentos de origen animal, que por diversos motivos, como elecciones personales (vegetarianismo, veganismo) o requerimientos por patologías (alergias o intolerancia a lactosa, dislipemias, u otros), buscan este tipo de productos. (4) (Anexo: tabla 4 y 5)

Fuera de las matrices alimentarias clásicas para desarrollar productos probióticos, como yogures (5) y quesos (6), son diversos los alimentos en los cuales se ha evaluado, y continúa en investigación, la posibilidad de vehicular

microorganismos con ésta funcionalidad, como por ejemplo chocolate (7)(8), helado (9), cereales (10)(11), panificados (12), legumbres (13)(14), frutos secos (15)(16), y lo cual será el foco de la presente revisión, frutas y hortalizas. (17)(18)

La alimentación propia de áreas rurales y cultura agraria, con mayores consumos de fibra, frutas y verduras, se ve reflejada en la salud intestinal, con una mayor proporción de la cepa Prevotella, con incrementos importantes de las especies fermentativas con potencial efecto benéfico para la salud. (19)(20) Mientras que, en las regiones industrializadas con hábitos propios de la vida urbana, asociadas al alto consumo de grasa animal y bajo consumo de fibra dietética, se encuentra en la microbiota intestinal humana un mayor número de cepas potencialmente perjudiciales que resultan tolerantes a las sales biliares, como Proteobacterias y Clostridios (Bacteroides, Alistipes y Bilophila); y menores niveles de las beneficiosas como Lactobacilos y Bifidobacterias (Roseburia, Eubacterium rectale y Ruminococcus bromii), que metabolizan los carbohidratos complejos de los vegetales, reduciendo significativamente el potencial de microorganismos a los que se está expuesto (21). A su vez, el consumo de una cantidad de microorganismos inferior a la requerida, se asociaría con la aparición y desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ENT). (22) Ciertos estudios relacionan la presencia de estas patologías con el crecimiento no equilibrado de los microorganismos que se concentran principalmente en el tracto gastrointestinal de los seres vivos. (19) Existen otras asociaciones entre la microbiota y la salud como son las alteraciones cardiovasculares (20), respiratorias, inmunológicas, neurológicas, trastornos inflamatorios intestinales, cáncer colorrectal y enfermedades hepáticas. (23)

Uno de los hábitos que puede prevenir la aparición de patologías y/o patologías, como así también evitar y/o disminuir un crecimiento desproporcionado de microorganismos de la microbiota, es el consumo de fibra dietética (19) (prebióticos) y alimentos funcionales con acción probiótica, dado que no se puede sintetizar bacterias de forma endógena, siendo necesaria su incorporación siempre de forma externa. (24)

Suplementos y alimentos son los vehículos utilizados para desarrollar productos con probióticos. Los suplementos contienen hasta 10^{10} UFC/g¹ * de uno o una mezcla de probióticos, y se presentan como polvos, tabletas o cápsulas. (25) (anexo: tabla 6)

Para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales no lácteos con acción probiótica, las frutas y hortalizas son de las matrices más seleccionadas por tener mayor aceptabilidad, aunque la incorporación de cepas en las mismas representa un desafío tecnológico para lograr su viabilidad.

El propósito del siguiente trabajo apunta a esclarecer conceptos sobre probióticos, identificar matrices alimentarias seguras y generar un documento de consulta para profesionales de la salud interesados en el tema ya que resulta de valor una revisión bibliográfica de trabajos originales sobre el desarrollo de productos alimenticios probióticos, para definirlos dentro de los alimentos funcionales, diferenciarlos de los alimentos fermentados y aportar conocimientos

¹*UFC/G En microbiología, la **unidad formadora de colonias (UFC;** en inglés, **CFU, colony-forming unit**) es una unidad de medida que se emplea para la cuantificación de microorganismos, es decir, para contabilizar el número de bacterias o células fúngicas (levaduras) viables en una muestra líquida o sólida.

para el uso por parte de las/los divulgadores científicos y profesionales de la salud.

II. METODOLOGÍA Y OBJETIVOS

DISEÑO: Se realizó una revisión bibliográfica, con finalidad descriptiva y exploratoria de trabajos originales y revisiones sistemáticas sobre el desarrollo de productos alimenticios de origen vegetal con funcionalidad probiótica que contemplaran: la detección de microorganismos y/o, selección e inoculación de cepas probióticas, y/o tecnologías para favorecer la vehiculización de bacterias probióticas en matrices alimenticias, y los potenciales efectos en la salud de los consumidores.

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA: Las fuentes primarias y secundarias de información fueron consultadas en bases de datos electrónicas: SciELO, SISBI, PubMed, BIREME(BVS), LILACS, Google Académico y Conicet, durante los meses de Mayo 2020 a Enero 2021, búsquedas tanto en inglés como en español, utilizando las palabras clave : “probióticos y viabilidad”, “alimentos funcionales”, “y vegetales”, “y frutas”; “microbiota y salud”, “microbiota y probióticos”, “cepas probióticas y salud”. Como filtro se consideraron revisiones bibliográficas y metaanálisis de los últimos 10 años.

Asimismo, se consultaron bases de datos de organismos oficiales como Ministerio de Salud, FAO-OMS, Alimentos Argentinos, Organización Mundial de Gastroenterología (WGO), Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos

y Tecnología Médica (ANMAT), e Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP).

Para la selección final de los artículos originales se tuvieron en cuenta:

Criterios de inclusión:

- a) Estudios en los que se desarrollaron productos alimenticios probióticos en matrices de origen vegetal, específicamente con base en frutas y hortalizas que describen las cepas bacterianas utilizadas y técnicas de vehiculización de las mismas.
- b) Estudios que analicen el potencial impacto en la salud de las cepas seleccionadas.

Criterios de exclusión:

- a) Todos aquellos estudios en donde se desarrollen productos probióticos con base en matrices de origen vegetal que no incluya frutas y verduras, como cereales, pseudocereales , frutos secos y legumbres.
- b) Estudios en donde se desarrollen productos probióticos con base en matrices de origen láctico u origen animal.
- c) Fermentaciones no controladas en donde no se presente información certera de los microorganismos presentes.

OBJETIVOS

GENERAL:

Realizar una revisión bibliográfica sistematizada de las últimas publicaciones científico académicas de los avances biotecnológicos en el desarrollo de productos alimenticios probióticos en matrices de origen vegetal, particularmente, frutas y verduras.

ESPECÍFICOS:

- a) Definir probiótico, cepas probióticas y bases para el desarrollo de productos alimenticios con estas potencialidades.
- b) Describir las técnicas existentes para favorecer la vehiculización y viabilidad de las cepas a inocular.
- c) Describir dosis mínima terapéutica y el potencial impacto sobre la salud del huésped.

III. RESULTADOS

La principal búsqueda se realizó en el portal Scielo, con las palabras “probiotics and viability” obteniendo n 79 resultados, al aplicar el filtro a partir de 2010 se redujeron a n 66 resultados (1 revisión y 65 artículos), de los cuales: n 32 fueron descartados por tratarse de estudios elaborados en animales o con bases en alimentos o productos alimenticios derivados de animales. De los n 34 restantes, n 16 eran artículos sobre técnicas de microencapsulación para mejorar la viabilidad de probióticos y una revisión sobre avances en la microencapsulación de probióticos, que fueron utilizados para la elaboración del presente trabajo.

Los n 16 artículos restantes sobre el desarrollo y evaluación de productos potencialmente probióticos con bases en matrices de origen vegetal, de estos n 10 fueron descartados por ser en base a cereales, legumbres o frutos secos.

La selección final se redujo a n 6 artículos.

Se complementó la revisión a través del portal SISBI, con una búsqueda semejante a la realizada en Scielo, con las palabras en castellano “probióticos y viabilidad”, obteniendo n 514 resultados, que al aplicar el filtro de los últimos 10 años, se redujo a n 412 resultados. Luego, al añadir las palabras “alimentos funcionales” se redujo a n 84 resultados, finalmente adicionando las palabras “y vegetales”, se redujo a n 3 resultados, y cambiando ésta por “y frutas”, se obtuvieron n 15 resultados. La misma búsqueda se realizó en el portal PubMed, llegando a n 17 resultados sobre el filtro final “and vegetables”, y n 40 con el filtro “and fruits”. Éstos, junto a los seleccionados a partir de la búsqueda en Scielo,

han permitido desarrollar antecedentes y una selección final en base a los criterios de inclusión.

Para evaluar el concepto: “potencial impacto de las cepas probióticas sobre la salud humana”, se realizaron búsquedas en los portales Pubmed, Google Académico, Lilacs y Scielo, utilizando palabras claves como “microbiota y salud”, “microbiota y probióticos”, “cepas probióticas y salud” utilizando el filtro de publicaciones de los últimos 10 años, seleccionando revisiones bibliográficas y metaanálisis. Asimismo, se realizaron búsquedas con el nombre específico de cada cepa bacteriana para desarrollar su efecto en la salud y búsquedas con las palabras: fermentos vegetales, alimentos fermentados y “fermentos vegetales y bacterias de ácido láctico” (BAL) según los criterios de inclusión anteriormente descritos.

a) CEPAS PROBIÓTICAS: terminología y criterios de selección

El término probiótico (del griego “para la vida”, contrariamente al antibiótico) fue definido en el año 2001 por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS), como “microorganismos vivos (compuesto activos que comprenden principalmente bacterias y levaduras) que cuando se administran en cantidades adecuadas y viables, confieren un beneficio para la salud del huésped” lo cual se da al interactuar directamente con el microbioma humano, entendiéndose como tal, a aquellos microorganismos que habitan el tracto gastrointestinal. Al año siguiente se publicaron las Directrices para la Evaluación de los Probióticos en los Alimentos (26) para reguladores, científicos y la industria.

En el año 2013 por convocatoria de Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP), un panel de expertos puso en discusión el término definido inicialmente, junto con las directrices (26), concluyendo que las mismas eran incoherentes respecto a los avances científicos y tecnológicos de los últimos años, planteando la necesidad de precisar con mayores detalles el término, para definir su alcance y uso correcto tanto por parte de profesionales de la salud, como para los consumidores. (27) De esta manera se definió que los probióticos deben tener un contenido mínimo determinado, un recuento viable al final de la vida útil, una evidencia adecuada de beneficios para la salud, y que deben ser “seguros para el uso previsto”. Estos mismos parámetros se continuaron contemplando en 2018, en la última declaración de ISAPP, y se encuentran actualmente en el Código alimentario argentino (CAA).(1,28)

Se deben cumplir determinadas características para que una cepa sea considerada probiótica. (Tabla 7)

Tabla 7 : Criterios para determinar cepas probióticas

1. identificación genotípica y fenotípica de la cepa	Género, especie y nivel de cepa
2. pruebas in vitro	Determinación de las características de resistencia al ácido gástrico, enzimas digestivas, ácido biliar, capacidad para hidrolizarlas, y actividad antimicrobiana contra posibles bacterias patógenas y saprófitos, resistencia a antibióticos, verificando la ausencia de genes de resistencia transferibles.
3. pruebas in vivo	Debe estar respaldado por al menos un ensayo clínico humano positivo, que validen el efecto beneficioso en la salud del huésped.
4. evaluación de la seguridad	Las cepas probióticas deben ser generalmente reconocidas como seguras, utilizando la nomenclatura correcta correspondiente al origen, hábitat y fisiología de la especie (GRAS por sus siglas en inglés) y no generar un potencial daño durante su administración. (33)
5. determinación de la dosis mínima terapéutica	Para que los probióticos impacten de forma beneficiosa en la salud, es necesario que una cantidad suficiente de probióticos viables lleguen al intestino humano, esta cantidad se conoce como “dosis mínima terapéutica”. Se estableció una dosis mínima de 10^8 UFC/día. Para que cobre importancia fisiológica, deben llegar a las personas por encima de 10^6 UFC/día. (34)(35)(36)(37)

Fuente: elaboración propia

Entre los microorganismos probióticos se encuentran las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, levaduras como *Saccharomyces Cerevisiae* y algunas especies de *Bacillus*, entre otros. (29)

Actualmente, *Lactobacillus Rhamnosus* GG y *Saccharomyces Boulardii* son las cepas más estudiadas.

Varias especies de *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Oenococcus*, *Bacillus*, *Faecalibacterium* y *Enterococcus* se perfilan como candidatos probióticos. Las bacterias ácido lácticas, entre las que se incluye el género *Lactobacillus*, tienen funciones como agentes para la fermentación de alimentos (30), son una herramienta tecnológica en la conservación de productos y pueden generar efectos fisiológicos benéficos al huésped mediante la capacidad probiótica. (31)

Las cepas de *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Casei*, *Lactobacillus Plantarum*, *Lactobacillus Rhamnosus* y *Bifidobacterium Lactis* son las más utilizadas en la formulación de nuevos productos probióticos de origen hortofrutícola. (32)

Algunos de los ensayos que se realizan para iniciar la búsqueda y selección de probióticos son la estabilidad genotípica y fenotípica, utilización de hidratos de carbonos y proteínas, identificación de resistencia a antibióticos, capacidad de la cepa para inducir una respuesta inmune, presencia de factores de virulencia, etc (33). Otros, también relevantes, son los de adhesión (autoagregación, hidrofobicidad superficial, adhesión a mucosas y células intestinales) utilizados para estimar la capacidad de colonización de la cepa seleccionada y efectividad de la cepa en el intestino. (34)(35)

a.b) Bases para el desarrollo de productos alimenticios

i) Normativas regulatorias vigentes:

En relación al desarrollo de alimentos funcionales probióticos, las normativas internacionales más relevantes (31,36) iniciaron en Japón, donde se creó en la década del 80, el concepto Foods for Special Health Use (FOSHU), “alimentos para uso específico de la salud” que abarca 11 categorías donde se incluye tanto a probióticos como prebióticos. (35)(37) En la década del 90, se crea en la Unión Europea, el Functional Food Science in Europe (FUFOSE) a partir del cual se desarrolla un documento consenso de los conceptos científicos sobre alimentos funcionales en Europa. Los fabricantes de estos productos deben seguir pasos determinados y declarar las propiedades saludables a la Comisión Europea, quien los acepta o rechaza en base a la evaluación científica de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

En Estados Unidos, quien los regula es La Agencia de Alimentos y Fármacos (FDA, Food and Drug Administration), describiéndose en el Código de Regulaciones Federales (CFR) los requerimientos para aprobar una alegación de propiedad saludable, dentro de otros pasos necesarios previa aprobación de un nuevo producto.

Desde el año 2002, Brasil dispone un “Reglamento técnico de sustancias bioactivas y probióticas aisladas que hacen referencia a propiedades funcionales y relacionadas con la salud” creado por la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) del Ministerio de Salud, donde se disponen los lineamientos para asegurar la inocuidad de los productos, realizar su registro y regular su comercialización.

El Código Alimentario Argentino (CAA) no define con claridad el término alimento

funcional, pero en el año 2011, el Instituto Nacional de Alimentos (INAL), dependiente de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica (ANMAT), determinó (Capítulo XVII de Alimentos de régimen o dietéticos, Artículos 1389 y 1390) a los alimentos adicionados con probióticos o prebióticos, considerándolos como ingredientes alimenticios, como así también los protocolos que establecen los requisitos y evaluaciones para la inclusión de los mismos en alimentos, que resulta responsabilidad de la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL). (1) Desde el año 2012 se encuentra disponible por ANMAT, el Instructivo para solicitar la autorización de “alimentos con probióticos”, entre otros conceptos. (38)

Dentro de estas normativas existentes, la Argentina, se destaca por la exigencia sobre la carga de células viables de un probiótico como ingrediente para alimentos. (36)

ii) Desarrollo del producto:

Los lineamientos para llevar adelante el desarrollo de un producto probiótico implica un proceso determinado. (Gráfico 2)

Se deben seleccionar y aislar las cepas en concentraciones mayores a 10^7 UFC/g, valor calculado en base a la porción diaria de microorganismos probióticos viables, que deben ser ingeridos para obtener efectos funcionales, como así también, desarrollar características que permitan que éstas permanezcan con actividad durante toda la vida útil del mismo. Esta selección se basa en criterios para lograr su estabilidad genética, mantenimiento de sus propiedades funcionales y la viabilidad de los mismo durante las operaciones de

procesamiento y almacenamiento, la supervivencia durante el tránsito intestinal, y los potenciales beneficios de salud de los consumidores. (32) (39)(40)

La obtención de la biomasa puede darse a partir de la fermentación del alimento que será la matriz portadora, o la fermentación en un medio de cultivo diferente a la matriz donde se inoculará, diseñado con un aporte de nutrientes óptimos para lograr el desarrollo de materia activa deseado. La inoculación e incubación de los microorganismos suele darse en ambientes microaerófilos. La tasa de crecimiento final dependerá de la especie, de las condiciones de fermentación y del medio de cultivo.

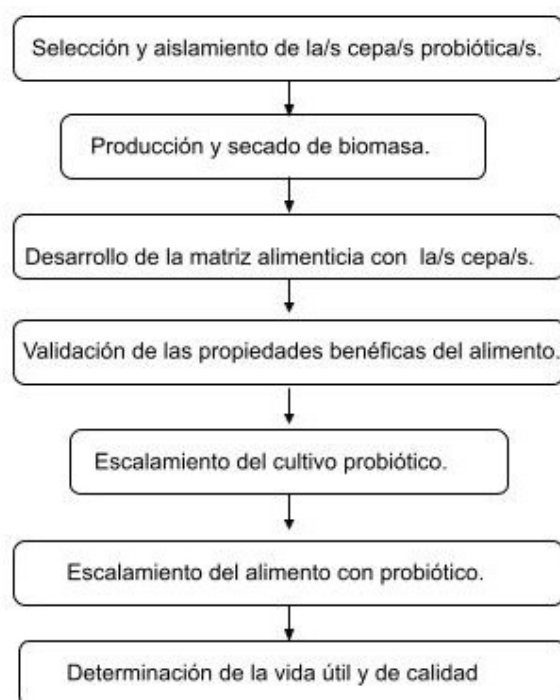
Finalizada la fermentación, la biomasa es separada del medio de cultivo, por centrifugación o filtración y lavados. Finalmente es utilizada en fresco sobre la matriz, o secada y almacenada hasta su uso. (29) Proveer de todos los ingredientes que componen la matriz alimentaria es fundamental para la elaboración del producto, contemplando la adición de las cepas probióticas mediante la elección de la técnica más apropiada que asegure la viabilidad de los microorganismos (capítulo IV b.i)

Se procede a realizar ensayos “in vitro” e “in vivo” que demuestren el/los efecto/s adjudicado/s al alimento probiótico y pruebas complementarias para garantizar la seguridad de la cepa o del alimento adicionado con esa cepa. Una vez aprobado, se provee de cultivos bacterianos y de la matriz alimentaria, realizando pruebas a gran escala en planta, cerrando el proceso con el control de calidad y comunicación de los cambios observados, que dependerá de todos los pasos previos. (6)

La incorporación de los probióticos genera en los alimentos modificaciones en

las cualidades organolépticas y nutricionales contribuyendo a mejorar la digestibilidad y preservación del producto final. Las bacterias ácido lácticas (BAL), además de producir ácido láctico, generan pequeñas cantidades de acetaldehídos y diacetilo, que otorgan aromas y sabores a los alimentos que pueden ser influyentes en la mayor o menor aceptación por parte del consumidor.

Figura 2: Pasos para la elaboración de productos probióticos



Autor: elaboración propia adaptado de (39)(40)(29)(6)

iii) Experiencias en el desarrollo de productos alimenticios probióticos en matrices de origen vegetal (frutas y hortalizas)

El mercado de alimentos funcionales probióticos no lácteos se encuentra en crecimiento, su investigación y desarrollo a nivel internacional es amplio. (Anexo: tablas 4 y 5) Las búsquedas seleccionadas son en su mayoría de origen centroamericano, asiático o europeo. Por el momento, en territorio nacional sólo se encuentran disponibles y regulados para su comercialización productos probióticos de bases lácteas. (6)(42) Aunque en los últimos años se han desarrollado algunos proyectos con bases en alimentos de origen vegetal, (Genevois CE.) (43)(44)

Las frutas son una de las matrices más seleccionadas para el desarrollo de posibles productos probióticos/simbióticos (Anexo: tabla 8) , ya que son fuente de carbohidratos, fibras, ácidos, minerales, polifenoles, vitaminas, compuestos aromáticos, fitoesteroles entre otras sustancias bioactivas. Para retrasar el desarrollo microbiano y prolongar su vida útil se puede utilizar la fermentación láctica por acción de bacterias ácido lácticas (BAL) como una estrategia y nueva alternativa para su conservación ante el uso de aditivos químicos. (45) Por otro lado, contribuye a potenciar aromas, sabores y posee actividad antioxidante al mejorar la biodisponibilidad de compuestos fenólicos. Además de la conservación y desarrollo de características sensoriales en los alimentos, la mayoría de las BAL tienen acción probiótica, las cuales al ser consumidas por el hombre en cantidades adecuadas, aportarían beneficios para la salud del mismo. (31)

Los prebióticos o fibras solubles, como la inulina y sus hidrolizados (fructooligosacáridos, FOS) son adicionados con el fin de ser utilizados como materiales encapsulantes o enriquecedores para mejorar la viabilidad de los probióticos inoculados, además de aportar mayor contenido de fibra, favoreciendo la acción simbiótica de éstos productos. (46)(47)

Existen diversos estudios donde se evaluó la adición de prebióticos como material enriquecedor. En uno de ellos se concluyó que en el jugo clarificado de manzana, la adición de oligofructosa favorece la conservación de *Lactobacillus Paracasei* por 28 días en refrigeración (48), contrariamente al jugo de naranja, donde no se logró ejercer un efecto protector, pero igualmente se lo describe como un sustrato adecuado para propagar *Lactobacillus Paracasei* (en reemplazo de los caldos de cultivo Mann Rogosa and Sharpe - MRS), ya que mostraron una viabilidad del cultivo superior a 10^6 UFC/ml durante 28 días almacenados en frío. (49)

En un reciente estudio donde se evaluó la viabilidad del *Lactobacillus Casei* en suspensiones a base de concentrado de mora adicionada con inulina, se observó que el efecto protector del prebiótico no fue evidente, ya que a las 24 y 48 hs disminuyó la cantidad de bacterias. Dentro de las variables evaluadas, las que más afectaron la sobrevivencia de las bacterias fueron la variación en la concentración de la pulpa, la cantidad de inóculo utilizado y el tiempo de inoculación. Sin embargo, resulta una matriz adecuada para el desarrollo innovador de un producto secado por aspersión, que garantiza la viabilidad de los microorganismos siempre que se realice el secado con una inoculación 0 hs. (50)

La porosidad de la fruta es uno de los factores que favorecen la inoculación de bacterias en el uso de la técnica de impregnación al vacío. Ésto se evidenció en un estudio donde la matriz seleccionada fue el chayote, y, entre otras variables, se evaluó su porosidad a través de diferentes cortes geométricos (cuadrado, lámina y paralelepípedo), para determinar cuál era el que favorecía una mayor superficie para el desarrollo bacteriano. La evaluación a través de acidez titulable probó una mayor viabilidad en paralelepípedos, con valores superiores a 10^6 UFC/g y mayor aceptación sensorial luego de 20 días de almacenamiento, con una formulación pulpa:agua 75:25. (51) Otro estudio donde se consideró la porosidad de la matriz alimentaria y resultó efectivo el uso de fibras con diferentes combinaciones (inulina y FOS) como protectores del probiótico inoculado, fue en láminas de mora, que mediante impregnación al vacío y liofilización, partiendo de una viabilidad superior a 10^9 UFC/gr en la muestra, lograron niveles de sobrevivencia de *Lactobacillus Casei* por más de 40 días, con recuentos superiores a 10^6 UFC/g, mientras en la muestra control (sin prebióticos) fue inferior luego de 25 días. Se concluyó que es una combinación (matriz-pre/probiótico) adecuada para el desarrollo de un producto probiótico con potencial simbiótico, que favorecería a la salud, siempre que su consumo sea regular. (52)

Se evaluó el rol del alginato y pectina para mejorar la supervivencia de *Lactobacillus Plantarum* y *Bifidobacterium Longum* durante el almacenamiento en jugo de granada y arándanos, y la influencia de varios materiales de recubrimiento, como el quitosano, la gelatina y el glucomanano en la supervivencia celular y en el tamaño y dureza de las perlas. En comparación a las cepas libres, la encapsulación dentro de perlas de alginato o pectina mejoró

significativamente la supervivencia, pero el recubrimiento de las perlas con quitosano o gelatina la mejoró aún más (obteniéndose una concentración de aproximadamente 10^8 UFC/ml y 10^6 UFC/ml para *Lactobacillus Plantarum* y *Bifidobacterium Longum* después de 6 semanas de almacenamiento en jugo de granada y arándano, respectivamente); mientras que el recubrimiento con glucomanano no tuvo ningún efecto positivo. Igualmente, las perlas de pectina eran más blandas que las perlas de alginato, un problema a considerar para aumentar su estabilidad mecánica. (53)

Si bien la microencapsulación es una de las técnicas más estudiadas y aplicadas para la inoculación de bacterias, no resulta efectiva en todas las cepas ni en todas las matrices. Un estudio evaluó la viabilidad de *Bifidobacterium Animalis* microencapsulado (con maltodextrina) e incorporado en harina de plátano ante condiciones de almacenamiento y estrés (t^0 , pH y sales biliares). Si bien la eficacia de la encapsulación resultó del 82%, y éste probiótico sobrevivió en el producto por 3 semanas a las concentraciones recomendadas para su actividad probiótica, en general ante las pruebas de estrés los niveles disminuyeron significativamente (a pH² inferior a 3,5 y concentraciones de sales biliares superiores a 1 g/L, los recuentos de *Bifidobacterium Animalis* tuvieron una reducción significativa después de 120 minutos de exposición), y no fue resistente a t^0 mayores a 50 °C. Los autores concluyen que la principal causa fue que el material encapsulante no es el adecuado para este tipo de cepa ni de matriz. (54)

² pH (potencial hidrógeno): coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad, según la cantidad de iones de hidrógeno presentes, en una solución o sustancia.

Durante el desarrollo de un nuevo producto se deben considerar un estudio de mercado previo, como también las elecciones del potencial consumidor, dentro de éstos los jugos de frutas resultan uno de los productos de mayor aceptabilidad. En una revisión del año 2017 (24) se relevaron los estudios más recientes sobre la inclusión de probióticos en este tipo de producto alimenticio. En uno de ellos se evaluó la viabilidad de *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 en jugos de manzana, piña, naranja y frutos rojos, a diferentes temperaturas de almacenamiento. Se obtuvo que la viabilidad varía según el tipo de jugo (la cepa sobrevivió en los jugos de piña, naranja y manzana, mientras que experimentó una fuerte reducción en el jugo de frutos rojos). (55) Otro resultado óptimo se obtuvo en jugos de ananá, melocotón y manzana, donde se evaluó viabilidad y resistencia a la digestión gástrica simulada de *Lactobacillus Casei* LC 01 y *Lactobacillus Casei* BGP 93 (comúnmente utilizados en productos lácteos), lo cual no resultó en el jugo de naranja, donde se vio afectada la proliferación de ambas cepas. (56)

Una alternativa a los jugos de fruta altamente ácidos son los polvos de jugos instantáneos, los cuales se identificaron como buenos portadores de células probióticas. En un estudio se probó la supervivencia de células liofilizadas de *Lactobacillus Plantarum* mezcladas con varios polvos de frutas instantáneos liofilizados (fresa, granada, grosella negra y arándano) durante el almacenamiento por 12 meses, así como después de la reconstitución con agua. A los polvos de fruta se le añadieron inulina y goma arábica. La mejor supervivencia se observó para el polvo de grosella negra (casi sin disminución), mientras que la peor supervivencia se obtuvo en polvo de arándano. La inulina y la goma arábica demostraron un efecto protector sobre la supervivencia en el

caso del arándano. Los principales factores que influyeron en la supervivencia celular fueron la actividad del agua y el pH. (57)

Otro tipo de producto a base de frutas, con resultados positivos para incorporar bacterias, podrían ser las mermeladas. Se estudió la viabilidad de seis cepas silvestres de *Lactobacillus Rhamnosus*, en comparación con *Lactobacillus Rhamnosus* GG (LGG), en un medio sintético de durazno (conformado por 11 g de sacarosa; 0,3 g de agar y 100 mL de jugo de durazno concentrado) y en mermelada de durazno comercial, almacenadas durante 45 días y 78 días a temperatura ambiente y condiciones de refrigeración, respectivamente. Las cepas silvestres de *Rhamnosus* demostraron un mayor nivel de supervivencia ante las diferentes temperaturas de almacenamiento en comparación con la cepa tipo (LGG), exhibiendo recuentos superiores a 10^7 UFC/g. Una ingesta diaria de aproximadamente 10 gramos de mermelada podría suministrar desde 10^8 a 10^9 células probióticas viables. (58)

El desarrollo de productos probióticos a base de hortalizas no resulta tan abundante como los que son a base de frutas. Se los ha encontrado principalmente en jugos combinados con frutas.

En jugos mixtos de mango y zanahoria se evaluó la viabilidad de *Lactobacillus Rhamnosus*, *Lactobacillus Plantarum* y *Lactobacillus Acidophilus*. Si bien los jugos con mayor proporción de pulpa de mango fueron más aceptados, los microorganismos tuvieron mayor viabilidad en los jugos que tenían mayores concentraciones de pulpa de zanahoria, con recuentos de *Lactobacillus Plantarum* por encima de 10^7 UFC/mL, durante la vida útil de 35 días, después de la simulación de condiciones gastrointestinales. Luego de 35 días de

almacenamiento se detectó reducción de pH y aumento de acidez, lo cual influyó negativamente en su aceptación. (59)

A una mezcla de jugos de alcachofa de Jerusalén, piña, calabaza, espinaca y pepino, se los fermentó comparativamente con *Lactobacillus Acidophilus* DSM13241, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* ATCC 55544, *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103, *Lactobacillus plantarum* DSMZ 20174 y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 a 37 ° C durante 24 h. Los jugos fermentados se mantuvieron a 8 °C durante 45 días y se evaluó la viabilidad de las cepas durante el período de almacenamiento, en los días 15, 30 y 45. Durante la fermentación, el número de células probióticas viables aumentó hasta 10^{9,42} UFC/ml, por lo que al final del almacenamiento, todas las cepas exhibieron una cantidad aceptable de viabilidad, siendo *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 el valor más alto, alcanzando 10^{9,30} UFC/mL. La evaluación de aceptabilidad tuvo una puntuación promedio de 3,8 sobre 7, lo cual mejoró con la adición de un 30% de jugo de manzana. (60)

En un trabajo de investigación nacional se ha probado a la calabaza como matriz para crear un alimento funcional. Se formuló un snack fortificado con hierro y *Lactobacillus casei* ATCC-393 y se observó que el 55% del hierro resultó bioaccesible a nivel intestinal, y que su presencia favoreció la viabilidad del probiótico, obteniendo un recuento mayor a 10⁷ UFC/g en la calabaza durante 14 días a 8°C, y mejorando su tolerancia a la digestión gastrointestinal in vitro. El producto tuvo buena aceptabilidad global y el agregado de hierro no fue percibido. La autora concluye que una porción (~25 g) del snack a base de calabaza fortificado con hierro y *Lactobacillus casei* aportaría un contenido de

hierro superior al 30% de la RNIs³ y una concentración del probiótico por encima de la concentración mínima establecida (FDA, EFSA y ANMAT)⁴ para que un producto sea considerado probiótico al momento del consumo. Los subproductos del proceso inicial (pulpa y cáscara de calabaza), fueron utilizados como sustrato-soporte de *Lactobacillus casei* presentando un recuento viable mayor a 10^8 UFC/g. Se realizó un polvo de calabaza (PC), que demostró una supervivencia del probiótico mayor a 74% durante 28 días de almacenamiento a temperatura ambiente. El nuevo ingrediente a base conteniendo *Lactobacillus casei* fue testeado como suplemento dietario en dos bebidas comerciales, y como ingrediente alimentario, incorporándolo a la formulación de un postre de origen no lácteo, con un recuento de probióticos de 10^9 UFC/mL, mostrando además un efecto potenciador del color, firmeza y la capacidad de retención de agua, confirmando su potencial aplicación como ingrediente en la industria alimentaria. (44)

³ RNIs: ingesta recomendada de nutrientes

⁴ FDA: Food And Drug Administration, organismo del gobierno federal de los Estados Unidos que regula y administra alimentos y medicamentos.

EFSA: European Food Safety Authority, Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica de la República Argentina.

b) Técnicas para la vehiculización de cepas a inocular

i) Viabilidad de microorganismos

La selección de alimentos que aporten microorganismos vivos con características probióticas y beneficios probados y seguros para la salud es diversa, y cada especie y cepa adicionada, puede reaccionar diferente, dependiendo del producto en el que se vaya a vehiculizar. En productos lácteos, su composición facilita la adición de cepas probióticas, confiriéndole protección a los mismos (grasa y proteínas como la caseína), mientras que la composición de alimentos con matriz no láctea contienen carbohidratos no digeribles (fibras solubles), proteínas y vitaminas, que actúan más débilmente en esta protección. (35)

Las frutas y los vegetales son dos de las matrices donde mayor foco se está haciendo para el desarrollo de alimentos funcionales con características probióticas. (Anexo: tabla 8) Resulta necesario realizar ensayos de viabilidad de la/s cepa/s a inocular en la matriz que se pretenda utilizar para desarrollar el nuevo producto. (61)

El aislamiento de cepas de bacterias ácido lácticas de frutas y verduras fermentadas, pueden ser de utilidad en el desarrollo de productos con acción probiótica. Para que cumplan con tal efecto, se deben considerar diversos factores, como las propiedades de la matriz (composición fisicoquímica, bioactiva y sensorial) (18) al igual que las intrínsecas de la cepa (sobrevivir y colonizar el tracto gastrointestinal, tolerancia a pH 2,5 a 3,5, resistencia a la pepsina estomacal, sales biliares, pancreatina intestinal, y adherencia a la mucosa intestinal) (32), así como también los factores que influyen en el crecimiento

microbiano como la acidez, el pH, actividad del agua del alimento, concentración de oxígeno, temperatura de producción, tipo de empaque, temperatura de almacenamiento y tecnologías de conservación como secado y congelación.

En su conjunto, estas características influyen en la viabilidad y crecimiento de los microorganismos, y estabilidad del producto durante la producción, almacenamiento y consumo final. (35)

Algunos de los parámetros claves a considerar en la producción de bebidas de fruta con probióticos son: el pH del producto final, que permite la supervivencia de los microorganismos; la temperatura de almacenamiento, encontrando mejores resultados en condiciones de refrigeración (4°C), logrando la estabilidad microbiológica, fisicoquímica y sensorial del producto, evitando la producción de metabolitos que impacten en la viabilidad de los probióticos; el perfil sensorial de la bebida; y la temperatura de crecimiento, que por encima de 45°C durante el procesamiento resulta ser perjudicial para la supervivencia probiótica. (32)

Las condiciones adversas ante las que se presentan los microorganismos incluyen las características ambientales tanto de la matriz alimentaria donde se desarrollará el producto de interés, así como el tracto gastrointestinal del huésped. Se encuentran en estudio diversas técnicas para aumentar la resistencia de los microorganismos, como la selección adecuada de cepas bacterianas resistentes a los ácidos y bilis de estómago, el uso de dos fases fermentativas, adaptación al estrés, incorporación de micronutrientes, como péptidos y aminoácidos y microencapsulación, entre otras técnicas. (62)

ii) Técnicas para mejorar la viabilidad de microorganismos en el desarrollo de productos en matrices de origen vegetal

a) Microencapsulación:

La encapsulación es un proceso que se aplica a los microorganismos (material activo) seleccionados para la inoculación con el fin de protegerlos de factores medioambientales que representen un riesgo para su viabilidad, como también su estabilidad, biodisponibilidad y conservación, aislándola mediante un material de recubrimiento o material pared (material encapsulante), formando cápsulas en miniatura que pueden ir de micras hasta 2 milímetros, variando en su forma, según métodos y materiales utilizados. (62)

El material pared forma microcápsulas semipermeables, de morfología esférica, recubiertas por una membrana resistente sólida, o sólido-líquido. Para la selección adecuada del material pared se deberán considerar aspectos como grado alimenticio ⁵, costos y propiedades físico-químicas como la solubilidad, peso molecular, transición vítrea / fusión, cristalinidad, difusividad, formación de películas y propiedades emulsionantes, biodegradabilidad y capacidad para formar una barrera entre el interior de la cápsula y sus alrededores, resistir la acidez estomacal impidiendo la inactividad de la cepa antes de su llegada al sitio de acción.

Los materiales de recubrimiento de origen vegetal más empleados en la encapsulación de bioactivos son: lípidos, polisacáridos (almidón y sus derivados, amilosa, amilopectina, dextrinas maltodextrinas, celulosa y derivados), exudados

⁵ Grado alimenticio: referencia al embalaje en contenedores adecuados y seguros que no transmitan sustancias tóxicas, no modifiquen olores, colores y sabores, resistan el desgaste, impacto y oxidación.

y extractos de plantas (goma arábica, goma tragacanto, goma mesquita, pectinas, entre otras), carragenatos, alginatos, proteína aislada

de soja. En términos generales, los polisacáridos presentan una alta facilidad para formar micropartículas esféricas durante el secado, por lo que son ampliamente utilizados. Idealmente, el encapsulante debe proporcionar a la película propiedades emulsificantes, ser biodegradable, resistente al tracto intestinal, tener baja viscosidad y un alto contenido de sólidos, baja higroscopicidad, no ser reactivo con el núcleo, tener capacidad para sellar y mantener el núcleo en el interior de la cápsula, tener capacidad para proporcionar la máxima protección al núcleo contra las condiciones adversas, ausencia de sabor desagradable para su aplicación en alimentos y tener viabilidad económica. Por lo general, se utilizan mezclas de materiales para poder cumplir con dichas características. (63)

El material activo, microencapsulado, mantiene su estructura durante prolongados periodos de tiempo y es liberado al medio a velocidades controladas, en condiciones específicas. Existen diferentes mecanismos de liberación, dentro de los cuales encontramos: la fusión o disolución en donde las cápsulas son descompuestas por la adición de un solvente o por la acción de calor, aumentando la humedad cuando el recubrimiento es hidrosoluble; la presión física, en donde las cápsulas son liberadas por fuerzas externas o por fricción y la difusión, en donde las cápsulas salen de su matriz guiadas por gradientes de concentración, fuerzas atractivas de enlace como puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, grado de entrecruzamiento y cristalinidad.

Este último mecanismo está controlado por la solubilidad y la permeabilidad del agente encapsulado en el material protector.

Existen diversos métodos de microencapsulación que se aplican aislados o combinados. (Tabla 9) Para la elección de la más adecuada se deben considerar factores físicos propios de la técnica como la temperatura, humedad, tiempos de exposición al calor, mecanismos oxidativos y agitación que afectan su supervivencia, así como la sustancia a encapsular, la cantidad y el tamaño de las cápsulas a desarrollar para que no interfieran en la percepción del consumidor y el mecanismo de liberación deseado. También se consideran las propiedades químicas necesarias para su aplicación, escala, costos de producción, como también condiciones de procesamiento, material de empaque y condiciones de almacenamiento. (64)

Tabla 9 : Métodos de microencapsulación según la naturaleza del proceso

Procesos	Clasificación
Físicos	Atomización (secado por aspersión) Liofilización (secado por congelación o enfriamiento) Extrusión Refrigeración por pulverización (enfriamiento por aspersión) Recubrimiento por aspersión
Químicos	Polimerización interfacial Inclusión molecular
Fisicoquímicos	Coacervación simple y compleja Atrapamiento en liposomas o micelas inversas Gelificación iónica Emulsificación

Fuente: Adaptación de Nava Reyna, Erika y col. Microencapsulación de componentes bioactivos
Investigación y Ciencia, vol. 23, núm. 66, septiembre-diciembre, 2015, pp. 64-70
<https://www.redalyc.org/pdf/674/67446014009.pdf>

b) Atomización / Pulverización (o secado por aspersión):

Esta técnica consiste en la formación de micropartículas contenedoras de microorganismos, mediante la incorporación en una cámara con gas caliente (generalmente aire a 120-200 °C) de una suspensión o emulsión que contenga el compuesto bioactivo y el material polimérico seleccionado (soluble en agua), para la posterior evaporación, logrando que queden atrapados dentro del material encapsulante. (64)

Se sugiere el uso de agentes termoprotectores, como la inulina, que aumenta la supervivencia de los microorganismos después del secado y durante el almacenamiento, debido a que minimizan el estrés mecánico, oxidativo y osmótico al que pueden ser sometidos. (65)(66)

Para sus aplicaciones se deben considerar, como criterios de estabilidad, la interacción con la matriz, las propiedades fisicoquímicas, las propiedades de emulsificación, entre otras.

Como ventaja de esta técnica se incluye su bajo costo, su flexibilidad, seguridad, buena estabilidad del producto final y que el daño térmico a los microorganismos es bajo, por lo que se puede trabajar con productos sensibles a la temperatura, gracias a que la velocidad de secado es relativamente rápida. (69) Además, permite procesar grandes volúmenes de solución. Por estos motivos es una de las más utilizadas en la industria alimentaria. Sin embargo, se deben controlar variables como el flujo de alimentación, flujo del aire y las temperaturas de entrada y salida del mismo.

En cuanto a sus desventajas, se considera que puede ser riesgosa la viabilidad de los microorganismos probióticos sometidos a este procedimiento, ya que depende en gran medida de las temperaturas de entrada y de salida utilizadas

en el proceso debido al daño que puede ocurrir en la membrana celular. Temperaturas superiores a 90°C serían perjudiciales para los mismos, afectando drásticamente la supervivencia de los microorganismos y reduciendo la eficiencia, siendo más letal el tiempo de exposición al calor.(70,71) La membrana citoplasmática, el ARN, ADN y la pared celular se ven afectadas por el estrés durante este proceso, generando reducción o pérdida de las actividades del metabolismo (por afección de la membrana, aumenta su permeabilidad ocasionando pérdida de componentes intracelulares).(70)(63)(29)(61)

En una revisión sistemática del año 2019, se integró y analizó los resultados en cuatro temáticas específicas: microorganismos (Bacterias ácido lácticas-BAL), agentes protectores, condiciones del proceso de secado por aspersión y productos secos obtenidos. Concluye que esta técnica, aunque expone a las células a diferentes tipos de estrés, es una alternativa para el secado de BAL, con porcentajes de supervivencia de hasta el 99 %. A su vez, remarca que principalmente los estudios revisados se han realizado a nivel de laboratorio, siendo necesario realizar pruebas en planta piloto o industrial. (71)

c) Liofilización (o secado por congelación):

Esta técnica permite reducir el contenido de agua por sublimación al vacío, logrando la inmovilización celular mediante la congelación (pudiendo ser incluso a -190°C), secado y desorción de los microorganismos principalmente termosensibles. Como resultado se obtiene una pasta seca, lo cual favorece la conservación del producto.

Existe una variedad de criopreservantes como la glucosa, lactosa, maltodextrina y trehalosa, que evitan la deshidratación de las células probióticas durante el

proceso de congelación, manteniendo sus actividades enzimáticas y protegiéndolas de los ambientes ácidos durante el almacenamiento en matrices alimentarias.

Como ventaja las condiciones de procesamiento de esta técnica son menos nocivas que las de secado por atomización (minimiza los cambios asociados a las altas temperaturas, conservando su morfología), por lo que se obtiene un porcentaje de viabilidad mayor.

La viabilidad de los microorganismos probióticos luego de la liofilización depende de la cepa, la temperatura a la que se almacene y el crioprotector que se utilice. Como desventaja de esta técnica se presenta el gran consumo de energía, los costos operativos que se requieren y los largos períodos de procesamiento en comparación con la técnica de secado por aspersión, lo que representa un inconveniente para ser desarrollado a escala industrial. (72)(63)(73)(70)

d) Extrusión:

Este método consta de la preparación de una solución hidrocoloide, a la cual son incorporados microorganismos, luego se la pasa por un dispositivo que forma gotas y se las deja caer en una solución gelificante, como el cloruro de calcio. Este dispositivo depende de la escala a la que sea utilizado, a nivel laboratorio se utiliza una jeringa, mientras que a escala piloto se requiere de un dispositivo extrusor a alta presión, de tamaño y velocidad de conteo controlada.

El alginato de calcio es comúnmente utilizado como material de recubrimiento. (64)

La principal ventaja es su bajo costo y simplicidad (74), permite generar microcápsulas menos porosas que el secado por aspersión.

Esta técnica asegura la viabilidad de los microorganismos probióticos, ya que no causa daño celular, y se ha probado la supervivencia de *Lactobacillus rhamnosus* alcanzando 10^5 UFC/g después de 4 meses de almacenamiento. (75) Además, puede realizarse tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, sin la necesidad de utilizar solventes tóxicos. (76)

Dentro de las desventajas, se consideran su baja capacidad de producción, baja disponibilidad de material pared y formación de grandes partículas (típicamente 500-1.000 mm), generando poca aceptabilidad al no pasar desapercibidas en la boca del consumidor. Por otro lado, en comparación con el secado por aspersión, ésta duplica su costo. (72)

La coextrusión o extrusión centrífuga es un tipo de tecnología de extrusión, en la cual una solución acuosa de polímero caliente fluye a través del tubo exterior, la sustancia a encapsular pasa por el tubo interior y ambos fluidos son descargados finalmente en una corriente del fluido transportador. Esta técnica es comúnmente utilizada para encapsular aceites y microorganismos. (63)

e) Refrigeración por pulverización (enfriamiento por aspersión) :

Esta técnica requiere de la elaboración de una mezcla que presente el material a encapsular y el material de recubrimiento en pequeñas gotas. Luego se nebuliza mediante un atomizador dentro de una cámara donde fluye aire frío. La baja temperatura permite la solidificación del material pared, logrando la formación de las micropartículas. Se ha utilizado principalmente para encapsular vitaminas y minerales. (77)

Si bien es una de las técnicas de menor costo, su principal desventaja es la baja capacidad de encapsulación y la expulsión del núcleo en el almacenamiento. (72)

Un estudio evaluó, mediante el uso de esta técnica, la viabilidad de células de *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BI-01) y *Lactobacillus acidophilus* (LAC-04) encapsuladas en un material lipídico (manteca de cacao). Este resultó eficaz en la protección de los probióticos ante el paso por los fluidos gástricos e intestinales, como también durante el almacenamiento a temperaturas bajo cero. El tamaño y morfología de las cápsulas obtenidas no causarían efectos nocivos en la textura de los alimentos, pero es necesario continuar estudiando factores para mejorar la viabilidad de las células a temperatura ambiente y de refrigeración para facilitar su uso en productos alimenticios. (78)

f) Emulsificación:

Esta técnica se basa en la relación entre una fase discontinua o dispersa (matriz que contiene el elemento a encapsular) y una fase continua (aceite vegetal). Para que se forme una emulsión de agua en grasa, se requiere de tensioactivos o surfactantes (como el polisorbato 80), el cual homogeniza y estabiliza la mezcla. Cuando la emulsión se formó, se agrega un agente solidificante (como el cloruro de calcio) para formar las cápsulas mediante la agitación, las cuales pueden variar de tamaño entre 25 μm y 2 mm. El tamaño de las mismas va a depender de la velocidad de agitación y la proporción aceite/agua. El disolvente orgánico se elimina por evaporación mediante la agitación.

Dentro de los posibles materiales encapsulantes puede utilizarse hidrocoloides como el alginato, la carragenina y la pectina.

En cuanto a sus ventajas se destaca la simplicidad de los procedimientos involucrados.

Como desventaja se puede mencionar la presencia de aceites residuales sobre la superficie de las cápsulas, los cuales van a perjudicar la textura y propiedades sensoriales del producto. Otra desventaja puede ser la utilización de surfactantes o emulsionantes, que pueden ser tóxicos para las células probióticas. Por estos motivos, esta técnica es utilizada mayormente en laboratorio, y no en la industria alimentaria. (72)

g) Polimerización interfacial

Esta técnica consiste en disolver un monómero hidrofóbico (con capacidad de formar polímeros) en un material activo hidrofóbico, logrando la dispersión de la mezcla en una fase polar, mientras un catalizador genera la polimerización del monómero, dando lugar a un polímero insoluble en la sustancia activa hidrofóbica, depositándose como cubierta de la sustancia activa (membrana que da lugar a la pared de la microcápsula).(79)

Los polímeros utilizados como material de recubrimiento son las poliamidas, poliuretanos y nylon, entre otros. (62)

h) Inclusión molecular:

Esta técnica se caracteriza por ser el resultado de la interacción entre el agente encapsulante y el material encapsulado mediante enlaces de hidrógeno y/o fuerzas de van der waals. El agente encapsulante más empleado es la beta-ciclodextrina.

Esta técnica es usada principalmente para la microencapsulación de sabores y olores cuya característica lipofílica, los condiciona a que se deban incorporar en matrices alimentarias que contengan grasas o aceites para poder ser solubilizados y dispersados apropiadamente.

Dentro de sus ventajas encontramos la capacidad de proteger ingredientes termosensibles adicionados en los alimentos que le brindan sabor y olor (aceite de ajo, cebolla, vitaminas A, E, K). Realiza la transformación de los aceites responsables de los sabores y olores en los alimentos, en sólidos que permiten la solubilización directa y la dispersión uniforme. La estabilidad térmica de la estructura que forma la ciclodextrina con el material central, permite que las microcápsulas puedan usarse en procesamiento de alimentos a altas temperaturas.

Entre sus desventajas encontramos que las altas temperaturas y humedad pueden afectar la liberación del ingrediente de inclusión. (80)(79)(62)

i) Liposomas:

Los liposomas son vesículas microscópicas compuestas por una bicapa de lípidos que engloban un volumen acuoso, lo que los hace selectivamente permeables a los iones y les otorga, entre otras cosas, particularidades que les permiten interaccionar con membranas biológicas y células. Los mismos se elaboran con moléculas anfipáticas, es decir que poseen sitios hidrofóbicos (por ejemplo fosfolípidos, como la lecitina), y sitios hidrofílicos (afines al agua).

El material a encapsular se va a colocar en la fase acuosa, si es hidrofílico, o en el solvente orgánico (donde se disuelven los fosfolípidos), si es hidrofóbico. La

destrucción de la vesícula produce la liberación del principio activo, la cual se realiza por difusión a través de la bicapa.

Esta técnica es la más conveniente para aplicar en sistemas alimenticios líquidos, ya que protege los ingredientes hidrosolubles. (80)(62)

j) Gelificación iónica:

Existen dos técnicas de gelificación: la gelificación externa, en la que la sal de calcio soluble es agregada a una emulsión de agua en grasa. Como desventaja de este tipo de gelificación, se puede mencionar que el tamaño de la partícula no puede ser controlado, por lo que tienden a coagular en grandes masas, obteniéndose una partícula de gran tamaño (entre 400 μm y 1 mm). Por otro lado, en la gelificación interna, se produce la liberación del ión calcio desde un complejo insoluble a una solución de alginato de sodio. Al entrar la gota de alginato sódico en contacto con el calcio, se produce la gelificación instantánea de la misma, obteniéndose una membrana de alginato cálcico que es insoluble en agua pero permeable. Como ventaja de esta técnica se puede mencionar que permite obtener partículas más pequeñas, de un tamaño de aproximadamente 50 μm . (81)(29)

Se evaluó la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en micropartículas de alginato y con diferentes fuentes prebióticas (salvado de arroz, inulina y maíz) producidas por la técnica de gelificación iónica externa seguida de liofilización, expuestas a condiciones gastrointestinales simuladas (ante las cuales fueron resistentes), y almacenamiento a diferentes temperaturas. A -18°C y 7°C los mejores resultados se obtuvieron en las micropartículas que contienen los prebióticos hi-maíz y salvado de arroz (haciendo mención especial para este

subproducto poco estudiado, con buenos resultados como protector para mejorar la viabilidad probiótica). Se concluye que el salvado de arroz y maíz, además de atribuir efectos prebióticos, también es capaz de incrementar la resistencia del *Lactobacillus acidophilus* con micropartículas de alginato obtenidas por gelificación externa, que les confieren un efecto protector y pueden ser medios alternativos para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales. (82)

k) Coacervación:

Es un método fisicoquímico donde hay separación de fases, el soluto polimérico separado en pequeñas gotas constituye el coacervado y la otra fase sin polímero es llamada solución de equilibrio.

Cuando el coacervado se deposita alrededor de las partículas insolubles dispersas en el líquido, se forman las microcápsulas finales por gelificación.

Durante la coacervación, la separación de fases es inducida por la adición lenta de un “no-solvente” sobre una solución del polímero formador de cubierta, conteniendo suspendido el material que va a encapsularse. Se entiende por “no-solvente” aquel disolvente que es miscible con el disolvente del polímero y en el cual el polímero es insoluble. A medida que se adiciona el no solvente se provoca la insolubilización del polímero, el cual, a su vez, se va depositando alrededor de las partículas presentes en suspensión. Al final del proceso, se añade un volumen elevado del no-solvente con la finalidad de endurecer las microcápsulas.

Se denomina coacervación simple cuando sólo está presente una macromolécula, mientras que cuando hay dos o más moléculas de cargas opuestas se denomina coacervación compleja.

Es un proceso relativamente simple y de bajo costo que no requiere altas temperaturas ni solventes orgánicos. La desventaja es que ocurre dentro de rangos de pH muy limitados, concentraciones de coloides y/o de electrolitos.

Generalmente, el material central utilizado en la coacervación debe ser compatible con el polímero del recipiente y ser insoluble en el medio de coacervación.

Este método se ha utilizado para producir microcápsulas de enzimas, ácidos grasos, aminoácidos, organismos, entre otros, mediante el uso de alcohol polivinílico, gelatina-acacia y varios otros polímeros. (83)(62)

Un estudio utilizó la coacervación compleja para producir microcápsulas de *Lactobacillus acidophilus* encapsulado en gelatina y goma arábica posteriormente liofilizadas. Se lograron microcápsulas con 77 y 87% de eficiencia de encapsulación, que logró una protección significativa de los probióticos contra condiciones gastrointestinales simuladas en comparación con las células libres. También mejoró la viabilidad de los probióticos durante el almacenamiento a -18°C durante 120 días, a 7°C durante 105 días o a 25°C durante 45 días. Se demostró que es una técnica adecuada y prometedora para la encapsulación de probióticos. (84)

iii) Otras técnicas en desarrollo

Productos en polvo

Esta técnica surge como desafío a nivel industrial para la vehiculización de probióticos en preparados de bebidas en polvo dado sus numerosas ventajas,

como la necesidad de menor espacio durante el envasado, prolongación de su vida de anaquel y una actividad de agua (AW) que beneficie la supervivencia de los probióticos. (35)

En un estudio de jugos deshidratados a partir de fresa, plátano y manzana, se han probado dos procedimientos para evaluar la viabilidad ante el calor: uno de ellos incluía la impregnación de los probióticos (*L. plantarum* 299v) en las frutas y posterior secado por convección con aire caliente, luego fueron molidas y conservadas por tres meses. El segundo procedimiento, implicó el secado de las frutas con la misma técnica que en el anterior, y el secado por aspersión de una suspensión del microorganismo, para finalmente adicionarlo al polvo de frutas.

El primer procedimiento tiene como desventaja la pérdida de bacterias, ya que al embeber la fruta con la suspensión, queda parte de la misma en el recipiente. El nivel de supervivencia de microorganismos también varió según la fruta y la temperatura de almacenamiento. Por otro lado, en el segundo método, al mezclar polvo de frutas con las bacterias previamente deshidratadas, puede generar menores pérdidas. Este último, en comparación con el primer método, resultó de mayor efectividad al lograr cuentas de 10^8 - 10^9 UFC/g, con mayor estabilidad durante el almacenamiento a temperatura ambiente. (85)

Al deshidratarlo, hay que considerar la mejor estrategia para protegerlo del calor. Entre estas se encuentran: a) añadir sólidos de leche desgrasada o de proteínas de suero lácteo, b) añadir carbohidratos complejos como inulina, quitosano, carbohidratos de maíz, almidones resistentes o β -glucanos y c) encapsular al microorganismo con diferentes matrices comestibles como pectina, alginatos, proteínas de diferentes orígenes, etc. (86)

Frutas y vegetales impregnadas con probióticos

Esta técnica se lleva a cabo al sumergir la matriz alimentaria durante 2-10 minutos en un líquido, pudiendo ser un jugo de la misma fruta o una solución amortiguadora o isotónica, conteniendo altas concentraciones (10^9 - 10^{10} UFC/mL) del probiótico de elección. Al cortar en cubos el alimento y aumentar el área de exposición, la impregnación resulta más efectiva (si se aplica pulsos de vacío durante la inmersión del alimento, se mejora este proceso, aumentando el número de microorganismos presentes) (Anexo: gráfico 3). Una vez impregnado, el fruto puede envasarse fresco (mínimamente procesado) o deshidratado, a fin de disminuir la A_w del alimento. Para mejorar la supervivencia de la bacteria, se puede deshidratar por liofilización, en vez de con aire caliente.

Otra metodología que gana interés en la impregnación de probióticos es la deshidratación osmótica, que consiste en sumergir al alimento en una solución hipertónica que contiene al microorganismo. El agua migra del alimento a la solución deshidratándolo parcialmente, y los solutos, incluidos los probióticos, migran hacia el alimento. (87) El proceso ha resultado exitoso en plátano impregnado con *Lactobacillus rhamnosus* conservando niveles de 10^7 UFC/g. (88) El almacenamiento es una etapa crítica donde se observa una pérdida considerable de la viabilidad de los probióticos. Es importante considerar la actividad de agua, ya que se puede ver afectada la viabilidad de los microorganismos, disminuyendo significativamente cuando la actividad de agua (A_w) es mayor a 0.327.

c) Impacto en la salud

Existe evidencia suficiente para poder aseverar que la microbiota intestinal desempeña un papel destacado en la salud del huésped. Ésta se encuentra involucrada en el desarrollo del sistema inmune, en el mantenimiento de las uniones estrechas de las células intestinales (enterocitos), en la secreción de moco y de inmunoglobulina A (IgA) . Muchos de sus efectos a nivel fisiológicos se atribuyen a los productos que las distintas especies generan, tras la fermentación de sustancias que se ingieren. Estos efectos impactan en sistemas como el intestinal, inmune, cardiovascular, neuronal (Anexo: tabla 10, gráfico 4), y puede tener efectos antiestresamiento, antidiarrea, anticancerígenos, antitumorales, antialérgicos, antiinflamatorios, alivio a intolerancias alimentarias, hipolipemiantes, antioxidantes, antidiabéticos, acción analgésica, y antibacteriana. Dichas propiedades son cepa-específicas (89), por lo que, dependiendo de la seleccionada, es la propiedad que se le atribuya, de todas las anteriormente nombradas. Cuando estas cepas son vehiculizadas en un producto alimenticio, se desarrollan productos bioterapéuticos de ingeniería viva. Los fermentos de productos alimenticios no lácteos cuentan con tres componentes funcionales, siendo éstos los probióticos, prebióticos y biogénicos. (90)

Para que los probióticos impacten de forma beneficiosa en la salud, es necesario que una cantidad suficiente de probióticos viables lleguen al intestino humano. Esta cantidad que se conoce como “dosis mínima terapéutica” es de 10^8 UFC/día, aunque otros sugieren que la misma alcance por lo menos los 10^6

UFC/día. (91) Estos beneficios se atribuyen a la prevención de diarreas infecciosas, o a aquellas provocadas por el uso de antibióticos; a la obstaculización de la absorción del colesterol; a la protección contra la formación de tumores; a la reducción de los niveles de amoníaco en sangre, etc. Los microorganismos no viables, es decir, aquellos que perdieron su capacidad de colonizar el colon, se considera que pueden ser bioactivos. (90)

El consumo de prebióticos ayuda a preservar el ecosistema intestinal para favorecer o conservar un buen estado de salud y provocar un efecto beneficioso para quienes los consumen mediante su metabolismo selectivo en el tracto gastrointestinal. Los carbohidratos complejos de la dieta sufren una fermentación anaerobia, obteniendo como resultado ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Éstos tienen un papel muy importante en la fisiología de la barrera intestinal al inhibir la inflamación y el crecimiento de tumores.

Los compuestos biogénicos son derivados del metabolismo microbiano, que alteran el valor nutricional de los alimentos fermentados, en comparación de los sustratos sin fermentar. Dentro de éstos encontramos a las bacteriocinas, que favorecen la seguridad alimentaria, ya que son proteínas biológicamente activas responsables de matar o inhibir patógenos alimentarios al interrumpir la adhesión de estas especies a la superficie de células intestinales (efecto que comparte con la presencia de ácidos grasos producidos durante el proceso fermentativo); inmunopotenciadores; sustancias neuroactivas, como el gamma-aminobutírico (GABA), que se encuentra en mayor proporción en los fermentos y se caracteriza por regular la presión arterial y prevenir el cáncer; e inmunoestimuladores. Éstos favorecen la función activa en los fermentos incluso en ausencia de microorganismos vivos al momento de su consumo. Sin embargo existen

excepciones, con sustancias no nutritivas como las aminas (generadas como producto del metabolismo de aminoácidos durante el proceso fermentativo), las cuales consumidas en exceso se asocian con la alteración en la función digestiva, náuseas, dolor de cabeza, cambios en la presión arterial, problemas respiratorios, y posible interacción con antidepresivos inhibidores de la monoaminoxidasa. Sin embargo, este riesgo disminuiría con el consumo de fermentos controlados con inoculación de bacterias, al conocer la composición de dicho producto y la ausencia o mínima concentración de estas aminas. (90)

Los probióticos tienen un impacto específico y directo en la salud del huésped, a nivel de los sistemas intestinal, inmune y metabólico, los cuales se encuentran en constante investigación. (anexo: tabla 8, tabla 10)

En su conjunto, los componentes de los alimentos probióticos participan en la formación de un microbioma equilibrado entre agentes benéficos y agentes patógenos (encontrándose, en cada grupo, diferentes microorganismos que varían su concentración en forma permanente), actuando en beneficio de la salud intestinal.

En episodios de diarrea, los probióticos favorecen la reposición de la microbiota al recolonizar la superficie mucosa que quedó desierta, y aliviando sintomatología. Los casos mejor demostrados son la reversión de la diarrea infantil producida por rotavirus y diarreas causadas por tratamiento con antibióticos (disminuyen la concentración de *Lactobacillus* y *Bifidobacterias*, y aumentan la proporción de patógenos). En este último caso, se evidenció que los *Lactobacillus*, administrados como agente profiláctico durante el tratamiento antibiótico, reducen el riesgo de desarrollar este tipo de diarrea en personas adultas, pero no en pacientes pediátricos.

En el caso de infección por *Helicobacter pylori*, algunos estudios in vitro con cepas específicas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* demostraron que estas producen efectos bactericidas contra la misma, a través de la liberación de bacteriocinas, la producción de ácidos orgánicos, y / o inhibiendo su adhesión a las células epiteliales mediante competencia. (92) Sin embargo, otros resultados de ensayos clínicos indican que los probióticos disminuyen la densidad de la colonización, sin lograr la erradicación.

En un metanálisis se demostró que el empleo de probióticos conjuntamente con la antibioticoterapia resulta eficaz para aumentar los niveles de erradicación de la infección por *H. pylori*. (93) Los resultados del mismo fueron que, en comparación con placebo o ninguna intervención, la administración de *Saccharomyces Boulardii* junto con la terapia triple aumentó significativamente la tasa de erradicación y redujo el riesgo de los efectos adversos relacionados con el tratamiento con *H. pylori*, en particular de diarrea. (94)(95)

El empleo de cepas probióticas es una alternativa prometedora al tratamiento convencional con antibióticos para restablecer la microflora autóctona previa al tratamiento, aunque el nivel de evidencia sobre su beneficio es menor en adultos que en niños. (91)

En individuos con estreñimiento, el consumo de cepas probióticas puede ser beneficioso, actuando de diferente manera dependiendo si se trata de niños y/o adultos, así como, en el número de deposiciones, consistencia de heces, dolor, entre otras. (96)

i) Dosis mínima terapéutica de Probióticos

Para considerar la dosis requerida para generar un impacto positivo en la salud del huésped, es importante establecer la dosis terapéutica cepa-específica. Esta dosis es muy variable, dependiendo de la cepa y de las indicaciones, pero oscilan entre 10^6 - 10^{11} UFC/dosis (suele ser entre 1 millón y 10000 millones de UFC/dosis), y deben llegar viables $\geq 10^6$ UFC/dosis al intestino delgado y de $\geq 10^8$ UFC/dosis al colon. Estos alimentos con actividad probiótica pueden ser seleccionados para utilizarse tanto en la prevención, como en el tratamiento de diferentes procesos patológicos, y es por ello que se considera necesario establecer una dosis diaria recomendada de microorganismos (RDA). (97) Por ejemplo, el *Bifidobacterium infantis* ha mostrado ser eficaz para aliviar los síntomas del síndrome de intestino irritable a dosis de 10^{11} UFC/dosis, mientras hay estudios con el VSL#3R (98) (probiótico compuesto por *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Streptococcus*, utilizado medicinalmente para mantener un tracto digestivo saludable) que han utilizado 10^{11} UFC/ tres veces al día. (99)

Para indicar el uso de probióticos, tanto para su consumo como suplemento, como para desarrollar productos alimenticios funcionales, se deben tener en cuenta las evidencias de sus aportes/beneficios para la salud humana. (anexo: tabla 8)

IV. CONCLUSIONES

La definición de “probiótico” recorre 20 años de evolución, desde la que fué descrita por FAO-OMS en 2001, pero en los últimos años y por el creciente interés en el consumo de alimentos funcionales que benefician a la salud intestinal, se ha promovido erróneamente dentro de éstos a los alimentos fermentados de manera artesanal.

Ante la necesidad de diferenciar estos conceptos, la comisión de expertos, Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP) ha publicado documentos de libre acceso, sobre el alcance y uso de los términos probiótico en 2014, prebiótico en 2018 , simbióticos en 2020, y alimentos fermentados a inicios de 2021.

Tanto para determinar una cepa como probiótica, como para desarrollar un nuevo producto con esta funcionalidad, se deben cumplir requisitos que los alimentos fermentados no controlados no logran cumplir. Entre esos requisitos se encuentra, principalmente, la determinación específica tanto de la/s cepa/s, como de la cantidad en la que se encuentran en ese alimento al consumirlo, para asegurar la funcionalidad en la salud y la seguridad de los microorganismos consumidos. Éste nivel de especificidad escapa a los alimentos que puedan ser fermentados de manera artesanal, por lo que no resulta correcto promocionarlos como probióticos, sino como alimentos que contienen microorganismos vivos potencialmente saludables.

En el mercado de alimentos Argentino, la regulación y existencia de productos probióticos se centra principalmente en fuentes de origen animal. Por otro lado, no se cuenta con un consenso sobre alimentos funcionales. En el Código Alimentario Argentino (CAA) se encuentra únicamente la descripción de probióticos como un ingrediente alimentario, y los pasos para utilizarlos en el desarrollo de alimentos de base láctea, los cuales son regulados por ANMAT a través de la Resolución Conjunta 261/2011 y 22/2011.

Asimismo, nuevos alimentos funcionales probióticos en matrices de origen vegetal han representado un desafío a nivel tecnológico tanto para favorecer la inclusión de los microorganismos como para lograr su supervivencia en matrices que son, naturalmente, más débiles. Estos alimentos funcionales, conformados por una o por combinación de varias matrices vegetales, se encuentran en etapas de evaluación con el fin de determinar cómo responde tanto la matriz, como el probiótico, a diversas condiciones de estrés y determinar de esta forma los cambios ocurridos a nivel sensorial, tecnológico y funcional. En mercados internacionales ya se encuentran opciones de estos productos, principalmente en jugos de frutas como “naranja y mango” (cepa: *Lactobacillus Rhamnosus*, compañía: Valio Bioprofit, Finlandia), “fresa” (cepa: *Lactobacillus Plantarum* 299v, compañía: Proviva EMEA Probi AB, Suecia), y combinaciones de frutas y vegetales, como “naranja y zanahoria” (cepa: *Lactobacillus Paracasei*, *Lactobacillus Thermophilus*, compañía: Good Morning, Crystal Lily Industry LTD. China). (anexo: tabla 4) Entre otras matrices utilizadas, como cereales, legumbres y frutos secos. (anexo: tabla 3)

Dentro de las investigaciones con resultados positivos, en el desarrollo de nuevos productos con éstas características se encuentran el “jugo clarificado de

manzana”, (oligofructosa y *Lactobacillus Paracasei*, viabilidad del cultivo superior a 10^6 UFC/ml durante 28 días almacenados en frío); las “láminas de mora” (inulina y FOS en diferentes combinaciones, sobrevida de *Lactobacillus Casei* más de 40 días, con recuentos superiores a 10^6 UFC/g); el “polvo de grosella negra” (inulina, goma arábica y *Lactobacillus Plantarum*) dentro de otros polvos de jugos instantáneos, que obtuvo la mejor supervivencia luego de 12 meses de conservación y posterior reconstitución con agua; y la “mermelada de durazno” (cepas silvestres de *Rhamnosus* con recuentos superiores a 10^7 UFC/g), donde según la autora una ingesta diaria de aproximadamente 10 gramos de mermelada podría suministrar desde 10^8 a 10^9 células probióticas viables. Dentro de los vegetales, un “snack de calabaza” (fortificado con hierro y *Lactobacillus casei* ATCC-393), tuvo recuentos mayores a 10^7 UFC/g durante 14 días a 8°C , y con los subproductos, (pulpa y cáscara) se desarrolló un “polvo de calabaza”, que demostró una supervivencia (mayor a 10^8 UFC/g) del probiótico superior a 74% durante 28 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

Dentro de las técnicas desarrolladas, la más estudiada y aplicada para favorecer la viabilidad de las cepas probióticas es la microencapsulación, debido a que garantiza la protección del compuesto sin que tenga variaciones tecnológicas significativas que puedan alterar su estabilidad, aumentando su biodisponibilidad y sus potenciales efectos benéficos para la salud. En su subclasificación, la atomización (secado por aspersión con t° de hasta 200°C) y la liofilización (secado por congelación, con t° de hasta -190°C) han tenido buenos resultados, el cual varía según la cepa y el tipo de fruta y/o vegetal utilizado.

No deben descartarse la impregnación al vacío y los productos en polvo que resultan de la combinación de varias técnicas (impregnación al vacío más secado por convección; secado por convección de la matriz más secado por aspersión del probiótico) que en los últimos años han tenido resultados prometedores en el desarrollo de productos a base de frutas por fuera de los jugos.

En cuanto al estudio de la viabilidad de las cepas en los productos desarrollados, el almacenamiento resulta una de las etapas más críticas. Es importante seguir generando conocimiento sobre los materiales y tecnologías más adecuados en cada desarrollo alimenticio para proteger a los probióticos y asegurar su estabilidad durante la vida en anaquel y su efecto benéfico en la salud.

Los potenciales efectos a nivel fisiológico se atribuyen a los productos que generan específicamente cada cepa probiótica tras la fermentación de sustancias que se ingieren, ocasionando impacto a nivel intestinal, inmune, cardiovascular y neuronal. Asimismo, para lograr este impacto positivo en la salud, tanto a nivel preventivo como para tratamiento en procesos patológicos, se requiere de la incorporación de forma externa de los microorganismos en una concentración mínima establecida (dosis terapéutica cepa-específica) que oscila entre 10^6 - 10^{11} UFC/dosis (suele ser entre 1 millón y 10000 millones de UFC/dosis), y deben llegar viables $\geq 10^6$ UFC/dosis al intestino delgado y de $\geq 10^8$

UFC/dosis al colon. Dentro de las cepas seleccionadas para el desarrollo de posibles productos que fueron descritas en esta revisión, y cuentan con estudios sobre su potencial impacto en la salud se encuentran la L. Casei ATCC 393 (preventiva contra el carcinoma de colon), Rhamnosus (estudiada para disminuir

la duración y riesgo de prolongación de diarrea aguda y la asociada a antibióticos), *L. Plantarum* (asociada a prevenir síntomas gastrointestinales leves durante el tratamiento con antibióticos), entre otras.

Se debe considerar que dentro de las debilidades del presente trabajo, no se ha unificado un criterio respecto a metodologías utilizadas en las investigaciones consultadas y no se han tenido en cuenta la revisión de ensayos clínicos controlados aleatorizados (ECCA), que demuestren los efectos terapéuticos del consumo de los productos en desarrollo con actividad probiótica, ni de los productos actualmente disponibles en el mercado.

Como perspectiva a futuro sugerimos la necesidad de continuar investigando tanto el desarrollo de nuevos productos funcionales probióticos en matrices de origen vegetal, como futuras revisiones de los potenciales efectos clínicos en los consumidores, asimismo los potenciales efectos a nivel fisiológico se atribuyen a los productos que generan específicamente cada cepa probiótica tras la fermentación de sustancias que se ingieren, ocasionando impacto a nivel intestinal, inmune, cardiovascular y neuronal. Asimismo, para lograr este impacto positivo en la salud, tanto a nivel preventivo como para tratamiento en procesos patológicos, se requiere de la incorporación de forma externa de los microorganismos en una concentración mínima establecida (dosis terapéutica cepa-específica) que oscila entre 10^6 - 10^{11} UFC/dosis (suele ser entre 1 millón y 10000 millones de UFC/dosis), y deben llegar viables $\geq 10^6$ UFC/dosis al intestino delgado y de $\geq 10^8$ UFC/dosis al colon. Dentro de las cepas seleccionadas para el desarrollo de posibles productos que fueron descritas en esta revisión, y

cuentan con estudios sobre su potencial impacto en la salud se encuentran la L. Casei ATCC 393 (preventiva contra el carcinoma de colon), Rhamnosus (estudiada para disminuir la duración y riesgo de prolongación de diarrea aguda y la asociada a antibióticos), L. Plantarum (asociada a prevenir síntomas gastrointestinales leves durante el tratamiento con antibióticos), entre otras. Los potenciales efectos a nivel fisiológico se atribuyen a los productos que generan específicamente cada cepa probiótica tras la fermentación de sustancias que se ingieren, ocasionando impacto a nivel intestinal, inmune, cardiovascular y neuronal. Asimismo, para lograr este impacto positivo en la salud, tanto a nivel preventivo como para tratamiento en procesos patológicos, se requiere de la incorporación de forma externa de los microorganismos en una concentración mínima establecida (dosis terapéutica cepa-específica) que oscila entre 10^6 - 10^{11} UFC/dosis (suele ser entre 1 millón y 10000 millones de UFC/dosis), y deben llegar viables $\geq 10^6$ UFC/dosis al intestino delgado y de $\geq 10^8$ UFC/dosis al colon.

Dentro de las cepas seleccionadas para el desarrollo de posibles productos que fueron descritas en esta revisión, y cuentan con estudios sobre su potencial impacto en la salud se encuentran la L. Casei ATCC 393 (preventiva contra el carcinoma de colon), Rhamnosus (estudiada para disminuir la duración y riesgo de prolongación de diarrea aguda y la asociada a antibióticos), L. Plantarum (asociada a prevenir síntomas gastrointestinales leves durante el tratamiento con antibióticos), entre otras.

V. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Facultad de Ciencias Médicas de la UBA, a la Escuela de Nutrición, a todas/os las/os docentes que nos acompañaron en este camino de aprendizaje, y a nuestra directora de tesis la Licenciada María Elena Colombo. También al centro de estudiantes Nutrición VENI, que ha estado presente en todo el recorrido como estudiantes de la carrera de Licenciatura en Nutrición, pero especialmente por su contención y trabajo junto a la Escuela de Nutrición para hacer posible la continuidad de nuestras cursadas en el contexto de pandemia. Mención especial a cada una de nuestras familias y amistades por acompañarnos incondicionalmente.

VI. ANEXOS

Tabla 1: Evolución de la definición “probiótico”

AUTOR	AÑO	DEFINICIÓN
Lilly y Stillwell	1965	“factores producidos por microorganismos que promueven el crecimiento de otros microorganismos”
Parker	1974	“organismos y sustancias que contribuyen al equilibrio microbiológico intestinal”
Fuller	1989	“suplementos alimenticios microbianos vivos que afectan de manera beneficiosa al hospedador animal mejorando su equilibrio microbiano intestinal”
<i>Life Sciences Institute Europe (ILSI)</i>	1998	“suplementos alimenticios microbianos vivos que afectan de manera beneficiosa a la salud del hospedador”
Salminen y colaboradores	1999	“componentes o preparaciones de células microbianas que tienen un efecto beneficioso en la salud y bienestar del hospedador”
FAO / OMS	2001	“microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del hospedador”

Fuente: Adaptación de Sánchez B, Delgado S, Blanco-Míguez A, Lourenço A, Gueimonde M, Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res* (100)

Tabla 2: Alimentos vegetales fermentados de diferentes regiones y sus microorganismos detectados

(c) Basado en diferentes regiones de alimentos fermentados vegetales					
Comida	País	Ingredientes	Microorganismos	Beneficios para la salud / nutrición	Referencias
Dhamuoi	Vietnam	repollo, varias verduras	<i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus. plantares</i>	eliminación de compuestos antinutrientes	[53]
Kawal	África del Norte	verduras	<i>Lactobacillus. plantarum</i>	mejorar la calidad y la seguridad de los alimentos	[39]
kimchi	Corea	Repollo coreano, rábano, varias verduras.	<i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus. brevis</i> , <i>Lactobacillus. plantarum</i>	propiedades antimicrobianas , actividad antitumoral, previenen el estreñimiento	[48 , 53]
Chucrut	Alemania	repollo	<i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus. brevis</i> , <i>Lactobacillus. plantarum</i> , <i>P. cerevisiae</i>	fuentes de vitaminas y fibra	[54]
Tsukemono	Japón	Verduras, harina de arroz	<i>Bacterias de ácido láctico</i>	mejorar las funciones digestivas, mejorar el sistema inmunológico,	[55]
Iru	África occidental	Semilla de algarrobo (<i>Parkia biglobosa</i>)	<i>Bacillus sp.</i>	reducir el riesgo de cáncer colorrectal, controlar los niveles de colesterol sérico	[47]

Fuente: Wenbin Zhao Yuheng Liu. Base de datos de probióticos: una fuente potencial de alimentos fermentados. Revista internacional de propiedades alimentarias (101)

Tabla 3: "Categorías de microorganismos vivos para uso humano según la definición del panel de expertos"

Descripción	Afirmar	Criterios *	Nivel mínimo de evidencia requerido para hacer una reclamación	Comentarios
No probiótico				
Culturas vivas o activas	"Contiene culturas vivas y activas"	Cualquier microbio (s) de fermentación de alimentos Prueba de viabilidad a un nivel mínimo que refleje los niveles típicos observados en los alimentos fermentados, se sugiere que sea 1×10^9 UFC por porción 73	No se necesitan estudios de eficacia específicos del producto	Los términos 'vivo' o 'activo' no implican actividad probiótica Los alimentos fermentados que contienen cultivos vivos también podrían calificar como 'probióticos' si cumplen con los criterios para esa categoría (por ejemplo, evidencia de que el yogur puede mejorar la digestión de lactosa en personas con mala digestión de lactosa lo calificarían como un 'probiótico' 74 , 75)
Probiótico				
Probiótico en alimentos o suplementos sin declaración de propiedades saludables	"Contiene probióticos"	Un miembro (s) de una especie segura 76 , 77 , que esté respaldada por evidencia suficiente de un efecto beneficioso general en humanos O un microbio seguro con una propiedad (por ejemplo, una estructura, actividad o producto final) para la cual existe Pruebas suficientes de un efecto beneficioso general en humanos Prueba de viabilidad al nivel apropiado utilizado para respaldar estudios en humanos 73	Estudios en humanos bien realizados (por ejemplo, estos podrían incluir ECA, estudios observacionales, revisiones sistemáticas o metanálisis que respalden el efecto beneficioso general observado para la categoría taxonómica en cuestión) No es necesario generar evidencia para la cepa específica incluida en el producto	La extrapolación de la evidencia debe basarse en expectativas razonables de que las cepas incorporadas en el producto tendrían efectos beneficiosos generales similares en los seres humanos. Esta evidencia podría basarse en comparaciones taxonómicas o funcionales
Probiótico en alimentos o suplementos con una declaración de propiedades saludables	Declaración de propiedades saludables, como "ayuda a reforzar las defensas naturales del cuerpo en los niños" o "ayuda a reducir el riesgo de diarrea asociada a antibióticos"	Cepa o cepas probióticas definidas Prueba de administración de cepas viables a una dosis eficaz al final de la vida útil 73	Evidencia convincente necesaria para cepas específicas o combinación de cepas en la indicación sanitaria especificada Dicha evidencia incluye estudios bien realizados en humanos, que incluyen: metanálisis positivos sobre cepas específicas o combinaciones de cepas, según los principios descritos por Cochrane, 78 PASSCLAIM, 79 o GRADE; 80 ECA bien realizados O evidencia	Los estudios observacionales bien diseñados son útiles para detectar el efecto de los alimentos en la salud en la 'vida real', es decir, fuera del entorno controlado de un ECA (por ejemplo, los datos sobre los beneficios para la salud de la fibra dietética son en su mayoría observacionales) Los tamaños de las muestras deben ser lo suficientemente grandes para gestionar los factores de confusión

			sólida de estudios observacionales grandes 81	
Droga probiótica	Indicación específica para el tratamiento o la prevención de la enfermedad, como "útil para la prevención de la recaída de la colitis ulcerosa"	Una (s) cepa (s) definida (s) de microbio vivo Prueba de administración de probiótico viable en una dosis eficaz al final de la vida útil La evaluación de riesgo-beneficio justifica su uso	Ensayos apropiados para cumplir con los estándares regulatorios para medicamentos.	Lo que constituye una declaración de drogas varía entre países
* A menos que se indique lo contrario, se deben cumplir todos los criterios indicados.				
Abreviaturas: CFU, unidad formadora de colonias; GRADE, Grados de evaluación, desarrollo y evaluación de recomendaciones; PASSCLAIM, proceso para la evaluación del apoyo científico a las declaraciones de propiedades sobre alimentos; ECA, ensayo controlado aleatorio.				

Fuente: Colin Hill francisco Guarner. Declaración de consenso de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos sobre el alcance y el uso apropiado del término probiótico . (102)

Tabla 4: Productos no lácteos comercialmente disponibles, que contienen probióticos.

Producto	Compañía	Probiótico
Chocolate	Sakara	Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, B. lactis, B. longum

Chocolate dietético	ISOWUEY	B. lactis HN019
Chocolate	Healthy Delight	Bacillus coagulans 30 (BC30)
Chocolate	Lalfood	L. acidophilus Rosell-52 encapsulado
Bebidas de coco y coco combinado con otros sabores	Harmless Harvest	BC30, L. acidophilus, L. casei, L. bulgaricus, B. lactis, B. bifidum, L. rhamnosus, Streptococcus thermophilus
Snacks de manzana, barras de avena, chocolates	Bethy Lous	BC30
Gomitas, chocolates	Schiff	BC30
Bebida de soya fermentada Bio.K+ ®	DietSpotlight	L. acidophilus, L. casei, L. rhamnosus
Bebida energizante Innergyc Biotic (quinoa, arroz integral, proteína de chícharo)	Body Ecology	L. acidophilus, L. delbrueckii
muffins de varios sabores	Flap Jacket	BC30
Cereal para desayuno Special K con frutos rojos y duraznos	Kellogg's	B. lactis
Canela en polvo	Eat spice	BC30
Té de limón y jengibre	Bigelow	BC30
Granola con probióticos	Purely Elizabeth	BC30
Cereal de avena para consumo de bebés con DHA y probióticos	Gerber	B. lactis
Palomitas de maíz	Silver Fern	Bacillus subtilis HU58, Bacillus coagulans
Galletas con chispas de chocolate	Lesser evil	BC30
Galletas de trigo	Natural products	BC30

Fuente: Adaptación de Castillo-Escandón V, Fernández-Michel SG, Wong MCC-, Montfort GR-C. Criterios y estrategias tecnológicas para la incorporación y supervivencia de probióticos en frutas, cereales y sus derivados. (35)

Tabla 5: Jugos comerciales a base de frutas y vegetales que contienen probióticos.

Bebida	Compañía	Probiótico
Jugos de fruta orgánicos combinación de varias frutas	Garden of Flavor Ohio, EUA	B. coagulans
Jugo de fruta	Biola, Noruega	L. rhamnosus
Jugo de zanahoria con extracto de jengibre	GoodBelly Colorado, EUA	L. plantarum 299v
Jugo de naranja y mango	Valio Bioprofit, Finland	Lb. rhamnosus
Jugos de fresa	Proviva EMEA Probi AB, Suecia	L. plantarum 299v
Jugo de frutas tropicales, manzana, naranja	Bravo Friscus Probi AB, Suecia	L. plantarum HEAL9 y L. paracasei 8700:2
Jugos fermentados de coco-mango, naranja-zanahoria, kiwi-manzana	Good Morning, Crystal Lily Industry LTD. China	L. paracasei y L. thermophilus
Jugos de ciruela, uva y naranja	Melee probiotics, Malee Enterprise Company Ltd., Tailandia	L. paracasei
Jugos de frutas y vegetales	Welo Probiotic Canada	B. coagulans

Fuente: Adaptación de Castillo-Escandón V, Fernández-Michel SG, Wong MCC-, Montfort GR-C. Criterios y estrategias tecnológicas para la incorporación y supervivencia de probióticos en frutas, cereales y sus derivados.(35)

Tabla 6: Productos probióticos comercializados y especies de probióticos constituyentes

Especies probióticas	Nombre del producto	Marca / Fabricante	Especies de probióticos constituyentes
Probióticos humanos	Bebidas saludables probióticas compuestas	Yijamei / Weilan Biological Co., Ltd.	<i>Lactobacillus paracasei</i> IMC-4 (cepa patente), <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i>

Probióticos de la marca Hengxin	Hengxin / Harbin Meihua Biotechnology Co., Ltd.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus bifidum</i> , <i>levadura</i>
Polvo súper probiótico Ang Li	Ang Li / Universidad Anoli Co., Ltd. de Shanghai Jiaotong	<i>Bifidobacterium longum</i> BL88-ONLY, <i>Lactobacillus plantarum</i> LP-ONLY, <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA11-ONLY, <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium breve</i>
Gránulos de probióticos Minsheng Puribao	Puribao / Hangzhou Minsheng Pharmaceutical Co., Ltd.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>
Bebida sólida en polvo liofilizado probiótico Beiyoudun	Bebé embarazada revisado / Jilin medicina modificada división de bebés embarazadas	<i>Bifidobacterium lactis</i> HN019, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001, <i>Lactobacillus fermentum</i> CECT5716
Polvo probiótico High Change	Alto cambio / (Shenyang) Children Products Co., Ltd.	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i>
Polvo probiótico para niños Culturelle	Culturelle / Shenzhen Jinhua Pharmaceutical Co., Ltd.	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG
Bacillus subtilis live particles	Mommy love / Beijing Hanmei Pharmaceutical Co., Ltd.	<i>Enterococcus faecium</i> R-026, <i>Bacillus subtilis</i> R-179
Newmans Probiotic Adult Powder	Nemans/Jin Neumanns (Shanghai) Food Co., Ltd.	<i>Bifidobacterium</i> BB-12, <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5
Synbiotics brand probiotics granules for children	Biostime BIOSTIME / Biostime International Holdings Limited	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i>

Fuente: Wenbin Zhao Yuheng Liu. Base de datos de probióticos: una fuente potencial de alimentos fermentados. Revista internacional de propiedades alimentarias(103)

Tabla 8: Desarrollo de productos con probióticos a base de frutas y potenciales efectos cepa-específicos.

Matriz alimentaria/ tipo de producto	Probiótico / técnica de inoculación	Evaluación sensorial	Efecto de la cepa (EC)	Viabilidad	Condiciones de inclusión	Año de pub./ Ref.
(1) Plátano / "Harina de plátano con probióticos"	<i>Bifidobacterium Animalis</i> ATCC 2557/ microencapsulaci ón por atomización	No evaluado	Posiblemente eficaz en el tratamiento del estreñimiento, de la infección ocasionada por <i>helicobacter pylori</i> , síndrome de colon irritable, pouchitis, infección en las vías respiratorias, diarrea causada por rotavirus, diarrea del viajero y colitis ulcerosa.	El probiótico microencapsulado sobrevivió durante 3 semanas a la concentración recomendada para su actividad probiótica. A pH inferior a 3,5 y concentraciones de sales biliares superiores a 1 g / L, disminuyeron significativamente después de 120 minutos de exposición, lo que se relaciona con la pérdida de la integridad capsular ante el aumento de la t^o .	Se pesó 1 g de las cápsulas de maltodextrina conteniendo <i>B. animalis</i> y 10 g de la harina de plátano en un tubo Falcon de 50 mL, el cual posteriormente se homogeneizó en un agitador Vortex durante 5 min a 200 x g. Y se dividieron en muestras para evaluar viabilidad según t^o , pH, y conc. de sales biliares, entre 4 y 5 semanas a 22 ° C y 80% de HR.	2020 (53) EC: 2020 (103)
(2)Chayote- Maracuyá / " Chayote fortificado con probióticos y aromatizado con maracuyá"	<i>Lactobacillus Casei</i> ATCC 393 / <i>impregnación al vacío</i>	Se evaluó el color, sabor y textura, los cuales resultaron mejores en la muestra fortificada e impregnada.	En un estudio se investigó y proporcionó evidencia de los efectos antiproliferativos y pro-apoptóticos de <i>L. casei</i> ATCC 393 contra el carcinoma de colon in vitro e in vivo.(106)	La geometría de paralelepípedos mostró mayor viabilidad a los 20 días de almacenamiento con valores superiores a 10^6 UFC / g y mayor aceptación sensorial.	La biomasa activada se inoculó en la formulación de maracuyá hasta obtener una concentración de 3×10^9 microorganismos por mL, comparado con el tubo número 1 del Mac Farland escala.	2020 (50) EC: 2018 (104) 2019 (105)
(3)Fresas / "Fresas Rebanadas Congeladas con Probiótico"	<i>Lactobacillus Casei</i> (<i>Lactobacillus Casei</i> ATCC 393 (Quimirel Ltda®)/ impregnación al vacío.	El sabor es condicionado por el balance de azúcar y acidez, su olor es el característico de la fruta. Se mantienen estos parámetros por hasta 60 días siempre que se encuentre en las	(2)	Contenido declarado: Probiótico <i>Lactobacillus Casei</i> 0,1 % (1g en 100 g de fruta).	Presión de vacío: 20 kpa (5,9"Hg) Tiempo: durante 5 min S/n: de glucosa al 14% p/p, inóculo de 5 en la escala de McFarland ($1,5 \times 10^9$ UFC/mL). Condiciones: Acidez T. expresados como acidez cítrica 0,65% pH 3,0-4,5 °Brix 6,5	2019 (106)

		condiciones adecuadas de conservación.				
(4) Concentrado de moras / "Suspensiones de mora adicionadas con probióticos e inulina)	Lactobacillus Casei ATCC 393	sin evaluación	(2)	El probiótico L. casei ATCC 393 mostró una adaptabilidad en suspensiones a base de BC e inulina, lo que garantiza su viabilidad y un posible uso para la obtención de un producto innovador secado por aspersión.	Concentrado de mora: °Brix: 13-15%, acidez cítrica: 3,1-5,5 y pH: 2,5-3,5. La cepa bacteriana se activó en 5 mL de caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe) (Scharlau) a 37 ° C durante 72 h en condiciones anaeróbicas, y se añadió en 200 mL del mismo caldo. Luego, se incubó en las mismas condiciones para generar biomasa. Finalmente, se utilizó inulina Fibruline S20.	2019 (49)
(5) Mora / Láminas de mora	L. Casei ATCC 393 / impregnación a vacío y liofilización	El análisis arrojó un puntaje de aceptación superior a 5 en una escala de 1 a 7.	(2)	La presencia de prebióticos sobre la viabilidad del microorganismo al permitir la supervivencia por más de 40 días, con recuentos superiores a 10 ⁶ UFC/mL, mientras en la muestra control fue inferior luego de 25 días	Efecto de la fibra prebiótica en la supervivencia del probiótico en matrices de mora mediante un proceso de impregnación a vacío y posterior liofilización.	2015 (51)
(6) Manzana verde, Naranja, Piña y Frutos rojos /Bebidas (jugos) comerciales	L. Reuteri DSM 20016.	L. Reuteri no ejerció ningún efecto negativo en los atributos sensoriales de los jugos en refrigeración	Cepa autóctona del intestino humano adulto y es el cultivo tipo de la especie. Codifica un grupo único de 58 genes para la biosíntesis de reuterina y cobalamina (vitamina B12).	La viabilidad de L. Reuteri fue afectada por el tipo de jugo, la bacteria sobrevivió en jugos de piña, naranja y manzana, mientras que experimentó una fuerte reducción en jugos de frutos rojos (menor a 10 ⁷ UFC/mL).	Se estabilizaron los rangos de pH y se evaluó el contenido de sólidos totales y de azúcares	2014 (54) EC: 2020 (107)
(7) Durazno/ Mermelada comercial de durazno	L. Rhamnosus	Los cultivos probióticos añadidos a mermelada no cambiaron significativamente los parámetros de color.	Reducción de la duración y disminución del riesgo de prolongación de diarrea aguda, así como reducción del riesgo entre 50% y 60% de diarrea asociada a antibióticos. Existe evidencia moderada con L. rhamnosus GG en la reducción de riesgo de diarrea nosocomial.	Todas las cepas mostraron un mejor rendimiento en la mermelada, con valores superiores a (10 ⁷ UFC/g), hasta los 78 días de almacenamiento a 5 °C.	Almacenamiento durante 78 días a 25 °C y 5 °C. Diseño de medio sintético de durazno (control).	2018 (57) EC: 2018 (57,108)

(8) Granada y arándano/ Jugos de Granada y arándano	<i>L. Plantarum B. longum</i>	No se evaluó el efecto sensorial.	-Un estudio doble ciego y controlado por placebo en niños recién diagnosticados con enfermedad celíaca demostró que <i>Bifidobacterium Longum</i> reduce los parámetros inflamatorios y modifica favorablemente la flora intestinal (reduce el número de <i>Bacteroides fragilis</i> , de linfocitos TCD 3 maduros, y del FNT). - <i>Lactobacillus plantarum</i> podría tener un efecto preventivo sobre los síntomas gastrointestinales más leves durante el tratamiento con antibióticos, al disminuir tanto el riesgo de desarrollar náuseas, como de heces blandas o acuosas. Por otro lado, podría inhibir microorganismos patógenos. Un estudio con mujeres con síndrome metabólico postmenopausia demostró un mejor control de la glucemia.	La encapsulación mejoró la viabilidad con una concentración final de aproximadamente 10^8 UFC/mL y 10^6 UFC/mL.	Evaluación de la viabilidad de las células libres y encapsuladas en perlas de pectina y alginato.	2013 (52) EC: 2010 (109) 2017 (110) 2014 (110,111) 2019 (112)
(9) Ananá, Naranja, Melocotón, Manzana./ Bebidas (jugos) comerciales.	<i>L. Casei LC-01 L. casei BGP 93</i>	Los cambios sensoriales indicaron que la vida útil de jugo inoculado no excede 1 semana.	<i>L. casei</i> : Beneficioso en el tratamiento de los trastornos dispépticos, inflamaciones intestinales, diarrea aguda e intolerancia a la lactosa. (32, 115)	La viabilidad fue óptima con ananá, melocotón y manzana (10^8 UFC/mL) sólo el jugo de naranja afectó la proliferación de ambas cepas.	Se estabilizó el pH en un rango entre 3,34 a 4,28. Almacenamiento a 5°C durante 4 semanas.	2013 (114) EC: 2012 (113)
(10) Arándano, Grosella negra / Polvos liofilizados de frutas	<i>L. Plantarum NCIMB 8826</i>	No se evaluó el efecto sensorial.	(8)	El polvo de grosella negra fue el que mantuvo la viabilidad celular. (10^8 UFC/g).	Almacenamiento por 12 meses, reconstitución en agua a temperatura ambiente.	2012 (56)
(11) Manzana/ Jugo de manzana	<i>B. Animalis. subsp lactis Bb-12</i>	No se evaluó el efecto sensorial.	Facilita el aumento total de bifidobacterias e inhibe algunas bacterias indeseables en la microbiota gastrointestinal mejorando la función, particularmente en estreñimiento leve. Posible efecto beneficioso en la incidencia y duración de la diarrea en bebés y niños. y la asociada a antibióticos. Pueden suprimir <i>H. pylori</i> y restaurar la microbiota.	Mutagénesis UV y la posterior incubación en medio ácido lograron mejorar la estabilidad de la cepa (10^7 UFC/mL) al incluirla en la matriz	El jugo se estabilizó a un pH 3,5.	2011 (115) EC: 2014 (116)

(12) Moras, ciruelas, kiwis y papaya./ Diseño de bebida tipo smoothies de frutos verdes (GS) y rojos (RS).	<i>L. Plantarum</i> , <i>Lactobacillus Pentosus</i>	La diferencia de color y el índice de pardeamiento se vieron afectados positivamente.	Lactobacillus Pentosus: posee capacidad inhibitoria sobre bacterias productoras de enfermedades transmitidas por los alimentos.	Los cultivos se mantuvieron viables a una concentración de (10 ⁹ UFC/g) durante 30 días de almacenamiento a 4° C.	Se aislaron las cepas de las matrices vegetales y se realizó la identificación molecular	2011 (117) EC: 2017 (118)
--	---	---	---	--	--	---------------------------------

Fuente: Adaptación de Bernal Castro CA, Díaz-Moreno C, Gutiérrez-Cortés C. Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas . (18)

Tabla 10: Impacto del consumo de probióticos en la salud

Probióticos			Año de pub./ Ref.
SALUD INTESTINAL	Efecto a nivel intestinal	Mantener o reponer la barrera intestinal y evitar el crecimiento desmedido de microorganismos dañinos, mejorando la función del epitelio intestinal y mantener la integridad y funcionalidad de la mucosa, favoreciendo la unión celular estrecha, y contribuyendo a la integridad de la barrera.	2013 (92)
	Efecto anticancerígeno	Una de las razones del aumento de la incidencia del cáncer colorrectal es la prevalencia de trastornos inflamatorios crónicos en el epitelio gastrointestinal, principalmente representados por colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. Los probióticos son prometedores para la prevención del cáncer de colon, especialmente en los grupos de personas que tienen factores de riesgo asociados (poliposis, historia familiar, etc.). Se identificaron algunos probióticos que inhiben el desarrollo de tumores malignos de colon, inducidos experimentalmente mediante carcinógenos químicos, debido a que los elementos que constituyen la microflora intestinal pueden producir sustancias carcinógenas como las nitrosaminas. Por lo tanto, la administración de lactobacillus GG y bifidobacterium B12 podría modificar la flora, dando lugar a una reducción de los niveles de nitrosaminas.	2015 (91) 2014 (119)
SISTEMA INMUNE	Alergias	Los probióticos tienen efectos benéficos y muy potenciales en la prevención de alergias en niños con mayor susceptibilidad, por lo que su consumo desde la gestación y en el periodo de lactancia podría contribuir a atenuar los síntomas, sobre todo en niños, en los que la alergia es más severa.	2012 (97)
	Efecto inmunomodulador	Los probióticos pueden modular la respuesta inmune actuando sobre la inmunidad innata y la adquirida, protegiendo al hospedador frente a infecciones y procesos de inflamación intestinal crónica, como la enfermedad de Crohn, la enfermedad celíaca, etc. Las células epiteliales y las células del sistema inmune innato presentan receptores celulares que permiten distinguir entre la microbiota comensal y la patógena, e inducir la síntesis de mediadores de la respuesta inmune innata (citoquinas, quimioquinas, moléculas de	2015 (91)

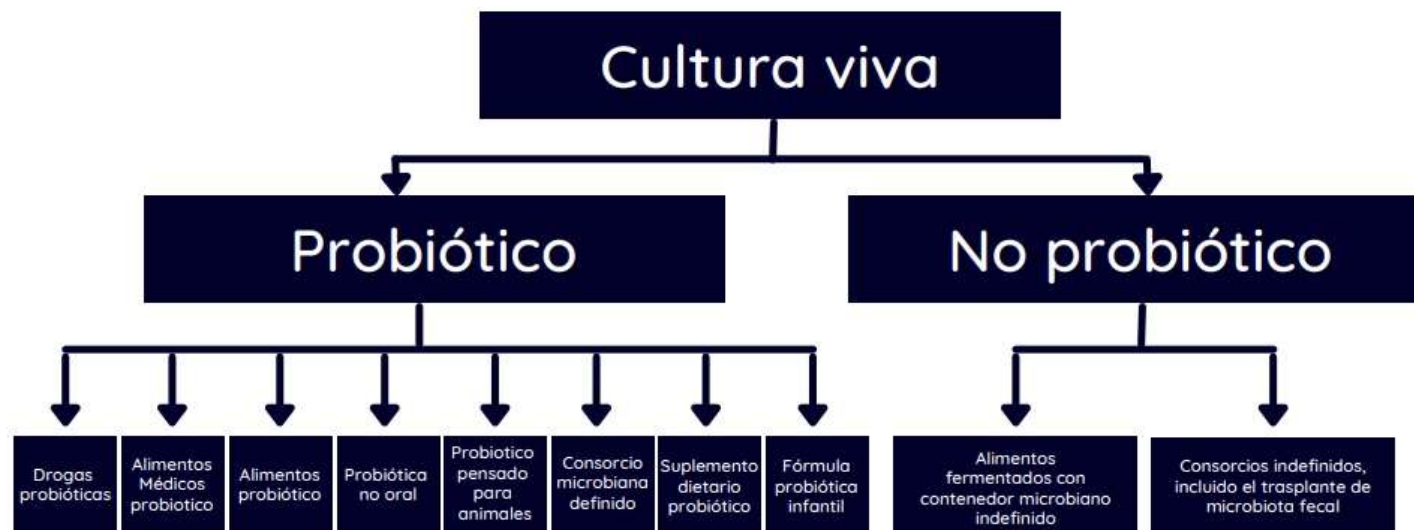
		adhesión, etc.), como también la reproducción de anticuerpos (IgA), que pueden inhibir la adherencia de las bacterias patógenas a la superficie de las mucosas. Se debe considerar que los resultados pueden ser variables, ya que depende del tipo de cepa, especie utilizada y dosis del probiótico.	
	Efecto antiinflamatorio	Tienen el potencial para modular la inflamación. En trastornos gastrointestinales, los probióticos modifican la inflamación al reducir la concentración de citocinas circulantes proinflamatorias, que producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y favorece la función de la barrera intestinal con gran importancia para estos trastornos. Esta mejora también podría evidenciarse en un estadio de depresión y ansiedad (aún en estudio). La producción de butirato (AGCC), puede atenuar la inflamación a través de varias vías; mejora la integridad de la barrera intestinal limitando así la translocación de intestino contenido e inhibiendo la activación de NF-κB. Además, el butirato tiene el potencial de modular inflamación reprimiendo la proinflamación inducida por LPS y citocinas (TNF-α, IL-6 y NO).	2020 (90) 2012 (96)
METABOLISMO	Efecto sobre las grasas	Las cepas probióticas, como las cepas de Lactobacillus, son capaces de reducir el colesterol al disminuir su absorción por diferentes mecanismos. Éstos se dan por la acción de hidrolasa de sales biliares (HSB), por atrapar el colesterol a la membrana bacteriana, por conversión de colesterol a coprostanol, por inhibición de la formación de micelas y por la fermentación selectiva de ciertos alimentos por la microbiota intestinal. Los avances científicos proponen evitar el consumo de fármacos en personas con hipercolesterolemia mediante una alimentación a base de alimentos con funcionalidad probiótica para reducir los niveles de colesterol. Se le atribuye a ciertas cepas probióticas la propiedad de regulación frente a dislipemias.	2020 (99)
	Tratamiento de la obesidad	La modulación de la microbiota intestinal resulta un pilar fundamental en la búsqueda de nuevos tratamientos preventivos de la obesidad. En los últimos años las investigaciones apuntaron a diferenciar el tipo de bacterias intestinales presentes en edades tempranas en niños con peso normal y sobrepeso, y detectar la posible asociación de estas diferencias con el aumento de peso. También se ha estudiado la microbiota de mujeres embarazadas, como posible condicionante para el nacimiento de niños con sobrepeso. Por otro lado, en una revisión sistemática se evidenció que hay relación entre la pérdida de peso y la administración de probióticos.	2013 (120) 2015 (91)
	Efectos sobre los micronutrientes de la fermentación a nivel intestinal	La microbiota intestinal cumple la función, entre otras, de síntesis de vitaminas del grupo B y K, principalmente, viéndose afectada cuando la microflora se encuentra alterada. Durante la fermentación, las concentraciones de vitamina B2 (Riboflavina), vitamina B9 (Folato) y vitamina K, aumentan. También se producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales tienen acción antiinflamatoria y antitumoral.	2020 (90)
	Intolerancia a la lactosa	Los probióticos se pueden alimentar de lactosa gracias a la presencia de lactasa en las bacterias ácido lácticas, generando que la lactosa sea hidrolizada por las cepas probióticas, reduciendo de esta forma los síntomas de inflamación o distensión.	2016 (94)

Fuente: Adaptación de Development of New Probiotic Foods—A Case Study on Probiotic Juices. In: Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods.

Academic Press (121)

Figura 1: Marco general para productos probióticos.

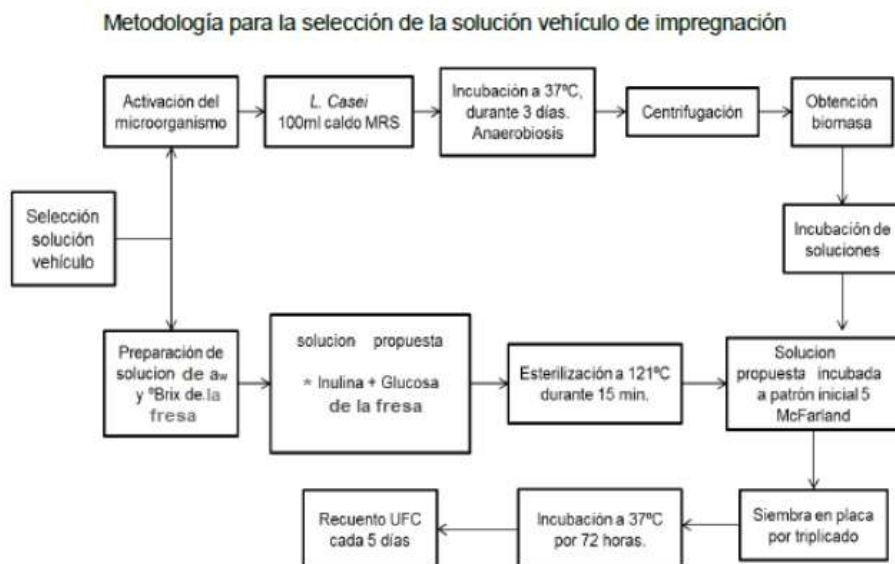
De: Declaración de Consenso de la Asociación Científica Internacional de probióticos y prebióticos sobre el alcance y uso apropiado del término probiótico.



Se requiere evidencia de un beneficio para la salud para un probiótico, ya sea a nivel de grupo o de cepa específica, dependiendo de la naturaleza del beneficio. Los probióticos pueden tener diferentes medios de administración, especies hospedadoras objetivo (humanos y animales), poblaciones objetivo, sitios objetivo (intestino y más allá), puntos finales de eficacia y categorías reguladoras. Todos los probióticos deben ser seguros para su uso previsto. Los microbios muertos, los productos microbianos y los componentes microbianos no se incluyen en la clasificación de probióticos.

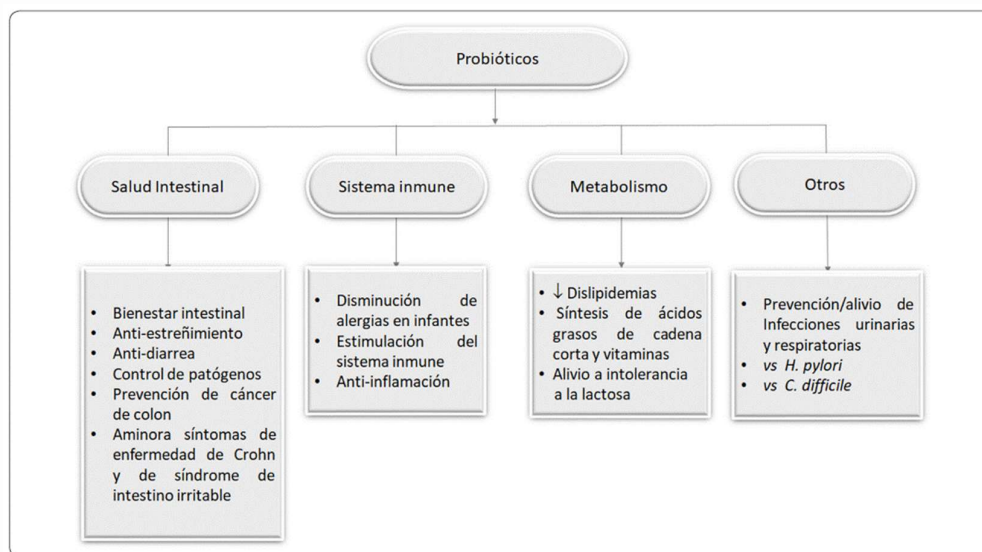
Fuente: Colin Hill Francisco Guarner. Declaración de consenso de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos sobre el alcance y el uso apropiado del término probiótico.(102)

Figura 3: Diagrama de flujo de la técnica de impregnación al vacío de fresas mínimamente procesadas con probióticos



Fuente: Maira Alejandra Gallego Narváez, Gloria Milena Muñoz Narváez, Leidy Adriana Castrillón Carvajal. Fresas mínimamente procesadas adicionadas con microorganismos probióticos por impregnación al vacío.(106)

Figura 4: Beneficios atribuidos al consumo de probióticos



Fuente: Castillo-Escandón V, Fernández-Michel SG, Wong MCC-, Montfort GR-C. Criterios y estrategias tecnológicas para la incorporación y supervivencia de probióticos en frutas, cereales y sus derivados. (35)

GLOSARIO

AGENTES BIOTERAPÉUTICOS: prebióticos, probióticos, posbióticos y simbióticos, con capacidad preventiva y/o un efecto terapéutico probado.

ALIMENTOS FERMENTADOS (incluye bebidas fermentadas): alimentos elaborados mediante el crecimiento microbiano deseado y las conversiones enzimáticas de los componentes de los alimentos . Ésta definición, incluye alimentos y bebidas que se producen por fermentación pero que pueden no tener microorganismos vivos en el momento del consumo . Fermentados con microorganismos vivos presentes (deben declararse como "Contiene cultivos vivos y activos"): yogur, crema agria, kefir, miso, natto, tempeh, vegetales fermentados sin cocción, algunas kombuchas, etc. Fermentados sin microorganismos vivos presentes (deben declararse como "Alimentos elaborados por fermentación"): pan, vegetales fermentados tratados térmicamente, vino, mayoría de cervezas. (122)

ALIMENTOS FERMENTADOS con probióticos: los productos alimenticios fermentados solo deben etiquetarse como 'que contienen probióticos' cuando exista evidencia de que sus componentes microbianos vivos brindan beneficios para la salud y se defina el contenido microbiológico preciso. (122)

ALIMENTOS FUNCIONALES: alimento que posee beneficio/s sobre una o varias funciones del organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, como mejorar el estado de salud y bienestar o reducir el riesgo de una enfermedad. Deben contener necesariamente ingredientes o componentes funcionales como los probióticos y prebióticos que ejercen un efecto positivo en

la flora intestinal, beneficiando la salud del individuo.

DISBIOSIS MICROBIANA: desequilibrio en la cantidad y calidad de bacterias que han colonizado la microbiota intestinal, afectando la digestión y absorción de nutrientes, producción de vitaminas y control de microorganismos perjudiciales. Esto se puede dar por diversos factores como cambios de hábitos alimenticios, tratamiento continuado con antibióticos e infecciones recurrentes. Aún se desconoce si esta alteración es causa o consecuencia de la enfermedad inflamatoria intestinal, la obesidad e incluso ciertos cánceres.

EUBIOSIS MICROBIANA: estado de salud equilibrado de la microbiota, que le permite realizar sus funciones correctamente repercutiendo directamente sobre la salud general del individuo.

MICROBIOMA: conjunto de genes de los microorganismos presentes en un ambiente determinado (microbiota).

MICROBIOTA: comunidad de linajes microbianos que viven en un entorno determinado.

POSBIÓTICOS: sustancias producidas por los probióticos que ejercen efectos metabólicos y/o inmunomoduladores en el huésped, es decir, son factores solubles generados del metabolismo de los probióticos y liberados al medio extracelular, y que tendrían actividad beneficiosa sobre la salud. (DW Thomas *et al.* publicado en *Pediatrics* 2010 , Introducción del concepto por María Rescigno en 2012)

PREBIÓTICOS: sustrato que es utilizado selectivamente por los microorganismos hospedadores y que confiere un beneficio para la salud. (123)

Compuestos no digeribles por el huésped presente en algunos alimentos, que mejoran su bienestar y salud al fermentar en el colon y estimular la actividad microbiana a ese nivel, actuando como nutriente de la flora colónica ya que de él se nutren principalmente las bifidobacterias y lactobacilos.

PROBIÓTICOS: microorganismos vivos no patógenos que al administrarse en concentraciones adecuadas y viables sobreviven a la digestión y llegan vivos al colon donde tienen un efecto positivo de promoción de salud en el huésped.
(102)

PRODUCTOS NUTRACÉUTICOS: sustancias activas que se encuentran como componentes naturales de los alimentos o pueden ser adicionadas a los mismos y que administradas en determinada dosis, presentan un efecto favorable sobre la salud.

SIMBIÓTICOS: mezcla que comprende microorganismos vivos y sustrato(s) utilizados selectivamente por microorganismos hospedadores que confiere un beneficio para la salud del hospedador. En el último consenso sobre Probióticos se diferencia entre un simbiótico complementario, (que no ha sido diseñado para que sus componentes funcionen de manera cooperativa, compuesto de un probiótico más un prebiótico), y un simbiótico sinérgico donde el sustrato está diseñado para ser utilizado selectivamente por los microorganismos coadministrados. (124)

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Secretaría de Agricultura Ganadería y Pesca S de PR e. I y. S. Resolución Conjunta 261/2011 y 22/2011 [Internet]. www.anmat.gov.ar. 19 de Diciembre de 2011 [cited Septiembre de 2020]. Available from: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Legislacion/Alimentos/Resolucion_Conjunta_261-2011_y_22-2011.pdf
2. Swain MR, Anandharaj M, Ray RC, Parveen Rani R. Fermented Fruits and Vegetables of Asia: A Potential Source of Probiotics. *Biotechnol Res Int* [Internet]. 2014 May 28 [cited 2021 Feb 3];2014. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/btri/2014/250424/>
3. Zhao W, Liu Y, Latta M, Ma W, Wu Z, Chen P. Probiotics database: a potential source of fermented foods [Internet]. Vol. 22, *International Journal of Food Properties*. 2019. p. 198–217. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2019.1579737>
4. Amal Bakr Shori. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*. 2016 Mar 1;13:1–8.
5. Villena JC, Alvarez GS, Font GM, Salva MS, Taranto MP. Evidencia de la efectividad de los probióticos en programas sociales. In: Villena, Julio Cesar; Alvarez, Gladis Susana; Font, Graciela Maria; Salva, Maria Susana; Taranto, Maria Pia; Evidencia de la efectividad de los probióticos en programas sociales; Asociación Civil Danone para la Nutrición, la Salud y la Calidad de Vida. Asociación Civil Danone para la Nutrición, la Salud y la Calidad de Vida; 2018. p. 155.
6. Parzanese TM. Desarrollo de Probióticos y Prebióticos - Tecnologías para la Industria Alimentaria Ficha n12 [Internet]. www.alimentosargentinos.gob.ar. [cited Septiembre de 2020]. Available from: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_12_PreyPro.pdf
7. S Possemiers, M Marzorati , W Verstraete , T Van de Wiele. Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. *Int J Food Microbiol*. 2010 Jun 30;141(1-2):97–103.
8. Hossain MN, Ranadheera CS, Fang Z, Ajlouni S. Healthy chocolate enriched with probiotics: a review. *Food Sci Technol* [Internet]. 2020 [cited 2021 Feb 8];(AHEAD). Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0101-20612020005023208&lng=en&nrm=iso&tlng=en
9. Osorio ES, López Torres JA, Maldonado Sánchez GG, Martínez Marciales KP, Yinec VRY. El helado elaborado de Musa paradisiaca y probióticos mejora los niveles séricos de calcio, hierro y potasio en una

población infantil. Arch Latinoam Nutr. 2019 Nov 17;68(3):258–67.

10. Hernández-Monzón A, Madernás-Sánchez D, Pérez-Argüelles R, Trujillo-Pérez G, González-Góngora I, Díaz-Abreu J. Desarrollo de una bebida elaborada con harina de arroz y ajonjolí (*Sesamum Indicum*) y fermentada con cultivos probióticos. RTQ. 2019;39(1):89–104.
11. Sema-Cock L, Angulo-López JE, Ayala-Aponte AA. Cereal Bars as Solid Matrix for the Incorporation of Probiotics Microorganisms. Inf tecnol. 2015;26(2):29–40.
12. Christos Soukoulis, Solmaz Behboudi-Jobbehdar, Lina Yonekura. Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in prebiotic edible films. Food Chem. 2014 Sep 15;159:302–8.
13. Vieira ADS. Impact of the incorporation of probiotic strains and fruit by-products in fermented synbiotic soy product and on the composition and metabolic activity of the gut microbiota in vitro. 2018;190–190.
14. Carolina Battistini, Beatriz Gullón, Erica Sayuri Ichimura. Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. Braz J Microbiol. 2018 Apr 1;49(2):303–9.
15. Cunha Júnior PC da, Oliveira L de S de, Gouvêa L de P, Alcantara M de, Rosenthal A, Ferreira EH da R. Symbiotic drink based on Brazil nuts (*Bertholletia excelsa* H.B.K): production, characterization, probiotic viability and sensory acceptance. Cienc Rural [Internet]. 2021 [cited 2021 Feb 8];51(2). Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-84782021000200751&lng=en&nrm=iso&tlng=en
16. Fioravante MB, Hiane PA, Braga Neto JA. Elaboration, sensorial acceptance and characterization of fermented flavored drink based on water-soluble extract of baru almond. Cienc Rural [Internet]. 2017 [cited 2021 Feb 8];47(9). Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-84782017000900752&lng=en&nrm=iso&tlng=en
17. Jimenez JAS. Elaboración de jugos de fruta con adición de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico [Maestría en diseño y gestión de procesos]. Bernadette Klotz Ceberio y Catalina Aguilar Ribera, editor. Universidad de La Sabana; 2012.
18. Bernal Castro CA, Díaz-Moreno C, Gutiérrez-Cortés C. Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. Rev Chil Nutr. 2017;44(4):383–92.
19. Guillermo Álvarez, Francisco Guarner, Teresa Requena, Ascensión Marcos. Dieta y microbiota: impacto en la salud [Internet]. nutricionhospitalaria.org. 6 de septiembre 2018 [cited septiembre de 2020]. Available from: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.2280>

20. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'Connor EM, Cusack S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*. 2012 Jul 13;488(7410):178–84.
21. Logan AC, Katzman MA, Balanzá-Martínez V. Natural environments, ancestral diets, and microbial ecology: is there a modern “paleo-deficit disorder”? Part II. *J Physiol Anthropol* [Internet]. 2015 [cited 2021 Feb 6];34(1). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4353476/>
22. Kramer A, Bekeschus S, Bröker BM, Schleibinger H, Razavi B, Assadian O. Maintaining health by balancing microbial exposure and prevention of infection: the hygiene hypothesis versus the hypothesis of early immune challenge. *J Hosp Infect*. 2013 Feb;83 Suppl 1:S29–34.
23. Shokryazdan P, Faseleh Jahromi M, Liang JB, Ho YW. Probiotics: From Isolation to Application. *J Am Coll Nutr*. 2017 Nov;36(8):666–76.
24. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Alimentos Funcionales Probióticos [Internet]. [anmat.gov.ar](http://www.anmat.gov.ar). Available from: http://www.anmat.gov.ar/consumidores/alimentos/alimentos_funcionales_probioticos.pdf
25. Nagashima AI, Pansiera PE, Baracat MM, Gómez RJHC. Development of effervescent products, in powder and tablet form, supplemented with probiotics *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces boulardii*. *Food Sci Technol*. 2013;33(4):605–11.
26. Araya Magdalena, Gopal Pramod, Lindgren Sven E. Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación [Internet]. www.fao.org. 2006 [cited Septiembre de 2020]. Available from: <http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf>
27. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014 Aug;11(8):506–14.
28. Campbell K. Your guide to the difference between fermented foods and probiotics [Internet]. 2017 [cited 2021 Feb 3]. Available from: <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/guide-difference-fermented-foods-probiotics/>
29. Yeimy Alejandra Rodríguez R, Andrés Felipe Rojas G, Sneyder Rodríguez B. Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias. *Revista Biosalud*. 2016;15 (2):106–15.
30. Bautista-Gallego J, Medina E, Sánchez B, Benítez-Cabello A, Arroyo-López FN. Role of lactic acid bacteria in fermented vegetables. *grasasaceites*. 2020 Jun 30;71(2):e358–e358.

31. José Carmen Ramírez Ramírez, Petra Rosas Ulloa, Martha Yanira. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Revista Fuente [Internet]. 2011; Available from: <http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/436>
32. Francisco Guarner, Mary Ellen Sanders, Rami Eliakim. Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. Probióticos y prebióticos [Internet]. www.worldgastroenterology.org. Febrero de 2017 [cited 2020 Sep]. Available from: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2017.pdf>
33. Sharma K, Mahajan R, Attri S, Goel G. Selection of indigenous *Lactobacillus paracasei* CD4 and *Lactobacillus gastricus* BTM 7 as probiotic: assessment of traits combined with principal component analysis [Internet]. Vol. 122, Journal of Applied Microbiology. 2017. p. 1310–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/jam.13426>
34. Silvani Verruck. Survival of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated with full-fat goat's milk and prebiotics when exposed to simulated gastrointestinal conditions and thermal treatments. Small Rumin Res. 2017 Aug 1;153:48–56.
35. Castillo-Escandón V, Fernández-Michel SG, Wong MCC-, Montfort GR-C. Criterios y estrategias tecnológicas para la incorporación y supervivencia de probióticos en frutas, cereales y sus derivados. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas [Internet]. 2019 May 10 [cited 2021 Feb 3];22(0). Available from: <http://tip.zaragoza.unam.mx/index.php/tip/article/view/173>
36. Ana R. Pacurucu-Reyes, Paola Chiluiza-Ramos, Paola Argüello-Hernández. Probióticos y prebióticos: Una revisión de la normativa internacional. REV PERSPECTIVA. 30 de Julio de 2017;18 (2):158–67.
37. Durán C R, Valenzuela B A. The japanese experience with foshu foods the true functional foods? Rev Chil Nutr. 2010;37(2):224–33.
38. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Instructivo para solicitar la autorización de probióticos y prebióticos y alimentos con probióticos y/o con prebióticos [Internet]. www.anmat.gov.ar. 28 de Mayo de de 2012 [cited Octubre de 2020]. Available from: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/formularios/alimentos/Instructivo_autorizacion_probioticos_y_prebioticos.pdf
39. R.D.C.S. Ranadheera, S.K. Baines, M.C. Adams. Importance of food in probiotic efficacy. El Sevier. 2010 Jan;43 n1:1–7.
40. Patricia de los Reyes-Gavilán. Ruas-Madiedo BSMF-GAMCG. Criterios de selección tecnológicos y probióticos de una *Bifidobacterium animalis* subsp. *cepa de lactis*. El Sevier. 2010 Nov;20 n11:800–5.

41. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina. YOGURITO llegará a cada rincón del país gracias al Plan “Argentina Contra el Hambre” [Internet]. www.conicet.gov.ar. 6 de febrero de 2020. Available from: <https://www.conicet.gov.ar/yogurito-llegara-a-cada-rincon-del-pais-gracias-al-plan-argentina-contra-el-hambre/>
42. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina. Producto alimenticio funcional con probióticos y prebióticos con su método de preparación [Internet]. www.conicet.gov.ar. 2015. Available from: <https://vinculacion.conicet.gov.ar/?caccion=printPDF&tcid=1280>
43. Genevois CE. Matrices vegetales y subproductos como base para la elaboración de alimentos e ingredientes funcionales [Internet]. Repositorio Digital Institucional de la Universidad de Buenos Aires. 2017. Available from: http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/cgi-bin/library.cgi?e=q-10000-00---off-0buscat-00-2---0-10-0---0---0direct-10--ZZ-4---Doc---0-1l--10-es-Zz-1---20-home-probioticos+y+viabilidad-00-3-1-00-00--4---0-0-01-00-0utfZz-8-00&a=d&c=buscat&srp=0&srn=0&cl=search&d=aextesis-tesis_n6176_Genevois_oai
44. del Valle Rivero LL. Selección de bacterias lácticas autóctonas para su potencial aplicación en la conservación de alimentos de origen vegetal mínimamente procesados [Trabajo de Posgrado]. Saguir DFM, editor. Universidad Nacional de Tucumán; 2018.
45. Reid G. Probióticos: definición, alcance y mecanismos de acción. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2016;30 n1:17–25.
46. J. Burgain C. Gaiani M. Linder J. Scher. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *J Food Eng*. 2011 Jun 1;104(4):467–83.
47. Tatiana Colombo Pimentel. Grasiela Scaramal Madrona. Sandra Garcia. Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and oligofructose in different package type. *LWT - Food Science and Technology*. 2015 Sep 1;63(1):415–22.
48. Guilherme Mamede da Costa. José Vitor de Carvalho. Silva Jéssica Dias Mingotti. Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L. paracasei* viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice. *LWT*. 2017 Jan 1;75:195–201.
49. Arango ZTM, Rodriguez MC, Campuzano OIM, Tobón JCA. Viabilidad de *Lactobacillus casei* ATCC 393 y propiedades en suspensiones de mora de castilla con características probióticas y prebióticas. *Dyna*. 2019 Jul 1;86(210):179–86.
50. Mejia FFO, Doria CMM, Cifuentes ALD. Enriquecimiento de la matriz biológica cidra *Sechium edule* (Jacq.) Sw. con *Lactobacillus casei* y

saborizada con maracuyá *Passiflora edulis* L. Dyna. 2020 Jan 1;87(212):236–43.

51. Rodríguez-Barona S, Giraldo GI, Zuluaga YP. Evaluation of the Incorporation of Prebiotic Fiber on the Viability of *Lactobacillus casei* Impregnated in Matrices of Andean Blackberry (*Rubus glaucus*). Inf tecnol. 2015;26(5):25–34.

52. Sawaminee Nualkaekula. Michael T. Cook. Vitaliy V Khutoryanskiy. Influence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. Food Res Int. 2013 Aug 1;53(1):304–11.

53. Iguarán EC, Triviño-Valencia J, Rodríguez-Barona S. Effect of storage and stress conditions on the counts of *Bifidobacterium animalis* microencapsulated and incorporated in plantain flour. Braz J Food Technol [Internet]. 2020 [cited 2021 Feb 8];23. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1981-67232020000100436&lng=en&nrm=iso&tng=en

54. Marianne Perricone Maria Rosaria Corbo Milena Sinigaglia. Viability of *Lactobacillus reuteri* in fruit juices. J Funct Foods. 2014 Sep 1;10:421–6.

55. Mario Céspedes Pamela Cárdenas. Rendimiento en bebidas no lácteas de cepas probióticas de *L. casei* generalmente empleadas en productos lácteos. Journal Of Food and Science [Internet]. 2013; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1750-3841.12092>

56. Sawaminee Nualkaekul. Gurjot Deepika. Dimitris Charalampopoulos. Survival of freeze dried *Lactobacillus plantarum* in instant fruit powders and reconstituted fruit juices. Food Res Int. 2012 Oct 1;48(2):627–33.

57. Randazzo CL, Pitino I, Licciardello F. Supervivencia de cepas probióticas de *Lactobacillus rhamnosus* en mermelada de melocotón durante el almacenamiento a diferentes temperaturas. Food Sci Technol Int [Internet]. 2013;33 n4. Available from: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612013000400009&script=sci_arttext

58. de Oliveira PM, Leite Júnior BR de C, Martins EMF, Martins ML, Vieira ÉNR, de Barros FAR, et al. Mango and carrot mixed juice: a new matrix for the vehicle of probiotic lactobacilli. J Food Sci Technol. 2021 Jan;58(1):98–109.

59. Güney D, Güngörmüşler M. Development and Comparative Evaluation of a Novel Fermented Juice Mixture with Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. Probiotics Antimicrob Proteins [Internet]. 2020 Sep 25; Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12602-020-09710-2>

60. Mary Ellen Sanders y Maria L. Marco. Formatos de alimentos para la entrega eficaz de probióticos. *Food Sci Technol Int.* 2010;1:65.85.
61. Menezes CR de, Barin JS, Chicoski AJ, Zepka LQ, Jacob-Lopes E, Fries LLM, et al. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. *Cienc Rural.* 2013;43(7):1309–16.
62. Juan José Luna Guevara, José Mariano López Fuentes, Oscar Jiménez González. Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias [Internet].* 2016;5, n10. Available from: https://www.researchgate.net/publication/312955428_Microencapsulacion_de_algunos_compuestos_bioactivos_mediante_secado_por_aspersion_Microencapsulation_of_some_bioactive_compounds_through_spray_drying
63. De Araújo U Luz Adriana Gutiérrez Ramírez Orlando Simón Ruiz Villadiego N. Técnicas para la microencapsulación de probióticos y el impacto en su funcionalidad: una revisión. *Alimentos Hoy, Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos [Internet].* 2015; Available from: <https://alimentos.hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/349/299>
64. Bryshila Lupo Pasin, Carmen González Azón, Alicia Maestro Garriga. Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos [Internet].* 2012; Available from: <http://oaji.net/articles/2017/4924-1495374245.pdf>
65. Sandra V. Avila-Reyes, Francisco J. García-Suárez, María Teresa Jiménez, María F. San Martín-González. Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydr Polym.* 2014;423–30.
66. Rodríguez-Barona, S., Montes, L.M., Ramírez, D. Microencapsulation of probiotic by spray drying in the presence of prebiotic. *Vitae Scholasticae.* 2012;19 (1):185–8.
67. Masoumeh Izadi, Mohammad Hadi Eskandari, Mehrdad Niakousari. Optimisation of a pilot-scale spray drying process for probiotic yoghurt, using response surface methodology. *Int J Dairy Technol.* 2014;211–9.
68. María José Martín, Federico Lara-Villoslada, María Adolfinia Ruiz. Microencapsulación de bacterias: una revisión de diferentes tecnologías y su impacto en los efectos probióticos. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2015;15–25.
69. SH Peighambardoust, A. Golshan Tafti, J. Hesari. Aplicación de secado por atomización para la conservación de cultivos iniciadores de ácido láctico: una revisión. *Trends Food Sci Technol.* 2011;215–24.
70. M. K. Tripathi SKG. Probiotic functional foods: Survival of probiotics

during processing and storage. *El Sevier*. 2014;9:225–41.

71. Vera-Peña MY, Cortés Rodríguez M, Valencia-García FE. Spray Drying of Lactic Acid Bacteria: a review. *ing.cienc*. 2019;15(29):179–213.
72. de Menezes PT da SLLMCR. Microencapsulación: conceptos, mecanismos, métodos y algunas aplicaciones en tecnología alimentaria. *Cien Rural* [Internet]. 2014 Jul;44 n7. Available from: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782014000701304
73. Sneyder Rodríguez-Barona GIG y. LMM. Encapsulación de Alimentos Probióticos mediante Liofilización en Presencia de Prebióticos. *Información Tecnológica* [Internet]. 2016;27 n6. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642016000600014
74. Zhang, Y., Lin, J., Zhong. The increased viability of probiotic *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 encapsulated in emulsions with multiple lipid-protein-pectin layers. *Food Res Int*. 2015;71:9–15.
75. Lopes S, Bueno L, Aguiar Júnior FDE, Finkler C. Preparation and characterization of alginate and gelatin microcapsules containing *Lactobacillus rhamnosus*. *An Acad Bras Cienc*. 2017;89(3):1601–13.
76. Serna-Cock L Vallejo-Castillo. Probiotic encapsulation. *Afr J Microbiol Res*. 2013;7 (40):4743–53.
77. Sweta Rathore, Parind Mahendrakumar Desai, Celine Valeria Liew, Lai Wah Chan, Paul Wan Sia Heng. Microencapsulation of microbial cells. *J Food Eng*. 2012;116:369–81.
78. Pedroso DL, Dogenski M, Thomazini M, Heinemann RJB, Favaro-Trindade CS. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and *Lactobacillus acidophilus* in cocoa butter using spray chilling technology. *Braz J Microbiol*. 2013;44(3):777–83.
79. Parzanese TM. Tecnologías para la Industria Alimentaria. MICROENCAPSULACIÓN [Internet]. www.alimentosargentinos.gob.ar. [cited 2020 Sep]. Available from: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_20_Microencapsulacion.pdf
80. Huertas RAP. Revisión: Microencapsulación de Alimentos. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia [Internet]. 2011; Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n2/a20v63n01.pdf>
81. Martín Villena MJ, Morales Hernández ME, Gallardo Lara V y Ruiz Martínez MA. Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars Pharm* [Internet]. 2009; Available from: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/27475/Ars%20Pharm%202009%3b50%281%2943-50.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

82. Poletto G, Fonseca B de S, Raddatz GC, Wagner R, Lopes EJ, Barin JS, et al. Encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and different prebiotic agents by external ionic gelation followed by freeze-drying. *Cienc Rural* [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 15];49(2). Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-84782019000200751&lng=en&nrm=iso&tlng=en
83. Aziz S et al. Microencapsulation of krill oil using complex coacervation. *J Microencapsul* [Internet]. 2014; Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/02652048.2014.932028?journalCode=imnc20>
84. Silva TM da, Barin JS, Lopes EJ, Cichoski AJ, Flores EM de M, Silva C de B da, et al. Development, characterization and viability study of probiotic microcapsules produced by complex coacervation followed by freeze-drying. *Cienc Rural* [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 15];49(7). Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-84782019000700752&lng=en&nrm=iso&tlng=en
85. Sandra Borges Joana Barbosa. Un estudio de viabilidad de *Lactobacillus plantarum* en polvos de frutas después del procesamiento y almacenamiento. *International Journal of Food + Technology*. 2015;51 n2:381–8.
86. Toldra F. Producing Powders Containing Active Dry Probiotics With the Aid of Spray Drying. In: *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press; 2018. p. 211–62.
87. MP Rascón, K. Huerta-Vera, L.A. Pascual-Pineda. Osmotic dehydration assisted impregnation of *Lactobacillus rhamnosus* in banana and effect of water activity on the storage stability of probiotic in the freeze-dried product. *LWT*. 2018 Jun 1;92:490–6.
88. Karina Huerta-Vera ,Enrique Flores-Andrade ,Juan Antonio Pérez-Sato. Enriquecimiento de banano con *Lactobacillus rhamnosus* mediante doble emulsión y deshidratación osmótica. *Tecnología de alimentos y bioprocesos*. 2017;10:1053–62.
89. McFarland LV, Evans CT, Goldstein EJC. Strain-Specificity and Disease-Specificity of Probiotic Efficacy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med* [Internet]. 2018 [cited 2021 Feb 4];5. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2018.00124/pdf>
90. Aslam H, Green J, Jacka FN, Collier F, Berk M, Pasco J, et al. Fermented foods, the gut and mental health: a mechanistic overview with implications for depression and anxiety. *Nutr Neurosci*. 2020 Sep;23(9):659–71.
91. Villanueva KM. Situación actual y perspectivas de las aplicaciones de los probióticos en la industria alimentaria y sus efectos en la salud

humana [Ingeniería Agroindustrial]. Ing León Marrou, editor. Facultad de Ingeniería de Trujillo, Perú; 2015.

92. ROMÁN Riechmann, E. y ÁLVAREZ Calatayud, G. Empleo de probióticos y prebióticos en pediatría. *Nutr Hosp*. 2013;28:42–5.

93. MARTÍNEZ Cuesta MC. PROBIÓTICOS EN LA SALUD HUMANA. Grupo de Biología Funcional de Bacterias Lácticas. 2012;

94. María J. Castro, Idabelis Arias, Fabiola Barboza. Usos clínicos de los probióticos: malabsorción de lactosa, cólico del lactante, enfermedad inflamatoria intestinal, enterocolitis necrotizante, *Helicobacter pylori*. *Arch Venez Pueric Pediatr* [Internet]. 2016;79 n1. Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492016000100006#:~:text=En%20individuos%20con%20intolerancia%20a,de%20la%20lactosa%20\(16\)](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492016000100006#:~:text=En%20individuos%20con%20intolerancia%20a,de%20la%20lactosa%20(16))

95. Szajewska H, Horvath A, Piwowarczyk A. Meta-analysis: the effects of *Saccharomyces boulardii* supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during treatment. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010 Nov;32(9):1069–79.

96. Manzano A C, Estupiñán G D, Poveda E E. Clinical effects of probiotics: what does the evidence says. *Rev Chil Nutr*. 2012;39(1):98–110.

97. Sanders ME. Recommended daily allowance (RDA) for microbes? [Internet]. 2018 [cited 2021 Feb 12]. Available from: <https://isappscience.org/rda-for-microbes/>

98. de la Droga IE. ¿Qué es *bifidobacterium*, *lactobacillus*, and *streptococcus*? [Internet]. www.drugs.com. 2020. Available from: https://www.drugs.com/mtm_esp/vsl-3.html

99. Carrero Gonzalez CM, Navarro Quiroz EA. Dislipidemia como factor de riesgo cardiovascular: uso de probióticos en la terapéutica nutricional. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* [Internet]. 2020; Available from: https://www.revistaavft.com/images/revistas/2020/avft_1_2020/22_dislipidemia.pdf

100. Sánchez B, Delgado S, Blanco-Míguez A, Lourenço A, Gueimonde M, Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. 2017 Jan;61(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201600240>

101. Wenbin Zhao Yuheng Liu. Base de datos de probióticos: una fuente potencial de alimentos fermentados. *Revista internacional de propiedades alimentarias* [Internet]. 2019;22 n1. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2019.1579737>

102. Colin Hill francisco Guarner. Declaración de consenso de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos sobre el

alcance y el uso apropiado del término probiótico. *Nature Reviews Gastroenterología y Hepatología* volumen [Internet]. 2014; Available from: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2014.66>

103. Bifidobacterias [Internet]. [cited 2021 Feb 13]. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/natural/891.html>

104. Xu C, Guo Y, Qiao L, Ma L, Cheng Y, Roman A. Biogenic Synthesis of Novel Functionalized Selenium Nanoparticles by *Lactobacillus casei* ATCC 393 and Its Protective Effects on Intestinal Barrier Dysfunction Caused by Enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Front Microbiol* [Internet]. 2018 [cited 2021 Feb 14];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01129/pdf>

105. Aishwarya SS, Selvarajan E, Iyappan S, Rajnish KN. Recombinant L-Asparaginase II from *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC 393 and Its Anticancer Activity. *Indian J Microbiol* [Internet]. 2019 Sep [cited 2021 Feb 13];59(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31388208/>

106. Maira Alejandra Gallego Narváez, Gloria Milena Muñoz Narváez, Leidy Adriana Castrillón Carvajal. FRESAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS ADICIONADOS CON MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS POR IMPREGNACIÓN AL VACÍO. Fonseca HEC, editor. UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA UNAD; 2019.

107. *Lactobacillus reuteri* (strain DSM 20016) [Internet]. [cited 2021 Feb 13]. Available from: <https://www.uniprot.org/proteomes/UP000001991>

108. Bustos SP, Chamorro JFV. Probióticos en diarrea aguda, asociada a antibióticos y nosocomial: evidencia en pediatría. *Revista colombiana de Gastroenterología*. 2018 Apr 11;33(1):41–8.

109. Lönnermark E, Friman V, Lappas G. La ingesta de *Lactobacillus plantarum* reduce ciertos síntomas gastrointestinales durante el tratamiento con antibióticos. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44 n2:106–12.

110. Rodríguez Carrasco J, García-Godos Alcázar P. Capacidad probiótica de bacterias lácticas aisladas de chicha de molle. *Rev Soc Quím Perú*. 2017;83(4):391–402.

111. Barreto FM, An CS, Morimoto HK, Ma BL, Dichi I, da Silva Miglioranza L H. Beneficial effects of *Lactobacillus plantarum* on glycemia and homocysteine levels in postmenopausal women with metabolic syndrome. *Nutrition* [Internet]. 2014 [cited 2021 Feb 13];30(7-8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24613434/>

112. CSIC. Se presenta un nuevo probiótico que protege el intestino de los celíacos [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 13]. Available from: <https://www.csic.es/>

113. CERELA - Centro de Referencia para Lactobacilos [Internet]. [cited 2021 Feb 13]. Available from:

http://www.cerela.org.ar/ciencia/p_enelmercado.htm

114. Céspedes M, Cárdenas P, Staffolani M, Ciappini MC, Vinderola G. Performance in nondairy drinks of probiotic *L. casei* strains usually employed in dairy products. *J Food Sci.* 2013 May;78(5):M756–62.
115. Acid tolerant mutants of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* with improved stability in fruit juice. *LWT - Food Science and Technology.* 2011 May 1;44(4):1012–8.
116. Jungersen M, Wind A, Johansen E, Christensen JE, Stuer-Lauridsen B, Eskesen D. The Science behind the Probiotic Strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12®. *Microorganisms.* 2014 Jun;2(2):92.
117. Raffaella Di Cagno, Giovanna Minervini , Carlo G Rizzello. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiol.* 2011 Aug 1;28(5):1062–71.
118. María J Ruiz. Rocío Colello. Nora L Padola. Efecto inhibitorio de *Lactobacillus* spp. sobre bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista Argentina de Microbiología.* 2017 Apr 1;49(2):174–7.
119. Flores PM. Actividad biológica de factores extracelulares de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* Y *Bifidobacterium longum* sobre la línea celular ht-29 de cáncer de colon humano [maestría en ciencias con acentuación en microbiología]. Universidad autónoma de nuevo león; 2014.
120. J. M. Rodríguez, O. J. Sobrino, A. Marcos. ¿Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal? *Nutr Hosp* [Internet]. 2013;28 n1. Available from: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v28s1/03_original01.pdf
121. Veeranjaneeya Reddy Lebaka. Young Jung Wee. Venkatarami Reddy Narala. Development of New Probiotic Foods—A Case Study on Probiotic Juices. In: *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods.* Academic Press; 2018. p. 55–78.
122. María L. Marco ,Mary Ellen Sanders ,Michael Gänzle. Declaración de consenso de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP) sobre alimentos fermentados. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2021; Available from: <https://www.nature.com/articles/s41575-020-00390-5>
123. Glenn R. Gibson ,Robert Hutkins ,Mary Ellen Sanders. Documento de consenso de expertos: Declaración de consenso de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP) sobre la definición y el alcance de los prebióticos. *Nature Reviews Gastroenterología y Hepatología.* 2017;14:491–502.
124. Kelly S. Swanson ,Glenn R. Gibson ,Robert Hutkins. Declaración

de consenso de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP) sobre la definición y el alcance de los simbióticos. Nature Reviews Gastroenterología y Hepatología. 2020;17:687–701.