



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**PROYECTO DE TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

TEMA:

**ESTUDIO DE LA FORMACIÓN DEL COMPLEJO ALMIDÓN-ÁCIDO GÁLICO
Y SU INFLUENCIA EN LA VARIABILIDAD DE LAS BACTERIAS LÁCTICAS
ENCAPSULADAS Y NO ENCAPSULADAS.**

AUTOR:

FLORES HOLGUIN ALVARO VLADIMIR

TUTOR:

ING. MARIA ISABEL MANTUANO CUSME Mg.

MANTA-MANABÍ-ECUADOR

2019

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Los Honorables Miembros del tribunal Examinador luego del debido análisis y su cumplimiento de la Ley aprueban el informe de investigación sobre el tema:
“ESTUDIO DE LA FORMACIÓN DEL COMPLEJO ALMIDÓN-ÁCIDO GÁLICO Y SU INFLUENCIA EN LA VARIABILIDAD DE LAS BACTERIAS LÁCTICAS ENCAPSULADAS Y NO ENCAPSULADAS”.

Ing. Mirabella Lucas Ormaza, Mg.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Miguel Zambrano Reyes, Mg.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Ítalo Bello Moreira, Mg

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

CERTIFICACIÓN

En calidad de docente tutor(a) de la Facultad de CIENCIAS AGROPECUARIAS de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, certifico:

Haber dirigido y revisado el trabajo de titulación, cumpliendo el total de 400 horas, bajo la modalidad de tesis, cuyo tema del proyecto es **“Estudio de la formación del complejo almidón ácido gálico y su influencia en la variabilidad de las bacterias lácticas encapsuladas y no encapsuladas”**, el mismo que ha sido desarrollado de acuerdo a los lineamientos internos de la modalidad en mención y en apego al cumplimiento de los requisitos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico, por tal motivo CERTIFICO, que el mencionado proyecto reúne los méritos académicos, científicos y formales, suficientes para ser sometido a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

La autoría del tema desarrollado, corresponde al señor **Alvaro Vladimir Flores Holguín**, estudiante de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial**, período académico 2018-2019, quien se encuentra apto para la sustentación de su trabajo de titulación.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

Manta, 03 de Julio de 2019.

Lo certifico,

Ing. MARIA ISABEL MANTUANO CUSME Mgs. Sc.
Docente Tutor(a)

DECLARACION DE AUTORIA

Yo, Flores Holguín Alvaro Vladimir, con C.I. 131250540-5, declaro que el presente trabajo de titulación, es de mi autoría, y que los resultados del mismo son auténticos, originales y personales, los textos constantes en el documento que proviene de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Manta, 2019

Flores Holguín Alvaro Vladimir

C.I: 131250540-5

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradezco primero a Dios y en segundo a mi familia que es uno de los pilares más fundamentales de mi vida, gracias a ellos he logrado terminar un ciclo muy importante de mi vida, gracias por todo el apoyo que me brindaron en cada momento de esta etapa y por lo que ahora soy.

Con mucha gratitud agradezco a mi tutora Ing. María Isabel Mantuano Cuzme Mg. Sc, quien es la pieza muy importante para la realización de este trabajo de titulación, es un privilegio contar con su guía y ayuda.

Agradezco a la Universidad Laica Eloy Alfaro De Manabí por acogerme y abrir sus puertas y brindarme sus conocimientos y formarme profesionalmente.

Gratifico mi mayor agradecimiento a la Facultad de Ciencias Agropecuaria por aceptarme y acogerme en sus aulas, en la Carrera de Ingeniería Agroindustrial.

DEDICATORIA

Este presente trabajo es la cosecha del esfuerzo que eh entregado cada día, el cual me siento muy orgulloso y grato tanto como lo están mis seres queridos quienes son muy importante en mi vida, a quienes con mucho cariño y amor se los dedico.

A Dios quien ha sido mi guía, fortaleza, apoyo y fidelidad ha estado conmigo hasta el día de hoy.

A mis padres **José Flores y Gladys Holguín**, quienes creyeron en mi cada día sacándome adelante, dándome apoyo, ejemplo de superación y entrega, porque gran parte gracias a ustedes, hoy he alzado un meta, ya que siempre me estuvieron brindando su apoyo he impulsándome cada día a seguir sin importar los momentos difíciles de mi carrera, su orgullo, fortaleza y empeño que siente hacia ustedes me hicieron llegar hasta el final.

A mis hermanos, **José, Ovidio y Luis Flores Holguín**, quienes han estado a mi lado brindándome incondicionalmente su apoyo y guiándome por el camino del bien, en todo momento cuando más lo he necesitado.

A mi Abuela Ángela Lucas quien con sus palabras, cariño y amor me han enseñado ser una persona luchadora, fuerte y ser victorioso en cada momento sin perder la humildad y respeto hacia los demás.

A mis mejores amigos y amigas quienes son otra parte muy importante mil gracias por estar a mi lado en las buenas y en las malas brindándome su confianza, fortaleza y respaldo en mi carrera universitaria.

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue “evaluar la formación del complejo almidón-ácido gálico y su influencia en la variabilidad de las bacterias lácticas encapsulada y no encapsulada”, donde se determina la viabilidad del ácido gálico gelatinizado formando complejo con el almidón y con bacterias ácidas lácticas encapsuladas, obteniendo compuestos fenólicos totales de 0,015 abs en concentraciones de 15 mg y 50 mg y 0,011 abs en 75 mg, en cuanto al análisis DSC calorimetría diferencial de barrido, se tuvo la formación de complejo con una concentración de 75 mg a una temperatura de 53-63°C y la viabilidad de las bacterias ácidas lácticas en su doble encapsulación tuvo una ligera reducción de un 13,67% *Lactubacillus casei* y 15,49% *Lactococcus lactis ssp* mientras que las bacterias ácidas lácticas libre tuvo una mayor reducción 924,75% *Lactubacillus casei* y 70,38% *Lactococcus ssp*, en los 30 días de evaluación del presente estudio.

Palabras calves:

Formación de complejo, Almidón, Ácido gálico, Compuestos fenólicos, Bacterias ácido lácticas, Encapsulada, Viabilidad, Calorimetría diferencial de barrido DSC.

SUMMARY

The objective of this research was to "evaluate the formation of the starch-gallic acid complex and its influence on the variability of encapsulated and non-encapsulated lactic acid bacteria", where the viability of gelatinized gallic acid forming complex with starch and bacteria is determined Encapsulated lactic acid, obtaining total phenolic compounds of 0.015 abs in concentrations of 15 mg and 50 mg and 0.011 abs in 75 mg, in terms of DSC analysis, differential scanning calorimetry, complex formation was obtained with a concentration of 75 mg to a temperature of 53-63 ° C and the viability of the lactic acid bacteria in their double encapsulation had a slight reduction of 13.67% *Lactobacillus casei* and 15.49% *Lactococcus lactis* ssp while the lactic acid bacteria free had a greater reduction 924.75% *Lactobacillus casei* and 70.38% *Lactococcus* ssp, in the 30 days of evaluation of the present study.

Key words: Complex formation, starch, gallic acid, phenolic compounds, lactic acid bacteria, encapsulated, viability, Differential scanning calorimetry DSC.

ÍNDICE

CAPÍTULO I.	1
INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA	3
1.3. JUSTIFICACIÓN	4
1.4. OBJETIVOS	5
Objetivo General	5
Objetivo Especifico	5
1.5. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II.	6
MARCO TEÓRICO	6
2.1. Formación de complejo	6
2.2. Método de calorimetría diferencial de barrido (DSC)	6
2.3. Almidón de yuca	7
2.3.1. Usos del almidón en alimentos	7
2.4. Ácido Gálico	7
2.4.1. Aplicación de ácido gálico	8
2.5. Compuestos Fenólicos	8
2.6. Viabilidad de las bacterias ácidas lácticas	8
2.7. Bacterias ácidas lácticas	8
2.7.1. Clasificación de la BAL	9
2.7.2. Lactobacillus casei	9
2.7.3. Lactococcus lactis spp	9
2.8. Prebiótico	10
2.8.1. Fructosa	10
2.9. Encapsulación	10
2.9.1. Uso de la encapsulación	11
CAPÍTULO III.	12
3.1. METODOLOGÍA	12
3.2. Estudio preliminar	12
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	13
3.4. TRATAMIENTOS	14

3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS	15
RESULTADO Y DISCUSIÓN	17
CONCLUSIONES	22
RECOMENDACIONES	22
BIBLIOGRAFÍA	23
ANEXOS.....	27

ÍNDICE DE TABLA

Tabla N°1 Esquema de análisis de varianza (ANOVA).....	14
Tabla N°2 tratamiento de estudio	15
Tabla N°3 Formación de complejo del almidón ácido gálico.	18
Tabla N°4. Preba de Tukey al 0.05% compuesto fenolico.....	27
Tabla N°5. Prueba de Tukey al 0.05% Viabilidad doble encapsulación día 0.	29
Tabla N°6. Tukey al 0.05% Viabilidad doble encapsulación día 10	29
Tabla N°7. Tukey al 0.05% Viabilidad doble encapsulación día 20	30
Tabla N°8. Tukey al 0.05% Viabilidad doble encapsulación día 30	30
Tabla N° 9. Prueba de Tukey al 0.05%. Viabilidad libre día 0	32
Tabla N° 10. Tukey al 0.05%. Viabilidad libre día 10.....	32
Tabla N° 11. Tukey al 0.05%. Viabilidad libre día 20.....	33
Tabla N° 12. Tukey al 0.05%. Viabilidad libre día 30.....	33

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N°1 Determinación de compuesto fenólico del almidón de yuca y ácido gálico gelatinizado	17
Gráfico N°2 Viabilidad de la doble encapsulación de las bacterias ácido lácticas y almidón ácido gálico.....	20
Gráfico N°3 Viabilidad libre de las bacterias ácido lácticas y almidón ácido gálico.	21
Gráfico N°4. Prueba de Tukey al 0.05 %. Viabilidad encapsuladas de las bacterias lácticas durante 30 días en almacenamiento a 37°C.....	28
Gráfico N° 5. Prueba de Tukey al 0.05 %. Viabilidad libre de las bacterias lácticas durante 30 días en almacenamiento a 37°C.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. Lectura del ácido gálico en el espectrofotómetro.....	34
Figura N° 2. Muestra de almidón ácido gálico para lectura del DSC.....	34
Figura N° 3. Viabilidad de doble encapsulación bacterias lácticas y almidón ácido gálico.	35
Figura N° 4. Viabilidad libre de bacterias lácticas	35

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día los compuestos fenólicos se presentan como una alternativa para la protección contra la contaminación de microorganismo patógenos, que se generan por la falta de prevención sanitaria y medidas preventivas en la elaboración de los productos, estos compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales asociados como parte protectora para contrarrestar la contaminación **(Gouin 2004; Nazzaro et al 2012)**.

En la actualidad se están aplicando tecnologías para poder conservar y dar mayor vida útil a los alimentos, así como también en brindar al consumidor productos más naturales y funcionales , entre los diferentes métodos de conservación se tiene a los recubrimientos comestibles, los cuales se forman a base de polímeros, a los cuales se les puede incorporar aceites esenciales naturales para contrarrestar el crecimiento de las bacterias, así como también existen estudios donde se les agregan antioxidantes encapsulados los cuales forman una barrera física con el medio exterior protegiendo de las diferentes condiciones que se presentan y de los microorganismos patógenos **(Oliveira G. 2014)**.

Hoy en día se están utilizando el almidón de yuca para diversas investigaciones de inocuidad alimentaria conjunto con el ácido gálico ya que esto al ser gelatinizado forman una cristalización, donde el DSC tiene como indicador dos puntos de temperaturas el cual permite observar la formación del complejo expuesta a diferentes temperaturas **(Enrique et al. 2014; Aguilar 2007; Pérez 2014 & Moothy et al. 2006)**.

La doble encapsulación tiene el beneficio de proteger a las bacterias ácido lácticas formando una barrera con la formación de complejo la cual permite que el ácido gálico no destruya las bacterias benéficas al reaccionar con los microorganismos patógenos. Y

la viabilidad tiene como una temperatura de desarrollo a 37°C disminuyendo las UFC con el paso del tiempo (**Gouin 2004; Nazzaro et al. 2012 & Rathore et al. 2013**).

El objetivo de la presente investigación consistió en evaluar la formación del complejo almidón-ácido gálico y su influencia en la viabilidad de las bacterias lácticas encapsulada y no encapsulada. Iniciado con la comparación del contenido de ácido gálico antes y después de la gelatinización del almidón y posteriormente se determinó la viabilidad de las bacterias ácidas lácticas encapsulada formando complejo almidón ácido gálico (**Pérez 2012; Ordinola et al. 2015; Gouin 2004; Nazzaro et al. 2012 & Rathore et al. 2013**).

1.2. PROBLEMA

En la actualidad los compuestos fenólicos son utilizados con mayor frecuencia en otras técnicas, farmacéutica, antiinflamatoria, antibiótica y en alimentos antioxidantes de grasas, aceites y aditivos de bebidas, donde no están presente las bacterias, por lo que el ácido gálico es un compuesto antibacteriano donde destruiría fácilmente las bacterias lácticas, por falta de conocimientos de las personas no se ha aplicado en los alimentos lácteos, por lo que destruiría con facilidad las bacterias beneficiosas y microorganismo patógenos, por lo tanto disminuirá las propiedades beneficiosas de los alimentos lácteos. Existe un gran interés en estudiarlos debido a sus propiedades antioxidantes, y su participación en procesos sensoriales de los alimentos procesados además de sus posibles aplicaciones benéficas para la salud humana **(Porras & López 2009)**.

Los alimentos lácteos, tienden a sufrir consecuencias de contaminación por agentes patógenos, por la deficiencias de las tecnologías que no son tan eficientes en la conservación de los alimentos y que requieren de otras nuevas tecnologías, para mantener mayor tiempo de vida útil al producto, los varios tratamientos que existen en la actualidad, no asegura la inocuidad en totalidad de obtener un alimento seguro y libre de contaminación por microorganismos, en la actualidad en la provincia de Manabí existen intoxicaciones por ingerir productos con deterioro de conservación, lo cual ha despertado interés en las técnicas de preservación capaces de inactivar microorganismos **(Molés R. 2011)**.

La salud alimentaria es la prioridad que se tiene en la provincia de Manabí, el cual el principal problema es la alteración de alimentos contaminados que genera intoxicaciones afectando al sistema inmunológico de las personas que ingieren alimentos elaborados con tecnología artesanal, donde no hay controles necesarios para la transformación del producto final, medidas técnicas de inocuidad y controles necesarios de higiene, la intoxicación se dan casi siempre por bacterias patógenas y se presenta en 24 y 72 horas **(Chavez P. 2010)**.

1.3. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día existen diferentes variedades de productos que son encapsulados ya sea con almidones, bacterias ácidas lácticas, prebióticos utilizando tecnología de micro-empaqueamiento que consiste en el recubrimiento de un material activo o núcleo que puede encontrarse en estado líquido, sólido o gaseoso, con una membrana polimérica según exprese. Lo cual ayuda de una u otra manera a que el sistema inmunológico tenga un mejor funcionamiento al consumir alimentos funcionales.

Actualmente existen muchos productos alimenticios consumidos por las personas, el ácido gálico es uno de estos productos por lo que contienen antioxidantes que se encuentra en las plantas, frutas, vegetales y otros alimentos ingiriendo las porciones adecuadas de estos alimentos ayuda a las personas que sufren de enfermedades cardiovasculares y cancerígenas, que ayudan en el funcionamiento de las células y tejidos del cuerpo humano y contrarrestar algunas enfermedades degenerativas, manifiesta.

Este proyecto se desea obtener, la formación de complejo almidón ácido gálico y aplicarla en una capsula con bacterias benéficas y determinar la viabilidad de lo mismo, donde esta investigación se enfoca en implementar una nueva técnica de conservación para los alimentos lácteos como manjar, cuajada, yogurt, etc beneficiando a la salud de los consumidores.

1.4. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la formación del complejo almidón-ácido gálico y su influencia en la variabilidad de las bacterias lácticas encapsulada y no encapsulada.

Objetivo Especifico

- Comparar el contenido de ácido gálico antes y después de la gelatinización del almidón.
- Determinar la viabilidad de las bacterias lácticas encapsulada formando complejo almidón ácido gálico.

1.5. HIPÓTESIS

El complejo almidón-ácido gálico influirá en la viabilidad de las bacterias lácticas.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Formación de complejo

Un complejo es una molécula formada por un ion o átomo central rodeado por un conjunto de ligantes, donde el ligante o ligando es cualquier átomo o molécula capaz de actuar como donante en uno o más enlaces coordinados y puede existir independientemente. Los complejos son una combinación de un ácido de Lewis (átomo central) con cierto número de bases de Lewis (ligantes). Los metales forman complejos y son el átomo central del mismo (complejos metálicos). El átomo en la base de Lewis que se enlaza al átomo central se denomina átomo donador, debido a que cede los electrones utilizados en la forma del enlace **(Pérez 2012)**.

2.2. Método de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se está volviendo más y más importante en el estudio de las características del almidón, especialmente gelatinización y retrogradación. La complejidad de almidón con lípidos y surfactantes indican que es la fracción de amilosa que forma el complejo que puede ser estudiado utilizando DSC. Cuando una suspensión de almidón es calentada en presencia de un lípido o surfactante dos endotérmico se observan picos, el primero corresponde a la gelatinización del almidón, y el segundo debido a la fusión del complejo de amilosa-lípido. Considerando que el almidón la gelatinización es un proceso irreversible, este último es reversible y se puede observar durante el recalentamiento de la muestra. También se ha encontrado que la gelatinización de almidón ayuda a que las moléculas de amilosa sean más accesible al lípido y surfactante para formar un complejo. **(Moorthy et al. 2006)**.

2.3. Almidón de yuca

La yuca es una de las principales fuentes de almidón conteniendo hasta un 87,7% p/p en base seca; superando en más del 10% a otras fuentes de almidones **(Acevedo M. et al. 2015)**. Existen gran cantidad de variedades de yuca en el mundo las cuales producen almidón con propiedades fisicoquímicas variables atribuibles a diferencias en su relación de amilosa a amilopectina y variaciones en su estructura molecular **(Enrique et al. 2014)**.

2.3.1. Usos del almidón en alimentos

El almidón es una materia prima que presenta un amplio campo de aplicaciones como en las industrias alimentarias y no alimentarias. En las industrias alimentarias el almidón es muy utilizado como aditivo para algunos alimentos, ya que posee múltiples funciones tales como: adhesivo, estabilizante de espuma, ligante, formador de películas, etc. **(Aristizàbal et al. 2007)** y para la no alimentaria es utilizado en: farmacéutica, manufactura de papel, textura, adhesivos y empaques biodegradables **(Hernández et al. 2008)**.

2.4. Ácido Gálico

El ácido gálico (AG), también conocido como ácido 3, 4 ,5-trihidroxibenzoico, es un ácido fenólico presente en diversas fuentes naturales **(Taitzoglou 2001)**, se obtiene directamente del alimento o por hidrólisis del ácido tánico mediante una reacción con la enzima tanasa, que cataliza la hidrólisis de los enlaces tipo éster presentes en los galotaninos. Asimismo, se le atribuyen varios efectos biológicos, que van desde la actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibiótica, hasta la protección cardiovascular y anticancerígena **(Aguilar 2007)**.

2.4.1. Aplicación de ácido gálico

El AG tiene aplicaciones en diversas áreas, principalmente en la farmacéutica ya que es precursor en la manufactura de antibióticos de amplio espectro como trimetoprima. Además en el área de alimentos se ha utilizado como antioxidante de grasas y aceites, así como aditivo en algunas bebidas y alimentos, evitando la oxidación de lo mismo **(Hocman 1998)**.

2.5. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Además, actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta (p. ej. los antocianos son los responsables del color rojo, naranja, azul, púrpura o violeta que encontramos en las pieles de las frutas y hortalizas). **(Gimeno 2004)**.

2.6. Viabilidad de las bacterias ácidas lácticas

La viabilidad de las bacterias lácticas tiene como medio a una temperatura de 4°C para obtener un buen desarrollo ya que a es la temperatura adecuada para el crecimiento de las BAL **(Ordinola & Osorio 2015)**.

2.7. Bacterias ácidas lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL), son un grupo de microorganismos representadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común **(Ramírez et al. 2011)**, se definen como una clase funcional que designa un grupo heterogéneo de bacterias Gram positivas, no patógenas, no toxigénicas, fermentadoras, caracterizadas por producir ácido láctico a partir de carbohidratos, lo

que las hace útiles como cultivos iniciadores para la fermentación de alimentos. Comparten otros rasgos comunes como ser aerotolerantes, no forman esporas, no reducen el nitrato y no producen pigmentos **(Sánchez & Tromps 2014)**.

2.7.1. Clasificación de la BAL

La clasificación de las BAL en géneros diferentes es basada en principio en la morfología, modo fermentación de la glucosa (homofermentativas y heterofermentativas), el crecimiento a diferentes temperaturas, la configuración del ácido láctico producido, habilidad para crecer a alta concentración de sal y tolerancia ácida o alcalina **(Ramírez et al. 2011)**. pertenecen al Phylum Firmicutes que comprenden de alrededor de 20 géneros: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella* son los principales miembros de las bal siendo el *Lactobacillus* el más grande de este género. **(Parra 2010)**.

2.7.2. *Lactobacillus casei*

Los *Lactobacillus casei* son un tipo de bacteria probiótica muy eficaz para equilibrar la microflora intestinal, prevenir los trastornos intestinales, regular el sistema inmune específicamente de la respuesta inmune celular y además posee una potente acción antidiarreica. Tiene aplicaciones como probióticos en humanos, como cultivo iniciador ácido-productor para fermentaciones de leche y especialmente como cultivos para la intensificación y aceleración de desarrollo de sabores en ciertas variedades de quesos madurados con bacteria **(Velásquez et al. 2015)**.

2.7.3. *Lactococcus lactis* spp

El *Lactococcus lactis* es un microorganismo mesófilo, capaz de fermentar la lactosa produciendo ácido láctico en gran cantidad, de la misma forma es capaz de producir algunas sustancias antibacterianas conocidas en forma genérica como

bacteriocinas, entre las cuales destacan la nisina y la diplococcina. Ambos factores, acidez y bacteriocinas, son capaces de inhibir el crecimiento de un amplio rango de microorganismos **(Valbuena et al. 2005)**.

2.8. Prebiótico

Los prebióticos se refieren a los ingredientes de los alimentos no digeribles que producen efectos beneficiosos **(Oliveira et al. 2007)**, estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o más tipos de bacterias **(De la Cagiga et al. 2002)**, que nutren a grupos seleccionados de microorganismos que habitan en el intestino **(Guarner et al. 2011)**, para elevar el potencial de salud del hospedero **(De la Cagiga et al. 2002)**.

2.8.1. Fructosa

La fructosa es un carbohidrato del grupo de las cetohexosas, también llamado azúcar de fruta. Es un compuesto natural extensamente distribuido en la naturaleza. Su estructura química consta de seis átomos de carbono **(Castillo et al. 2003)**.

La principal fuente de fructosa es la sacarosa o azúcar de mesa, que proviene en general de la caña de azúcar o de la remolacha azucarera. Otras fuentes de fructosa son la miel de abeja y las frutas como: dátiles, higos, manzanas, uvas, fresas y moras. La fructosa se utiliza como edulcorante en alimentos preparados, o se vende granulada para uso de los consumidores **(Esquivel et al. 2007)**.

2.9. Encapsulación

La encapsulación es una tecnología de micro-empaquetamiento que consiste en el recubrimiento de un material activo o núcleo que puede encontrarse en estado líquido, sólido o gaseoso, con una membrana polimérica semi-permeable de diversos

materiales, generando micropartículas, microcápsulas y/o microesferas de tamaños variables (nm a mm) (**Gouin 2004; Nazzaro et al. 2012; Rathore et al. 2013**). La encapsulación puede ocurrir mediante diversos métodos: atomización, gelación iónica, extrusión, emulsión, coacervación, entrapamiento en liposomas, entre los más usados (**Gouin 2004 & Nazzaro et al. 2012**).

2.9.1. Uso de la encapsulación

La encapsulación está tomando cada vez mayor importancia en diversas industrias tales como la farmacéutica, la cosmética, la química y la alimentaria entre otras. Desde entonces, esta técnica ha sido utilizada industrialmente con la finalidad de dar un valor agregado al producto a través de la protección y transporte, o bien mediante la liberación controlada de agentes activo en el tiempo y lugar más adecuado; logrando con esto mejorar efectividad de los aditivos y ampliando sus aplicaciones (**Guevara et al. 2008**)

CAPÍTULO III.

3.1. METODOLOGÍA

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Análisis de Alimento, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicado en la ciudad de Manta, Av. Circunvalación - Vía a San Mateo (Latitud 0°57' S y de Longitud 80°42 W y Altitud aproximada de 20 m.s.n.m). en el periodo 2018-2019.

Utilizando como variables de diseño el ácido gálico y dos tipos de bacterias lácticas (*Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis ssp*), con y sin encapsulación en dos tipos de prebióticos.

3.2. Estudio preliminar

Se realizó diversos estudios preliminares, donde se llevó a cabo la selección de la formación de complejo de almidón-ácido gálico. Aplicando la técnica DSC que se describe en el punto 3.5.

Los cuales se mantuvieron a una temperatura de 27°C durante un mes.

Factor de estudio

El diseño experimental utilizado en el estudio fue completamente al azar con un arreglo bifactorial.

DISEÑO EXPERIMENTAL

A. Tipo de Bacterias lácticas

- A1 *Lactobacillus casei*
- A2 *Lactococcus lactis spp*

B.- Ácido Gálico

- B1 Libre
- B2 Encapsulado

Variable de estudios

Variables Independientes

- Tipo de bacteria lácticas
- Ácido Gálico

Variables Dependiente

- Vialidad de la bacteria lácticas

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

- **Tipo de diseño**

En la presente investigación se aplicó un diseño completamente al azar con un arreglo de diseño Bifactorial, con tres replicas por cada tratamiento, se determinó la temperatura para la formación de complejo almidón-ácido gálico, así como también la

viabilidad frente a la bacteria *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis ssp*, libres y encapsuladas.

- **Análisis Estadísticos**

Para determinar la viabilidad de las bacterias lácticas (*Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis ssp*) libres y doble encapsulación. Se realizó un análisis de varianza ADEVA al 5% y la prueba mínima de comparación de acuerdo con la prueba de Tukey. Todos los datos fueron analizados por triplicado y los resultados procesado por el programa Infostat 2016.

Tabla N°1 Esquema de análisis de varianza (ANOVA)

Fuente de variación		G.L
Total	(t*r-1)	11
Tratamiento	(t-1)	3
Repetición		2
Factor A	1	
Factor B	1	
Interacción (AxB)	1	
Error experimental		6

Elaborado por. Flores Holguín Alvaro 2019

$$\text{Coeficiente de variación (\%)} CV = \frac{\sqrt{CM ERROR}}{\bar{X}} * 100$$

3.4. TRATAMIENTOS

En la tabla N°2 se muestran las 4 combinaciones de los factores en estudio tales como; A: tipo de bacteria lácticas y B: ácido gálico.

Tabla N°2 tratamiento de estudio

N°	Tratamientos	Tipo de Bacteria Lácticas	Ácido Gálico
1	A1B1	Lactobacillus casei	Libre
2	A1B2	Lactobacillus casei	Encapsulado
3	A2B1	Lactococcus lactis spp	Libre
4	A2B2	Lactococcus lactis spp	Encapsulado

Elaborado por. Flores Holguín Alvaro 2019

3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

- **Determinación de compuesto fenólicos totales**

Los compuestos fenólicos totales se determinaron según el método de Folin-Ciocalteu propuesto por Slinkard & Singleton (1977). Con modificaciones la cual consistió en gelatinizar cuatro concentraciones 75 mg, 50 mg, 25 mg 15 mg de almidón de yuca y 0,1 g de ácido gálico una temperatura de 90°C por 10 minutos se enfría, y se extrae (0,2 mL) de solución madre, la cual será mezclada con 1 mL de reactivo Folin-Ciocalteu la cual se la deja reposar por 5 minutos , y se le añade 2 mL de solución de carbonato de sodio (5%) y se aflora con agua destilada. en un matraz Erlenmeyer de 10 mL. Preparada la muestra se la deja en la oscuridad por 1 hora. Trascurrido este tiempo se toma 1 mL de esta muestra y se coloca en un matraz de 50 mL y se lo aflora con agua destilada y se procede a medir la absorbancia de la solución resultante a 760 nm en un espectrofotómetro (ThermoSpectronic, USA). Y la cuantificación de compuestos fenólicos totales se lo realizara mediante una curva de calibración y ácido gálico como estándar.

- **Analizar la formación del complejo almidón ácido gálico por calorimetría diferencial de barrido DSC**

Las propiedades de gelatinización del almidón se analizaron en el equipo Seiko SII 6200 DSC (Seiko, Japón) con un software estándar, con un rango de temperatura 17-97°C, a una velocidad de escaneo de 10° / min. Las cuales fueron evaluadas con una relación de almidón a agua de 1: 3 (w/w), con un blanco como referencia. Las entalpías de gelatinización (ΔH) se presentan en J / g de almidón sobre base seca.

Para estudiar el complejo de DSC con amilosa, se aplicó la técnica propuesta por Santacruz et al. (2002).

- **Doble encapsulación**

La metodología aplicada para la primera encapsulación y segunda encapsulación fue la de Wang & Papadopoulos (2012) Matsumoto & Yonezawa, (1976), con modificaciones.

3.5.1. Viabilidad de encapsulación

Los compuestos fenólicos poseen actividad antimicrobiana por lo que su presencia podría disminuir la viabilidad de Bacterias lácticas encapsuladas. por lo que se estudió midiendo la viabilidad de las Bacterias lácticas encapsuladas de acuerdo con Lu Shi et al. (2013)

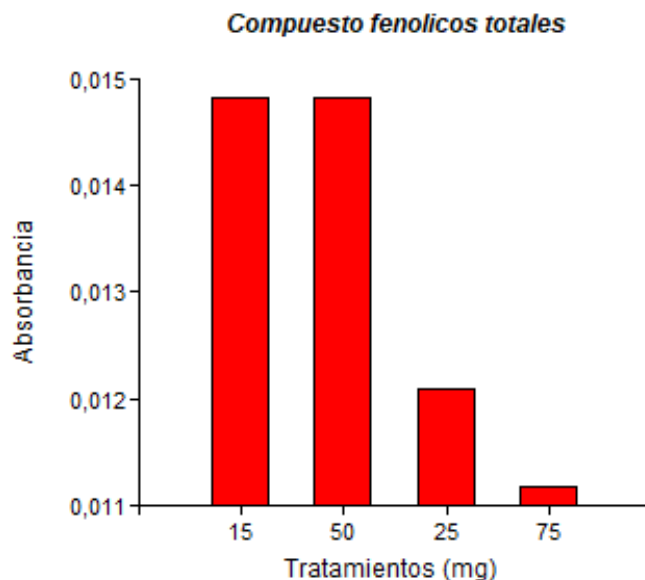
CAPÍTULO IV

RESULTADO Y DISCUSIÓN

- **Determinación de compuesto fenólicos totales**

En el **gráfico N° 1** se muestra el porcentaje de absorbancia de las diferentes concentraciones de almidón (75mg, 50mg, 25mg, 15mg) y ácido gálico 0,1.g, gelatinizado a una temperatura de 90°C por 10 min, donde no existe diferencia significativa en ninguno de los tratamientos, sin embargo se puede apreciar que a menor concentración de almidón mayor en la concentración compuestos fenólicos, obtenido como resultado 0,015 abs en la concentración de 15 mg y 50 mg de almidón y 0,011 abs en la concentración de 75 mg de almidón.

Gráfico N°1 Determinación de compuesto fenólico del almidón de yuca y ácido gálico gelatinizado



Autor: Flores, A. (2019)

Los compuestos fenólicos están siendo evaluados en diferentes productos y métodos de extracción como los detallas García *et al.* (2018) en su tratamiento de Ají gallinazo

en donde presenta valores de 60,04 mg ácido gálico/g PS, y en el ají rocoto presenta un valor de 39,15 mg ácido gálico/g PS, así como también reposta sus datos Flores *et al.* (2017) en cascara de limón persa el cual presento un rango de 18,5 mg y en cascara de naranja dulce 21,10mg, dándonos cuenta que el ácido gálico presenta compuestos fenólicos igual e incluso superior que los detallados anterior mente, obteniendo 0,015 y 0,011 de abs en ácido gálico presentando mayor contenido en la determinación de compuesto fenólicos de las diferentes concentraciones, se observó que entre menor sea la concentración de componente que va a gelatinizar el compuesto fenólico mayor será el grado de absorbancia.

- **Formación de complejo del almidón ácido gálico por el DSC**

En la **tabla N°3** se muestran los tratamientos y las temperaturas a los cuales comenzó a formar complejo el almidón y el ácido gálico, por el método de calorimetría diferencial de barrido, el cual fue calibrado de 50 hasta 70°C, donde se obtuvo como resultado que el mejor complejo se da a mayor concentración de almidón, siendo el tratamiento que contenía 75 mg de almidón el que mejor resultado presento a una temperatura de 53 – 63 °C, presentando una gelatinización con mayor firmeza, mientras que el tratamiento que contenía menor cantidad de almidón 15 mg formo complejo a una temperatura 51 – 60 °C con una gelatinización más ligera.

Tabla N°3 Formación de complejo del almidón
ácido gálico.

Tratamientos	Temperaturas (°C)
75 mg	53 – 63
50 mg	50 – 61
25 mg	52 – 60
15 mg	51 – 60

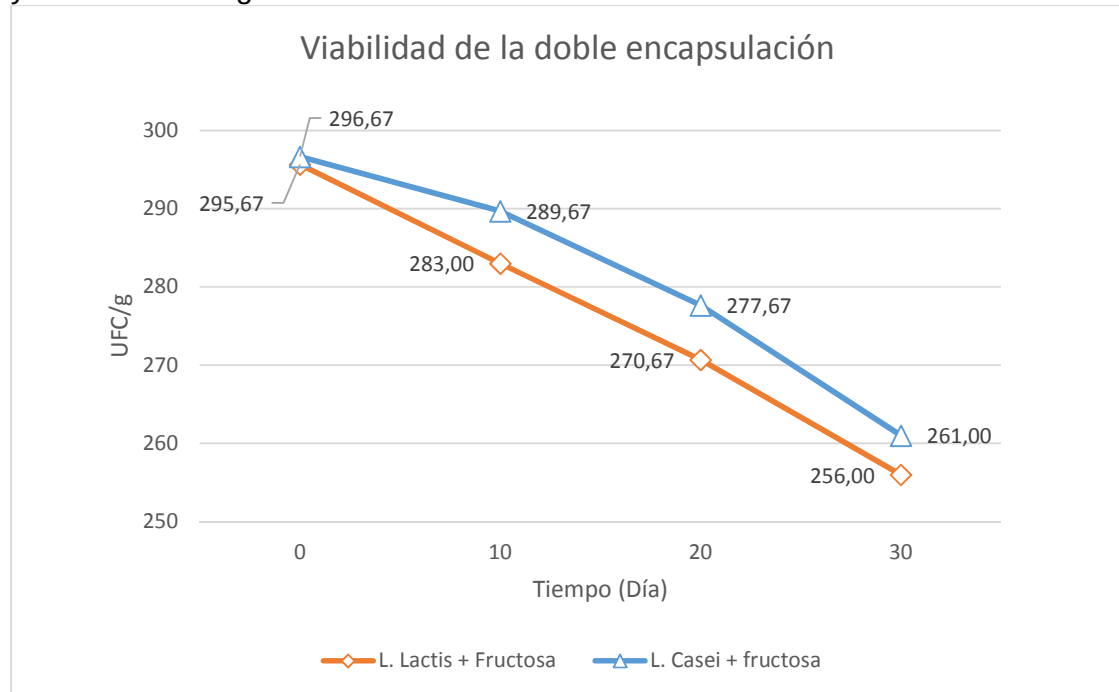
Fuente: Flores, A. (2019)

La formación de complejo va a depender mucho del almidón a utilizar debido su contenido de amilasa y amilopectina, existiendo algunos caso como el del maíz de formar complejo antes de la gelatinización a una temperatura de 63-100°C a diferencia del almidón de plátano, que forma complejo después de la gelatinización a temperatura de 54-74°C (Gómez *et al.* 2008 & Montoya *et al.* 2014), a diferencia del complejo del almidón de yuca y ácido gálico forma complejo a una temperatura de 53-63°C fue el primero en formar complejo, por lo que el almidón contiene mayor cantidad de amilasa y amilopectina por lo que requiere una mayor temperatura para la gelatinización.

- **Determinación de la viabilidad de las bacterias ácido-lácticas (*L. casei* y *L. lactis ssp*) encapsuladas.**

En el **Grafico N°2** se muestra la viabilidad de las bacterias ácido lácticas con doble encapsulación almidón y ácido gálico durante 0, 10, 20, 30 días, donde la disminución de colonias en los dos tratamientos es mínima, la cual inicio con una ufc/g 296.67 de las bacterias ácido lácticas ***L. casei*** y en la ***L. lactis ssp***, inicia con una ufc/g 295,67 y a los 30 días de evaluación se obtuvo una viabilidad de 261 ufc/g y con una pérdida de 13.67% ufc/g y en ***L. casei*** y para la ***L. lactis ssp***. Con 256 ufc/g presentando una pérdida de 15.49% ufc/g.

Gráfico N°2 Viabilidad de la doble encapsulación de las bacterias ácido lácticas y almidón ácido gálico.



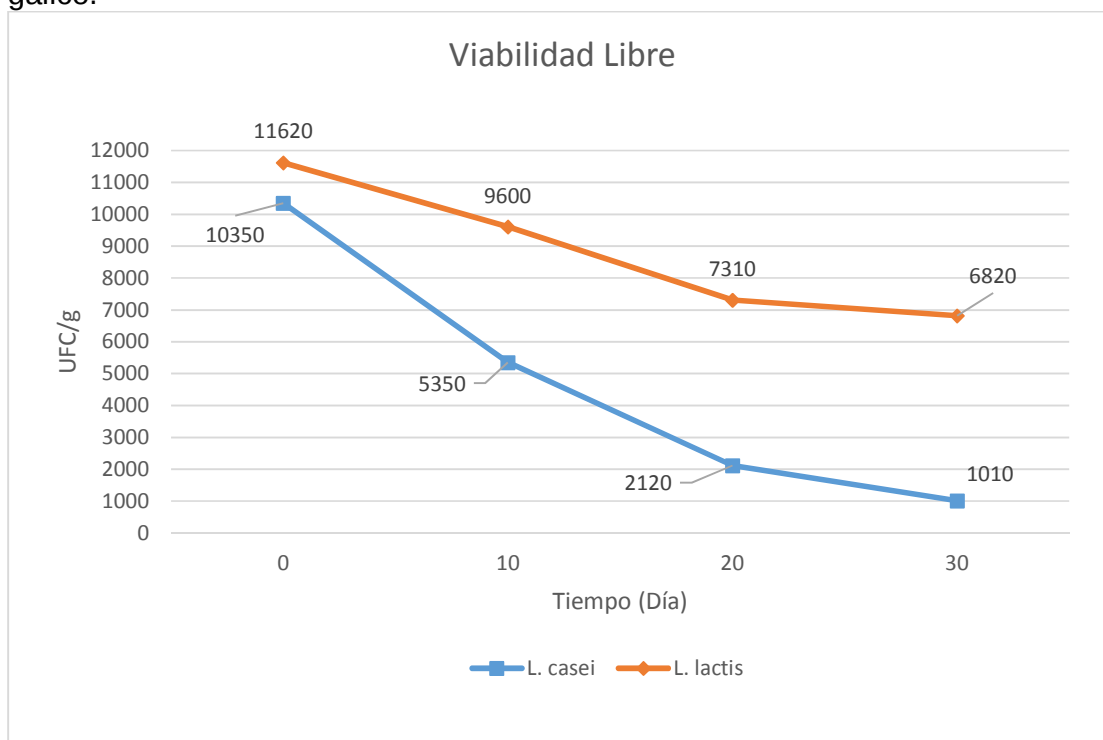
Autor: Flores, A. (2019)

En la viabilidad de la doble encapsulación de las bacterias ácido lácticas con almidón y ácido gálico se observó que hay una disminución lenta en la reducción de colonias, concordando a lo que reporta Défaz & Moreira (2017) en su investigación con la bacteria ácido láctica *Lactobacillus plantarum* el cual no presenta disminución desde su concentración inicial durante los 15 días, y así mismo expresa Murúa *et al.* (2016) donde, manifiesta que las microcápsulas con *L. casei* se mantienen constante en UFC/g en crema ácida baja en grasa.

En el **Gráfico N°3** se muestra la viabilidad de las bacterias ácido lácticas libre con microcápsulas de almidón y ácido gálico durante 0, 10, 20, 30 días, donde se observa que hay una disminución notable de colonias en los dos tratamientos, donde inicia con una ufc/g 10,350 de las bacterias ácido lácticas en *L. casei* y en la *L. lactis ssp*, inicia con una ufc/g 11,620 y a los 30 días de evaluación se obtuvo una

viabilidad de 1,010 ufc/g con una pérdida de 24,75% ufc/g, en *L. casei* y para la *L. lactis ssp* con 6,820 ufc/g con una pérdida de 70,38% ufc/g.

Gráfico N°3 Viabilidad libre de las bacterias ácido lácticas y almidón ácido gálico.



Autor: Flores, A. (2019)

En la viabilidad libre de las bacterias ácido lácticas con microcásuplas de almidón y ácido gálico se observó que hay una disminución rápida de colonias, concordando a lo que reporta Santacruz & Castro (2018) en su investigación realizada de viabilidad de células libres *Lactobacillus acidophilus* donde disminuyo a cero a lo largo del almacenamiento después de los 20 días y a diferencia a lo que expresa De La Cruz & Terán (2013) donde, manifiesta que la viabilidad libre de *Lactobacillus casei* presenta una leve reducción en 4 horas a temperatura de refrigeración de 10-12 °C de almacenamiento

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

La concentración de ácido gálico al inicio de la gelatinización fue de 0,1 g y después de ser sometida a temperatura de gelatinización se tuvo 0,011 g y 0,015 g.

El almidón y ácido gálico forman complejo a una temperatura de 53-63°C y se logró encapsular las bacterias en doble encapsulación con una viabilidad de 86.33 % *L. casei* y 84.51 % *L. lactis* a diferencia de la viabilidad libre 75.25 % *L. casei* y 29,62 % *L. lactis* a los 30 días.

De acuerdo a la hipótesis planteada; el complejo almidón ácido gálico si influye en la viabilidad de las bacterias acidas lácticas

RECOMENDACIONES

Realizar otras comparaciones en la formación de complejo almidón ácido gálico antes y después de la gelatinización en mayor tiempo y a temperatura.

Determinar la viabilidad de las bacterias lácticas con prebióticos libre y encapsulada sin gelatinizar el almidón ácido gálico en menor tiempo (días), y observar las UFC/ en 24 y 48 horas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acevedo, M; Parra, C. & Muvdi, C. (2015). Estudio del proceso de clarificación de hidrolizados de almidón de yuca utilizando membranas cerámicas. *Vitae, revista de la facultad de ciencias farmacéuticas y alimentarias*. Vol. 22. N°2. P.121-129.
2. Aguilar, N; Rodríguez, R; Gutiérrez, G; Augur, C; Favela, E; Prado, A; Ramírez, A. & Contreras, J. (2007). Microbial tannases: advances and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 76. N°1. P.47-59.
3. Aristizabal, J; Sánchez, T; Mejía, D. (2007). Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. *Boletín de servicios agrícolas de la FAO*. P. 36.
4. Castillo, P; García, R. & Durán, C. (2003). El consumo de fructosa riego para la salud y economía. P. 77-78.
5. Chaves Lucio Paola Elizabeth. (2010). Condiciones higiénico sanitarias de los comedores públicos del mercado municipal bellavista de la ciudad de Guaranda, provincia de bolívar. Propuesta de un programa educativo. Tesis. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. pp.12-81.
6. Défaz, A. & Moreira, J. (2017). Evaluación de alginato de sodio en la encapsulación de *Lactobacillus plantarum* en yogur sin sabor. Tesis-Ingeniería agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. P.11
7. De las Cagiga, A. & Blanco, A. (2002). Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. *Cubana Aliment Nutr*. Vol. 16. N° 1. P. 63-8.
8. De La Cruz, A. & Terán, A. (2013). Evaluación de la viabilidad de *Lactobacillus casei* libre y encapsulado en alginato sódico como probiótico en jugo de guayaba. Tesis- trabajo de grado para optar al título de Ingenieros en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. P.12
9. Esquivel, V. & Gómez, G. (2007). Implicaciones metabólicas del consumo excesivos de fructosas. Escuela de nutrición departamento. Escuela de medicina Universidad de Costa Rica. Vol. 49. N°4. P. 198.199.
10. Enríquez, M; Reinaldo, M & Fernández, A. (2014). Caracterización de almidones de yuca nativos y modificados para la elaboración de empaques biodegradables. Vol. 2. P. 21-30.

11. Flores, L; Flores, A; Ochoa, Y; López, J; Olalde, V; Benavides, A; Gonzáles, S. & Zamora, V. (2017). Comparación de enzimas y compuestos fenólicos en tres especies de cítricos infectadas por *Candidatus Liberibacter asiaticus* Rev. Mexicana de fitopatología. Vol. 35 N°.2. P. 322
12. García, C; Ayala, M. Cedeño, R. & Armijos, J. (2018). Determinación de fenoles en Ají Gallinazi (*Capsicum frutescens*)-Ají Rocoto (*Capsicum pubescens*) aplicando Espectrofotometría. Universidad Técnica de Machala. Vol. 2 N°.1. P.6
13. Gimeno, C. (2004). Compuestos fenólicos. Ámbito farmacéutico nutrición. Vol. 23. P. 81.
14. Gómez, C; Hernández, E; Avila, C; Hsiao, B; Castro, J; Gordillo, A. & Gonzáles C. (2008). Influencia de la L - α - lisofosfatidil colina sobre las propiedades térmicas y estructurales del almidón de maíz. CyTA Journal of Food. Vol. 7. N° 1. P. 39
15. Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. Trends Food Sci. Technol. Vol. 15. P. 330-347.
16. Guarner, F; Khan, G; Garisch, J; Eliakim, R; Gangl, Alfred; Thomson, A; Krabshuis, J. & Lemair, T. (2011). Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos. P. 3-5.
17. Guevara, N & Jiménez, T. (2008). Encapsulación: técnicas y aplicaciones en la industria alimentaria. Temas Selectos Ingeniería de Alimentos. Vol. 2. P. 36-49.
18. Hernández, M; Torruco, J; Chel, L. & Betancur, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. Vol. 8. N°3. P.718.
19. Hocman, G. (1998). Chemoprevention of cáncer: phenolic antioxidants (BHT, BHA). Int J Biochem. Vol. 20. N°7. P. 639-651.
20. Lu, Shi; Li, Hua; Dan, Li, Xu, Min; Huai, Chen. & Zhi, Tang. (2013). encapsulación del probiótico *Lactobacillus bulgaricus* en microesferas de alginato de leche y evaluación de la supervivencia en condiciones gastrointestinales simuladas. Diario de alimentos ingeniería. Vol. 117. P. 99-104.

21. Matsumoto, S; Kita, Y. & Yonezawa, D. (1976). An attempt at preparing water-in-oil-in-water multiple-phase emulsions. Journal of Colloid and Interface Science. Vol. 57. N° 2. P. 353-361.
22. Molés, R. (2011). Impacto de nuevas tecnologías de conservación sobre la estructura y los principales componentes químicos de alimentos fluidos. Tesis. Universidad Politécnica de Valencia. P.11-170.
23. Montoya, J; Quintero, V. & Lucas, J. (2014). Evaluación fisicometrica y reologica de harina y almidón de plátano Dominico Harton (*Musa paradisiaca* ABB). Universidad de Quindío Colombia. Vol. 19. N° 2. P. 220.
24. Moorthy, S; Anersson, Lena; Eliasson, A; Santacruz, S. & Ruales, J. (2006). Determination of amylose content I different starches using modulated differential scanning calorimetry. P. 209.
25. Murúa, B; Sánchez, R; Castaño, E. & Amaya, S. (2016). Evaluación de la sobrevivencia del probiótico ***Lactobacillus casei*** ATCC334 en forma libre y microencapsulado adicionado a una crema ácida baja en grasa durante su almacenamiento en refrigeración y en condiciones simuladas del tracto gastrointestinal. Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. P. 10.
26. Nazzaro, F; Orlando, P; Fratianni, F & Coppola, R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. Curr. Opin. Biotechnol. Vol. 23. P. 182-186.
27. Oliveira Bardales Gisela. (2014). Capacidad de antioxidante Averrhoa carambola L. (Carambola) Frente a sistemas generadores de radicales libres. Tesis Universidad Nacional Mayor de San Marcos. pp.15-62.
28. Oliveira, G. & González, I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. Nutrición Hospitalaria. P. 26-34.
29. Ordinola, E. & Osorio, L. (2015). "Viabilidad de las bacterias lácticas *Streptococcus salivarius* ssp *Thermophilus* y *Lactobacillus Delbrueckii* ssp *bulgaricus* durante el almacenamiento a temperatura ambiente y refrigeración de cuatro marcas de yogures comerciales". Rev. Ingeniería: Ciencia, Tecnología e Innovación. Vol. 2. N°2. P.1-17.
30. Parra, H. & Ricardo, A. (2010). Microencapsulación de alimentos. Vol. 63. N°2. P. 5674.
31. Pérez, A. & Alan, D., (2012). Formación de complejos: EDTA y quelatos. Universidad Nacional de Colombia. P.2.

32. Porras Loaiza A. P. & López Malo A. (2009). Importancias de los grupos fenólicos en los alimentos. *Rev. Ingeniería de Alimentos*. Vol.3 n°1 pp.121-134.
33. Rathore, S; Desai, P; Liew, C; Chan, L; Heng, P. (2013). Microencapsulation of microbial cells. *J. Food. Eng.* 1Vol. 16. P. 369-381.
34. Ramírez, J; Velázquez, R; Gonzales, M; Ullao, J. & Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Vol. 2. N°7. P.1-13.
35. Sánchez, L. & Tromps, J. (2014). Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. *Salud Animal*. Vol. 36. N°2. P. 124-129
36. Santacruz, K; Svensson, E; Ruales, J. & Eliasson, A. (2002). Three underutilised sources of starch from the Andean región in Ecuador Part I. Physico-chemical characterisation. *Rev. Elsevier*. Vol. 49. P. 64
37. Santacruz, S. & Castro M. (2018). Viability of free and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* incorporated to cassava starch edible films and its application to Manaba fresh white cheese. *LWT*. Vol. 93. P. 570-572
38. Slinkard, K. & Singleton, L. (1977). Total, análisis de fenol: automatización y comparación con métodos manuales. *Diario americano de la enología y viticultura*. Vol. 28. P. 49-55.
39. Taitzoglou, A; Tsantarliotou, M; Zervos, I; Kouretas, D. & Kokolis, A. (2001). Inhibition of human and ovine acrosomal enzymes by tannic acid in vitro. *Reproduction*. Vol.121. P.131-137.
40. Valbuena, E; Barreiro, J; Sánchez, E; Castro, G; Briñez, W. & Tovar. A. (2005). Modelos cinéticos aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* en leche. *Revista Científica*. Vol. XV. N° 5. P. 465.
41. Velásquez, J; Giraldo, G; Padilla, L; Giraldo, C. Yula M. (2015). Crecimiento de *Lactobacillus casei* ssp *casei* atcc 393 en suero clarificado. Vol. 13. N°1. P. 20.
42. Wang, Q; Rojas, E. & Papadopoulos, K. D. (2012). Cationic liposomes in double emulsions for controlled release. *Journal of colloid and interface science*. Vol. 383. N°1. P. 89-95.

ANEXOS

Tabla N°4. Preba de Tukey al 0.05% compuesto fenolico.

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Absorbancia	12	1,00	1,00	5,6E-08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,8E-05	3	1,3E-05	233985642506057000,00	<0,0001
tratamientos	3,8E-05	3	1,3E-05		sd sd
Error	0,00	8	0,00		
Total	3,8E-05	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000

Error: 0,0000 gl: 8

tratamientos	Medias	n	E.E.	
15	0,02	3	0,00	A
50	0,02	3	0,00	A
25	0,01	3	0,00	B
75	0,01	3	0,00	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Gráfico N°4. Prueba de Tukey al 0.05 %. Viabilidad encapsuladas de las bacterias lácticas durante 30 días en almacenamiento a 37°C.

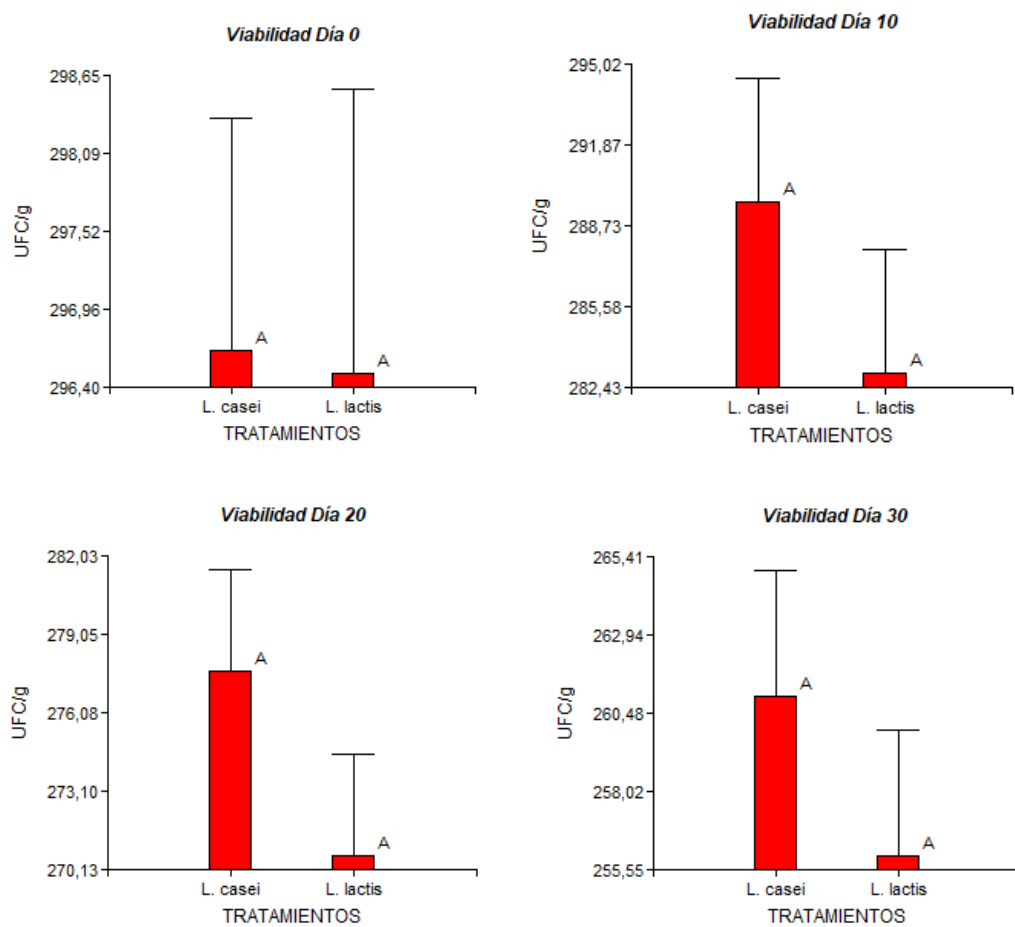


Tabla N°5. Prueba de Tukey al 0.05% Viabilidad doble encapsulación día 0.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VIABILIDAD	5	1,3E-03	0,00	0,98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,03	1	0,03	4,0E-03	0,9537
TRATAMIENTOS	0,03	1	0,03	4,0E-03	0,9537
Error	25,17	3	8,39		
Total	25,20	4			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,41439

Error: 8,3889 gl: 3

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
L. casei	296,67	3	1,67 A
L. lactis	296,50	2	2,05 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla N°6. Tukey al 0.05% Viabilidad doble encapsulación día 10

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VIABILIDAD	6	0,20	0,00	2,89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	66,67	1	66,67	0,97	0,3802
TRATAMIENTOS	66,67	1	66,67	0,97	0,3802
Error	274,67	4	68,67		
Total	341,33	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=18,78531

Error: 68,6667 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
L. casei	289,67	3	4,78 A
L. lactis	283,00	3	4,78 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla N°7. Tukey al 0.05% Viabilidad doble encapsulación día 20

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
VIABILIDAD	6	0,30	0,12	2,41	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	73,50	1	73,50	1,68	0,2650
TRATAMIENTOS	73,50	1	73,50	1,68	0,2650
Error	175,33	4	43,83		
Total	248,83	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=15,00886

Error: 43,8333 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
L. casei	277,67	3	3,82 A
L. lactis	270,67	3	3,82 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla N°8. Tukey al 0.05% Viabilidad doble encapsulación día 30

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
VIABILIDAD	6	0,17	0,00	2,65	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	37,50	1	37,50	0,80	0,4222
TRATAMIENTOS	37,50	1	37,50	0,80	0,4222
Error	188,00	4	47,00		
Total	225,50	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=15,54155

Error: 47,0000 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
L. casei	261,00	3	3,96 A
L. lactis	256,00	3	3,96 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Gráfico N° 5. Prueba de Tukey al 0.05 %. Viabilidad libre de las bacterias lácticas durante 30 días en almacenamiento a 37°C.

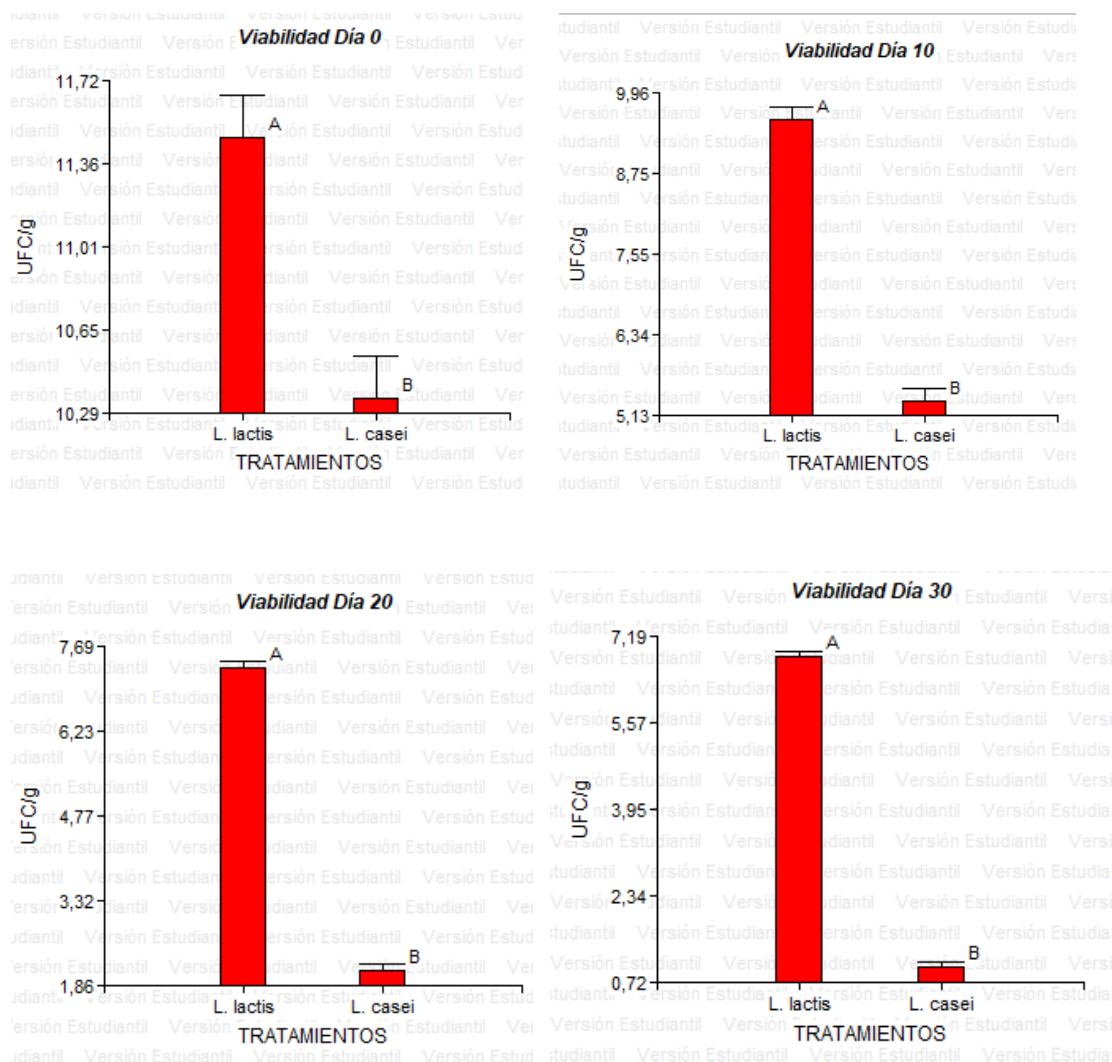


Tabla N° 9. Prueba de Tukey al 0.05%. Viabilidad libre día 0

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VIABILIDAD	6	0,83	0,79	2,83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,90	1	1,90	19,94	0,0111
TRATAMIENTOS	1,90	1	1,90	19,94	0,0111
Error	0,38	4	0,10		
Total	2,29	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,70044

Error: 0,0955 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
L. lactis	11,48	3	0,18 A
L. casei	10,35	3	0,18 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla N° 10. Tukey al 0.05%. Viabilidad libre día 10

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VIABILIDAD	6	0,99	0,98	4,14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	26,54	1	26,54	278,48	0,0001
TRATAMIENTOS	26,54	1	26,54	278,48	0,0001
Error	0,38	4	0,10		
Total	26,93	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,69989

Error: 0,0953 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
L. lactis	9,56	3	0,18 A
L. casei	5,35	3	0,18 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla N° 11. Tukey al 0.05%. Viabilidad libre día 20

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VIABILIDAD	6	1,00	1,00	4,09

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	40,35	1	40,35	1082,80	<0,0001
TRATAMIENTOS	40,35	1	40,35	1082,80	<0,0001
Error	0,15	4	0,04		
Total	40,50	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,43763

Error: 0,0373 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
L. lactis	7,31	3	0,11 A
L. casei	2,12	3	0,11 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla N° 12. Tukey al 0.05%. Viabilidad libre día 30

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VIABILIDAD	6	1,00	1,00	3,32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	50,58	1	50,58	2989,72	<0,0001
TRATAMIENTOS	50,58	1	50,58	2989,72	<0,0001
Error	0,07	4	0,02		
Total	50,64	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,29485

Error: 0,0169 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
L. lactis	6,82	3	0,08 A
L. casei	1,01	3	0,08 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura N° 1. Lectura del ácido gálico en el espectrofotómetro



Figura N° 2. Muestra de almidón ácido gálico para lectura del DSC



Figura N° 3. Viabilidad de doble encapsulación bacterias lácticas y almidón ácido gálico.

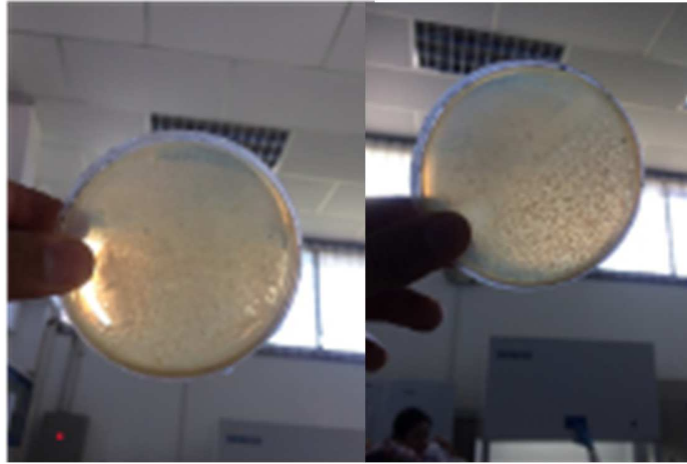


Figura N° 4. Viabilidad libre de bacterias lácticas

