



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA

PROGRAMA DE POSTGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

**ELABORACIÓN DE UN CONFITE CON COMPUESTOS
BIOACTIVOS PROVENIENTES DE MIEL DE ABEJA (*Apis
mellifera*) Y PROBIÓTICOS (*Lactobacillus rhamnosus*)**

SAIRA ITZEL COLMENARES CUEVAS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ, MÉXICO

2021

**ELABORACIÓN DE UN CONFITE CON COMPUESTOS BIOACTIVOS
PROVENIENTES DE MIEL DE ABEJA (*Apis mellifera*) Y PROBIÓTICOS
(*Lactobacillus rhamnosus*)**

Saira Itzel Colmenares Cuevas

La presente tesis, titulada: **Elaboración de un confite con compuestos bioactivos provenientes de la miel de abeja (*Apis mellifera*) y probióticos (*Lactobacillus rhamnosus*)**, realizada por la alumna: **Saira Itzel Colmenares Cuevas**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:



DRA. ADRIANA CONTRERAS OLIVA

ASESOR:



DR. JOSAFHAT SALINAS RUIZ

ASESOR:



DR. JUAN VALENTE HIDALGO CONTRERAS

ASESOR:



DR. ENRIQUE FLORES ANDRADE

Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, agosto 2021

**Elaboración de un confite con compuestos bioactivos provenientes de miel de abeja
(*Apis mellifera*) y probióticos (*Lactobacillus rhamnosus*)**

Saira Itzel Colmenares Cuevas

Colegio de Postgraduados 2021

La búsqueda de confitería más saludable por parte de los consumidores ha dado la oportunidad a la industria de la confitería para innovar y crear dulces con menor contenido de azúcar, adicionando vitaminas, antioxidantes o algún componente biológico. Esta investigación tuvo como objetivo desarrollar un malvavisco adicionado con miel de abeja (*Apis mellifera*) y probióticos (*Lactobacillus rhamnosus*), además de evaluar el efecto de la miel y los grados bloom de la gretina en las características del malvavisco. Se realizó un experimento completamente al azar con estructura factorial para estudiar las propiedades fisicoquímicas (densidad, humedad, cenizas, pH, grados brix, textura), viabilidad del probiótico, contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en los malvaviscos elaborados con diferentes concentraciones de miel (0, 50 y 75%) y a diferentes grados bloom de gretina (265, 300 y 315 grados bloom). La actividad antioxidante se midió por el método DPPH y el contenido de fenoles por Folin-Ciocalteu. La concentración de miel y los grados bloom de la gretina no mostraron diferencia significativa en la textura y viabilidad del probiótico; sin embargo, fue el caso contrario para la densidad, cenizas, pH y grados brix. La actividad antioxidante total y el contenido de compuestos fenólicos totales fueron mayores en los tratamientos con miel en comparación con las muestras con ausencia de esta; mientras que los grados bloom no mostraron diferencia significativa en el contenido de actividad antioxidante total, aunque si tuvieron efecto en el contenido de compuestos fenólicos totales. Los malvaviscos con miel son una opción más nutritiva para el consumidor y una oportunidad para la industria confitera.

Palabras clave: coacervación, espuma alimentaria, paraprobóticos, grados bloom

Development of a confectionery with bioactive compounds from honey (*Apis mellifera*) and probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*)

Saira Itzel Colmenares Cuevas, M. C.

Colegio de Postgraduados 2021

The search for healthier confectionery by consumers has given the confectionery industry the opportunity to innovate and create sweets with lower sugar content, adding vitamins, antioxidants or some biological component. This research aimed to develop a marshmallow added with honey (*Apis mellifera*) and probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*), in addition to evaluating the effect of honey and bloom grades of gelatin. A completely randomized experiment with factorial structure was carried out to study the physicochemical properties (density, humidity, ash, pH, brix degrees, texture), viability of the probiotic, content of antioxidant activity and total phenols in marshmallows made with different concentrations of honey. (0, 50 and 75%) and to different bloom grades of gelatin (265, 300 and 315 bloom grades). The antioxidant activity was measured by the DPPH method and the phenol content by Folin-Ciocalteu. The concentration of honey and bloom degrees of gelatin did not show significant difference between the texture and viability of the probiotic; however, the opposite was the case for the content ash, density, pH, degrees brix. The content of total antioxidant activity and total phenolic compounds was higher in the treatments with honey compared to the samples with its absence; While the bloom grades did not show a significant difference in the content of total antioxidant activity, the opposite was in the content of total phenolic compounds. Marshmallows with honey are a more nutritious option for the consumer and an opportunity for the confectionery industry.

Keywords coacervation, food foam, paraprobiotics, bloom grades

DEDICATORIA

A mí familia, mis padres Emiliano y Catalina, a mis hermanos Emmanuel y Héctor, quienes me apoyaron en esta etapa de mi vida y creyeron en mí.

A mis amigos que estuvieron en esta trayectoria aun en la distancia.

Saira Itzel Colmenares Cuevas

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida, salud y sabiduría a lo largo de este proceso.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por apoyar el desarrollo científico en México, y permitirme realizar mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba. A la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento 2 (LGAC-2), en Innovación y Desarrollo de Procesos Agroalimentarios para el bienestar social del programa de Posgrado de la Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable

A la Dra. Adriana Contreras Oliva, por su confianza, paciencia, y tiempo brindado a lo largo del proceso.

Al Dr. Josafhat Salinas Ruíz, al Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras y al Dr. Enrique Flores Andrade como parte de mi concejo particular.

Al laboratorio de Lácteos, Extractos, Alimentos y especialmente a la QFB. Laura Bautista Hernández por el apoyo, confianza y facilitaciones de equipos y reactivos necesarios para este experimento.

Al personal del Colegio de Postgraduados por las atenciones.

A mis amigos y compañeros del posgrado que estuvieron presentes en este proceso.

CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	1
2	MARCO TEÓRICO.....	4
2.1	Confitería.....	4
2.1.1	Malvavisco	5
2.1.2	Riesgo para la salud de alimentos con alto contenido de azúcar	7
2.2	Alimentos funcionales.....	7
2.2.1	Miel	9
2.2.1.1	Actividad antioxidante.....	10
2.2.1.2	Miel como endulzante.....	14
2.2.1.3	Productos formulados con miel	14
2.2.2	Probióticos.....	15
2.2.2.1	Beneficios del consumo de probióticos	15
2.2.2.2	Mecanismos de acción	16
2.2.2.3	Genero <i>Lactobacillus</i>	17
2.2.2.4	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	18
2.2.2.5	Alimentos enriquecidos con probióticos.....	22
2.2.2.6	Viabilidad de los probióticos en procesamiento	25
2.3	Encapsulación.....	26
2.3.1	Métodos.....	26
2.3.2	Coacervación.....	27
2.3.3	Materiales de recubrimiento o pared.....	28
2.3.3.1	Alginato	28
2.3.3.2	Grenetina.....	30
2.3.3.3	Mucílago de nopal	31
2.3.4	Encapsulación de probióticos.....	32
3	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	33
3.1	Hipótesis	33
3.2	Objetivo general	33
3.3	Objetivos específicos.....	33
4	MATERIALES Y MÉTODOS	34

4.1	Materiales utilizados.....	34
4.2	Caracterización de miel de abeja <i>Apis mellífera</i>	34
4.2.1	Color.....	34
4.2.2	Potencial de hidrogeno (pH)	35
4.2.3	Acidez total	35
4.2.4	Cenizas	35
4.2.5	Conductividad eléctrica.....	35
4.2.6	Humedad	35
4.2.7	Azúcares reductores directos.....	35
4.2.8	Hidroximetilfurfural (HMF).....	36
4.2.9	Solidos solubles totales (°Brix).....	36
4.2.10	Viscosidad	36
4.2.11	Determinación de compuestos bioactivos de la miel	36
4.2.11.1	Obtención de extractos.....	36
4.2.11.2	Determinación de actividad antioxidante (AC)	37
4.2.11.3	Curva de calibración	37
4.2.11.4	Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT)	37
4.2.11.5	Curva de calibración	37
4.2.12	Análisis microbiológicos.....	38
4.3	Cinética de crecimiento de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	38
4.4	Activación de <i>L. rhamnosus</i>	38
4.5	Preparación de la solución encapsulante	39
4.6	Encapsulación por coacervación	39
4.7	Elaboración de malvavisco	39
4.8	Análisis fisicoquímicos del malvavisco	42
4.8.1	Densidad.....	42
4.8.2	Cenizas	42
4.8.3	Potencial de hidrógeno (pH)	42
4.8.4	Solidos solubles totales (°Brix).....	42
4.8.5	Humedad	42
4.8.6	Textura	42
4.8.7	Microbiológicos	43

4.8.7.1	Coliformes	43
4.8.7.2	Hongos y levaduras.....	43
4.9	Viabilidad de <i>L. rhamnosus</i> encapsulados en el malvavisco	43
4.10	Determinación de compuestos bioactivos del malvavisco	44
4.10.1	Obtención de extractos.....	44
4.10.2	Determinación de actividad antioxidante (AC).....	44
4.10.3	Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT)	44
4.11	Diseño experimental y análisis estadístico	44
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
5.1	Caracterización de la miel de abeja <i>Apis mellifera</i>	47
5.2	Cinética de crecimiento y activación de <i>L. rhamnosus</i>	51
5.3	Encapsulado.....	52
5.4	Caracterización fisicoquímica del malvavisco	53
5.4.6	Textura	58
5.4.7	Viabilidad.....	60
5.4.8	Capacidad antioxidante (AC).....	64
5.4.9	Compuestos fenólicos totales.....	67
5.4.10	Análisis microbiológicos.....	68
6	CONCLUSIONES	69
7	LITERATURA CITADA.....	70

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación de los dulces.	4
Tabla 2.	Compuestos presentes en la miel.	10
Tabla 3.	Ácidos fenólicos más comunes identificados en la miel.....	12
Tabla 4.	Mecanismos de acción antimicrobiana de algunos ácidos fenólicos encontrados en la miel.....	13
Tabla 5.	Bacterias ácido lácticas de uso común en alimentos probióticos.....	18
Tabla 6.	Casos de aplicación de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	20
Tabla 7.	Productos lácteos con probióticos existentes en el mercado mexicano.	22
Tabla 8.	Productos no lácteos con probióticos comercializados a nivel mundial.	23

Tabla 9. Productos alimenticios adicionados con <i>L. rhamnosus</i> y otros probióticos.	24
Tabla 10. Productos de confitería con probióticos comercializados a nivel mundial.....	25
Tabla 11. Tolerancia de algunos probióticos a diferentes fuentes de estrés.	25
Tabla 12. Métodos de microencapsulación según la naturaleza del proceso.	27
Tabla 13. Sustancias más utilizadas como recubrimientos en la microencapsulación.	28
Tabla 14. Aplicación de alginato para la microencapsulación de probióticos agregados a alimentos.	32
Tabla 15. Tratamientos utilizados en la elaboración de malvaviscos.	40
Tabla 16. Resultados de las propiedades fisicoquímicas de la miel comparados con los valores según la NOM-004-SAG/GAN-2018.	47
Tabla 17. Resultados de pruebas no específicas en la Norma.....	50
Tabla 18. Resultados proximales obtenidos para los nueve tratamientos de malvavisco expresados como medias \pm error estándar.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Beneficios de la miel en la salud.	11
Figura 2. Principales funciones de los probióticos.....	16
Figura 3. Mecanismos de interacción entre la microbiota, los probióticos y el huésped.....	17
Figura 4. Modelo “caja de huevo” que describe la estructura del alginato.....	30
Figura 5. Diagrama de flujo para la elaboración de malvaviscos	41

LISTA DE GRAFICOS

Gráfico 1. Resultados de la cinética de crecimiento de <i>L. rhamnosus</i> y pH en caldo MRS a 32 °C.....	52
Gráfico 2. Resultado del porcentaje de humedad de los diferentes tratamientos de malvaviscos en los diferentes días de almacenamiento..	57
Gráfico 3. Resultados de la dureza en los diferentes tratamientos de malvavisco.....	59
Gráfico 4. Resultados de cohesión en los diferentes tratamientos de malvavisco..	60
Gráfico 5. Resultados del análisis de viabilidad de <i>L. rhamnosus</i> en el malvavisco durante el tiempo de almacenamiento.....	61

Gráfico 6. Resultados de la actividad antioxidante de los diferentes tratamientos de malvavisco durante el tiempo de almacenamiento.....	66
Gráfico 7. Resultados del contenido de fenoles totales de los diferentes tratamientos de malvavisco.....	68

1. INTRODUCCIÓN

El mercado mundial de la confitería se valoró en 201.3 billones de dólares en el 2019 y se proyecta que alcance 270.5 billones de dólares para el 2027 con una tasa anual del 3.6%. Mientras que, el segmento de golosinas medicinales pronostica tener un crecimiento anual más rápido, de 4.1% durante el periodo de pronóstico (2019-2027) (Thorat y Deshmukh, 2020).

En la confitería se encuentran los productos aireados, estos implican hacer una espuma y estas son estructuras de un gas (generalmente aire) en un líquido. Para que se pueda formar la espuma es necesario de algunos ingredientes como albumina de huevo, un agente gelificante y una solución supersaturada de sacarosa (Colquichagua, 1999; Edwards, 2000). En el 2017 la categoría de preferencia se consolidó en dulces típicos con 7.7%, seguido de malvaviscos con 3.6% (Rodríguez M. A., 2018).

Sin embargo, el consumo de alimentos con azúcares añadidos puede dar lugar a problemas de salud como malnutrición, obesidad (no existe una causa individual para la obesidad, pero el azúcar añadido contribuye al problema), aumento de triglicéridos y caries dentarias (Mayo Clinic, 2021).

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018) expresó que la malnutrición abarca desnutrición, desequilibrios de vitaminas o minerales, sobrepeso, obesidad y enfermedades no transmisibles relacionadas con la alimentación.

La obesidad es definida como una expansión masiva del tejido adiposo que generalmente se asocia con alteraciones metabólicas, incluyendo trastornos en la homeostasis de glucosa (intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2), enfermedades cardiovasculares (hipertensión, dislipidemia y trastornos de fibrinólisis), enfermedad de hígado

graso no alcohólico; entre otras (Ogden *et al.*, 2007). La OMS menciona que la obesidad está relacionada con algunos tipos de cáncer (endometrio, mama, ovarios, próstata, vesícula biliar, riñón y colon) (OMS, 2021).

De acuerdo con lo reportado por la OMS, en el 2016 más de 1900 millones (39%) de adultos mayores de 18 años tenían sobrepeso y 650 millones (13%) eran obesos, mientras tanto se estimó con sobrepeso u obesidad un total de 41 millones de niños menores de 5 años y 340 millones de niños y adolescentes entre 5 a 19 años (OMS, 2021).

En México el 73% de la población adulta padece de obesidad y sobrepeso (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos [OCDE], 2020), 1 de cada 20 infantes menores de 5 años y 1 de cada 3 entre 6 a 19 años padece de obesidad o sobrepeso, lo que coloca a México en el primer lugar de obesidad infantil (Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia [UNICEF], 2018).

Por lo anterior, se han desarrollado alimentos funcionales que pueden ayudar a controlar el peso, niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos (Amador Marti, 2021). Dentro de la clasificación de los alimentos funcionales están los “alimentos o bebidas a los que se le ha reducido o eliminado un componente” (lácteos descremados, reducidos en sodio, sin azúcar, sin lactosa, etc.), y los “alimentos o bebidas a los que se le ha agregado un componente” (omega-3, fibra, componentes biológicos, antioxidantes, etc.).

La miel es un edulcorante natural que aporta antioxidantes, por lo que puede ser una opción ideal en la elaboración de un alimento funcional (Martínez, 2019). Otro componente que puede incluir un alimento funcional son los probióticos, los cuales son microorganismos vivos

que, administrados en cantidades adecuadas, generan un beneficio para la salud (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2002).

Sin embargo, los probióticos presentan alta susceptibilidad a tratamientos térmicos, almacenamientos y condiciones gastrointestinales, por lo que es necesario aplicar tecnologías que favorezcan la estabilidad y viabilidad para permanecer fisiológicamente activos al momento del consumo. Las técnicas de encapsulación son una alternativa para proteger estos microorganismos (Rodríguez *et al.*, 2016).

Con base a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue el desarrollo de un malvavisco enriquecido con antioxidantes provenientes de miel y *Lactobacillus rhamnosus* encapsulados.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Confitería

Los productos de confitería son aquellos que contienen sacarosa u otros azúcares comestibles como glucosa, fructosa, etc. (Mejorado, 2006; González Mejía, 2008).

La confitería en México se divide en dos subsectores: dulces de azúcar y chocolate. De acuerdo con la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM, 2018), las golosinas o dulces de azúcar se clasifican como se describe en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los dulces.

Clasificación	Descripción
Caramelo duro	Elaborados por cocción de una mezcla de azúcar, glucosa u otros edulcorantes y agua, adicionados de sabor, color, ácido y otros aditivos, entre los que se pueden encontrar los rellenos.
Caramelo suave	También conocidos como “chiclosos” y son de textura elástica moldeable. Pueden contener leche, grenetina o almidones modificados. Son característicos por su contenido de grasa, suavidad y plasticidad.
Dulces típicos	Palanquetas, dulces de leche, dulces a base de frutas y frutas cristalizadas que se fabrican de forma artesanal.
Comprimidos	Se fabrican con ingredientes en polvo, principalmente sacarosa, dextrosa, ácidos, color y sabor, además de agentes compactadores.
Gomitas	Contienen entre 8 y 18% de humedad. Para su fabricación se utiliza grenetina, almidón y pectina, entre otros.
Confitados	También llamados como “grageados” por el equipo que se utiliza para cubrirlos. Son cubiertos de azúcar, chocolate o una combinación de estos.
Malvaviscos	Productos elaborados mediante la cocción de azúcar, glucosa u otros edulcorantes y agua, adicionada de gomas o grenetina y agentes espumantes.

Paletas	Hechos con gomitas, comprimidos o caramelos suaves.
Gomas de mascar	Elaboración con gomas naturales o sintéticas, polímeros y copolímeros, y adicionados con otros ingredientes.

Fuente: Legiscomex.com (2009)

Otra clasificación de productos de confitería según Bedolla Bernal *et al.* (2004) es: 1) confites o confituras: masas homogéneas de edulcorantes (se subclasifican en caramelos duros, caramelos suaves o masticables y dulces aireados) y 2) confitados: masas generalmente dulces con capas superficiales de edulcorantes.

2.1.1 Malvavisco

Edwards (2000) define al malvavisco como un producto de confitería aireado que lleva consigo la obtención de una espuma y posteriormente su estabilización. Este confite es considerado como una espuma, al igual que la crema batida, merengues, miga de pan, pasteles, espuma de cerveza y helado (Garrido Islas y Güemes Vera, 2017). Uno de los ingredientes para conseguir una espuma adecuada es la albúmina de huevo (capacidad espumante 240%) y un agente gelificante como la grenetina (capacidad espumante de 760%) (Gálvez Mariscal *et al.*, 2006).

Los dulces aireados son masas de azúcar con un contenido de sólidos de 85% con adición de gelificantes. La mezcla se bate para atrapar volumen de aire, formándose una emulsión gas-líquido (Fennema y Tannenbaum, 1985; González Mejía, 2008). Para estabilizar la espuma se utilizan agentes de batido (generalmente de naturaleza proteica como albúminas y grenetinas). Las proteínas como estabilizador se interrelacionan en la superficie de la interfase gas-líquido, por consecuencia, al aumentar el tiempo de batido disminuye la densidad, aumenta su

viscosidad y aumenta la superficie de la interfaz, formando burbujas de aire sumamente pequeñas (Fennema y Tannenbaum, 1985).

Otros estabilizadores de espuma son agentes espesantes o gelificantes como los almidones, pectinas y grenetina. Estos actúan incrementando la viscosidad de la fase continua o formando una red tridimensional que retarda el movimiento de los componentes dentro de la espuma. La glucosa, sacarosa y lactosa son azúcares de bajo peso molecular que, a concentraciones suficientemente altas, pueden estabilizar espumas aumentando la viscosidad de la fase continua (Walsh *et al.*, 2008). Sin embargo, al exceder tiempo de batido se puede lograr la separación de fases (Fennema y Tannenbaum, 1985).

Por otro lado, existen factores que afectan a las propiedades espumantes de las proteínas como el pH, composición y concentración de la proteína, el tipo y concentración de sal, los lípidos, el tipo y concentración de carbohidratos, el método de formación de espuma (duración y tiempo de batido) y la viscosidad de la fase líquida. Además, las espumas son termodinámicamente inestables y con el tiempo pueden desestabilizarse (Walsh *et al.*, 2008).

A pesar de que la albúmina de huevo es una proteína con buena capacidad para formar espuma, no es estable por periodos largos de tiempo ya que colapsa. Sin embargo, la adición de la grenetina más el azúcar hace que en el proceso se forme un complejo de proteína-agua-azúcar, lo que permite que lo que se encuentre alrededor de la burbuja sea muy estable, debido a que la azúcar hidratada actúa como un anclaje y esto evita la pérdida de estructura o coalescencia de las burbujas formadas (Valdivia, 2014).

Los malvaviscos se pueden elaborar usando el método discontinuo o el método continuo; el primero consiste en una cocción de azúcar y jarabe de glucosa a temperatura adecuada, se

enfria y se aade una disoluci3n del agente gelificante, la mezcla se bate y se deposita en moldes con almid3n. El m3todo continuo es de igual manera una cocci3n de la mezcla de az3car, jarabe de glucosa y en ocasiones az3car invertido, despu3s se enfria a 66 °C, enseguida se aaden el agente o agentes gelificantes y espumantes y se va mezclando en una batidora, tambi3n se agregan los colorantes y aromas; para la aireaci3n se utiliza aire o gas a una presi3n elevada. Luego se extruye la mezcla a presi3n atmosf3rica, lo que causa una expansi3n (Edwards, 2000).

2.1.2 Riesgo para la salud de alimentos con alto contenido de az3car

La OMS (2021) indica que la ingesta en exceso de az3cares libres (az3cares aadidos) es uno de los principales factores que da lugar al aumento de obesidad y diabetes en el mundo. En el 2016, 41 millones de ni os menores de cinco a os y 340 millones de ni os y adolescentes (5-19 a os) tenan sobrepeso u obesidad; mientras que el 39% de adultos estaban en sobrepeso y 13% tenan obesidad (OMS, 2021).

Delgado Roche *et al.* (2020) mencionan enfermedades que tienen una relaci3n directa con el consumo excesivo de az3car, las cuales son: hiperuricemia, hipertriglicerid3mia y dislipemia, diabetes mellitus, trastorno de d3ficit de atenci3n, alzheimer, depresi3n, enfermedades cardiovasculares e hipertensi3n arterial, problemas odontol3gicos, y algunos tipos de c3ncer, como el c3ncer de p3ncreas.

2.2 Alimentos funcionales

La Fundaci3n Espa oala para la Ciencia y Tecnologa (Juarez *et al.*, 2005) define un alimento funcional como aquel que, adem3s de satisfacer las necesidades b3sicas, proporciona beneficios para la salud o reduce el riesgo de sufrir enfermedades. Estos alimentos constan de componentes fisiol3gicamente activos, que contribuyen al mejoramiento de funciones

fisiológicas, reducen el riesgo de padecer enfermedades y proveen una mejora física y mental de quien los consume (Szakály, 2012).

La Guía de Buena Práctica Clínica en Alimentos Funcionales (Aranceta *et al.*, 2011) clasifica a dichos alimentos en:

- a) Alimentos o bebidas naturales.
- b) Alimentos o bebidas a los que se le ha agregado un componente (omega-3, fibra, componentes biológicos, antioxidantes, etc.).
- c) Alimentos o bebidas a los que se le ha reducido o eliminado un componente (lácteos descremados, reducidos en sodio, sin azúcar, sin lactosa, etc.).
- d) Alimentos o bebidas a los que se ha variado la naturaleza de uno o más componentes (p. ej., leche con fitoesteroles).
- e) Alimentos en los que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes.
- f) Alimentos o bebidas que reúnen más de una característica mencionada anteriormente.

Algunos ingredientes funcionales son proteínas, lípidos, probióticos, prebióticos, simbióticos; otras sustancias de origen natural con efectos funcionales son el calcio, fibra, jalea real, compuestos antioxidantes, entre otros.

Beltrán de Heredia (2016) menciona que un alimento funcional debe tener las siguientes características:

- Se presenta en forma de alimentos de consumo cotidiano.
- Su consumo no produce efectos nocivos.
- Cuenta con propiedades nutritivas y beneficiosas para el organismo.
- Reduce y/o previene el riesgo de contraer enfermedades, además, mejora el estado de salud de quien lo consume.

- Deben poder demostrarse sus efectos beneficiosos.

2.2.1 Miel

La Norma Oficial Mexicana sobre producción de miel y especificaciones (NOM-004-SAG/GAN-2018) describe a la miel como “la sustancia dulce natural producida por abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure o pueda añejarse”.

La miel se encuentra en distintos estados físicos, con diferentes aromas y sabores y una amplia gama de colores y tonalidades. Estas características dependerán de las plantas y flores que dio procedencia al néctar (origen botánico) (Schneiter *et al.*, 2015).

La miel se compone de una dispersión acuosa de partículas de tamaños diferentes, desde iones inorgánicos y azúcares en disolución, hasta macromoléculas de proteínas y polisacáridos en dispersión coloidal y granos de polen procedentes de la flora (Piana *et al.*, 1989). Contiene además enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos y cera (Tabla 2). En total, se han identificado 181 sustancias, algunas exclusivas de la miel (Crane, 1980).

Tabla 2. Compuestos presentes en la miel.

Compuestos	Contenido
Hidratos de carbono	75-80%, los azúcares principales de la miel son la fructosa (aprox. 35-40%) y glucosa (30-35%). Otros azúcares presentes son los disacáridos como la sacarosa (aprox. 5-10%) y la maltosa, y el trisacárido melecitosa.
Agua	15-20%.
Proteínas	Hasta 0.4%, son enzimas para la transformación del néctar en miel, tanto propias de la abeja como otras de origen vegetal.
Minerales	1%, entre los que destacan potasio, calcio, sodio, magnesio, silicio, fósforo y trazas de oligoelementos como zinc, molibdeno y yodo.
Vitaminas	Vitaminas del grupo B, como tiamina, niacina, riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina y biotina; y vitamina C.

Fuente: Código Alimentario Argentino [CAA],(2013).

Por otra parte, la miel es un alimento que ha tenido gran importancia en la sociedad, cultura, economía y religión. La apicultura en nuestro país es de gran importancia económica y social ya que dependen directamente de ella más de 43 mil apicultores. México se encuentra dentro de los 10 principales países productores de miel (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER], 2020). El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) informó que la producción de miel en el país fue de 47.7 mil toneladas en el año 2020. Por su calidad y sabor, la miel de nuestro país es una de las que tiene mayor demanda comercial en los mercados internacionales, siendo México el tercer proveedor internacional de este edulcorante natural (GOULA, 2021).

2.2.1.1 Actividad antioxidante

Los compuestos que influyen en el olor, color y sabor de las mieles son principalmente, ácidos orgánicos, aldehídos y polifenoles, además de los azúcares que originan el dulzor.

Además de ser un endulzante natural también es considerado un superalimento por el aporte enzimático y antioxidante que contiene (Martínez, 2019). La miel como antioxidante presenta propiedades preventivas contra muchas afecciones clínicas. En la Figura 1 se muestran algunos de los efectos terapéuticos de la miel.

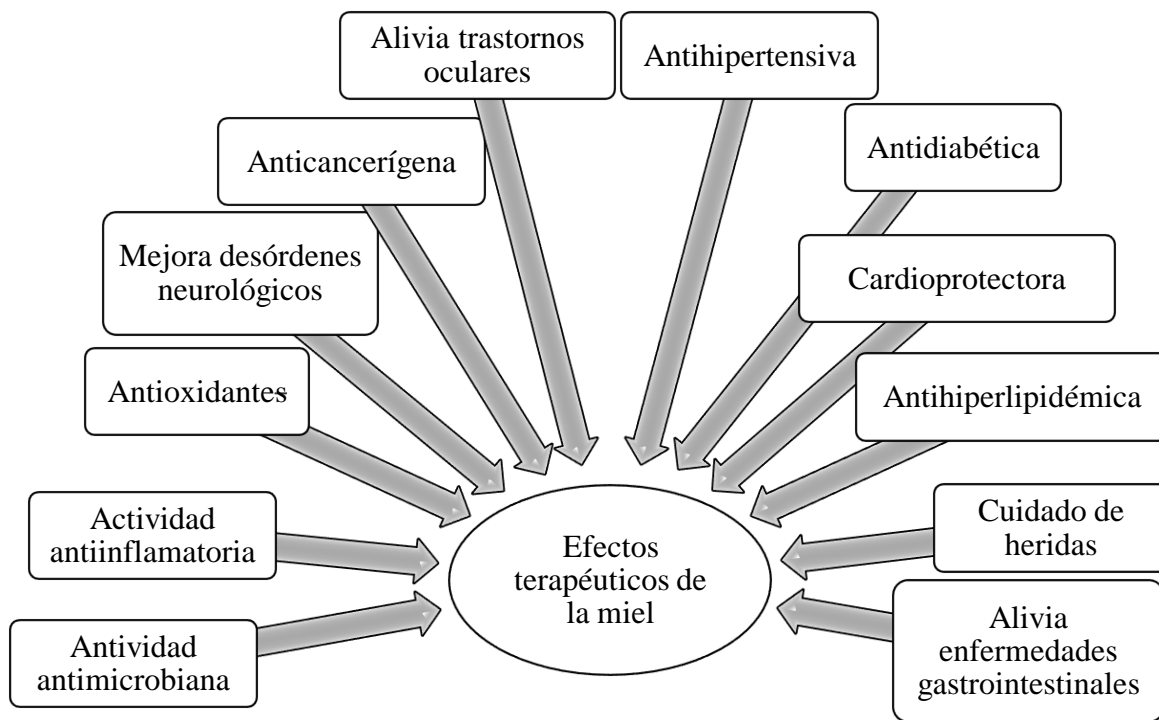
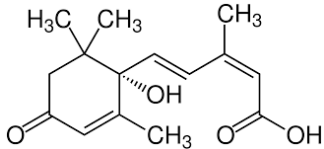
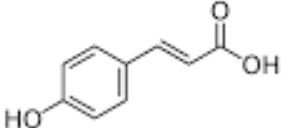
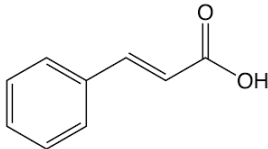
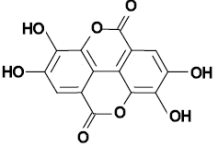
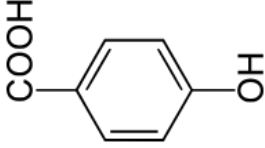
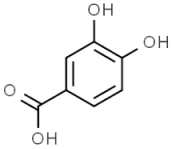
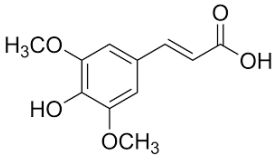
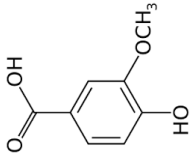


Figura 1. Beneficios de la miel en la salud.

Fuente: Visweswara Raoa *et al.* (2016)

Los compuestos fenólicos en la miel son ácidos fenólicos y flavonoides, los cuales se consideran marcadores potenciales para determinar el origen botánico de la miel (Alvarez-Suarez *et al.*, 2010), y propiedades funcionales, las cuales presentan actividad antiinflamatoria, antitrombótica, inmunomoduladora y analgésica. En la Tabla 3 se muestran algunos de los ácidos fenólicos más comunes identificados en la miel.

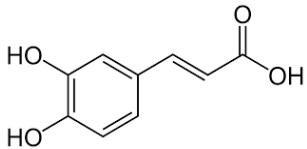
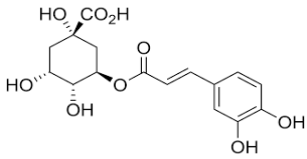
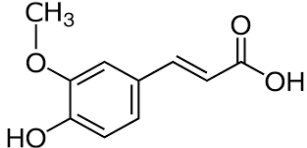
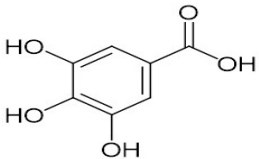
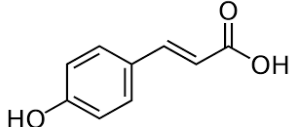
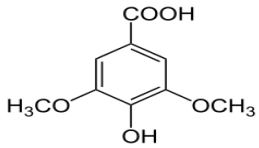
Tabla 3. Ácidos fenólicos más comunes identificados en la miel.

Ácido fenólico	Formula	Estructura
2-cis,4-ácido trans abscísico	$C_{15}H_{20}O_4$	
Ácido 2-hidroxicinámico	$C_9H_8O_3$	
Ácido cinámico	$C_9H_8O_2$	
Ácido elágico	$C_{14}H_6O_8$	
Ácido p- hidroxibenzoico	$C_7H_6O_3$	
Ácido protocatechico	$C_7H_6O_4$	
Ácido sinápico	$C_{11}H_{12}O_5$	
Ácido vainillico	$C_8H_8O_4$	

Fuente: Cianciosi *et al.* (2018)

Los compuestos fenólicos también han demostrado actividad contra diferentes microorganismos. En las Tabla 4 se mencionan algunos mecanismos de acción de compuestos fenólicos presentes en la miel.

Tabla 4. Mecanismos de acción antimicrobiana de algunos ácidos fenólicos encontrados en la miel.

Ácido fenólico	Mecanismos de acción	Estructura
Ácido cafeico	Estrés oxidativo.	
Ácido clorogénico	Fuga citoplásmica y de nucleótidos provocada por un aumento en la permeabilidad de la membrana.	
Ácido ferúlico	Mal funcionamiento de la membrana celular asociado a variaciones morfológicas.	
Ácido gálico	Fuga intracelular como consecuencia de la alteración de la membrana celular y aumento de la formación de poros.	
Ácido p-cumárico	Ruptura de la membrana celular y acoplamiento al ADN bacteriano.	
Ácido siríngico	Disfunción de la membrana celular.	

Fuente: Cianciosi *et al.* (2018) y Vargas-Sánchez *et al.* (2013)

2.2.1.2 Miel como endulzante

La miel tradicionalmente se ha usado en la preparación de alimentos, sin embargo, se ha sustituido en muchos casos por azúcar, jarabes dulces o por edulcorantes artificiales o naturales que son más económicos (Krell, 1996). Sin embargo, la miel ha retomado importancia por la tendencia del consumo de productos más naturales y orgánicos (Ramos Díaz y Pacheco López, 2016).

La miel posee un poder edulcorante mayor que la azúcar por lo que realza sabores (Nayik, Dar, y Nanda, 2019), también contribuye a mantener húmedos los alimentos y mejorar la textura de los productos horneados (Tong *et al.*, 2010), además, puede ser útil como protectora de alimentos, principalmente para prevención del pardeamiento enzimático (Viuda-Martos *et al.*, 2008).

2.2.1.3 Productos formulados con miel

La miel se ha usado en diversos productos alimentarios, fármacos y cosméticos. En el ramo alimentario la miel se ha usado para algunas bebidas alcohólicas elaboradas con miel como hidromiel, aguamiel o vino de miel, las cuales tienen un contenido de alcohol de 8 a 18% (Ramalhosa *et al.*, 2011).

Artesanalmente la miel es empleada en recetas caseras para la elaboración de dulces tradicionales mexicanos como caramelos duros y paletas; también es usada como aglomerante y endulzante en la elaboración de palanquetas de cacahuete, semillas de calabaza, ajonjolí, nuez y alegrías de amaranto. Dentro de los nuevos productos con miel se encuentran los popotes con miel natural o combinados con chamoy, esencia de limón o propóleo; otras nuevas presentaciones son en forma de perlas con propóleo, clorofila o chamoy (Ramos Díaz y Pacheco López, 2016).

La miel también es usada en la industria farmacéutica y cosmética. En el mercado existen ungüentos, vendas, gasas, alginato, suspensiones coloidales, gel antibacterial, gel en hojas y material para curación adicionados con miel (Scagnelli, 2016). Algunos productos cosméticos a base de miel son ungüentos para labios, leches de tocador, cremas hidratantes, lociones, tónicos, shampoos y acondicionadores.

2.2.2 Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, generan un beneficio para la salud (FAO, 2002). Para que un microorganismo se considere probiótico deberá tener estos criterios: ser de origen humano, no ser patogénico por naturaleza, ser resistente a la destrucción por procesamientos térmicos, ser resistente a la destrucción por el ácido gástrico y por la bilis, tener la capacidad de colonizar el tracto gastrointestinal, modular respuestas inmunes e influenciar actividades metabólicas humanas (Division, 2006; Hernández Hernández *et al.*, 2015; Olveira y González-Molero, 2016).

2.2.2.1 Beneficios del consumo de probióticos

Los beneficios inmunológicos de los probióticos son: activación de los macrófagos locales para que aumenten la presentación de antígenos a los linfocitos B y que aumenten la secreción de inmunoglobulina A (IgA), tanto a nivel local como sistémico; modulación del perfil de citoquinas, e inducción a la tolerancia a antígenos alimentarios (World Gastroenterology Organisation [WGO], 2017).

Los beneficios no inmunológicos de los probióticos son: digieren el alimento y compiten con los patógenos por nutrientes, alteran el pH local para crear un ambiente local desfavorable para los patógenos, producen bacteriocinas que inhiben a los patógenos, eliminan los radicales superóxidos, estimulan la producción de mucina por parte del epitelio, mejoran la función de la

barrera intestinal, compiten por la adherencia de los patógenos, y modifican las toxinas de los patógenos (WGO, 2017). Algunas funciones de estos microorganismos se presentan en la Figura 2.

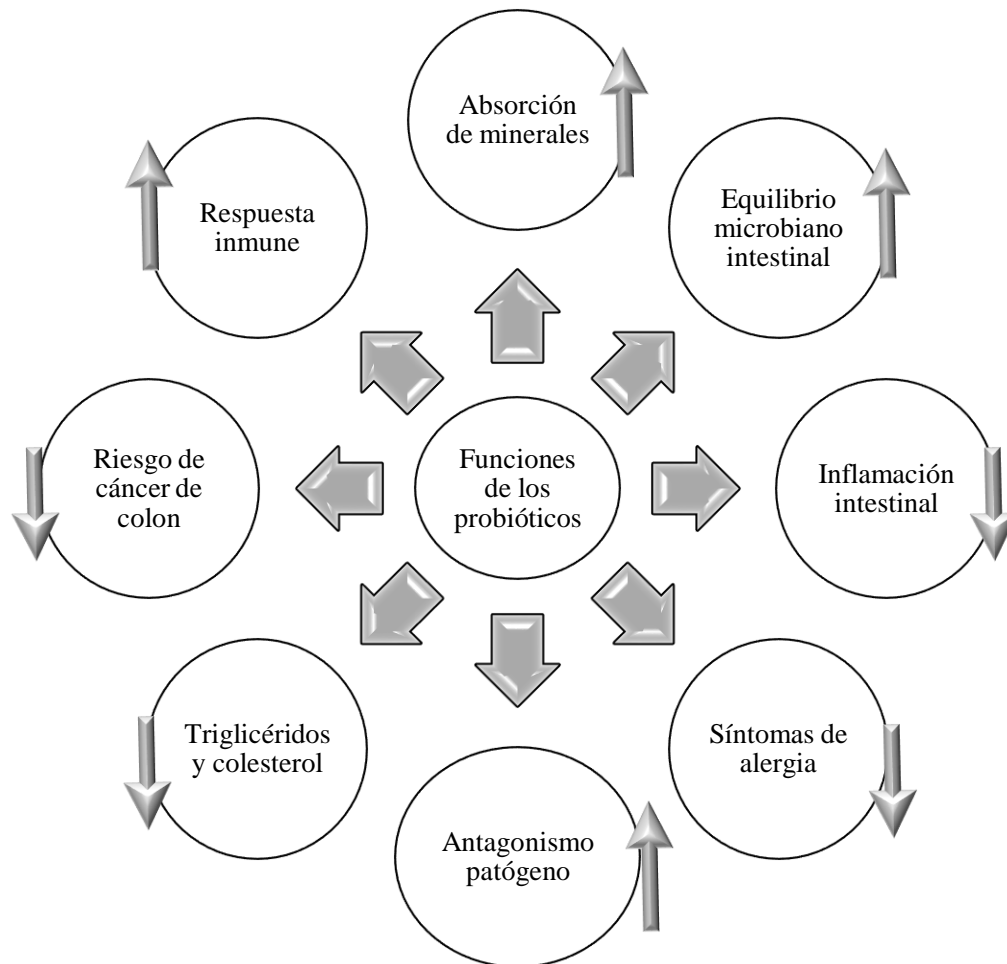


Figura 2. Principales funciones de los probióticos.

La flecha hacia arriba (↑) significa aumento y la flecha hacia abajo (↓) significa disminución.

Fuente: Elaboración propia con información de Reddy Lebaka *et al.* (2018).

2.2.2.2 Mecanismos de acción

Los mecanismos de acción de los probióticos consisten en perturbar el ecosistema intestinal al afectar los mecanismos inmunológicos de la mucosa, interactuando con microorganismos comensales o potencialmente patógenos, generando metabolitos finales como

ácidos grasos de cadena corta, y comunicándose con las células del huésped por medio de señales químicas (Figura 3). Esto puede conducir al antagonismo de patógenos, a un mejor ambiente intestinal, al reforzamiento de la barrera intestinal, a la regulación negativa de la inflamación y a la regulación positiva de la respuesta inmunitaria a provocaciones antigénicas (WGO, 2017).

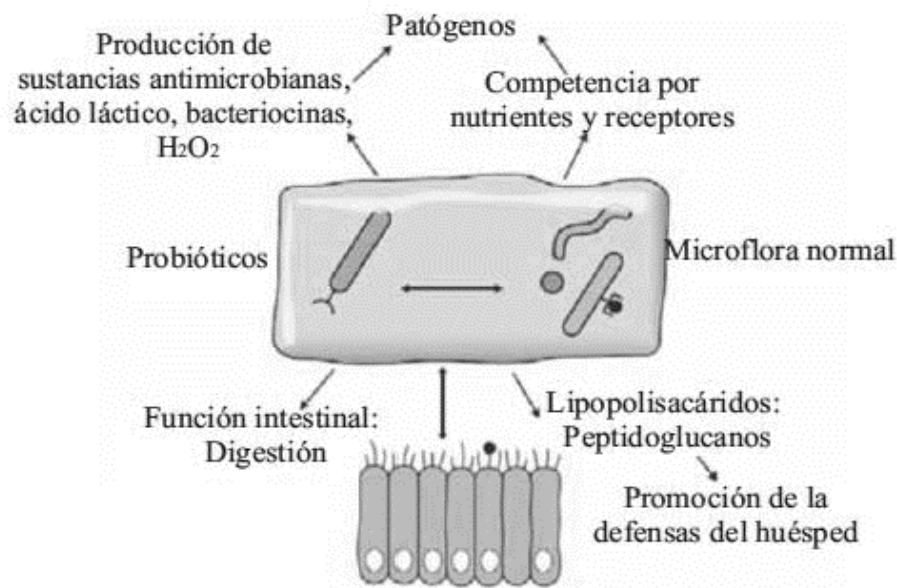


Figura 3. Mecanismos de interacción entre la microbiota, los probióticos y el huésped.

Fuente: WGO (2017).

2.2.2.3 Genero *Lactobacillus*

Los probióticos son bacterias ácido lácticas que pertenecen a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, las cuales se han clasificado con base a sus propiedades morfológicas, temperaturas de crecimiento y capacidades fermentadoras. Los *Lactobacillus* son bacilos gram positivos, no esporulados, aerotolerantes, acidotolerantes y catalasa negativa (Salazar *et al.*, 2003). En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.5** se muestran las principales cepas de probióticos más comunes agregadas a productos lácteos.

Tabla 5. Bacterias ácido lácticas de uso común en alimentos probióticos.

Bacteria probiótica	Especie
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus jhonsoni</i> NCC533, <i>L. casei</i> Shirota, <i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. acidophilus</i> LA-5, <i>L. reuteri</i> ATTC 55730, <i>L. brevis</i> KB290, <i>L. casei</i> DN-114 001, <i>L. plantarum</i> 299v, <i>L. delbrueckii</i> ssp., <i>L. cellobiosus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. brevis</i> .
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> BB536, <i>B. animalis</i> ssp., <i>B. lactis</i> BB-12, <i>B. infantis</i> 35624, <i>B. animalis</i> DN173 010 (" <i>Bifidisregularis</i> "), <i>B. bifidum</i> , <i>B. adolescentis</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. thermophilum</i> , <i>B. longum</i> .
<i>Esterococcus</i>	<i>Ent. faecalis</i> , <i>Ent. Faecium</i> .
<i>Streptococcus</i>	<i>S. cremoris</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. diacetylactis</i> , <i>S. intermedius</i> .

Fuente: Tripathi y Giri (2014); Castillo-Escandón *et al.* (2020).

2.2.2.4 *Lactobacillus rhamnosus*

Lactobacillus rhamnosus es una bacteria gram positiva, no formadora de esporas y catalasa negativa. Crece en un rango de pH de 4.5 a 6.4 (Valík *et al.*, 2008). Su metabolismo es heterofermentativo facultativo, es decir, producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas, pero además pueden degradar algunas pentosas produciendo ácido láctico, ácido acético y/o etanol (Oude Elferink *et al.*, 1999). Esta bacteria está dentro del grupo funcional de Bacterias Ácido Lácticas (BAL). Las BAL son bacterias que fermentan carbohidratos produciendo principalmente ácido láctico como metabolito final. Esta bacteria tiene forma de varilla que va de 0.8 a 1.0 μm de ancho y 2.0 a 4.0 μm de longitud. Crece de forma individual o en cadenas cortas, no posee flagelo (Lira Gómez, 2020).

La Organización Mundial de Gastroenterología (WGO 2017) y la Asociación Científica Internacional para Probióticos y Prebióticos (ISAPP, 2021) han declarado evidencia de la

eficacia del *Lactobacillus rhamnosus* en el tratamiento de diversas enfermedades. En la Tabla 6 se muestran algunos estudios sobre la aplicación de forma individual de *Lactobacillus rhamnosus*, y en conjunto con otras cepas, en el tratamiento de diferentes enfermedades o trastornos de salud.

Tabla 6. Casos de aplicación de *Lactobacillus rhamnosus*.

Aplicación	Cepa de probiótico	Referencia
Tratamiento de diarrea aguda en adultos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. paracasei</i> B 21060 • <i>L. rhamnosus</i> GG 	Grossi <i>et al.</i> (2010) Hempel <i>et al.</i> (2012)
Diarrea asociada a antibióticos en adultos y nivel pediátrico	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. rhamnosus</i> GG 	Szajewska <i>et al.</i> , (2016)
Prevención de diarrea asociada a <i>Clostridium difficile</i> (o prevención de recurrencia) en adultos y nivel pediátrico	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. rhamnosus</i> HN001 + <i>L. acidophilus</i> NCFM • <i>L. rhamnosus</i> GG 	Lahtinen <i>et al.</i> (2012) Szajewska y Kołodziej (2015)
Terapia coadyuvante para la erradicación de <i>Helicobacter pylori</i> (HP)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. rhamnosus</i> GG • <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (DSM15954) + <i>L. rhamnosus</i> GG 	Dang <i>et al.</i> (2014) Hauser <i>et al.</i> (2015)
Enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. casei</i>, <i>L. rhamnosus</i>, <i>Streptococcus thermophilus</i>, <i>Bifidobacterium breve</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>B. longum</i>, y <i>L. bulgaricus</i> + fructo-oligosacáridos 	Eslamparast <i>et al.</i> (2014)
Síndrome del intestino irritable (SII)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. rhamnosus</i> NCIMB 30174, <i>L. plantarum</i> NCIMB 30173, <i>L. acidophilus</i> NCIMB 30175, y <i>Enterococcus faecium</i> NCIMB 30176. • <i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. rhamnosus</i> LC705, <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> JS DSM 7067, <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb12 DSM 15954 	Sisson <i>et al.</i> (2014) Ford <i>et al.</i> (2014)
Estreñimiento funcional	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bifidobacterium bifidum</i> (KCTC 12199BP), <i>B. lactis</i> (KCTC 11904BP), <i>B. longum</i> (KCTC 12200BP), <i>L. acidophilus</i> (KCTC 11906BP), <i>L.</i> 	Yeun y Lee (2015)

	<p><i>rhamnosus</i> (KCTC 12202BP), y <i>Streptococcus thermophilus</i> (KCTC 11870BP)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fructo-oligosacárido (FOS) y <i>Lactobacillus paracasei</i> (Lpc37), <i>L. rhamnosus</i> (HN001), <i>L. acidophilus</i> (NCFM) y <i>Bifidobacterium lactis</i> (HN019) 	Waitzberg <i>et al.</i> (2013)
Tratamientos de la gastroenteritis aguda a nivel pediátrico	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. rhamnosus</i> GG 	Szajewska <i>et al.</i> (2014)
Tratamiento en niños con desnutrición grave	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. rhamnosus</i> GG 	Sevilla Paz Soldan <i>et al.</i> (2011)

2.2.2.5 Alimentos enriquecidos con probióticos

En México existen diferentes productos lácteos con cepas probióticas, a continuación, en la Tabla 7 se muestran algunos de estos productos.

Tabla 7. Productos lácteos con probióticos existentes en el mercado mexicano.

Marca	Cepa probiótica	Empresa
Chamyto	<i>Lactobacillus Protectus</i>	Nestlé
Yakult Soful LT (bebible sabor fresa y natural)	<i>Lactobacillus casei</i> Shirota y <i>Streptococcus thermophilus</i>	Yakult
Yakult Soful LT (sabor fresa y natural)	<i>Lactobacillus casei</i> Shirota y <i>Streptococcus thermophilus</i>	Yakult
ACTIVIA menos azúcar (natural)	<i>Bifidobacterias animalis</i> spp. <i>lactis</i> DN173 010	Danone
ACTIVIA más fruta, menos azúcar (fresa)	<i>Bifidobacterias animalis</i> spp. <i>lactis</i> DN173 010	Danone
ACTIVIA sin azúcar (ciruela pasa, fresa)	<i>Bifidobacterias animalis</i> spp. <i>lactis</i> DN173 010	Danone
ACTIVIA sin azúcar añadida, deslactosado	<i>Bifidobacterias animalis</i> spp. <i>lactis</i> DN173 010	Danone
Gastro Protect (sabor natural y fresa)	<i>Lactobacillus johnsonii</i> (LaConfort ®) y <i>Streptococcus thermophilus</i>	Nestlé
LALA BIO4 (sabor natural y fresa)	<i>Lactobacillus casei</i> y cultivos lácticos	LALA
LALA Bio 4 Balance	<i>Lactobacillus casei</i> y cultivos lácticos	LALA
Yakult y Yakult 40–LT	<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Yakult

Fuente: Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO, 2020).

En el mercado internacional están presentes productos no lácteos con cepas probióticas, en la Tabla 8 se pueden observar algunos de estos productos.

Tabla 8. Productos no lácteos con probióticos comercializados a nivel mundial.

Productos	Cepas	Compañía
Muffins varios sabores	<i>Bacillus coagulans</i>	Flap Jacket
Galletas con chispas de chocolate	<i>Bacillus coagulans</i>	Lesser evil
Galletas de trigo	<i>Bacillus coagulans</i>	Natural products
Palomitas de maíz	<i>B. lactis</i>	Silver Fern
Bebidas de coco y coco combinado con otros sabores	<i>BC30, L. acidophilus, L. casei, L. bulgaricus, B. lactis, B. bifidum, L. rhamnosus, Streptococcus thermophilus</i>	Harmless Harvest
Bebida energizante Innergyc Biotic (quinoa, arroz integral, proteína de chícharo)	<i>L. acidophilus, L. delbrueckii</i>	Body Ecology
Bebida de soya fermentada Bio.K+ ®	<i>L. acidophilus, L. casei, L. rhamnosus</i>	Body Ecology
Cereal para desayuno Special K con frutos rojos y duraznos	<i>B. lactis</i>	Kellogg's
Cereal de avena para bebés con DHA y probióticos	<i>B. lactis</i>	Gerber
Granola con probióticos	<i>Bacillus coagulans</i>	Purely Elizabeth
Té de limón y jengibre	<i>Bacillus coagulans</i>	Bigelow
Canela en polvo	<i>Bacillus coagulans</i>	Eat spice

Fuente: Castillo-Escandón *et al.* (2020); Dey (2018).

En la Tabla 9 se muestra alimentos en el mercado internacional enriquecidos con *L. rhamnosus* de forma individual y en conjunto con otras cepas.

Tabla 9. Productos alimenticios adicionados con *L. rhamnosus* y otros probióticos.

Nombre comercial	Probiótico	Matriz del alimento
Biola	<i>L. rhamnosus</i>	Jugo de fruta
Valio Bioprof	<i>L. rhamnosus</i>	Jugo de fruta
Valio Gefilus	<i>L. rhamnosus</i> GG	Bebida de fruta
Vita Biosa 10+	<i>B. animalis</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> , <i>Lactococcus lactis subs. lactis biovar. diacetylactis</i> , <i>L. pseudomesenteroides</i> , <i>S. thermophilus</i>	Melaza de caña de azúcar orgánica fermentada infundida con té de hierbas especializado
Bravo Easy Kit for Fruit Juice	<i>L. salivarius</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Bifidobacterium</i>	Jugo de fruta
KeVita active probiotic drink	<i>B. coagulans</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. plantarum</i>	A base de frutas y vegetales
Macrolife Macrogreens Superfood Bars	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>B. longus</i> , <i>B. breve</i>	Barra de cereal
SO DELICIOUS	<i>L. bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>B. lactus</i> and <i>S. thermophilus</i>	Yogur de leche de coco cultivado

Fuente: Adaptado de Dey (2018).

Los productos de confitería funcionales son aquellos a los cuales se le ha agregado un ingrediente funcional, el cual actúa sobre funciones corporales específicas, además de ser nutritivo (Orozco Sánchez y Pierdant, 2014). En la Tabla 10 se muestran productos de confitería con probióticos que son comercializados a nivel mundial así como las compañías encargadas de su elaboración.

Tabla 10. Productos de confitería con probióticos comercializados a nivel mundial.

Producto	Cepa	Compañía
Chocolate	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. longum</i>	Sakara
Chocolate dietético	<i>B. lactis</i> HN019	ISOWUEY
Chocolate	<i>Bacillus coagulans</i> 30	Healthy Delight
Chocolate	<i>L. acidophilus</i> Rosell-52 encapsulado	Lal´food
Gomitas, chocolates	<i>Bacillus coagulans</i>	Schif
Snacks de manzana, barras de avena, chocolates	<i>Bacillus coagulans</i>	Bethy Lou´s

Fuente: Castillo-Escandón *et al.* (2020); Dey (2018).

2.2.2.6 Viabilidad de los probióticos en procesamiento

Los probióticos presentan una alta susceptibilidad a factores tecnológicos y ambientales, por lo que es necesario aplicar tecnologías que favorezcan su estabilidad y viabilidad para permanecer fisiológicamente activos al momento del consumo (Rodríguez *et al.*, 2016).

Los géneros *Lactobacillus* han mostrado más resistencia que las *Bifidobacterias* en presencia de sacarosa, oxígeno y bajas temperaturas, tal como se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11. Tolerancia de algunos probióticos a diferentes fuentes de estrés.

Microorganismo	Resistencia a sacarosa	Resistencia a oxígeno	Resistencia a bajas temperaturas
<i>B. bifidum</i> (Bb12)	R	R	R
<i>B. infantis</i> (1912)	ND	ND	R
<i>B. lactis</i> (BLC-1)	ND	R	R
<i>B. lactis</i> (DD920)	ND	ND	R
<i>B. longum</i> (Bb-46)	S	S	S
<i>L. acidophilus</i> (2401)	ND	ND	S

<i>L. acidophilus</i> (DD910)	ND	ND	R
<i>L. acidophilus</i> (La5)	R	R	S
<i>L. acidophilus</i> (L10)	ND	ND	R
<i>L. casei</i> (Lc01)	R	R	R
<i>L. johnsoni</i> (La1)	R	ND	R
<i>L. paracasei</i> subesp. <i>Paracasei</i> (LCSI)	ND	ND	R

R: resistentes; S: sensibles; ND: no determinado

Fuente: Homayouni *et al.* (2008); Ramos-Clamont *et al.* (2013).

2.3 Encapsulación

Es el proceso de construir una barrera funcional entre un núcleo y un material de pared para evitar reacciones químicas y físicas, así como mantener las propiedades biológicas, funcionales y fisicoquímicas del núcleo. La encapsulación puede mejorar la estabilidad oxidativa, termoestabilidad, vida de anaquel, actividad biológica y controlar la volatilidad de líquidos. Previene la degradación de los ingredientes del producto durante el procesamiento y almacenamiento. Estas partículas (núcleo + soporte) pueden ser producidas en nanómetros (nanoencapsulación), micrómetros (microencapsulación) o escala milimétrica, por diferentes métodos. Las partículas pueden tener forma regular (esférica, tubular u oval) o forma irregular (Pino y Aragüez, 2020).

2.3.1 Métodos

Existen varios métodos de microencapsulación: físicos, fisicoquímicos y químicos (Tabla 12), dependiendo del tipo de proceso se obtiene un producto con características propias y aplicaciones diversas (Ibarguren *et al.*, 2012; Nava Reyna *et al.*, 2015).

Tabla 12. Métodos de microencapsulación según la naturaleza del proceso.

Procesos físicos	Procesos químicos	Procesos fisicoquímicos
Secado por aspersión	Polimerización interfacial	Coacervación
Extrusión	Inclusión molecular	Atrapamiento en liposomas o micelas inversas
Recubrimiento por aspersión		Gelificación iónica

Fuente: Nava Reyna *et al.* (2015).

2.3.2 Coacervación

La coacervación se define como el proceso durante el cual una solución homogénea de macromoléculas cargadas se separa en dos fases líquidas en equilibrio, en la cual, la fase más concentrada en coloides es conocida como “fase coacervada” y la otra se conoce como “fase en equilibrio”. Existen dos tipos de coacervación (Espinosa y Márquez, 2017):

- Coacervación simple: un polielectrolito, la adición de sal o alcohol normalmente, promueve la segregación de fases a través de la autoneutralización de cargas.
- Coacervación compuesta: involucra la interacción de al menos dos biopolímeros de carga opuesta. Parámetros como la concentración, proporción relativa entre los biopolímeros, temperatura, pH, fuerza iónica y densidad de carga deben ser balanceados para efectuar una separación de fases eficiente.

El proceso de encapsulación por coacervación compleja consiste en tres etapas: 1) Formación de un sistema de tres fases inmiscibles (material bioactivo liposoluble, material formador de membrana y medio continuo), 2) deposición del material polimérico recubriente y 3) solidificación del material recubriente, el cual puede ser producido mediante procesos térmicos, entrecruzamiento químico o desolvatación (Fereidoon y Xiao-Qing, 2009).

Actualmente los complejos coacervados son empleados como un ingrediente en productos alimenticios para proteger una o más sustancias hidrófobas en bebidas, alimentos secos y alimentos semi-húmedos.

2.3.3 Materiales de recubrimiento o pared

Los materiales usados como agentes encapsulantes son lípidos, polisacáridos (alginato, almidón y derivados), extractos de plantas, gomas vegetales/microbianas, quitosano, almidón, gelatina, proteína de leche, entre otras (Tabla 13) (Huq *et al.*, 2017).

Tabla 13. Sustancias más utilizadas como recubrimientos en la microencapsulación.

Tipo de cobertura	Cobertura específica
Goma	Agar, alginato de sodio, carragenina, goma arábica.
Carbohidratos	Almidón, dextranos, sacarosa, jarabes de maíz.
Celulosas	Etilcelulosa, metilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa, carboximetilcelulosa.
Lípidos	Ceras, parafinas, diglicéridos, monoglicéridos, aceites, grasas, ácido esteárico, triestearina.
Proteínas	Gluten, caseína, albúmina, grenetina.
Materiales inorgánicos	Sulfato de calcio, silicatos.

Fuente: Martín Villena *et al.* (2009); Nava Reyna *et al.* (2015).

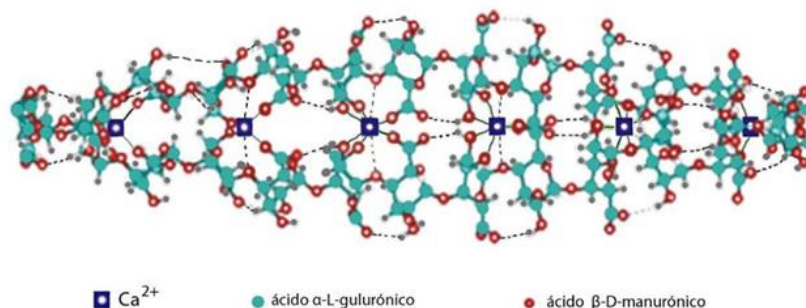
2.3.3.1 Alginato

El alginato es un polisacárido proveniente de algas marinas (*Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pyrifera*), por lo que existe una gran cantidad presente en la naturaleza. La producción de alginato es de 30,000 toneladas al año (Avendaño-Romero *et al.*, 2013). Este polisacárido tiene diferentes aplicaciones, entre las que destaca como espesante de bebidas, estabilizante de suspensiones, productor de gel y estabilizador de emulsiones (Tavassoli-Kafrani *et al.*, 2016); también puede ser usado en alimentos para limitar su

deshidratación, por ejemplo, en la carne, pescado y frutas. Además, es utilizado en industrias no alimentarias como la textil, metalúrgica (varillas de soldadura), papelera y farmacéutica (como polímeros de matriz para la encapsulación de fármacos, proteínas y ADN), y para usos médicos.

Además, el alginato es el material más usado para encapsular por su biocompatibilidad, sencillez, buena digestibilidad intestinal y costos accesibles (Mortazavian *et al.*, 2008). En técnicas de encapsulación el alginato permite proteger a los compuestos de factores adversos como el calor y la humedad, mejorando así su estabilidad y biodisponibilidad.

La composición y extensión de las secuencias y el peso molecular determinan las propiedades físicas de los alginatos, estos pueden ser manurónico (M), gulurónico (G), los cuales se agrupan en secuencias constituyendo homopolímeros tipo bloque G (-G,G,G-), bloque M (-M,M,M-) o heteropolímero (-MGMG-). Cuando hay mayor cantidad de bloques G, generalmente el gel es duro y frágil, mientras que con mayor proporción de bloques M, el gel formado se presenta suave y elástico. Cuando dos cadenas de bloque G se alinean, se forman sitios de coordinación. Debido a la forma de bucles de estas cadenas, existen cavidades entre ellas que tienen el tamaño adecuado para acomodar al ion calcio y además están revestidas con grupos carboxílicos y otros átomos de oxígeno electronegativos. Después de la adición de iones de calcio, el alginato sufre cambios conformacionales, dando lugar al modelo de gelificación del alginato conocido como “caja de huevo” (Avendaño-Romero *et al.*, 2013).



Fuente: Avendaño-Romero *et al.* (2013)

Figura 4. Modelo “caja de huevo” que describe la estructura del alginato

2.3.3.2 Grenetina

La grenetina es una biomacromolécula natural, no tóxica, compuesta de polipéptidos bioactivos derivados del colágeno de la piel, huesos y tejidos conectivos de los animales (Wen *et al.*, 2019). Alihosseini (2016) menciona que es un biopolímero natural con propiedades deseables como buena biocompatibilidad y solubilidad en agua, baja inmunogenicidad, plasticidad, adhesividad, adhesión celular, y capacidad de formar geles transparentes.

Para la producción de la grenetina existen dos procesos, el ácido y el básico. En el primero se tratan los huesos y piel en una solución ácida diluida por un periodo predeterminado; se lavan con agua fría y se genera un producto con un punto isoeléctrico de 6 a 9. En el proceso alcalino, los huesos desmineralizados se suspenden en una solución de sosa por un periodo de 60 días, mientras las pieles se remojan por periodos menores; se cambia la solución periódicamente y al final se lava exhaustivamente para eliminar toda la sosa residual; el punto isoeléctrico de esta grenetina se encuentra entre 4.8 y 5.2. Tras cualquiera de los dos procesos, la proteína se extrae con agua a temperatura controlada (menor a 80 °C); en esta etapa existe una alteración de la triple hélice dextrógira en la que se rompen enlaces intermoleculares e intramoleculares y se

producen cadenas menos estructuradas, que corresponden propiamente a la grenetina (Gálvez Mariscal *et al.*, 2006).

La grenetina está compuesta por proteína (85% mínimo), agua (12% máximo) y sales minerales (1-2%) (Progel, 2018). Además, contiene 18 aminoácidos unidos entre sí de forma parcialmente ordenada. Estos aminoácidos limitan la rotación de la columna principal del colágeno dándole estabilidad a la triple hélice (Alihosseini, 2016). El grupo hidroxilo e hidroxiprolina son importantes para la estabilidad de la triple hélice y están relacionados con la capacidad de gelificación (grados bloom). Generalmente los procesos alcalinos tienen un perfil de viscosidad mayor en comparación con el proceso ácido, sin embargo, este último tiene mejor perfil de bloom, debido a la concentración de aminoácidos importantes como prolina e hidroxiprolina que tienen importancia en las características fisicoquímicas de la grenetina, principalmente la viscosidad y el poder de gelificar que puede ser entendido como la tensión superficial o bloom (Gelatin Manufacturers Institute of America [GMIA], 2012).

El valor del bloom es el peso en gramos que se requiere para hundir un pistón de ciertas dimensiones a través del gel para deformar la superficie de la gelatina; el estándar internacional de la solución de gel para llevar a cabo esta prueba debe contener 6.67% de grenetina, dejándola gelificar por 17 horas a temperatura de 10 °C. El valor de Bloom de la grenetina comercial oscila entre 50 a 300 g, el intervalo de 200-300 es considerado como alto bloom, 100-200 como medio y menor a 100 como bajo bloom (GMIA, 2012).

2.3.3.3 Mucílago de nopal

Como actividad prebiótica, los pectin-oligosacáridos (PO) presentes en el nopal estimulan el desarrollo de bifidobacterias, por su parte los mucilago-oligosacáridos (MO) generan un incremento en el desarrollo de Lactobacilos. De acuerdo con los estudios realizados

por Guevara-Arauz (2009) la suplementación con MO y PO de nopal generó un incremento de hasta 30% en la producción de ácidos grasos de cadena corta. La producción de amonio mostró un incremento del 20 y 10% al adicionar PO y MO, respectivamente, estos resultados permitieron considerar al mucilago y a la pectina de nopal como prebióticos (Guevara Arauz, 2009).

2.3.4 Encapsulación de probióticos

El alginato ha sido importante en la encapsulación de bacterias probióticas ya que tiene la finalidad de proteger y mejorar la biodisponibilidad de los microorganismos, desde que están en los productos alimenticios hasta llegar al tracto gastrointestinal, esto a resultado muy útil en la protección de cepas sensibles al oxígeno. En la Tabla 14 se muestran algunos ejemplos de bacterias probióticas encapsuladas en alginato.

Tabla 14. Aplicación de alginato para la microencapsulación de probióticos agregados a alimentos.

Bacteria	Matriz	Aplicación en alimentos
<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	Alginato	Leche, queso feta
<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Alginato	Queso kasar y blanco
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Alginato	Yogur
<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	Alginato/pectina/quitosano	Leche fermentada
<i>Lactobacillus casei</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	Alginato	Helados
<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium</i>	Alginato	Postres congelados
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Alginato/Almidón	Yogur

Fuente: Avendaño-Romero *et al.* (2013)

3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

- Un malvavisco enriquecido con compuestos bioactivos provenientes de miel y probióticos encapsulados podría ser considerado un alimento funcional.

3.2 Objetivo general

- Desarrollar un malvavisco enriquecido con antioxidantes provenientes de miel y *Lactobacillus rhamnosus* encapsulados.

3.3 Objetivos específicos

- Caracterizar fisicoquímica y microbiológicamente la miel y malvavisco.
- Cuantificar la capacidad antioxidante total y compuestos fenólicos totales presentes en la miel y el malvavisco.
- Evaluar viabilidad del probiótico en el malvavisco.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales utilizados

El microorganismo probiótico empleado fue *Lactobacillus rhamnosus* obtenido de una cepa liofilizada (Vivolac, EE. UU.). Para la activación y conteo de células viables se utilizó medio de cultivo caldo y agar Man Rogosa Sharpe (MRS) (BD Difco, México y Sigma Aldrich, EE.UU.). Para la encapsulación se utilizó alginato de sodio (Sigma Aldrich, EE.UU.) y cloruro de calcio (CaCl_2) (Química Mercurio, México). Para la elaboración del malvavisco se utilizó miel multifloral de abeja *Apis mellifera* de la comunidad de Zimatlán de Álvarez, grenetina de 265, 300 y 315 °Bloom (Diamante, Progel mexicana, S.A. de C.V), y azúcar estándar adquirida en un supermercado.

4.2 Caracterización de miel de abeja *Apis mellifera*

La miel se cosechó de acuerdo con la AOAC 920.180 (2019), la miel cristalizada se homogeneizó hasta la disolución de los cristales en baño maría a una temperatura no mayor de 60 °C.

4.2.1 Color

El color se determinó utilizando un fotómetro para miel (HANNA, modelo 96785, Italia) previamente calibrado, el análisis se realizó a 20 °C usando la técnica de la NOM-004-SAG/GAN-2018. Los resultados se obtuvieron en mm Pfund y se compararon con la escala de Pfund.

4.2.2 Potencial de hidrogeno (pH)

El pH se determinó utilizando un potenciómetro (Oakton Eco Testr pH 2, WD-35423-10, USA) previamente calibrado con soluciones buffer a pH 4 y 7. La determinación se realizó en la muestra de miel diluida a una concentración de 10 g de miel en 75 mL de agua destilada.

4.2.3 Acidez total

La acidez total se determinó usando la técnica de la AOAC 962.19. El resultado de la acidez total se expresó en miliequivalentes de ácido por kilogramo de miel (mEq de ácido/kg).

4.2.4 Cenizas

Se determinó cenizas usando la técnica de la AOAC 920.181. El resultado se expresó como % de cenizas.

4.2.5 Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica se determinó utilizando un conductímetro (HANNA, DiST3, Italia) previamente calibrado, el análisis se realizó a 20 °C, usando 20 g de muestra aforados a 100 mL con agua destilada. Los resultados se expresaron mS*cm.

4.2.6 Humedad

Se determinó la humedad de la miel con un refractómetro para miel (Olimpo, RH-5890Be, China) a 20 °C usando la técnica de la AOAC 969.38 B.

4.2.7 Azúcares reductores directos

La determinación de azúcares reductores se realizó de acuerdo con el método de la AOAC 920.183b. Los resultados fueron expresados como % de azúcares reductores.

4.2.8 Hidroximetilfurfural (HMF)

Para el análisis de hidroximetilfurfural no se calentó la miel. Las impurezas de la miel se retiraron calentando a baño maría hasta 40 °C y filtrando. Se pesaron 5 g de muestra y se homogeneizaron con 20 mL de agua destilada. Se determinó el HMF con un reflectómetro (HANNA, modelo RQflex 10, Italia) con tiras reactivas para HMF a 25 °C.

4.2.9 Sólidos solubles totales (°Brix)

Los sólidos solubles se determinaron con un refractómetro para miel (Olimpo, RH-5890Be, China) a 20 °C usando la técnica de la AOAC 932.12.

4.2.10 Viscosidad

Para determinar la viscosidad a 20 °C se utilizó un viscosímetro (Vibro Viscomer modelo SV-10/SV-100, Japón) previamente calibrado. Los resultados se expresaron en Pa*s.

4.2.11 Determinación de compuestos bioactivos de la miel

4.2.11.1 Obtención de extractos

Para la extracción de compuestos bioactivos, la muestra* se disolvió en 10 mL de agua acidificada (modificada con HCl 2 N a un pH 2) (Džugan *et al.*, 2018). La solución se homogeneizó en un vortex durante 1 min y después se colocó en un baño ultrasónico (Autoscience, Serial Ultrasonic Cleaner, 110V/60Hz, China) por 30 min a 25 °C, se dejó macerar por 24 h en oscuridad a 25 °C. Finalmente, el extracto se centrifugó a 18.0 x g a 27 °C por 15 min, el sobrenadante se filtró y el resultante se colocó en tubos ámbar para su posterior uso.

*Para la determinación de actividad antioxidante se pesaron 2 g de muestra y para la cuantificación de compuestos fenólicos totales se pesó 1 g de muestra.

4.2.11.2 Determinación de actividad antioxidante (AC)

La actividad antioxidante se determinó utilizando el radical libre sintético 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) de acuerdo con la técnica de Džuga *et al.* (2018). Se tomó una alícuota de 0.2 mL de extracto y se le adicionaron 1.8 mL de solución de DPPH (Sigma Aldrich, EE. UU.) 0.1 mM en metanol, y se dejó reposar en oscuridad a 25 °C por 60 min. La medición se realizó en un espectrofotómetro UV (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10-S, USA) a una absorbancia de 517 nm. Los resultados fueron expresados en mg de Trolox/kg de miel.

4.2.11.3 Curva de calibración

Para la curva de calibración se utilizó Trolox (Sigma Aldrich, EE. UU.) a concentraciones de 0-100 µg/mL en metanol. Estas se procesaron de la misma forma que las muestras de miel.

4.2.11.4 Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT)

El contenido de compuestos fenólicos en la miel se determinó utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu mediante la metodología de Džugan *et al.* (2018). Se tomó una alícuota de 0.200 mL de extracto de miel y se adicionó 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, EE. UU) al 10% (v/v), se dejó reaccionar durante 8 min y se le adicionaron 0.8 mL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 7.5% (p/v). La solución se mantuvo en oscuridad a 25 °C durante 120 min y después se midió la absorbancia a 760 nm. Los resultados se expresaron en mg de ácido gálico/kg de miel.

4.2.11.5 Curva de calibración

La curva de calibración se realizó utilizando ácido gálico (AG) (C₇H₆O₅) como estándar, a concentraciones de 0 a 100 mg/mL, siguiendo el proceso de la miel (4.2.11.4). Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico/kg de muestra.

4.2.12 Análisis microbiológicos

Se realizó el análisis de mohos y levaduras mediante el método para la cuenta de bacterias aerobias en placa de la NOM-111-SSA1-1994. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

4.3 Cinética de crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus*

Se realizó una cinética de crecimiento de *L. rhamnosus*, con la finalidad de conocer el tiempo en que el microorganismo alcanza el mayor número de células viables y proceder a la encapsulación. Se agregaron 100 mL de caldo MRS previamente esterilizado (121 °C por 15 min) y 1% (v/v) de inóculo de *L. rhamnosus*, se colocaron en una incubadora (Riossa, ECF-82, México) en condiciones anaerobias a 32 °C durante 24 h, tomando muestra cada cuatro horas.

El conteo de colonias se llevó a cabo por el método de vertido en placa. Los ensayos se realizaron haciendo diluciones seriadas de cada una de las muestras y por triplicado. El rango de sensibilidad de conteo de colonias comprendió de 30 a 300 colonias.

Los parámetros cinéticos se obtuvieron a través de la ecuación del modelo de Gompertz utilizando el software SAS versión 9.4.

4.4 Activación de *L. rhamnosus*

La activación se realizó a partir de un inóculo de cultivo almacenado a -20 °C suspendido en caldo MRS con glicerol en relación 1:1. Se activó al 1% (v/v) en caldo MRS y se incubó en una incubadora (Riossa, ECF-82. D, México) por 18 horas a 32 °C en condiciones anaerobias (Huerta Vera, 2015). El concentrado celular se obtuvo por centrifugación (Eppendorf, Centrifuge 5810 R, Alemania) a 18.0 x g a 4 °C durante 20 minutos, se eliminó el sobrenadante

y el concentrado celular se lavó dos veces con agua peptonada estéril (0.1% p/v) con la finalidad de eliminar restos del medio de cultivo (Noori Dokoochaki *et al.*, 2019).

4.5 Preparación de la solución encapsulante

La encapsulación se realizó de acuerdo con el método de Jiménez-Hernández *et al.* (2017). Se prepararon 100 g de solución, primero se mezcló 2% (p/p) de alginato de sodio, 0.2% de grenetina y 5% de mucílago de nopal (1:2 p/v), y 92.8% de agua destilada; esta solución se esterilizó en autoclave a 108 °C por 5 min.

4.6 Encapsulación por coacervación

La encapsulación se realizó siguiendo la técnica Noori Dokoochaki *et al.* (2019). El proceso se llevó a cabo en condiciones estériles, se añadió un gramo de concentrado celular de *L. rhamnosus* a 9 mL de la mezcla polimérica pre-calentada a 37 °C y se agitó a 400 rpm durante 15 min en una placa de agitación. La solución se dejó caer sobre 50 mL de solución de CaCl₂ 0.1 M mediante una jeringa de 10 mL conectada a una aguja de 27 G (0.4 x 13 mm) a una altura de 15 cm; y se dejó reticular las capsulas por 1 h.

Después de la reticulación, las capsulas fueron recolectadas, filtradas y lavadas con agua destilada estéril y se conservaron en una solución estéril de agua peptonada al 0.1% a 4 °C.

4.7 Elaboración de malvavisco

El malvavisco se elaboró de acuerdo con la metodología de la Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO, 2018) (Figura 5) con algunas modificaciones usando una batidora (KitchenAid, Artisan KSM150PSER, USA). Para la elaboración de malvaviscos se usaron diferentes concentraciones de azúcar (100% = 47 g), miel (la cual sustituye el % de azúcar retirada) y grenetina a diferentes grados bloom (Tabla 15).

Tabla 15. Tratamientos utilizados en la elaboración de malvaviscos.

Malvavisco	Concentración de azúcar (%)	Concentración de miel (%)	°Bloom
M1	100	0	265
M2	50	50	265
M3	25	75	265
M4	100	0	300
M5	50	50	300
M6	25	75	300
M7	100	0	315
M8	50	50	315
M9	25	75	315

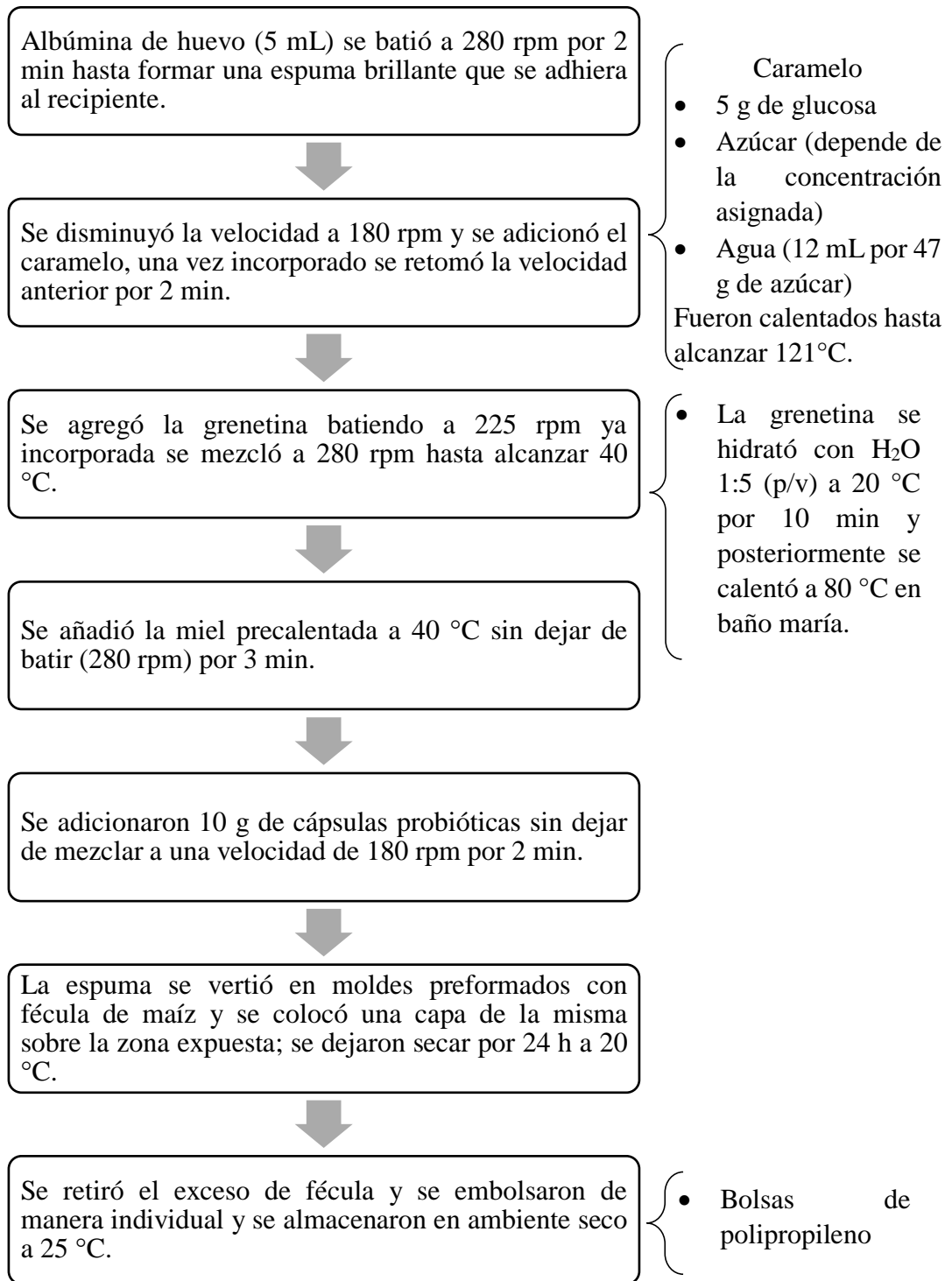


Figura 5. Diagrama de flujo para la elaboración de malvaviscos.

4.8 Análisis fisicoquímicos del malvavisco

4.8.1 Densidad

La espuma se vertió uniformemente en un recipiente cilíndrico con un volumen conocido y se pesó. Los resultados se expresaron en gramos sobre mililitro (g/mL)

4.8.2 Cenizas

La prueba de cenizas se realizó de acuerdo con la técnica AOAC 900.02 B. Los resultados se expresaron como porcentaje de cenizas.

4.8.3 Potencial de hidrógeno (pH)

Se determinó el pH con un potenciómetro (Oakton Eco Testr pH2, WD-35423-10, EE. UU.) previamente calibrado con soluciones buffer a pH 4 y 7 usando la técnica de NMX-F-317-S-1978.

4.8.4 Sólidos solubles totales (°Brix)

Los grados brix se determinaron mediante la técnica de la AOAC 932.12 utilizando un refractómetro (Olimpo, RH-5890Be, China) previamente calibrado a 20 °C.

4.8.5 Humedad

Se determinó el índice de humedad mediante la técnica de la AOAC 925.45A. Los resultados se expresaron como porcentaje de humedad.

4.8.6 Textura

Las propiedades de textura se examinaron de acuerdo con la metodología de Periche *et al.* (2015) utilizando un analizador de textura (Shimadzu; EZ-TEST; Japón), equipado con una celda de carga de 500 N. Se utilizó una sonda de 75 mm y el tamaño de las muestras fue de 28 mm de diámetro y 20 mm de altura. Las condiciones de la prueba implicaron dos ciclos

consecutivos de 50% de compresión con 15 s entre cada ciclo y la velocidad de prueba fue de 1 mm/s. Los parámetros cuantitativos extraídos de la curva de fuerza-tiempo fueron dureza (fuerza máxima de pico en el primer ciclo) y cohesión (la relación del área positiva debajo de la curva durante la segunda y primera compresión).

4.8.7 Microbiológicos

4.8.7.1 Coliformes

La determinación de coliformes totales se realizó por la técnica de cuenta en placa (NOM-113-SSA1-1994). Los resultados se expresaron en UFC/g. Cuando no se observó crecimiento en la muestra sin diluir se informó como: “no desarrollo de coliformes por mL”.

4.8.7.2 Hongos y levaduras

Se realizó el análisis de mohos y levaduras mediante la técnica de vertido en placa (NOM-111-SSA1-1994). Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

4.9 Viabilidad de *L. rhamnosus* encapsulados en el malvavisco

La viabilidad celular fue determinada mediante el método vertido en placa con agar MRS. En condiciones asépticas se tomó 1 g de confite y se diluyó con 9 mL de citrato de sodio al 5% (p/v), seguido de una agitación por 15 min para desintegrar las partículas. Una vez desintegradas, se tomó un alícuota de 1 mL que se transfirió a un tubo con 9 mL de agua peptonada al 0.1%. Se realizaron una serie de diluciones decimales hasta 10^{-9} . De las diluciones 10^{-5} a 10^{-8} se inoculó en placas con agar MRS por triplicado; y fueron incubadas a 32 °C durante 48 h. Se realizó la cuenta de células, se calculó la media y los resultados se expresaron como UFC/g de *L. rhamnosus*.

4.10 Determinación de compuestos bioactivos del malvavisco

4.10.1 Obtención de extractos

Para preparar el extracto de los malvaviscos, las muestras se liofilizaron a una presión de vacío de 9.5 x 10 mm Hg por un periodo de 24 h (Periche *et al.*, 2015); posterior a este proceso se pesaron 2 g de muestra liofilizada y se le adicionó agua acidificada (1:2 p/v) con pH 2. Las muestras se homogeneizaron en un vortex, después se llevaron a ultrasonificación por 30 min y se maceraron por 24 h a 25 °C y en oscuridad. Las muestras se centrifugaron a 18.0 x g a 27 °C durante 20 min, el sobrenadante se filtró y el resultante se colocó en tubos de color ámbar para su posterior uso.

4.10.2 Determinación de actividad antioxidante (AC)

El análisis se realizó mediante la misma técnica usada para la miel (apartado 4.2.11.2), únicamente se cambiaron las condiciones de reposo, las cuáles fueron a baño maría a 37 °C durante 30 min (Santoso *et al.*, 2019).

4.10.3 Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT)

El contenido de compuestos fenólicos se determinó utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu, mediante la metodología de Cedeño-Pinos *et al.* (2020) con algunas modificaciones. Se mezclaron 7.75 mL de agua destilada, 0.25 mL de extracto de confite, 0.8 mL de Folin-Ciocalteu al 10% y se dejó en reposo por 8 min, posteriormente se adicionó Na₂CO₃ al 7.5% (p/v). Esta mezcla se homogeneizó y reposó 2 h en oscuridad a 25 °C. Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm en un espectrofotómetro.

4.11 Diseño experimental y análisis estadístico

Se realizó un experimento factorial completamente al azar para estudiar las propiedades fisicoquímicas, viabilidad del probiótico (*L. rhamnosus*) y compuestos bioactivos en un

malvavisco, elaborado a diferentes concentraciones de miel (0, 50 y 75%) de abeja (*Apis mellifera*) como factor A y diferentes grados bloom de grenetina (265, 300 y 315 °bloom) como factor B. A cada una de estas combinaciones de ambos factores (Tabla 15) se le adicionó 10% de perlas (p/p) con una carga microbiana de 3.17×10^9 UFC/g. El experimento se realizó por triplicado.

Para el análisis de las variables fisicoquímicas (densidad, cenizas, pH, °Brix y textura) se utilizó el modelo estadístico como a continuación se describe:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde y_{ijk} es la variable evaluada (densidad, cenizas, pH, °Brix, textura), μ es la media general, α_i es el efecto fijo del nivel i ($i = 1, 2, 3$) del factor A (% miel), β_j es el efecto fijo del nivel j ($j = 1, 2, 3$) del factor B (grados Bloom), $(\alpha\beta)_{ij}$ es el efecto fijo debido a la interacción de ambos factores y ε_{ijk} es el error experimental $\{\varepsilon_{ijk} \sim iidN(0, \sigma^2)\}$.

Mientras que, para las variables de viabilidad del probiótico, contenido de actividad antioxidante (CA) y contenido de fenoles totales (CFT) se utilizó un modelo factorial anidado como a continuación se describe:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha * \beta(\tau)_{ij(k)} + \varepsilon_{ij(k)}$$

donde y_{ijk} es la variable evaluada (viabilidad del probiótico, CA, CFT) anidada al tiempo, μ , α_i y β_j fueron descritos previamente, $\alpha * \beta(\tau)_{ij(k)}$ es el efecto anidado de la interacción de ambos factores dentro del tiempo de medición k ($k = 1, 2, 3$) y $\varepsilon_{ij(k)l}$ es el error experimental $\{\varepsilon_{ijk} \sim iidN(0, \sigma^2)\}$.

El análisis de varianza y la comparación de medias LSD se realizó a un nivel de significancia del 5 % utilizando el procedimiento de GLIMMIX (Proc Glimmix) de SAS versión 9.4.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización de la miel de abeja *Apis mellifera*

La composición y calidad de la miel varían según la región geográfica donde se encuentren los apiarios, he ahí la importancia de hacer diferentes pruebas para comprobar la autenticidad de este producto. Por ello, a partir de la revisión de la Norma Mexicana para la miel (NOM-004-SAG/GAN-2018) y el Codex Alimentario (1999), se determinaron los parámetros de calidad físicos y químicos a evaluar de la miel. En la Tabla 16 se muestran los valores de los parámetros de calidad según la Norma Oficial Mexicana y los datos resultantes en la caracterización de la miel.

El color es definido por pigmentos como compuestos fenólicos, además de estar relacionado con el contenido de minerales y el polen (Ortega-Bonilla *et al.*, 2021). Para este caso la miel presentó una puntuación de 9 en la escala de Pfund, la cual corresponde a tonalidad “Extra blanco”; Isa *et al.* (2011) mencionan que existe una relación entre el color y el contenido de compuestos fenólicos, ya que las mieles más oscuras tienen mayor contenido de los mismos.

Tabla 16. Resultados de las propiedades fisicoquímicas de la miel comparados con los valores según la NOM-004-SAG/GAN-2018.

Parámetro	Valores	Unidades	Valores resultantes
Color	0 a 114	Escala Pfund	9 (Extra blanco)
pH	$3.5 \leq 4.5$		4.34
Acidez total	≤ 50	mEq de ácido/kg	19.83
Cenizas	≤ 0.6	%	0.09
Conductividad eléctrica	≤ 0.8	mS/cm	0.23
Humedad	≤ 20	%	17
Azúcares reductores	≥ 65	%	75.12
HMF	≤ 40	mg/kg	5.57

HMF, hidroximetilfurfural; pH, potencial de hidrógeno.

El pH de la miel fue de 4.34, este parámetro se encuentra dentro de lo establecido. Este parámetro de calidad está relacionado con el deterioro sanitario, así como la acidez, mohos y levaduras (Consumidor, 2015). La acidez modifica al sabor y aroma en la miel debido a los ácidos orgánicos, en particular el glucónico, pirúvico, málico y cítrico en equilibrio con lactonas o ésteres y iones inorgánicos (Isa *et al.*, 2011). Los valores de acidez total obtenidos fueron de 19.82 mEq de ácido/kg de miel, por lo que no excede el límite máximo (50 mEq de ácido/kg de miel) que determina la Norma. Mondragón-Cortez *et al.* (2013) estudiaron mieles mexicanas y encontraron valores de acidez total de un rango de 17.3 a 36.6 mEq de ácido/kg de miel.

El contenido de cenizas se puede relacionar con el origen y condiciones del medio ambiente (González-Miret *et al.*, 2005), así como con la higiene con la que fue manipulada, aunque también es una prueba que determina adulteración por lo que no debe de exceder de 0.6%. Por lo tanto, la miel usada se encuentra dentro del rango siendo de 0.06% (Tabla 16), por lo que se determinó que no es una miel adulterada ni contaminada por tierra. Además, por ser una miel clara el contenido de minerales es bajo, ya que las mieles oscuras siempre contienen niveles más altos de minerales (Fernández-Torres *et al.*, 2005).

La conductividad eléctrica de la muestra fue de 0.23 mS/cm, estos resultados no rebasan lo establecido por la norma. A esta propiedad en conjunto con el pH se les relaciona con el contenido de cenizas (Acquarone *et al.*, 2007), ya que es una técnica para medir la capacidad de un cuerpo o medio para conducir corriente eléctrica. Estas son características que permiten relacionar los productos apícolas con un origen floral en específico (Vanhanen *et al.*, 2011) debido a la concentración de sales minerales, ácidos orgánicos y proteínas (Terrab *et al.*, 2004).

La humedad es un parámetro que influye en la viscosidad, color, propiedades organolépticas, vida útil de la miel (Amri y Ladjama, 2013); además el alto contenido en

humedad puede ser indicador de adulteración (Ramos-Clamont Montfort *et al.*, 2013) por lo que la NOM-004-SAG/GAN-2018 exige que dicho parámetro no rebase el 20%. En este sentido, la muestra presenta un contenido de humedad del 17% por lo que cumple con esta especificación.

Los azúcares reductores en la muestra fueron de 75.12%, el cual está dentro del rango de la Norma, además Velásquez y Goetschel (2019) mostraron que los azúcares reductores en miel se encuentran en un rango de 65-75%.

El contenido de HMF aumenta rápidamente cuando la miel se calienta a alta temperatura (>100 °C) en periodos cortos de tiempo (Mondragón-Cortez *et al.*, 2019). Además, también es un indicador de la frescura ya que este compuesto no está presente en una miel fresca (Mondragón-Cortez *et al.*, 2013). En el análisis que se le realizó a la miel, el contenido de HMF fue de 5.57 mg/kg por lo que no excedió los límites permitidos (40 mg/kg); además, podemos decir que la miel no ha sido expuesta a calentamientos excesivos.

En la Tabla 17 se muestran los resultados de parámetros que no son especificados en la norma, sin embargo, son importantes.

La miel estudiada presentó 81.5 °Brix, algo similar a los datos de Habib *et al.* (2014), los cuales estuvieron en un rango de 79.0-84.1 °Brix, además los autores mencionaron que este parámetro puede ser un índice de adulteración. También coinciden con los resultados de Contreras-Martínez *et al.* (2020) en mieles del estado de Zacatecas, México, los cuales se encontraron en un rango de 79.46 a 83.53 °Brix.

Tabla 17. Resultados de pruebas no específicas en la Norma.

Prueba	Valor	Unidad
°Brix	81.5	
Viscosidad	26.10	Pa·s
AC	33.9	mg de Trolox/100 g
CFT	38.6	mg de ácido gálico (AG)/100 g
Mohos y levaduras	0	UFC/mL

AC: capacidad antioxidante; CFT: contenido de fenoles totales. UFC= Unidades Formadoras de Colonias

La viscosidad es un atributo de textura de los alimentos líquidos, altamente dependiente de la temperatura; también se ve influenciada por el origen floral, el contenido de agua (a mayor % de agua, menor es la viscosidad), y el contenido de fructosa/glucosa, ya que las mieles menos viscosas tienen mayor cantidad de fructosa, y a mayor contenido de azúcar mayor consistencia (Fattori, 2004). La miel usada en este trabajo fue de 26.1 Pa·s, por lo que es una miel muy densa. En los estudios que realizó Da Silva *et al.* (2017) en mieles la viscosidad fue de 18.0 a 40.0 Pa·s a 20 °C.

La capacidad antioxidante (AC) es el potencial de la miel para reducir las reacciones oxidativas dentro de los sistemas alimentarios y el cuerpo humano (Gheldof y Engeseth, 2002). La miel analizada en este proyecto presentó una AC de 177.94 mg Trolox/kg. En otras mieles mexicanas multiflorales el contenido de AC fue de 81.9 a 153.7 μ mol Trolox/kg de miel y para mieles monoflorales fue de 93.6 a 255.0 μ mol Trolox/kg (Rodríguez *et al.*, 2012).

La miel analizada presentó un contenido de fenoles totales (CFT) de 227.02 mg AG/kg. Combarros-Fuertes *et al.* (2019) encontraron en mieles poliflorales un (CFT) de 231 a 1580 mg AG/100 g. Los valores que presentó Rodríguez *et al.* (2012) en sus estudios fueron de 283.9 a 1142.9 mg AG/kg en mieles multiflorales y 79.43 a 522.6 mg AG/kg en mieles monoflorales. En el estudio de Alvarez-Suarez *et al.* (2010) en mieles de Cuba, obtuvieron valores más altos

de CFT, 595.8 mg AG/kg para mieles color ámbar, mientras que el contenido más bajo fue de 233.6 mg AG/kg. Por otro lado, en mieles de Argentina el CFT fue de 418 a 283 mg de AG/kg de miel (Vattuone, et al., 2007). Otro estudio en mieles del Estado de Hidalgo, México presentó un rango de 166.1 a 1019.2 mg AG/kg de miel (Chávez-Borges *et al.*, 2019).

La miel analizada no tuvo presencia de mohos ni de levaduras. La presencia de mohos y levaduras es un indicador de fermentación y como consecuencia el pH baja (<3.5) y la acidez total aumenta (<50 mEq de ácido/kg). Por ello, es importante evitar fuentes de contaminación y aplicar las buenas prácticas de higiene para mantener la calidad de la miel (Vázquez-Quiñones *et al.*, 2018).

5.2 Cinética de crecimiento y activación de *L. rhamnosus*

En el Gráfico 1 se muestran las etapas de crecimiento de *L. rhamnosus*. Se puede identificar el inicio de la fase estacionaria, la cual se localiza aproximadamente a las 18 horas de incubación, indicando el fin de la fase exponencial, por lo que en este tiempo se incubó para preparar el inóculo a encapsular. Estos resultados coinciden con Abdel-Rahman *et al.* (2019) quienes encontraron que el cultivo del *Lactobacillus rhamnosus* B-445 inoculado a 37 °C presentó mayor población bacteriana a las 18 h, por lo que es el tiempo necesario para después realizar la microencapsulación. Por otro lado, Del Castillo Salinas (2017) mostró que a partir de las 22 horas existe una disminución en la tasa de división celular, algo similar en este estudio.

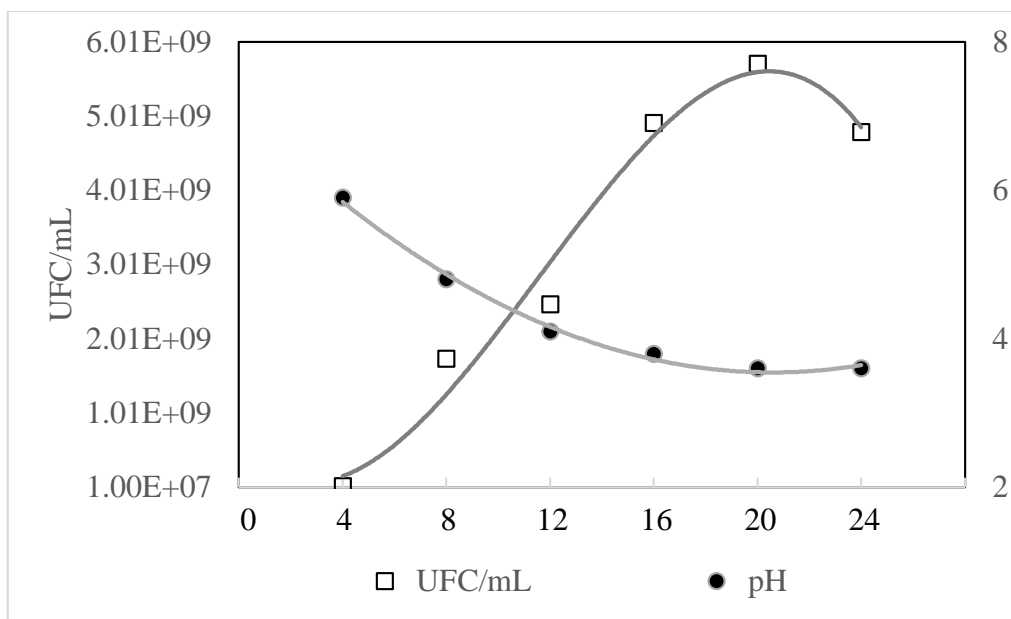


Gráfico 1. Resultados de la cinética de crecimiento de *L. rhamnosus* y pH en caldo MRS a 32 °C. UFC= Unidades Formadoras de Colonias.

Se observó un descenso del pH, iniciando en 6.1 y terminando en 3.6, esto se debe a que *L. rhamnosus* es una bacteria ácido láctica heterofermentativa, por lo que tiene la capacidad de fermentar la glucosa presente en el medio de cultivo dando lugar a la producción de ácido láctico (León-de la O *et al.*, 2013).

5.3 Encapsulado

El malvavisco es un producto que obtiene su esponjosidad mediante la adición de aire por batido, sin embargo, este incremento de oxígeno resulta tóxico para los probióticos, por lo que su encapsulación fue necesaria para su posterior adición en la preparación del malvavisco (Cruz *et al.*, 2009).

Se preparó el inóculo de *L. rhamnosus* a una concentración celular de 3.5×10^{10} UFC/g, y fue adicionado a la solución encapsulante. Se obtuvieron cápsulas por el método de coacervación mediante la técnica de goteo. Las capsulas de *L. rhamnosus* presentaron una

viabilidad de 3.17×10^{-9} UFC/g de perlas. Una vez determinada la viabilidad, las capsulas se incorporaron a los diferentes tratamientos de malvavisco.

Rosas-Flores *et al.* (2013), encontraron que la viabilidad de los microorganismos *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. disminuyó en el proceso de encapsulado a medida que se incrementó la velocidad de agitación, que fue de 400, 800 y 1200 rpm, las cuales tuvieron una eficacia de 92.83, 15.83 y 4.56% respectivamente, evidenciando la sensibilidad de los microorganismos a la velocidad de cizallamiento.

5.4 Caracterización fisicoquímica del malvavisco

En la Tabla 18 se muestran los resultados de las propiedades fisicoquímicas de los diferentes tratamientos de malvaviscos.

5.4.1 Densidad

La densidad de la espuma del malvavisco es una propiedad que permite medir la cantidad de masa que hay en un determinado volumen. Esta propiedad es importante para los alimentos espumosos ya que puede definir la suavidad, ligereza o porosidad (Garrido Islas y Güemes Vera, 2017). En los malvaviscos la concentración de miel y los grados bloom de la grenetina tuvieron efecto en la densidad de la espuma ($p < 0.0001$), la cual fue inversamente proporcional al porcentaje de miel y fue mayor en los malvaviscos con grenetina de 265 °bloom. En general, los malvaviscos sin miel presentaron mayor densidad sin importar los °bloom de la grenetina, lo cual puede estar relacionado con la cantidad de azúcar de estos tratamientos (100%), ya que probablemente el azúcar limite la cantidad de aire ingresado a la espuma durante el proceso de batido. La densidad más baja la tuvo la muestra con 75% de miel-300 °bloom con 0.35 g/mL.

Campbell y Mougeot (1999) mostraron que la densidad de un malvavisco se encontró en un rango de 0.35 a 0.45 g/mL; de la misma manera, Mardani *et al.* (2019) encontraron una densidad de 0.41 g/mL. Estos resultados coinciden con el rango de densidades de los diferentes tratamientos de malvaviscos.

5.4.2 Cenizas

Las cenizas son los componentes no volátiles de un alimento, por lo que esta prueba determina el contenido de minerales. La concentración de la miel no tuvo efecto en el contenido de cenizas de los malvaviscos, sin embargo, los grados bloom influyeron de forma inversamente proporcional ($p < 0.05$). Las muestras con mayor contenido de cenizas fueron las formulaciones con 50% miel-265 °bloom y 75% miel-265 °bloom con 0.57 y 0.56%, respectivamente, mientras que las de menor contenido fueron las formulaciones con 50% miel-315 °bloom y 75% miel-315 °bloom con 0.44 y 0.43%, respectivamente.

Cedeño-Pinos *et al.* (2020) elaboraron caramelos de gelatina con extracto de romero a diferentes concentraciones de miel, y encontraron que la cantidad de miel no tuvo efecto en el contenido de cenizas (0.18% a 0.19%) de los caramelos. Es probable que, debido a que la miel tiene una cantidad mínima de minerales, la concentración de esta en los malvaviscos no ejerció un efecto en el contenido de cenizas, por lo que las cenizas presentes provengan, principalmente, de las capsulas probióticas adicionadas a los malvaviscos, las cuales se elaboraron con alginato, grenetina y mucilagos, además de haber sido sometidas a una solución de CaCl_2 .

5.4.3 Potencial de hidrógeno

La reducción de pH en un alimento impide el desarrollo de los microorganismos. En los malvaviscos, los grados Bloom no tuvieron efecto en el pH entre tratamientos. Sin embargo, el pH fue menor a mayores concentraciones de miel ($p < 0.0001$), con un pH de 4.67 a 5.05 para los malvaviscos sin miel, 3.75 a 3.8 en aquellos con 50% de miel, y 3.5 a 3.7 en aquellos con 75% de miel. Estas variaciones de pH pueden estar relacionadas con el contenido de ácidos orgánicos presentes en la miel, el cual influye directamente en el pH de esta, por lo que, a mayores concentraciones de miel, mayor contenido de ácidos orgánicos. Esto concuerda con los resultados de Mardani *et al.* (2019), quienes encontraron que el pH de un malvavisco con grenetina, azúcar y jarabe de glucosa fue de 6.39, mientras que caramelos de grenetina adicionados con miel y jugos de fruta presentaron un pH más bajo, el cual osciló entre 4.91 y 5.02.

5.4.4 Grados brix

Por otro lado, los grados Bloom, la concentración de miel y la interacción de estos factores mostraron un efecto significativo en los grados brix de los diferentes tratamientos, los cuales estuvieron en un rango de 60 a 65.5. Los grados Bloom de la grenetina presentaron un efecto inversamente proporcional en los grados brix de los malvaviscos, mientras que la adición de miel incrementó los grados brix de manera proporcional.

Tabla 18. Resultados proximales obtenidos para los nueve tratamientos de malvavisco expresados como medias \pm error estándar. Medias con la misma letra indican que no hay diferencia significativa con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

	Concentración (%)		°Bloom	Densidad (g/mL)		Cenizas (%)		pH		°Brix	
	Miel	Azúcar									
M1	0	100	265	0.43 \pm 0.01	a	0.52 \pm 0.002	bc	4.67 \pm 0.07	b	60.33 \pm 0.25	c
M2	50	50	265	0.42 \pm 0.01	ab	0.57 \pm 0.002	a	3.80 \pm 0.08	c	61.00 \pm 0.30	c
M3	75	25	265	0.40 \pm 0.01	bc	0.56 \pm 0.002	a	3.50 \pm 0.08	d	65.50 \pm 0.30	a
M4	0	100	300	0.44 \pm 0.01	a	0.55 \pm 0.002	ab	5.05 \pm 0.08	a	60.00 \pm 0.30	c
M5	50	50	300	0.38 \pm 0.01	c	0.53 \pm 0.002	abc	3.80 \pm 0.08	c	60.00 \pm 0.30	c
M6	75	25	300	0.35 \pm 0.01	d	0.51 \pm 0.002	bc	3.65 \pm 0.08	cd	61.50 \pm 0.30	b
M7	0	100	315	0.43 \pm 0.01	a	0.49 \pm 0.002	c	4.90 \pm 0.08	ab	60.00 \pm 0.30	c
M8	50	50	315	0.39 \pm 0.01	c	0.44 \pm 0.002	d	3.75 \pm 0.08	cd	60.00 \pm 0.30	c
M9	75	25	315	0.38 \pm 0.01	c	0.43 \pm 0.002	d	3.70 \pm 0.12	c	60.00 \pm 0.43	c

pH= potencial de hidrogeno

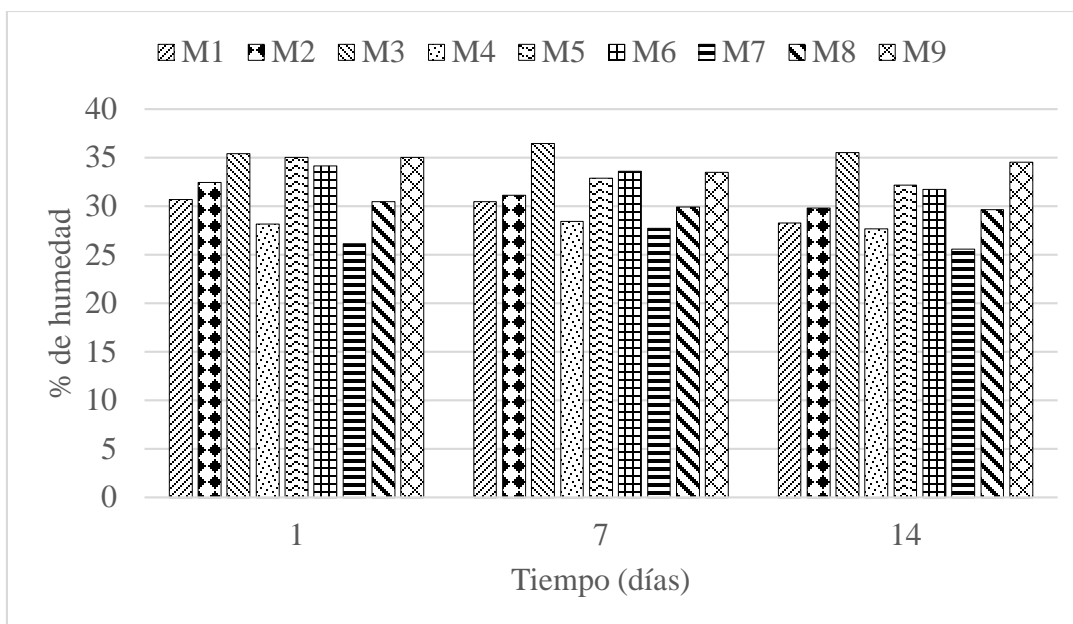


Gráfico 2 Resultado del porcentaje de humedad de los diferentes tratamientos de malvaviscos en los diferentes días de almacenamiento. M1, 0% miel-265 bloom; M2, 50% miel-265 °bloom; M3, 75% miel-265 °bloom; M4, 0% miel-300 °bloom; M5, 50% miel-300 °bloom; M6, 75% miel-300 °bloom; M7, 0% miel-315 °bloom; M8, 50% miel-315 °bloom; M9, 75% miel-315 °bloom.

5.4.5 Humedad

La humedad es un parámetro importante para el procesado, control y conservación de los alimentos, además de ser un índice de estabilidad del producto (Masson, 1997). En el Gráfico 2 se puede observar el contenido de humedad de los malvaviscos en los días 1, 7 y 14 de almacenamiento. Después de 14 días de almacenamiento en una envoltura de polipropileno, el contenido de humedad del malvavisco sin aditivo (sin miel) fue de 25 a 35 %. La pérdida de humedad durante el almacenamiento disminuyó conforme al tiempo de almacenamiento en todas las muestras.

Se han encontrado diferentes valores de humedad en productos de confitería con propiedades funcionales; 19 a 21.5% en malvaviscos con antocianinas (Artamanova *et al.*,

2017); 16.7 a 22.9% en malvaviscos con *Stevia rebaudiana*, oligofruktosa e isomaltosa como sustitutos de azúcar (Periche *et al.*, 2015); 22.06 a 22.55% en caramelos de gelatina con extracto de romero (Cedeño-Pinos *et al.*, 2020); y 20.05 a 25.3% en caramelos de gelatina con miel y zumos de frutas (Mutlu *et al.*, 2018). Los malvaviscos con probióticos presentaron mayor humedad que los confites mencionados, lo cual es posible que se deba al contenido de perlas de probióticos.

5.4.6 Textura

La dureza en los alimentos es la fuerza requerida para comprimir una sustancia con los dientes molares o con la lengua y el paladar. Esto se puede determinar cuantitativamente con el Análisis de Perfil de Textura (TPA), en el cual el producto es sometido a una doble compresión con el objetivo de simular el proceso de masticación humana. Esta técnica ha sido usada con la ayuda de paneles sensoriales para establecer escalas de aceptación del producto. Por otro lado, la cohesividad es la medida del grado en el que la masa de la muestra permanece junta cuando progresa la masticación, cuantifica como las partículas se pegan unas a otras (Zúñiga Hernández *et al.*, 2007).

La concentración de miel y los grados bloom, así como su interacción, mostraron un efecto significativo ($p < 0.0001$) en la textura de los malvaviscos. En el Gráfico 3 se muestran los resultados de dureza de los diferentes tratamientos; se puede observar que la dureza de los malvaviscos aumentó conforme se incrementaron los grados bloom de la gnetina. Los malvaviscos con 75% de miel-315 °bloom presentaron mayor dureza (50.99 N), esto se debe a que la firmeza del producto se incrementa proporcionalmente con los grados bloom de la gnetina (GMIA, 2012). Por otro lado, los malvaviscos con 75% miel-265 °bloom mostraron

menor dureza (17.57 N), probablemente a causa de su pH bajo (3.5) (Tabla 18), ya que la fuerza del gel se ve seriamente afectada por valores extremos de pH (Harris *et al.*, 2003).

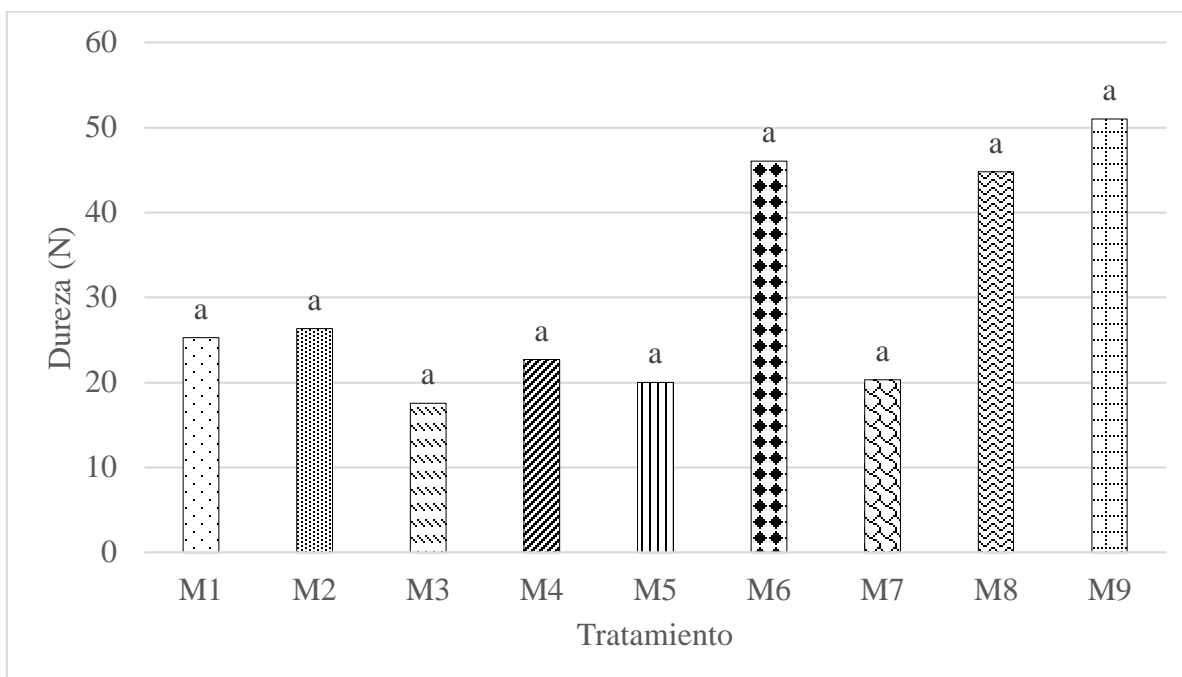


Gráfico 3 Resultados de la dureza en los diferentes tratamientos de malvavisco. Medias con la misma letra no presentan diferencia estadística significativa ($\alpha=0.05$). M1, 0% miel-265 bloom; M2, 50% miel-265 °bloom; M3, 75% miel-265 °bloom; M4, 0% miel-300 °bloom; M5, 50% miel-300 °bloom; M6, 75% miel-300 °bloom; M7, 0% miel-315 °bloom; M8, 50% miel-315 °bloom; M9, 75% miel-315 °bloom.

De acuerdo con Cedeño-Pinos *et al.* (2020), caramelos de gelatina con extracto de romero presentaron una dureza entre 11.33 y 11.54 N, y una cohesión de 0.76 a 0.77 N. Otros caramelos de gelatina con miel y zumos de frutas mostraron una dureza de 7.15 a 9.22 N y una cohesión de 0.90 a 0.94 N (Mutlu, Tontul, y Erbaş, 2018). Mientras tanto, los malvaviscos con probióticos estudiados presentaron una dureza mayor que los productos mencionados, sin embargo, su cohesión fue menor, la cual en general no superó los 0.025 N (Gráfico 4), esto pudo deberse a la presencia de las perlas de probióticos en los malvaviscos.

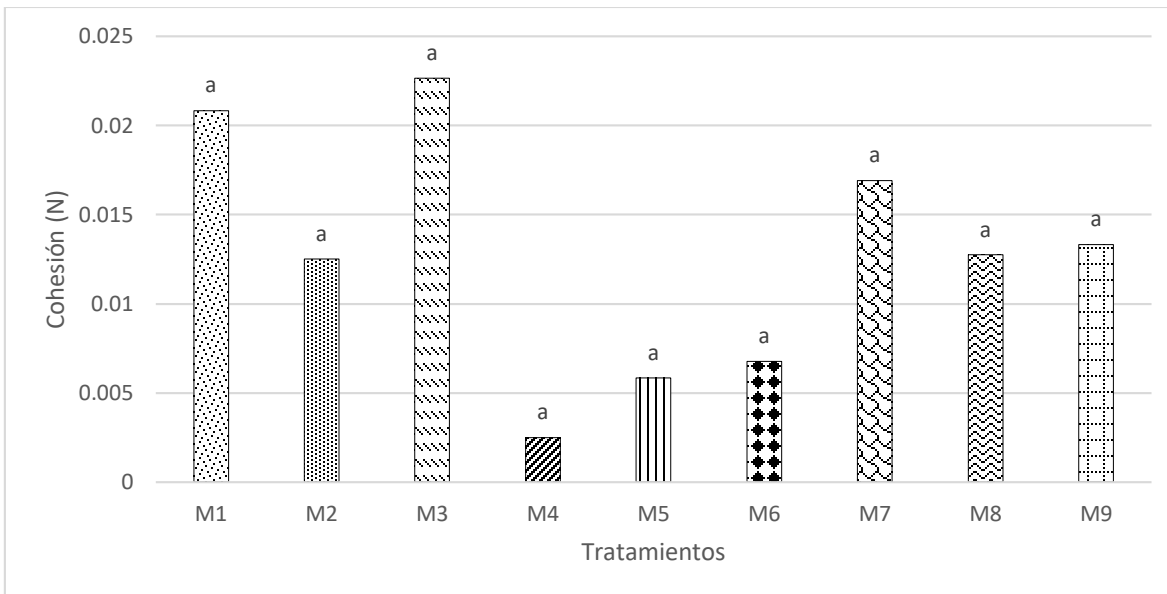


Gráfico 4 . Resultados de cohesión en los diferentes tratamientos de malvavisco. Medias con la misma letra no presentan diferencia estadística significativa ($\alpha=0.05$). M1, 0% miel-265 bloom; M2, 50% miel-265 °bloom; M3, 75% miel-265 °bloom; M4, 0% miel-300 °bloom; M5, 50% miel-300 °bloom; M6, 75% miel-300 °bloom; M7, 0% miel-315 °bloom; M8, 50% miel-315 °bloom; M9, 75% miel-315 °bloom.

5.4.7 Viabilidad

En el Gráfico 5 se muestran los resultados del análisis de viabilidad de *L. rhamnosus* en el malvavisco durante el tiempo de almacenamiento. La viabilidad del lactobacilo se mantuvo por encima del límite mínimo recomendado (10^6 UFC/g) (Tripathi y Giri, 2014; Hernández Hernández *et al.*, 2015) en el día 1 en todos los tratamientos.

Sin embargo, para el día 7 la viabilidad se vio afectada, disminuyendo 4.8 a 6.0 % en los malvaviscos sin miel con 265, 300 y 315 °bloom, los cuales presentaron 1.23×10^{-7} , 1.58×10^{-7} y 1.76×10^{-7} UFC/g de malvavisco, respectivamente. Mientras que los malvaviscos con 50 y 75 % de miel tuvieron una reducción drástica de UFC/g de malvavisco en el día 7 y en el día 14 fue prácticamente nula ya que ninguno de ellos alcanzó la viabilidad mínima en este tiempo.

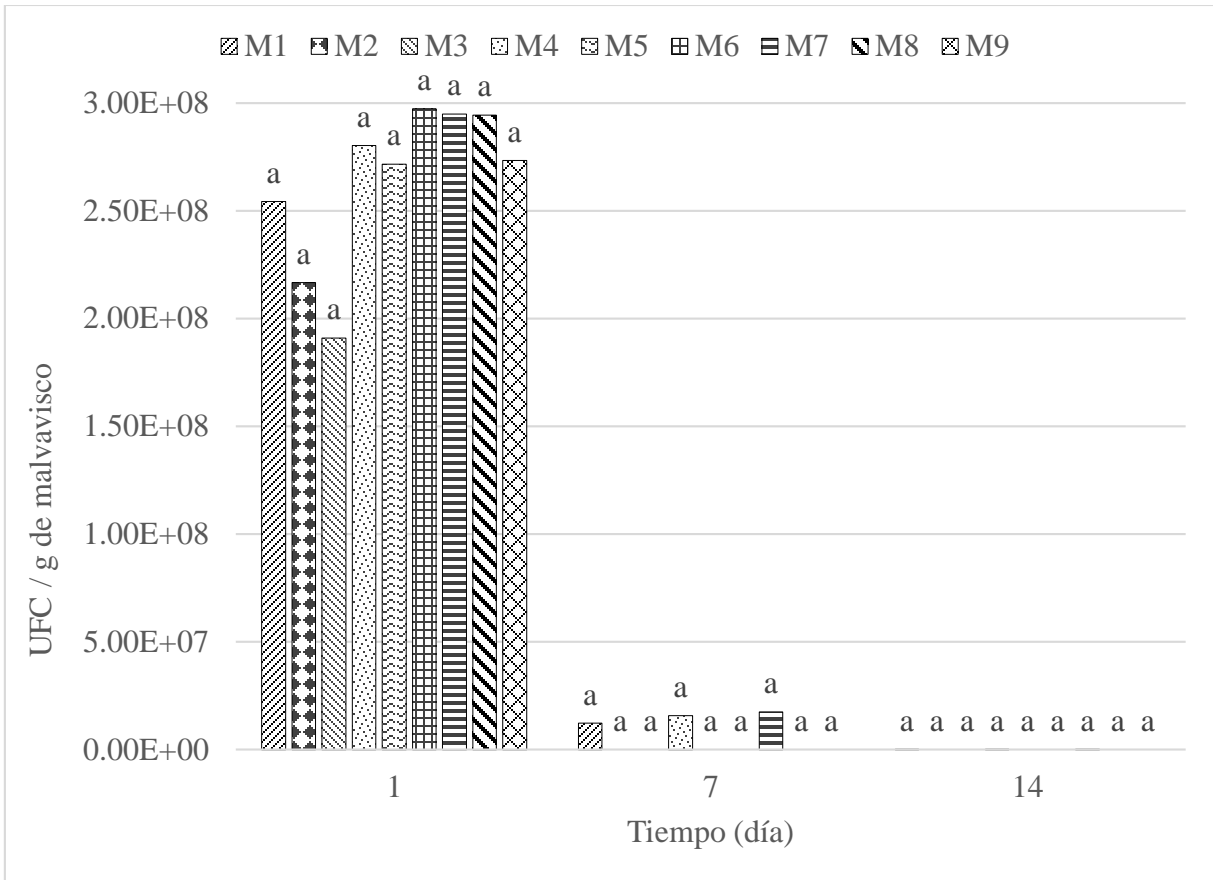


Gráfico 5 Resultados del análisis de viabilidad de *L. rhamnosus* en el malvavisco durante el tiempo de almacenamiento. Medias con la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa ($\alpha=0.05$). UFC=Unidades Formadoras de colonias. M1, 0% miel-265 bloom; M2, 50% miel-265 °bloom; M3, 75% miel-265 °bloom; M4, 0% miel-300 °bloom; M5, 50% miel-300 °bloom; M6, 75% miel-300 °bloom; M7, 0% miel-315 °bloom; M8, 50% miel-315 °bloom; M9, 75% miel-315 °bloom.

La reducción en la viabilidad del probiótico en el malvavisco puede estar relacionada con diferentes factores. Se ha encontrado que las células responden muy rápido al cambio de pH local, la tensión de oxígeno disuelto y la concentración de glucosa (Schweder *et al.*, 2000). Además, otros factores que influyen en la supervivencia de los probióticos son la temperatura de almacenamiento, actividad de agua (a_w), acidez titulable, presencia de azúcares, y parámetros

de procesamiento (tratamiento térmico, velocidad de enfriamiento, material de empaque, etc.) (Tripathi y Giri, 2014).

La actividad antimicrobiana propia de la miel afecta la supervivencia de los microorganismos. Esta actividad se deriva de su bajo contenido de agua (baja actividad de agua), su elevada viscosidad, su acidez, entre otras características (Almasaudi, 2021). La actividad de agua de la miel oscila de 0.56 a 0.62 lo cual no permite el crecimiento de bacterias u otros microorganismos.

Un factor importante en la viabilidad del probiótico es el pH ya que limita el crecimiento y la estabilidad de las bacterias probióticas (Tripathi y Giri, 2014). De acuerdo con Mohammadi *et al.* (2011), el pH óptimo de sobrevivencia de los lactobacilos es de 5.5 a 6.0, sin embargo, los autores mostraron que sus cultivos probióticos sobrevivieron por encima de 10×10^6 UFC/g durante 15 semanas a un valor de pH de 4.5 en condiciones de congelamiento.

La mayoría de los microorganismos se reproduce alrededor de un pH de 6.5 a 7.5, sin embargo, el pH de la miel varió de 3.2 a 4.5 (Tabla 16), lo que le otorga un efecto antibacteriano (Almasaudi, 2021), por lo que el pH en las muestras del malvavisco fue una barrera para el desarrollo de los probióticos, ya que este parámetro se encontró entre 3.5 y 5.05 (Tabla 18)

Por otro lado, la acidez de la miel es a causa de la presencia de ciertos ácidos orgánicos, en especial y el más importante el ácido glucónico que se encuentra a una concentración de ~0.5 % (p/v). Este ácido se genera a partir de la oxidación de la glucosa por la enzima glucosa oxidasa endógena y es un agente antibacteriano muy potente. Además, cuando la miel es diluida la glucosa oxidasa se activa y actúa sobre la glucosa endógena para producir peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (Ndife *et al.*, 2014). Para alcanzar un nivel máximo de H_2O_2 es necesario

diluir la miel entre un 30 y 50 %, lo que da un rango de 5 a 100 μg de H_2O_2 /g de miel diluida (Brudzynski, 2006).

La actividad antimicrobiana de la miel es otro factor que afecta la supervivencia de los microorganismos. Y esta actividad dependerá de su bajo contenido en agua (baja actividad de agua), alta viscosidad, acidez y contenido de agua (Almasaudi, 2021). Una actividad de agua de la miel oscila de 0.56 a 0.62 lo cual no permite el crecimiento de bacterias u otros microorganismos.

Adicionalmente, la miel puede inducir el proceso de ósmosis en los probióticos, ya que la elevada concentración de azúcares ejerce una presión osmótica sobre las células bacterianas, lo que hace que el agua fluya fuera de estas, inhibiendo el crecimiento bacteriano.

La supervivencia de las bacterias también depende del empaque, es decir, del grosor del material, el gas, la permeabilidad a la luz a través del material y la técnica del envasado (Korbekandi *et al.*, 2011).

En base a los resultados obtenidos en la viabilidad de *L. rhamnosus* en los malvaviscos, se puede concluir que las cápsulas no fueron suficientes para proteger a los probióticos de los factores descritos previamente.

Pese a que los probióticos murieron durante el tiempo de almacenamiento de los malvaviscos, existe una clasificación para los probióticos muertos denominada como “paraprobióticos”, los cuales suelen tener efectos similares a los probióticos vivos. Esto constituye una nueva esperanza para ser utilizados en pacientes más vulnerables sin riesgo (Hernández Hernández *et al.*, 2020).

Los paraprobióticos se definen como las células inactivadas o fracciones de células microbianas que al ser administradas en cantidades adecuadas confieren un beneficio al huésped. También son llamados probióticos inactivos o probióticos fantasmas (Arrijo-Bretón y López-Malo, 2018).

Diversos estudios confirman los beneficios de los paraprobióticos. Shigwedha *et al.* (2014) mencionan que las células inactivas de *L. rhamnosus* V. son efectivas en la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas, así como de alergias, fatiga y fibromialgia. Good *et al.* (2014) demostraron que, en ratones recién nacidos y lechones prematuros, la administración oral de *L. rhamnosus* HN001 inactivo por UV atenúa la gravedad de enterocolitis necrotizante.

Orlando *et al.* (2012) mostraron que la cepa *L. paracasei* IMPC2.1, coloniza el intestino humano y afecta positivamente a las bacterias fecales y los parámetros bioquímicos. Tanto las células cancerosas gástricas como las de colon fueron sensibles a la inhibición del crecimiento y a la inducción de la apoptosis por las células viables o muertas por calor de *L. paracasei* IMPC2.1 y *L. rhamnosus* GG. Estos hallazgos sugieren la posibilidad de un complemento alimenticio, basado en probióticos muertos, con potencial para la prevención del cáncer u otras enfermedades del sistema gastrointestinal.

5.4.8 Capacidad antioxidante (AC)

La AC de los malvaviscos se evaluó utilizando el radical libre “estable”, DPPH. La prueba DPPH mide la capacidad de la muestra para donar hidrógeno al radical DPPH, lo que da como resultado una decoloración cuantitativa de este reactivo, que está relacionada con la AC (Ruiz-Navajas *et al.*, 2011). La AC se debe principalmente a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides, aunque su mecanismo de acción no se comprende en su totalidad (Viuda-Martos *et al.*, 2008).

Los grados bloom no marcaron diferencia significativa en la AC, a diferencia de la concentración de miel ($p < 0.0001$). Los tratamientos con 50 y 75% de miel presentaron mayor contenido de AC. La interacción entre los factores con respecto al tiempo de almacenamiento mostró un efecto significativo ($p < 0.0001$) en la AC de los tratamientos de malvaviscos.

En el Gráfico **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.6** se muestra la AC de las formulaciones de malvaviscos en los diferentes días de almacenamiento. Los malvaviscos presentaron AC de 61.87 a 100.81 mg de Trolox/kg de malvavisco. En el primer día la muestra sin miel y 315 °bloom fue la de menor AC, mientras que la muestra con 50% de miel y 315°bloom tuvo la mayor AC. En el día 7 la muestra sin miel y 315 °bloom volvió a ser la de menor AC con 65.76 mg de Trolox/kg mientras que la muestra con 50 % miel y 265 °bloom presentó mayor concentración con 100.65 mg de Trolox/kg. Finalmente, el día 14 la muestra sin miel y 315 °bloom presentó menor AC con 58.58 mg de Trolox/kg mientras que la muestra con 75 % de miel y 265 °bloom fue la de mayor concentración con 82.02 mg de Trolox/kg de malvavisco.

En general, se puede observar que en las muestras que no tienen miel la AC es menor a comparación de las que contienen miel, a excepción de la muestra M1 en el día 14, lo cual puede deberse a una ligera sobrevivencia de probióticos.

Mendis, Rajapakse y Kim, (2005) demostraron que los caramelos a base de gelatina presentaron niveles bajos de AC, lo cual puede atribuirse a la presencia de aminoácidos como la glicina y la prolina. Periche *et al.* (2015) realizaron malvaviscos con extracto acuoso de Stevia los cuales tuvieron una AC de 117 mg Trolox/100 g de extracto acuoso.

Es probable que la AC en los malvaviscos se haya favorecido debido a que las cepas de lactobacilos y algunas bididobacterias poseen AC y son capaces de disminuir el riesgo de acumulación de radicales libres (Álvarez Calatayud, 2017). Sharma *et al.* (2017) encontró que el *L. rhamnosus* GG tuvo un porcentaje de inhibición de 59%. En base a lo anterior, existe la posibilidad de que la AC en los malvaviscos no solo dependiera de la miel adicionada si no también del contenido de probióticos. Además, los compuestos antioxidantes pueden interactuar con la matriz gelificante de diferentes formas que pueden favorecer o no sus actividades en el alimento (Cedeño-Pinos *et al.*, 2020).

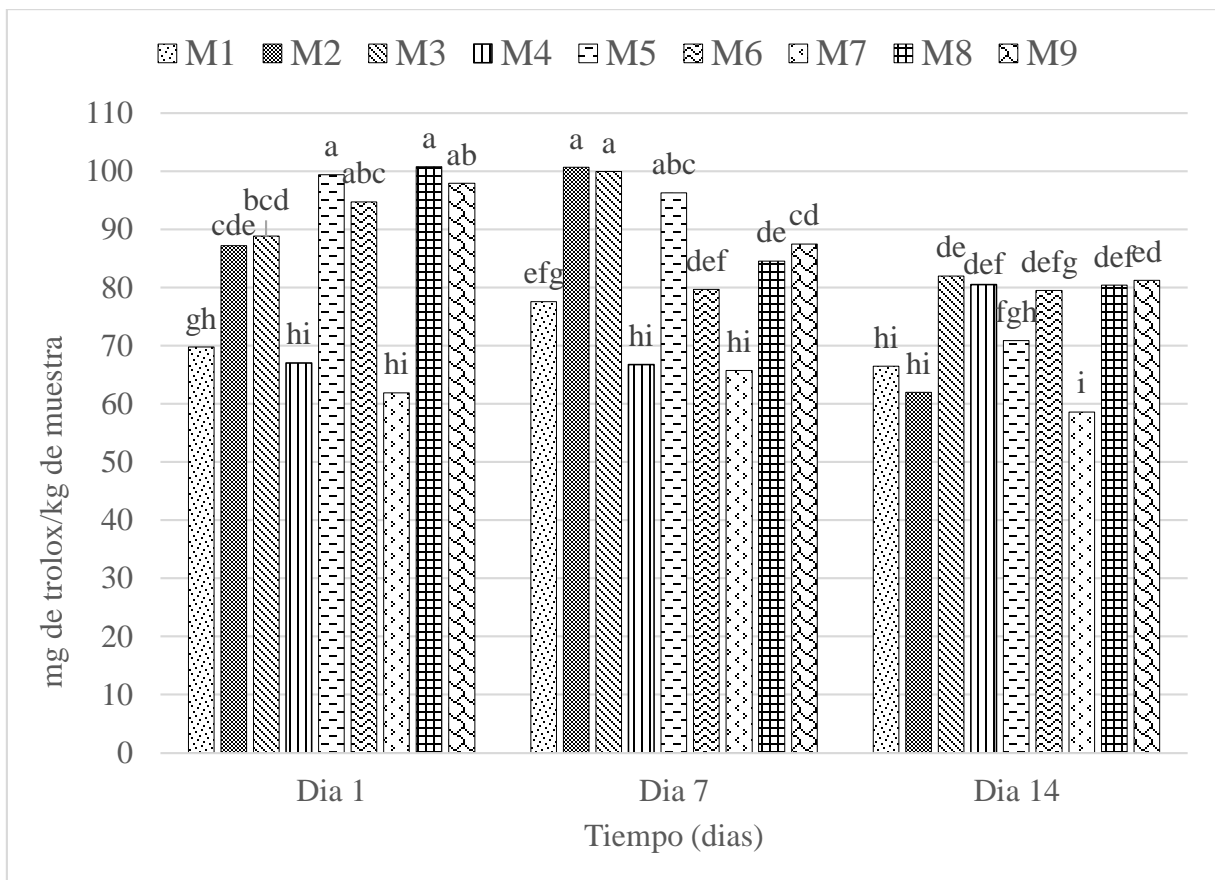


Gráfico 6 Resultados de la actividad antioxidante de los diferentes tratamientos de malvavisco durante el tiempo de almacenamiento. Medias con la misma letra no presentan diferencia estadística significativa ($\alpha=0.05$). M1, 0% miel-265 bloom; M2, 50% miel-265 °bloom; M3,

75% miel-265 °bloom; M4, 0% miel-300 °bloom; M5, 50% miel-300 °bloom; M6, 75% miel-300 °bloom; M7, 0% miel-315 °bloom; M8, 50% miel-315 °bloom; M9, 75% miel-315 °bloom.

5.4.9 Compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron mediante el método Folin-Ciocalteu. En el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.7** se observa que conforme pasa el tiempo la concentración de los compuestos fenólicos es mayor. La concentración de miel en los malvaviscos presentó diferencia significativa ($p < 0.0001$), y las muestras con miel fueron las de mayor contenido fenólico. Los grados bloom también evidenciaron diferencia significativa ($p < 0.0637$) en el contenido de fenoles; así como la interacción de la concentración de miel y los grados bloom ($p < 0.0001$).

En el día 1, la muestra sin miel y 315 °bloom mostró el menor contenido de fenoles con 54.45 mg de AG/kg de malvavisco, mientras que la muestra con 75% miel y 300 °bloom mostró un contenido de 100.55 mg de AG/kg de malvavisco. Para el día 7 la muestra sin miel y 300 °bloom fue la de menor concentración de fenoles y la muestra con 50% miel y 300 °bloom fue la de mayor contenido con 117.91 mg de AG/kg de malvavisco. Por último, en el día 14, la muestra sin miel y 315 °bloom de nuevo fue la de menor contenido de fenoles con 95.33 mg de AG/kg de malvavisco y el malvavisco con mayor concentración en este día fue el de 50% miel y 300 °bloom con 130.4 mg de AG/kg de malvavisco.

El CFT den la miel adicionada a los malvaviscos fue de 386 AG/kg, es por ello que los malvaviscos con miel mostraron mayor contenido de estos compuestos a comparación de los que fueron elaborados con 100% de azúcar. Cedeño-Pinos *et al.* (2020) analizaron caramelos de gelatina, los cuales fueron hechos con la adición de un extracto de romero con 73.9 mg de

polifenoles/g; por lo que los caramelos presentaron un contenido de polifenoles de 0.19 a 0.41 mg/g.

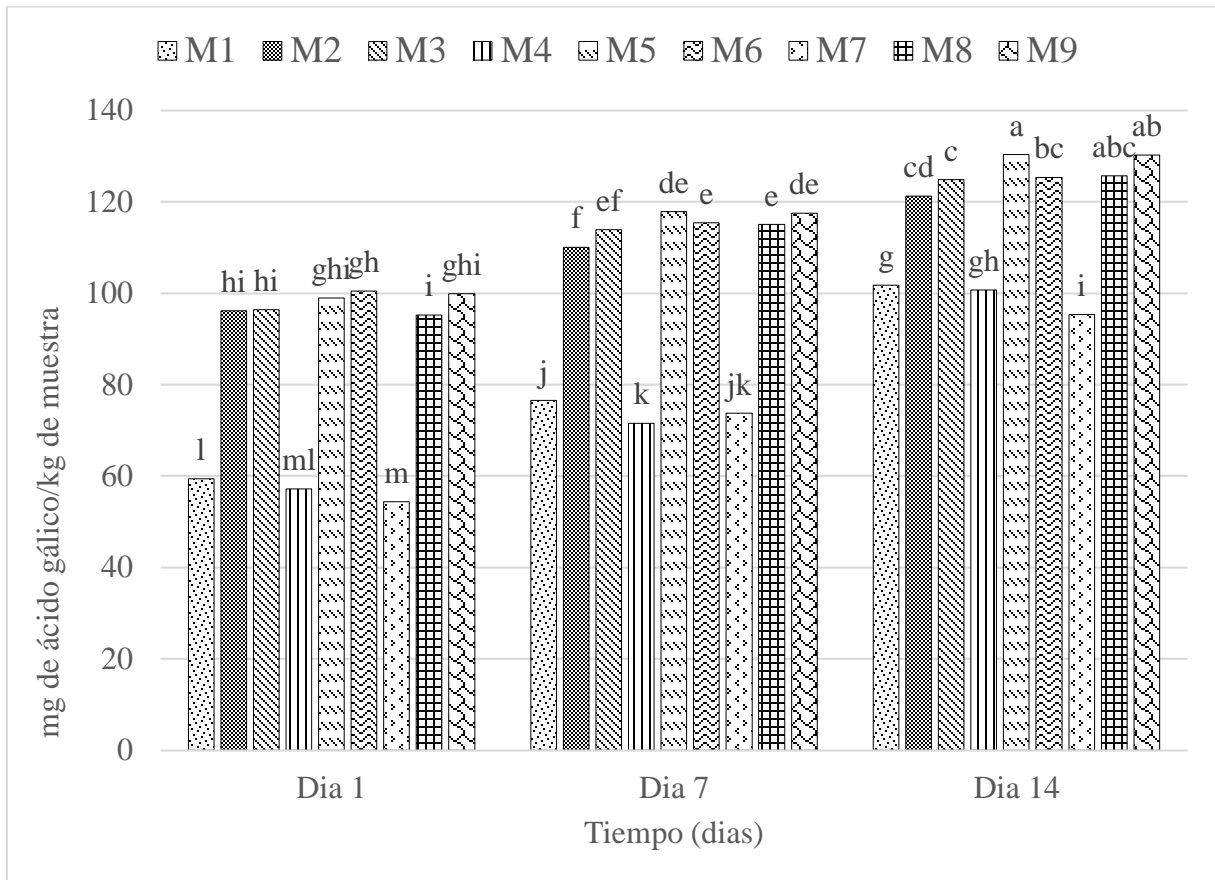


Gráfico 7 Resultados del contenido de fenoles totales de los diferentes tratamientos de malvavisco. Medias con la misma letra no presentan diferencia estadística significativa ($\alpha=0.05$). M1, 0% miel-265 bloom; M2, 50% miel-265 °bloom; M3, 75% miel-265 °bloom; M4, 0% miel-300 °bloom; M5, 50% miel-300 °bloom; M6, 75% miel-300 °bloom; M7, 0% miel-315 °bloom; M8, 50% miel-315 °bloom; M9, 75% miel-315 °bloom.

5.4.10 Análisis microbiológicos

La presencia de microorganismos no deseados en un alimento es un indicador de higiene.

En las muestras analizadas no se detectó crecimiento de mohos, levaduras ni coliformes fecales

en ninguna muestra almacenada a temperatura ambiente. Esto indica que existió una buena práctica de fabricación en la preparación, empaquetado y almacenado de las muestras.

6 CONCLUSIONES

La miel permitió obtener un producto funcional con contenido de compuestos fenólicos considerable y capacidad antioxidante, el contenido fue proporcional a la concentración de miel añadida en comparación con los elaborados con azúcar. Los grados bloom de la gretina también tuvieron un efecto importante en la mayoría de las características fisicoquímicas de los malvaviscos.

La encapsulación de los probióticos aportó a la supervivencia del *L. rhamnosus*, disminuyendo el efecto de la capacidad antimicrobiana que por naturaleza tiene la miel, aunque los materiales de encapsulamiento no fueron cien por ciento efectivos durante el almacenamiento dio paso a la presencia de los paraprobióticos, los cuales pueden otorgar beneficios a la salud.

Los resultados obtenidos respecto al contenido de compuestos bioactivos le confieren al malvavisco propiedades de un alimento funcional; siendo el de mejores resultados el malvavisco elaborado con 50% de miel y 300 °bloom.

7 LITERATURA CITADA

- Abdel-Rahman, M. A., Sadek, Z. I., Azab, M. S., Darwesh, O. M., & Hassan, M. S. (2019). Incorporation of microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* into infant-foods inhibit proliferation of toxicogenic *Bacillus cereus* strains. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18.
- Acquarone, C., Buera, P., & Elizalde, B. (2007). Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry*, 101(2), 695-703. doi:10.1016/j.foodchem.2006.01.058
- Alihosseini, F. (2016). Plant-based compounds for antimicrobial textiles. En G. Sun (Ed.), *Woodhead Publishing Series in Textiles* (págs. 155-195).
- Almasaudi, S. (2021). The antibacterial activities of honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2188-2196. doi:10.1016/j.sjbs.2020.10.017
- Álvarez Calatayud, G. (2017). *Los probióticos tienen propiedades antioxidantes*. El Probiótico, Evidencia y práctica clínica de los probióticos para el profesional de la salud. Obtenido de <https://www.elprobiotico.com/los-probioticos-tienen-propiedades-antioxidantes/>
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., . . . Battino, M. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2490-2499. doi:10.1016/j.fct.2010.06.021
- Amador Marti, L. (2021). *Alimentos funcionales en el tratamiento de la obesidad*. Español: Clinica obésitas.
- Amri, A., & Ladjama, A. (2013). Physicochemical characterization of some multifloral honeys from honeybees *Apis mellifera* collected in the Algerian northeast. *African Journal of Food Science*, 7(7), 168-173. doi:10.5897/AJFS2013.0986
- AOAC. (2019). Sugar and Sugar Products. En J. Dr. George W. Latimer (Ed.), *Official Methods of Analysis of AOAC International* (págs. 25-37). Estados Unidos: Gaithersburg.

- AOAC. (2019). Sugars and Sugar Products. En M. A. Godshall (Ed.), *Official Methods of Analysis* (pág. 3). United States: AOAC International.
- Aranceta Bartrina, J., Blay Cortés, G., Echeverría Gutiérrez, F. J., Gil Canalda, I., Hernández Cabria, M., Iglesias Barcia, J. R., & Lopéz Díaz-Ufano, M. L. (2011). *Guía de buena práctica clínica en alimentos funcionales*. Madrid: Atención Primaria de Calidad.
- Aranceta, J., & Serra, L. (2016). Guía de alimentos funcionales. 1-14. (P. F. SENC, Ed.) España: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC).
- Arrijoja-Bretón, D., & López-Malo, A. (2018). Paraprobióticos y su aplicación en alimentos. *UDLAP, Departamento de ingeniería química y alimentos*.
- Artamonova, M., Piliugina, I., Samokhvalova, O., Murlykina, N., Kravchenko, O., Fomina, I., & Grigorenko, A. (2017). A study of properties of marshmallow with natural anthocyanin dyes during storage. *Technology and Equipment of Food Production*, 3(11), 23-30. doi:10.15587/1729-4061.2017.103857
- Avendaño-Romero, G., López-Malo, A., & Palow, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos*, 7(1), 87-96.
- Bedolla Bernal, S., Dueñas Gallegos, C., Esquivel Ibarra, I., Favela Torres, T., Guerrero Huerta, R., Mendoza Madrid, E., . . . Trujillo Castillo, M. (2004). Elaboración de confites con agentes gelificantes. En *Introducción a la tecnología de alimentos* (págs. 141-147). Mexico: Limusa, S.A. de C.V.
- Beltrán de Heredia, M. R. (2016). Alimentos funcionales. *Nutrición*, 30(3), 12-14.
- Brudzynski, K. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian Journal of Microbiology*, 52(12), 1228-1237. doi:10.1139/w06-086
- CAA. (2013). *Código Alimentario Argentino, Nutrición y educación alimentaria, Beneficios de la miel*. Argentina: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina.

- Campbell, G. M., & Mougeot, E. (1999). Creation and characterisation of aerated food products. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 283-296. doi:10.1016/S0924-2244(00)00008-X
- Cargill, Helping the world thrive . (2021). Confectionery Conundrum: Finding balance between quality, health and indulgence. *Cargill, Incorporated. All rights reserved.*
- Castillo-Escandón, V., Fernández-Michel, S. G., Cueto-Wong, M. C., & Ramos-Clamont Montfort, G. (2020). Criterios y estrategias tecnológicas para la incorporación y supervivencia de probióticos en frutas, cereales y sus derivados. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 22, 1-17.
- Cedeño-Pinos, C., Martínez-Tomé, M., Murcia, M. A., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2020). Assessment of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract as Antioxidant in Jelly Candies Made with Fructan Fibres and Stevia. *Antioxidants*, 9(12), 1289. doi:10.3390/antiox9121289
- Chávez-Borges, D., Quintero-Lira, A., López-Oliveira, A. C., Martínez-Juárez, V., O.E., D. R.-R., Jiménez-Alvarado, R., & Campos Montiel, R. G. (2019). Bioactive compounds and selenium content determination in Hidalgo state Honey. *Journal of Energy, Engineering Optimization and Sustainability*, 3(2), 1-18. doi:10.19136/Jeeos.a3n2.3405
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T., Afrin, S., Gasparri, M., Reboledo-Rodríguez, P., Manna, P., . . . Battino, M. (2018). Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. *Molecules*, 23(9), 2322. doi:10.3390/molecules23092322
- CODEX. (1999). *Comisión del Codex Alimentarius, Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del codex sobre los azúcares.*
- Colquichagua, D. (1999). Marshmallows y Gomas. *Intermediante Technology Development Group.*
- Combarros-Fuertes, P., Estevinho, L. M., Dias, L. G., Castro, J. M., Tomas-Barberán, F. A., Tornadajo, M. E., & Fresno-Baro, J. M. (2019). Bioactive Components and Antioxidant and Antibacterial Activities of Different Varieties of Honey: A Screening Prior to

- Clinical Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 688-698. doi:10.1021/acs.jafc.8b05436
- Consumidor. (2015). *Estudio de calidad. Miel de abeja*. México: Revista del consumidor.
- Contreras-Martínez, C. S., Macías-Nieves, J. P., García-González, J. M., Trejo-Guardado, V. I., & Carranza-Concha, J. (2020). Antioxidant capacity and phenolic content of bee honey produced in Zacatecas, Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(4), 453-460.
- Crane, E. (1980). El libro de la miel. *Fondo de cultura Económica*.
- Cruz, A. G., Antunes, A. E., Sousa, A. L., Faria, J. A., & Saad, S. M. (2009). Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Research International*, 42(9), 1233-1239. doi:10.1016/j.foodres.2009.03.020
- Da Silva, V. M., Torres Filho, R. d., & Vilela, D. R. (2017). Rheological properties of selected Brazilian honeys as a function of temperature and soluble solid concentration. *International Journal of Food Properties*, 20, S2481-S2494. doi: 10.1080 / 10942912.2017.1370599
- Dang, Y., Reinhardt, J. D., Zhou, X., & Zhang, G. (2014). The effect of probiotics supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during eradication therapy: a meta-analysis. *PLoS One*, 9(11).
- Del Castillo Salinas, A. D. (2017). Elaboración de un restaurador de microbiota urogenital con actividad antagonica contra cepas bacterianas aisladas de procesos de infeccion urogenital. Bolibia : Universidad Major Pacensis Divi Andre AE.
- Delgado Roche, E., Ledesma Redrado, A., Bravo Andrés, N., & Burillo Vidal, P. (2020). Chronic diseases related to high sugar consumption. *Revista Electrónica de Portales Medicos.com*, 15(12). Obtenido de <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/enfermedades-cronicas-relacionadas-con-el-consumo-elevado-azucar/>
- Dey, G. (2018). Chapter 9 Non-dairy Probiotic Foods: Innovations and Market Trends. En S. Kumar Panda, & P. Halady Shetty (Edits.), *Innovations in Technologies for Fermented Food and Beverage Industries* (págs. 159-173). Switzerland: Springer. doi:10.1007 / 978-3-319-74820-7_9

- Division, N. (2006). *Probióticos en los alimentos, Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*. Roma: FAO; OMS.
- Dżugan, M., Tomczyk, M., Sowa, P., & Grabek-Lejko, D. (2018). Antioxidant activity as biomarker of honey variety. *Molecules*, 23(8), 269.
- Edwards, W. (2000). Aerated Products. En *The science of sugar confectionery* (págs. 128-129). Essex, UK: The Royal Society of Chemistry.
- Eslamparast, T., Poustchi, H., Zamani, F., Sharafkhah, M., Malekzadeh, R., & Hekmatdoost, A. (2014). Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99(3), 535-542.
- Espinosa, A., & Márquez, G. (Enero de 2017). Tecnologías de nano/micorencapsulación de compuestos bioactivos. *Tesis, I*.
- FAO. (2002). *Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*. Ontario, Canada.
- Fattori, S. B. (2004). *"La miel", Propiedades, composición y análisis físico-químico*. Argentina: Apimondia.
- Fennema, O. R., & Tannenbaum, S. R. (1985). Introducción a la química de los alimentos. En *Química de los alimentos*. España: Reverté.
- Fereidoon, S., & Xiao-Qing, H. (2009). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(1993), 501-547. doi:10.1080/10408399309527645
- Fernández-Torres, R., Pérez-Bernal, J., Bello-López, M., Callejón-Mochón, M., Jiménez-Sánchez, J., & Guiraúm-Pérez, A. (2005). Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Talanta*, 63(3), 686-691.
- Ford, A. C., Quigley, E. M., Lacy, B. E., Lembo, A. J., Saito, Y. A., Schiller, L. R., . . . Moayyedi, P. (2014). Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *The American journal of gastroenterology*, 109(10), 1546-1562.

- Gálvez Mariscal, A., Flores Argüello, I., & Farrés González Saravia, A. (2006). Proteínas. En S. Badui Dergal, *Química de los alimentos* (4 ed., págs. 119-244). Mexico: PEARSON EDUCACIÓN.
- Garrido Islas, J., & Güemes Vera, N. (2017). Efecto del proceso en la elaboración de merengues. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 3(6). doi:<https://doi.org/10.29057/icap.v3i6>
- Gheldof, N., & Engeseth, N. J. (2002). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3050-3055. doi:10.1021/jf0114637
- GMIA, G. M. (2012). Physical and chemical properties. En *Gelatin Handbook* (págs. 6-10).
- González Mejía, A. (2008). Confitería y su clasificación . En *Elaboración de un malvavisco con ginseng relleno de jalea de tamarindo* (pág. 3). México.
- González-Miret, M., Terrab, A., Hernanz, D., Fernández-Recamales, M., & Heredia, F. (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2574-2580.
- Good, M., Sodhi, C. P., Ozolek, J. A., Buck, R. H., Goehring, K. C., Thomas, D. L., . . . Hackam, D. J. (2014). *Lactobacillus rhamnosus* HN001 decreases the severity of necrotizing enterocolitis in neonatal mice and preterm piglets: evidence in mice for a role of TLR9. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, G1021-G1032. doi:10.1152/ajpgi.00452.2013
- GOULA, E. e. (2021). *México es el tercer exportador de miel a nivel mundial*. Recuperado el Mayo de 2021, de <https://goula.lat/enterate/mexico-es-el-tercer-exportador-de-miel-a-nivel-mundial/>
- Grossi, E., Buresta, R., Abbiati, R., & Cerutti, R. (2010). Clinical trial on the efficacy of a new symbiotic formulation, flortec, in patients with acute diarrhea: a multicenter, randomized study in primary care. *Journal of clinical gastroenterology*, 44(1), 35-41.

- Guevara Arauza, J. C. (2009). Efectos biofuncionales del Nopal y la Tuna. *Revista Horticultura*, 71.
- Habib, H. M., Al Meqbali, F. T., Kamal, H., Souka, U. D., & Ibrahim, W. H. (2014). Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. *Food Chemistry*, 153, 35-43. doi:10.1016/j.foodchem.2013.12.048
- Harris, P., Normand, V., & Norton, I. T. (2003). Gelatin. En L. Trugo, & P. Finglas (Edits.), *In Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (págs. 2865-2871). Academic Press.
- Hauser, G., Salkic, N., Vukelic, K., JajacKnez, A., & Stimac, D. (2015). Probiotics for standard triple *Helicobacter pylori* eradication: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Medicine (Baltimore)*, 94(17), 685.
- Hempel, S., Newberry, S. J., Maher, A. R., Wang, Z., Miles, J. N., Shanman, R., . . . Shekelle, P. G. (2012). Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 307(18), 1959-1969.
- Hernández Hernández, A., Coronel Rodríguez, C., & Gil Vázquez, J. M. (2020). Novedades en probióticos: evidencias, indicaciones y seguridad. *Pediatría Integral*, 24(3), 151-165.
- Hernández Hernández, A., Coronel Rodríguez, C., Monge Zamorano, M., & Quintana Herrera, C. (2015). Microbiota, Probióticos, Prebióticos y Simbióticos. *Pediatría Integral*, 19(5), 337-354.
- Homayouni, A., Ehsani, M. R., Azizi, A., Razavi, S. H., & Yarmand, M. S. (2008). Growth and Survival of Some Probiotic Strains in Simulated Ice Cream Conditions. *Journal of Applied Sciences*, 8, 379-382. doi:10.3923/jas.2008.379.382
- Huerta Vera, K. (2015). Impregnacion de probióticos y compuestos fenólicos de miel de abeja sin aguijón en placas de plátano (*musa cavendishii*) utilizando una emulsión múltiple. Mexico : Colegio de Postgraduados.
- Huq, T., Frascini, C., Khan, A., Riedl, B., Bouchard, J., & Lacroix, M. (2017). Alginate based nanocomposite for microencapsulation of probiotic: Effect of cellulose nanocrystal (CNC) and lecithin. *Carbohydrate Polymers*, 168(1), 61-69. doi:10.1016/j.carbpol.2017.03.032

- Ibarguren, C., Grosso, C., Apella, M., & Audisio, M. (2012). Anti-*Listeria monocytogenes* activity of enterocins microencapsulated by ionic gelation. *Food Hydrocolloids*, 29(1), 21-26. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.01.017
- Isa, M. I., Craig, A., Ordoñez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., . . . Maldonado, L. (2011). Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1922-1930. doi:10.1016/j.lwt.2011.04.003
- ISAPP. (2021). *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics. Clinical Guide to Probiotic Products Available in USA*. Recuperado el 10 de Mayo de 2021, de <https://isappscience.org/>
- Jiménez-Hernández, M., Del Ángel-Coronel, O. A., Espejo-Bayona, D. L., & Lugo-Damian, H. N. (2017). Efecto de pH y la temperatura sobre la liberación de la bacteriocina producida por *Pediococcus acidilactici* ITV26 encapsulada en una matriz de alginato-almidón. *Revista de la Invención Técnica*, 22-29.
- Juárez, M., Olamp, A., & Morais, F. (2005). *Alimentos Funcionales* (Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología ed.). Madrid: RUMAFRAF, S.A.
- Korbekandi, H., Mortazavian, A. M., & Irvani, S. (2011). *Technology and stability of probiotic in fermented milks*. Probiotic and prebiotic foods: Technology, stability and benefits to the human health.
- Krell, R. (1996). Value-added products from beekeeping. *Fao Agriculture Services Bulletin*.
- Lahtinen, S. J., Forssten, S., Aakko, J., Granlund, L., Rautonen, N., Salminen, S., . . . Ouwehand, A. C. (2012). Probiotic cheese containing *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Lactobacillus acidophilus* NCFM® modifies subpopulations of fecal lactobacilli and *Clostridium difficile* in the elderly. *Age (Dordrecht, Netherlands)*, 34(1), 133-43.
- LEGISCOMEX. (2009). *Inteligencia de mercado-Confitería en México* . México .
- León-de la O, D. I., Calderón-Yépez, B., Martínez-Ballinas, A., Sánchez-Herrera, E. M., Zulatto-Lobato, A. C., Camacho-Hernández, I., . . . Salgado-Brito, R. (2013). Formulación y optimización de un medio de cultivo económico para *Lactobacillus* con

potencial probiótico aislado del pulque. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria, Facultad de ciencia y tecnología* (12), 133-144.

Lira Gómez, C. F. (2020). *Lactobacillus rhamnosus: características, morfología*. Recuperado el 06 de Junio de 2021, de <https://www.lifeder.com/lactobacillus-rhamnosus/>

Mardani, M., Yeganehzad, S., Ptichkina, N., Kodatsky, Y., Kliukina, O., Nepovinnykh, N., & Naji-Tabasi, S. (2019). Study on foaming, rheological and thermal properties of gelatin-free marshmallow. *Food Hydrocolloids*, 93, 335-341. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.02.033

Martín Villena, M. J., Morales Hernández, M. E., Gallardo Lara, V., & Ruiz Martínez, M. A. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS Pharmaceutica*, 50(1), 43-50. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10481/27475>

Martínez, R. (2019). ¿Cuál es el mejor endulzante natural? *Bioeco Actual*(60), 4-5.

Masson, L. (1997). Metodos analiticos para la determinacio de humedad, alcohol, energia, materia grasa y colesterol en alimetos. En C. Morón, I. Zacarias, & S. de Pablo, *Producción y manejo de datos de composicion química de alimentos en nutrición* . Chile : FAO.

Mayo Clinic. (2021). *Estilo de vida saludable Nutrición y comida soludable* . Obtenido de Azúcares agregados: no sabotees tu alimentación con edulcorantes: <https://www.mayoclinic.org/es-es/healthy-lifestyle/nutrition-and-healthy-eating/in-depth/added-sugar/art-20045328>

Mejorado M., N. (2006). *Tecnología Confiteria*. Industria alimentaria .

Mendis, E., Rajapakse, N., & Kim, S. (2005). Propiedades antioxidantes de un péptido eliminador de radicales purificado a partir de hidrolizado de gelatina de piel de pescado preparado enzimáticamente. *J. Agric. Food Chem*, 581-587.

Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., Khosrokhavar, R., & Gomes de la Cruz, A. (2011). Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Ann Microbiol*, 61, 411-424. doi:10.1007/s13213-010-0188-z

- Mondragón-Cortez, P. M., Guatemala-Morales, G. M., & Arriola-Guevara, E. (2019). Properties of Some Commercial Honey Available in Mexican Market: Effect of Overheating on Quality of the Packaged Honey. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 6, 93-100. doi:10.18502/jfqhc.6.3.1382
- Mondragón-Cortez, P., Ulloa, J., Rosas-Ulloa, P., Rodríguez-Rodríguez, R., & Resendiz Vázquez, J. (2013). Physicochemical characterization of honey from the West region of México. *CyTA - Journal of Food*, 11(1), 7-13. doi:10.1080/19476337.2012.673175
- Mortazavian, A., Ehsani, M., Azizi, A., Razavi, S., Mousavi, S., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. (2008). Viability of calcium-alginate-microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under simulated gastrointestinal conditions. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 63(1), 25-30.
- MSPB, M. d. (2019). Obtenido de Consumo excesivo de azúcar es riesgo potencial para la salud: <https://www.mspbs.gov.py/portal/19453/consumo-excesivo-de-azucar-es-riesgo-potencial-para-la-salud.html>
- Mutlu, C., Tontul, S. A., & Erbaş, M. (2018). Production of a minimally processed jelly candy for children using honey instead of sugar. *LWT- Food Science and Technology*, 93, 499-505. doi:10.1016/j.lwt.2018.03.064
- Nava Reyna, E., Michelena Álvarez, G., Iliná, A., & Martínez Hernández, J. L. (2015). Microencapsulation of bioactive compounds. *Investigación y Ciencia*, 23(66), 64-70.
- Nayik, G., Dar, B., & Nanda, V. (2019). Physico-chemical, rheological and sugar profile of different unifloral honeys from Kashmir valley of India. *Arabian Journal of Chemistry*, 12, 3151-3162. doi:10.1016/j.arabjc.2015.08.017
- Ndife, J., Abioye, M., & Dandago, M. (2014). Locations, Quality Assessment of Nigerian Honey Sourced from Different Floral. *Nigerian Food Journal*, 32(2), 48-55. doi:10.1016/S0189-7241(15)30117-X
- NMX-F-317-S-1978. (1978). Determinación de pH en alimentos . Mexico : Diario Federal .
- NOM-004-SAG/GAN-2018. (2020). *Producción de miel y especificaciones*. México: Diario Oficial de la Federación.

- NOM-111-SSA1-1994. (1994). *Bienes y servicios. Método para cuenta de mohos y levaduras en alimentos.*
- NOM-113-SSA1-1994. (1994). *Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.*
- Noori Dokoohaki, Z., Saeed Sekhavatizadeh, S., & Hosseinzadeh, S. (2019). Dairy dessert containing microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 53103) with quince seed mucilage as a coating material. *LWT - Food Science and Technology*, *115*(108429), 1-8.
- OCDE, O. p. (2020). *OCDE*. Recuperado el 2021, de Presentación del estudio: “La Pesada Carga de la Obesidad: La Economía de la Prevención”: <https://www.oecd.org/about/secretary-general/heavy-burden-of-obesity-mexico-january-2020-es.htm>
- Ogden, C. L., Yanovski, S. Z., Carroll, M. D., & Flegal, K. M. (2007). The Epidemiology of Obesity. *Gastroenterology*, *132*(6), 2087-2102. doi:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.052>.
- Olveira, G., & González-Molero, I. (2016). An update on probiotics, prebiotics and symbiotics in clinical nutrition. *Endocrinología y Nutrición*, *63*, 482-494. doi:<https://doi.org/10.1016/j.endoen.2016.10.011>
- OMS. (2018). *Malnutrición*. Organización Mundial de la Salud.
- OMS. (2020). Organización Mundial de la Salud, Coronavirus, diabetes y obesidad: una combinación peligrosa en México. (Q. Laura, Recopilador) Obtenido de <https://news.un.org/es/story/2020/03/1471852>
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2021). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 2021, de Obesidad y sobrepeso: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2021). *Temas de salud*. Recuperado el 2021, de Obesidad: https://www.who.int/es/health-topics/obesity#tab=tab_2

- Orlando, A., Refolo, M. G., Messa, C., Amati, L., Lavermicocca, P., Guerra, V., & Russo, F. (2012). Antiproliferative and proapoptotic effects of viable or heat-killed *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 and *Lactobacillus rhamnosus* GG in HGC-27 gastric and DLD-1 colon cell lines. *Nutrition and cancer*, 64(7), 1103-1111. doi:10.1080/01635581.2012.717676
- Orozco Sánchez, N., & Pierdant, M. (2014). Investigaciones en golosinas: funcionales en confitería: innovación y biodisponibilidad. *Food Technology Summit y Expo*.
- Ortega-Bonilla, R. A., Morales-Hormiga, C. H., & Chito-Trujillo, D. M. (2021). Evaluation of physicochemical characteristics, phenolic compounds, mineral content, and color of commercial honeys from Cauca (Colombia). *Ciencia & Tecnología Agropecuaria-Publicación continua*, 22(2). doi:10.21930/rcta.vol22_num2_art:1894
- Oude Elferink, S. J., Frank, D., Gottschal, J. C., & Spoelstra, S. F. (1999). Estudio 2.0 - Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. *Uso del Ensilaje en el Trópico Privilegiando Opciones para Pequeños Campesinos, Estudio FAO producción y protección Vegetal*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/X8486S/x8486s00.htm#Contents>
- Periche, A., Castelló, M. L., Heredia, A., & Escriche, I. (2015). Stevia rebaudiana, oligofrutose and isomaltulose as sugar replacers in marshmallows: satiability and antioxidant properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(4), 724–732. doi:10.1111/jfpp.12653
- Piana, G., Ricciadelli, D., & Isola, A. (1989). *La miel*. Madrid: Mundi Prensa.
- Pino, J. A., & Aragüez, Y. (2020). Current knowledge about the encapsulation of essential oils. *CENIC Cienc. Quím.*, 52(1), 010-025.
- PROFECO. (2018). *Tecnologías Domésticas Profeco*. México .
- PROFECO. (2020). *Estudio de calidad PROFECO*. México: Revista del CONSUMIDOR.
- Progel. (2018). *Progel Mexicana M.R.* Recuperado el 30 de Mayo de 2021, de <https://www.progel.com.mx/>

- Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, A. P., Dias, T., & Estevinho, L. M. (2011). Chapter 4 - Mead Production: Tradition Versus Modernity. *Advances in Food Research*(63), 101-118. doi:10.1016/B978-0-12-384927-4.00004-X
- Ramos Díaz, A. L., & Pacheco López, N. A. (2016). Producción y comercialización de miel y sus derivados en México: Desafíos y oportunidades para la exportación. *CIATEJ*.
- Ramos-Clamont Montfort, G., Hernández-González, L. E., Fernández-Michel, S. G., Froto-Madariaga, M. d., & Vázquez-Moreno, L. (2013). Estrategias para mejorar la sobrevivencia de probióticos en helados . *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* , 15(2), 31-38.
- Reddy Lebaka, V., Jung Wee, Y., Reddy Narala, V., & Kumar Joshi, V. (2018). Chapter 4 - Development of New Probiotic Foods—A Case Study on Probiotic Juices. En A. Mihai Grumezescu, & A. Maria Holban (Edits.), *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods* (págs. 55-78). Academic Press.
- Rodríguez, B. A., Mendoza, S., Iturriga, M. H., & Castaño-Tostado, E. (2012). Quality parameters and antioxidant and antibacterial properties of some Mexican honeys. *Journal of Food Science*, 77, C121-C127. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02487.x
- Rodríguez, M. A. (28 de Abril de 2018). *El Economista*. Recuperado el Enero de 2019, de Industria de la confitería espera un crecimiento de 15% en 2018: <https://www.economista.com.mx/empresas/Industria-de-la-confiteria-espera-un-crecimiento-de-15-en-2018-20180428-0015.html>
- Rodríguez, Y. A., Rojas, A. F., & Rodríguez-Barona, S. (2016). Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias. *Biosalud*, 15(2), 106-115. doi:10.17151/biosa.2016.15.2.10
- Rosas-Flores, W., Ramos-Ramírez, E. G., & Salazar-Montoya, J. A. (2013). Microencapsulation of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus delbrueckii* using alginate and gellan gum. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 1011-1017. doi:10.1016/j.carbpol.2013.06.077

- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., Zaldivar-Cruz, J. M., Kuri, V., & Pérez-Álvarez, J. Á. (2011). Antioxidant Activity of Artisanal Honey From Tabasco, Mexico. *International Journal of Food Properties*, 14(2), 459-470. doi:10.1080/10942910903249480
- SADER. (2020). *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, La miel mexicana va endulzando el mundo*. Recuperado el Mayo de 2021, de <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-miel-mexicana-va-endulzando-el-mundo?idiom=es>
- Salazar, A., Blanca, C., Montoya, C., & Olga, I. (2003). Importancia de los probióticos y prebióticos en la salud humana. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 10(2), 20-26.
- Santoso, B., Verawati, E., Wardani Widowati, T., Puspa Dewi, S. R., & Pambayun, R. (2019). Functional Characteristics of Marshmallow with Kinang (Chew of Betel) Extract Addition. *Journal of Food and Nutrition Research*, 7(1), 1-5.
- Scagnelli, A. M. (2016). Therapeutic Review: Manuka Honey. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 25, 168-171. doi:10.1053/j.jepm.2016.03.007
- Schneiter, E., Haag, M., & Yurkiv, G. (2015). Miel: Beneficios, propiedades y usos . *Instituto Nacional de Tecnología Industrial- Entre Rios*, 5-10.
- Schweder, T., Krüger, E., Xu, B., Jürgen, B., Blomsten, G., Enfors, S.-O., & Hecker, M. (2000). Monitoring of genes that respond to process-related stress in large-scale bioprocesses. *Biotecnología y Bioingeniería*, 65(2), 151-159.
- Sevilla Paz Soldan, R., Zalles Cueto, L., Eróstegui Revilla, C., Olgún, A. M., & Sevilla, G. (2011). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG in immune-nutritional recovery of severely malnourished children. *Gaceta Médica Boliviana*, 34(2), 71-75.
- Sharma, K., Mahajan, R., Attri, S., & Goel, G. (2017). Selection of indigenous *Lactobacillus paracasei* CD4 and *Lactobacillus gastricus* BTM 7 as probiotic: assessment of traits combined with principal component analysis. *Journal of Applied Microbiology*, 122(5), 1310-1320.

- Shigwedha, N., Zhang, L., Sichel, L., Jia, L., Gong, P., Liu, W., . . . Gao, W. (2014). Más de unos pocos LAB alivian los problemas comunes Alergias: impacto de los paraprobióticos en Comparación con células vivas probióticas. *Revista de biociencias y medicinas*, 2, 56-64. doi:10.4236/jbm.2014.23008
- Sisson, G., Ayis, S., Sherwood, R. A., & Bjarnason, I. (2014). Randomised clinical trial: A liquid multi-strain probiotic vs. placebo in the irritable bowel syndrome--a 12 week double-blind study. *Aliment Pharmacol Therapeutics*, 40(1), 51-62.
- Szajewska, H., & Kołodziej, M. (2015). Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Therapeutics*, 42(7), 793-801.
- Szajewska, H., Canani, R. B., Guarino, A., Hojsak, I., Indrio, F., Kolacek, S., . . . Weizman, Z. (2016). Probiotics for the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea in Children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 62(3), 495-506.
- Szajewska, H., Guarino, A., Hojsak, I., Indrio, F., Kolacek, S., Shamir, R., . . . European Society for Pediatric Gastroenterology, H. a. (2014). Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 58(4), 531-539.
- Szakály Z., S. V. (2012). The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. *Appetite*, 58, 406-413.
- Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., & Masoudpour-Behabadi, M. (2016). Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 137(1), 360-374.
- Terrab, A., Recamales, A., Hernanz, D., & Heredia, F. (2004). Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral content. *Food Chemistry*, 88, 537-542.
- Thorat, B., & Deshmukh, R. (2020). *Confectionery Market by Product Type (Hard-Boiled Sweets, Mints, Gums & Jellies, Chocolate, Caramels & Toffees, Medicated*

Confectionery, Fine Bakery Wares, and Others), *Age Group (Children, Adult, and Geriatric)*, *Price Point (Economy, Mid-Range, and Luxur*. Allied Market Research.

Tong, Q., Zhang, X., Wu, F., Tong, J., Zhang, P., & Zhang, J. (2010). Effect of honey powder on dough rheology and bread quality. *Food Research International*, *43*, 2284-2288. doi:10.1016/j.foodres.2010.08.002

Tripathi, M., & Giri, S. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, *9*, 225-241. doi:https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030

UNAM, Severiano Pérez, Patricia; Velázquez Madrazo, Olga del Carmen; Díaz Álvarez, Juan Manuel. (2018). *Laboratorio de Confiteía*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.

UNICEF, F. d. (2018). *Salud y nutrición*. Recuperado el 2021, de <https://www.unicef.org/mexico/salud-y-nutrici%C3%B3n>

Valdivia, M. d. (2014). Espumas en alimentos. *Revista digital universitaria UNAM*, *15*(5). doi:http://www.revista.unam.mx/vol.15/num5/art34/art34.pdf

Valík, E., Medved'ová, A., & Liptáková, D. (2008). Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. *ournal of Food and Nutrition Research*, *47*(2), 60-67.

Vanhanen, L. P., Emmertz, A., & Savagea, G. P. (2011). Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food Chemistry*, *128*(1), 236-240. doi:10.1016/j.foodchem.2011.02.064

Vargas-Sánchez, R. D., Torrescano-Urrutia, G., Mendoza-Wilson, A. M., Vallejo-Galland, B., Acedo-Félix, E., Sánchez-Escalante, J. J., . . . Sánchez-Escalante, A. (2013). Mecanismo Involucrados en la actividad antioxidante y antibacteriana del propólis. *Biotecnia Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, *16*(1), 32-37.

Vattuone, M. A., Quiroga, E. N., Sgariglia, M. A., Soberón, J. R., Jaime, G. S., Martínez Arriazu, M. E., & Sampietro, D. A. (2007). Compuestos Fenólicos Totales, Flavonoides, Prolina y Capacidad Captadora de Radicales libres de miles de *Tetragonisca angustula*

- Fiebrigi (Schwarz, 1938) y de *Plebeia wittmanni*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 6(5), 299-300.
- Vázquez-Quñones, C. R., Moreno-Terrazas, R., Natividad-Bonifacio, I., Quiñones-Ramírez, E. I., & Vázquez-Salinas, C. (2018). Microbiológico evaluación de cariño en México. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(1), 75-80. doi:10.1016/j.ram.2017.04.005
- Velásquez, D., & Goetschel, L. (2019). Determination of the physicochemical quality of bee honey sold in Quito and comparison with artificial honey. *Revista Enfoque UTE*, 10(2), 52-62.
- Visweswara Rao, P., Thevan Krishnan, K., Salleh, N., & Hua Gan, S. (2016). Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(5), 657-664. doi:10.1016/j.bjp.2016.01.012
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008). Functional Properties of Honey, Propolis and Royal Jelly. *Journal of Food Science*, 73(9), 117-124. doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x
- Waitzberg, D. L., Logullo, L. C., Bittencourt, A. F., Torrinhas, R. S., Shiroma, G. M., Paulino, N. P., & Teixeira-da-Silva, M. L. (2013). Effect of synbiotic in constipated adult women - a randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 33(1), 27-33.
- Walsh, D. J., Russell, K., & FitzGerald, R. J. (2008). Stabilisation of sodium caseinate hydrolysate foams. *Food Research International*, 41, 43-52. doi:10.1016/j.foodres.2007.09.003
- Wen, Z. Y., Yeqin, W., & Yilin, C. (2019). Tissue Engineering of Blood Vessels. En R. L. Reis (Ed.), *Encyclopedia of Tissue Engineering and Regenerative* (págs. 413-424).
- WGO, Guarner, F., Ellen Sanders, M., Eliakim, R., Fedorak, R., Gangl, A., . . . Salminen, S. (2017). *WGO Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics*. World Gastroenterology Organisation.

Yeun, Y., & Lee, J. (2015). Effect of a double-coated probiotic formulation on functional constipation in the elderly: a randomized, double blind, controlled study. *Archives of pharmacal research*, 38(7), 1345-1350.

Zúñiga Hernández, L. A., Ciro Velásquez, H. J., & Osorio Saraz, A. (2007). Estudio de la dureza del queso Edam por medio de análisis de perfil de textura y penetrometría por esfera. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*.