

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**INFLUENCIA DE LA CÁSCARA DE CAFÉ COMO AGENTE
MICROENCAPSULANTE EN LA VIABILIDAD DE MICROORGANISMOS
PROBIÓTICOS**

Por:

Ricardo Antonio Bonilla Zuniga

Tesis



Catacamas

Olancho

DICIEMBRE, 2024

INFLUENCIA DE LA CASCARA DE CAFÉ COMO AGENTE
MICROENCAPSULANTE EN LA VIABILIDAD DE MICROORGANISMOS
PROBIÓTICOS

Por:

Ricardo Antonio Bonilla Zuniga

Héctor Alonzo Gómez Gómez, PhD

Asesor (a) principal

TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA

Catacamas

Olancho

DICIEMBRE, 2024

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Alicia Zuniga Cruz y **Carlos Roberto Bonilla Flores**, especialmente mi madre, quien desde pequeño me ha inculcado a mi y a mis hermanos la fuerza necesaria para siempre buscar más, y nos ha educado como hombres e individuos sociales de bien.

A MIS HERMANOS

Carlos Fernando Bonilla Zuniga y **Hugo Bernardo Bonilla Zuniga**, quienes dentro de sus facultades me han motivado en momentos de dificultad, económica y moralmente.

A MIS ABUELOS

Hugo Zuniga y **Romelia Cruz**, quienes han sido mi núcleo moral desde temprana edad, a quienes admiro y respeto con total humildad, convirtiéndome en la persona que para bien me conforma el día de hoy.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODOPODEROSO

Por su inmensa sabiduría al proporcionar las condiciones necesarias para que cada actividad y dificultad se desarrolle en los tiempos necesarios para convertirme en la persona que soy hoy día.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

Por darme la oportunidad de pertenecer a una de las comunidades estudiantiles más respetadas e interactivas del país, misma que ha creado vínculos que marcarán el resto de mi carrera como profesional de las Ciencias agroalimentarias.

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABLAS	vii
I. INTRODUCCIÓN	0
II. OBJETIVOS	1
2.1. Objetivo general	1
2.2. Objetivos específicos	1
III. REVISIÓN DE LITERATURA	2
3.1. Subproductos de la industria agroalimentaria	2
3.2. La industria alimentaria como potencial contaminante en el ambiente	3
3.3. Contaminación por residuos agroalimentarios	4
3.4. La industria del café en Honduras	5
3.5. Residuos sub utilizados de café	6
3.6. Anti nutrientes del café	7
3.7. Antioxidantes de la cáscara de café	7
3.8. La microbiota intestinal y su importancia en la salud humana	7
3.10. Importancia de la colonización microbiana en el desarrollo inmunológico.	8
3.11. Impacto del microbiota intestinal en la salud	9
3.12. Los probióticos como reguladores homeostáticos de la microbiota intestinal	10
3.13. Micro encapsulación como mecanismo eficaz en la protección de compuestos sensibles	10
3.14. Liofilización de microorganismos como técnica de conservación	11
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	13
4.1. Lugar de investigación	13
4.2. Metodología experimental	13

4.2.1.	Recolección de la materia prima.....	14
4.2.2.	Lavado y selección del epicarpio de café.....	14
4.2.3.	Deshidratación y triturado de la cáscara de café	14
4.2.4.	Caracterización de la cáscara de café:	15
4.2.5.	Obtención de cultivos probióticos.....	16
4.2.6.	Recuento total de bacterias ácido lácticas viables en cultivos comerciales mixtos	17
4.2.7.	Liofilización de probióticos combinados con epicarpio de café	17
4.2.8.	Recuento total de bacterias viables después de la liofilización.....	18
4.2.9.	Incorporación de cepas liofilizadas en la elaboración de yogur líquido.....	18
4.2.10.	Caracterización fisicoquímica del yogur.....	18
4.2.11.	Recuento total de bacterias ácido lácticas en yogur fermentado	19
4.2.12.	Análisis Estadístico.....	19
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
VI.	CONCLUSIONES	29
VII.	RECOMENDACIONES	30
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	31

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Morfología del fruto de café	4
Figura 2 Subproductos que se pueden obtener de diferentes partes del cafeto	6
Figura 3 Formas irregulares de los micro encapsulados	11
Figura 4 Etapas de la metodología experimental	13
Figura 5 Curva de evolución de pH en yogur fermentado.	26
Figura 6 Curva de acidez durante la fermentación	27

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Diseños experimentales de la investigación	17
Tabla 2 Variables experimentales de la investigación.....	20
Tabla 3 Distribución granulométrica del epicarpio de café en polvo	21
Tabla 4 Solubilidad de la cáscara de café en función del tamaño de partícula.....	22
Tabla 5 Resultados del conteo de ufc/ml correspondientes a los tratamientos	24

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Etapas de preparación de la cáscara de café para liofilización.....	40
Anexo 2 Caracterización fisicoquímica de la cáscara de café.....	41
Anexo 3 Etapas de la liofilización.....	42
Anexo 4 Análisis microbiológico del yogur.....	43

BONILLA ZUNIGA, R.A. 2024. INFLUENCIA DE LA CÁSCARA DE CAFÉ COMO AGENTE MICROENCAPSULANTE EN LA VIABILIDAD DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS Tesis. Ing., en Tecnología Alimentaria, Catacamas, Olancho, Honduras. Universidad Nacional de Agricultura. 41 p.

RESUMEN

La cáscara o epicarpio de café es un subproducto infravalorado, que a pesar de su potencial contaminante posee un alto contenido de compuestos biológicamente activos y fibra dietética. Este subproducto puede ser incorporado en alimentos, contribuyendo a la economía circular y aprovechando un recurso que de otra forma sería desechado. El objetivo de esta investigación fue evaluar el uso de epicarpio de café como agente protector para preservar la viabilidad de bacterias durante la liofilización. Para el cumplimiento del presente trabajo, se realizaron cuatro diluciones con diferentes concentraciones de epicarpio de café, 0%, 50%, 66% Y 75%, para todos los tratamientos el valor fijo de cultivo iniciador de yogur fue de 0.25g en 10 ml de dilución. Para la determinación de la viabilidad se realizaron análisis microbiológicos después del proceso de liofilizado donde, el cálculo se realizó empleando la técnica de dilución seriada en placas de Petri. Posteriormente, utilizando los cultivos iniciadores liofilizados se desarrollaron cuatro fermentos de yogur líquido, a los cuales se le realizaron análisis fisicoquímicos tales como, pH y acidez titulable. La incorporación de un 75% de cáscara de café resultó en una preservación del 65.48% de la viabilidad de los microorganismos, superando significativamente las tasas observadas con proporciones del 50% y 60%. Estos hallazgos indican que un mayor porcentaje de cáscara de café es más eficaz en la conservación de la viabilidad de los probióticos. La presente investigación resalta el potencial del epicarpio de café como una matriz efectiva para mantener la viabilidad de microorganismos en productos alimenticios funcionales.

Palabras clave: Cepas, Viabilidad, Liofilización, microencapsulación.

I. INTRODUCCIÓN

La problemática global asociada al desperdicio de alimentos y la contaminación ha sido tema de estudio durante los últimos años, lo que según Arias *et al.* (2021) dio origen a la creación de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Dentro de los 17 ODS la ONU ha afirmado la necesidad de priorizar el 2 y 3 relacionados al hambre y la seguridad alimentaria. Sin embargo, por cada kilogramo de café se producen 350 g de residuos, dentro de los cuales podemos encontrar una alta cantidad de fibras debido a su composición química, así como algunos polisacáridos y monosacáridos con importancia en la actividad antimicrobiana, lo que convierte estos residuos en objeto de estudio para darle valor agregado (Hoseini *et al.* 2021).

En los últimos años ha tomado fuerza el concepto de los alimentos funcionales, cuya característica principal es proveer beneficios para la salud más allá del valor nutricional clásico. En ellos se engloban los probióticos, prebióticos y simbióticos (Rosas 2021). Para que los probióticos puedan otorgar beneficios a la salud de su consumidor es de suma importancia que cumplan ciertos criterios, para obtener los máximos beneficios la cantidad de probióticos viables no debe ser inferior a los 10^6 - 10^7 UFC/ml, cantidad que se ve afectada por numerosos factores fisiológicos como los gastrointestinales, algunas condiciones de almacenamiento y sobre todo el procesamiento de los microorganismos (Sbehat *et al.* 2022).

Para que un microorganismo probiótico confiera su máximo potencial a la salud es importante que este sobreviva a diferentes condiciones como variaciones de temperaturas y ausencia de oxígeno. En este sentido el presente trabajo tiene por objetivo determinar la influencia de la cascara de café como agente microencapsulante en la viabilidad de microorganismos probióticos

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- ❖ Estudiar la influencia de la cáscara de café como agente microencapsulante en la viabilidad de microorganismos probióticos.

2.2. Objetivos específicos

- ❖ Caracterizar la cáscara de café mediante análisis fisicoquímicos para evaluar su potencial como subproducto.
- ❖ Incorporar la cáscara como mecanismo de protección de los microorganismos *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.
- ❖ Determinar la concentración óptima de cáscara de café en la protección y viabilidad de microorganismos probióticos.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Subproductos de la industria agroalimentaria

Los productos que se derivan del procesamiento de las materias primas, específicamente de la industria agroalimentaria que no tienen una función primaria se les denomina subproductos, estos generalmente son materiales orgánicos que se descartan (Angulo *et al.* 2018). Debido a que los subproductos de la industria agroalimentaria son materiales orgánicos que se descartan, los principales factores que influyen en la contaminación ambiental a causa de estos son la gestión ineficiente de los residuos biodegradables, así como el manejo y la disposición inadecuados (Aguar *et al.* 2022).

A pesar de la gran importancia económica del sector cafetalero, después del proceso de extracción del grano de café alrededor de 50% de biomasa residual son generados por el manejo ineficiente de los mismos, estos incluyen el mucilago, pulpa, cascarilla entre otros (Novita 2016). Ya que solo el 5% del fruto es aprovechado durante la infusión, el alto volumen de dichos residuos puede conformar un problema ambiental a gran escala, en donde en algunos casos la materia residual (subproductos) se deja en los suelos de manera descontrolada ocasionando problemas fitosanitarios y contaminación cruzada, sin embargo, en todos estos residuos podemos encontrar compuestos bioactivos en grandes cantidades (Martínez 2023).

La persecución hacia los vertederos no es reciente, ya que esto ha sido tema de conversación desde décadas inferiores a los ochenta, misma que ha despertado una gran inconformidad por parte de los encargados ambientales a nivel internacional, ya que la cantidad de zonas de vertederos de residuos que no poseen un tratamiento o control han ido en aumento a lo largo de los años, misma que no parece disminuir con los esfuerzos y la atención que se le están brindando (camacho 2022).

Más de un tercio de lo que producimos se desperdicia, lo que genera una gran contaminación en el ecosistema, por lo que la preocupación por parte de los investigadores ha ido en aumento, centrándose en cómo reducir dicha problemática han optado por metodologías que nos permitan crear alimentos a partir de ingredientes sobrantes o residuos obtenidos durante la fabricación o procesamiento de un producto primario, dichos alimentos han adoptado el nombre de productos con valor agregado (Lee *et al.* 2017).

3.2. La industria alimentaria como potencial contaminante en el ambiente

La industria alimentaria es uno de los principales y más importantes segmentos del sector económico, sin embargo, la misma es una de los principales sectores económicos que genera miles de toneladas de residuos con la capacidad de generar un daño significativo al ambiente, asimismo genera grandes pérdidas económicas. No obstante, dichos residuos son material para múltiples investigaciones en la actualidad, ya que la mayoría de los residuos agroindustriales representan una fuente importante de compuestos bioactivos (fibra dietaria, antioxidantes, vitaminas y minerales, entre otros), que han demostrado tener un excelente potencial nutritivo y farmacológico (Preciado *et al.* 2022).

Entre las muchas metas documentadas en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas, las metas específicas de reducción de la pérdida y el desperdicio de alimentos han generado una preocupación global, por lo que se ha intentado proporcionar objetivos para la reducción de desperdicios con un enfoque que unifique los distintos esfuerzos por mitigarlo. Se han desarrollado múltiples investigaciones de gran relevancia con el objetivo de reducir la cantidad de desperdicios que genera la industria agroalimentaria (Thorsen *et al.* 2022).

3.3. Contaminación por residuos agroalimentarios

Se consumen una gran diversidad de recursos naturales cuando cultivamos alimentos que no son aprovechados, mientras a su vez estamos generando una contaminación masiva innecesaria debido a esto, se generan emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), mismas que están estrechamente relacionadas con la pérdida y desperdicio de alimentos en el sector agroalimentario, este es responsable de aproximadamente 8% de las emisiones mundiales totales, por lo que los avances en las investigaciones relacionadas a este campo son prometedores para la mitigación de esta problemática (Preneuf 2020).

La industria de café es uno de los sectores que genera una gran cantidad de residuos, tanto solidos como líquidos. Se estima que por cada taza de café se producen alrededor de 20 gramos de residuos. Los residuos sólidos incluyen el cascarón, la pulpa, el pergamino y el poso, (figura 1). Estos residuos pueden contaminar el agua y los suelos si se desechan de manera inadecuada. Por otra parte, los residuos líquidos engloban las aguas de lavado y despulpado, así como el efluente de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Los residuos tanto solidos como líquidos pueden contener una gran cantidad de contaminantes como la cafeína, los taninos y compuestos volátiles (Robles *et al.* 2020).

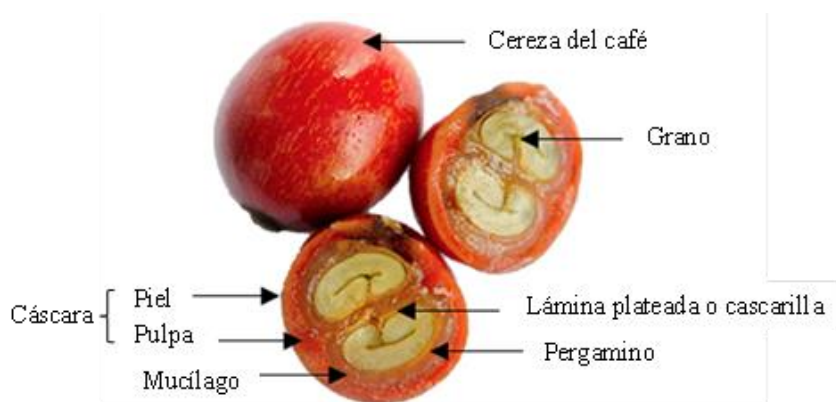


Figura 1 Morfología del fruto de café (Martínez y Jaramillo 2023).

3.4. La industria del café en Honduras

La industria del café en Honduras posee un papel fundamental en la economía del país, siendo uno de los principales productos agrícolas de exportación, por lo que genera una gran cantidad de empleos. Debido a su calidad y sabor excepcional, el café hondureño es reconocido internacionalmente, posicionándose como uno de los mejores cafés del mundo. Por estas razones, esta industria tiene un impacto socioeconómico significativo en el país, generando empleos para más de 100,000 familias, principalmente de áreas rurales, además, dicha industria genera desarrollo a infraestructura, servicios básicos y educación a las comunidades cafetaleras (Molina 2018).

Se estima que la producción de café en el periodo de 2022-2023 alcanzó alrededor de 9.3 millones de quintales, lo que equivale a un ligero aumento en comparación de los periodos anteriores. Las proyecciones esperadas para el periodo de 2023-2024 apuntan a un aproximado de 10 millones de quintales, sin embargo, las condiciones climáticas adversas, como la sequía en algunas regiones, podrían afectar el rendimiento esperado. Aun así, las exportaciones de café en Honduras durante los primeros 10 meses de cosecha del periodo 2022-2023 totalizaron 7.1 millones de quintales, generando ingresos de hasta 1.412 mil millones de dólares (IHCAFE 2023).

El procesamiento del café genera múltiples residuos y subproductos que a menudo son infravalorados, pero que representan una importante oportunidad para aumentar la sostenibilidad y eficiencia de esta actividad. Estos subproductos se encuentran presentes en las diferentes partes de la cereza del fruto de café (Figura 1). Algunos de los principales subproductos que pueden obtenerse incluyen la cáscara o pulpa del café, que representa aproximadamente el 45% del peso del fruto y puede utilizarse como fuente de fibra, compuestos fenólicos y otros compuestos bioactivos; el mucílago, que es la capa viscosa que recubre los granos y contiene azúcares, pectinas y otros compuestos que pueden aprovecharse en la elaboración de alimentos (Salazar *et al.* 2020).

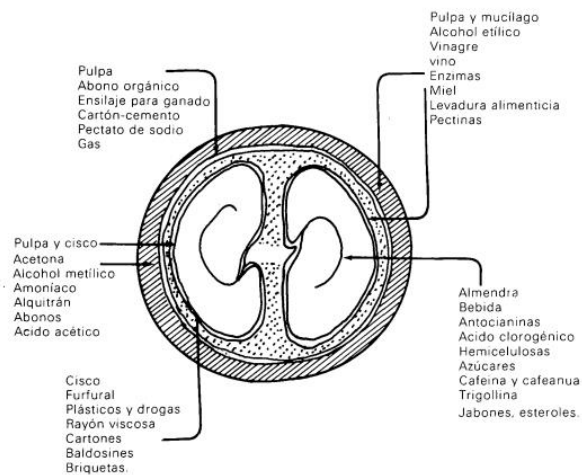


Figura 2 Subproductos que se pueden obtener de diferentes partes del café (Salazar *et al.* 2020)

3.5. Residuos sub utilizados de café

La industria de café genera una cantidad considerable de residuos, principalmente cascarilla de café, posos de café y lodos de café. Estos residuos que a menudo se consideran subproductos sin valor, representan una oportunidad para la innovación y la sostenibilidad por lo que la reutilización de los residuos puede ayudar a reducir la cantidad de desechos que se envían a los vertederos, lo que beneficia al ambiente. De igual forma, su aprovechamiento contribuye a un modelo de economía circular, lo que significa un aprovechamiento más adecuado para dichos subproductos, dándoles un valor agregado, generando productos funcionales, terminando en una oportunidad de empleos a zonas rurales (Reyes y Herrero 2016).

En el caso de los subproductos del café, una de las propuestas es su procesamiento para introducirlos como prebióticos en matrices alimentarias. Además, la reutilización de subproductos crea oportunidades de trabajo a partir de desechos subestimados, con aplicaciones como biocombustibles, biofertilizantes y materiales de construcción, favoreciendo un modelo socioeconómico sostenible. Esto es de especial interés, ya que los prebióticos han demostrado beneficios en la homeostasis intestinal, especialmente cuando se combinan con probióticos, que son una de las aplicaciones más estudiadas en la actualidad. De esta manera, los subproductos del café, como la cáscara o pulpa, podrían tener aplicaciones en el desarrollo de alimentos funcionales con efectos positivos para la salud, al

aportar compuestos prebióticos que favorecen el equilibrio de la microbiota intestinal (Hernández *et al.* 2018).

3.6. Anti nutrientes del café

Los anti nutrientes son compuestos presentes en los vegetales cuya función es evitar ser comidos por los animales entre otras funciones fisiológicas. Un ejemplo de ello son los alcaloides como la cafeína presente en la cáscara y otras partes de cafeto, asimismo podemos encontrar algunos compuestos poli fenólicos como los taninos, cuya propiedad característica es la sensación astringente en los alimentos, así como un sabor amargo. Todas estas características pueden afectar directamente la aceptabilidad de los alimentos por parte de los consumidores, sin embargo, son considerados en múltiples estudios por su capacidad antioxidante ante radicales libres (Cruz 2022).

3.7. Antioxidantes de la cáscara de café

Los fenoles están presentes en una gran variedad de matrices vegetales, donde el fruto de café y sus subproductos no son la excepción. Los fenoles presentes en los subproductos vegetales como el fruto de café se han considerado como potenciales protectores *in vivo* de ADN celular, lípidos y proteínas ante la acción ejercida por los radicales libres. Asimismo, estudios han confirmado la protección que los flavonoides brindan en el organismo contra el daño producido por agentes oxidantes, mismos que están presentes en la cáscara de café y dado que la cáscara rica en compuestos antioxidantes surge la posibilidad de que estos compuestos puedan ejercer un efecto beneficioso sobre la microbiota intestinal ya que podría contribuir a mantener el equilibrio y la diversidad de la microbiota (Herrera 2016).

3.8. La microbiota intestinal y su importancia en la salud humana

Se le denomina microbiota a la comunidad de microorganismos que interactúan y viven en una comunidad en común. Esta, es una de las comunidades más densamente pobladas. La

disbiosis se define como alteración de la microbiota que puede conducir a la enfermedad. La alimentación, la velocidad del tránsito intestinal e incluso la vía de nacimiento y el tipo de alimentación pueden producir diferencias en la microbiota intestinal. Una vez establecida la microbiota en un individuo, cambia poco en el tiempo. La manipulación prenatal del microbioma puede tener efectos deletéreos que podrían persistir hasta la etapa adulta. La maduración del sistema inmunitario y endocrino está influida por la colonización bacteriana (Salinas 2018).

3.9. Composición de la microbiota intestinal y su diversidad microbiana

En términos generales, el cuerpo humano es una estructura altamente compleja, compuesta por miles de células y microorganismos que habitan tanto en su superficie como en su interior. Algunos de estos microorganismos son esenciales para el correcto funcionamiento del organismo. Sus funciones están relacionadas con procesos fisiológicos clave, como el desarrollo físico, la nutrición y la inmunidad. Por esta razón, el intestino se considera uno de los órganos más importantes del cuerpo, ya que desempeña un papel directo en el sistema inmunológico y se ha asociado con diversas enfermedades, incluido el cáncer (Álvarez *et al* 2021).

La microbiota intestinal se considera un ecosistema esencial para la absorción de nutrientes y el mantenimiento de la homeostasis. Este complejo conjunto está formado por aproximadamente 10^{14} bacterias, que incluyen arqueas, hongos, protistas y virus. La microbiota se adquiere principalmente de manera vertical, es decir, se transmite durante el parto y también a través de la lactancia. Por lo general, la homeostasis intestinal se establece hasta los 2 años de edad, aunque puede verse afectada temporalmente por la presencia de ciertos patógenos. Los grupos bacterianos más predominantes en la microbiota son los Firmicutes y Bacteroidetes (Camacho 2022).

3.10. Importancia de la colonización microbiana en el desarrollo inmunológico

Es posible que la colonización de bacterias se desarrolle por medio del nacimiento, esto sin necesidad de que exista una exposición relativamente alta a microorganismos durante esta etapa. Por ello, Álvarez *et al.* (2021) establece que la microbiota es parte fundamental del cuerpo humano para el desarrollo del sistema inmunológico así como la participación de la homeostasis en el mismo. Algunas investigaciones sugieren que la colonización microbiana en etapas tempranas de la vida puede influir en la función trófica o inmunitaria del individuo, sin embargo, esto no es posible si se realiza en etapas adultas

La microbiota intestinal, un ecosistema complejo formado por miles de millones de bacterias, actúa como un ejército invisible en defensa de nuestra salud. estima que su principal estrategia es el efecto barrera, que consiste en la competencia por recursos, la producción de sustancias antimicrobianas y el equilibrio entre las diferentes especies bacterianas. Este escudo natural impide la invasión de bacterias dañinas y el crecimiento excesivo de bacterias oportunistas que ya residen en el intestino. Sin embargo, el uso excesivo de antibióticos, una dieta poco saludable y el estrés crónico pueden debilitar este sistema defensivo (Guarner 2018).

3.11. Impacto del microbiota intestinal en la salud

La microbiota intestinal, con su vasta diversidad genética, desempeña el papel de un instructor oculto para el sistema inmunológico. La exposición continua a una amplia gama de antígenos entrena al sistema inmunitario para identificar y combatir patógenos, lo que ayuda a prevenir enfermedades. Además, la microbiota promueve la inmunotolerancia hacia las bacterias beneficiosas, establece una barrera contra microorganismos dañinos, refuerza la memoria inmunológica y modula las respuestas inmunitarias, haciéndolas más eficientes. No obstante, el uso excesivo de antibióticos, una alimentación poco saludable y el estrés crónico pueden comprometer esta interacción esencial (Merino *et al.* 2021).

3.12. Los probióticos como reguladores homeostáticos de la microbiota intestinal

Los probióticos son productos formulados que contienen cepas vivas de microorganismos beneficiosos. Su popularidad ha crecido en los últimos años, ya que se ha demostrado que pueden modificar la microbiota intestinal a través de diversos mecanismos de acción según información presentada por Rodríguez y Tocta (2020). Estos microorganismos interactúan con el huésped y su microbiota, activando vías de señalización que impactan la integridad de la barrera intestinal y el sistema inmunológico. Esta función es especialmente relevante, ya que el equilibrio de la microbiota se establece alrededor de los dos años de edad y puede verse temporalmente alterado por la presencia de bacterias patógenas (Camacho 2022).

Anteriormente se ha realizado la microencapsulación de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, donde ha mostrado significativamente altas tasas de sobrevivencia en la presencia de jugos gástricos estimulados y viabilidad considerablemente más alta, durante la vida útil comparada con células libres. Esto se debe al recubrimiento con paredes de materiales orgánicos, un ejemplo de ello son las fibras obtenidas a partir de algunas frutas o incluso subproductos de las mismas (Parra 2010).

3.13. Micro encapsulación como mecanismo eficaz en la protección de compuestos sensibles

La microencapsulación es una técnica que permite envolver un compuesto activo dentro de una matriz protectora, creando microcápsulas o micropartículas. Esta tecnología ofrece diversas ventajas en la industria alimentaria, farmacéutica y de cosméticos, entre otras. La microencapsulación se basa en la formación de una barrera alrededor del compuesto activo, aislándolo del medio ambiente circundante. Esta barrera puede estar compuesta por diversos materiales, como polímeros, biopolímeros, lípidos o ceras. La elección del material depende de las propiedades deseadas de la microcápsula, como la permeabilidad, la resistencia mecánica y la biocompatibilidad (Vergara *et al.* 2019).

Cardona *et al.* (2021) mencionan que no hay una forma única de los compuestos micro encapsulados, ya que existe una variedad significativa de formas que estos podrían adoptar

dependiendo de diversos factores, algunos de ellos como la técnica de microencapsulación empleada y la composición del material encapsulante, las formas que estos podrían adoptar se muestran en la figura 3.

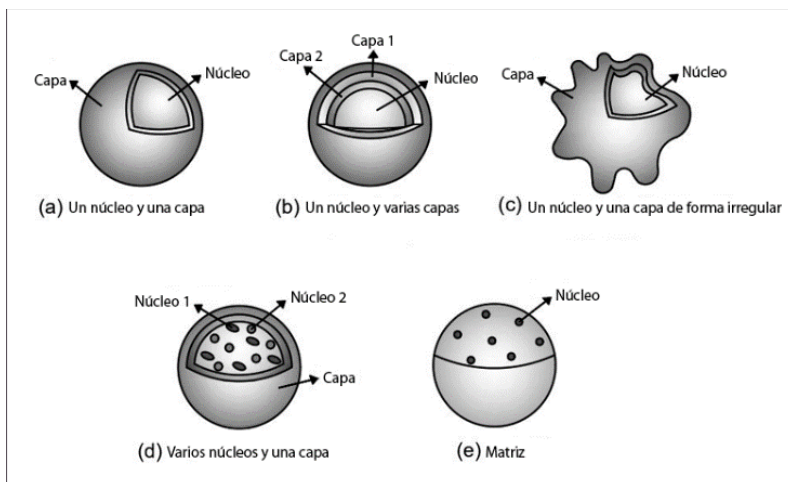


Figura 3 Formas irregulares de los micro encapsulados (Vergara *et al.* 2019).

3.14. Liofilización de microorganismos como técnica de conservación

La conservación de microorganismos en periodos largos de tiempo a menudo representa un desafío para la industria alimentaria, por lo que los investigadores han formulado nuevas técnicas de preservación de estos, siendo el secado por congelación y el secado térmico algunas de ellas (Gao y Li 2016). Dentro de ellos se encuentra la liofilización, la misma es ampliamente utilizada para la conservación de microorganismos por su labor en la conservación, manteniendo su viabilidad por periodos prolongados de tiempo, inclusive si se encuentra a temperatura ambiente (Vera *et al.* 2019).

La utilización de residuos alimentarios para la protección de probióticos representa una oportunidad novedosa para aprovechar recursos valiosos que en otro contexto se perderían. Además, dicha estrategia contribuye a la sostenibilidad ambiental y a la economía circular, modelo reciente que ha tomado gran importancia en la actualidad por los beneficios que promete. El desarrollo de probióticos con residuos alimentarios abre nuevas posibilidades

para la industria alimentaria y para el desarrollo de alimentos funcionales con beneficios para la salud.

Es importante destacar que la producción de estos probióticos protegidos con residuos alimentarios requiere un enfoque riguroso que garantice la calidad e inocuidad del producto. Para ello, se deben establecer protocolos estrictos para la selección, procesamiento, fabricación y control de calidad del producto final. La utilización de residuos alimentarios para la formulación de alimentos probióticos ofrece una alternativa sostenible y prometedora para la salud intestinal, a su vez, procura la reducción significativa de desperdicios generados por la propia industria y disminuir la contaminación ambiental.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Lugar de investigación

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional de Agricultura, ubicada en la carretera que conduce a Dulce Nombre de Culmi, Kilometro 215, Barrio el espino, Catacamas, Olancho.

4.2. Metodología experimental

Para el cumplimiento de los objetivos se desarrollaron las etapas experimentales presentadas en la figura 4

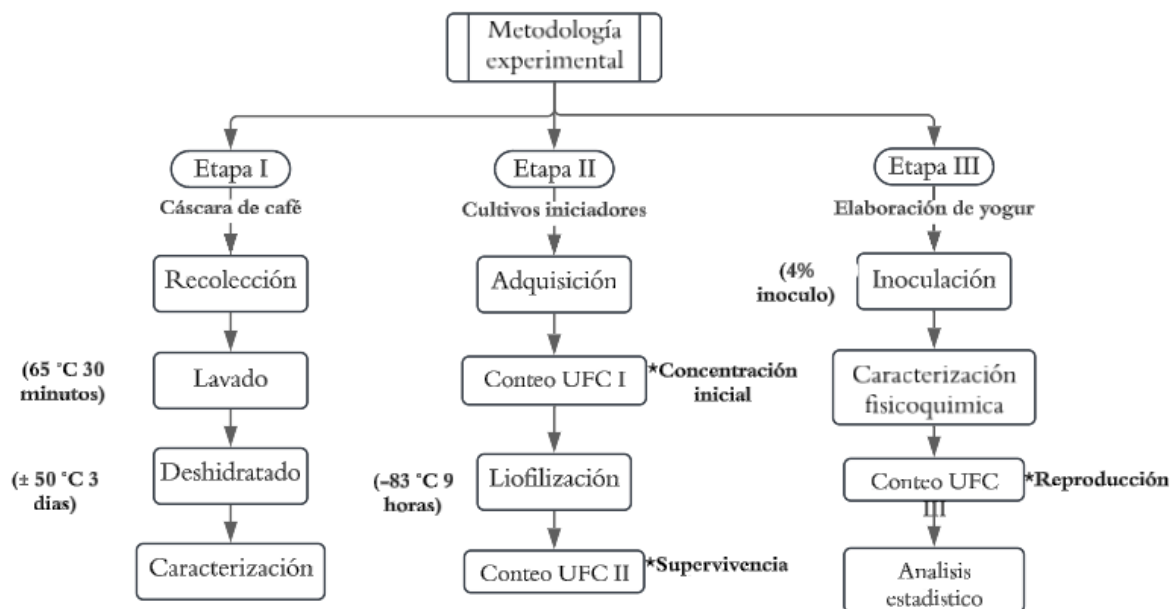


Figura 4 Etapas de la metodología experimental

Etapa 1

Esta etapa se centró exclusivamente en la cáscara de café, los eslabones de la primera etapa se desglosan a continuación:

4.2.1. Recolección de la materia prima

La cáscara de café utilizada proviene de la cosecha 2024 de la variedad Lempira, obtenida de productores de la comunidad de Nueva Esperanza en Dulce Nombre de Culmí, Olancho.

4.2.2. Lavado y selección del epicarpio de café

La cáscara de café fue lavada manualmente en utensilios de cocina, utilizando cucharones para facilitar el proceso. Se empleó agua a una temperatura de 65 °C durante 30 minutos. Se seleccionaron únicamente aquellas cáscaras que no presentaban signos de daños mecánicos, las cuales fueron pesadas en una balanza IP-67 para determinar el peso total de la materia prima. Posteriormente, la cáscara se almacenó en un congelador Oster a -15 °C para preservar sus propiedades y extender su vida útil, completando un periodo de 20 días congeladas antes de su deshidratación. El fruto de café fue despulpado en una despulpadora modelo DIA300 antes de ser lavada manualmente en utensilios de cocina, utilizando cucharones para facilitar el proceso. Se aplicó el mismo tratamiento de lavado únicamente a las cáscaras, mientras que el resto de las partes del fruto fue almacenado.

4.2.3. Deshidratación y triturado de la cáscara de café

Las cáscaras previamente seleccionadas se secaron en un deshidratador solar por un periodo de 72 horas hasta alcanzar un porcentaje de humedad de 10 ± 1.0 %. Para la molienda del epicarpio deshidratado se realizaron 3 procesos, en molino manual, eléctrico y procesador de alimentos respectivamente hasta obtener el tamaño de partícula mínimo posible. Para la esterilización de la cáscara en polvo fino se utilizó un autoclave a temperatura de 121 °C por 15 minutos.

4.2.4. Caracterización de la cáscara de café:

✓ **Granulometría de la cáscara de café**

Se siguió el procedimiento establecido para alimentos en polvo especificada por Gómez (2016) para análisis granulométrico, con algunas modificaciones. Esta metodología establece alineación de los tamices marca Bronzinox de forma descendente, donde se tomó una muestra de 50 gramos de cáscara en polvo, la cual se ubicó en la parte superior de los tamices (1, 0.5, 0.25, 0.125 mm y fondo) los cuales fueron montados de forma descendente, comenzando con el tamiz con abertura de 1mm hasta llegar al fondo. Las muestras fueron pesadas y cuantificadas por triplicado, mismas que fueron expuestas a vibración en un agitador mecánico modelo RX-812 por un periodo de 15 minutos. Culminado el tiempo, y con los pesos inicial y final de cada tamiz se determinó el porcentaje de masa retenida relacionándola con el tamaño de abertura del mismo.

✓ **% Humedad de la cáscara de café**

Se utilizó la metodología descrita por De Zaan (1999) para alimentos en polvo, donde inicialmente se obtuvo el peso de cada beaker, posteriormente se colocaron 5 gramos de muestra por triplicado y se secaron por 24 horas a 105 °C en un horno de convección. Posterior a las 24 horas, se retiraron del horno para ser pesados nuevamente en una balanza de escala electrónica y determinar la diferencia de peso con la materia seca resultante.

Ecuación para el cálculo de humedad utilizado:

$$\% \text{ humedad} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100$$

Donde:

M_i= Peso de la masa inicial

M₂= Peso de la masa final

✓ % Solubilidad de la cáscara de café

La solubilidad se determinó de acuerdo con la metodología utilizada por Colla *et al.* (2006). 10 gramos de polvo de cáscara de café fueron disueltos en 100 ml de agua destilada y homogenizados por 5 minutos en un agitador magnético (marca INTLLAB) y filtrado por un papel filtro con una porosidad de 40 µm con la ayuda de un matraz de succión al vacío. El contenido de masa seca final se estimó con el secado de las 3 muestras a 60 ° C por 24 horas, finalmente se cuantificó el contenido de masa seca residual en una balanza analítica.

Ecuación de solubilidad

$$\% \text{ solubilidad: } = \frac{mi}{mf} \times 100$$

Donde:

mi: Peso inicial de la muestra

mf: Peso final de la muestra

✓ pH de la cáscara de café

El pH se midió utilizando el método descrito por De Zaan (1999) con leves modificaciones. Se disolvieron 5 gramos de cáscara en polvo en 50 ml de agua destilada y homogenizada por 5 minutos en un agitador magnético. La medición se realizó con el electrodo directamente sobre la mezcla utilizando un pHmetro previamente calibrado con mediciones por triplicado.

Etapa 2

En esta etapa se evaluó la viabilidad de los microorganismos probióticos siguiendo la metodología siguiente:

4.2.5. Obtención de cultivos probióticos

Las bacterias ácido lácticas fueron obtenidas a partir de cultivos comerciales, obtenidas de los distribuidores del grupo ASEAL, se empleó mezcla de bacterias liofilizadas de la marca

“yoflex® mild 1.0”, ESTA incluye *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *streptococcus thermophilus*.

4.2.6. Recuento total de bacterias ácido lácticas viables en cultivos comerciales mixtos

Para el recuento inicial de UFC se activaron inoculando 0.25 g de cultivos marca “yoflex® mild 1.0” en 25 mililitros de leche de vaca previamente pasteurizada, a 37 °C por un periodo de 30 minutos. Posteriormente, la inoculación en placa de petri se realizó mediante vaciado en diluciones seriadas, utilizando un agar PCA. Se realizaron un total de 10 diluciones en agua peptonada al 0.1 % en agua destilada, la inoculación se realizó por duplicado. Se seleccionó la dilución que cumpliera el rango de 30-300 UFC. Las placas se mantuvieron en una incubadora a 37 ° C y los conteos de UFC se hicieron a las 48 horas posteriores a su inoculación.

4.2.7. Liofilización de probióticos combinados con epicarpio de café

Siguiendo la metodología empleada por Samedy y Charles (2019), con ligeras modificaciones, se realizaron cuatro diluciones de la cáscara de café en polvo combinadas con cultivos lácticos para yogur utilizando agua bidestilada. Las diluciones fueron las siguientes: (1) 0.25 g de cáscara, 0.25 g de cultivo iniciador y 10 ml de agua; (2) 0.5 g de cáscara, 0.25 g de cultivo iniciador y 10 ml de agua; (3) 0.75 g de cáscara, 0.25 g de cultivo iniciador y 10 ml de agua. Posteriormente, las muestras fueron liofilizadas en un liofilizador LABCONCO, a una temperatura de -83 °C durante 9 horas, alcanzando un vacío de 0.010 mbar al finalizar el proceso.

Tabla 1 Diseños experimentales de la investigación

Tratamiento	Descripción	Cáscara (g)	Cultivos (g)
CL	Cultivos libres (0% de cáscara)	0	0.25
CM1	Cultivos micro encapsulados (50% de cáscara)	0.25	0.25
CM2	Cultivos micro encapsulados (67% de cáscara)	0.50	0.25
CM3	Cultivos micro encapsulados (75% de cáscara)	0.75	0.25

4.2.8. Recuento total de bacterias viables después de la liofilización

Se realizó a las 24 horas después del proceso de liofilización, donde el material liofilizado se activó siguiendo las recomendaciones del distribuidor, donde se inocularon 0.25 g del liofilizado en 250 ml de leche de vaca pasteurizada entera por cada tratamiento. Posteriormente fueron sometidos a 37 ° C por 30 minutos en una incubadora PRECISION de laboratorio. Posteriormente, la inoculación se realizó mediante el método de vaciado en placa, utilizando el medio de cultivo Agar PCA. Se realizaron un total de 10 diluciones en agua peptonada al 0.1 % en agua destilada, la inoculación se realizó por duplicado. Se seleccionó la dilución que cumpliera el rango de 30-300 UFC. Las placas se mantuvieron en una incubadora a 37 ° C y los conteos de UFC se hicieron a las 48 horas después de su inoculación.

Etapa 3

Esta etapa se enfocó en la incorporación de cepas liofilizadas en la elaboración de yogur líquido. A continuación, se desglosan los eslabones de esta fase:

4.2.9. Incorporación de cepas liofilizadas en la elaboración de yogur líquido

Para la fermentación se inocularon 10 ml de inóculo en 250 ml de leche pasteurizada por cada tratamiento, a los cuales se realizó los análisis fisicoquímicos en intervalos de 2 horas hasta completar las 8 horas, los análisis realizados se muestran a continuación:

4.2.10. Caracterización fisicoquímica del yogur

✓ pH del yogur

Se usó el potenciómetro HANNA Instruments®, el cual fue calibrado previamente. El valor se obtuvo introduciendo directamente el electrodo dentro de la muestra.

✓ Acidez titulable

Se determinó mediante el método volumétrico establecido por la NTP 202.116 INACAL, (2012) con leves modificaciones. Se vertió 15 ml de yogurt en un matraz Erlenmeyer de 50 ml. Luego, se añadió 1 ml de solución de fenolftaleína concentración, posteriormente se tituló con la solución 0,1 N de Hidróxido de Sodio (NaOH) lentamente y con agitación, hasta alcanzar una coloración rosácea persistente.

Ecuación para determinar % ácido láctico

$$\%Acidez = (N/VD * Meq/M) * 100$$

Donde:

- N= Normalidad
- VD= Volumen de NaOH gastado
- Meq= Ácido predominante (Láctico)
- M= Volumen de la muestra

4.2.11. Recuento total de bacterias ácido lácticas en yogur fermentado

Se inocularon 10 ml (4%) del inóculo activado por 30 minutos en un volumen de 250 ml de leche de vaca pasteurizada entera para cada tratamiento se sometieron a incubación por un periodo total de 8 horas a una temperatura de 37 ° C. Posteriormente, se vaciaron 10 ml de fermento en 90 ml de agua peptonada al 0.1% para cada tratamiento. A continuación, se diluyeron 1 ml de cada mezcla en tubos de ensayo que contenían 9 ml de agua peptonada con la misma concentración, completando así un total de 10 diluciones para cada tratamiento. Utilizando una micropipeta, se transfirieron 1 ml de cada tubo de ensayo a placas de Petri por duplicado para su conteo. Se seleccionó la dilución que cumplía con lo establecido asegurando un rango visible de 30 a 300 UFC.

4.2.12. Análisis Estadístico

Se tomaron en cuenta la variable independiente (concentración de cáscara de café) y la variable dependiente (viabilidad) mostradas en la tabla 2, para su posterior evaluación, donde todas las muestras se prepararán por triplicado. Los datos se les realizará análisis de varianza

de una vía y la comparación de pares de medias de tratamiento se realizará mediante la prueba de Tukey en $P < 0,05$.

Tabla 2 Variables de estudio

Variable independiente	Variable dependiente
Concentración de cáscara (%)	Viabilidad de cultivos iniciadores (UFC)

*UFC indica unidades formadoras de colonias. *Concentración indica porcentaje de cáscara en la dilución.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Caracterización físico química de la cáscara de café

5.1.1. Granulometría del epicarpio de café en polvo

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la granulometría del epicarpio de café en polvo obtenidos por agitación. De la Cruz (2015) reportó hallazgos similares en su análisis y modelamiento granulométrico de la cáscara de café, donde se observó que la mayor cantidad de material retenido correspondía a los diámetros de tamiz más grandes. Esto indica que se encontró una mayor proporción de harina con un tamaño de partícula grueso en comparación con aquellas que tienen un tamaño más fino. Un tamaño de partícula más pequeño es ventajoso, ya que mejora la solubilidad y facilita la homogenización de la mezcla de cáscara de café y cultivos. Esto asegura una distribución uniforme de los cultivos iniciadores, optimizando su incorporación en el producto final De la Cruz (2015).

Tabla 3 Distribución granulométrica del epicarpio de café en polvo

Diámetro del tamiz (mm)	% Retenido en tamiz	% Pasante por tamiz
1	30.19	69.81
0.5	26.94	73.06
0.25	14.81	85.19
0.125	28.06	71.94

Se utilizaron exclusivamente harina de café con diámetros de 0.25 mm y 0.125 mm, en comparación con los diámetros de 1 mm y 0.5 mm, ya que estos tamaños de partícula se consideraron más ventajosos para la investigación. Como resultado, el resto de los diámetros fue almacenado, dado que no se requeriría para los fines del estudio.

5.1.2. Humedad (%) de la cáscara de café

En este estudio se encontró que la cáscara de café presentó una humedad de 4.2 %. La temperatura utilizada (65° C) y el tiempo de exposición afectaron los resultados. El porcentaje de humedad fue bajo debido al prolongado tiempo que la muestra estuvo expuesta a altas temperaturas. Salazar *et al.* (2020) menciona que el contenido de humedad de la cáscara de café oscila entre 13% y 20% en condiciones de secado natural, es decir, bajas temperaturas y tiempo de secado relativamente corto. Según Vásquez (2015) la cáscara de café presenta características de un sustrato con baja capacidad de retención de agua. Es decir, el contenido de humedad final después del secado estará determinada por el periodo de tiempo de exposición a altas temperaturas, así como la temperatura empleada.

5.1.3. % Solubilidad de la cáscara de café

En la tabla 4 se muestran los datos para solubilidad del epicarpio de café seco.

Tabla 4 Solubilidad de la cáscara de café en función del tamaño de partícula

Tamaño (mm)	Masa seca (g)	Solubilidad (%)
0.25	1.11	22.27
0.125	2.22	44.33

La cáscara de café ha sido objeto de comparación con la cáscara de mango en diversas investigaciones, revelando que la primera presenta una solubilidad inferior a la del mango. Se observó que la solubilidad está inversamente relacionada con el tamaño de partícula; Ayala (2022) encontró que la solubilidad de los alimentos en polvo disminuye a medida que aumenta el diámetro de partícula. Los valores obtenidos en esta investigación fueron inferiores a los reportados por Serna *et al.* (2015), quien documentó hasta un 50% de solubilidad en la cáscara de mango en polvo con un diámetro de partícula de 0.25 mm. Este fenómeno podría explicarse por la alta higroscopicidad de la cáscara de café, que tiende a atraer la humedad y, por ende, dificulta la disolución de sus componentes solubles. Según Torres (2019), esta propiedad hace que el agua se adsorba en las superficies de la fibra, impidiendo la liberación de los compuestos solubles.

5.1.4. pH de la cáscara de café

En este estudio, se determinó que el pH de la cáscara de café fue de 3.90. Este valor sugiere un nivel de acidez que podría afectar la actividad de los microorganismos durante el proceso de fermentación, dado que los pH típicos de la cáscara o epicarpio de café varían entre 4.96 y 5.98. Resultados inferiores a este rango podrían estar relacionados con la variedad de café, la cual presenta características específicas que influyen en el pH (Suarez, 2018). Además, es importante considerar que la fermentación de la cáscara durante el almacenamiento podría haber contribuido a esta disminución en el pH, posiblemente debido a fluctuaciones de temperatura ocasionadas por variaciones en la energía eléctrica que alimenta el congelador.

5.1.5. Recuento inicial de bacterias ácido lácticas

Se determinó que el valor de microorganismos viables en los cultivos comerciales fue de 8.62 Log UFC/mL. Este valor refleja una alta concentración de microorganismos viables, lo que es favorable para la producción de lácteos fermentados. Este valor encontrado supera los exigidos por el Codex Alimentarius, según las normativas establecidas, se requiere que los cultivos de bacterias ácido lácticas presenten un mínimo de 8 Log UFC/ml para asegurar una fermentación adecuada y el desarrollo de las características organolépticas deseadas. Además, en productos comerciales etiquetados, se permite una concentración mínima de 7 Log UFC/mL, lo que indica que, aunque se aceptan niveles más bajos, es preferible mantener una mayor cantidad de microorganismos para optimizar los beneficios probióticos y la estabilidad del producto (Comisión de Codex Alimentarius 2002).

5.1.6. Recuento post liofilizado de bacterias ácido lácticas en estado libre y micro encapsuladas

La Tabla 5 presenta los resultados de la evaluación de la supervivencia de microorganismos micro encapsulados por liofilización, analizando dos etapas distintas: la Etapa 2, que se centra en la viabilidad post-liofilización, y la Etapa 3, que se ocupa de la reproducción de los microorganismos.

En la Etapa 2, se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos aplicados. En este contexto, el tratamiento CM3 se destacó como el más eficaz, ya que la inclusión de cáscara de café en su formulación demostró una notable capacidad para proteger a los microorganismos frente a condiciones adversas. A continuación, el tratamiento CM2 también mostró un desempeño favorable en términos de viabilidad. En contraste, los tratamientos CM1 y CL no presentaron diferencias significativas entre sí, lo que los posiciona como los menos efectivos en cuanto a la preservación de la viabilidad microbiana.

Respecto a la Etapa 3, los resultados obtenidos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas en la reproducción de los microorganismos entre los distintos tratamientos evaluados. Además, se observó que la cáscara de café no influyó en la reproducción de los microorganismos.

Tabla 5 Resultados del conteo de Log UFC/mL correspondientes a los tratamientos

	Concentración inicial	Liofilizado (Etapa 2)	Tasa de Viabilidad	Fermentado (Etapa 3)	Tasa de crecimiento
Tratamiento	Log UFC/mL	LogUFC/mL	%	Log UFC/mL	%
CL	8.62 ± 0.03	7.57 ± 0.04 ^C	87.81	10.47 ± 0.03 ^A	138.3
CM1	8.62 ± 0.03	7.67 ± 0.03 ^C	88.78	10.47 ± 0.03 ^A	136.5
CM2	8.62 ± 0.03	7.99 ± 0.02 ^B	92.61	10.48 ± 0.04 ^A	131.1
CM3	8.62 ± 0.03	8.44 ± 0.06 ^A	97.91	10.46 ± 0.04 ^A	123.9

*CL (Cultivos libres con 0% de cáscara), CM1 (micro encapsulados con 50% de cáscara), CM2 (micro encapsulados con 67% de cáscara), CM3 (micro encapsulados con 75% de cáscara). *Los resultados se muestran como la media ± DE (n = 2 réplicas) *Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey en P <0,05).

La viabilidad de los cultivos iniciadores aumenta a medida que se incrementa la concentración de cáscara de café. Esto sugiere que hay una relación directamente proporcional entre el porcentaje de cáscara y la viabilidad de los cultivos iniciadores lácteos liofilizados, es decir, a mayor cantidad de cáscara, mejor protección recibe los cultivos, donde el tratamiento CM2 y CM3 obtuvieron un total de microorganismos viables equivalentes al 92.69% y 97.91% de su concentración inicial respectivamente después de la liofilización. Esto se explica por la formación de un encapsulante que forma una capa que se comporta

como una barrera física y química capaz de reducir el estrés en el proceso de liofilización, lo cual culmina en la creación de un ambiente favorable para la conservación de las células (Montes 2013).

Dichos porcentajes de viabilidad son menores que los encontrados por Gonzáles y González (2019) después de la liofilización, en su trabajo encontró valores de un incremento de hasta 270% en la viabilidad celular utilizando proteína de soja como material encapsulante, sin embargo, a pesar de que la cáscara de café posee un alto contenido de fibras según Rios *et al.* (2018) esta se encuentra limitada por otros elementos higroscópicos que dificultan su adhesión a las células microbianas resultando esta en un 65.48 % de células viables únicamente.

La supervivencia de microorganismos probióticos ácido lácticos se puede ver condicionados por factores ambientales como la producción de peróxidos, ácido láctico y acético, así como la disponibilidad de nutrientes (Krasaekoopt y Watcharapoka 2014). Asimismo, tomando dicha información como referencia algunas investigaciones como la de Kailasapathy (2006) demuestran que la microcápsula proporcionada por los prebióticos proporciona una barrera física que evita que dichos microorganismos entren en contacto directo con los factores ambientales culminando así en una mayor viabilidad de los mismos.

El comportamiento de las bacterias ácido lácticas demuestra que no existe una diferencia en la reproducción de células inclusive si estas presentaban cáscara de café en su composición (Tabla 8). Resultados similares se encontraron en un estudio donde, después de 9 horas de fermentación, la cantidad de células viables era aproximadamente 9.80 Log UFC/mL. La incorporación excesiva de andamios celulares no siempre mejora la viabilidad y el crecimiento de los microorganismos. En cambio, utilizar pequeñas cantidades de biomaterial como soporte bacteriano resultó ser más efectivo, ya que permitía a los microorganismos acceder mejor a los nutrientes (Ji Eun *et al.* 2017).

Los resultados de Mullen *et al.* (2013) indican que las cáscaras de café son ricas en una variedad de compuestos bioactivos, incluyendo proteínas, lípidos, minerales, carbohidratos, azúcares reductores, cafeína y taninos, así como metabolitos secundarios como los polifenoles. Esta compleja composición sugiere que las cáscaras de café pueden desempeñar un papel significativo en la preservación de la viabilidad de microorganismos

microencapsulados por liofilización. En particular, los carbohidratos y azúcares reductores pueden servir como fuentes nutritivas esenciales. Además, las fibras y otros compuestos presentes en las cáscaras pueden actuar como una pared protectora, proporcionando estabilidad y resistencia a los microorganismos en situaciones desfavorables.

Además, la investigación realizada por Murthy y Naidu (2012) determina que las cáscaras de café contienen minerales esenciales como calcio, magnesio, potasio y hierro. Estos minerales desempeñan funciones clave para la viabilidad y resistencia de los microorganismos, como mantener la integridad de las paredes y membranas celulares, regular el pH intracelular, y participar en reacciones enzimáticas y producción de energía. Por lo tanto, la presencia de estos minerales en las cáscaras de café es un factor determinante que puede mejorar la supervivencia de los microorganismos durante el proceso de liofilización

5.1.7. Caracterización de las propiedades fisicoquímicas del Yogur

✓ pH

Se observa una pendiente negativa en el pH (Figura 5) del producto a lo largo de los diferentes tiempos de fermentación estudiados (2, 4, 6 y 8 horas) para cepas probióticas microencapsuladas y en estado libre.

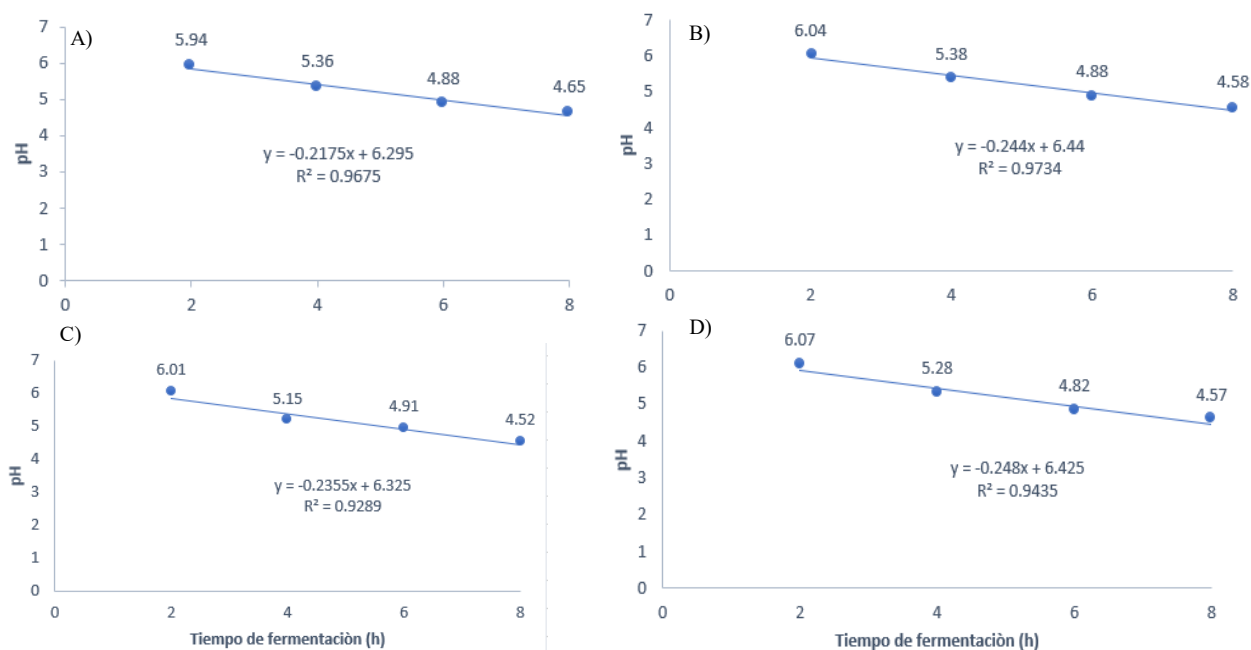


Figura 5 Curva de evolución de pH en yogur fermentado.

Resultados similares fueron encontrados por González *et al.* (2014) en donde la leche inoculada con cepas microencapsuladas presentaron una disminución en el pH en consideración con las cepas en estado libre. La acidificación aumentó debido a un mayor consumo de lactosa por los microorganismos, lo que provocó una disminución en el pH. La diferencia en el comportamiento se puede explicar por el efecto del material encapsulante, ya que este resguarda a los microorganismos de factores ambientales adversos.

Los valores presentados muestran una disminución en el pH (Figura 5), lo cual es deseable para lograr tiempos de fermentación más cortos. Esto se debe al punto isoeléctrico de las proteínas, ya que influye en la actividad fermentativa de los microorganismos. Se observa que valores de pH más altos están asociados a tiempos de fermentación más prolongados, por lo tanto, mantener un pH más bajo puede optimizar el proceso de fermentación y mejorar la eficiencia en la elaboración de productos fermentados (Ozcan *et al.* 2015).

✓ Acidez titulable

Se observa una pendiente positiva en el porcentaje de ácido láctico durante la fermentación (Figura 6) dicho incremento establece una relación directamente proporcional entre el tiempo de fermentación y la acidez titulable de la leche.

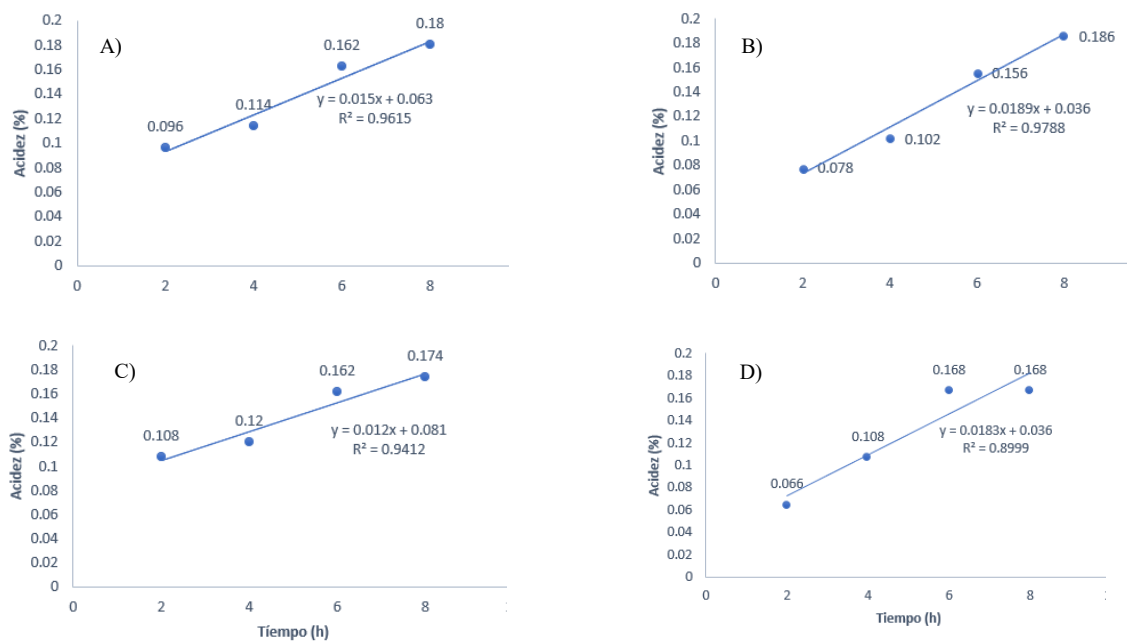


Figura 6 Curva de acidez durante la fermentación

El valor de acidez titulable, obtenido por las muestras de yogur elaborado con microorganismo micro encapsulados con cáscara de café a lo largo del tiempo se encuentra de forma ascendente, lo que indica un proceso de fermentación adecuado ya que la microencapsulación empleada no interfirió sobre la acidez titulable del yogurt.

Dichos valores se encuentran en el rango permitido para acidez de productos fermentados según el INACAL (2016). Asimismo, resultados similares fueron encontrados por Tamine y Robinson (2007) quienes mencionan que el punto y la cantidad máxima de producción de ácido láctico va a depender del tipo de yogur que se requiere, así como el tiempo empleado en la fermentación.

La combinación de los ácidos presentes en la cáscara de café podría resultar en un pH más bajo o un mayor contenido de acidez en comparación con un yogur elaborado sin ella, esto se explica por el contenido de ácidos presentes en la cáscara de café, donde, Pacheto (2018) menciona que en este sub producto predominan el ácido clorogénico, protocatéquico, llegándose a reportar valores de 8.41 y 9.25 mg/ g de cáscara respectivamente, así como algunos alcaloides dentro de los cuales destaca la cafeína, igualmente reportándose valores de hasta 35.68 mg/ g de cáscara.

Asimismo, Martínez *et al.* (2019) determinó que la cáscara de café contiene un 20% de fibra cruda con respecto a su peso seco, dentro de ellas se encuentra la celulosa, hemicelulosa y lignina, por lo que un alto contenido de estas funciona como barrera protectora, permitiendo a los microorganismos sobrevivir por mayor tiempo a ambientes de acidificación más complejos. Sin embargo, una aplicación excesiva de fibras podría afectar negativamente la reproducción de los microorganismos, ya que la incorporación de un 67% de cáscara obtuvo valores menores de pH en comparación del tratamiento con 75% (Figura 6), utilizar pequeñas cantidades de biomaterial como soporte y protección de microorganismos resultó ser más efectivo, ya que permitía a los microorganismos acceder mejor a los nutrientes y por ende culminar en una mayor producción de ácido láctico (Ji Eun *et al.* 2017).

VI. CONCLUSIONES

La cáscara de café es un agente microencapsulante eficaz que mejora la viabilidad de los probióticos y promueve un enfoque sostenible en la producción de alimentos.

La caracterización fisicoquímica de la cáscara de café ha demostrado que presenta características adecuadas para su uso en alimentos funcionales.

La capacidad de la cáscara de café para ser reducida a polvo, así como su contenido de fibras, permite una fácil integración en las formulaciones de alimentos probióticos.

A mayor concentración de cáscara de café como agente encapsulante esta ofrece una protección superior a los microorganismos probióticos de las condiciones del medio.

VII. RECOMENDACIONES

Investigar subproductos de diferentes fuentes vegetales que puedan ser utilizados en la formulación de productos probióticos, evaluando sus características funcionales.

Utilizar técnicas reológicas para medir la viscosidad, elasticidad y cohesión de los yogures, ya que estos parámetros son clave para evaluar el efecto de la cáscara de café en la textura.

Explorar la posibilidad de desarrollar otros productos lácteos funcionales (como quesos o batidos) que incorporen cáscara de café, evaluando su viabilidad y aceptación en el mercado.

Realizar estudios que evalúen la estabilidad y viabilidad de los probióticos en yogures a lo largo del tiempo, considerando diferentes condiciones de almacenamiento.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Aguiar, S.; Enríquez, M.; Uvidia, H. 2022. Residuos agroindustriales: su impacto, manejo y aprovechamiento. Ibarra. Disponible en: <https://doi.org/10.26621/ra.v1i27.803>

Álvarez, J.; Fernández, J.; Guarner, F.; Gueimonde, M.; Rodríguez J.; Saenz, M.; Yolanda Sanz. 2021. Gut microbes and health. Gastroenterol Hepatol. 44(7):519-535. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2021.01.009>

Angulo, L.; Souza, V.; Oliveira, R.; Matta, F. 2018. Characterization of citric agro-industrial by-products: orange and passion fruit. Revista Ingeniería y Región. Disponible en: DOI: [10.25054/22161325.1916](https://doi.org/10.25054/22161325.1916)

Arias, S.; Anaya, S.; Muñoz, D.; Chaux, A. 2021. Formulación de una harina integral funcional, a partir de cereales andinos y subproductos de la uva y el café. Objetivos de Desarrollo Sostenible. Disponible en: <https://doi.org/10.15765/ods.v1i1.2534>

Bernache, G.; 2012. Riesgo de contaminación por disposición final de residuos. un estudio de la región centro occidente de México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Disponible en: <https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=37025166015>

Camacho, J. 2022. Probióticos: una mirada al mecanismo de acción y aplicaciones clínicas en Pediatría. Salud Uninorte , 38 (3), 891-918. Disponible en

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_isoref&pid=S0120-55522022000300891&lng=en

Cardona, T.; Patiño, L.; Ormaza, M. 2021. Aspectos tecnológicos de la microencapsulación de compuestos bioactivos en alimentos mediante secado por aspersión. *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 22(1), 1–21. Disponible en <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/1899>

Colla, G.; Roupahel, Y.; ardarelli, M.; Rea, E. 2006. Efecto de la salinidad en el rendimiento, la calidad de la fruta, el intercambio de gases en las hojas y la composición mineral de plantas de sandía injertadas. *HortScience HortSci* , 41 (3), 622-627. Disponible en: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.3.622>

Comisión del Codex Alimentarius. 2002. Anteproyecto de norma revisada para productos a base de leche fermentada. Codex Alimentarius. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/fr/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FShared%2BDocuments%252FArchive%252FMeetings%252FCCMMP%252Fccmmp5%252Fmm02_04s.pdf

Cruz, I. 2022. Tipos de antinutrientes. CONASI. Disponible en: <https://www.conasi.eu/blog/consejos-de-salud/consejos-de-salud-consejos-de-salud/antinutrientes-e-inhibidores-enzimaticos/>

De la Cruz, N.; Cerón, A.; Garcés, L. 2015. Analysis and modeling of coffee's peel granulometry (*Coffea arabica* L.), Castillo variety. *Producción + Limpia*, 10(2), 80-91.

Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=s1909-04552015000200008&script=sci_arttext

De Zaan. 1999. The De Zaan Cocoa Manual. ADM COCOA. Disponible en: <https://www.choklat.com/data/documents/dezaancocoamanual.pdf>

Gao, X.; Li, B. 2016. Chemical and microbiological characteristics of kefir grains and their fermented dairy products: A review. Cogent Food & Agriculture. <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1272152>

Gómez J. 2016. Caracterización granulométrica de un producto comercial en polvo (suplemento dietario) y evaluación de la capacidad de dispersión en agua. Universidad ICESI. Disponible en: https://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/81963/1/TG01475.pdf

González, C.; Gonzáles, J. 2019. Microencapsulación de probióticos en partículas de proteínas de soja obtenidas a partir de un subproducto alimentario. Universidad de Navarra. Disponible en: <https://hdl.handle.net/10171/58377>

González, R.; Pérez, J.; Urbina, N. 2014. Microencapsulation Effects on the Rheological and Physico-chemical Properties of Soft Yoghurt. Información tecnológica, 25(6), 45-56. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000600007>

Guarner, F. 2018. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. Nutrición Hospitalaria, 22(2), 14-19. Disponible en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000500003&lng=es&tlng=es.

Herrera, F. 2016. Obtención de antioxidantes a partir del epicarpio de café (coffea arabica l.) empleando fluidos presurizados, una alternativa de aprovechamiento para este residuo agroindustrial. CORE. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/198447966.pdf>

Hoseini, M.; Cocco, S.; Casucci, C.; Cardelli, V.; Corti, G. 2021. Coffee by-products <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106009>

IHCAFE. 2023. Informe estadístico de cosecha 2022-2023 de café. Instituto Hondureño del café. Disponible en <https://www.ihcafe.hn/wp-content/uploads/2023/01/Boletin-Estadistico-ComercializaciA%CC%83%C2%B3n-23-01-2023.pdf>

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2016. Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Requisitos. NTP 202.001. 6ta edición. Lima, Perú. Disponible en: <https://pdfcoffee.com/ntp-202001-2016-4-pdf-free.html>

Ji Eun, P.; Park, M.; Park M. 2017. Porcine spermatogonial stem cells self-renew effectively in a three dimensional culture microenvironment. Cell Biology International. Disponible en: DOI: 10.1002/cbin.10844

Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yogurt. Food Science and Technology. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.013>

Krasaekoopt W., Watcharapoka S. 2014. Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads

coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. Food Science and Technology. 57(2). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.013>

Lee, J.; Alemán, J.; Ayaz, H.; Fulton, B.; Suri, R. 2017. From food waste to value-added surplus products (VASP): Consumer acceptance of a novel food product category. Wiley. <https://doi.org/10.1002/cb.1689>

Martínez, S.; Hernández, F.; Aguilar, C.; Rodríguez, R. 2019. Coffee pulp extracts: A review of polyphenolic antioxidants and their antimicrobial activity. Investigación y Ciencia. 27(77). 73-79. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/674/67459697009/html/>

Martínez, S.; Jaramillo, R. 2023. Análisis de aceptabilidad y percepción del consumidor de aplicaciones alimentarias de subproductos de café. SENA. <https://doi.org/10.23850/22565035.5192>

Merino, J.; Taracena, S.; Díaz, E.; Rodríguez, F. 2021. Microbiota intestinal: “el órgano olvidado”. Acta Med. 2021; 19 (1): 92-100. Disponible en <https://www.medigraphic.com/pdfs/actmed/am-2021/am211p.pdf>

Molina, J. 2018. El café en Honduras: Un análisis de su importancia económica y social. Economía y sociedad. Disponible en <https://www.ine.gov.hn/images/Productos%20ine/Boletines/Boletin%202017/Boletin%20del%20Cafe%202012%20-%202015.pdf>

Montes, L. 2013. Efecto de la microencapsulación con agentes prebióticos sobre la viabilidad de microorganismos probióticos (*Lactobacillus casei* ATCC 393 y *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9469). Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11893>

Mullen, W.; Nemzer, B.; Stalmach, A.; Ali, S.; Combet, E. 2013. Polyphenolic and Hydroxycinnamate Contents of Whole Coffee Fruits from China, India, and Mexico. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(22). Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf4003126>

Murthy, P.; Naidu, M. 2012. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling*. 66. 45-48. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>

Novita, E. 2016. Biodegradability Simulation of Coffee Wastewater Using Instant Coffee. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. (9) .217-229. Disponible en DOI:[10.1016/j.aaspro.2016.02.138](https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.138)

Ozcan, T.; Horne, D.; Lucey, J. 2015. Yogurt made from milk heated at different pH values, *Journal of Dairy Science*. Disponible en. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203021500538X>

Parra, R. 2010. Microencapsulación de Alimentos. *Facultad Nacional de Agronomía*. 63 (2). Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/1799/179918602020.pdf>

Preciado, S.; Villegas, M.; Domínguez, A. 2022. Aprovechamiento de subproductos de la industria agroalimentaria. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 23(2). Disponible en <https://www.redalyc.org/journal/813/81373798002/html/>

Preneuf, F. 2020. Reducir la pérdida y el desperdicio de alimentos puede generar grandes beneficios para la seguridad alimentaria de los países y el medio ambiente. Disponible en <https://www.bancomundial.org/es/news/press-release/2020/09/28/cutting-food-loss-and-waste-can-deliver-big-wins-for-countries-food-security-and-environment>

Reyes M., Herrero C. 2016. Impacto del Cambio Climático en la Producción de Café en Honduras. Revista Hondureña de Café. Disponible en <file:///C:/Users/DELL/Downloads/Mercados%20Internacionales.pdf>

Rios, M.; Callejo, M.; Castillo, M.; Dolores, M. 2019. Potencial de los subproductos del café como fuente de fibra dietética. Aplicación en la elaboración de pan libre de gluten. Digital Science. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10261/194568>

Robles, J.; Romero, A.; García, A.; López, L. 2020. Impactos ambientales de la producción del café, y el aprovechamiento sustentable de los residuos generados. Epub Producción Más Limpia, 15(1), 93-110. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552020000100093

Rodríguez, C.; Tocta, J. 2020. Determinación de la Concentración de Lactobacillus acidophilus y la Dosificación Óptima del Extracto de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en el Proceso de Fermentación del Yogur Natural. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/server/api/core/bitstreams/a8fdfa22-ca53-48d4-98a2-437c31d391b1/content>

Rosas, M. 2021. Probióticos, prebióticos y simbióticos. Inmunonutrición. 30(4). Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8771767>

Salazar, J. García, C.; Olaya, J. 2020. Dosificación de hormigones ligeros con cascarilla de café. Ingeniería e Investigación. Disponibl en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4902793>

Salinas, B. 2018. Microbiota intestinal: clave de la salud. Salus, 17(2), 3-5. Disponible en http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382013000200002&lng=es.

Samedy, L.; Charles, A. 2019. Viability of 4 Probiotic Bacteria Microencapsulated with Arrowroot Starch in the Simulated Gastrointestinal Tract (GIT) and Yoghurt. Foods, 8(5). Disponible en <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/5/175>

Sbehat, M.; Mauriello, G.; Altamimi, M. 2022. Microencapsulation of Probiotics for Food Functionalization: An Update on Literature Reviews. Microorganism. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101948>

Serna, L.; Torres, C.; Ayala, A. 2015. Evaluation of food powders obtained from peels of mango (*Mangifera indica*) as sources of functional ingredients. Información Tecnológica. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000200006>

Tamime, A.; Robinsons, R. 2007. Tamime and Robinson's Yoghurt Science and Technology, Third Edition. Taylor & Francis. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/book/9781845692131/tamime-and-robinsons-yoghurt>

Thorsen, M.; Croad, T.; Vincent, T.; Miroso, M. 2022. Critical success factors for food waste reduction. Cleaner Waste Systems. 3. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772912522000598#:~:text=Five%20overarching%20CSFs%20for%20food,finally%2C%20'external%20influences'>.

Vera, M.; Cortés, M.; Valencia, F. 2019. Secado por atomización de bacterias ácido lácticas: una revisión. Ingeniería y Ciencia. Disponible en: <https://doi.org/10.17230/ingciencia.15.29.7>

Vergara, C.; Astudillo, C.; Dutra, I.; Quintanilla, M. 2019. Técnicas de extracción y estabilización de ingredientes. Cap 4. Disponible en <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/68518/Cap%C3%ADtulo%204.pdf?sequence=5&isAllowed=y>

ANEXOS

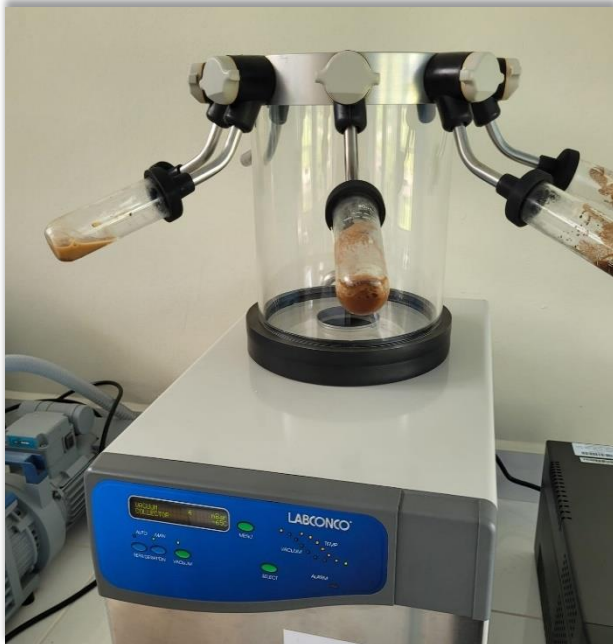
Anexo 1. Etapas de preparación de la cáscara de café para liofilización.



Anexo No 2 Caracterización fisicoquímica de la cáscara de café



Anexo 3 Etapas de la liofilización



Anexo 4 Análisis microbiológico del yogur

